



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

FILOGEOGRAFÍA Y DIVERSIFICACIÓN DE *MAMMILLARIA*

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

NELLY MARÍA LÓPEZ ORTIZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. SOFIA SOLORZANO LUJANO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS
Y SUSTENTABILIDAD, UNAM

MÉXICO, CIUDAD DE MÉXICO, SEPTIEMBRE DE 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

FILOGEOGRAFÍA Y DIVERSIFICACIÓN DE *MAMMILLARIA*

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

NELLY MARÍA LÓPEZ ORTIZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. SOFIA SOLORZANO LUJANO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. ÁNGEL SALVADOR ARIAS MONTES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS
Y SUSTENTABILIDAD, UNAM

MÉXICO, CIUDAD DE MÉXICO, SEPTIEMBRE DE 2017

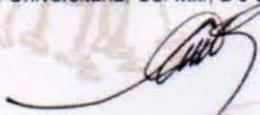
Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 05 de junio de 2017, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **NELLY MARIA LOPEZ ORTIZ**, con número de cuenta 306090918, con la tesis titulada "**Filogeografía y diversificación de *Mammillaria***", realizada bajo la dirección de la **DRA. SOFÍA SOLÓRZANO LUJANO**:

Presidente: DRA. PATRICIA DOLORES DÁVILA ARANDA
Vocal: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
Secretario: DR. ANGEL SALVADOR ARIAS MONTES
Suplente: DR. OSWALDO TÉLLEZ VALDÉS
Suplente: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 8 de agosto de 2017.


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

Agradecimientos académicos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por permitir mi desarrollo académico y profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca recibida (CVU 1028).

Agradezco a la Dra. Sofía Solórzano Lujano por compartir sus conocimientos y su tiempo, por la paciencia mostrada en el desarrollo y en la culminación de este trabajo. Por alentarme a seguir.

Al comité tutorial, los Dres. Salvador Arias y Antonio González Rodríguez, por sus comentarios en las evaluaciones tutorales y por su disponibilidad a lo largo de los estudios de maestría.

Al jurado, los Dres. Patricia Dolores Dávila Aranda, Oswaldo Téllez Valdés, Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza, Salvador Arias y Antonio González Rodríguez por sus observaciones para mejorar este escrito.

Esta tesis fue financiada en su totalidad por el proyecto UNAM – DGAPA – PAPIIT IN222216 “La conservación de *Mammillaria* bajo la perspectiva de nicho ecológico y de variación molecular”.

Las muestras biológicas aquí utilizadas fueron colectadas con el permiso de SGPA/DGVS/06880/16 otorgado por la Dirección General de Vida Silvestre, SEMARNAT. Asimismo, agradezco a las autoridades locales, estatales y federales las facilidades que brindaron para el muestreo de las especies aquí estudiadas.

Al Dr. Antonio González Rodríguez y a los integrantes del Laboratorio Genética de la Conservación, IIES, UNAM – Morelia. A la Biól. Tamara Ochoa por su ayuda en la obtención de los datos de microsatélites.

Al Dr. Oswaldo Téllez Valdés por su asesoría en los análisis de nicho, por compartir sus datos de las estaciones meteorológicas, por la elaboración de las coberturas climáticas y por los registros de las localidades de *M. huitzilopochtli*.

Los datos edáficos utilizados en esta tesis fueron brindados por el M. en C. Francisco López Galindo (Lab. Edafología, UBIPRO) como parte de los proyectos UNAM – DGAPA – PAPIIT IN217208 e IN220711 (Dra. Sofía Solórzano, responsable).

A la M. en C. Laura Márquez Valdelamar, por su ayuda en la secuenciación capilar, así como por el apoyo brindado en la etapa de la titulación.

Agradecimientos a título personal

Mamá por tu memoria e inmenso amor que me acompañan día a día.

Papá por ser un ejemplo de vida, por tu paciencia infinita, por quererme y cuidarte tanto, por todo.

A mi familia. En especial a mis tíos Lucía y Rubén por preocuparse por mi bienestar físico y espiritual. A mis tíos Maru y Toño por estar al pendiente de mí y aconsejarme en asuntos académicos y personales. A mis primos Edith, Maru y Rubén por apoyarme, escucharme y quererme tanto.

A mis amigos por los momentos maravillosos y por alentarme a ser mejor.

Al Biól. Fabián Macías Arrastio por su ayuda en el laboratorio y en el campo.

Al Proyecto Banco de Semillas, FES Iztacala (Dra. Patricia Dávila, responsable) por el apoyo logístico en la salida de campo y al Biól. Héctor Cervantes Maya (colector del Proyecto Banco de Semillas) por su apoyo en el campo.

Índice

Índice	7
Resumen	1
Abstract	2
I. Introducción	3
1.1 La divergencia evolutiva entre especies cercanas desde un escenario filogeográfico	3
1.2 La diferenciación del nicho ecológico entre especies cercanamente relacionadas	10
1.3 El origen y la diversificación de la familia Cactaceae	15
1.3.1 El Valle de Tehuacán-Cuicatlán: un escenario evolutivo para <i>Mammillaria</i>	20
II. Hipótesis	26
III. Objetivos	27
IV. Área de estudio	28
V. Métodos	29
5.1 Sistemas biológicos	29
5.2 Análisis para la determinación de la estructura filogeográfica	33
5.2.1 Análisis molecular de regiones de cloroplasto	33
5.2.2 Análisis estadísticos de la variación molecular de regiones de cloroplasto	35
5.3 Evaluación de la diferenciación del nicho ecológico	39
5.3.1 Caracterización y modelado del nicho ecológico	39
5.3.2 Comparación de los nichos ecológicos entre las especies	42
5.3.3 Análisis del ambiente edáfico entre especies	45
VI. Resultados	47
6.1 Estructura filogeográfica	47
6.1.1 Microsatélites	47
6.1.2 Regiones de ADN de cloroplasto	49
6.2 Diferenciación del nicho ecológico	60
6.2.1 Características y modelos del nicho ecológico	60
6.2.2 El nicho ecológico entre especies cercanamente relacionadas	66
6.2.3 Diferenciación del espacio edáfico entre especies	69
VII. Discusión	72
7.1 La divergencia evolutiva en especies cercanas desde un escenario filogeográfico	72
7.1.1 Polimorfismo en las regiones de ADN de cloroplasto	72
7.1.2 Relaciones genealógicas en las especies	73
7.1.3 Relaciones filogeográficas entre especies filogenéticamente cercanas	77
7.2 La evolución del nicho ecológico entre especies filogenéticamente cercanas	79
7.3 Posible radiación adaptativa en el género <i>Mammillaria</i>	81
7.4 Conservación	83
VIII. Conclusiones	84
IX. Literatura citada	85

Lista de figuras

Fig. 1. Modelo de coalescencia.....	4
Fig. 2. Relaciones filogenéticas bajo un escenario de I) vicarianza y II) dispersión.....	5
Fig. 3. Sorteado de linajes en dos poblaciones separadas por una barrera al flujo génico.....	6
Fig. 4. Nicho ecológico bajo los modelos de conservadurismo y divergencia.....	14
Fig. 5. Área de estudio.....	22
Fig. 6. Distribución geográfica de la serie <i>Supertextae</i>	23
Fig. 7. Filogenia de la familia Cactaceae.....	24
Fig. 8. Fotografía de <i>M. crucigera</i>	29
Fig. 9. Poblaciones estudiadas de <i>M. crucigera</i>	30
Fig. 10. Fotografía de <i>M. huitzilopochtli</i>	30
Fig. 11. Poblaciones estudiadas de <i>M. huitzilopochtli</i>	31
Fig. 12. Fotografía de <i>M. supertexta</i>	32
Fig. 13. Poblaciones de <i>M. supertexta</i>	32
Fig. 14. Diagrama BAM.....	43
Fig. 15. Áreas de calibración utilizadas en las especies de estudio.....	45
Fig. 16. Red de haplotipos de microsátélites de cloroplasto de <i>M. crucigera</i>	48
Fig. 17. Red de haplotipos de microsátélites de cloroplasto de <i>M. huitzilopochtli</i>	49
Fig. 18. Red de haplotipos obtenida con regiones de ADNcp en <i>M. crucigera</i>	52
Fig. 19. Haplotipos registrados para <i>M. crucigera</i> con las regiones concatenadas.....	54
Fig. 20. Red de haplotipos obtenida con regiones de ADN de cloroplasto en <i>M. huitzilopochtli</i>	54
Fig. 21. Haplotipos registrados para <i>M. huitzilopochtli</i> con las regiones concatenadas.....	55
Fig. 22. Red de haplotipos obtenida para cada región en las especies de <i>Mammillaria</i> analizadas.....	56
Fig. 23. Relaciones genealógicas entre los haplotipos de <i>M. crucigera</i> , <i>M. huitzilopochtli</i> y <i>M. supertexta</i> , obtenidos a partir de las regiones concatenadas.....	57
Fig. 24. Árbol de consenso estricto obtenido con máxima parsimonia a partir de secuencias de <i>rpl16</i> y <i>psbA-trnH</i>	58
Fig. 25. Árbol de consenso estricto obtenido con inferencia bayesiana a partir de secuencias de <i>rpl16</i> y <i>psbA-trnH</i>	59
Fig. 26. Inversión registrada en el intrón <i>rpl16</i>	60
Fig. 27. Modelo de nicho ecológico de <i>M. crucigera</i>	62
Fig. 28. Modelo de nicho ecológico de <i>M. huitzilopochtli</i>	64
Fig. 29. Modelo de nicho ecológico de <i>M. supertexta</i>	66
Fig. 30. PCA entre las variables climáticas de <i>M. crucigera</i> , <i>M. huitzilopochtli</i> y <i>M. supertexta</i>	69
Fig. 31. PCA entre las variables edáficas de <i>M. crucigera</i> , <i>M. huitzilopochtli</i> y <i>M. supertexta</i>	70
Fig. 32. PCA entre las variables edáficas y climáticas de <i>M. crucigera</i> , <i>M. huitzilopochtli</i> y <i>M. supertexta</i>	71

Lista de cuadros

Cuadro 1. Estudios filogenéticos en la familia Cactaceae.....	17
Cuadro 2. Estudios filogeográficos en la familia Cactaceae.....	18
Cuadro 3. Revisión taxonómica del género <i>Mammillaria</i> según Hunt (2006).....	19
Cuadro 4. Período de floración de las tres especies de <i>Mammillaria</i> estudiadas en esta tesis.....	25
Cuadro 5. Loci de microsatélites de cloroplasto analizados para las tres especies de estudio....	34
Cuadro 6. Nombre de las 12 regiones de ADN de cloroplasto analizadas.....	35
Cuadro 7. Posición y longitud en pares de bases (pb) de los “indels” codificados de manera binaria.....	38
Cuadro 8. Lista de las variables climáticas y topográficas utilizadas en los modelos de nicho ecológico.....	41
Cuadro 9. Lista de las 18 variables utilizadas para el análisis edáfico.....	46
Cuadro 10. Nombre asignado a los haplotipos encontrados y su proporción en cada población de <i>M. crucigera</i>	47
Cuadro 11. Nombre asignado a los haplotipos encontrados y su proporción en cada población de <i>M. huitzilopochtli</i>	48
Cuadro 12. Variación en los niveles de polimorfismo, incluyendo el número de haplotipos (H) y el valor PIC.....	50
Cuadro 13. Variación en los niveles de polimorfismo en <i>M. crucigera</i>	50
Cuadro 14. Variación en los niveles de polimorfismo en <i>M. huitzilopochtli</i>	51
Cuadro 15. Variación en los niveles de polimorfismo en <i>M. supertexta</i>	51
Cuadro 16. Haplotipos registrados y su proporción en cada población de <i>M. crucigera</i>	53
Cuadro 17. Haplotipos registrados y su proporción en cada población de <i>M. huitzilopochtli</i>	55
Cuadro 18. Caracterización del nicho ecológico de <i>M. crucigera</i>	61
Cuadro 19. Caracterización del nicho ecológico de <i>M. huitzilopochtli</i>	63
Cuadro 20. Caracterización del nicho ecológico de <i>M. supertexta</i>	65
Cuadro 21. Equivalencia de nicho ecológico entre especies.....	67
Cuadro 22. Similitud de nicho ecológico con el área de calibración a partir de los modelos de nicho ecológico.....	67
Cuadro 23. Similitud de nicho ecológico con el área de calibración a partir de los polígonos de la distribución geográfica.....	67
Cuadro 24. Prueba multivariada de divergencia de nicho ecológico.....	68
Cuadro 25. Valores de diferenciación observados de 18 variables edáficas en cuatro ejes del espacio edáfico.....	69
Cuadro 26. Valores de diferenciación observados entre variables edáficas y climáticas.....	71

