



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL DE
Mammillaria solisioides Backeb., ESPECIE ENDÉMICA DE
LA MIXTECA DE OAXACA Y PUEBLA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

BIÓLOGO

P R E S E N T A

FABIÁN FERNANDO MACÍAS ARRASTIO

DIRECTORA DE TESIS: DRA. SOFÍA SOLÓRZANO LUJANO



ESTADO DE MÉXICO 2014



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

A mi directora de tesis la Dra. Sofía Solórzano Lujano, por el apoyo, confianza, consejos y paciencia que ayudaron a sacar este trabajo adelante. Del mismo modo agradezco a mis sinodales: al Dr. Ángel Salvador Arias Montes y al Dr. Alejandro Casas Fernández, cuyos comentarios ayudaron a enriquecer este escrito. Así como a la Dra. Patricia Dolores Dávila Aranda por proporcionar el permiso de colecta (Núm. SGPA/DGVS/01833/11) y al Dr. Carlos Martorell Delgado por facilitar las coordenadas de localización de la especie aquí estudiada.

Esta Investigación 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". Igualmente doy las gracias a este programa por la beca brindada para concluir esta tesis.

Por otra parte, agradezco a la M. en C. Laura Márquez (IB. UNAM) y a la Dra. Alejandra Serrato (UAM-Iztapalapa), por los servicios de electroforesis brindados de las muestras aquí analizadas.

A las autoridades de los municipios de la Heroica Ciudad de Huajuapán de León, Oaxaca y de Petlalcingo, Puebla, al Sr. Santiago Espinoza Hernández, agente comisario de Ahuehuetitlán de Gonzales, así como a los comisariados ejidales de Santa María Ayú y Rancho Reyes por todo el apoyo y facilidades brindadas para llevar a cabo el trabajo de campo en sus comunidades.

También doy las gracias a mis compañeros Nelly López, Aidé Cruz, Paola Salas, Saúl Quezada y Violeta González, por el apoyo brindado durante el trabajo de campo y laboratorio. Así como a Rebeca González, por el apoyo para la elaboración del mapa de la zona de estudio presentado en esta tesis.

Agradecimientos personales

Agradezco especialmente a mis padres Irma Arrastio Roldan y Jorge Luis Macías Ortiz, por la educación y valores que han inculcado en mí a lo largo de estos 24 años, por su apoyo incondicional, sus consejos, pero sobre todo por siempre ser para mí un ejemplo de vida.

A mis hermanos Jorge y Goyo, porque no han dudado en brindarme su apoyo en el momento que lo necesitaba y por su compañía a lo largo de mi vida.

A Rebeca, sabes te apreció mucho por el carácter y fuerza que tienes, te agradezco por siempre animarme en los momentos difíciles en la carrera y en esta última etapa para buscar titularme. Te doy las gracias por tu compañía y el amor que has mostrado hacia mi persona desde el día que te conocí. Mil gracias mano.

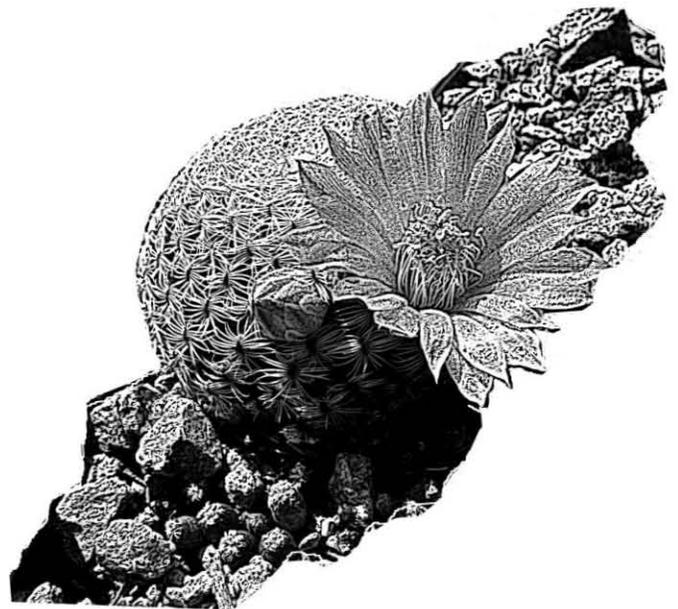
Igualmente agradezco a toda la familia Arrastio, a mi tía Lucia y en especial a mis primos Lalo, Toño y Adrián, quienes van avanzando en sus vidas, lo cual me entusiasma y me anima a buscar mi camino.

También agradezco a mi tío Ramiro Macías, por siempre interesarse por el avance en mi educación y apoyarme para hacerme de libros, los cuales son de gran ayuda para mi formación.

Asimismo agradezco a mis amigos de la prepa (Carlos-Diego Roque, Andrés Paulino, Jorge Perillas, la Lic. Marbe, Brenda, Carlitos y demás), por su amistad y su alegría, y a toda esa juventud de la FESI con la cual compartí la carrera (Carlos Morro, Carpa, Héctor, Marbella, Oscar, John, Beti) por los buenos momentos en campo y en las aulas.

“La gran tragedia de la ciencia: el asesinato de una bella hipótesis a manos de un hecho feo”.

Huxley, T. H.



Índice

Resumen	I
Introducción	1
Hipótesis	8
Objetivo General	8
Objetivos Particulares.....	8
Área de estudio.....	9
Métodos.....	10
Trabajo de campo.....	10
Trabajo de Laboratorio	10
Diversidad genética	11
Estructura genética.....	12
Densidad poblacional y estructura de tamaños.....	13
Resultados	14
Discusión	19
Conclusiones	25
Literatura citada.....	26
Apéndice 1. Ecuaciones usadas para análisis genético.	38

Resumen

La cactácea endémica *Mammillaria solisoides* Backeb., se considera amenazada en la NOM-059-SEMARNAT-2010 y se incluye en el Apéndice I de la CITES. Sin embargo, se desconoce su variabilidad genética, la cual es importante para fines de conservación. En esta tesis se evaluó a partir de cinco loci de microsatélite, la diversidad y estructura genética en poblaciones de Oaxaca (Ahuehuetitlán, Rancho Reyes y Santa María Ayú) y Puebla (Petlalcingo 1, Petlalcingo 2). Además se calculó por población la densidad y se describió la estructura de tamaños para discutir los resultados genéticos. El número total de alelos para las cinco poblaciones fue de 62. La diversidad alélica promedio por locus y por población fue de seis. La riqueza alélica más alta se encontró en Petlalcingo 1 (35), Petlalcingo 2 (33) y las más bajas en Ahuehuetitlán (29), Santa María Ayú (30) y Rancho Reyes (28). La heterocigosidad observada fue en promedio para las cinco poblaciones de 0.75 y la heterocigosidad esperada de 0.68. Existe estructura genética entre las poblaciones que no se explica por los altos niveles de flujo génico. Además las poblaciones no se ajustan a un modelo de aislamiento por distancia ($r^2=0.2644$, $p=0.05$). La densidad poblacional fue de nueve individuos/m² y hay diferencias entre las estructuras de tamaños de las poblaciones ($\chi^2= 124.73$, g. l. 16, $p= 0.05$). La diversidad alélica fue una de las más bajas registradas para especies de *Mammillaria*. Además de acuerdo con la riqueza y la diversidad alélica se considera que estas no reflejan el estado actual de las poblaciones, ya que entre poblaciones como Ahuehuetitlán y Rancho Reyes con aparentemente tamaños muy contrastantes, se registraron riquezas y diversidades alélicas muy similares. Por lo tanto, se propone que los efectos de la deriva génica a través del tiempo sobre la especie pueden ser la causa de la variabilidad genética observada actualmente. Con esta hipótesis además se explica la estructura genética registrada, en la cual ni el flujo génico ni al aislamiento geográfico la determinan, sino más bien se debe a los efectos diferenciados de la deriva génica sobre las poblaciones, con base en las posibles variaciones en los tamaños poblacionales a través de tiempo. Por lo tanto, se propone que la deriva génica debe de representar la principal amenaza para esta especie, ya que de seguir la disminución de la variabilidad genética, en un futuro se podría condicionar su subsistencia. Lo cual puede ser dentro de poco tiempo de seguir aumentando la perturbación ocasionada por actividades como la ganadería y la urbanización en las poblaciones.

Introducción

La familia Cactaceae incluye aproximadamente 1500 especies a nivel mundial (Hunt 1999). Este grupo nativo del Continente Americano, se distribuye desde Sudamérica hasta Canadá y las Antillas (Bravo-Hollis 1978, Hernández y Godínez 1994, Hernández *et al.*, 2004). México es uno de los principales centros de distribución de esta familia (Anderson 2001) y el país con la mayor riqueza de cactáceas en América (Ortega-Baes y Godínez-Álvarez 2006), ya que registra 669 especies, de las cuales 518 son endémicas (Guzmán *et al.*, 2003). Dichas especies se distribuyen a lo largo del territorio mexicano principalmente en zonas áridas, semiáridas o de un clima altamente estacional (Hernández y Godínez 1994, Hernández *et al.*, 2004).

La mayoría de las cactáceas en México se consideran amenazadas debido a la colecta ilegal de individuos y a la fragmentación de sus hábitats provocada por las actividades humanas (Becerra 2000, Esparza-Olguín *et al.*, 2002, Godínez-Álvarez *et al.*, 2003). Además, sus tasas de crecimiento bajo, sus mortalidades altas en los primeros estadios de vida y sus ciclos de vida largos (Hernández y Godínez 1994, Becerra 2000), hacen que el grupo, sea posiblemente uno de los más vulnerables entre las plantas. En el caso particular de las especies endémicas, el grado de vulnerabilidad es aún mayor, ya que las poblaciones pueden presentar distribuciones altamente restringidas y tamaños poblacionales pequeños (Hernández y Godínez 1994). Por estas razones varias especies de cactáceas han sido incluidas en listas de protección, como la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 que incluye 276 especies (DOF 2010), la Lista Roja de la IUCN que agrupa 589 especies a nivel nacional (IUCN 2013), y en los Apéndices I y II de la CITES se incorporan todas las especies de cactáceas nativas para México, excepto las de los géneros *Pereskia* y *Pereskopsis* (CITES 2012). No obstante, ha sido remarcado que para muchos de los miembros de la familia, hacen falta datos empíricos que permitan emprender estrategias para su conservación (Peters y Martorell 2001, Godínez-Álvarez *et al.*, 2003, Flores-Martínez *et al.*, 2005).

