



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL  
DE *Mammillaria zephyranthoides* (CACTACEAE): UNA  
ESPECIE ENDÉMICA DE MÉXICO

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**BIÓLOGA**

PRESENTA

**NELLY MARÍA LÓPEZ ORTIZ**

DIRECTORA DE TESIS: DRA. SOFÍA SOLÓRZANO LUJANO

ESTADO DE MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2013





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.

## AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Quiero agradecer a mis sinodales, en especial a mi directora de tesis, la Dra. Sofía Solórzano Lujano, por el apoyo y la paciencia brindada. Gracias por creer en mí. Por los comentarios hechos a este trabajo, al Dr. Ramón V. Moreno Torres y al Dr. Alejandro Casas. Y una mención especial al Dr. Salvador Arias, por la determinación de la especie de estudio, y a la Dra. Patricia Dávila por facilitar el permiso de colecta (Núm. SGPA/DGVS/01833/11).

Esta tesis fue realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM IN220711 “Análisis genético y ecológico de especies de *Mammillaria* amenazadas y endémicas de México”. También agradezco a la DGAPA-UNAM la beca recibida.

A mis compañeros de laboratorio Paola Salas González, Fabián Macías Arrastio, Saúl Quezada y Aide Cruz Santos por su ayuda en el trabajo de campo y en el laboratorio, y a la Biól. Violeta González por su apoyo en campo.

## AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Deseo hacer un reconocimiento a María Antonia Ortiz Soto y a Antonio López Sánchez, mis padres, por ser un ejemplo de responsabilidad y esfuerzo, por todo su apoyo y comprensión, no solo en mi formación académica sino a lo largo de toda mi vida. No encuentro palabras para expresar mi amor y gratitud hacia ustedes.

También quiero darle las gracias a mi familia, en especial a mis tías Maru y Lucía, mis tíos Toño y Rubén, y a mis primos Edita y Ruru. Los quiero mucho, gracias por estar conmigo en todo momento.

De la misma manera quiero agradecer al Pbro. Manuel Sánchez Martínez y a Araceli Zavala, el apoyo y la tolerancia mostrada durante la realización de esta tesis.

Finalmente gracias a todas las personas que estuvieron presentes a lo largo de estos cinco años, así como en toda mi formación académica, por su apoyo, cariño y amistad. Sin ustedes esto no habría sido igual.

“En prados de hierba fresca me hace descansar.  
Me guía por la senda del bien, haciendo honor a su nombre.

Aunque pase por un valle tenebroso,  
ningún mal temeré porque tú estás conmigo”

Sal 23 2-4

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
PRESENTACIÓN.....	3
INTRODUCCIÓN .....	4
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	11
MÉTODOS .....	12
Área de Estudio .....	12
Sistema biológico .....	14
Trabajo de Campo .....	15
Trabajo de Laboratorio.....	16
Análisis estadísticos .....	18
RESULTADOS.....	22
DISCUSIÓN.....	25
CONCLUSIONES .....	33
LITERATURA CITADA.....	34



---

## RESUMEN

El conocimiento de la diversidad y estructura genética de poblaciones biológicas, así como de aspectos demográficos ha sido utilizado en las últimas décadas para diseñar planes de conservación de especies raras, endémicas y/o amenazadas. En México la familia Cactaceae está representada por 660 especies, de las cuales 576 especies son endémicas. En particular *Mammillaria zephyranthoides*, endémica de México, se considera amenazada a nivel nacional y poco vulnerable a nivel internacional. El objetivo de esta tesis fue evaluar la diversidad y la estructura genética, así como la densidad poblacional y estructura de tamaños de dos poblaciones de *M. zephyranthoides*, una ubicada en Polotitlán, Estado de México, y la otra en Nochixtlán, Oaxaca. Para documentar la densidad poblacional se realizó un muestreo dirigido y para analizar la estructura de tamaños se midió el diámetro de los individuos en cada población. Para llevar a cabo los análisis de genética de poblaciones se colectó tejido vegetativo de 20 individuos en cada población y en el laboratorio se extrajo el ADN genómico total de cada muestra, con el estudio de la variación de cinco loci de microsatélites con condiciones estandarizadas mediante la técnica de PCR. A pesar de que esta especie se documenta en siete estados del país, su distribución es discontinua y en las poblaciones estudiadas la densidad poblacional fue de 1.69 individuos/m<sup>2</sup> en promedio, presentándose de manera agregada y en un área de ocupación reducida (< 500 m<sup>2</sup>). El diámetro de *M. zephyranthoides* varió de 0.37 a 7.83 cm, con una mayor proporción (96 y 72 % en Polotitlán y Nochixtlán, respectivamente) de individuos adultos (> 2.7 cm) y una menor proporción (0 y 1.4 % en Polotitlán y Nochixtlán, respectivamente) de plántulas de menos de 1.30 cm. La heterocigosidad estimada promedio en las dos poblaciones fue de  $H_E = 0.675$  y  $H_O = 0.725$ . La riqueza alélica es relativamente baja, habiéndose encontrado 30 alelos, con un promedio de cinco por locus por población. El resultado anterior, los valores bajos obtenidos para el índice Garza-Williamson, la heterocigosidad observada alta, así como los tamaños poblacionales pequeños que presenta la especie, pueden reflejar un cuello de botella poblacional, sin embargo debe de ampliarse el muestreo



---

molecular para poder afirmar esta hipótesis. Respecto a la estructura genética entre las poblaciones fue moderada ( $R_{ST} = 0.053$ ,  $p = 0.0004$ ), y se refleja en el valor alto estimado de flujo génico ( $Nm = 4.4$ ), a pesar de que existe una distancia de 405 km entre las poblaciones. Esto puede deberse a que hay flujo génico entre las poblaciones intermedias a las poblaciones muestreadas, o bien que la dispersión sea a grandes distancias, sin embargo también podría tratarse de flujo génico histórico. En conclusión a pesar de que *M. zephyranthoides* presenta una distribución geográfica amplia, su diversidad genética es baja y sus tamaños poblacionales son pequeños, lo cual puede representar una amenaza para la supervivencia de la especie, debido a que las poblaciones con estas características son más vulnerables a los efectos de la deriva génica. Con las observaciones realizadas en campo, el cambio de uso de suelo debido principalmente a la agricultura representa una amenaza para esta especie, por lo que se recomienda conservar sus hábitats, así como también estudiar su dispersión y dinámica poblacional, para establecer un plan de manejo para su conservación.



---

## PRESENTACIÓN

El Proyecto PAPIIT IN220711 “Análisis genético y ecológico de especies de *Mammillaria* amenazadas y endémicas de México” (2011-2013), tuvo como objetivos generales 1) describir la diversidad y estructura genética poblacional de especies del género *Mammillaria*, 2) describir patrones de estructura y de densidad poblacional, y 3) analizar la fenología reproductiva de este género, en las especies *M. albiflora*, *M. solisioides* y *M. zephyranthoides*. En este proyecto se inserta mi trabajo de tesis el cual tuvo como finalidad describir la diversidad genética poblacional de la especie *M. zephyranthoides*, integrada a la descripción de sus atributos demográficos básicos. También en este proyecto realicé mi Servicio Social (2012 – 12 / 63 - 3824) lo que me permitió participar en el estudio de la biología reproductiva de las tres especies del proyecto. Con ello visité una población monitoreada ubicada en Guanajuato (y que fue estudiada genéticamente en otra tesis), así observé aspectos fenológicos y reproductivos de *M. zephyranthoides*. Algunas de estas observaciones las use como parte de la descripción de la especie de estudio y para integrarlas a la discusión. Formalmente estos resultados no forman parte de mi tesis y por eso agradezco que se me permita usarlos en ella.



---

## INTRODUCCIÓN

La diversidad genética poblacional es el conjunto de variaciones heredables que se producen en cada organismo, entre los individuos de una población y entre las poblaciones dentro de una especie (Hartl y Clark 1997). Para comprender y analizar tal diversidad, la Genética de Poblaciones permite describir los niveles de variación genética dentro y entre las poblaciones, las cuales se expresan en las frecuencias alélicas y genotípicas (Hedrick 2000). Esta diversidad genética no está distribuida al azar en el espacio y tiempo, y tal distribución se conoce como estructura genética de una población (Loveless y Hamrick 1984). Existen factores intrínsecos de las especies (el tipo de sistema reproductivo, el área de distribución, el tamaño poblacional y los patrones de distribución espacial de las poblaciones), así como procesos evolutivos (la selección natural, la mutación, la endogamia, la deriva génica y el flujo génico) que determinan y afectan la diversidad y estructura genética de una población (Hedrick 2000).

El tamaño poblacional es uno de los aspectos que más influyen en la diversidad y estructura de una población (Allendorf y Luikart 2007), ya que en poblaciones pequeñas, los efectos de algunos de los procesos evolutivos se exacerban. Por ejemplo, la endogamia puede incrementar la proporción de homocigotos en todos los loci, pues al haber pocos individuos la reproducción ocurre entre individuos emparentados (Freeland *et al.* 2011). La deriva génica puede cambiar la distribución de la variación genética por dos vías, con la disminución de la variación dentro de las poblaciones (fijación o eliminación de un alelo, o aumento de homocigotos), o con el aumento de la diferenciación genética entre poblaciones (Ellstrand y Ellam 1993). En las plantas el flujo génico es a través de la dispersión de polen y de semillas, por lo que la cantidad y la distancia de dispersión, determinan la diferenciación genética entre poblaciones, y en consecuencia el tipo de sistema reproductivo es relevante para este proceso (Ellstrand 1992a; 1992b; Linhart y Grant 1996).



---

El flujo génico en grandes cantidades puede homogeneizar a las poblaciones genéticamente, pero un flujo génico bajo tiene como consecuencia una divergencia entre ellas, lo que hace que las poblaciones pequeñas sean más vulnerables (Slatkin 1985; Ellstrand y Ellam 1993).

Una medida relacionada con el tamaño poblacional, es el tamaño efectivo poblacional, que se define como el número de individuos reproductivos que contribuyen al acervo genético de la siguiente generación (Allendorf y Luikart 2007). La heterocigosidad tiene una relación con el tamaño efectivo poblacional, de modo que si éste incrementa, se espera una mayor heterocigosidad suponiendo selección neutra (Kimura 1983). En poblaciones naturales generalmente es imposible contar a todos los individuos, pero se suele utilizar el valor de la densidad poblacional como un indicador (Begon *et al.* 2006; Silvertown y Charlesworth 2001), ya que se ha documentado que ésta guarda una relación estrecha con la diversidad genética (Gram y Sork 1999). Además de esta medida, el conocimiento de la estructura de tamaños de una población brinda información acerca de la composición de las poblaciones, así como también el reclutamiento, la reproducción y la mortalidad, los cuales afectan directamente el tamaño poblacional (Hutchings 1997).

De acuerdo con lo anterior, las poblaciones pequeñas son más vulnerables a la pérdida de la diversidad genética (Frankel y Soulé 1981; Barret y Kohn 1991). Esto tiene como consecuencia una reducción en la reproducción y sobrevivencia a corto plazo, y una disminución en la capacidad de las poblaciones a responder al cambio ambiental a largo plazo, lo que incrementa su riesgo de extinción (Frankel y Soulé 1981; Frankham 2003). Para conocer la manera en que los procesos evolutivos han cambiado la diversidad y estructura genética poblacional, se han utilizado marcadores moleculares que ayudan a diagnosticar el grado de polimorfismo en el ADN en individuos que componen una población (Frankham *et al.* 2010). Dichos marcadores siguen el principio de que el material genético es un carácter medible con bases mendelianas (Tagu y Moussard 2006).



Existen diferentes tipos de marcadores moleculares, los primeros en utilizarse fueron las isoenzimas, seguidas de los RFLP's (Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción) los cuales examinan la variación en las secuencias de ADN de manera indirecta (Cooner y Hartl 2004). Con la invención de la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) surgen otras técnicas como los AFLP's (Polimorfismo de Longitud de Fragmentos Amplificados), los RAPD's (Polimorfismo Amplificado Aleatoriamente), los microsatélites y las secuencias, por mencionar algunos (Lowe *et al.* 2004). Los microsatélites son de los marcadores mayormente utilizados en las plantas (Segman *et al.* 2006), ya que al usar la técnica de PCR presentan ciertas ventajas, entre otras que requieren pequeñas cantidades de ADN, lo que hace innecesaria la utilización de organismos vivos o de grandes cantidades de muestras. Los microsatélites se definen como secuencias repetidas en tándem de uno o hasta cuatro nucleótidos, que están distribuidos al azar en el ADN nuclear, mitocondrial, y en el caso de los vegetales, también en el cloroplasto (Schlötterer 1998). Estos marcadores se consideran altamente polimórficos, codominantes, suponen selección neutra y tienen una tasa de mutación alta (Segman *et al.* 2006).