Resumen

Las especies *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* son miembros de la serie Supertextae y endémicas al Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Estas especies fueron estudiadas bajo las perspectivas de filogeografía y de nicho ecológico con la finalidad de inferir los procesos y factores que han moldeado su divergencia evolutiva. Las relaciones genealógicas en y entre especies se analizaron con un total de 10 loci de microsatélites y 12 regiones de ADNcp, en cinco poblaciones de cada especie. Los modelos de divergencia y conservadurismo de nicho se examinaron con 19 variables climáticas, dos topográficas y 18 edáficas. Los resultados mostraron que dos loci de microsatélites y siete regiones de ADNcp fueron polimórficos, con < 2 % de variación en y entre las tres especies analizadas. Esta baja variación determinó una estructura filogeográfica ausente en *M. supertexta* pero fuerte en *M. crucigera* y *M. huitzilopochtli*. En total se encontraron tres, cinco y un haplotipo en *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*, respectivamente. La filogenia molecular confirmó la monofilia de estas especies y además que entre ellas no hay hibridación. Los resultados de nicho ecológico mostraron que la estacionalidad de la temperatura y los niveles de precipitación durante los meses más fríos y secos apoyan el modelo de divergencia de nicho entre las especies *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*. Los análisis edáficos mostraron que las propiedades de densidad, humedad, contenido de fósforo y la conductividad del suelo pudieron promover la diferenciación del nicho entre las tres especies. A partir de lo anterior, se propone que los niveles de variación molecular aquí estimados se pueden deber a una divergencia evolutiva reciente y/o a tasas de mutación bajas en las regiones de ADNcp. Además, el componente abiótico del nicho sí puede ser un factor que promueve la separación entre especies.

Abstract

The species *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* and *M. supertexta* are members of serie Supertextae and these are endemic to Tehuacán-Cuicatlán Valley. These species were studied under the phylogeographic and ecological niche perspectives in order to infer the processes and factors that have shaped their evolutionary divergence. To establish the genealogical relationships within and among species a total of five populations of each of these species were analyzed with 10 microsatellite loci and 12 cpDNA regions. The divergence and conservatism niche models were examined with 19 climatic variables, two topographic variables and 18 edaphic variables. The results showed that two microsatellite loci and seven of cpDNA had < 2 % of polymorphism within and among the three studied species. This low molecular variation determined a lack of phylogeographic structure in *M. supertexta* but a clear structure in *M. crucigera* and *M. huitzilopochtli*. A total of three, five, and one haplotypes were recorded in *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* and *M. supertexta*, respectively. The molecular phylogeny confirmed the monophyly of these species, and that there is not hybridization among them. The results of ecological niche showed that the seasonality of the temperature and the levels of precipitation during the coldest and driest months supported the divergence niche model in *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* and *M. supertexta*. The edaphic analysis showed that the properties of de soil of density, humidity, phosphorous content and soil conductivity might have driven the differentiation of the niche among the three species. The results here obtained suggested that the low levels of molecular variation can be attributed to a recent speciation process occurred in *Mammillaria* and/or low mutation rates of the regions of cpDNA studied. In addition, the abiotic component of the ecological niche may be a true factor that promoted the separation of the studied species.

I. Introducción

1.1 La divergencia evolutiva entre especies cercanas desde un escenario filogeográfico

El análisis de la variación genética de las poblaciones analizado en un contexto geográfico, permite inferir los procesos y factores evolutivos que han estructurado la distribución actual de los linajes genealógicos en y entre especies filogenéticamente cercanas (Avice *et al.* 1987; Avice 1994). Los patrones de variación genética entre las poblaciones son resultado tanto de procesos históricos (e. g. ciclos glaciales, eventos geológicos) como contemporáneos (e. g. deriva génica, flujo génico), los cuales pueden ser analizados a través de un enfoque filogeográfico (Avice 2000). Por lo tanto, el análisis e interpretación de la distribución geográfica actual de los linajes integra información derivada de estudios de genética poblacional, demografía histórica, sistemática molecular, así como de la geología, paleontología y de la ecología. Es por ello, que la perspectiva filogeográfica integra los niveles microevolutivos (i.e a nivel poblacional) con macroevolutivos (i.e especies a niveles superiores) (Avice 1994; Avice 2009).

Las relaciones ancestría – descendencia de los linajes (por ejemplo, a partir de regiones de ADN), suelen representarse en genealogías intraespecíficas (Fig. 1; Avice 1994). Los marcadores moleculares que se usan en estudios filogeográficos deben ser neutros, variables a nivel intraespecífico y en estado de carácter ordenado, es decir, donde sus relaciones de ancestría – descendencia puedan ser inferidas (Avice *et al.* 1987; Posada y Crandall 2001). De esta manera, se permite la visualización de los patrones reticulados de intercambio genético que están presentes a nivel individual o poblacional, como la recombinación sexual y el flujo génico (Avice 2000; Avice 2009). Así, al conocer las relaciones filogenéticas de la molécula analizada, a nivel intraespecífico, se realizan inferencias de la transmisión histórica de los alelos (Avice 2000).

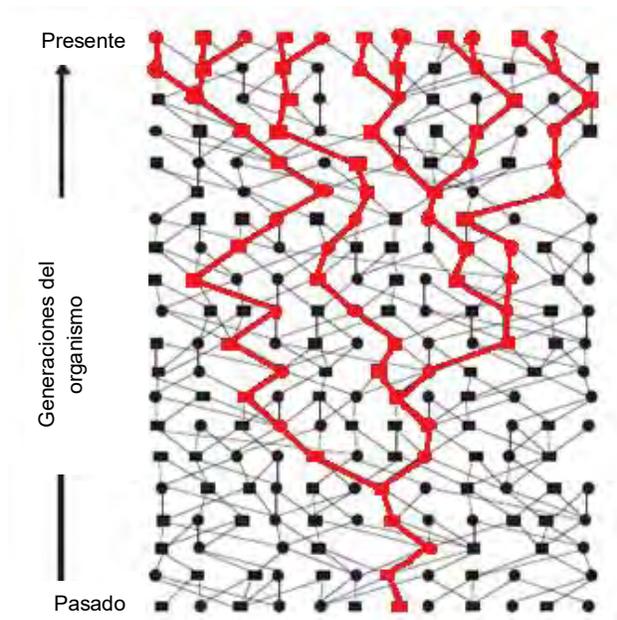


Fig. 1. Genealogía hipotética de un gen en un marco temporal de 20 generaciones (en rojo). Las líneas representan las conexiones ancestrales entre todos los alelos existentes en la población. En cada generación hay un número finito de alelos, de los cuales algunos pasan a la siguiente generación, mientras que otros alelos no dejan descendientes y se pierden. La contribución de cada linaje registra una varianza en el acervo genético, por lo que los alelos presentes en una genealogía proliferan o desaparecen (Avice 2000). Por una repetición de este proceso en el tiempo, un alelo se fija eventualmente en la población, en ausencia de mutación (modificado de Avice 2009).

A partir de genealogías o árboles de genes se infieren escenarios históricos sobre el arreglo espacial actual de las poblaciones (Avice 2000). Por ejemplo, la distribución disyunta de una especie es explicada por vicarianza o colonización (dispersión) (Fig. 2). Bajo un escenario de vicarianza, las poblaciones o taxa relacionados se separan cuando la distribución geográfica ancestral es dividida por eventos ecológicos o geológicos. En contraste, bajo un escenario de dispersión, la configuración genética actual de las poblaciones puede deberse a dispersión activa o pasiva de una o más formas ancestrales (Brown y Lomolino 1998).

El análisis de los procesos microevolutivos, en una especie y entre especies filogenéticamente cercanas, puede servir como una aproximación para entender el proceso de separación de los linajes en entidades evolutivas diferentes (Schaal *et al.* 1998; Avice 2000). Bajo las premisas de la teoría de coalescencia se pueden inferir los patrones observados en los árboles de genes en relación a la manera en que las poblaciones divergen, ya que se basa en el supuesto de que los linajes genéticos existentes en una población comparten un ancestro común (Rosenberg y Nordborg 2002). De esta manera se describen las relaciones de ancestro – descendencia de una población y se infieren procesos demográficos, como los tamaños históricos poblacionales, los eventos de expansión y la contracción poblacional, los cuellos de botella poblacionales, así como también la estimación de los tiempos de divergencia entre linajes evolutivos (Knowles y Maddison 2002).

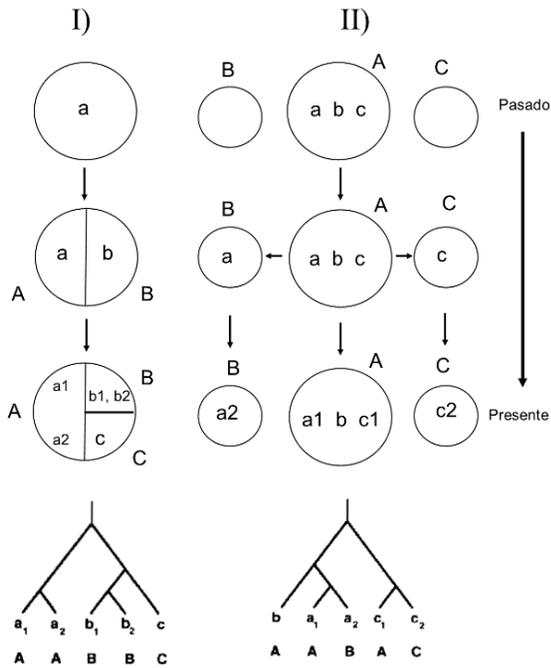


Fig. 2. Arreglo espacial hipotético de las poblaciones y de sus relaciones filogenéticas I) escenario de vicarianza y II) dispersión (colonización). Con letras minúsculas se indican los linajes y en mayúsculas las áreas geográficas. En eventos de vicarianza la relación entre linajes es congruente con el orden de separación de las áreas geográficas, mientras que en un escenario de dispersión las relaciones entre los linajes y sus áreas geográficas son menos claras (Figura tomada y modificada de Avise 2000).

Una de las conclusiones generales entre los estudios empíricos es que las poblaciones con una estructura filogeográfica marcada registran poco o nulo flujo génico por períodos largos, en contraste con aquellas que tienen relaciones filogeográficas débiles que se caracterizan por expansiones recientes o con altos niveles de flujo génico que se mantienen entre las poblaciones (Avise 1994; 2000). En este proceso evolutivo dinámico pueden participar otros procesos microevolutivos, por ejemplo, si dos poblaciones (A y B) se aíslan geográficamente, puede que genéticamente, se esperaría que la deriva génica sea la fuerza que determine el sorteo de los linajes en las siguientes generaciones (Posada y Crandall 2001). En términos genealógicos, las dos poblaciones hijas (A y B) que descienden de un ancestro común pueden registrar alguno de los tres siguientes estados de sorteo de linajes (Fig. 3):

(1) Monofilia recíproca, por la cual todos los linajes en de cada población hija son genealógicamente cercanos uno con otro respecto a cualquier linaje de la otra población.

(2) Polifilia, por la cual algunos, pero no todos los linajes existentes en la población A se unen con algunos, pero no todos los linajes en B para formar un clado.

(3) Parafilia, por la cual todos los linajes de una población forman un grupo monofilético anidado en un linaje amplio de la segunda población hija.

El sorteo de linajes en dos poblaciones con un ancestro común se espera que inicialmente muestre polifilia y que al pasar el tiempo se llegue a una condición de parafilia (Fig. 3) (Avice 1994). Finalmente, se espera que las poblaciones queden constituidas por linajes de un ancestro común propio, alcanzando la monofilia recíproca (Neigel y Avice 1986). El tiempo transcurrido de una configuración de polifilia a monofilia está correlacionado con el tamaño efectivo (N_e) de las poblaciones hijas y con su nivel de diversidad genética. De tal modo que aquellas poblaciones con tamaños pequeños y diversidad genética baja sugieren una genealogía con tiempos de coalescencia recientes (Avice 2000).