Dentro de la familia Cactaceae se encuentra el género *Mammillaria*. Este grupo de cactáceas de tallo globoso pertenece a la tribu Cactae y se conforma por 171 especies (Anderson 2001), de las cuales más del 80% son endémicas de México (Hernández y Godínez 1994, Pilbeam 1999, Becerra 2000). Los miembros de este grupo son traficados ilegalmente (Benítez y Dávila 2002) y muchas de las especies se encuentran en sitios con

algún grado de perturbación humana (Anderson *et al.*, 1994), lo que aunado al endemismo del género motivó la inclusión de 109 especies en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF 2010). Asimismo en la Lista Roja de la IUCN se han incluido 159 especies endémicas de México (IUCN 2013), dos más se encuentran en el Apéndice I de la CITES y el resto del grupo se incorpora en el Apéndice II (CITES 2012). Sin embargo, en algunos casos estas categorías podrían no reflejar el riesgo real que enfrentan las especies, debido a la poca información que se tiene sobre estas, lo que además dificulta emprender estrategias para su conservación (Peters y Martorell 2001). Lo que se sabe hasta el momento para algunas especies de *Mammillaria* es que existen aspectos de riesgo como la especificidad de hábitat alta, las mortalidades altas en los primeros estadios de vida, la dependencia de nodrizas y las tasas variables de crecimiento poblacional producto de la variación ambiental (Contreras y Valverde 2002, Zavala-Hurtado y Valverde 2003, Valverde *et al.*, 2004, Flores-Martínez *et al.*, 2005, Valverde y Zavala-Hurtado 2006, Rodríguez-Ortega 2008, Ureta y Martorell 2009, Ferrer-Cervantes *et al.*, 2012). También hay estudios con algunas especies incluidas en categorías de riesgo, en las cuales se han registrado características como la no dependencia de nodrizas arbustivas para subsistir, la serotinia y el efecto positivo de algunos tipos de disturbio crónico sobre la densidades poblacionales, llegando a considerar estas especies como ruderales por dicho atributo (Peters y Martorell 2001, Martorell y Peters 2005, Martorell y Peters 2008, Peters *et al.*, 2008, Ureta y Martorell 2009).

En esta tesis se estudió la cactácea *Mammillaria solisoides* Backeb. (Figura 1), endémica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, particularmente de la zona de la Mixteca Baja de Oaxaca y Puebla (Peters y Martorell 2001). Esta especie tiene una distribución restringida en parches (Anderson *et al.*, 1994) que abarcan aproximadamente 18 hectáreas (Peters y Martorell 2001). Las principales amenazas que se reconocen para *M. solisoides* son la urbanización y el tráfico ilegal (Anderson *et al.*, 1994). Por otro lado, aunque se ha planteado que esta especie puede ser ruderal, ya que registra las densidades poblacionales más altas en sitios con ganadería y otros tipos de perturbación crónica, no se debe perder de vista que la presión a la que se enfrenta por este tipo de actividades, es una de las más altas registradas para especies del género *Mammillaria* y ésta crece a una tasa exponencial (Peters y Martorell 2001). Lo que determina que en algún momento la perturbación rebasará el nivel que puede soportar la especie, con lo que se esperaría

un decaimiento poblacional abrupto (Peters y Martorell 2001). De hecho es posible que ya esté ocurriendo, como se ha evaluado en poblaciones de *M. pectinifera*, la cual también es considerada ruderal (Martorell y Peters 2008, Valverde *et al.*, 2009).

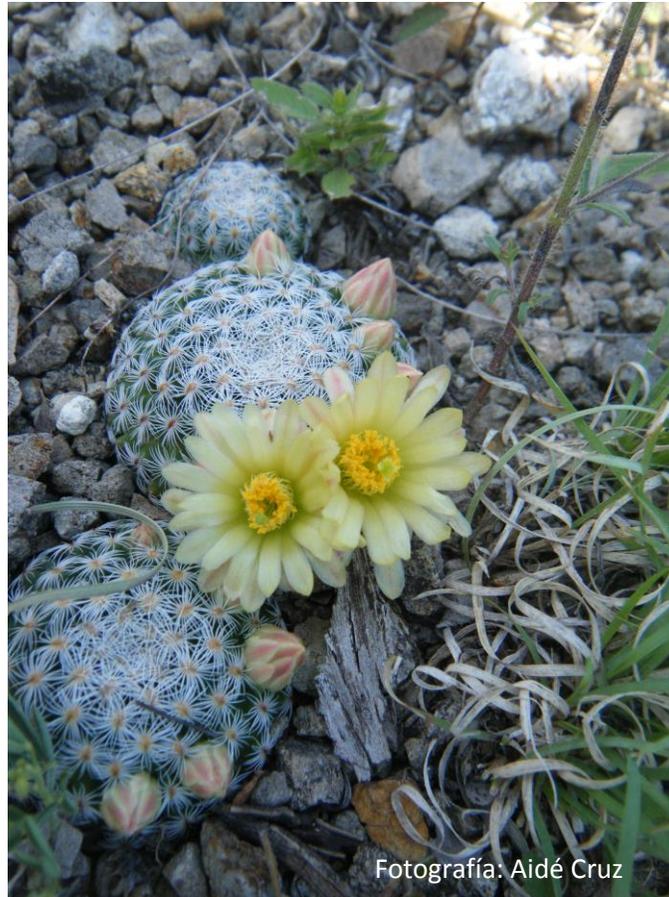


Figura 1. Individuos adultos de *Mammillaria solisioides*

En cuanto a otros atributos de *M. solisioides*, se reconoce que ésta puede retener semillas en los tallos (Rodríguez - Ortega *et al.*, 2006). Esta propiedad llamada serotinia, ha sido estudiada en otras especies como *M. pectinifera*, en la cual se ha propuesto podría ayudar al crecimiento de las poblaciones (Peters *et al.*, 2009). Esto porque las semillas pueden permanecer en estado de latencia por un largo periodo dentro de la planta, en espera de las condiciones apropiadas de humedad para ser liberadas, aumentando así la probabilidad de germinación y establecimiento (Peters *et al.*, 2009, Peters y Martorell 2011). Para *M. solisioides* se ha intentado probar el efecto que la serotinia podría tener sobre las tasas bajas de crecimiento de las poblaciones y la adecuación de la especie. Sin

embargo, no se ha podido encontrar un efecto significativo de este atributo (Rodríguez-Ortega 2008).

Más allá de los estudios realizados hasta el momento para *M. solisioides*, el conocimiento que se tiene sobre esta especie sigue siendo escaso. Lo que ha dificultado emprender estrategias de conservación para sus poblaciones, prueba de esto es que aunque es considerada como amenazada en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF 2010) y se incluye en el Apéndice I de la CITES (CITES 2012), para el año 2001 se propuso que fuera reubicada en el Apéndice II, argumentándose la falta de tráfico significativo y argumentos para su inclusión en el Apéndice I (Benítez y Dávila 2002). Asimismo, en 2013 varias especies del género *Mammillaria* se incluyeron en la lista roja de la IUCN, no obstante, *M. solisioides* no fue tomada en cuenta por la información insuficiente sobre su estado de conservación (IUCN 2013). Por lo tanto, urge generar más estudios que nos permitan conocer mejor esta especie, abordando enfoques que hasta el momento no habían sido tomados en cuenta.

La variabilidad genética no había sido estudiada hasta el momento en *M. solisioides*. La información sobre este tema es de gran relevancia para la conservación de cualquier especie, debido a que su pérdida significa una desventaja ante los cambios ambientales, lo que puede ocasionar problemas en el éxito reproductivo (Frankel y Soulé 1981, Frankham 2003, Freeland *et al.*, 2011). Los estudios de genética poblacional permiten estimar la variabilidad genética en las especies, a partir de calcular las frecuencias alélicas y genotípicas dentro y entre las poblaciones, representadas en parámetros como la diversidad genética que se conforma por la heterocigosidad y la riqueza alélica, entre otros parámetros utilizados comúnmente, así como por la estructura genética, que refiere la manera en que la variabilidad genética se distribuye en las poblaciones (Freeland *et al.*, 2011, Hedrick 2011). Los cambios en las frecuencias alélicas son el resultado de procesos, tales como la selección natural, la mutación, la deriva génica, la endogamia y el flujo de genes (Hedrick 2011). No obstante, la manera en que dichos procesos moldearan la variabilidad genética de una especie dependerá de varias características intrínsecas de la misma, como la distribución geográfica, el tamaño poblacional y el sistema reproductivo (Loveless y Hamrick 1984, Silvertown y Charlesworth 2001, Freeland *et al.*, 2011). Asimismo, se deben tomar en cuenta otros factores, como las fluctuaciones demográficas y ambientales (Frankel y Soulé 1981).

En especies con patrones de distribución geográfica restringida y áreas de ocupación pequeñas, como es el caso de *M. solisioides*, los niveles de variabilidad genética tienden a ser bajos debido al aislamiento geográfico y al tamaño de las poblaciones, por lo que la deriva génica, los cuellos de botella y la endogamia pueden representar los principales factores de riesgo genético (Barrett y Kohn 1991, Ellstrand y Elam 1993, Beebee y Graham 2005, Freeland *et al.*, 2011). La deriva génica disminuye la variabilidad genética por azar (Freeland *et al.*, 2011). Sin embargo, el grado en que afecta a una especie dependerá del tamaño efectivo poblacional, el cual se refiere a la cantidad de individuos que podrán pasar su información genética a la siguiente generación (Hedrick 2011). Entre más bajo sea el tamaño efectivo, más fuerte es el impacto de la deriva génica (Ellstrand y Elam 1993, Frankham 1996, Beebee y Graham 2005). Además, si existe una reducción en el tamaño poblacional a causa de la fragmentación, pueden aumentar aún más los efectos de esta fuerza evolutiva (Young *et al.*, 1996, Kwak *et al.*, 1998). Por otra parte, si la reducción en el tamaño es drástica, podría representar un cuello de botella genético, el cual provocaría una gran pérdida de la variabilidad (Barrett y Kohn 1991, Ellstrand 1992, Ellstrand y Elam 1993, Beebee y Graham 2005, Freeland *et al.*, 2011).

El aumento en los niveles de endogamia es otra amenaza (Barrett y Kohn 1991, Ellstrand 1992, Ellstrand y Elam 1993). Este aumento se debe a que las oportunidades de reproducción son bajas y pueden verse aún más reducidas a causa de la fragmentación (Young *et al.*, 1996, Kwak *et al.*, 1998). Los individuos emparentados pueden entrecruzarse o autofecundarse (Barrett y Kohn 1991), lo que provoca un incremento en el número de homocigotos, una reducción de la variabilidad genética (Hedrick 2011) y puede ocasionar una reducción en la adecuación reproductiva (Frankham *et al.*, 2002).

Existen antecedentes con otras especies de cactáceas de tallos globosos pertenecientes a la tribu Cereae en las cuales se ha comprobado la ocurrencia de los procesos antes mencionados, como en *Melocactus pauscispinus*, *M. concinnus* y *M. curvispinus*, en las cuales se han documentado diversidades genéticas bajas atribuidas a la deriva génica y a cuellos de botella provocados por el saqueo y la fragmentación (Nassar *et al.*, 2001, Mota *et al.*, 2006). También en estas cactáceas y en *Astrophytum asterias*, una cactácea globosa de la tribu Cactae, se han registrado niveles de endogamia moderados debido a los tamaños poblacionales pequeños y a la fragmentación (Nassar *et al.*, 2001, Mota *et al.*, 2006, Terry *et al.*, 2012).

Asimismo, en las especies de cactáceas de tallos globosos mencionadas arriba se han documentado distintos grados de estructura genética producto de la diferenciación entre las poblaciones (Nassar *et al.*, 2001, Mota *et al.*, 2006, Terry *et al.*, 2012). La estructuración puede ser causada por la deriva génica o la selección natural, en conjunto con el aislamiento geográfico y la falta de flujo génico (Freeland *et al.*, 2011). El papel del flujo génico en la diferenciación es importante, ya que se ha propuesto puede mantener homogenizadas genéticamente a las poblaciones (Slatkin 1985). En especies de cactáceas columnares el nivel de diferenciación entre poblaciones suele ser bajo, debido a que se puede mantener flujo de genes entre las poblaciones, ya que los polinizadores y dispersores de semillas característicos de estas especies, pueden recorrer largas distancias y mantener conectadas genéticamente las poblaciones (Nassar *et al.*, 2002, Nassar *et al.*, 2003, Clark-Tapia y Molina-Freaner 2003, Otero-Arnaiz *et al.*, 2005, Tinoco *et al.*, 2005, Parra *et al.*, 2008). En contraste para especies globosas, entre las cuales se ha mencionado a especies de *Mammillaria*, se propone que el flujo de genes entre poblaciones debe ser bajo debido a que sus polinizadores y dispersores de semillas tienen una capacidad limitada para acarrear genes más allá de la población de origen (Nassar *et al.*, 2001, Mota *et al.*, 2006, Solórzano *et al.*, 2009, Terry *et al.*, 2012).