Con la utilización de marcadores moleculares, se ha obtenido información sobre especies endémicas, raras o en riesgo, que ha ayudado a evaluar su estatus de amenaza, y así poder reducir el riesgo de extinción (Haig 1998; Frankham *et al.* 2010). La familia Cactaceae a pesar de tener un gran número de especies en México (660, Ortega-Baes y Godínez-Álvarez 2006), ha sido poco estudiada en este tema, y la mayoría de las especies han sido analizadas con isoenzimas (Hamrick *et al.* 2002; Figueredo *et al.* 2010). En las especies estudiadas de los géneros *Stenocereus*, *Polaskia*, *Escontria*, *Pilosocereus* y *Cereus* se ha encontrado que a pesar de tener una distribución restringida, presentan valores moderados o altos de diversidad genética, y una diferenciación genética poblacional baja, a pesar de tener tamaños poblacionales pequeños (Moraes *et al.* 2005) o estar bajo algún tipo de manejo antropogénico (Casas *et al.* 2005; Otero-Arnaiz *et al.* 2005; Tinoco *et al.* 2005; Parra *et al.* 2008).



---

El flujo de genes en dichas especies a través de polen es mediado por murciélagos, esfíngidos o colibríes, los cuales vuelan largas distancias, y debido a esto mantienen conectadas genéticamente a las poblaciones (Hamrick *et al.* 2002; Clark-Tapia y Molina-Freaner 2003; Clark-Tapia *et al.* 2005; Nassar *et al.* 2003; Oaxaca-Villa *et al.* 2006; Figueredo *et al.* 2010). En las especies del género *Melocactus*, se han estimado valores de moderados a altos de diversidad genética, pero con niveles significativos de endogamia y valores bajos o altos de estructuración genética entre sus poblaciones (Nassar *et al.* 2001; Lambert *et al.* 2006; Mota-Lambert *et al.* 2006). Los autores de estos estudios sugieren también que tal diferenciación se debe al comportamiento de sus polinizadores (abejas y colibríes) y dispersores (lagartijas), los cuales pueden promover una diferenciación genética entre parches de individuos y entre poblaciones (Nassar *et al.* 2001; Nassar y Ramírez 2004).

Los estudios de genética poblacional realizados en cactáceas con forma de crecimiento globoso son escasos. Estas especies han sido descritas en su diversidad y estructura poblacional con microsatélites. En *Astrophytum asterias* (Terry *et al.* 2012) se documentó una alta diversidad alélica, valores moderados de endogamia, y baja estructuración genética, y esto se relacionó con la reproducción cruzada obligada que presenta, así como a su limitada dispersión de polen (Blair y Williamson 2008; Blair y Williamson 2010). En el caso del género *Mammillaria*, se registró una diversidad alélica alta, con valores altos de endogamia en *M. crucigera* (Solórzano *et al.* 2009), o intermedios, como en *M. napina*, *M. sphacelata* (Tapia 2011) y *M. supertexta* (Cuevas 2013), con moderada diferenciación genética. Estos resultados han sido atribuidos a sus tamaños poblacionales pequeños, y posiblemente a su mecanismo de polinización, pues aunque se desconoce se ha inferido que sus polinizadores pueden ser insectos generalistas como abejas, como se documentó para *M. gaumeri* (Giovanetti *et al.* 2007).

La situación de poco o escaso conocimiento sobre la biología, ecología y genética es común en todo el género *Mammillaria*, a pesar de ser uno de los géneros más



representativos de la familia Cactaceae, con 171 especies (Anderson 2001), de las cuales 113 son especies endémicas de México (Guzmán *et al.* 2003).

Este género se distribuye desde el sur de los Estados Unidos, todo México, Caribe, América Central y Sudamérica (Bravo-Hollis 1978; Cullmann *et al.* 1986; Pilbeam 1999). A nivel nacional, 109 especies están bajo alguna categoría de protección (DOF 2010), y a nivel internacional se reconocen más de 100 especies de este género en la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN 2013), y en el CITES Apéndice I se registran dos especies, mientras que el resto de las especies del género está en el Apéndice II (CITES 2013).

La vulnerabilidad de las especies de este género se refleja en las diferentes etapas de su ciclo de vida. La tasa de germinación y la sobrevivencia de plántulas en campo han resultado de cero en períodos de uno o dos años en especies como *M. dixanthocentron* (Ramos 2007), *M. supertexta* (Avendaño 2007), *M. crucigera* (Contreras y Valverde 2002) y *M. magnimamma* (Valverde *et al.* 2004). En especies como *M. huitzilopochtli* este fenómeno se presenta en uno hasta cinco años (Flores-Martínez *et al.* 2008; 2010) y en otros casos como en *M. gaumeri* se considera que es del 1 % en un período de tres años (Ferrer-Cervantes *et al.* 2012). En esta última especie, la baja tasa de establecimiento de las plántulas, según los autores se debe a que tiene requerimientos muy específicos de elementos abióticos como nutrientes del suelo, luz y agua (Cervera *et al.* 2006). Además de estos requerimientos abióticos, algunas especies como *M. gaumeri* (Leirana-Alcocer y Parra-Tabla 1999), *M. carnea* (Rodríguez y Ezcurra 2000), *M. oteroi* (Martínez *et al.* 2001) y *M. magnimamma* (Valverde *et al.* 2004), requieren de una planta arbustiva (nodriza) para el establecimiento de sus plántulas. En otras especies como *M. dixanthocentron* y *M. supertexta* (Peters y Martorell 2001) se ha documentado que las rocas pueden llegar a cubrir esta función de nodriza. Sin embargo, algunas especies pueden estar asociadas a cualquiera de las dos condiciones (arbusto o roca), como *M. huitzilopochtli* (Flores-Martínez *et al.* 2008) y *M. kraehenbuehlii* (Peters y Martorell 2001; Flores-Martínez *et al.* 2002).



---

Algunas especies del género, como *M. herrerae*, *M. solisioides*, *M. napina* y *M. pectinifera*, presentan una retención de semillas en los tallos (serotinia) (Rodríguez-Ortega y Franco 2001), lo que ha sido considerado como una amenaza para su continuidad, ya que se ha documentado que solo en ciertas condiciones ambientales (alta precipitación) se incrementa la cantidad de frutos expulsados y por lo tanto de posibilidades de reclutamiento de nuevos individuos (Peters *et al.* 2009; Rodríguez-Ortega *et al.* 2006).

Los requerimientos específicos en las primeras etapas de desarrollo, se refleja en la tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ ). Tal es el caso de *M. crucigera* (Contreras y Valverde 2002), *M. pectinifera* (Valverde y Zavala-Hurtado 2006) y *M. huitzilopochtli* (Flores-Martínez *et al.* 2010) que presentan valores menores a la unidad, lo que sugiere que las poblaciones van en declive. Por su parte, la tasa de crecimiento poblacional mayor a uno, como en *M. dixanthocentron* (Ramos 2007) y *M. supertexta* (Avendaño 2007), se ha interpretado como una consecuencia de que sus poblaciones se mantienen en equilibrio con tendencia al crecimiento, mientras que en *M. gaumeri* se considera que ese valor de  $\lambda$  es porque las poblaciones pueden reclutar un gran número de individuos bajo determinadas condiciones ambientales (Ferrer-Cervantes *et al.* 2012).

La densidad poblacional de las especies de *Mammillaria* en general presenta valores bajos, comparados con otras especies de cactáceas (Valverde 2000; Ramos 2007; Flores-Martínez *et al.* 2008; Valverde *et al.* 2009; Valencia-Díaz *et al.* 2012). En contraste la estructura de tamaños de sus poblaciones, al igual que en otras cactáceas, se ve mayormente representada por individuos adultos (Godínez-Álvarez *et al.* 2003). En la última década, la respuesta de la densidad y estructura de tamaños de las poblaciones de las especies del género *Mammillaria* ha sido analizada, debido a que sus hábitats están sujetos a disturbios antropogénicos (Peters y Martorell 2001). En algunas especies del género, como en *M. supertexta*, se registra que la densidad poblacional se ve influenciada negativamente por las actividades humanas, y en el caso de *M. pectinifera* por la degradación del suelo, mientras que el pastoreo puede ser benéfico para otras como



*M. dioxanthocentron* y *M. kraehenbuehlii*. Por su parte en *M. solisioides* una intensidad intermedia o baja de disturbio, da como resultado un incremento en su densidad poblacional (Martorell y Peters 2005; Martorell y Peters 2008). Sin embargo, en otras cactáceas globosas, como *Echinocereus lindsayi*, la densidad poblacional se incrementa con la intensidad de disturbio, aunque no es una relación lineal, ya que cuando la intensidad de disturbio es muy alta, la densidad y el tamaño poblacional empiezan a declinar (Martorell *et al.* 2012). Además del disturbio, el fuego también representa una amenaza para la sobrevivencia de las poblaciones de algunas especies del género *Mammillaria*, pues en simulaciones donde la frecuencia del fuego aumenta, la probabilidad de persistencia de la población disminuye (Valverde *et al.* 2004). Otras simulaciones, como las de cambio climático, dan como resultado la desaparición de algunas especies, o la reducción de la extensión de sus poblaciones en un 50 % a un 90 %, en un ambiente con 2 °C más al actual, y 15 % menos de lluvia (Téllez-Valdés y Dávila-Aranda 2003).

Debido al gran número de especies que engloba este género, y a la situación crítica en la que se encuentra es importante conocer más acerca de sus aspectos genéticos y ecológicos. En esta tesis, el modelo biológico utilizado fue la cactácea globosa-depresa *Mammillaria zephyranthoides* Scheidweiler, una especie endémica de México (Arias *et al.* 2012), incluida en la categoría de Amenazada en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF 2010) y en la categoría de Preocupación Menor en la Lista Roja de la IUCN (Fitz-Maurice *et al.* 2013). Esta especie se distribuye desde San Luis Potosí hasta Oaxaca (Arias *et al.* 2012). Existen 13 registros de ejemplares en el Herbario Nacional, cuatro poblaciones documentadas por Peters y Martorell (2001), y una población más documentada por Navarro y Juárez (2006). La densidad promedio poblacional para esta especie es de 1.14 individuos/m<sup>2</sup> (Navarro y Juárez 2006), sin embargo no existen más datos para esta especie, por lo que se pretende conocer su diversidad y estructura genética poblacional, así como los aspectos ecológicos que se relacionan con estos atributos, como su densidad poblacional y la estructura de tamaños.



---

## HIPÓTESIS

Dados los atributos ecológicos de *M. zephyranthoides* referidos anteriormente, se espera que su diversidad genética sea baja, debido a que en poblaciones pequeñas la deriva génica disminuye la riqueza alélica, con la fijación o eliminación de alelos, y a que la endogamia se incrementa en las poblaciones con un número bajo de individuos en un área pequeña. La estructura genética se espera que sea alta, ya que sus poblaciones se encuentran alejadas geográficamente; suponemos que sus polinizadores son abejas, lo que tiene como consecuencia que haya un flujo génico bajo entre sus poblaciones.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Analizar atributos genéticos y ecológicos poblacionales de *Mammillaria zephyranthoides* en Polotitlán, Estado de México y Nochixtlán, Oaxaca, con la intención de contribuir al conocimiento de la especie y para su conservación.

### Objetivos particulares

Estimar la diversidad genética de *Mammillaria zephyranthoides* en las dos poblaciones, para inferir las causas evolutivas y ecológicas que la determinan.

Estimar el flujo génico entre las poblaciones de *Mammillaria zephyranthoides*, con la finalidad de conocer la contribución de este proceso evolutivo a la estructura genética de esta especie.

Describir la estructura de tamaños de *Mammillaria zephyranthoides* en Polotitlán, Estado de México y Nochixtlán, Oaxaca, para inferir cómo es el reclutamiento y el número de individuos reproductivos en estas poblaciones.



---

## MÉTODOS

### Área de Estudio

Para la realización de esta tesis se visitaron dos poblaciones (Fig. 1), una en el municipio de Polotitlán, Estado de México y la otra en Nochixtlán, Oaxaca, en adelante se les mencionará como Polotitlán y Nochixtlán, respectivamente. Estas poblaciones se localizaron en altitudes de entre 2392 a 2410 msnm, y a una distancia de menos de 10 km de un área urbana, y de una carretera principal. En las poblaciones estudiadas los individuos de *M. zephyranthoides* se ubicaron en un matorral xerófilo (Fig. 2). Este tipo de vegetación cubre aproximadamente un 40 % de la superficie de México, y al ser zonas áridas la textura del suelo es comúnmente arenosa, aunque también se presentan suelos pedregosos (Rzedowski 2006).