No obstante, el estado polifilético o parafilético en la genealogía de los linajes de dos poblaciones hijas, también es resultado del flujo génico ocurrido después de su separación (Rosenberg y Nordborg 2002). Este proceso de recombinación exitosa entre individuos de dos poblaciones diferenciadas, se conoce como hibridación (Arnold 1997). Una de las consecuencias de la hibridación es la introgresión, que es resultado de las cruza repetidas entre individuos híbridos fértiles con uno o ambos parentales, generando infiltración del germoplasma de una especie en la otra (Anderson y Hubricht 1938; Anderson 1949). La coexistencia de haplotipos distantemente relacionados en la misma población puede interpretarse como un evento de hibridación, resultado de eventos de migración antiguos (Matos y Schaal 2000).

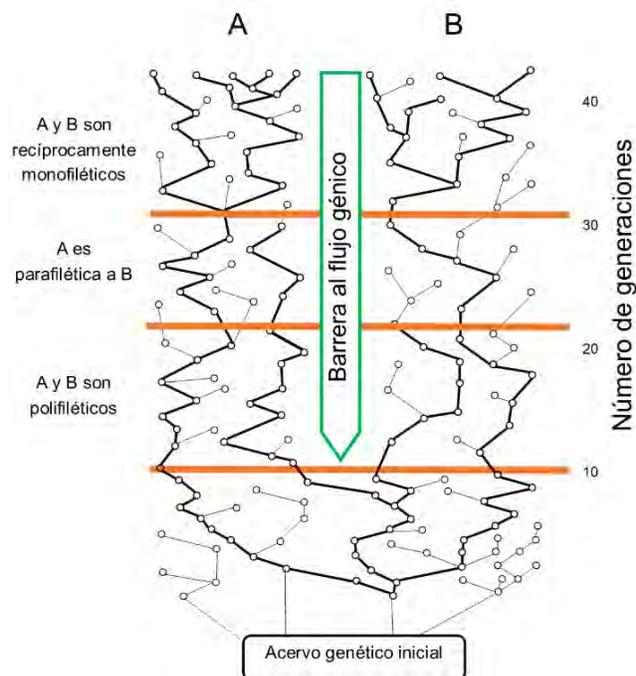


Fig. 3. Sorteo de linajes en dos poblaciones, A y B, separadas por una barrera al flujo génico. De acuerdo al sorteo de linajes, en la generación 11 las poblaciones aisladas A y B son en primera instancia polifiléticos a su ancestro común (Tomado y modificado de Avice 2000).

En conclusión, el flujo génico y la deriva génica se consideran los procesos microevolutivos que participan más frecuentemente en la formación de un patrón filogeográfico marcado (Avise 2000). El flujo génico moldea la organización de la diversidad genética en y entre poblaciones, y establece o mantiene las diferencias entre especies (Ellstrand 2014). La estimación del flujo génico puede obtenerse a partir de la diferenciación poblacional (estructura genética poblacional), ya que esta medida representa la influencia de ancestría común y del flujo génico actual (Schaal *et al.* 1998). En este contexto, si la dispersión de gametos no es eficiente, el nivel de flujo génico será bajo entre poblaciones, promoviendo así la divergencia genética y en última instancia la divergencia de linajes (Turelli *et al.* 2001; Petit y Excoffier 2009).

Por su parte, la deriva génica actúa fijando al azar distintas mutaciones entre las poblaciones, lo que eventualmente podría ocasionar aislamiento genético completo (Sobel *et al.* 2009). Se reconocen dos eventos donde los efectos de la deriva génica son más evidentes, cuello de botella genético y efecto fundador. En especies con poblaciones alopátricas, la reducción drástica en su tamaño poblacional y una pérdida de alelos, en especial de aquellos raros, se denomina cuello de botella genético (Barret y Kohn 1991). La deriva génica acentúa sus efectos en un escenario de evento fundador, donde un número reducido de individuos coloniza un área nueva (Fernández-Mazuecos *et al.* 2014; Thode *et al.* 2014). En ambos casos, la deriva génica reduce la diversidad genética y puede incrementar la divergencia genética entre poblaciones, ya que al existir un menor número de alelos en las poblaciones, éstos pueden fijarse (Turelli *et al.* 2001).

Es importante señalar que una genealogía elaborada solo con un locus no necesariamente refleja la historia evolutiva del taxón de estudio, ya que los linajes de un gen pueden coalescer antes del último evento de divergencia entre dos poblaciones (Avise y Wollenberg 1997). También pueden registrar tiempos de coalescencia más antiguos que la divergencia entre las poblaciones, o bien, cada locus puede registrar tasas de evolución distintas (Maddison 1997). El ADN mitocondrial en animales fue identificado como el genoma que permite elaborar y examinar hipótesis filogeográficas, debido a su tamaño relativamente pequeño (16 – 20 kb), número de copias alto (de 1 – 11 por célula), nivel de polimorfismo mayor que el ADN nuclear (~ 10 veces), variación intraespecífica alta y herencia materna, lo que permite determinar que los polimorfismos se deben a mutaciones y no a recombinación (Avise *et al.* 1987; Avise 2009). Sin embargo, en plantas el ADN mitocondrial no muestra estas bondades para realizar estudios filogeográficos, ya que su tamaño entre grupos de plantas es muy variable, las tasas de mutación son altas respecto al arreglo de sus regiones, pero lentas en las sustituciones nucleotídicas y puede estar sujeto a recombinación (Palmer 1985).

Alternativamente, en plantas se han buscado otros marcadores moleculares para estudios filogeográficos en el ADN de cloroplasto (ADNcp) (Shaw *et al.* 2005; 2007; 2014). Este genoma ha mostrado no tener recombinación intramolecular, sus genes tienen una copia única, la herencia es uniparental (materna en las angiospermas y paterna en las gimnospermas) y biparental en algunos casos y no muestra heteroplasmia (presencia de más de un haplotipo del organelo por individuo) (McCauley 1995). Además, las tasas de mutación del ADN de cloroplasto son de tres a cinco veces más grandes que el genoma mitocondrial en plantas (en regiones codificantes), sin embargo, ésta se considera lenta (Wolfe *et al.* 1987). Asimismo, la tasa de mutación muestra heterogeneidad entre linajes (Löhne *et al.* 2007; Timme *et al.* 2007) por lo que no existe un marcador molecular universal en plantas que permita hacer inferencias a escalas locales (Shaw *et al.* 2005; 2007; 2014). No obstante, las regiones no codificantes del genoma de cloroplasto parecen registrar una variación intraespecífica mayor, por su frecuencia alta de sustituciones y eventos de inserción y delección (“indels” de aquí en adelante) (Ennos *et al.* 1999).

Por otra parte, las secuencias repetidas en tándem, es decir los microsatélites, son otro marcador molecular que ha sido de utilidad para conocer la distribución geográfica de la variación genética, ya que se documenta un nivel de polimorfismo alto (Schlötterer 1998). Al estar presentes en genomas no recombinantes como el cloroplasto son informativos acerca de procesos históricos (Powell *et al.* 1995; Weising y Gardner 1999; Provan *et al.* 2001). Estos microsatélites de cloroplasto registran una tasa de mutación mayor que las secuencias no repetitivas de este genoma (Navascués y Emerson 2005). Los patrones filogeográficos observados con microsatélites de cloroplasto son similares a los obtenidos con otros marcadores moleculares como regiones de ADN (Grivet y Petit 2003) y RFLP (Chmielewski *et al.* 2015), reflejando complementariedad en los datos. Sin embargo, una de las grandes desventajas de estos marcadores moleculares es la presencia de homoplasia (Provan *et al.* 1999; 2001). La homoplasia se refiere a cuando un alelo idéntico en estado (tamaño del producto de PCR) no es idéntico por descendencia debido a mutaciones convergentes (Estoup *et al.* 2002). Aunque se considera que los niveles de homoplasia son bajos y no afectan a los estimadores basados en el número de haplotipos y la diversidad genética (Navascués y Emerson 2005), las inferencias realizadas sobre la divergencia poblacional entre especies filogenéticamente cercanas sí se ven influenciadas, reflejándose en las relaciones reticuladas entre los haplotipos (Marshall *et al.* 2002; Dzialuk *et al.* 2009). El modelo de mutación que siguen estos marcadores moleculares se asume que es de paso a paso (Stepwise Model Mutation, SMM), pero se han demostrado eventos de eliminaciones rápidas y de más de una repetición (Ceplitis *et al.* 2005; Micheneau *et al.* 2010). Además, la tasa y el patrón de mutación dependen del tipo de secuencia repetida, la composición de bases, el tipo de microsatélite, el grupo taxonómico, la región del genoma donde está ubicado y la longitud de la secuencia repetida (Goldstein y Pollock 1997; Provan *et al.* 1999).

Sin embargo, la tasa de mutación puede ser más alta que la tasa de migración (Powell *et al.* 1995), provocando que la distribución del nivel de polimorfismo en y entre poblaciones esté regida por la mutación más que por la migración (Ennos *et al.* 1999). Si se presenta lo anterior, los análisis de diferenciación genética no deben ser usados para hacer inferencias sobre las relaciones genéticas entre poblaciones (estudios filogeográficos), pero si puede inferir la diferenciación poblacional (Ennos *et al.* 1999). No obstante, si el modelo de mutación que siguen estos marcadores moleculares es estricto a SMM, las estimaciones de diferenciación son independientes de la mutación (Balloux y Moulin 2002). Con este supuesto y con evidencia estadística que señala que la homoplasia no influye en las estimaciones de diferenciación genética, la utilización de estos marcadores moleculares ha ayudado a identificar rupturas filogeográficas (e. g. Terrab *et al.* 2007; Lemes *et al.* 2010; Gugger *et al.* 2011; Jardón-Barbolla *et al.* 2011; Quintela-Sabarís *et al.* 2011; Gugger *et al.* 2013) y eventos de introgresión (e. g. Heuertz *et al.* 2006; Moreno-Letelier y Piñero 2009). Por lo anterior, a nivel intraespecífico los microsátélites podrían registrar niveles de polimorfismo más altos respecto a las regiones de ADN de cloroplasto, de tal manera que pueden ayudar a la descripción de los procesos relacionados con la divergencia evolutiva de aquellas especies filogenéticamente cercanas.

En particular, los procesos que se reconocen que generan patrones filogeográficos marcados en plantas son de orden genético, ecológico e histórico (Avice 2000). Entre los procesos genéticos se reconoce a la deriva génica, la hibridación y la introgresión (Liu *et al.* 2012; Nieto-Feliner 2014). Entre los procesos ecológicos se reconoce el modo de dispersión de polen y de semillas ya que aquellas especies con una dispersión pobre presentan una estructura más marcada que aquellas especies con una dispersión más eficiente (Schaal *et al.* 1998; Ellstrand 2014). Entre los procesos históricos destacan los eventos geológicos y cambios climáticos globales los cuales modificaron la distribución geográfica de las especies, así como el arreglo espacial y el tamaño de sus poblaciones (Taberlet *et al.* 2008; Soltis *et al.* 2006; Liu *et al.* 2012; Shafer *et al.* 2010).

Para especies de ambientes templados en el hemisferio norte (por encima de los 30 ° latitud Norte) se sugiere que las oscilaciones climáticas del Cuaternario (700 000 – 10 000 años) influenciaron sus patrones filogeográficos (Comes y Kadereit 1998; Newton *et al.* 1999; Hewitt 2001; 2004; Soltis *et al.* 2006). En la fase glacial de estas oscilaciones climáticas, las poblaciones se mantuvieron restringidas y aisladas en refugios y comenzaron a diferenciarse a lo largo del tiempo (Hewitt 2001; 2004). Cuando las capas de hielo retrocedieron, las especies influenciaron sus patrones filogeográficos colonizaron nuevos hábitats originando una expansión de su distribución geográfica, resultando así en la reducción de la variación genética en un modo clinal (Hewitt 2004).