Por todo lo anterior es de gran importancia explorar la diversidad y estructura genética en *M. solisoides*, para evaluar la relevancia que factores como la deriva génica, la endogamia y el flujo de genes juegan en el estado de conservación genética de esta especie. Lo que además permitiría establecer que poblaciones pueden encontrarse en mayor peligro y cuáles pueden representar unidades de conservación.

Para llevar a cabo estudios de genética poblacional se debe de contar con un marcador molecular que nos permita medir la variabilidad genética en las poblaciones. Las regiones del ADN de tipo microsatélite son un marcador apropiado, al ser altamente polimórficos, codominantes y manejarse bajo un principio de selección neutra (Freeland *et al.*, 2011), gracias a estas características detectan mayor variabilidad genética que otros marcadores, como las isoenzimas (Jarne y Lagoda 1996). Sin embargo, la mayoría de estudios de genética poblacional en cactáceas se han llevado a cabo usando el último marcador mencionado (Hamrick *et al.*, 2002, Nassar *et al.*, 2002, Nassar *et al.*, 2003, Clark-Tapia y Molina-Freaner 2003, Tinoco *et al.*, 2005, Parra *et al.*, 2008, Mota *et al.*, 2006). Así se han empezado a emprender esfuerzos para desarrollar oligonucleótidos para amplificar regiones microsatélites en géneros de cactáceas (Otero-Arnaiz *et al.*,

2004, Terry *et al.*, 2006, Helsen *et al.*, 2007, Hughes *et al.*, 2008, Hardesty *et al.*, 2008, Arakaki *et al.*, 2010, Butterworth 2011, Pérez *et al.*, 2011), incluyendo a *Mammillaria* (Solórzano *et al.*, 2009), lo que ha permitido realizar estudios de genética poblacional en algunas especies como *M. napina*, *M. supertexta* y *M. sphacelata* para la cuales se documentaron valores de diversidad alélica alta y heterocigosidades de moderadas a altas (Tapia-Salcido 2011, Cuevas-Alducin 2013). En contraste, para especies como *M. crucigera* se registraron heterocigosidades genéticas bajas y en *M. zephyranthoides* diversidades alélicas bajas (Solórzano *et al.*, 2009, López-Ortiz 2013).

En esta tesis se analizó la diversidad y estructura genética en cinco poblaciones de *M. solisioides*, a partir de cinco marcadores moleculares de tipo microsatélite. También se estimó la densidad poblacional y se describió la estructura de tamaños, debido a la relación que pueden guardar estos parámetros demográficos con la diversidad y estructura genética. La densidad poblacional puede reflejar el tamaño ecológico poblacional (Gram y Sork 1999), al ser afectada por la mortalidad y la natalidad (Elzinga *et al.*, 2001). Este tamaño tiene una gran relación con el tamaño efectivo poblacional, que determina la manera en que procesos como la deriva génica pueden afectar a una especie. Por otra parte, la estructura de tamaños nos permite obtener información sobre la cantidad de reclutamiento que se puede dar en la población, así como de la cantidad de individuos reproductivos (Hutchings 1997), los cuales determinan el tamaño efectivo poblacional, al ser los individuos que potencialmente pueden dar su carga genética a la siguiente generación.

Hipótesis

La cactácea *M. solisoides* endémica de la Mixteca de Oaxaca y Puebla, presenta una distribución geográfica restringida con áreas de ocupación pequeñas que pueden limitar los tamaños poblacionales y aumentar el aislamiento geográfico. Por ello a nivel poblacional se esperaría encontrar una diversidad genética baja y una diferenciación alta, como consecuencia de los efectos de la deriva génica, la endogamia y el patrón de flujo génico.

Objetivo General

- Evaluar los niveles de diversidad y estructura genética en cinco poblaciones de *M. solisoides*, para contribuir al estado de conservación genética de la especie. Así como describir parámetros demográficos que permitan discutir los niveles de variabilidad genética registrados.

Objetivos Particulares

- Estimar la diversidad genética de las cinco poblaciones de *M. solisoides* para establecer los efectos de la deriva génica y la endogamia en el estado de conservación de esta especie.
- Describir la estructura genética en *M. solisoides* para inferir la importancia que el flujo génico y la deriva génica tienen en la diferenciación de las poblaciones.
- Estimar la densidad poblacional y describir la estructura de tamaños, para integrarlos a la discusión de los niveles de diversidad y estructura genética observados.

Área de estudio

En total se muestrearon cinco poblaciones de *M. solisioides* dentro de la Mixteca Baja de Oaxaca y Puebla (Figura 2). Las poblaciones fueron nombradas como: Ahuehuetitlán, Rancho Reyes, Santa María Ayú, Petlalcingo 1 y Petlalcingo 2. Las distancias geográficas menores que separan a las poblaciones se presentan entre Petlalcingo 1 y Petlalcingo 2 con 1.5 km y entre Ahuehuetitlán y Santa María Ayú con 1.7 km. Las distancias mayores se encuentran entre Rancho Reyes con Petlalcingo 1 y Petlalcingo 2 con 30 km de distancia.

El gradiente altitudinal donde se ubican las poblaciones varía de los 1400 metros en el estado de Puebla, hasta los 1800 metros en el estado de Oaxaca. Los sitios de estudio se ubican en un amplio sistema de valles y sierras. El clima es cálido subhúmedo con lluvias en verano. La vegetación se encuentra dominada por pastizales y zonas de agricultura (INEGI 2011), así como zonas de bosque tropical caducifolio y chaparrales (Peters y Martorell 2001).

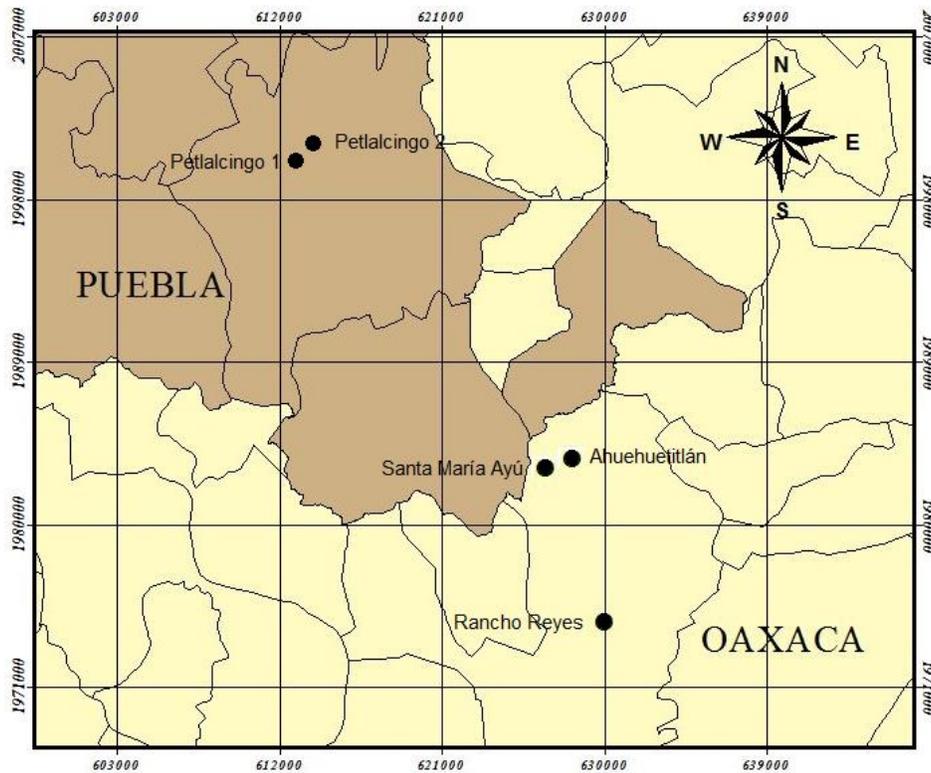


Figura 2. Ubicación de las poblaciones muestreadas de *Mammillaria solisioides* en este estudio.

Métodos

Trabajo de campo

Durante el trabajo de campo se colectó tejido vegetal de 20 individuos en cada una de las cinco poblaciones. Las muestras fueron preservadas en nitrógeno líquido a -70 °C dentro de bolsas de plástico hasta su traslado al laboratorio donde fueron almacenadas a -80 °C. Para la estimación de las densidades poblacionales se realizó un muestreo dirigido, trazando cuadros de 1 m² en zonas donde se encontrarán individuos, los cuales fueron contados. El número de cuadros trazados por población fue distinto ya que cada población ocupa extensiones diferentes de terreno. Sin embargo, cuando fue posible se buscó contar al menos cien individuos para tener una muestra representativa. Asimismo para la descripción de la estructura de tamaños se midió en cada población con un vernier el diámetro de cada individuo contado en los cuadros.

Trabajo de Laboratorio

Aislamiento de ADN

El aislamiento de ADN de las muestras colectadas, se llevó a cabo siguiendo el protocolo de QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Reino Unido). Posteriormente se realizaron electroforesis en geles de agarosa al 0.8% tenidos con Bromuro de Etidio al 0.5 µg/ml, para comprobar si se llevó a cabo con éxito el aislamiento de ADN. Los geles se visualizaron en un transiluminador de luz UV Alphamager Imaging System (Alpha Innotec Corp, EUA).

Amplificación de regiones microsatélites

Para describir la diversidad y estructura genética, se ensayaron cinco loci de microsatélites diseñados previamente para *M. crucigera* (Solórzano *et al.*, 2009) (Cuadro 1). Cada reacción de PCR se preparó a concentraciones de 5 pmol de cada oligonucleótido F (5' 3') y R (3' 5'), 10 mM de dNTPs, 50 mM de MgCl₂, 10 mM de Tris-HCl pH 8.3, 75 mM de KCl, 0.8 % de suero de albumina bovino 100, 0.5 unidades de Taq polimerasa (Amplicasa, México) y se agregó 1 µl de ADN genómico total en un volumen final de 10 µl. Los PCR se realizaron en un termociclador modelo Mastercycler® Family (Eppendorf, EUA). Después se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1.2 %, tiñendo con Bromuro de Etidio al 0.5 µg/ml y utilizando un marcador de peso molecular de 100 pb TrackIt (Invitrogen, EUA) para observar el éxito en la amplificación. De igual

manera, lo geles se examinaron en un transiluminador de luz UV Alphalmager Imaging System (Alpha Innotec Corp, EUA). Para saber el tamaño de los fragmentos microsatélites amplificados, se hizo de nueva cuenta PCR, pero esta vez con oligonucleótido F (5' 3') marcado con fluorocromo FAM o NED, los cuales fueron llevados a un secuenciador modelo ABI PRISM™ 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystem, EUA) para separar los alelos. Posteriormente se genotificaron los individuos con ayuda del programa Peak Scanner (Applied Biosystem, EUA).