En Polotitlán se presenta una precipitación media anual de 695.1 mm, y una temperatura media de 14.5 °C (SMN 2013), por lo que su clima se considera como templado subhúmedo (INEGI 2009a). Por su parte, el clima de Nochixtlán se considera semiseco templado (INEGI 2009b), y presenta una precipitación media anual de 328.3 mm, y una temperatura media de 15.7 °C (SMN 2013) (Fig. 3). Por las condiciones anteriores, tipo de vegetación, estrés hídrico y aridez, se dice que estas regiones pueden presentar una alta riqueza de especies de cactáceas (Rzedowski 2006). En las dos poblaciones estudiadas se han registrado especies de los géneros *Coryphantha*, *Ferocactus*, *Mammillaria*, *Myrtillocactus* y *Opuntia* (Aquino 2008; Reyes 2009).

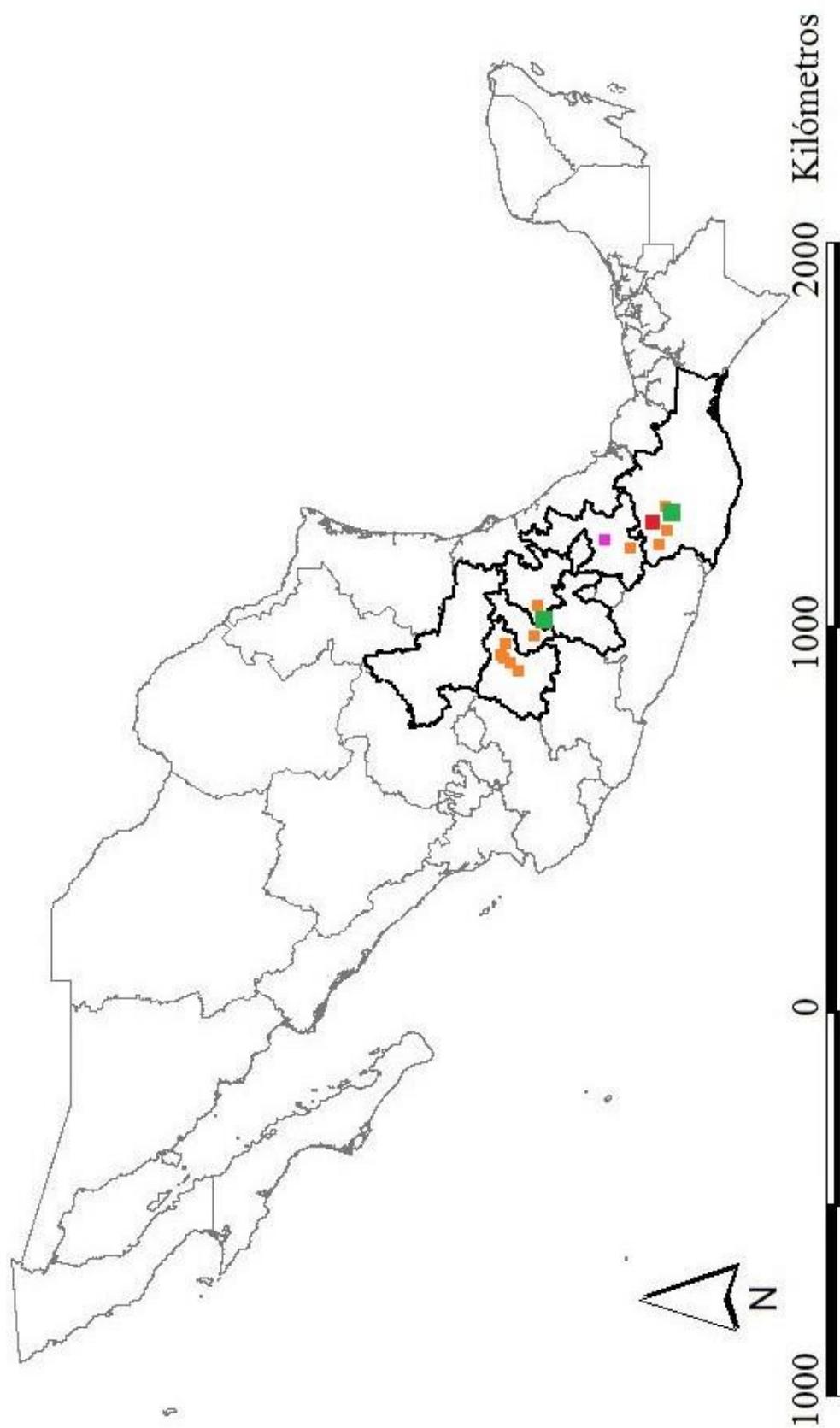


Fig. 1. Distribución geográfica de *M. zephyranthoides*. El perímetro de los estados donde se distribuye esta especie se remarca con negro, los registros del Herbario Nacional (MEXU) se muestran en un cuadro anaranjado, la población documentada por Navarro y Juárez (2006) en rosa, y las cuatro poblaciones documentadas por Peters y Martorell (2001) se engloban en un cuadro rojo. Las dos poblaciones muestreadas en esta tesis se marcan en color verde, Polotitlán al norte del Estado de México, y Nochixtlán al noroeste de Oaxaca.



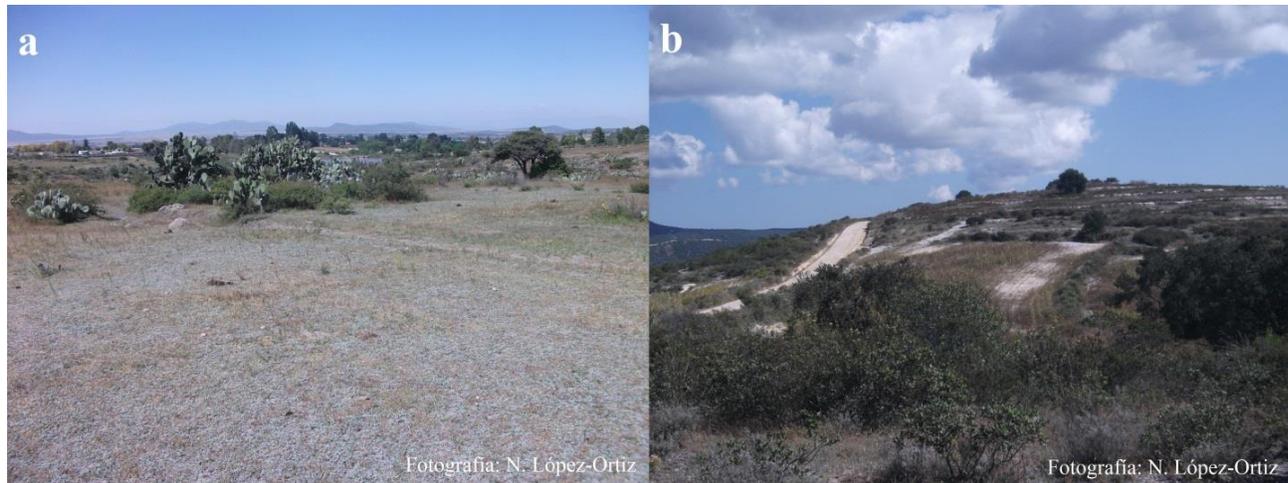


Fig. 2. Hábitat de *M. zephyranthoides* de los sitios de estudio. **a.** Polotitlán, los individuos se hallaron en una pendiente poco inclinada en medio de un potrero, **b.** Nochixtlán, la población se presentó en un sitio cercano a un camino de terracería, a un sembradío de maíz y a un basurero clandestino.

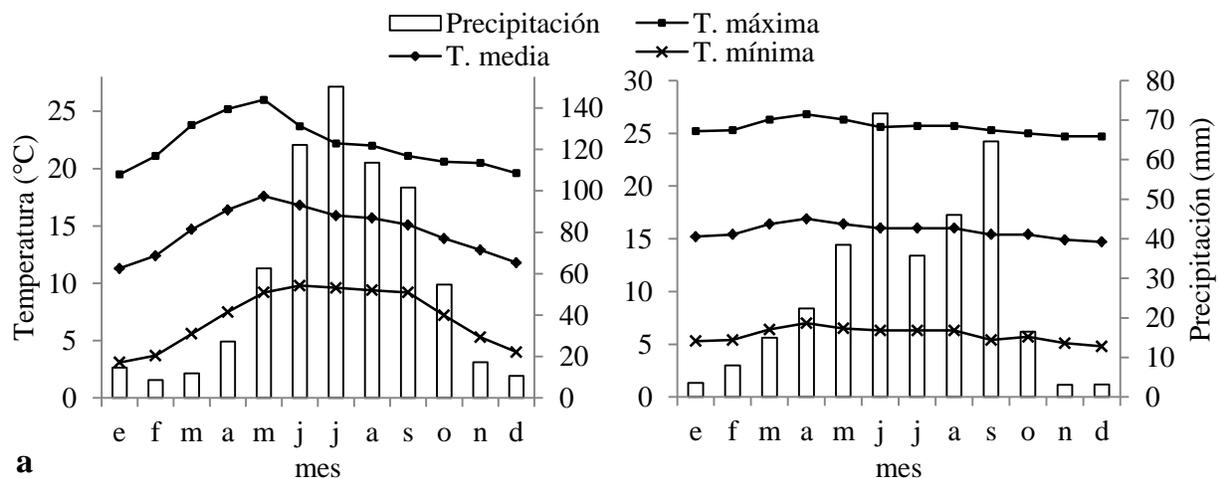


Fig. 3. Climogramas de las poblaciones estudiadas **a.** Polotitlán y **b.** Nochixtlán. Las líneas representan la temperatura (°C) en el eje primario, y las barras representan la precipitación (mm) referida en el eje secundario. Los datos provienen de registros hechos del año 1971 al 2000.

### Sistema biológico

La cactácea pequeña *Mammillaria zephyranthoides* Scheidweiler, es una especie endémica y amenazada de México (DOF 2010), que cuenta con una espina central roja ganchuda (o dos), y florece entre marzo y junio, tiene flores rosadas y produce frutos rojos (Pilbeam 1999; Arias *et al.* 2012).



La distribución de *M. zephyranthoides* se restringe a los matorrales xerófilos y a los pastizales, y crece sobre terrenos planos o con una pendiente poco inclinada con elevaciones de 1,800 a 2,400 msnm. Esta especie se distribuye en San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Estado de México, Puebla y Oaxaca (Fig. 1) (García 2010; Arias *et al.* 2012). De acuerdo a observaciones realizadas en esta tesis durante el trabajo de campo, los individuos llegan a medir hasta casi 11 cm de diámetro en la temporada de lluvias, con una altura de 0.5 cm a 2.5 cm (Fig. 4). Los individuos de *M. zephyranthoides* pueden producir de uno a 14 botones, aunque se observó que solo de uno a diez llegan a ser flores. La producción de frutos empieza en el mes de octubre y termina en marzo, y los individuos llegan a tener de cero a ocho frutos.



Fig. 4. Individuos de *Mammillaria zephyranthoides* en estado vegetativo **a**. En época de lluvias en Los Galvanes, Guanajuato **b**. En época de secas en Mineral de Pozos, Guanajuato.

## Trabajo de Campo

### Ubicación de las localidades

Para consultar los ejemplares de *M. zephyranthoides* se hizo una revisión en el Herbario Nacional (MEXU) del Instituto de Biología, UNAM. De los registros encontrados se anotaron las coordenadas geográficas (grados, minutos y segundos) y la altitud, para ubicarlas en un mapa y posteriormente visitar las localidades en el campo.



Con estos datos las poblaciones visitadas fueron Polotitlán en el Estado de México, Coixtlahuaca y Nochixtlán en Oaxaca, y de acuerdo con las referencias de Navarro y Juárez (2006), se visitó Cuauhtinchán, Puebla. De cada población visitada, se registraron las coordenadas y la altitud con un GPS (GARMIN®, Chicago, E.U.A.). Sin embargo, solo se encontraron individuos de *M. zephyranthoides* en Polotitlán y en Nochixtlán.

#### Análisis genéticos

En cada población se realizó un recorrido para localizar a los individuos de *M. zephyranthoides* y se colectaron muestras del tejido vegetativo de 20 individuos. Cada muestra consistió de tres a cinco mamilas, las cuales se etiquetaron y almacenaron individualmente a - 70 °C en nitrógeno líquido, y una vez en laboratorio se almacenaron a - 80 °C.

#### Densidad poblacional y estructura de tamaños

A partir de un muestreo dirigido se trazaron cuadros de 1 m<sup>2</sup> y se contaron a los individuos dentro de cada cuadro. En ambas poblaciones solamente se trazaron 13 cuadros, debido al número bajo de plantas, ya que se trató de contar y medir a todos los individuos de *M. zephyranthoides* en cada población. A cada individuo se midió su diámetro con un vernier para establecer la estructura de tamaños de la especie. Estas medidas se registraron en la temporada de secas, a finales de octubre de 2012, en Polotitlán, y a mediados de noviembre de 2012 en Nochixtlán.