Por otra parte, las especies con distribución en el hemisferio norte (88 % de estudios) han sido más estudiadas que las de distribución tropical (23° latitud norte – 23° latitud sur) y subtropical (24° latitud sur – 50° latitud sur) (12 %) (Beheregaray 2008). Los estudios de especies de esta última región registran el patrón de migración poblacional usual latitudinal de norte a sur (Turchetto-Zolet *et al.* 2013). Sin embargo, dada la heterogeneidad topográfica de la zona se han encontrado rutas de migración poblacional este – oeste, indicando la persistencia de una especie en refugios múltiples (Byrne *et al.* 2008). Los cambios en la distribución geográfica de las plantas de la parte tropical del planeta está asociada a las oscilaciones climáticas del Cuaternario (\approx 2 m. a. aproximadamente) y a eventos geológicos del Terciario (2 – 65 m.a. aproximadamente) (Beheregaray 2008).

1.2 La diferenciación del nicho ecológico entre especies cercanamente relacionadas

El proceso de especiación ecológica involucra el surgimiento de cualquier forma de aislamiento reproductivo entre poblaciones como resultado de la selección divergente (Schluter 2000; 2001; Rundle y Nosil 2005). El aislamiento reproductivo puede establecerse indirectamente como producto de la divergencia de características no ambientales, o bien la selección puede actuar directamente a favor de la evolución del aislamiento reproductivo (Schluter 2009). Asimismo, se considera como especiación no ecológica, cuando el aislamiento reproductivo ocasiona respuestas genéticas divergentes a las mismas presiones de selección ambiental (Rundle y Price 2009). Una diferencia notable entre estos mecanismos es que la especiación ecológica produce especies que son ecológicamente distintas y pueden coexistir, en tanto que la especiación no ecológica produce formas que son ecológicamente equivalentes (Nosil 2012). Sin embargo, esta clasificación puede ser artificial, ya que una vez que las poblaciones divergen evolutivamente, ya sea por mecanismos ecológicos o genéticos, se acumulan diferencias ecológicas, las cuales pueden o no reconocerse como las que promovieron la especiación (Schluter 2000). Para que dos pares de poblaciones o especies se separen, se requiere de algún factor que actúe como selección divergente, es decir, se requiere una forma de aislamiento reproductivo y un mecanismo genético ligado a dicho aislamiento reproductivo (Nosil 2012).

Entre los factores que pueden actuar como selección divergente se incluyen a la selección sexual, la interacción ecológica de poblaciones y las diferencias en el nicho ecológico (Schluter 2001). En lo que concierne a la selección sexual, ésta se considera como especiación ecológica, cuando la selección natural divergente entre ambientes resulta de características involucradas directamente en el reconocimiento en el apareamiento, llevando al aislamiento reproductivo (Rundle y Nosil 2005). Un ejemplo clásico es el género *Gasterosteus*, en el cual las especies filogenéticamente cercanas registran diferencias significativas entre las características relacionadas con la selección sexual (Boughman 2001). El aislamiento reproductivo entre las especies de este género está correlacionado con la divergencia de la señal emitida por los machos y la preferencia de las hembras, de tal modo que esta señal adaptativa divergente en el reconocimiento del apareamiento promueve la divergencia de linajes (Rundle y Schluter 2004).

Cuando la selección divergente es el resultado de las interacciones entre las poblaciones codistribuidas, la competencia es el caso mejor documentado (Schluter 2000). Esta interacción puede generar selección disruptiva, que es un tipo de selección divergente donde ambos extremos de los fenotipos se ven favorecidos en una misma población (Nosil 2012). Una característica que distingue estas interacciones es que las poblaciones están en simpatria y que la selección es dependiente de la frecuencia. Finalmente, la selección divergente puede surgir debido a las diferencias entre los hábitats (Schluter 2001). Estas diferencias incluyen tanto factores abióticos como son el clima y la estructura del hábitat, así como los elementos bióticos, tales como las interacciones de los depredadores y los competidores (Schluter 2001; 2009). El aislamiento reproductivo puede ser precigótico y postcigótico (Rieseberg y Willis 2007). El primer tipo incluye aislamiento de hábitat y temporal, y el segundo abarca las incompatibilidades genéticas entre los genomas resultando en una disminución en la adecuación de los híbridos (Turelli *et al.* 2001).

Entre los mecanismos genéticos por los cuales la selección divergente es transmitida a las características que causan aislamiento reproductivo, se reconocen dos (Rundle y Nosil 2005). El primer mecanismo se refiere a los genes que tienen efectos en dos características fenotípicas, una de tipo ecológica y el aislamiento reproductivo (Nosil 2012). Este aislamiento reproductivo surge por selección directa debido al efecto pleiotrópico de los genes bajo selección (Nosil 2012). Un ejemplo de esto, se documenta en la divergencia en el color de las flores del género *Mimulus*, en el cual como resultado de una sola mutación, se produce la adaptación de distintos polinizadores que de manera pleiotrópica contribuye al aislamiento reproductivo (Bradshaw y Schmeske 2003). En el segundo mecanismo, los genes bajo selección divergente se ubican en un locus distinto a los genes que causan el aislamiento reproductivo. En este caso, el aislamiento reproductivo surge por la selección indirecta producto de una asociación no al azar (desequilibrio de ligamiento) de los genes para el aislamiento reproductivo y los genes de las características ecológicas (Nosil 2012).

El nicho ecológico, definido como la suma de los factores ambientales que permiten la existencia de una especie (Hutchinson 1978), puede diferenciarse y en consecuencia promover la selección divergente (Funk *et al.* 2006; Nosil 2012). Si se consideran un par de poblaciones con nichos ecológicamente más similares y otro par de poblaciones con nichos ecológicamente distintos, bajo un proceso de especiación ecológica se esperaría que el par distinto registre una diferenciación de nicho ecológico mayor y significativa, respecto al par de similar (Rissler y Apodaca 2007; Funk 2009; Nosil 2012).

La definición de nicho ecológico de Hutchinson (1978) es útil para entender el grado de selección divergente entre linajes, ya que el progreso hacia la especiación ecológica se refiere al número de dimensiones del nicho ecológico en el cual los pares de taxa divergen (Nosil 2009). Asimismo, la divergencia de nicho ecológico es consistente con el modelo clásico de especiación alopátrida ya que considera el arreglo geográfico de las poblaciones (Rundle y Nosil 2005). Aunque es posible que existan cambios en la distribución geográfica o ambiental de una especie a lo largo de su historia evolutiva, en especies con dispersión poco eficiente las inferencias sobre el papel de la geografía en la especiación se consideran acertadas (Losos y Glor 2003; Pontarp *et al.* 2015). Así, la estimación del nicho ecológico permite conocer los factores ecológicos (e. g. variación en la tolerancia ambiental) que determinan la distribución geográfica de una especie (Soberón y Peterson 2005; Wiens *et al.* 2010; Peterson *et al.* 2011).

En un contexto espacial, si la distribución geográfica de especies filogenéticamente cercanas no se superpone, es decir su espacio ambiental está segregado, el modo de especiación hipotetizado es por alopatría y la selección divergente deberá tener un impacto para promover la especiación (Barraclough y Vogler 2000; Graham *et al.* 2004; Smith y Donoghue 2010). Para el caso de dos especies alopátridas hermanas idénticas o cercanamente idénticas en su espacio ambiental, se infiere que la diferenciación ecológica no sería un factor principal en su divergencia evolutiva, asociado con el aislamiento geográfico (Peterson *et al.* 1999). En lo que se refiere a especies hermanas que viven en simpatría, otros mecanismos ecológicos como la adaptación a diferentes polinizadores puede contribuir a su divergencia (Bradshaw y Schmeske 2003; Givnish 2010; Loera *et al.* 2012; Turchetto *et al.* 2014).

Sin embargo, se ha demostrado que las especies filogenéticamente cercanas o no, comparten características de su nicho ecológico (Losos 2008; Crisp y Cook 2012). Esta tendencia de las especies a retener aspectos de su nicho fundamental a través del tiempo se denomina conservadurismo de nicho ecológico (Wiens y Graham 2005) y varía dependiendo de la escala espacial, temporal y filogenética en que sea medido (Wiens *et al.* 2010; Crisp y Cook 2012). El conservadurismo de nicho describe una similitud alta del nicho entre especies filogenéticamente cercanas (Losos 2008) y a su vez consta de mecanismos evolutivos responsables de esta similitud, es decir, mecanismos que promueven la retención activa de las características del nicho a través de la selección (Wiens 2004 a; Wiens y Graham 2005; Pyron *et al.* 2015). Bajo este modelo de conservadurismo de nicho como un proceso que promueve la divergencia, si las poblaciones alopátridas de una especie se separan geográficamente, factores ecológicos como la temperatura extrema y los competidores pueden reducir la adecuación fuera del nicho ecológico ancestral (Wiens 2004 a). De este modo la selección natural favorece a los individuos en su nicho ecológico, por lo que la incapacidad de las especies a adaptarse a nuevas condiciones ambientales, promueve el aislamiento geográfico y en consecuencia la divergencia evolutiva (Wiens 2004 b; Kosak y Wiens 2006).

El nicho ecológico se puede inferir a partir de los modelos del área de distribución potencial de una especie (Soberón y Nakamura 2009; Peterson *et al.* 2011). Estos modelos de nicho ecológico representan los factores abióticos que delimitan los límites geográficos de las especies (Guisan y Zimmermann 2000; Wiens y Graham 2005) y representan el conjunto de condiciones ambientales necesarias para mantener una población viable (Soberón y Peterson 2005). La región geográfica predicha por los modelos se considera que es el nicho fundamental (NF, Hutchinson 1957), debido a que éste es el espacio ambiental donde la adecuación es mayor o igual a uno, en ausencia de las interacciones bióticas y las barreras a la dispersión (Soberón y Nakamura 2009). Sin embargo, debido a que los puntos de presencia son tomados de ejemplares de herbarios o de bases de datos, implícitamente están incorporando interacciones bióticas que son dependientes de las variables abióticas, por lo que se ha sugerido que los modelos de nicho ecológico reflejan el nicho realizado (Soberón y Peterson 2005; Guisan y Thuiller 2005).

La comparación de los modelos de nicho ecológico sirve para conocer si los pares de especies bajo estudio registran conservadurismo o divergencia de nicho ecológico (Peterson *et al.* 1999; Warren *et al.* 2008). Un patrón de conservadurismo de nicho alto entre especies filogenéticamente cercanas respalda la importancia de la inercia filogenética en las características del hábitat (Nakazato *et al.* 2010), contrario a la divergencia de nicho, que apoyaría el papel de la divergencia ecológica en la especiación o poco después de ésta (Nosil 2012). Si el conservadurismo de nicho ha promovido la divergencia evolutiva entre especies filogenéticamente cercanas, se espera que las especies tengan poblaciones alopátridas y que sus nichos presenten características ambientales similares, separadas por áreas no idóneas (Fig. 4 a; Wiens 2004 b; Kosak y Wiens 2006). Desde esta perspectiva, los modelos de nicho ecológico son similares y pueden registrar superposición de las áreas idóneas (Kosak y Wiens 2006), sugiriendo que el proceso de especiación no está ligado con la evolución del nicho ecológico, es decir, que las diferencias ecológicas se acumulan después del proceso de especiación (Peterson *et al.* 1999). Por el contrario, si la divergencia de nicho ecológico promovió la divergencia evolutiva, se espera que los modelos de nicho ecológico de ambas especies sean distintos y que la superposición de los modelos sea mínima o nula (Fig. 4 c; Wiens y Graham 2005; Jaime *et al.* 2015).