Cuadro 1. Loci diseñados previamente (Solórzano *et al.*, 2009) y ensayados en *M. solisoides*, secuencia de los oligonucleótidos incluyendo los fluorocromos con los cuales fueron marcados, secuencia en tándem, temperatura de alineamiento (Ta), intervalo de tamaño del fragmento obtenido para la especie de este estudio, número total de alelos por locus, número promedio de alelos por locus para las cinco poblaciones (A), heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e), valor de p para equilibrio Hardy-Weinberg y coeficiente de endogamia (F_{IS}). Los loci MamVTC6 y MamVTC7 también fueron desarrollados por Solórzano *et al.* (2009), sin embargo, fueron publicados por primera vez por López-Ortiz (2013).

Nombre del locus	Secuencia de oligonucleótidos (5'-3')	Secuencia en tándem	Ta. (°C)	Tamaño (pb)	N_T	A	H_o	H_e	Valor p	F_{IS}
MamVTC5	F-NED TACAGACGCCATAGGCAAAG R: GGTGGAGATGAGGGACTGAA	(GA) ₂ CA(GA) ₇ AA(GA) ₁₂	55	199-215	9	6	0.73	0.83	0.0000	0.1
MamVTC6	F-FAM CTCCTCCTCACCATCTTCC R: CCGAACATGACCTAGATGTGC	(TG) ₂ TT(TG) ₅	59	228-266	11	7	0.57	0.78	0.0000	0.3
MamVTC7	F-NED CATAGGAATTAGGTTAATCAGAATAGT R: AGGTGCCTTAATTCACAAA	(CCAAA) ₄ (GG(T) ₇) ₂	60	178-223	12	6	0.94	0.66	0.0000	-0.3
MamVTC8	F-FAM TCGATTATCTGCTGCTTCCA R: CCGAGAAAAGCCCTAAAACCT	(GA) ₁₅ GGG(GAA) ₅	58	153-193	17	5	0.67	0.76	0.0000	0.1
MamVTC10	F-NED CATTCTAGACATCATATCGCTCT R: TGAGACTCCACTCTATTTCTCT	(CT) ₈ (CA) ₆	52	110-146	13	7	0.85	0.84	0.0000	0.01

Diversidad genética

El análisis de diversidad genética se llevó a cabo para el total de poblaciones y por población con los programas Arlequín ver. 3.1 y GDA (Excoffier *et al.*, 2007, Lewis y Zaykin 2002). Para el total de poblaciones se estimó el número total de alelos y por locus la cantidad de alelos (N_T), el número promedio de alelos (A), la heterocigosidad observada (H_o), la heterocigosidad esperada (H_e), para las cuales además se evaluó la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg con una prueba de χ^2 tomando en cuenta una $p=0.05$ y con la fórmula de Nei (1977) se calculó el coeficiente de endogamia (F_{IS}).

Por población se obtuvo la riqueza alélica (N_T), la diversidad alélica (A), la heterocigosidad observada promedio (H_o) y la esperada (H_e), el número promedio de alelos efectivos por locus (A_e) utilizando la fórmula tomada de Hart y Clark (1997), el número de alelos exclusivos (A_p) y el coeficiente de endogamia promedio (F_{IS}) (Ver ecuaciones para estos cálculos en el Apéndice 1).

Aparte con el programa Bottleneck 1.2.02 se llevó a cabo una prueba de signo (Piry *et al.*, 1999). Esta prueba determina cuántos locus por población exhiben un exceso de heterocigosidad (H_E/H_D) y prueba la significancia de este exceso ($p=0.05$), lo que representa que puede haber ocurrido un cuello de botella reciente en la población (Cornuet y Luikart *et al.*, 1996). Cabe aclarar que la comparación que realiza este programa al probar el exceso de heterocigosidad en cada locus, es distinta a la realizada para probar equilibrio Hardy-Weinberg, ya que el programa Bottleneck 1.2.02 toma en cuenta una heterocigosidad esperada con un supuesto de equilibrio entre mutación y deriva génica, el cual no contempla Hardy-Weinberg (Luikart *et al.*, 1998). Para la prueba de signo además se tomó en cuenta un modelo de mutación paso a paso (SSM), ya que muchos microsatélites se ajustan a este modelo (Valdes *et al.*, 1993).

Estructura genética

Para la estructura genética, con Arlequín 3.1 se estimó entre poblaciones, el nivel de diferenciación pareado R_{ST} , a partir del cual se calculó el valor de flujo génico (N_m) (Excoffier *et al.*, 2007). El coeficiente de diferenciación antes mencionado es el más adecuado al usar microsatélites, ya que toma en cuenta el alto polimorfismo del marcador (Slatkin 1995). Para los coeficientes de diferenciación se ha propuesto que valores mayores a 0.25, equivalen a niveles altos de diferenciación, valores entre 0.05 y 0.25 son moderados y valores menores a 0.05 se pueden considerar bajos (Freeland *et al.*, 2011). No obstante, valores aún por debajo de 0.05 pueden llegar a ser significativos (Freeland *et al.*, 2011). Por lo tanto, para cada prueba de R_{ST} se llevó a cabo una prueba de significancia tomando en cuenta 1000 permutaciones y un valor de $p=0.05$ (Excoffier *et al.*, 2007). Con el programa GDA (Lewis y Zaykin 2002) se calculó la distancia genética de Nei (D) (1972), la cual representa la similitud que existe entre las poblaciones con base en las frecuencias alélicas y se construyó un dendrograma de similitud UPGMA (Ver ecuaciones para estos cálculos en el Apéndice 1). Posteriormente se probó el modelo de aislamiento por distancia, con una prueba de Mantel realizada en el programa Mantel

Nonparametric Test Calculator (Liedloff 1999), mediante el cual se estimó el nivel de correlación entre los valores de diferenciación genética (R_{ST}) con la distancia geográfica, con un $\alpha=0.05$ y 1000 permutaciones. Esta prueba busca explicar si la ubicación geográfica de las poblaciones determina la estructura genética obtenida. También con Arlequín 3.1 se realizó una prueba de AMOVA (Excoffier 1992, Excoffier *et al.*, 2007), para lo cual se establecieron tres grupos con base en la distribución geográfica de las poblaciones. Los grupos fueron: Puebla que incluyó Petlalcingo 1 y Petlalcingo 2, Oaxaca 1 que incluyó Ahuehuetitlán y Santa María Ayú, y Oaxaca 2 que consideró solo a Rancho Reyes. Con este análisis se obtuvo la varianza que representa la variabilidad genética que proviene de las jerarquías de agrupamiento: entre individuos, entre poblaciones o entre los grupos establecidos. Asimismo, se llevó a cabo un análisis bayesiano de asignación de genotipos, que calcula la probabilidad de que los genotipos de los individuos pertenezcan a cada una de las poblaciones en las cuales fueron colectados (Excoffier *et al.*, 2007). También se realizó con el programa GenAlEx 5.2, una matriz de distancia euclidianas entre genotipos (Smouse y Peakall 1999), a partir de la cual se construyó un análisis de coordenadas principales (PCoA), el cual agrupa a los individuos en base a dichas distancias (Peakall y Smouse 2006) y nos permite saber la estructura espacial que existe a nivel de genotipos.

Densidad poblacional y estructura de tamaños

La densidad poblacional, se obtuvo mediante el cálculo del promedio de individuos encontrados por metro cuadrado. Para la descripción de la estructura de tamaños, en cada población se agruparon los datos en diferentes categorías de talla, asignando los intervalos con la regla de Sturges (Daniel 2007). A estos intervalos se hicieron ajustes con base en observaciones realizadas en campo, tales como el diámetro a partir del cual se encontraron individuos reproductivos. La estructura de tamaños entre las poblaciones se comparó con una prueba de χ^2 con un $\alpha=0.05$.

Resultados

Diversidad genética

Para el total de las poblaciones el número de alelos fue de 62, encontrándose por locus de nueve a 17 alelos (N_T) y un promedio de seis (A) (Cuadro 1). Los valores de heterocigosidad observada por locus para el total de poblaciones estuvieron en desequilibrio Hardy-Weinberg ($p < 0.05$) (Cuadro 1). Además el coeficiente de endogamia fue en promedio bajo (0.02), siendo el locus MamVTC6 en el que se presentó el valor más elevado (Cuadro 1).

A nivel de cada población la riqueza alélica varió de 28 a 35 alelos siendo los valores más altos para Petlalcingo 1 y Petlalcingo 2 (Cuadro 2). La diversidad alélica (A) promedio por población fue de seis y las heterocigosidades observadas fueron más altas que las esperadas para cada una de las poblaciones, siendo Rancho Reyes la que tuvo la heterocigosidad observada más baja, seguido de Ahuehuetitlán y finalmente Santa María Ayú, Petlalcingo 1 y Petlalcingo 2, con los valores más altos (Cuadro 2). El número efectivo de alelos (A_e) por población fue en promedio de cuatro (Cuadro 2). El número de alelos exclusivos (A_p) varió de dos hasta nueve alelos, siendo Rancho Reyes la población que presentó la mayor cantidad de alelos exclusivos (Cuadro 2). El coeficiente de endogamia para todas las poblaciones (F_{IS}) fue negativo con un promedio de -0.08 (Cuadro 2). En cuanto a la prueba de signo, ésta no resultó significativa para ninguna de las poblaciones ($p > 0.05$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Por población se presenta la riqueza alélica, la diversidad alélica (A), el número efectivo de alelos (A_e), el número de alelos exclusivos (A_p), la heterocigosidad observada (H_o), la heterocigosidad esperada (H_e), el coeficiente de endogamia (F_{IS}), la proporción de loci con exceso de heterocigosidad (H_E/H_D) y el valor " p " para la prueba de signo.

Población	N_T	A	A_e	A_p	H_o	H_e	F_{IS}	H_E/H_D	Valor p
Ahuehuetitlán	29	6	3.3	3	0.72	0.69	- 0.04	1/5	0.08
Rancho Reyes	28	6	2.6	9	0.58	0.60	- 0.05	0/5	0.09
Santa María Ayú	30	6	3.4	3	0.82	0.7	- 0.17	2/5	0.9
Petalcingo 1	35	7	4	6	0.8	0.73	- 0.09	2/5	0.3
Petalcingo 2	33	7	4	2	0.8	0.72	- 0.09	1/5	0.09

Estructura genética

Las diferencias registradas entre poblaciones fueron significativas, excepto entre Santa María Ayú y Petlalcingo 2 (Cuadro 3). El nivel diferenciación más alto se encontró entre Ahuehuetitlán y Rancho Reyes, los niveles más bajos entre Petlalcingo 1 con Santa María Ayú y Petlalcingo 2, los demás valores de diferenciación fueron moderados (Cuadro 3). El flujo génico (N_m) entre las poblaciones fue mayor a uno, salvo en Rancho Reyes que presentó flujo génico menor a uno con Ahuehuetitlán (Cuadro 3).

Cuadro 3. Coeficiente de diferenciación entre poblaciones (R_{ST}) por debajo de la diagonal y por encima de la diagonal los valores de flujo génico (N_m), Con asteriscos se marcan los valores significativos y con letras el grado de diferenciación siendo "A" alto, "M" moderado y "B" bajo.

Población	Ahuehuetitlán	Rancho Reyes	Santa María Ayú	Petalcingo 1	Petalcingo 2
Ahuehuetitlán	0	0.32	2.4	1.32	1.1
Rancho Reyes	0.44**A	0	1	1	1.5
Santa María Ayú	0.09**M	0.24**M	0	5.4	32.5
Petalcingo 1	0.2**M	0.22**M	0.04**B	0	8.3
Petalcingo 2	0.2**M	0.14**M	0.008	0.03**B	0

Los valores de distancia genética de Nei (D), son inversamente proporcionales a los coeficientes de diferenciación (Cuadro 4). Al construir el dendrograma UPGMA las poblaciones se agruparon en cuatro nodos, que no reflejan la distribución geográfica de las poblaciones (Figura 3).