#### Trabajo de Laboratorio

##### Extracción de ADN genómico total

Del material colectado, se pesaron de 70 a 100 mg de tejido por muestra, y se pulverizaron en un mortero de porcelana con nitrógeno líquido. El ADN genómico total se extrajo utilizando el DNeasy Plant Mini Kit de QIAGEN® (Qiagen, Alameda, E.U.A.). Para visualizar el ADN genómico total, se realizaron electroforesis en geles de agarosa al 0.8 %, teñidos con bromuro de etidio y se corrieron a 115 V durante 30 minutos.



---

Las bandas fueron reveladas con luz ultravioleta (UV) y la imagen del gel se obtuvo digitalmente con el programa AlphaImager 2000 (Alpha Innotech Corp., Washington, E.U.A.). Una vez visualizada la imagen, se guardaron todas las muestras de ADN genómico total a - 20 °C.

#### Amplificación de regiones microsatélite

Un total de siete loci de microsatélites se ensayaron en PCR individuales en un termociclador Mastercycler® (Eppendorf, Nueva York, E.U.A.), a una temperatura de desnaturalización de 94 °C durante 3 minutos, seguido de 30/35 ciclos de 10 segundos a 94 °C, alineamiento durante 10 segundos a la temperatura del oligonucleótido utilizado (Cuadro 1), polimerización a 72 °C por 10 segundos, y un ciclo de extensión final durante 5 minutos a 72 °C. Cada reacción de 10 µl contenía H<sub>2</sub>O desionizada, Buffer de PCR 10 x, MgCl<sub>2</sub> 4 mM, dNTPs 10 mM, Primer F a 10 mM, Primer R a 10 mM, BSA (Bovine Serum Albumin), Taq polimerasa 0.5 u y ADN genómico total.

La separación de los productos de microsatélites se realizó por electroforesis horizontal, en geles de agarosa al 1.2%, teñidos con bromuro de etidio al 0.5 µg/ml, utilizando un marcador de peso molecular de 100 pb Track It (Invitrogen, Carlsbad, E.U.A.) para estimar el tamaño de los fragmentos. El gel se dejó correr por 30 minutos a 90 V y posteriormente se visualizó con luz UV. Las imágenes digitales se obtuvieron con el programa AlphaImager2000 (Alpha Innotech Corp., Washington, E.U.A.), las cuales fueron guardadas para su análisis posterior. La electroforesis de las regiones microsatélites amplificadas, se realizó con oligonucleótidos F (5'-3') marcados con fluorocromos FAM o NED (Cuadro 1), en el secuenciador ABI PRISM™ 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, E.U.A.) del Instituto de Biología de la UNAM. Para determinar el tamaño de los alelos amplificados y la genotipificación de los individuos, se empleó el software Peak Scanner™ Version 1.0 (Applied Biosystems). Así se estableció el tamaño de los alelos, de acuerdo con el tamaño del fragmento en pares de bases.



Cuadro1. Nombre de los loci ensayados, su secuencia, la región microsatélite y el fluorocromo (FAM o NED) (tomado de Solórzano *et al.* (2009)), así como la temperatura de alineamiento en °C y el intervalo de tamaño del fragmento en pares de bases para *M. zephyranthoides*. Los loci MamVTC6 y MamVTC7 también fueron diseñados por Solórzano *et al.* (2009) para *M. crucigera* donde resultaron ser monomórficos, y su secuencia y la región repetida se publican por primera vez en esta tesis.

Nombre	Secuencia (5'-3')	Secuencia repetida en tándem	T. de alineamiento	Intervalo de tamaño
MamVTC2	F-FAM: TCTCACTGCCCGTTTTCTCT R: ACGGTGATGGTGGGTGTTAT	(CTTCTTCAT) <sub>4</sub> CTT <sub>4</sub> (CT) <sub>4</sub> C(T) <sub>14</sub>	58	169-183
MamVTC6	F-FAM: CTCCCTCCTCACCATCTTCC R: CCGAACATGACCTAGATGTGC	(TG) <sub>2</sub> TT(TG) <sub>5</sub>	57	243-262
MamVTC7	F-NED: CATAGGAATTAGGTTAATCAGAATAGT R: AGGTGCCTTAATTCCCACAA	(CCAAAA) <sub>4</sub> (GG(T) <sub>7</sub> ) <sub>2</sub>	53	197-233
MamVTC8	F-FAM: TCGATTATCTGCTGCTTCCA R: CCGAGAAAGCCCTAAACT	(GA) <sub>15</sub> GGG (GAA) <sub>5</sub>	58	153-168
MamVTC9	F-FAM: TGGATACGTGGCTCTTCGAT R: CCAAATGCCAATCCTCCTAA	(GT) <sub>3</sub> G(GT) <sub>3</sub>	60	165
MamVTC10	F-NED: CATTCTAGACATCATATCGCTCT R: TGAGACTCCACTCTATTTCTCT	(CT) <sub>8</sub> (CA) <sub>6</sub>	55	111-171
MamVTC12	F-NED: TGGGGAATGGGCTATGATTA R: CGGCGTTTATTAGCGGAATCT	(TC) <sub>4</sub> AT(TC) <sub>10</sub> (C) <sub>4</sub> TC(TG) <sub>4</sub>	58	203-247

## Análisis estadísticos

### Diversidad genética

Con el programa Arlequin Version 3.1 (Excoffier *et al.* 2007), se estimó la heterocigosidad observada ( $H_O$ ), la heterocigosidad esperada ( $H_E$ ) (Hedrick 2000), la diversidad alélica ( $N_a$ ) (Frankham *et al.* 2010) y el índice de Garza–Williamson (G-W), que estima la probabilidad de que en una población haya ocurrido un cuello de botella reciente (Garza y Williamson 2001). Con las siguientes fórmulas:



$$H_O = \frac{\sum N_{ij}}{N}$$

$N_{ij}$  = número de individuos heterocigotos

$N$  = número total de individuos

$$H_E = 1 - \sum p_i^2$$

$p_i$  = es la frecuencia del alelo *iésimo*

$$N_a = \frac{\text{número total de alelos en todos los loci}}{\text{número de loci}}$$

$$G - W = \frac{k}{R + 1}$$

$k$  = número de alelos de un loci en una población

$R$  = rango alélico

Para conocer el número de alelos exclusivos de cada población se utilizó el programa GDA (Lewis y Zaykin 2002). Por su parte, el número efectivo de alelos ( $A_E$ ), (Kimura y Crow 1964), considerado como el número de alelos necesarios para proveer la misma heterocigosidad si todos los alelos fueran igualmente frecuentes (Frankham *et al.* 2010), se calculó como:

$$A_E = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

$p_i$  = es la frecuencia de cada alelo

La cuantificación de la endogamia se realizó con el estadístico  $F_{IS}$  de Wright (1951), en el nivel de los individuos que conforman las subpoblaciones (Hedrick 2000):

$$F_{IS} = \frac{H_S - H_I}{H_S}$$



$H_S$  = heterocigosidad que se esperaría si la población estuviera en equilibrio Hardy-Weinberg (heterocigosidad esperada poblacional)

$H_I$  = heterocigosidad observada en una subpoblación en el tiempo del estudio

Con la fórmula de  $F_{IS}$  modificada por Nei (1977) se calculó el índice de endogamia a nivel de locus. De esta manera,  $H_S$  se refiere a la heterocigosidad esperada por locus y  $H_I$  a la heterocigosidad observada por locus.

### Estructura genética

El índice  $F_{ST}$  mide la variación de las frecuencias alélicas entre poblaciones, es decir, la diferenciación genética entre ellas (Allendorf y Luikart 2007). Sin embargo, en el caso de los microsatélites se emplea su análogo, el índice  $R_{ST}$  (Slatkin 1995). Para la interpretación de este índice, se considera que si el valor obtenido es de 0 a 0.05 la diferenciación genética es baja, si el valor es de 0.05 a 0.25 hay una moderada diferenciación genética, mientras que los valores por encima de 0.25 indican una diferenciación genética alta (Freeland *et al.* 2011). Para obtener el valor de flujo génico ( $Nm$ ) se utilizó la ecuación propuesta en el modelo de islas (Hedrick 2000). Esta ecuación supone un equilibrio entre flujo génico y deriva génica, lo que quiere decir que la tasa de mutación es poco significativa comparada con la tasa de migración.

$$Nm = \frac{(1 - F_{ST})}{4F_{ST}}$$

Aunado a esto se calculó la distancia geográfica entre las poblaciones con la aplicación Longitude Latitude Distance Calculator ver. 4.2.3 (CGN 2013).

### Estructura de tamaños y densidad poblacional

La densidad de individuos se calculó como el número promedio de plantas de *M. zephyranthoides*/m<sup>2</sup>. Para comparar ambas densidades poblacionales se hizo una prueba de *t*, con el programa SPSS (Statistical Analysis Software Predictive, Nueva York, E.U.A.).



---

Con los diámetros medidos en campo, se obtuvieron seis categorías de tamaños:  $< 1.30$  cm,  $1.31 - 2.61$  cm,  $2.62 - 3.92$  cm,  $3.93 - 5.23$  cm,  $5.24 - 6.54$  cm y  $> 6.55$  cm, al utilizar la fórmula de  $k = 1 + 3.322 (\log n)$ , donde  $k$  corresponde al número de intervalos de clase y  $n$  es el número de observaciones que se quieren agrupar (Daniel 2002). Para obtener el intervalo de tamaño entre cada clase se utilizó la fórmula  $C = R / k$ , donde  $R$  es la resta del diámetro mayor menos el diámetro menor registrado, y  $k$  es el número de clases obtenido previamente. Para conocer si existían diferencias en las frecuencias de cada categoría en las poblaciones y entre poblaciones, se utilizó la prueba de ji cuadrada ( $\chi^2$ ) (Daniel 2002), con el programa SPSS (Statistical Analysis Software Predictive, Nueva York, E.U.A.).



## RESULTADOS

### Diversidad y estructura genética

De los siete loci ensayados, seis resultaron ser polimórficos y uno monomórfico (MamVTC9). El locus MamVTC6 amplificó solo para los individuos de Polotitlán y debido a esto fue descartado del análisis genético. Así los análisis estadísticos se basaron en cinco loci, que resultaron en una riqueza alélica de 30 alelos, y una diversidad alélica ( $N_a$ ) de cinco alelos. En general, se presentaron una gran cantidad alelos con frecuencias alélicas muy bajas, y solo un alelo en cada población con una frecuencia mayor a 0.5 (Fig. 5). La heterocigosidad total esperada para las dos poblaciones fue alta ( $H_T = 0.735$ ).

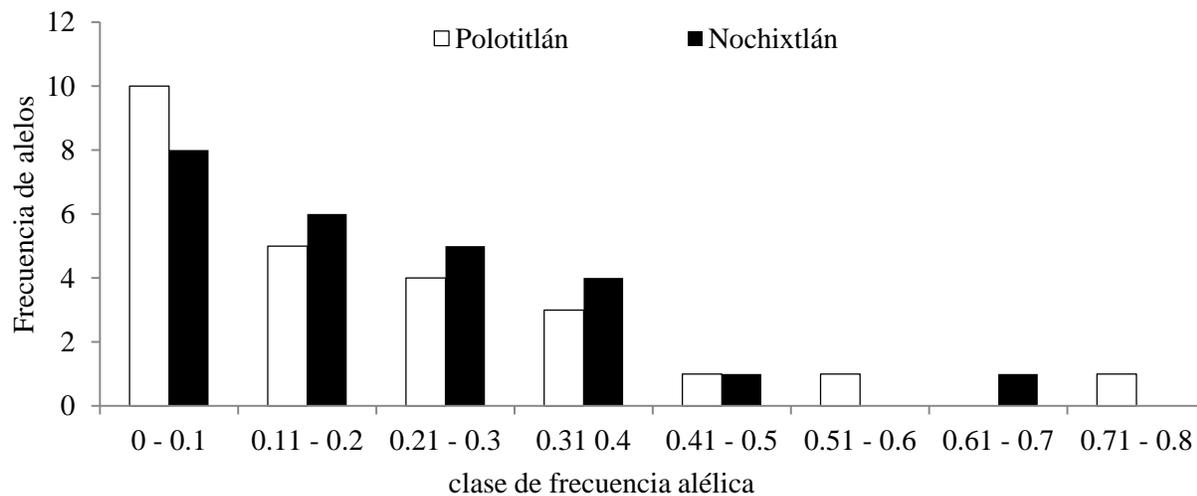


Fig. 5. Distribución de las frecuencias alélicas de los cinco loci polimórficos en las dos poblaciones estudiadas.