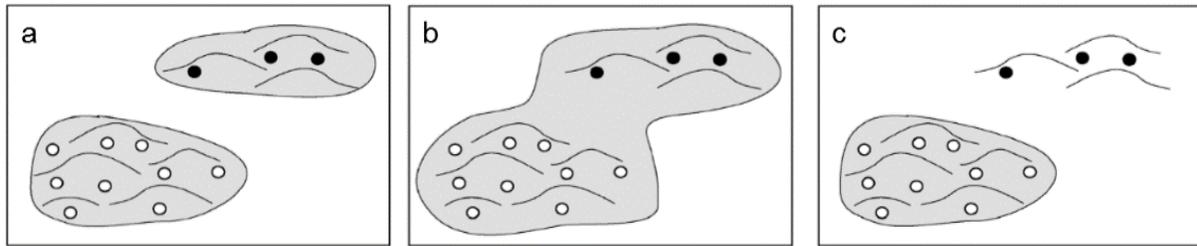


Fig. 4. Modelos hipotéticos de nicho ecológico, esperados bajo conservadurismo y divergencia de nicho ecológico. Los círculos negros y blancos representan poblaciones alopátricas que habitan en dos regiones montañosas separadas geográficamente en a) los modelos de nicho ecológico son similares, las áreas intermedias representan áreas no idóneas, sugiriendo que el conservadurismo de nicho promovió la vicarianza y el mantenimiento de sus rangos actuales b) modelos de nicho ecológico similares, con superposición en el área de distribución de las especies y en las áreas intermedias, indicando que los factores climáticos no causaron la vicarianza c) modelos de nicho ecológico distintos y sin superposición entre ellos, apoyando el modelo de divergencia de nicho, la cual permitió el aislamiento geográfico inicial (Tomado y modificado de Wiens y Graham 2005).

En particular en plantas, la retención de los requerimientos en la germinación y supervivencia se documenta en especies filogenéticamente cercanas (Burns y Strauss 2011; Prinzing *et al.* 2011). Este conservadurismo de nicho ecológico, se ha demostrado que persiste en las especies a pesar de los cambios en las condiciones ambientales, tales como las glaciaciones del Pleistoceno (Martínez-Meyer y Peterson 2006; Peterson 2011). Sin embargo, en algunos taxa se ha documentado que en grupos de especies filogenéticamente cercanas puede existir divergencia de nicho ecológico (Evans *et al.* 2009; Martínez-Cabrera *et al.* 2012; Nakazato *et al.* 2010; Jaime *et al.* 2015). En estas especies, la divergencia suele mostrarse solo en algunos ejes del nicho, los cuales se consideran suficientes para promover la divergencia evolutiva (Loera *et al.* 2012; Thode *et al.* 2014). También se ha sugerido que la diferenciación ecológica está asociada con la divergencia reciente, donde las especies pueden o no mostrar superposición de nicho ecológico (Nakazato *et al.* 2010). Por ejemplo, en especies hermanas de la Provincia Florística de California, la superposición de nicho ecológico es alta, sin embargo, se documenta divergencia asociada al hábitat o al suelo (Anacker y Strauss 2014). En regiones con riqueza específica alta, el clima estacional, los gradientes climáticos y la heterogeneidad ambiental, se reconocen como factores que promueven nichos potenciales que favorecen la especiación (Pontarp *et al.* 2015). De tal modo que una diversidad de especies alta está relacionada con una diversidad de nichos alta (Verboom *et al.* 2004).

En el género *Eriosyce* (Cactaceae), la distribución geográfica de especies filogenéticamente cercanas es segregada o muestran una superposición mínima, sugiriendo que la divergencia alopátrica conduce a la divergencia evolutiva (Guerrero *et al.* 2011). En especies de cactáceas globosas se ha sugerido que las características del sustrato, como los micrositos y las rocas, son factores que determinan su distribución (Mourelle y Ezcurra 1996; 1997). Asimismo, la heterogeneidad edáfica de las áreas donde habitan estas especies se considera que determinan su endemismo (Mourelle y Ezcurra 1996; 1997; Goettsch y Hernández 2006).

Las perspectivas filogeográfica y ecológica permiten entender los procesos que originan especiación en plantas. En esta tesis fueron utilizadas para entender los procesos de especies en el género *Mammillaria*, de la familia Cactaceae. En particular se utilizaron tres especies filogenéticamente cercanas endémicas del Valle de Tehuacán – Cuicatlán, *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*.

1.3 El origen y la diversificación de la familia Cactaceae

La familia Cactaceae es nativa del continente Americano (Bravo-Hollis 1978; Hernández y Godínez 1994) e incluye aproximadamente 2 000 especies (Anderson 2001). México registra una riqueza de 660 especies (Ortega-Baés y Godínez Álvarez 2006), de las cuales 518 son endémicas (Guzmán *et al.* 2007). Con base en la ausencia de taxa endémicos de la familia Cactaceae en África (a excepción de *Rhipsalis*), se propuso su origen hace 100 m. a. aproximadamente (Cretácico 145 – 66 m. a.) (Leuenberger 1986; Wallace y Gibson 2002). Por su parte los estudios filogenéticos con la región nuclear ITS, se calculó una edad para Cactaceae de 30 m. a. aproximadamente (Oligoceno, 33.9 – 23.03 m. a.) (Hershkovitz y Zimmer 1997). Otro estudio con varias regiones de núcleo y de cloroplasto, calculó una edad en el origen de la familia Cactaceae de 35 m. a. aproximadamente (Arakaki *et al.* 2011) (Eoceno, 56 – 33.9 m. a.). Este probable origen reciente de la familia Cactaceae se ve respaldado por la divergencia molecular baja encontrada en dos regiones de ADN de cloroplasto para el análisis las relaciones en la familia Cactaceae (Nyffeler 2002). Estos resultados contrastan con lo sugerido por Ocampo y Columbus (2010), que analizaron la edad ocho familias del suborden Cactineae, usando la edad de las Islas Hawaianas para calibrar su divergencia evolutiva y estimaron una edad de 10 m.a. aproximadamente (Mioceno, 23.03 – 5.33 m. a.) para Cactaceae.

La diversificación de las cactáceas suculentas (subfamilias Cactoideae, Opuntioideae y Maihuenioideae; Edwards *et al.* 2005) se ha relacionado con el incremento en la aridificación del planeta y la disminución del CO₂ hace aproximadamente 27 – 25 m. a. (Oligoceno, 33.9 – 23.03 m. a.) (Arakaki *et al.* 2011). Sin embargo, se ha dicho que los eventos de diversificación más rápidos, ocurrieron hace 10 – 5 m. a. (finales del Mioceno e inicios del Plioceno) (Arakaki *et al.* 2011; Hernández-Hernández *et al.* 2014). Estos eventos de diversificación, ocurrieron también en otros linajes suculentos como Ruschioideae (Aizoaceae) (Klak *et al.* 2004), *Agave* (Good-Ávila *et al.* 2006) y *Ephedra* (Loera *et al.* 2012), así como en linajes adaptados a la aridez como *Prosopis* (Catalano *et al.* 2008) y *Bursera* (De Nova *et al.* 2012).

Entre los procesos que han conducido la especiación en la familia Cactaceae se reconocen a la poliploidía y a la hibridación en la subfamilia Opuntioideae (Pinkava 2002; Majure *et al.* 2012 a). En la subfamilia Cactoideae, la más rica (\approx 1200 especies) de Cactaceae (Nyffeler 2002), La evolución de los síndromes de polinización asociados a los cambios en las formas de crecimiento causaron esta riqueza alta (Schlumpberger 2012; Hernández-Hernández *et al.* 2014; Sánchez *et al.* 2014). Dentro de esta misma subfamilia, se sugiere que los cambios climáticos ocurridos en el pasado probablemente actuaron como presión de selección para promover la divergencia entre los linajes (Calvente *et al.* 2011; Demaio *et al.* 2011).

Con estos estudios se han reconocido regiones de ADN de cloroplasto con un polimorfismo relativamente alto (Cuadro 1). De los marcadores nucleares estudiados, el espaciador intergénico transcrito (ITS, por sus siglas en inglés) registra el polimorfismo alto (> 6 %) en los géneros *Pachycereus* (Arias *et al.* 2003) y *Opuntia* (Griffith y Porter 2009) y en *Rhipsalis baccifera* (Ornelas y Gómez-Sánchez 2015). Sin embargo, en linajes como *Lophocereus* (Hartman *et al.* 2001), *Mammillaria* (Harpke y Peterson 2006) e *Hylocereus* (Plume *et al.* 2013), el ITS registra evolución no concertada.

Respecto a los procesos microevolutivos que operan dentro de las poblaciones se reconoce a la deriva génica (Gorelick 2009), debido a que la mayoría de las especies de Cactaceae presentan tamaños poblacionales pequeños, lo que maximiza el efecto de este proceso. Los estudios filogeográficos en Cactaceae son escasos debido al nivel de polimorfismo que han mostrado los marcadores moleculares (Cuadro 2), sin embargo se han logrado hacer inferencias sobre las relaciones genealógicas entre las poblaciones, así como las rupturas filogeográficas que las separan.

En particular, el género *Mammillaria* es el grupo más numeroso de la familia Cactaceae con 163 especies (Cuadro 3; Hunt 2006), de las cuales 113 especies son endémicas de México (Guzmán *et al.* 2003). Las especies de este género se distribuyen en el oeste de Canadá, el sur de Estados Unidos, México, el Caribe, América Central y América del Sur (Bravo-Hollis 1978; Pilbeam 1999). El género *Mammillaria* registra una problemática de conservación ya que un total de 109 especies se incluyen en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF 2010) y la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN 2017) incluye 168 especies. En tanto que el Convenio sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres incluye a una especie en su Apéndice I (CITES) y el resto de las especies del género está en el Apéndice II (CITES 2017). La alta mortalidad en las primeras etapas de su ciclo vida, su alta especificidad de hábitat y una disminución en su tasa de crecimiento poblacional (Valverde *et al.* 2004; Flores-Martínez *et al.* 2010; Ferrer-Cervantes *et al.* 2012; Arias y Zavala-Hurtado 2013) son factores que podrían afectar su estatus de conservación.

La diversificación de *Mammillaria* se propone que ocurrió hace 7.6 – 6.3 m. a. aproximadamente (Mioceno, 23.03 – 5.33 m. a.) (Arakaki *et al.* 2011). Actualmente, se ha propuesto que la aridificación de América del Norte, específicamente con la expansión del Desierto de Chihuahua, es el factor que promovió su divergencia (Hernández-Hernández *et al.* 2014). Sin embargo, dado la carencia de registro fósil para la familia Cactaceae no se puede validar la datación. Este género se considera polifilético ya que está relacionado filogenéticamente con los géneros *Coryphantha*, *Ortegocactus*, *Escobaria* y *Neolloydia*, todos de la tribu Cacteeae (Butterworth *et al.* 2002; Butterworth y Wallace 2004; Crozier 2005).

Cuadro 1. Estudios filogenéticos en la familia Cactaceae. Se indica el genoma (ADNcp = ADN de cloroplasto y ADNn = ADN nuclear) y la región analizada, la longitud en pares de bases y el porcentaje de polimorfismo entre paréntesis. Además, se presenta un breve resumen de las conclusiones y la referencia bibliográfica.