Cuadro 4. Valores de distancia genética de Nei entre poblaciones (D) por debajo de la diagonal y por encima de la diagonal los valores de distancia geográfica en kilómetros.

Población	Ahuehuetitlán	Rancho Reyes	Santa María Ayú	Petalcingo 1	Petalcingo 2
Ahuehuetitlán	0	9.37	1.74	22.35	22.38
Rancho Reyes	0.9	0	9.28	30.68	30.92
Santa María Ayú	0.3	0.9	0	21.72	21.85
Petalcingo 1	0.6	0.8	0.2	0	1.42
Petalcingo 2	0.6	0.4	0.2	0.1	0

La prueba de Mantel realizada no mostró correlación significativa entre el coeficiente de diferenciación R_{ST} y la distancia geográfica ($r^2=0.2644$, $p=0.05$). El AMOVA, mostró que el mayor porcentaje de variación genética se encuentra en los individuos en las poblaciones con un 79 % de varianza, seguido por un 15% entre los grupos establecidos y un 6 % entre las poblaciones.

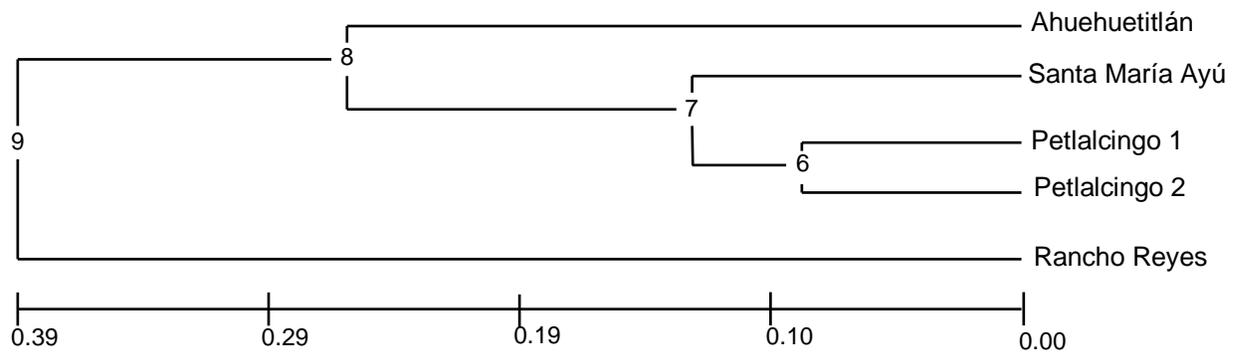


Figura 3. Dendrograma UGPMa construido a partir de la distancia genética de Nei (1974).

El análisis bayesiano de asignación reveló que la mayoría de genotipos corresponden a las poblaciones donde fueron colectados y solo ocho genotipos no corresponden al lugar de colecta, cuatro de ellos encontrados en Petlalcingo 2, dos en Petlalcingo 1, uno en Ahuehuetitlan y uno en Santa María Ayú.

Por otro lado, el análisis de coordenadas principales explico el 52% de la varianza (Figura 4). En el cual la coordenada 1(33.18%) agrupó la mayoría de los genotipos de Santa María Ayú, Petlalcingo 1 y Petlalcingo 2 juntos, así como a la mayoría de los pertenecientes a Ahuehuetitlán y Rancho Reyes (Figura 4). En contraste, la coordenada 2 (18.89%) agrupó a los genotipos de Petlalcingo 1, Petlalcingo 2, Santa María Ayú y Ahuehuetitlán. Así como los pertenecientes a Rancho Reyes en otro grupo (Figura 4).

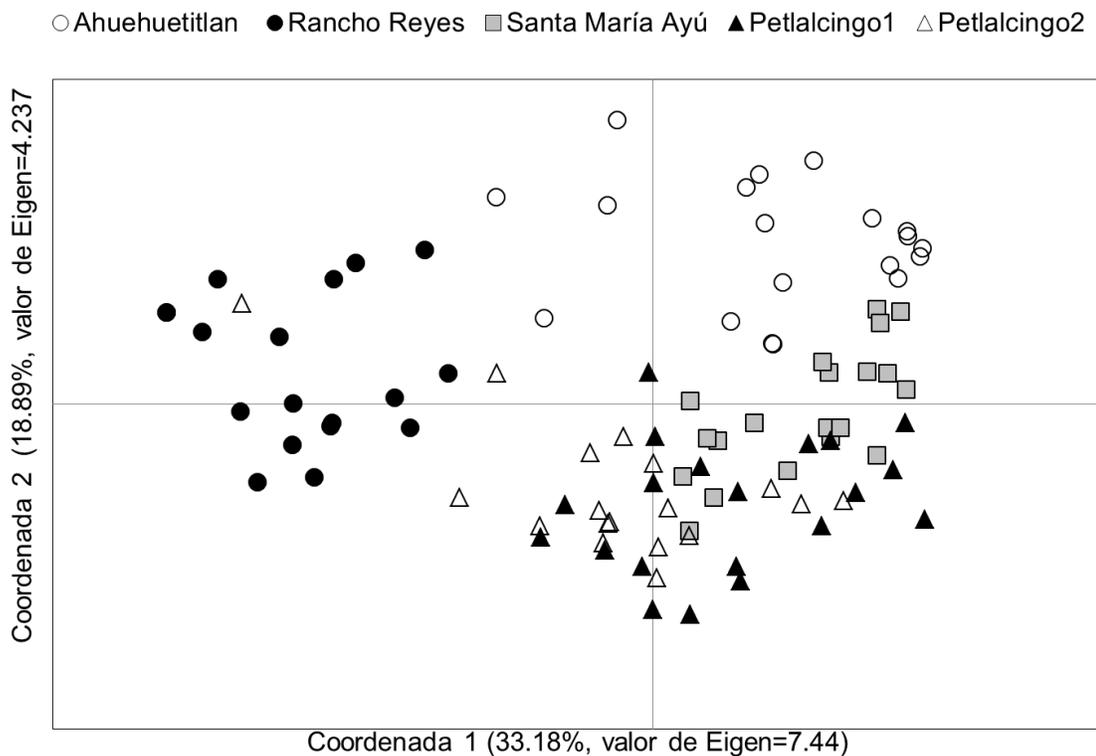


Figura 4. Análisis de coordenadas principales, donde se agrupa a los individuos en base a las distancias euclidianas entre genotipos. Porcentaje de la varianza total explicada por cada eje y el valor de Eigen se presenta dentro del paréntesis.

Densidad poblacional y estructura de tamaños

La densidad promedio de las poblacionales fue de nueve individuos/m², siendo en Petlalcingo 1 y Ahuehuetitlán, en las cuales se documentaron los valores más altos con 16 y 13 individuos/m², respectivamente. Le siguieron la población de Santa María Ayú con siete individuos/m² y al último Petlalcingo 2 y Rancho Reyes con cinco individuos/m².

Para la estructura de tamaños los individuos fueron clasificados en cinco categorías de diámetro (Figura 5). Existieron diferencias significativas entre las estructuras de las poblaciones ($\chi^2 = 124.73$, g. l. 16, $p = 0.05$). El número mayor de individuos en las poblaciones fue de tallas de 1.4 a 2.9 cm con más del 70% de individuos representados para cada población, cabe mencionar que a partir de estas tallas los individuos producen estructuras reproductivas. Por otra parte, se encontró un número bajo de individuos

mayores a 3 cm respecto a los valores esperados en Ahuehuetitlán y Petlalcingo 1 (Figura 5). Además en las poblaciones se registró un número variable de individuos de menos de 0.6 cm, registrando entre 10 a 20 individuos en Ahuehuetitlán, Santa María Ayú y Petlalcingo 1, y solo un individuo en Rancho Reyes y Petlalcingo 2 (Figura 5). No obstante, estos individuos no llegan a representar más del 10% para las poblaciones.

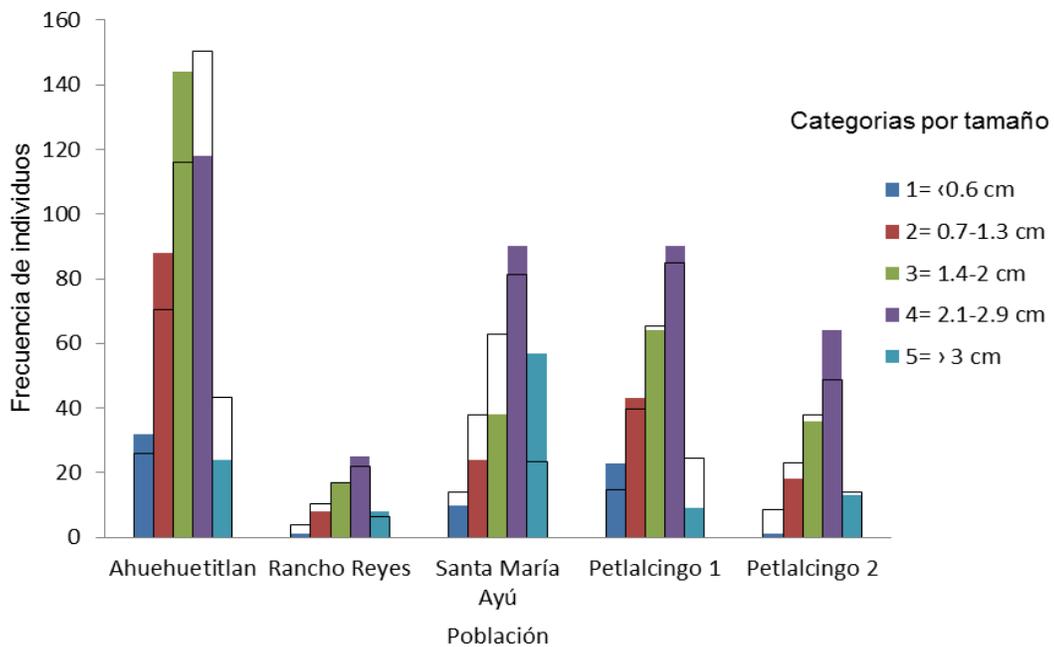


Figura 5. Estructura de tamaños en *M. solisioides* y valores esperados a partir de prueba de χ^2 . Del lado derecho se muestran las categorías y el intervalo de tamaños establecidos y en barras transparentes se muestran los valores esperados para cada categoría en las poblaciones.

Discusión

El comparar los valores de diversidad alélica por población y el promedio de alelos por locus registrados para *M. solisoides*, con lo documentado en otras cactáceas donde se han usado microsatélites resulta inadecuado, ya que el tamaño del muestreo molecular y poblacional varía de un estudio a otro (Hughes *et al.*, 2008, Hardesty *et al.*, 2008, Butterworth 2011, Terry *et al.*, 2012, Solórzano *et al.*, 2009), lo cual puede influir sobre los valores registrados (Allendorf y Luikart 2007). Sin embargo, al contrastar los valores para la especie aquí estudiada con otras especies de *Mammillaria*, en las cuales se ha llevado a cabo un muestreo molecular igual o menor al realizado en este estudio, se observa que las diversidades alélicas por población y por locus para *M. solisoides*, son de las más bajas para el género, al ser más bajas que las registradas por población para *M. supertexta* (8) (Cuevas-Alducin 2013) y más bajas que las documentadas por locus en *M. napina* (8) y *M. sphacelata* (9) (Tapia-Salcido 2011), siendo solamente mayor a los valores registrados por población para *M. zephyranthoides* (5) (López-Ortiz 2013).