En Polotitlán se presentaron cinco alelos exclusivos con frecuencias desde 0.025 (alelo 233 en el MamVTC7), hasta frecuencias de 0.250 (alelo 203 en el MamVTC12). Para todos los loci, los valores de heterocigosidad esperada fueron menores que los de heterocigosidad observada, y esto se reflejó en los valores negativos de endogamia (Cuadro 2). A nivel poblacional se estimó la misma tendencia ( $H_E = 0.65$ ,  $H_O = 0.78$ ,  $F_{IS} = -0.185$ ). Los valores del índice de Garza-Williamson fueron en su mayoría menores a 0.2, a excepción de locus MamVTC8.



Cuadro 2. Diversidad genética de *M. zephyranthoides* en las dos poblaciones estudiadas. Número total de alelos por locus ( $N_T$ ), número efectivo de alelos por locus ( $A_E$ ), heterocigosidad observada ( $H_O$ ), heterocigosidad esperada ( $H_E$ ), índice de endogamia ( $F_{IS}$ ), valor de significancia para la prueba de Hardy-Weinberg ( $p$ ) (el asterisco indica que hay desequilibrio) e índice de Garza-Williamson ( $M$ ).

Locus	Polotitlán							Nochixtlán						
	$N_T$	$A_E$	$H_O$	$H_E$	$F_{IS}$	$p$	$M$	$N_T$	$A_E$	$H_O$	$H_E$	$F_{IS}$	$p$	$M$
MamVTC2	3	1.63	0.5	0.39	-0.26	0.633	0.200	3	2.74	0.3	0.65	0.53	0.000*	0.200
MamVTC7	7	4.52	0.85	0.79	-0.06	0.020*	0.189	4	3.72	0.75	0.75	0	0.079	0.181
MamVTC8	5	2.83	0.75	0.66	-0.13	0.649	0.600	5	3.09	0.85	0.69	-0.22	0.391	0.312
MamVTC10	5	2.73	0.85	0.65	-0.3	0.002*	0.096	7	5.33	0.85	0.83	-0.02	0.088	0.114
MamVTC12	7	4.3	0.95	0.75	-0.2	0.067	0.155	6	2.09	0.60	0.53	-0.11	0.013*	0.142

En la población de Nochixtlán también se presentaron cinco alelos exclusivos. De éstos dos tuvieron una frecuencia de 0.35 y 0.40 (alelos 164 y 168 en el locus MamVTC8), mientras que otro presentó una frecuencia muy baja, 0.050 (alelo 115 en el MamVTC10). Algunos loci presentaron una heterocigosidad esperada menor o igual que la heterocigosidad observada (Cuadro 2). En promedio para la población, la heterocigosidad esperada ( $H_E = 0.69$ ) resultó ser mayor que la observada ( $H_O = 0.67$ ), por lo que el valor de  $F_{IS}$  resultó ser ligeramente superior al cero (0.032). Para el índice de Garza-Williamson por locus, se estimaron valores menores a 0.2.

La diferenciación genética entre Polotitlán y Nochixtlán fue moderada, aunque significativa ( $R_{ST} = 0.05319$ ,  $p = 0.0004$ ). Esto se ve reflejado en el valor alto de flujo génico obtenido ( $Nm = 4.4$ ).

#### Densidad poblacional y estructura de tamaños

En Polotitlán se contaron un total de 27 individuos, que distribuidos en el área de estudio presentaron una densidad poblacional de 1.77 individuos/m<sup>2</sup>, que variaron de 2.47 cm a 7.83 cm de diámetro ( $\bar{X} = 4.77 \pm 1.45$  cm). La categoría del diámetro más pequeña no presentó ningún individuo, y junto con las dos categorías de tamaño siguientes, presentaron una frecuencia esperada mayor que la frecuencia observada (Fig. 6).



En las siguientes tres categorías de diámetro ocurrió lo contrario, por lo que las frecuencias observadas y esperadas en la población fueron estadísticamente diferentes ( $\chi^2 = 7.44$ ,  $gl = 3$ ).

En Nochixtlán en total se contaron 25 individuos, que dio como resultado una densidad poblacional de 1.62 individuos/m<sup>2</sup>. En esta población los diámetros variaron entre 0.37 cm y 6.25 cm ( $\bar{x} = 3.12 \pm 1.28$ cm), y se estimó una mayor frecuencia de individuos de menos de 3.92 cm (80 %) con respecto a los individuos de mayor diámetro. Al comparar estas frecuencias, resultaron ser estadísticamente diferentes ( $\chi^2 = 8.03$ ,  $gl = 3$ ).

Al comparar las poblaciones, la densidad poblacional de Polotitlán fue mayor ( $t_{\alpha=0.05} = 22$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0.028$ ), aunque el área de muestreo fue relativamente pequeña en ambas poblaciones ( $< 500$  m<sup>2</sup>). Las frecuencias observadas y esperadas por categoría de tamaño son estadísticamente diferentes entre estas poblaciones ( $\chi^2 = 15.47$ ,  $gl = 5$ ).

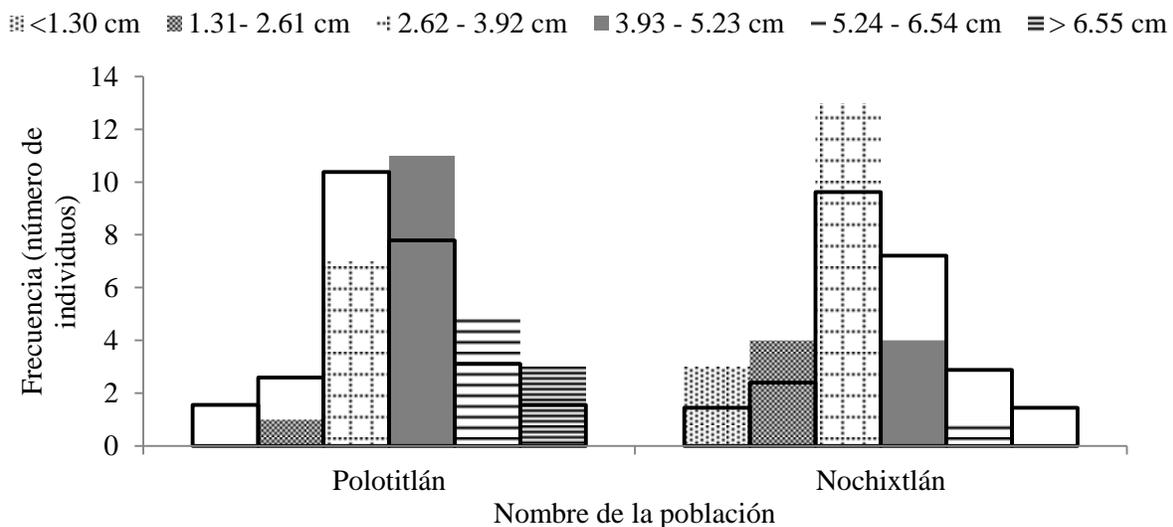


Fig. 6. Número de individuos observados (barras con tramas) y esperados (barras transparentes) para cada categoría de tamaño.



---

## DISCUSIÓN

Contrariamente a lo observado en especies con distribución amplia (Hamrick y Godt 1989; Nassar *et al.* 2002; 2003), en las dos poblaciones estudiadas de *M. zephyranthoides* se presentó una diversidad alélica baja. Respecto a otras especies del género y de otros cactáceas globosas estudiadas con microsatélites también se observó este resultado (Cuadro 3). No obstante, en esta tesis se analizó un menor número de muestras y de loci que en otras investigaciones.

Las frecuencias alélicas de cada locus estudiado mostraron que un alelo común llegó a presentar frecuencias de hasta 0.75, o bien dos alelos que en conjunto sumaron 0.8. Esta tendencia ha sido observada también en otras especies de cactáceas (Hamrick *et al.* 2002; Nassar *et al.* 2002), y puede atribuirse al efecto de la deriva génica, ya que esta fuerza evolutiva determina que las frecuencias alélicas sean muy bajas para algunos alelos (casi iguales a cero) y para otros sean muy altas (de casi 1) en poblaciones con tamaño pequeño (Barret y Kohn 1991; Ellstrand y Ellam 1993; Hedrick 2000). El término poblaciones pequeñas se puede aplicar si el tamaño efectivo poblacional es menor a 100 individuos, ya que algunas fuerzas evolutivas pueden reducir drásticamente la diversidad genética en pocas generaciones (Primack 2000; Allendorf y Luikart 2007).

Por lo anterior, es posible llamar poblaciones pequeñas a Polotitlán y Nochixtlán, debido a que se encontró un número bajo de individuos, 27 y 25, respectivamente. Este tamaño poblacional dio como resultado una densidad de 1.69 individuos/m<sup>2</sup> en un área de ocupación real de 130 m<sup>2</sup> en cada población. La densidad poblacional que presenta la especie en las dos poblaciones puede considerarse baja respecto a otras especies del género *Mammillaria* (Cuadro 4). Esto podría deberse a que el número de cuadros realizados fue menor, esto como resultado de su distribución agregada. A pesar de que se recorrió el potrero donde se ubicó la población de Polotitlán ( $\approx$  1ha) y la zona de una pendiente poco inclinada en Nochixtlán, solo se encontraron a esos individuos, pero el número de plantas en cada población podría ser mayor al registrado en el muestreo,



puesto que la observación de estos individuos en época de secas resulta complicada ya que las mamilas pierden turgencia y los individuos se encuentran prácticamente enterrados en el suelo, lo que los hace poco visibles, comportándose así como una planta geófito.

Cuadro 3. Diversidad genética de especies del género *Mammillaria* y de otras cactáceas globosas estudiadas con microsátélites. Número de muestras y loci analizados en el estudio, heterocigosidad observada ( $H_o$ ), heterocigosidad esperada ( $H_E$ ), diversidad alélica ( $N_a$ ) e índice de endogamia ( $F_{IS}$ ).

Especie	No. de muestras	No. de loci	$H_o$	$H_E$	$N_a$	$F_{IS}$	Referencia
<i>Echinocactus grusonii</i>	30	12	0.55	0.483	3.3	-	Hardesty <i>et al.</i> 2008
<i>Ariocarpus bravoanus</i>	20	8	0.574	0.574	5.6	-	Hughes <i>et al.</i> 2008
<i>M. crucigera</i>	40	8	0.32	0.72	8.87	0.605	Solórzano <i>et al.</i> 2009
<i>M. napina</i>	80	4	0.774	0.722	4.3	0.331	Tapia 2011
<i>M. sphacelata</i>	98	4	0.677	0.699	9.4	0.105	Tapia 2011
<i>Coryphantha robustispina</i> spp. <i>robustispina</i>	30	10	0.664	0.595	7.9	-	Butterworth 2011
<i>Astrophytum asterias</i>	142	7	0.64	0.695	9.9	0.086	Terry <i>et al.</i> 2012
<i>M. supertexta</i>	100	5	0.73	0.814	8	0.08	Cuevas 2013
<i>M. zephyranthoides</i>	40	5	0.725	0.675	5	0.077	Presente tesis

Los tamaños poblacionales reducidos, el área de ocupación y la distribución discontinua que se documenta para esta especie, sugieren una especificidad al hábitat. En *M. crucigera* (Contreras y Valverde 2002) y en *M. pectinifera* (Zavala-Hurtado y Valverde 2003) se ha mencionado que el tipo de suelo es determinante para su establecimiento. A pesar de que *M. zephyranthoides* se ha considerado como generalista al tipo de sustrato (Bárceñas 1999), esta especie se encontró en suelos planos y profundos, y estas características pueden ser determinantes para su distribución, así como los nutrientes del suelo. Sin embargo hace falta investigar más al respecto.



Cuadro 4. Densidad poblacional (individuos/m<sup>2</sup>) de especies de *Mammillaria*.

Especie	No. de poblaciones	Densidad poblacional	Referencia
<i>M. napina</i>	4	2.39	Tapia 2011
<i>M. supertexta</i>	5	1.42	Cuevas 2013
<i>M. zephyranthoides</i>	2	1.69	Presente tesis
<i>M. albiflora</i>	1	3	Cruz-Santos, en preparación
<i>M. solisioides</i>	5	9.29	Macías-Arrastio, en preparación
<i>M. rekoii</i>	2	1.76	Quezada, en preparación

Respecto a la diversidad genética medida desde la heterocigosidad, en promedio para las dos poblaciones la heterocigosidad observada fue mayor que la heterocigosidad esperada, lo que indica que existe un exceso de heterocigotos. Este resultado también se ve reflejado en los valores negativos de endogamia, que sugieren un déficit de homocigotos. En investigaciones con plantas silvestres, así como en simulaciones numéricas donde se ha encontrado un exceso de heterocigotos, se han propuesto diversas hipótesis para explicar estos resultados. Una de ellas menciona que en las poblaciones pequeñas con un sistema reproductivo de entrecruzamiento se incrementa la posibilidad de un exceso de heterocigotos (Stoeckel *et al.* 2006; Rasmussen y Kollmann 2008), o bien, el sistema reproductivo de entrecruzamiento por si solo ocasiona este exceso (Elshibli y Korpelainen 2008). En lo que se refiere al sistema reproductivo, no se tiene certeza de que *M. zephyranthoides* presente entrecruzamiento obligado, pero de acuerdo a lo observado en campo, esta especie produce una mayor cantidad de frutos con este tipo de reproducción. Además su estructura floral sugiere que no existe autopolinización, ya que el estigma está por encima de las anteras (Crawley 1997) (Fig. 7).