Nivel taxonómico del estudio	Genoma/región	Longitud (% polimorfismo)	Conclusiones	Referencia	
<i>Mammillaria</i>	ADNcp/ <i>rpl16</i>	1036 (16)	El género <i>Mammillaria</i> no es un grupo monofilético	Butterworth y Wallace 2004.	
	ADNcp/ <i>psbA-trnH</i>	367 (22)			
<i>Mammillaria</i>	ADNcp/ <i>trnL-trnF</i>	402(3.23)	Las relaciones entre las especies están poco resueltas y con soporte bajo. En la subfamilia Cactoideae: género <i>Ferocactus</i> parafilético, género <i>Mammillaria</i> no es monofilético, género <i>Coryphantha</i> contiene dos cladros los cuales incluyen al género <i>Neolloydia</i> , <i>Ortegocactus</i> , <i>Pelecyphora</i> y algunas especies de <i>Mammillaria</i> y <i>Escobaria</i> . El género <i>Mammillaria</i> incluye solo las especies reconocidas en el subgénero <i>Mammillaria</i> (<i>sensu</i> Hunt 1981; Lüthy 1995).	Harpke <i>et al.</i> 2006.	
Familia Cactaceae, énfasis en <i>Mammillaria</i>	ADNcp/ <i>rbcL</i>	1476 (8)			Crozier 2005.
	ADNcp/ <i>rpoB</i>	3336 (16)			
	ADNcp/ <i>matK</i>	1575 (18)			
	ADNcp/ <i>rpl16</i>	1925 (16)			
	ADNcp/ <i>trnK</i>	1117 (15)			
	ADNcp/ <i>rpoC1</i>	946 (4)			
	ADNcp/ <i>trnK-psbA</i>	344 (27)			
	ADNcp/ <i>rpl20-rps12</i>	1033 (13)			
	ADNcp/ <i>trnL-trnF</i>	518 (20)			
	ADNcp/ <i>trnT-trnL</i>	1494 (11)			
ADNcp/ <i>trnK</i> exon 2	35 / 2 (6)				
<i>Gymnocalycium</i>	ADNcp/ <i>atpI-atpH</i>	825 (4.84)	Género monofilético, con subgéneros polifiléticos.	Demaio <i>et al.</i> 2011.	
	ADNcp/ <i>trnT-trnL-trnF</i>	2821 (4.04)			
	ADNcp/ <i>trnK-matK</i>	1768 (4.07)			
<i>Harrisia</i>	ADNn/ <i>isi1</i>	861 (1.51)	Las regiones analizadas amplifican exitosamente en otros géneros como <i>Echinopsis</i> , <i>Hylocereus</i> y <i>Pilosocereus</i> .	Franck <i>et al.</i> 2012.	
	ADNn/ <i>nhx1</i>	475 (3.58)			
	ADNcp/ <i>ycf1</i>	1028(7)			
	ADNcp/ <i>atpB-rbcL</i>	808 (2.1)			
	ADNcp/ <i>rpl16</i>	782 (1.67)			
<i>Opuntia</i> s.s.	ADNcp/ <i>atpB-rbcL</i>	861 (2.32)	Clado monofilético, con eventos de poliploidía y evolución reticular.	Majure <i>et al.</i> 2012 b.	
	ADNcp/ <i>matK</i>	905 (2.98)			
	ADNcp/ <i>ndhF-rpl32</i>	1699 (2.53)			
	ADNcp/ <i>psbJ-petA</i>	1169 (6.15)			
	ADNcp/ <i>trnL-trnF</i>	441 (3.17)			
	ADNcp/ <i>ycf1</i>	873 (5.84)			
	ADNn/ITS	599 (6.51)			
	ADNn/ <i>ppc</i>	469 (7.88)			
Tribu Cacteeae, énfasis en <i>Ferocactus</i>	ADNcp/ <i>rpl16</i>	1458 (29.08)	La hermandad y monofilia de varios grupos se confirma. <i>Ferocactus</i> : grupo monofilético (63 %).	Vázquez-Sánchez <i>et al.</i> 2013.	
	ADNcp/ <i>rbcL</i>	542 (9.22)			
	ADNcp/ <i>matK</i>	795 (13.71)			
	ADNcp/ <i>trnL-trnF</i>	1266 (22.11)			
	ADNcp/ <i>psbA-trnH</i>	878 (17.88)			
Serie Polyedrae (<i>Mammillaria</i>)	ADNcp/ <i>matK</i>	787 (0)	La monofilia de la Serie se recupera con soporte moderado, se identificaron dos cladros con soporte bajo.	Aquino-García 2014.	
	ADNcp/ <i>rpl16</i>	1197 (1.33)			
	ADNcp/ <i>psbA-trnH</i>	395 (2.53)			
	ADNcp/ <i>trnQ-rps16</i>	342 (0.58)			

Para el género *Mammillaria* se han propuestos los siguientes mecanismos evolutivos como promotores de su especiación. A partir del análisis filogenético de la serie Polyedrae, se sugiere que la hibridación y la introgresión pudieron promover la divergencia de sus linajes (Aquino-García 2014). Con análisis citológicos en *Mammillaria* se sugiere que la poliploidía promueve la adaptación a nuevos ambientes, debido a que seis de las nueve especies poliploides se distribuyen en áreas con condiciones ecológicas y climáticas distintas a las ocupadas por las diploides (Remski 1954; Del Ángel-Piña 2005).

Cuadro 2. Estudios filogeográficos en la familia Cactaceae. Se indica el genoma (ADNcp = ADN de cloroplasto y ADNn = ADN nuclear) y la región analizada, la longitud en pares de bases y el porcentaje de polimorfismo entre paréntesis. Además, se presenta un breve resumen de las conclusiones y la referencia bibliográfica.

Nivel taxonómico del estudio	Genoma/región	Longitud (% polimorfismo)	Conclusiones	Referencia
Complejo <i>Pilosocereus aurisetus</i>	ADNcp/ <i>trnT-trnL</i>	1464 (3.8)	Diversificación y eventos demográficos afectos por los ciclos climáticos del Cuaternario	Bonatelli <i>et al.</i> 2014.
	ADNcp/ <i>trnS-trnG</i>			
	ADNn/ <i>PhyC</i>	1022 (2.34)		
<i>Cephalocereus columna-trajani</i>	ADNcp/ <i>psbA-trnH</i>	367 (0.54)	Número de haplotipos bajo, expansión poblacional reciente	Cornejo-Romero 2013.
	ADNcp/ <i>trnT-trnL</i>	500 (0.6)		
<i>M. pectinifera</i>	ADNcp/ <i>psbA-trnH</i>	378 (0.52)	Número de haplotipos bajo, diferenciación poblacional resultado de eventos del Cuaternario.	Cornejo-Romero <i>et al.</i> 2014.
	ADNcp/ <i>trnT-trnL</i>	597 (0.33)		
<i>Rhipsalis baccifera</i>	ADNcp/ <i>rpl32-trnL</i>	1092 (11.17)	Dos clados separados por el Istmo de Tehuantepec, el cual representa una barrera al flujo génico.	Ornelas y Gómez-Sánchez 2015.
	ADNn/ITS	677 (2.5)		

Entre los procesos microevolutivos que operan en las poblaciones de las especies de *Mammillaria* están el flujo génico y la deriva génica (López-Ortiz 2013; Macías-Arrastio 2014; Solórzano *et al.* 2014; 2016; Solórzano y Dávila 2015). A pesar de la distribución restringida que registran estas especies de *Mammillaria* los niveles de flujo génico varían de moderados a altos. Este aislamiento genético se presenta en especies sin grandes discontinuidades geográficas, < 4 km, y se ha relacionado con el sistema de dispersión de gametos pobre (Solórzano *et al.* 2016). Aunque la diferenciación genética alta no es un factor necesario para la especiación, se considera que es uno de los factores que puede promover la división de linajes (Wright 1943). Por su parte otros autores considera que la diferenciación genética alta sí promueve la divergencia evolutiva entre especies filogenéticamente cercanas (Gao *et al.* 2015; Hughes y Hollingsworth 2008; Twyford *et al.* 2013).

Cuadro 3. Revisión taxonómica del género *Mammillaria* según Hunt (2006). Se muestran los cinco subgéneros reconocidos y la distribución geográfica de las 17 series taxonómicas, con el número de especies de cada una entre paréntesis.

Subgénero	Sección	Serie	Distribución geográfica (número de especies)	
1. <i>Ohemea</i>			México: desde Sinaloa hasta Oaxaca (1)	
2. <i>Dolichothele</i>			México: Región del Desierto de Chihuahua (6)	
3. <i>Phellosperma</i>			Suroeste de E. U. A. hasta noroeste de México, una especie hasta Oaxaca (5)	
4. <i>Chilita</i>			México: Región del Desierto de Sonora, una especie hasta Michoacán (17)	
5. <i>Krainzia</i>		1. Longiflora	1. México: región noroeste y sur (5)	
		2. Herrerae + Pectiniferae	2. México: Región del Desierto y de Chihuahua y Valle de Tehuacán-Cuicatlán (7)	
6. <i>Cochemia</i>			México: Península de Baja California y Valle de Tehuacán-Cuicatlán (4)	
7. <i>Mammillopsis</i>			México: Sierra Madre Occidental	
8. <i>Mammillaria</i>	1. <i>Hydrochylus</i>	5. Lasicanthae	5. México: Sierra Madre Occidental (Durango-Michoacán) y Región del Desierto de Chihuahua. Una especie alcanza el suroeste de E. U. A. (12)	
		6. Stylothelae	6. México: norte de la Faja Volcánica Transmexicana (Zacatecas-Hidalgo) (13)	
		7. Proliferae	7. México: Sierra Madre Oriental y este del Desierto de Chihuahua. Una especie alcanza el suroeste de E. U. A. y el Caribe (12)	
		8. Sphacelatae	8. México: Valle de Tehuacán-Cuicatlán (4)	
		9. Decipientes	9. México: Desierto Querétaro-Hidalgense (1)	
		10. Leptocladodae	10. México: Desierto de Chihuahua, una especie alcanza Jalisco (4)	
		11. Heterochlorae	11. México: desde Hidalgo hasta Oaxaca (3)	
	2. <i>Subhydrochylus</i>	12. Rhodanthae	12. México: sur de la Sierra Madre Oriental y Faja Volcánica Transmexicana (2)	
		13. Polyacanthae	13. México: Faja Volcánica Transmexicana, desde Jalisco pasando por Morelos, hasta Oaxaca (11)	
		14. Supertextae	14. Desde el sur de la Faja Volcánica Transmexicana en México hasta el norte de Colombia (9)	
		3. <i>Mammillaria</i>	15. Leucocephalae	15. México: sur de la Región del Desierto de Chihuahua (10)
			16. Mammillaria	16. Desierto de Chihuahua y Sonora y Sierra Madre Occidental en México, una especie en el Caribe y otra en Venezuela y Colombia (27)
			17. Polyedrae	17. México: desde el norte de la Faja Volcánica Transmexicana hasta Oaxaca, una especie en Guatemala, Honduras y Nicaragua (9)

1.3.1 El Valle de Tehuacán-Cuicatlán: un escenario evolutivo para *Mammillaria*

De acuerdo con Hernández y Gómez-Hinostrosa (2015) se reconocen seis áreas geográficas con la mayor riqueza específica de *Mammillaria* en México, 1) la parte sureña de la península de Baja California Sur (nueve especies), la cual forma parte de la Región del Desierto de Sonora, 2) Jaumave (16), al este del Desierto de Chihuahua, 3) Guadalcázar (15), ubicándose al norte-centro de San Luis Potosí y el suroeste del Desierto de Chihuahua, 4) el suroeste de San Luis Potosí (14), 5) la Subregión Meridional, en el Desierto de Chihuahua y zona árida Querétaro-Hidalguense (30) y 6) la región de Tehuacán-Cuicatlán (19).

La región semiárida del Valle de Tehuacán-Cuicatlán (el Valle de aquí en adelante, Fig. 5) es la más sureña de México. A este Valle se le considera una de las tres zonas semiáridas de México con el mayor número de taxa endémicos y con mayor diversidad biológica (Villaseñor *et al.* 1990; Rzedowski 1991; Dávila *et al.* 2002). La riqueza florística documentada para el Valle (2, 626 especies) se ha explicado por las afinidades con otras regiones de América, además de su heterogeneidad geológica y climática. Dada la similitud entre la vegetación del Valle con la vegetación neotropical y de otras zonas áridas de Norteamérica, se considera que estas floras contribuyeron a la formación de la vegetación propia en el Valle (Villaseñor *et al.* 1990). De igual modo, la presencia de afloramientos litológicos de diferentes eras geológicas, desde el Terciario temprano hasta el Plioceno (5.3 – 2.58 m. a.), así como la distribución de geoformas asociadas a la evolución del paisaje, se documentan como un factor que promueve que las especies en las comunidades vegetales sean tan distintas (diversidad $\beta > 90\%$) (Osorio *et al.* 1996; Valiente-Banuet *et al.* 2000).

El origen del Valle se remonta al periodo Paleozoico (570 – 240 m. a.) cuando se estableció el complejo basal (Brunet 1967). A finales de la era Mesozoica hasta mediados de la Cenozoica (140 – 35 m. a.) la región se invade por aguas marinas formando un gran lago, pero a principios del Cuaternario (2 m. a.) gracias a movimientos orogénicos se registra una regresión marina que marca el aislamiento del Valle respecto al Golfo de México (Fuentes-Aguilar *et al.* 1971). Este evento ocasionó que los límites del lago se extendieran a ambos lados y que los escurrimientos se drenaran a través del Río Santo Domingo, disminuyendo el nivel del agua y encauzándolo hacia la cuenca del Río Papaloapan con dirección al Golfo de México (Brunet 1967; Smith 1967). En consecuencia, el lago fue desapareciendo gradualmente, por lo que el Valle pasó de ser un sistema estable y cerrado a uno de erosión intensa, convirtiéndose así en una región semiárida. En el Pleistoceno tardío – Holoceno (11 000 – 5 000 años) se sugieren variaciones climáticas, que dieron lugar a la configuración geomórfica, sedimentaria y biótica del Valle actual (Brunet 1967; Valiente-Banuet *et al.* 2000; Medina-Sánchez 2010).