La baja diversidad alélica para esta especie se atribuye a los efectos de la deriva génica que ha actuado a lo largo de su historia evolutiva. Se propone esto, con base en lo observado en campo, ya que aunque no se hizo un conteo del número de individuos en las poblaciones, ni se midió el tamaño efectivo poblacional, el área de ocupación de estas llega a ser diferente, por lo que sus tamaños poblacionales son distintos y deberían haberse registrado diversidades y riquezas alélicas contrastantes entre poblaciones. Sin embargo, en Ahuehuetitlán la cual considero la población más grande de las estudiadas, se registró una diversidad y riqueza alélica muy parecida a la de Rancho Reyes la cual con base en lo observado en campo, considero es una de las más pequeñas. La deriva génica se ha propuesto como una de las principales fuerzas evolutivas que pueden disminuir la riqueza y diversidad alélica con base en los tamaños efectivos poblacionales (Ellstrand y Elam 1993, Frankham 1996, Beebe y Graham 2005). Sin embargo, también se ha planteado que se puede observar una población aparentemente numerosa pero con una diversidad genética baja, debido a fluctuaciones del tamaño de la población a lo largo de su historia, lo cual con el paso de los años puede disminuir progresivamente el tamaño efectivo de la población y aumentar los efectos de la deriva génica (Freeland *et al.*, 2011). Esto podría ser lo que ha pasado en las poblaciones de *M. solisoides*, ya que existen antecedentes con la especie, en los cuales se ha comprobado que puede haber una alta mortalidad de individuos grandes en las poblaciones de un año a otro (Rodríguez-Ortega

2008), lo cual podría provocar variaciones en el tamaño efectivo a través del tiempo. Por lo tanto, se establece que el estado actual de las poblaciones podría no reflejar las diversidades y riquezas alélicas registradas.

La heterocigosidad observada, por locus tuvo valores muy heterogéneos, no obstante por población la heterocigosidad es más alta que lo registrado con microsatélites para muchas de las especies de *Mammillaria* y otras cactáceas globosas (Terry *et al.*, 2012, Hardesty *et al.*, 2008, Hughes *et al.*, 2008, Solórzano *et al.*, 2009, Tapia-Salcido 2011, Cuevas-Alducin 2013, López-Ortiz 2013). Algo contrastante con la mayoría de estos estudios, es que para *M. solisoides* se documentó un exceso de heterocigosidad para las poblaciones y coeficientes de endogamia negativos, lo cual también se ha registrado para *M. zephyrantooides* (López-Ortiz 2013). La presencia de este patrón ha sido atribuida teóricamente a varios factores como son la selección natural, el número de individuos reproductivos, mecanismos de auto-incompatibilidad en polen y cuellos de botella recientes (Cornuet y Luikart 1996, Allendorf y Luikart 2007, Pudovkin *et al.*, 1996, Luikart y Cornuet 1999, Balloux 2004, Hart y Clark 1997, Stoeckel *et al.*, 2006).

La selección natural ha sido propuesta como un mecanismo que puede provocar un exceso de heterocigosidad en las poblaciones. Debido a que por selección direccional los heterocigotos pueden verse aventajados sobre los homocigotos, lo que provoca que el valor de heterocigosidad sea mayor a lo que se esperaría (Stoeckel *et al.*, 2006). No obstante, para este trabajo podemos descartar esta hipótesis, ya que los microsatélites suponen selección neutra.

El número de individuos reproductivos en una población es otra causa que puede provocar el exceso de heterocigosidad en especies con entrecruzamiento (Balloux 2004). Cuando el número de individuos reproductivos es pequeño, los valores observados de heterocigosidad aumentan sobre los valores esperados, porque entre individuos reproductivos se pueden tener alelos distintos por azar y al entrecruzarse generar una alta cantidad de heterocigotos (Pudovkin *et al.*, 1996, Luikart y Cornuet 1998). Para *M. solisoides* podemos suponer que hay entrecruzamiento, porque durante el trabajo de campo fueron observados polinizadores. Aunado a esto en las flores, el estigma se encuentra por encima de las anteras. Esta modificación morfológica llamada hercogamia, en cactáceas globosas puede evitar la autofecundación (Nassar y Ramírez 2004) y para

otras familias de plantas se ha propuesto aumenta la eficiencia de la polinización (Lloyd y Webb 1986). Además de que aunque la estructura de tamaños de las poblaciones muestra que el número de individuos potencialmente reproductivos es alto, no se puede asegurar que la fecundidad de todos sea la misma, por lo cual no se debe descartar esta hipótesis.

Asociado a los mecanismos que pueden provocar el exceso de heterocigosidad, se ha propuesto que en el polen de varias especies se puede encontrar un alelo de auto-incompatibilidad (SI). Este haplotipo en el grano de polen al aterrizar en el estigma de una planta con el mismo alelo, provoca una cascada de reacciones que evitan la polinización, lo que genera un gran número de heterocigotos, al evitarse el entrecruzamiento entre individuos emparentados (Hart y Clark 1997). Para *M. solisoides*, no se conoce nada sobre este mecanismo, por lo que debe de ser explorado en otros estudios, ya que podría tener una gran repercusión en la variabilidad genética de la especie.

Otro factor que puede ser la causa de un exceso de heterocigosidad, son los cuellos de botella recientes. Estos fenómenos tienden afectar en primera instancia los alelos antes que la heterocigosidad decaiga, lo que provoca el exceso de esta última (Cornuet y Luikart 1996, Allendorf y Luikart 2007). Esta situación puede estar ocurriendo en *M. solisoides*, ya que la diversidad alélica para cada población y el promedio de alelos por locus para el total de las poblaciones, fue menor a los valores registrados con otras especies de *Mammillaria* (Tapia-Salcido 2011, Cuevas-Alducin 2013). El análisis de la prueba de signo (Cornuet y Luikart 1996), reveló que el número de loci con exceso de heterocigosidad en las poblaciones no fue significativo para asegurar la ocurrencia de este evento. Sin embargo, la posibilidad de un cuello de botella no debe descartarse, ya que para dicha prueba se sugiere llevar a cabo un muestreo molecular alto para tener mayor poder estadístico (Cornuet y Luikart 1996). Así se necesitan hacer estudios posteriores con una mayor cantidad de loci, para poder probar esta hipótesis, la cual apoyaría la idea de variaciones altas en los tamaños efectivos de las poblaciones discutida anteriormente.

Los valores de flujo génico entre poblaciones en *M. solisoides* fueron mayores a uno, lo que se ha propuesto es suficiente para contrarrestar los efectos de la diferenciación (Slatkin *et al.*, 1985). No obstante, para la mayoría de los coeficientes de diferenciación

calculados se documentaron valores significativos y se registraron alelos exclusivos, prueba de una estructuración genética. Por lo que el estimador puede estar sobreestimando el flujo génico que en realidad se podría establecer entre las poblaciones. Esto puede deberse a que este estimador se calculó a partir R_{ST} . Al hacer esto se puede sobreestimar el flujo génico por la alta varianza del coeficiente de diferenciación, además se ha observado en simulaciones que muestreos moleculares menores a 10 locus en poblaciones pequeñas, pueden ocasionar que el coeficiente de flujo génico medido a partir de R_{ST} sea poco preciso (Gaggiotti *et al.*, 1999). Por lo cual se establece que el flujo génico no explica la estructura genética registrada.

Al construir el dendrograma UPGMA, se observó que las poblaciones de Petlalcingo 1 y Petlalcingo 2 se encuentran agrupadas en el nodo de mayor similitud, esto puede deberse a su ubicación geográfica, ya que estas poblaciones se encuentran a solo 1.5 km de distancia y existen referencias de que entre estas dos, hay más poblaciones (Peters y Martorell 2001). Esto puede sugerir que en algún momento estas poblaciones pudieron pertenecer a una gran población que recientemente fue fragmentada en pequeños manchones o bien a una colonización reciente a partir de una población ancestral, lo que explica que mantengan uno de los valores de diferenciación más bajos. A su vez, se podría pensar que todas las poblaciones estudiadas, en el pasado pudieron pertenecer a una población ancestral, de acuerdo con los valores de diferenciación genética registrados, los cuales muestran que no hay relación con la distancia geográfica, documentando entre las poblaciones de Santa María Ayú y Petlalcingo 2 el único valor de diferenciación no significativo siendo poblaciones alejadas por más de 20 km. Esta idea podría ser apoyada al observar el análisis de asignación, en el cual aunque la mayoría de genotipos correspondieron al lugar donde fueron colectados, para algunos la probabilidad más alta se encontró en poblaciones diferentes a su ubicación geográfica. Por lo tanto, lo que podría haber sucedido es que las poblaciones surgieron de una población ancestral a partir de la cual se han visto bajo distintos efectos de la deriva génica, con base en el número de individuos a partir de los que se establecieron y los cambios a lo largo de su historia, como ha sido teóricamente propuesto para metapoblaciones (Wade y McCauley 1988, Harrison y Hastings 1996). Sin embargo, esta hipótesis se debe de tomar con mucha precaución, porque no se tienen antecedentes de la biogeografía de la especie, ni pruebas de extinción y recolonización de sus poblaciones. Lo que sí se puede asegurar es que Rancho Reyes y Ahuehuetitlán son las poblaciones que más se han diferenciado,

como el análisis de coordenadas principales muestra, al agrupar de manera independiente la mayoría de sus genotipos. En contraste, los genotipos de Santa María Ayú, Petlalcingo 1 y Petlalcingo 2, se encuentran juntos, debido a que la diferenciación es menor.