Otra hipótesis para explicar el exceso de heterocigotos es que la selección favorece a estos individuos (Stoeckel *et al.* 2006; Rasmussen y Kollmann 2008; Jugran 2011), pero ésta no se puede apoyar pues los microsatélites son marcadores neutrales (Jarne y Lagoda 1996). Además de estas hipótesis acerca del exceso de heterocigotos, se ha mencionado que una alta frecuencia de visitas de polinizadores está relacionada con los valores altos de heterocigosidad observada (Silva-Montellano y Eguiarte 2003). Para que exista un



mayor número de visitas de polinizadores se requiere una alta disponibilidad de polen (Hander 1983). En la población donde se hicieron observaciones acerca de la fenología de esta especie, se observó lo anterior, ya que se registró una sincronía en la antesis floral, cada individuo presentó de una a ocho flores en antesis, y se observaron abejas y coleópteros en las flores de esta especie. No se conoce si estos insectos son visitantes o polinizadores, pero se sabe que éstos polinizan cactáceas globosas y barriliformes (McIntosh 2005; Giovanetti *et al.* 2007; Martínez-Peralta y Mandujano 2011). (Fig. 7).



Fig. 7. Individuo de *M. zephyranthoides* en floración, en Mineral de Pozos, Guanajuato. La flecha indica la posición del estigma, y los círculos encierran los granos de polen más visibles. En las flores de lado derecho se pueden observar coleópteros.

Los resultados anteriormente presentados, podrían reflejar un cuello de botella poblacional, pues cuando ocurre este evento, el número de alelos disminuye ya que es más sensible a fluctuaciones demográficas, y la heterocigosidad puede mantenerse (Allendorf y Luikart 2007). Los cuellos de botella son resultado de una disminución drástica en el tamaño poblacional, debido a procesos demográficos o ambientales (Ellstrand y Ellam 1993). En *M. zephyranthoides* esto se apoya por los valores obtenidos para el índice de Garza-Williamson, ya que en ambas poblaciones son menores a 0.6, y se dice que entre menor sea el valor de este índice, mayor es la probabilidad de que haya ocurrido una reducción en el número de individuos (Garza y Williamson 2001).



En algunas cactáceas se ha observado también este evento, y se ha mencionado que es posible que dicha reducción del tamaño poblacional se deba a la ubicación de las poblaciones en áreas con disturbios (basureros, junto a carreteras o áreas para la agricultura) (Lambert *et al.* 2006; Mota-Lambert *et al.* 2006). Estos disturbios también fueron observados en las poblaciones de *M. zephyranthoides*.

Los datos ecológicos, referentes a la estructura de tamaños poblacional que presenta *M. zephyranthoides*, explican también el exceso de heterocigotos de acuerdo a lo propuesto por Kimura (1983), quien menciona que si el tamaño efectivo de la población aumenta, también aumentará la heterocigosidad, bajo el supuesto de selección neutra (Fig. 8). De acuerdo a observaciones de campo en la época de secas, los individuos de *M. zephyranthoides* presentan estructuras reproductivas a partir de los 2.7 cm. Con este conocimiento en Polotitlán se infirió que el 96 % de la población son adultos, mientras que en Nochixtlán es cerca del 72 %, estos valores nos sugieren un tamaño efectivo poblacional alto, lo que concuerda con los valores altos de heterocigosidad observada.

Con la estimación de un gran número de individuos adultos se esperaría un gran número de individuos de tallas pequeñas. Sin embargo, los resultados indican que los individuos menores a 1.3 cm de *M. zephyranthoides* no estuvieron presentes en Polotitlán y solo representaron el 12 % en la población de Nochixtlán. Esta tendencia de déficit de individuos pequeños (plántulas) se observa en general en las cactáceas (Álvarez *et al.* 2004; Valverde *et al.* 2004; Mandujano *et al.* 2007; Ramos 2007; Matías-Palafox 2007; Bravo 2011; López 2012), y se ha sugerido que es debido a que el reclutamiento de plántulas ocurre a pulsos, y se relaciona con la baja frecuencia de condiciones favorables (precipitación), así como con la depredación y la competencia (Godínez-Álvarez *et al.* 2003; Jiménez-Sierra *et al.* 2007; Flores-Martínez *et al.* 2010; Portilla-Alonso y Martorell 2011; Ferrer *et al.* 2012; Martorell *et al.* 2012; Zepeda-Martínez *et al.* 2013). Además de estas características abióticas, el establecimiento de una plántula proveniente de una semilla, está relacionado con procesos que incluyen desde la polinización, el desarrollo de la semilla (como la posición de la semilla en el fruto, la edad de la semilla), la dispersión,



y la germinación (Hutchings 1997; Van Rheede y Van Rooyen 1998). Por esta razón, la presencia o ausencia de plántulas depende no solamente de la disponibilidad de las semillas, sino también de la frecuencia de sitios seguros que provean condiciones precisas que requiere la semilla en particular (Harper 1977).

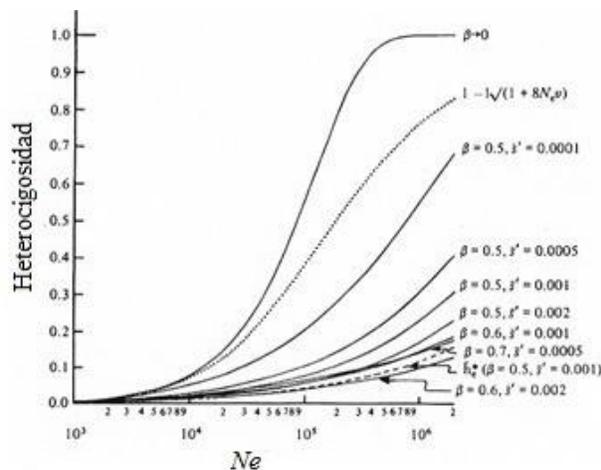


Fig. 8. Relación entre el tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) y el promedio de heterocigosidad por locus. Las líneas representan tasas de mutación distintas. Tomado de Kimura (1983).

Los individuos adultos ( $> 6.55$  cm) al igual que las plántulas también presentaron una baja frecuencia. Esto contrasta con lo encontrado en otras cactáceas, en quienes se ha sugerido que la mortalidad de las plantas disminuye conforme incrementa su tamaño (Contreras y Valverde 2002; Esparza-Olguín *et al.* 2002; Godínez-Álvarez *et al.* 2003). Un déficit de individuos adultos también se observó en *M. eriacantha*, y se sugirió que esto se deba al saqueo, ya que las flores de esta especie son muy bellas y vistosas, lo que facilita su comercialización (Valencia-Díaz *et al.* 2012). El género *Mammillaria*, junto con *Coryphantha* y *Echinocereus* son de los más demandados por su uso ornamental (Taylor 1997), por lo que en *M. zephyranthoides* el saqueo también puede ser una razón del déficit de individuos adultos.

Por otra parte, la reducción en la distribución de la especie y los tamaños poblacionales pequeños sugieren que estas poblaciones podrían diferenciarse genéticamente, aunque el número de migrantes ( $Nm$ ) estimado entre las dos poblaciones



de *M. zephyranthoides* fue alto, y éste podría prevenir la divergencia genética entre ellas. Este resultado contrasta con la hipótesis planteada, ya que a pesar de haber una distancia de 405 km entre ambas poblaciones, hay más de un migrante por generación, y teóricamente es suficiente para que las poblaciones sean genéticamente homogéneas (Slatkin 1985). Sin embargo, este resultado podría deberse a la existencia de poblaciones “fantasma” (Slatkin 2005), las cuales son poblaciones no muestreadas y que intercambian migrantes con las poblaciones muestreadas, existiendo así una conexión genética entre ellas. Esta idea podría ser posible, ya que se conocen dos poblaciones cercanas a Nochixtlán (< 50 km) (Peters y Martorell 2001), que no fueron muestreadas ya que las autoridades locales no lo permitieron. Sin embargo, debido a que la estimación del flujo de genes es indirecta, ésta puede reflejar un flujo génico histórico (Bossart y Prowell 1998).

El valor de flujo génico estimado puede estar relacionado con el valor de  $R_{ST}$  obtenido entre las dos poblaciones estudiadas, lo que sugiere que existe una diferenciación genética moderada entre ellas. Esta diferenciación podría deberse a factores ecológicos, tales como el tipo de reproducción y la dispersión (Loveless y Hamrick 1984). El tipo de reproducción y la posible polinización por insectos ya fue discutido con anterioridad, pero respecto a la dispersión a través de polen de acuerdo con lo observado es por insectos. Por lo anterior en *M. zephyranthoides* la moderada diferenciación pudo deberse, al igual que en *Astrophytum asterias* (Terry *et al.* 2012), a que su polinización es por abejas, ya que éstas pueden llegar a volar de 621 m (Araújo *et al.* 2004) hasta 2.5 km (Metcalf y Flint 1974).

Referente a la dispersión de semillas, no se conoce para *M. zephyranthoides*, pero en otras cactáceas globosas como *Astrophytum capricorne* y *A. ornatum* el principal dispersor es el agua (Sánchez-Salas *et al.* 2012). En *M. huitzilopochtli* las lagartijas son los dispersores potenciales (Flores-Martínez *et al.* 2008), pero no se registró a ningún tipo de animal acarreado las semillas o los frutos de *M. zephyranthoides*, por lo que esta idea es descartada, aunque se requieren de más observaciones en el campo. En otras especies,



de *Mammillaria*, como *M. solisioides*, *M. pectinifera*, *M. napina*, *M. herrerae*, se presenta serotinia, lo que hace que la dispersión ocurra en años con condiciones favorables, como niveles altos de precipitación, para el establecimiento de las plántulas (Rodríguez-Ortega y Franco 2001; Rodríguez-Ortega *et al.* 2006; Peters *et al.* 2009), este fenómeno no se observó en la especie de estudio ya que los frutos se mostraron expuestos. Por su parte, en *M. grahamii* las semillas forman un banco de semillas, y éstas pueden permanecer viables hasta por seis años, y solo en condiciones precisas de humedad y luz, éstas germinan (Bowers 2005). La idea de la retención de semillas de *M. zephyranthoides* en el suelo, debe considerarse ya que al no encontrar plántulas de esta especie en el campo, una posibilidad es que las semillas pueden estar enterradas en el suelo y germinar solo en años con lluvia favorable.

#### AMENAZAS

De acuerdo a lo observado en campo y a lo documentado para las poblaciones estudiadas de *M. zephyranthoides*, la agricultura, los asentamientos humanos (basureros clandestinos) y la apertura de caminos, se reconocen como amenazas para esta especie (Aquino 2008; Reyes 2009). En Polotitlán, la presencia de ganado promueve la degradación del suelo y en consecuencia representa una limitación para el establecimiento de nuevos individuos (Martorell y Peters 2005). Por su parte en Nochixtlán el cambio de uso de suelo cercano a donde se ubicó la población es muy drástico y podría decirse que los individuos se encuentran encerrados en una “isla”.

Además de los disturbios que presentan las poblaciones *M. zephyranthoides*, se sugieren una extinción local, ya que se visitó una población referida en el Herbario Nacional, ubicada en Coixtlahuaca, Oaxaca, en la que no se encontró ningún individuo y solamente se observó un cultivo de trigo. También se visitó la población referida por Navarro y Juárez (2006), y no se encontró a ningún individuo de *M. zephyranthoides*, así como tampoco en los cerros cercanos. Es posible que se haya confundido a la especie con *M. uncinata* ya que solo se encontró esa especie en dichos lugares.



---

## CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en Polotitlán y Nochixtlán se sugiere que *M. zephyranthoides* presenta tamaños poblacionales pequeños, con individuos distribuidos de manera agregada en un área  $< 500 \text{ m}^2$ , y un aparente bajo reclutamiento, a pesar de tener un gran número de individuos potencialmente reproductivos. Estos resultados se pueden relacionar con su baja diversidad alélica y con el exceso de heterocigotos. Las características anteriores hacen a estas poblaciones más vulnerables a los efectos de la deriva génica y en consecuencia a una pérdida de la diversidad genética, lo que a largo plazo representa una amenaza para su continuidad. A pesar de que se documentaron valores altos de flujo génico, éste puede ser histórico. Las poblaciones estudiadas de *M. zephyranthoides* probablemente han sufrido una reducción en su área de ocupación debido a actividades humanas, si esto continúa se ocasionaría un aislamiento de dichas poblaciones, y por lo tanto habría una disminución en la cantidad de flujo génico entre ellas, por lo que se recomienda conservar los hábitats de esta especie.