Con respecto a los cambios climáticos ocurridos en el Valle, en el Eoceno tardío – Oligoceno temprano (56 – 23 m. a.) se sugieren climas de templado – húmedos a secos (Ramírez-Arriaga *et al.* 2006). De acuerdo con registros de polen, las zonas montañosas fueron pobladas por coníferas, contrastando con vegetación xérica y bosque tropical caducifolio en tierras bajas (Beraldi-Campesi *et al.* 2006; Ramírez-Arriaga *et al.* 2006; Medina-Sánchez 2010). Al final del máximo glacial (21 000 años) los límites altitudinales de los bosques de *Pinus* bajaron a altitudes < 2500 msnm, donde actualmente se les encuentra en el Valle (Canúl-Montañez 2008). En el Holoceno (7 000 – 5 000 años) persistió una tendencia húmeda, sin embargo, de acuerdo con el registro polínico, se sugiere la presencia de una posible selva baja caducifolia (Canúl-Montañez 2008), por lo que las comunidades vegetales actuales se establecieron después de este período. No obstante, existen registros de polen con afinidad a géneros como *Neobuxbaumia*, *Astrophytum* y *Cylindropuntia* en el Valle que sugieren la presencia de Cactaceae desde el Mioceno medio (15.6 m. a.) (Ramírez-Arriaga *et al.* 2014). Si se considera que desde este tiempo se establecieron ancestros de cactáceas actuales, los cambios geomorfológicos y climáticos, acompañados con los cambios en las asociaciones vegetales, hacen del Valle un área de estudio ideal para inferir divergencia evolutiva y posibles procesos de especiación en Cactaceae.

En particular, de las 26 especies de *Mammillaria* registradas para el Valle, 13 son endémicas (Arias *et al.* 2012), en tanto que los ocho restantes alcanzan los estados de Hidalgo, Veracruz, Jalisco, Colima, Guerrero, Michoacán y Chiapas (Hunt 2006). La serie *Supertextae* se distribuye desde el sur de la Faja Volcánica Transmexicana hasta Colombia y Venezuela (Hunt 2006) y es un grupo representativo del Valle, ya que de las nueve especies reconocidas siete concentran su distribución en los estados de Puebla y Oaxaca (Novoa-Lara 2008) (Fig. 6). En el caso de las especies con distribución fuera de México, como *M. albilanata* y *M. columbiana*, el número de localidades es < 8 (Fig. 6).

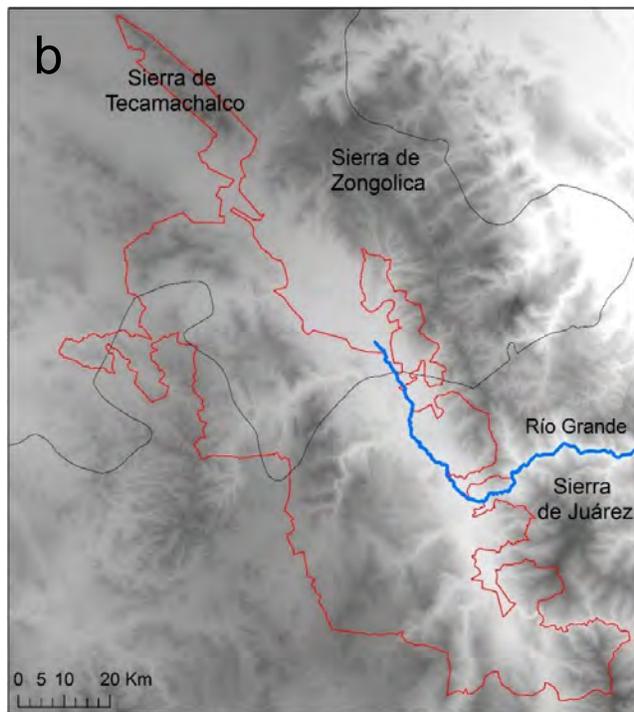
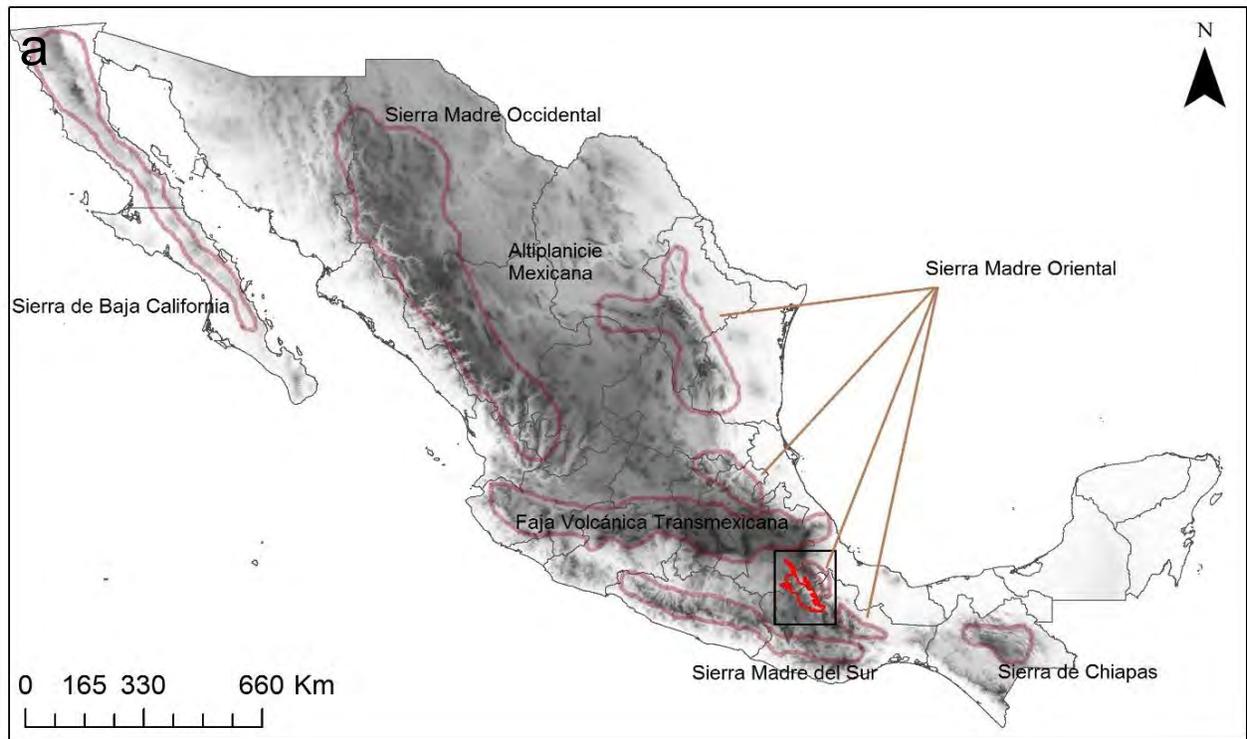


Fig. 5. a. Mapa de México mostrando las principales cadenas montañosas. b. Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en rojo se señala la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán (RBTC); Río Grande, red hidrológica primaria del Valle, señalado en azul.

Las relaciones entre las nueve especies de la serie *Supertextae* no han sido establecidas claramente debido a la gran variación morfológica (Hunt 1971; 1979). Lüthy (1995) integró características morfológicas, cariológicas, químicas y anatómicas de estas especies y además de a *M. eriacantha*, la cual no es reconocida por Hunt (2006) como parte de esta serie, con la finalidad de determinar si *Supertextae* es un grupo monofilético. Los resultados de este análisis mostraron que la serie *Supertextae* es un grupo monofilético en el que se distinguen dos grupos, el primero de ellos nombrado como *Supertexta*, incluye cinco especies: *M. albilanata*, *M. columbiana*, *M. eriacantha*, *M. haageana* y *M. supertexta*; y el segundo grupo llamado *Crucigera* incluye a *M. crucigera*, *M. dixanthocentron* y *M. huitzilopochtli*. En el estudio de la filogenia molecular de la familia *Cactaceae* basado en la región *trnK-matK* de cloroplasto (Bárcenas *et al.* 2011) se incluyeron a las nueve especies de la serie *Supertextae*, las que se agruparon en cuatro clados distintos (Fig. 7). Lo anterior indica que no es un grupo monofilético, lo que se puede deber a la falta de variación de esta región molecular. Otros estudios basados en ADN de cloroplasto (Butterworth y Wallace 2004; Crozier 2005) permiten establecer la monofilia del grupo, pero no las relaciones entre las especies, debido a que no incluyen a todas las especies de la serie.

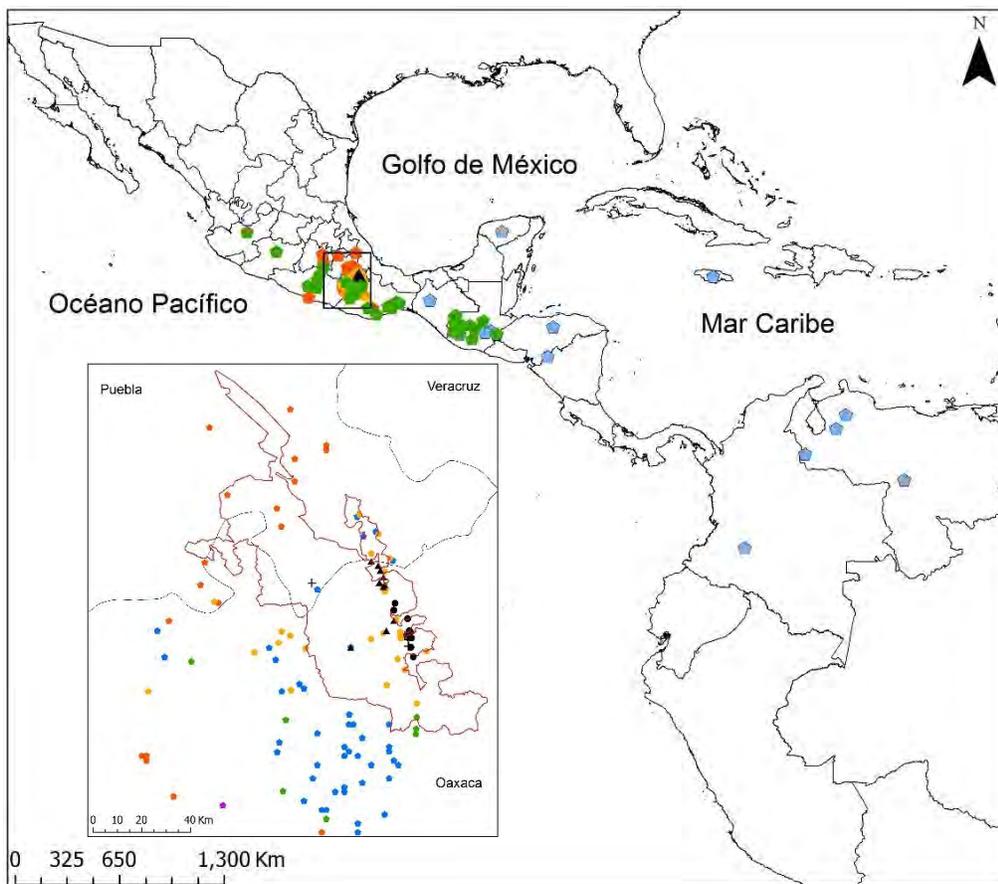


Fig. 6. Distribución geográfica de las nueve especies de la serie *Supertextae sensu* Hunt (2006): *M. albilanata* ●, *M. crucigera* ▲, *M. columbiana* ●, *M. dixanthocentron* ●, *M. flavicentra* ●, *M. haageana* ●, *M. halbingeri* ●, *M. huitzilopochtli* ● y *M. supertexta* +. Con excepción de *M. albilanata* y *M. columbiana*, las especies concentran su distribución en Puebla y Oaxaca, además de ser endémicas de México.