En cuanto a la densidad poblacional y la estructura de tamaños estas no pueden ayudarnos a explicar los datos genéticos, por lo ya discutido anteriormente acerca de que el estado actual de las poblaciones, podría no reflejar su estado de conservación genética. Sin embargo, es importante recalcar que la densidad fue alta en comparación con lo registrado en estudios con especies de *Mammillaria* en los cuales se realizó un muestreo dirigido como en esta tesis (Tapia-Salcido 2011, Cuevas-Alducin 2013). Esta diferencia puede explicarse por dos atributos de la especie: 1) Al mecanismo de dispersión de semillas, ya que en otras especies de *Mammillaria* con serotinia, se ha planteado que la dispersión debe ser pasiva al ser promovida por la caída de lluvia (Peters *et al.*, 2009, Peters *et al.*, 2011), este tipo de dispersión puede limitar la distribución de este tipo de plantas (Primack y Miao 1992), provocando el agrupamiento de los individuos en manchones, generando altos niveles de densidad; 2) la densidad puede estar reflejando el atributo ruderal de la especie a algunas actividades humanas crónicas, como ha sido propuesto por Peters y Martorell (2001), ya que por su hábito semigeófito la competencia con otras plantas no le beneficia (Anderson *et al.*, 1994, Peters y Martorell 2001). Para poblaciones como Ahuehuetitlán y Petlalcingo 1, en las cuales se observaron vestigios de perturbación crónica por ganadería, se encontraron las densidades más altas. No obstante, es arriesgado decir que este tipo de actividades podría ser una forma de conservación para la especie, ya que a largo plazo la perturbación crónica podría provocar la compactación y la degradación del suelo, lo cual podría condicionar el establecimiento de la especie, como se propone en general para plantas (Barrow 1991, Passioura 1992). Por lo tanto, no debe minimizarse la amenaza que este tipo de actividades puede representar para la especie. Además, cabe aclarar que este no es el único tipo de perturbación que se encuentra en las poblaciones, ya que la mayoría de estas se encuentran cerca de asentamientos humanos. En específico se observó a unos pocos metros de la población de Ahuehuetitlán la construcción de una vivienda y aproximadamente a 500 metros de Petlalcingo 2 un tiradero de basura. Estos tipos de perturbación se ha comprobado en otras especies de *Mammillaria* son perjudiciales (Leirana-Alcocer y Parra-Tabla 1999, Valencia-Díaz *et al.*, 2012), por lo cual

estas actividades podrían ser de gran riesgo para estas poblaciones. En cuanto a la estructura por tamaños, la cantidad de individuos potencialmente reproductivos en las poblaciones es alta. Sin embargo, la cantidad de individuos pequeños es baja. Esto concuerda con lo documentado por Rodríguez-Ortega para dos poblaciones de la especie (2008). La baja cantidad de individuos pequeños puede deberse a la mortalidad alta en los primeros estadios de vida, lo cual en especies de *Mammillaria* y en general en cactáceas, ha sido registrado y se ha propuesto como un factor de riesgo para las especies (Hernández y Godínez 1994, Godínez-Álvarez *et al.*, 2003, Valverde *et al.*, 2004). Además cabe mencionar que la cantidad de individuos de tallas pequeñas sigue siendo muy baja en comparación con otras categorías de diámetro, aun siendo *M. solisoides* una especie con serotinia, atributo que en otras especies de *Mammillaria* se ha propuesto puede ayudar al establecimiento en las poblaciones (Peters *et al.*, 2009, Peters y Martorell 2011).

Conclusiones

A partir de los resultados genéticos obtenidos para este estudio, se concluye que la deriva génica es el proceso evolutivo más importante que determina la diversidad y estructura genética en las poblaciones, en las cuales variaciones en los tamaños efectivos a lo largo del tiempo podrían ser la causa de la acentuación de los efectos de este proceso evolutivo. Lo cual podría ser un factor de vulnerabilidad para la especie a futuro de seguir disminuyendo la variación alélica, ya que podría provocar problemas en su subsistencia. Esto aunado a la alta perturbación por ganadería y urbanización observada, podrían provocar que las poblaciones estudiadas aquí puedan verse amenazadas.

Por lo tanto, se deben emprender estrategias de conservación para las poblaciones de esta especie. A partir de los datos generados en esta tesis, se sugiere establecer tres poblaciones como prioridades de conservación: Petlalcingo 1 por registrarse la riqueza alélica más alta, Petlalcingo 2 por contener la segunda riqueza alélica más alta y por contener el segundo valor más elevado de alelos exclusivos, y Rancho Reyes por contener el número mayor de alelos exclusivos. El conservar estas tres poblaciones aseguraría el mantenimiento de una gran cantidad de la variabilidad genética de las poblaciones. Aunque de ser posible deberían de conservarse las cinco.

Literatura citada

- Anderson, E. F. 2001. The cactus family. Timber Press. Oregon, USA.
- Anderson, E. F., Arias, S., Taylor, N. P. 1994. Threatened cacti of Mexico. Vol. II. Royal Botanic Garden, Kew. Londres, Reino Unido.
- Allendorf, W. F., Luikart, G. 2007. Conservation and the Genetics of Populations. Blackwell Publishing. Massachusetts, EUA.
- Arakaki, M., Soltis, E. D., Soltis, S. P., Speranza, P. R. 2010. Characterization of Polymorphic Microsatellite Loci in *Haageocereus*. America Journal of Botany e17-e19.
- Barrett, S. C. H., Kohn, J. R. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation pp 3-30 en Genetics and conservation of rare plants. Falk D. A. and Holsinger K. E. (eds). Oxford University Press, New York, EUA.
- Bravos-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., México.
- Balloux, F. 2004. Heterozygote excess in small populations and the heterozygote-excess effective population size. Evolution 58: 1891-1990.
- Barrow, C. J. 1991. Land degradation: development and breakdown of terrestrial environments. Cambridge University Press. Cambridge, Reino Unido.
- Beebee, T., Graham, R. 2005. An introduction to Molecular Ecology. Oxford University Press. Oxford, Reino Unido.
- Benítez, H., Dávila, P. 2002. Las cactáceas mexicanas en el contexto de la CITES. CONABIO. Biodiversitas 40: 8-11.

Becerra, R. 2000. Las cactáceas, plantas amenazadas por su belleza. CONABIO. Biodiversitas 32: 1-5.

Butterworth, C. A. 2011. Isolation and characterization of 10 polymorphic microsatellite loci in *Coryphantha robustispina* ssp. *robustispina*. Conservation Genetic Resources 3: 247-249.

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.

CITES 2012. Apéndices I, II, III. <http://www.cites.org/esp/app/appendices.php> consultada: noviembre del 2012.

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 Environment 51: 89-102.

Cornuet, J. M., Luikart, G., 1996. Description and power analysis of two test for detecting recent population bottleneck from allelic frequency data. Genetic Society of America 144: 2001-2014.

Cuevas-Alducin, P. D. 2013. Análisis de la diversidad y estructura genética poblacional de *Mammillaria supertexta* Mart. ex Pfeiff (Cactaceae), especie endémica de la Valle e Tehuacán-Cuicatlán, México. Tesis de licenciatura. FES Iztacala, UNAM. Edo. de México, México.

Daniel, W. 2007. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. 4th ed. Limusa Wiley. D.F., México.

DOF. 2010. Norma Oficial Mexicana Nom-059-SEMARNAT-2010. Diario Oficial de la Federación, D.F., México.

-
- Ellstrand, N. C. 1992. Gene Flow by Pollen: Implications for Plant Conservation Genetics. *Oikos* 1: 77-86.
- Ellstrand, N. C., Elam, D. R. 1993. Population genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 217-242.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., Quattro, J. M. 1992. Analysis of Molecular Variance Inferred from Metric Distance Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics Society of America* 131: 479-491.
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S. 2007. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Informatics Online* 1: 47-50.
- Elzinga, C. L., Salzer, D. W., Willoughby, J. W., Gibbs, J. P. 2001. *Monitoring plants and animal populations*. Blackwell Science, Inc. Massachusetts, EUA.
- Esparza-Olguín, L., Valverde, T., Vilchis-Anaya, E. 2002. Demographic analysis of a rare columnar cactus (*Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacan Valley, México. *Biological Conservation* 103: 349-359.
- Frankel, O. H., Soulé, M. E. 1981. *Conservation y Evolution*. Cambridge University Press. Cambridge, Reino Unido.
- Frankham, R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wild life. *Conservation Biology* 10: 1500-1508.
- Frankham, R. 2003. Genetics and conservation biology. *C. R. Biologies* 326: 22-29.
- Ferrer-Cervantes, M. E., Méndez-González, M. E., Quintana-Asencio, P. F., Dorantes, A., Dzib, G., Durán, R. 2012. Population dynamics of the cactus

Mammillaria gaumeri: an integral projection model approach. Population Ecology 54: 321-334.

Freeland, J. R., Petersen, S. D., Kirk, H. 2011. Molecular Ecology. 2da ed. Wiley-Blackwell. Oxford, Reino Unido.

Flores-Martinez, A., Manzanero-Medina, G. I. 2005. Método de evaluación de riesgo de extinción de *Mammillaria huitzilopochtli* D. R. Hunt. Cactáceas y Suculentas Mexicanas 50: 15-26.

Gaggiotti, O. E., Lange, O., Rassmann, K., Gliddon, C. 1999. A comparison of two indirect methods for estimating average levels of gene flow using microsatellite data. Molecular Ecology 8: 1513-1520.

Gram, W. K., Sork, V. L. 1999. Population density as a predictor of genetic variation for woody plant species. Conservation Biology 13: 1079-1087.

Godínez-Álvarez, H., Valverde, T., Ortega-Baes, P. Demographic trends in the cactaceae. The Botanical Review 69: 173-203.

Guzmán, U., Arias, S., Dávila, P. 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas. UNAM CONABIO. D.F., México.

Hamrick, J.L., Nason, J.D., Fleming, T.H., Nassar, J.M. 2002. Genetic Diversity in Columnar Cacti. pp 122-133 en Columnar Cacti and Their Mutualists Evolution, Ecology and Conservation. Fleming, T.H., Valiente-Banuet (eds.). University of Arizona Press, Arizona, EUA.

Hardesty, B. D., Hughes, S. L., Rodriguez, V. M., Hawkins, J. A. 2008. Characterization of microsatellite loci for the endangered cactus *Echinocactus grusonii*, and their cross-species utilization. Molecular Ecology Resources 8: 164-167.

-
- Harrison, S., Hastings, A. 1996. Genetic and evolutionary consequences of metapopulation structure. *TREE* 11: 180-183.
- Hart, D. L., Clark, A.G. 1997. Principles of populations genetics. 3ra ed. Sinauer Associates Inc. Massachusetts, EUA.
- Hedrick, P. 2011. Genetics of Populations. 4th ed. Jones and Bartlett Publisher. Massachusetts, EUA.
- Helsen, P., Verdyck, P., Tye, A., Desender, K., Van Houtte, N., Van Dongen, S. 2007. Isotalion and characterization of polymorphic microsatellite markers in Galapagos prickly pear (*Opuntia*) cactus species. *Molecular Ecology Notes* 7: 454-456.
- Hernández, M. H., Godínez, A. H. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas amenazadas. *Acta Botánica Mexicana* 26: 33-52.
- Hernández, M. H., Gómez-Hinostrosa, C., Goetisch, C. B. 2004. Cactáceas pp 199-208 en Biodiversidad de Oaxaca. García-Mendoza, A. J., Ordoñez, M., Briones-Salas, M. (eds). Instituto de Biología, UNAM. Fondo Oaxaqueño para la conservación de la naturaleza Word Wildlife Foundation. D.F., México.
- Hughes, S. L., Rodríguez, M., Hardesty., D., Bárcenas Luna, T. R., Hernández, M. H., Robson, SR.M., Hawkins, J. A. 2008. Characterization of microsatellite loci for the critically endagered cactus *Ariocarpus bravoanus*. *Molecular Ecology Resources* 8: 1068-1070.
- Hunt, D.R. 1999. CITES, Cactaceae checklist. 2a ed. Royal Botanic Gardens Kew and International Organization for Succulenta Plant Study. Londres, Inglaterra.
- Hutchings, M. J. 1997. The structure of plant populations pp 325-348 en Plant ecology Crawley, M.J (Ed.). 2da ed. Blackwell Sciencie. Oxford, Inglaterra.

INEGI 2011. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Heroica Ciudad de Huajapán de León, Oaxaca.

IUCN 2013. Red list of threatened species. <http://www.iucnredlist.org/> consultada: octubre del 2013.

Jarne, P., Lagoda, P. J. L. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *TREE* 11: 424-429.

Kwak, M. M., Velterop, O., Van Andel, J. 1998. Pollen and gene flow in fragmented habitats. *Applied Vegetation Science* 1:37-54.

Leirana-Alcocer, J., Parra-Tabla, V. 1999. Factors affecting the distribution, abundance and seedling survival of *Mammillaria gaumeri*, an endemic cactus of coastal of Yucatán, México. *Journal of Arid Environments* 41: 421-428.

Lewis, P. O., Zaykin, D. 2002. Genetic Data Analyser : Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.1. University of Connecticut.