Esta tesis es parte de un proyecto que analizó la diversidad y estructura genética poblacional de otras especies del género *Mammillaria*, por lo que es importante tomar en cuenta su contribución. Además de que deben considerarse los resultados del estudio de dos poblaciones de *M. zephyranthoides* ubicadas en Gto., las cuales no fueron analizadas en esta tesis, pero en donde se obtuvieron resultados similares, genéticos y demográficos.

Debe también considerarse que la reciente inclusión de *M. zephyranthoides* a un listado internacional de protección de la naturaleza, que la supone poco vulnerable, tiene como referencia una población en donde no se registró ningún individuo de esta especie, durante las observaciones de campo realizadas en esta tesis. Los evaluadores consideran que las poblaciones de esta especie son grandes y por lo tanto estables, pero de acuerdo a mis observaciones y resultados, difiero de esta aseveración y considero que es importante actualizar la distribución de esta especie, además de realizar estudios para entender su dinámica poblacional, y así evaluar su estatus de conservación, y proponer planes de manejo adecuados para la permanencia de esta especie.



---

## LITERATURA CITADA

- Allendorf F, Luikart G (2007) *Conservation and the genetics of populations*. Blackwell, Malden, Massachusetts.
- Álvarez R, Godínez-Álvarez H, Guzmán U, Dávila P (2004) Aspectos ecológicos de dos cactáceas mexicanas amenazadas: implicaciones para su conservación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, **75**, 7-16.
- Anderson EF (2001) *The cactus family*. Timber Press, Portland, Oregon.
- Aquino GD (2008) *Cactoflora del Distrito de Nochixtlán, Oaxaca, México*. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Araújo ED, Costa M, Chaud-Netto J, Fowler HG (2004) Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): Inference of flight range and possible ecological implications. *Brazilian Journal of Biology*, **64**, 563-568.
- Arias S, Gama-López S, Guzmán-Cruz UL, Vázquez-Benítez B (2012) *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*, 2 ed. Fascículo 95: Cactaceae. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Avendaño CT (2007) *Dinámica Poblacional de Mammillaria supertexta Mart. Ex Pfeiff en el Valle de Cuicatlán, Oaxaca, México*. Tesis de Maestría en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales (Biodiversidad del Neotrópico). Instituto Politécnico Nacional.
- Bárcenas RT (1999) *Patrones de distribución de cactáceas en el Estado de Guanajuato*. Tesis de Licenciatura en Biología. UNAM.
- Barret SCH, Kohn JR (1991) Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. En: *Genetics and conservation of rare plants* (ed. Falk DA, Holsinger KE), pp. 3-30. Oxford University Press, Nueva York.
- Begon M, Townsend CR, Harper JL (2006) *Ecology: from individuals to ecosystems*, 4ta. ed. Blackwell Publishing, Malden, Massachusetts.



- 
- Blair AW, Williamson PS (2008) Efectiveness and importance of pollinators to the star cactus (*Astrophytum asterias*). *The Southwestern Naturalist*, **53**, 423-430.
- Blair AW, Williamson PS (2010) Pollen dispersal in star cactus (*Astrophytum asterias*). *Journal of Arid Enviroments*, **74**, 525-527.
- Bossart JL, Prowell DP (1998) Genetic estimates of population structure and gene flow: limitations, lessons and new directions. *TREE*, **13**, 202-206.
- Bowers JE (2005) New Evidence for Persistent or Transient Seed Banks in Three Sonoran Desert Cacti. *Southwestern Association of Naturalists*, **50**, 482-487.
- Bravo-Hollis H (1978) *Las cactáceas de México*. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Butterworth CA (2011) Isolation and characterization of 10 polymorphic microsatellite loci in *Coryphanta robustispina* spp. *robustispina*. *Conservation Genetics Resources*, **3**, 247-249.
- Casas A, Cruse-Sanders J, Morales E, Otero-Arnaiz A, Valiente-Banuet A (2005) Maintenance of phenotypic and genotypic diversity in managed populations *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) by indigenous peoples in Central Mexico. *Biodiversity and Conservation*, **15**, 879-898.
- Cervera JC, Andrade JL, Simá JL, Graham EA (2006) Microhabitat, germination, an establishment for *Mammillaria gaumeri* (Cactaceae), a rare species from Yucatán. *International Journal of Plants Sciences*, **167**, 311-319.
- CGN (Computer Support Group Inc.) (2013) Longitude Latitude Distance Calculator ver. 4.2.3. Disponible en: [www.csgnetwork.com/latlongdistcalc.html](http://www.csgnetwork.com/latlongdistcalc.html). Consultado el 30 de octubre de 2013.
- CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres) (2013) Apéndices I, II y III. Disponible en: <http://www.cites.org/esp/>. Consultado el 30 de agosto de 2013.



- 
- Clark-Tapia R, Alfonso-Corrado C, Eguiarte LE, Molina-Freaner F (2005) Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca* (Cactaceae), a narrow endemic cactus of the Sonoran desert. *American Journal of Botany*, **92**, 272-278.
- Clark-Tapia R, Molina-Freaner F (2003) The genetic structure of a columnar cactus with a disjunct distribution: *Stenocereus gummosus* in the Sonoran desert. *Heredity*, **90**, 443-450.
- Contreras C, Valverde T (2002) Evaluation of the conservation status of a rare cactus (*Mammillaria crucigera*) through the analysis of its population dynamics. *Journal of Arid Environments*, **51**, 89-102.
- Cooner JK, Hartl DL (2004) *A primer of ecological genetics*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Crawley MJ (1997) Sex. En: *Plant Ecology*, 2da. ed. (ed. Crawley MJ), pp. 156-213. Blackwell Publishing, Oxford.
- Cuevas DP (2013) *Análisis de la diversidad y estructura genética poblacional de Mammillaria supertexta Mart. ex Pfeiff (Cactaceae), especie endémica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México*. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cullmann W, Götz E, Gröner G (1986) *The Encyclopedia of Cacti*. Timber press, Portland, Oregon.
- Daniel WW (2002) *Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud*, 4 ed. Limusa, México, D.F.
- DOF (Diario Oficial de la Federación) (2010) Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo.
- Ellstrand NC (1992a) Gene flow by pollen: implications for plant conservation. *Oikos*, **63**, 77-86.
- Ellstrand NC (1992b) Gene flow among seed plant populations. *New Forests*, **6**, 241-256.



- 
- Ellstrand NC, Ellam DR (1993) Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematic*, **24**, 217-242.
- Elshibli S, Korpelainen (2008) Excess heterozygosity and scarce genetic differentiation in the populations of *Phoenix dactylifera* L.: human impact or ecological determinants. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, **7**, 95 - 104.
- Esparza-Olguín L, Valverde T, Vilchis-Anaya E (2002) Demographic analysis of a rare columnar cactus (*Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacan Valley, Mexico. *Biological Conservation*, **103**, 349-359.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2007) Arlequin 3.1: An Integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, **1**, 47-50.
- Ferrer-Cervantes ME, Méndez-González ME, Quintana-Ascencio PF, Dorantes A (2012) Population dynamics of the cactus *Mammillaria gaumeri*: an integral projection model approach. *Population Ecology*, **54**, 321-334.
- Figueredo CJ, Nassar JM, García-Rivas AE, González-Carcacia JA (2010) Population genetic diversity and structure of *Pilocereus tillianus* (Cactaceae, Cereae), a columnar cactus endemic to the Venezuelan Andes. *Journal of Arid Environments*, **24**, 1392-1398.
- Fitz-Maurice B, Guadalupe-Martínez J, Sánchez E, Fitz-Maurice WA, Bárcenas-Luna R, Gómez-Hinostroza C, Hernández HM (2013) *Mammillaria zephyranthoides*. En: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org>. Consultado el 11 de septiembre de 2013.
- Flores-Martínez A, Manzanero MG, Martínez G, Pacheco G (2002) Aspectos sobre la ecología y reproducción de *Mammillaria kraehenbuehlii* (Kraenz) en la Mixteca de Oaxaca, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, **47**, 57-58.



- 
- Flores-Martínez A, Manzanero MG, Rojas-Aréchiga M, Mandujano MC, Golubov J (2008) Seed Age Germination Responses and Seedling Survival of an Endangered Cactus That Inhabits Cliffs. *Natural Areas Journal*, **28**, 51-57.
- Flores-Martínez A, Manzanero-Medina GI, Golubov J, Montaña C, Mandujano MC (2010) Demography of an endangered endemic rupicolous cactus. *Plant Ecology*, **210**, 53-66.
- Freeland JR, Kirk H, Petersen S (2011) *Molecular ecology*, 2da. ed. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey.
- Frankel OH, Soulé ME (1981) Conservation and Evolution. Cambridge University Press, Cambridge.
- Frankham R (2003). Genetics and conservation biology. *Comptes Rendus Biologies*, **326**, S22-S29.
- Frankham R, Ballou J, Briscoe D (2010) *Introduction to Conservation Genetics*, 2da ed. Cambridge University Press, Nueva York.
- García MA (2010) *Mammillaria zephyranthoides* Scheidw. *IBUNAM: MEXU: OAX832163*, UNIBIO: Colecciones Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Consulta: 24 de agosto de 2011. Disponible en: <http://unibio.unam.mx/collections/specimens/urn/IBUNAM:MEXU:OAX832163>
- Garza JC, Williamson EG (2001) Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology*, **10**, 305–318.
- Giovanetti M, Cervera C, Andrade JL (2007) Pollinators of an Endemic and Endangered Species, *Mammillaria gaumeri* (Cactaceae), in its Natural Habitat (Costal Dune) and in a Botanical Garden. *Madroño*, **54**, 286-292.
- Godínez-Álvarez H, Valverde T, Ortega-Baés P (2003) Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*, **69**, 173-203
- Gram WK, Sork VL (1999) Population Density as a Predictor of Genetic Variation for Woody Plant Species. *Conservation Biology*, **13**, 1079-1087.



- 
- Guzmán U, Arias S, Dávila P (2003) *Catálogo de Cactáceas Mexicanas*. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad, México, D.F.
- Haig SM (1998) Molecular contributions to conservation. *Molecular Techniques in Ecology*, **79**, 413-425.
- Hamrick JL, Godt JW (1989) Allozyme diversity in plant species. En *Plant population genetics, breeding, and genetic resources* (eds. Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS), pp. 43-63. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts.
- Hamrick JL, Nason JD, Fleming TH, Nassar JM (2002) Genetic Diversity in Columnar Cacti. En: *Columnar Cacti and their Mutualists: Evolution, Ecology, and Conservation* (eds Fleming TH, Valiente-Banuet A), pp.122-133. University of Arizona Press, Tucson.
- Hander S (1983) Pollination Ecology, plant population structure and gene flow. En: *Pollination Biology* (ed. Real L), pp. 163-200. Academic Press, Orlando, Florida.
- Hardesty BD, Hughes SL, Rodríguez VM, Hawkins A (2008) Characterization of microsatellite loci for the endangered cactus *Echinocactus grussoni*, and their cross-species utilization. *Molecular Ecology Resources*, **8**, 164-167.
- Hartl DL, Clark AG (1997) *Principles of Population Genetics*, 3ra. ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Harper JL (1977) *Population biology of plants*. Academic Press, New York.
- Hedrick P (2000) *Genetics of Populations*, 2da. ed. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, Massachusetts.
- Hughes SL, Rodríguez VM, Hardesty BD, Bárcenas Luna RT, Hernández HM, Robson RM, Hawkins JA (2008) Characterization of microsatellite loci for the critically endangered cactus *Ariocarpus bravoanus*. *Molecular Ecology Resources*, **8**, 1068 - 1070.



- 
- Hutchings MJ (1997) The Structure of Plant Populations. En: *Plant Ecology*, 2da. ed. (ed. Crawley MJ), pp. 325-358. Blackwell Publishing, Oxford
- INEGI (2009a) Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Asunción Nochixtlán, Oaxaca Clave geoestadística 20006.
- INEGI (2009b) Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Polotitlán, México Clave geoestadística 15071.
- IUCN (2013) Red List of Threatened Species. Versión 3.1. IUCN Red List. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org>. Consultado el 11 de septiembre de 2013.
- Jarne P, Lagoda P (1996) Microtelites, from molecules to populations and back. *TREE*, **11**, 424-429.
- Jiménez-Sierra C, Mandujano MC, Eguiarte LE (2007) Are the populations of the candy barrel cactus (*Echinocactus platyacanthus*) in the desert of Tehuacán, México at risk? Population projection matrix and life table response analysis. *Biological Conservation*, **135**, 278-292.
- Jugran A, Bhatt ID, Rawat S, Giri L, Rawal RS, Dhar U (2011) Genetic Diversity and Differentiation in *Hedychium spicatum*, a Valuable Medicinal Plant of Indian Himalaya. *Biochemical Genetics*, **49**, 806-818.
- Kimura M, Crow JF (1964) The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, **49**, 725-738.
- Kimura M (1983) The neutral theory of molecular evolution. Cambridge University Press. Cambridge.
- Lambert SM, Borba EL, Machado MC (2006) Allozyme diversity and morphometrics of the *Melocactus glaucescens* (Cactaceae), and investigation of the putative hybrid origin of *Melocactus x albicephalus* (*Melocactus ernestii* x *M. glaucescens*) in north-eastern Brazil. *Plant Species Biology*, **21**, 93-108.
- Leirana-Alcocer J, Parra-Tabla V (1999) Factors affecting the distribution, abundance and seedling survival of *Mammillaria gaumeri*, an endemic cactus of coastal Yucatán, México. *Journal of Arid Environments*, **41**, 421-428.



- 
- Lewis PO, Zaykin D (2002) Genetic Data Analysis (GDA) V1.1 Disponible en: <http://www.eeb.uconn.edu/people/plewis/software.php>. Consultado el 25 de junio de 2013.
- Linhart YB, Grant MC (1996) Evolutionary Significance of Local Genetic Differentiation in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **27**, 237-277.
- López FD (2012) *Demografía de Astrophytum myriostigma Lem. (Cactaceae)*. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Loveless MD, Hamrick JL (1984) Ecological determinants of structure in plant populations. *Annual Review of Ecology & Systematics*, **15**, 65-95.
- Lowe A, Harris S, Ashton P (2004) *Ecological genetics: design, analysis and application*. Blackwell Publishing, Oxford.
- Mandujano MC, Verhulst JAM, Carrillo-Angeles IG, Golubov J (2007) Population Dynamics of *Ariocarpus scaphirostris* Bödeker (Cactaceae): Evaluating the Status of a Threatened Species. *International Journal of Plant Sciences*, **168**, 1035-1044.
- Martínez D, Flores-Martínez A, López F, Manzanero G (2001) Aspectos ecológicos de *Mammillaria oteroi* Glass & R. Foster en la región Mixteca de Oaxaca, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, **46**, 32-39.
- Martínez-Peralta C, Mandujano MC (2011) Reproductive ecology of the endangered living rock cactus, *Ariocarpus fissuratus* (Cactaceae). *Journal of the Torrey Botanical Society*, **138**, 145-155.
- Martorell C, Garcillán P, Casillas F (2012) Ruderality in extreme-desert cacti? Population effects of chronic anthropogenic disturbance on *Echinocereus lindsayi*. *Population ecology*, **54**, 335-346.
- Martorell C, Peters EM (2005) The measurement of chronic disturbance and its effects on the threatened cactus *Mammillaria pectinifera*. *Biological Conservation*, **124**, 199-207.



- 
- Martorell C, Peters EM (2008) Disturbance-Response Analysis: a Method for Rapid Assessment of the Threat to Species in Disturbed Areas. *Conservation Biology*, **23**: 377-387.
- Matías-Palafox ML (2007) *Estructura poblacional y biología reproductiva de Turbinicarpus horripilus (Lem.) Vác. John & Riha (Cactaceae)*. Tesis de Maestría en ciencias Biológicas. Universidad Autónoma Metropolitana.
- McIntosh ME (2005) Pollination of two species of *Ferocactus*: interactions between cactus-specialist bees and their host plants. *Functional Ecology*, **19**, 727–734.
- Metcalf CL, Flint WP (1974) *Insectos destructivos e insectos útiles*. Compañía Editorial Continental, México, D.F.
- Moraes E, Abreu A, Andrade S, Sene F, Vera S (2005) Population genetic structure of two columnar cacti with a patchy distribution in eastern Brazil. *Genetica*, **125**, 311-232.
- Mota-Lambert S, Leite-Borba E, Câmara-Machado M, Da Silva-Andrade SC (2006) Allozyme diversity and morphometrics of *Melocactus paucispinus* (Cactaceae) and evidence for hybridization with *M. concinnus* in Chapada Diamantina, North-eastern Brazil. *Annals of Botany*, **97**, 389-403.
- Nassar JM, Hamrick JL, Fleming TH (2001) Genetic variation and population structure of the mixed-mating cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Heredity*, **87**, 69-79.
- Nassar JM, Hamrick JL, Fleming TH (2002) Allozyme diversity and genetic structure of leafy cactus (*Pereskia guamacho*) [Cactaceae]. *The Journal of Heridity*, **93**, 193-200.
- Nassar JM, Hamrick JL, Fleming TH (2003) Population genetic structure of venezuelan chiropterophilus columnar cacti (Cactaceae). *American Journal of Botany*, **90**, 1628 - 1637.
- Nassar JM, Ramírez N (2004) Reproductive biology of the melon cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **248**, 31 - 44.



- 
- Navarro CM, Juárez TM (2006) Evaluación de algunos Parámetros Demográficos de *Mammillaria zephyranthoides* en Cuautinchán, Puebla, México. *Zonas Áridas*, **10**, 74-83.
- Nei M (1977) *F*-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals of Human Genetics*, **41**, 225-232.
- Oaxaca-Villa B, Casas A, Valiente-Banuet A (2006) Reproductive biology in wild and silvicultural managed populations of *Escontria chiotilla* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **53**, 277-287.
- Otero-Arnaiz A, Casas A, Hamrick J, (2005) Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley central México. *Molecular Ecology*, **14**, 1603-1611.
- Ortega-Baes P, Godínez-Álvarez H (2006) Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity and Conservation*, **15**, 817-827.
- Parra F, Pérez-Nasser N, Lira R, Pérez-Salicrup, Casas A (2008) Population genetics and process of domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, México. *Journal of Arid Environments*, **72**, 1997-2010.
- Peters EM, Martorell C (2001) Conocimiento y conservación de las mamilarias endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. UNAM, Instituto de Ecología. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. R166, México, D. F.
- Peters EM, Martorell C, Ezcurra E (2009) The adaptative value of cued seed dispersal in desert plants: Seed retention and release in *Mammillaria pectinifera* (Cactaceae), a small globose cactus. *American Journal of Botany*, **96**, 537-541.
- Pilbeam J (1999) *The cactus file handbook 6: Mammillaria*. Cirio Publishing Services, Southampton.
- Portilla-Alonso RM, Martorell C (2011) Demographic consequences of chronic anthropogenic disturbance on three populations of the endangered globose cactus *Coryphantha werdermannii*. *Journal of Arid Environments*, **75**, 509-515.



- 
- Primack R (2000) *A primer of Conservation Biology*, 2da ed. Sinauer Associates, Inc, Sunderland Massachusetts.
- Rasmussen KK, Kollmann E (2008) Low genetic diversity in small peripheral populations of a rare European tree (*Sorbus torminalis*) dominated by clonal reproduction. *Conservation genetics*, **9**, 1533–1539
- Ramos LA (2007) *Estudio Poblacional de Mammillaria dixanthocentron Backeb. Ex. Mottram en el Valle de Cuicatlán, Oaxaca*. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional.
- Reyes SJ (2009) Cactus. En: *La diversidad biológica del Estado de México, parte II: Diversidad de especies* (comp. Ceballos G List R Garduño G López CR Muñozcano QM Collado E San Román JE), pp. 219-228. Gobierno del Estado de México y Comisión Nacional para el uso y Conocimiento de la Biodiversidad, México, D.F.
- Rodríguez C, Ezcurra E (2000) Distribución espacial en el hábitat de *Mammillaria pectinifera* y *Mammillaria carnea* en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, **45**, 4-14.
- Rodríguez-Ortega C, Franco M (2001) La retención de semillas en el género *Mammillaria*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, **46**, 63-67.
- Rodríguez-Ortega C, Franco M, Mandujano MC (2006) Serotiny and seed germination in three threatened species of *Mammillaria* (Cactaceae). *Basic and Applied Ecology*, **7**, 533-544.
- Rzedowski J (2006) *Vegetación de México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, D.F.
- Sánchez-Salas J, Jurado E, Flores J, Estrada-Castillón E, Muro-Pérez G (2012) Desert species adapted for dispersal and germination during floods: Experimental evidence in two *Astrophutum* species (Cactaceae). *Flora*, **207**, 707-711.



- 
- Schlötterer C (1998) Microsatellites. En: *Molecular Genetic analysis of Populations: a practical approach*, 2da ed. (ed. Hoelzel AR), pp. 237- 367. Oxford University Press, Oxford.
- Segman K, Bjørnstad A, Ndjiondjop MN (2006) An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology*, **25**, 2540-2568.
- Silvertown, J Charlesworth D (2001) *Introduction to Plant Population Biology*, 4ta. ed. Blackwell Publishing, Oxford.
- Slatkin M (1985) Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecological and Systematics*, **16**, 393-430.
- Slatkin M (1995) A measure of population subdivisión based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, **139**, 457-462.
- Slatkin M (2005) Seeing ghosts: the effect of unsampled populations on migration rates estimated for sampled populations. *Molecular Ecology*, **14**, 67-73.
- SMN (Sistema Meteorológico Nacional) (2013) Normales climatológicas 1971-2000. Disponible en: <http://smn.cna.gob.mx>. Consultado el 27 de junio de 2013.
- Silva-Montellano A, Eguiarte LE (2003) Geographic patters in the reproductive ecology *Agave lechuguilla* (Agavaceae) in the Chihuahuan Desert. II. Genetic variation, differentiation, and inbreeding estimates. *American Journal of Botany*, **90**, 700-706.
- Solórzano S, Cortés-Palomec A, Ibarra A, Dávila P, Oyama K (2009) Isolation, characterization and cross-amplification of polymorphic microsatellite loci in the threatened endemic *Mammillaria crucigera* (Cactaceae). *Molecular Ecology Resources*, **9**, 156-158.
- Stoeckel S, Grange J, Fernández-Manjarres JF, Bilger I, Frascaria-Lacoste N, Mariette S (2006) Heterozygote excess in a self-incompatible and partially clonal forest tree species — *Prunus avium* L. *Molecular Ecology*, **15**, 2109–2118.
- Tagu D, Moussard M (2006) *Techniques for Molecular Biology*. Science Publishers, Jersey.



- 
- Tapia SH (2011) *Análisis de la diversidad y la estructura genética poblacional de dos especies del género Mammillaria, endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Taylor NP (1997) Taxonomic groups: Cactaceae. En: *Cactus and Succulent Plants. Status Survey and Conservation Action Plan* (ed. Oldfield S), p. 17-20. International Union for Conservation of Nature, Cambridge.
- Téllez-Váldes O, Dávila-Aranda P (2003) Protected areas and climatic change: a case study of the cacti in the Tehuacán-Cuicatlán Biosphere Reserve, Mexico. *Conservation Biology*, **17**, 846-853.
- Terry M, Pepper AE, Strong AW, Tarin DM, Price DM, Manhart JR (2012) Genetic Structure of a population of the endangered star cactus (*Atrophytum asterias*) in the Southern Texas. *The Southern Naturalist*, **57**, 182-188.
- Tinoco A, Casas A, Luna R, Oyama K (2005) Populations genetics of *Escontria chiotilla* in wild and silvicultural managed populations in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **52**, 525-538.
- Valencia-Díaz S, Flores-Palacios A, Castillo-Campos G (2012) Tamaño poblacional y características del hábitat de *Mammillaria eriacantha*, una cactácea endémica del centro de Veracruz, México. *Botanical Sciences*, **90**, 195-202.
- Valverde T (2000) Dinámica poblacional de *Mammillaria crucigera* y *Neobuxbamia macrocephala* en la región de Tehuacán-Cuicatlán. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. R129, México, D.F.
- Valverde T, Quijas S, López-Villavicencio M, Castillo S (2004) Population dynamics of *Mammillaria magnimamma* Haworth. (Cactaceae) In a lava-field in central Mexico. *Plant Ecology*, **170**, 167-184.



- 
- Valverde P, Zavala-Hurtado JA (2006) Assessing the ecological status of *Mammillaria pectinifera* Weber (Cactaceae), a rare and threatened species endemic of the Tehuacán-Cuicatlán Region in Central Mexico. *Journal of Arid Environments*, **64**, 193-208.
- Van Rheede K, Van Rooyen M (1998) *Dispersal Biology of Desert Plants*. Springer, Berlin.
- Zavala-Hurtado JA, Valverde PL (2003) Habitat restriction in *Mammillaria pectinifera*, a threatened endemic Mexican cactus. *Journal of Vegetation Science*, **14**, 891-898.
- Zepeda-Martínez V, Mandujano MC, Mandujano MJ, Golubov JK (2013) What can the demography of *Astrophytum ornatum* tell us of its endangered status?. *Journal of Arid Environments*, **88**, 244-249.