López-Ortiz, N. M. 2013. Diversidad y estructura genética poblacional de *Mammillaria zephyranthoides* (Cactaceae): una especie endémica de México. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala, UNAM. Edo. de México, México. 52 pp.

Loveless, M. D., Hamrick, J. L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Reviews* 15:65-95.

Liedloff, A.C. 1999. Mantel Nonparametric Test Calculator. Version 2.0. School of Natural Resource Sciences, Queensland University of Technology.

Lloyd, D. G., Webb, C. J. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I. Dichogamy. *New Zealand Journal of Botany*, 24: 135-162.

-
- López-Ortiz, N. M. 2013. Diversidad y estructura genética poblacional de *Mammillaria zephyranthoides* (Cactaceae): una especie endémica de México. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala, UNAM. Edo. de México, México.
- Luikart, G., Cornuet, J. M. 1999. Estimating the Effective Number of Breeders From Heterozygote Excess in Progeny. *Genetics* 151: 1211- 1216.
- Luikart, G., Sherwin, W. B., Steele, B. M., Allendorf, F. W. 1998. Usefulness of molecular markers for detecting population bottlenecks via monitoring genetic change. *Molecular Ecology* 7: 963-974.
- Martorell, C., Peters, M. E. 2005. The measure of chronic disturbance and its effects on the threatment cactus *Mammillaria pectinefera*. *Conservation Biology* 124: 199-207.
- Martorell, C., Peters, M. E. 2008. Disturbance-Response Analysis: a Method for Rapid Assessment of the Threat to Species in Disturbed Areas. *Conservation Biology* 23: 377-387.
- Mota, L. S., Leite, B. E., Camara, M. M., Da Silva, A. S. 2006. Allozyme diversity and morphometrics of *Melocactus paucispinus* (Cactaceae) and evidence for hybridization with *M. concinnus* in the Chapada Diamantina, North-Eastern Brazil. *Annals of Botany* 97: 389- 406.
- Nassar, J. M., Hamrick, J. L., Fleming, T. H. 2001. Genetic variation and population structure of the mixed-mating cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Heredity* 87: 69-79.
- Nassar, J. M., Hamrick, J. L., Fleming, T. H. 2002. Allozyme diversity and genetic structure of leafy cactus (*Pereskia guamacho* (Cactaceae)). *The Journal of Heredity* 93: 193-200.

Nassar, J. M., Hamrick, J. L., Fleming, T. H. 2003. Population genetic structure of Venezuelan Chiropterophilous Columnar Cacti (Cactaceae). *American Journal of Botany* 90: 1628-1637.

Nassar, J. M., Ramírez, N. 2004. Reproductive biology of the melon cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution* 248: 31-44.

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist*. 106: 283-292.

Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals Humans Genetics* 41: 225-233.

Ortega-Baes, P., Godínez-Álvarez, H. 2006. Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity and Conservation* 15:817-827.

Otero-Arnaiz, A., Cruse-Sanders, J., Casas, A., Hamrick, J. L. 2004. Isolation and characterization of microsatellites in the columnar cactus: *Polaskia chichipe* and cross-species amplification within the tribu Pachycereeae (Cactaceae). *Molecular Ecology Notes* 4: 265-267.

Otero-Arnaiz, A., Casas, A., Hamrick, J. L. 2005. Direct and indirect estimates of gene flow among wild and managed populations of *Polaskia chichipe*, an endemic columnar cactus in Central Mexico. *Molecular Ecology* 14: 4313 - 4322.

Passioura, J. B. 1991. Soil structure and plant growth. *Australian Journal of Soil Research* 29: 717-728.

Parra, F., Perez-Nasser, N., Lira, R., Perez-Salicrup, D., 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.

-
- Peakall, R., Smouse, P. R., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- Pérez, F. M., Téó F. M., Zappi, C. M., Taylor P. N., Morales, M. E. 2011. Isolation, characterization and cross-species amplification of polymorphic microsatellite markers for *Pilosocereus machrisii* (Cactaceae). *American Journal of Botany* e204-e206.
- Peters, M. E., 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. D.F., México.
- Peters, M. E., Martorell, C., Ezcurra, E. 2008. Nurse rocks are more important than nurse plants in determining the distribution and establishment of globose cacti (*Mammillaria*) in the Tehuacán Valley, México. *Journal of Arid Environments* 72: 593-601.
- Peters, M. E., Martorell, C., Ezcurra, E. 2009. The adaptive 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.
- Peters, M. E., Martorell, C. 2011. The effects of serotiny and rainfall cued dispersal on fitness: bet-hedging in the threatened cactus *Mammillaria pectinifera*. *Population Ecology* 53: 383-392.
- Pilbeam, J. 1999. *Mammillaria*. Volumen 6 The Cactus file handbook. Cirio Publishing Services. Southampton, Reino Unido.
- Piry, S., Luikart, G., Cornuet, J. M. 1999. bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in effective population size from allele frequency data. *Journal of Heredity* 90: 502–503.

Primack, R. B., Miao, S. L. 1992. Dispersal Can Limit Local Plant Distribution. *Conservation Biology* 6: 513-519.

Pudovkin, A. I., Zaykin, D. V., Hedgecock, D. 1996. On the potential for estimating the effective number of breeders from heterozygote-excess in progeny. *Genetics* 144: 383-287.

Rodríguez-Ortega, C., Franco, M., Mandujano, M.C. 2006. Serotiny and seed germination in three threatened species of *Mammillaria* (Cactaceae). *Basic and Applied Ecology* 6: 533-544.

Rodríguez-Ortega, C. 2008. Consecuencias demográficas y evolutivas del secuestro de semillas en tres especies del género *Mammillaria* (Cactaceae). Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Instituto de Ecología, UNAM. D.F., México.

Silvertown, J., Charlesworth, D. 2001. *Introduction to Plant Population Biology*. 4a ed. Blackwell Publishing. Oxford, Reino Unido.

Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393-430.

Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetic Society of America* 139: 457-462.

Smouse, P. R., Peakall, R. 1999. Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity* 82: 561-573.

Solórzano, S., Cortez-Palomec, A. C., Ibarra, A., Davila, 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., Fernandez-Manjarres, J.F., 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, 2019-2118.

Tapia-Salcido, H. 2011. Análisis de la diversidad y estructura genética poblacional de dos especies del género *Mammillaria*, endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlan. Tesis de Maestría. FES Iztacala, UNAM. Edo. de México, México.

Terry, M., Pepper, A. E., Manhart, J. R. 2006. Development and characterization of microsatellite loci in endangered *Astrophytum asterias* (Cactaceae). *Molecular Ecology Notes* 3: 865-866.

Terry, M. K., Pepper, A. E., Strong, A. W., Tarin, D. M., Price D. M., Manhart, J. R. 2012. Genetic structure of a population of the endangered star cactus (*Astrophytum asterias*) in Southern Texas. *The Southwestern Naturalist* 57: 182-188.

Tinoco, A., Casas, A., Luna, R., Oyama, K. 2005. Population genetics of *Escontria chiotilla* in wild and silvicultural managed populations in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 525-538.

Ureta, C., Martorell, 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.

Valdes, A. M., Slatkin, M., Freimer, N. B. 1993. Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited. *The Genetic Society of America* 133: 737-749.

Valencia-Díaz, S., Flores-Palacios, A., Castillo-Campos, G. 2012. Tamaño poblacional y características del hábitat de *Mammillaria ericantha*, una cactácea endémica del centro de Veracruz, México. *Botanical Sciences* 90: 195-202.

Valverde, T., Quijas, S., Lopez-Villavicencio, M., Castillo, S. 2004. Population dynamics of *Mammillaria magnimamma* Haworth (Cactaceae) in a lava field in central México. *Plants Ecology* 170: 167-184.

Valverde, P. L., Zavala-Hurtado, J. A. 2006. Assessing the ecological status of *Mammillaria pectinifera* Weber (Cactaceae), a rare and threatened species endemic of the Tehuacan Cuicatlan Region in Central Mexico. *Journal of Arid Environments* 64: 193-208.

Valverde, P. L., Zavala-Hurtado, J. A., Jiménez-Sierra, C., Rendón-Aguilar, B., Cornejo-Romero, A., Rivas-Arancibia, S., López-Ortega, G., Pérez-Hernández, M. A. 2009. Evaluación del riesgo de extinción de *Mammillaria pectinifera*, cactácea endémica de la región de Tehuacán-Cuicatlán. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 80: 219-230.

Wade, M. J., McCauley, D. E. 1988. Extinction Recolonization: Their Effects on the Genetic Differentiation of Local Populations. *Evolution* 45:995-1005.

Young, A., Boyle, T., Brown, T. 1996. The population genetics consequences of habitat fragmentation for plants. *TREE* 11: 403-418.

Zavala-Hurtado, J. A., Valverde, P. L. 2003. Habitat restriction in *Mammillaria pectinifera*, a threatened endemic Mexican cactus. *Journal of Vegetation Science* 14:891-898.

Apéndice 1. Ecuaciones usadas para análisis genético.

1. Heterocigosidad esperada (H_e)

$$H_e = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 \right)$$

Para cada población “ p_i ” es la frecuencia del i ésimo alelo en la población, “ n ” el número de copias del gen y “ k ” el número de alelos. En el caso de la “ H_e ” calculada para el total de las poblaciones por locus, se tomaron en cuenta todos los datos como una sola población.

2. Número promedio de alelos por locus para las cinco poblaciones (A).

$$A = \frac{NP}{TP}$$

Donde “ NP ” es el número total de alelos registrados para las cinco poblaciones y “ TP ” es el número total de poblaciones estudiadas.

3. Diversidad alélica (A)

$$A = \frac{NA}{LT}$$

Donde “ NA ” es el número de alelos para la población y “ LT ” el número de loci utilizados.

4. Numero efectivo de alelos (A_e)

$$A_e = 1 / \sum_{i=1}^k p_i^2$$

Donde “ p_i ” es la frecuencia del i ésimo alelo en la población y “ k ” el número de alelos.

5. Coeficiente de endogamia (F_{IS}).

$$F_{IS} = \frac{H_e - H_o}{H_e}$$

Para el caso del coeficiente de endogamia para la especie “ H_o ” y “ H_e ” es la heterocigosidad y esperada por locus para el total de las poblaciones. En el caso del “ F_{IS} ” para cada población se hizo lo mismo pero solo tomó en cuenta una población y se calculó el promedio por locus.

6. Coeficiente de diferenciación entre poblaciones (R_{ST})

$$R_{ST} = \frac{\bar{S} - SW}{\bar{S}}$$

Donde “ \bar{S} ” es dos veces la varianza en el tamaño de los alelos en las poblaciones y “ SW ” es el doble del promedio de varianza en el tamaño de los alelos dentro de las población.

7. Distancia genética de Nei (D)

$$D = -\ln \left(\frac{\sum_{i=1}^k (p_{ix})(p_{iy})}{\sqrt{\sum_{i=1}^k p_{ix}^2 \sum_{i=1}^k p_{iy}^2}} \right)$$

Comparando dos poblaciones, “ p_{ix} ” es la frecuencia del i ésimo alelo en la población “A” y “ p_{iy} ” es la frecuencia del i ésimo alelo en la población “B”

8. Flujo génico (N_m)

$$N_m = \frac{\left(\frac{1 - R_{ST}}{2R_{ST}} \right)}{2}$$

Donde “ R_{ST} ” es el coeficiente de diferenciación entre dos poblaciones.