De las siete especies endémicas al Valle, tres de ellas se eligieron como modelo biológico en esta tesis dado que son especies filogenéticamente cercanas y con poblaciones geográficamente aisladas. Estas especies, *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*, restringen su distribución a la parte sur de Valle, al oeste de la Sierra de Zongolica (Figs. 9, 11, 13; Novoa-Lara 2008; Hernández y Gómez-Hinostrosa 2015). Estas tres especies enfrentan una problemática de conservación ya que incluyen en la categoría de protección especial en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF 2010) y en la Lista Roja de la IUCN *M. crucigera* y *M. supertexta* se clasifican en la categoría de amenazadas (“Endangered B1ab”) y *M. huitzilopochtli* en la categoría de preocupación menor (“Least Concern”) (Arias y Zavala-Hurtado 2013; IUCN 2013). Las principales razones por las que estas especies se clasifican en estas Listas de Riesgo son sus pocas poblaciones (< 10), el alto aislamiento geográfico entre ellas y su restringida distribución geográfica.

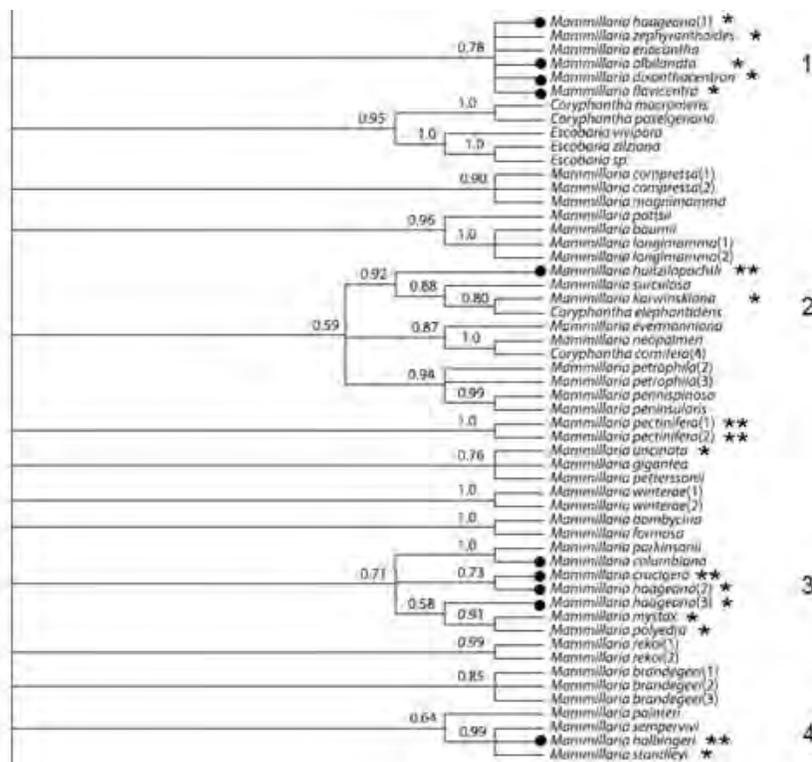


Fig. 7. Relaciones filogenéticas de ocho de las nueve especies de la serie Supertextae (marcadas con punto negro) y los cuatro clados en los que se distribuyen. La especie *M. supertexta* se omite debido a que formó una politomía junto con otras 45 especies. Con un asterisco se señala a las especies que se distribuyen fuera del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, con dos asteriscos a las especies que son endémicas de este valle (filogenia tomada y modificada de Bárcenas *et al.* 2011).

En particular, *M. crucigera* registra niveles de diversidad genética bajos y diferenciación genética alta (Solórzano y Dávila 2015). Las poblaciones de *M. huitzilopochtli* registran una diversidad genética y una diferenciación genética moderadas, mientras que en *M. supertexta* sus poblaciones mostraron niveles de diversidad genética moderada y diferenciación genética baja (Solórzano *et al.* 2014). Estos estudios indentificaron a la deriva génica y al flujo génico como los procesos microevolutivos que determinan estas características genético poblacionales. Además, sugieren que la dispersión de polen y de semillas debe ser estudiada, ya que se reconoce que estos procesos son relevantes para entender tanto los niveles de diferenciación como de diversidad genética poblacional (Ellstrand 2014). Sin embargo, en el género *Mammillaria* los sistemas de dispersión no se han evaluado, pero de acuerdo al tamaño de los frutos de las tres especies estudiadas (< 3 cm) (Arias *et al.* 2012) y a la distribución agregada de los individuos, se sugiere que la dispersión de las semillas es por escorrentía (Peters y Martorell 2001; Avendaño-Calvo 2007; Flores-Martínez *et al.* 2008; Solórzano y Dávila 2016). En relación a su sistema de polinización, de acuerdo a sus características florales y a los visitantes florales, se infiere que es por melitofilia (Flores-Martínez *et al.* 2013; Solórzano *et al.* 2014). Con estos sistemas de dispersión, por agua y por insectos generalistas, se espera que la dispersión de lo gametos sea pobre.

La distribución geográfica restringida que se registran en las tres especies aquí estudiadas (Peters y Martorell 2001) se ha sugerido que se deben a propiedades químicas y mineralógicas del suelo (Solórzano *et al.* 2010), así como por las características topográficas de su hábitat, como es el caso de la pendiente de la ladera (Martorell y Patiño 2006). Los períodos de floración de las tres especies presentan sincronía (Cuadro 4), sin embargo, las especies no son simpátricas y presentan un aislamiento geográfico que varía de < 2 km a 60 km (Figs. 9, 11, 13) y considerando además que el aislamiento geográfico puede repercutir en el aislamiento genético (Nakazato *et al.* 2010), es posible sugerir que no hay hibridación entre estas especies.

Cuadro 4. Período de floración de las tres especies de *Mammillaria* estudiadas en esta tesis. Se marca con una X los meses en los cuales cada especie florece.

Especie	e	f	m	a	m	J	j	a	s	O	n	d
<i>M. crucigera</i> ¹	X	X	X	X	X						X	X
<i>M. huitzilopochtli</i> ²									X	X	X	X
<i>M. supertexta</i> ³	X	X	X	X	X							

¹ Contreras y Valverde 2002; ² Flores-Martínez *et al.* 2010; ³ Arias *et al.* 2012

II. Hipótesis

Hipótesis filogeográficas

1. En cada especie estudiada

A partir de lo presentado en antecedentes y particularmente lo referente a los niveles de flujo génico bajos, la dispersión pobre de semillas y polen y a la distribución geográfica relativamente aislada entre las poblaciones se propone examinar la hipótesis de que *M. crucigera* y *M. supertexta* tengan una estructura filogeográfica marcada. Por su parte, en *M. huitzilpochtli* se espera una estructura filogeográfica somera.

2. Entre las tres especies estudiadas

Se espera que se confirme la monofilia de *M. crucigera*, *M. huitzilpochtli* y *M. supertexta* y que los análisis filogenéticos descarten que ocurra hibridación entre estas especies.

Hipótesis de nicho ecológico

Entre las especies *M. crucigera*, *M. huitzilpochtli* y *M. supertexta* se espera que los componentes climáticos y edáficos de sus nichos ecológicos estén claramente diferenciados. Por tener estas tres especies actualmente una distribución geográfica alopátrida se espera que el modelo de divergencia de nicho sea el que explique la divergencia ecológica entre estas especies.

III. Objetivos

Objetivos generales

1. Identificar procesos evolutivos que han moldeado la estructura filogeográfica en y entre las especies *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*, para entender su divergencia evolutiva.
2. Identificar las variables del ambiente abiótico que determinan que los nichos ecológicos de *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* estén diferenciados.

Objetivos particulares

Determinar los niveles de estructura filogeográfica en *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* e inferir la importancia del flujo génico y la deriva génica en esa estructuración.

Determinar las relaciones filogenéticas entre las especies *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*, con la finalidad de identificar posibles eventos reticulados, como hibridación o introgresión.

Modelar el nicho ecológico de *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* con la finalidad de evaluar los modelos de conservadurismo y divergencia de nicho ecológico.

Comparar el componente edáfico del nicho ecológico entre *M. crucigera*, *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*, con la finalidad de identificar las variables físicas y químicas que determinan sus diferencias y sus semejanzas.

IV. Área de estudio

Las tres especies aquí estudiadas se distribuyen en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Figs. 9, 11, 13). Este Valle se ubica en la Provincia Florística Tehuacán-Cuicatlán (Rzedowski 2006), localizada entre los 17 ° 48 ' y 18 ° 58 ' latitud norte y los 97 ° 3 ' y 97 ° 43 '. Este Valle se considera una de las tres zonas semiáridas de México con un número de elementos endémicos alto (~ 14 % de su flora) en un área relativamente pequeña (~ 10 000 km²) (Dávila *et al.* 2002). Además, casi el 98 % de la superficie del Valle está protegida como Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán (RBTC) (DOF 1998) (Fig. 5 b).

El intervalo altitudinal en el Valle oscila de 400 a 3 000 msnm. El ambiente árido se debe al efecto de sombra orográfica que produce la Sierra Madre Oriental, conocida localmente como la Sierra de Zongolica (Fig. 1 b; Villaseñor *et al.* 1990). En este Valle el clima es cálido semiárido y altamente estacional. De acuerdo a la clasificación de García (1981), el clima predominante es el árido (BS) representado en tres subgrupos, semiárido (BS0), árido (BS1) y muy árido (BW); seguido de los templados (C), el clima cálido y semicálido A (C) (Ochoa-Estrada 2001; Miguel-Talonia *et al.* 2014). Este ambiente está determinado también por la presencia de los vientos del este (alisios) con lluvias de tipo monsonico durante el verano y por vientos del oeste durante el invierno (Valiente-Banuet *et al.* 2009).

El Valle forma parte de la cuenca alta del río Papaloapan en la Región Hidrológica Papaloapan (Ochoa-Estrada 2001). Al norte de la cuenca del Valle se encuentra el Río Salado que en Quiotepec se une con el Río Grande, formando el Río Santo Domingo, afluente del Papaloapan, el cual desemboca en el Golfo de México (Reyes *et al.* 2004) (Fig. 5 b). La vegetación dominante en el Valle son comunidades áridas como matorrales y bosques de cactáceas columnares (Valiente-Banuet *et al.* 2009). Las comunidades de plantas están representadas por cerca de 3 000 especies, lo que representa aproximadamente el 10 % de la flora registrada en México (Dávila *et al.* 2002). Valiente-Banuet *et al.* (2000) reconocen 29 asociaciones vegetales, en seis categorías: bosques de cactáceas columnares, agrupaciones de plantas arbóreas de zonas bajas (< 1 800 msnm), agrupaciones de plantas arbóreas de zonas altas (1 900 – 2 900 msnm), agrupaciones de plantas arbóreas y herbáceas asociados a ríos con agua permanente, agrupaciones de plantas arbustivas espinosas perennifolias y agrupaciones de plantas arbustivas inermes perennifolias.

Respecto a su geología, el Valle forma parte de la provincia mixteco – oaxaqueña, donde destacan los valles de Cuicatlán, Huajuapán, Tehuacán, Tepelmeme y Zapotitlán, de origen tectónico (Villaseñor *et al.* 1990). Es a finales del período Mesozoico y a principios del Cenozoico cuando el paisaje del Valle inicia su configuración actual, como resultado de la actividad volcánica y la formación de montañas asociadas al movimiento de grandes fallas, ocurrida en el Paleógeno (en los últimos 65 m. a.) (Valiente-Banuet *et al.* 2000).

V. Métodos

5.1 Sistemas biológicos

Mammillaria crucigera es una cactácea pequeña globosa de menos de 15 cm de altura (Fig. 8), con flores pequeñas rosadas que de acuerdo al tamaño y posición del pistilo y estamen, registran hercogamia (Solórzano y Dávila 2015). Esta especie se distribuye en Puebla y Oaxaca (Fig. 9; Arias *et al.* 2012), por lo que se considera de distribución geográfica restringida (Peters y Martorell 2001). La densidad poblacional promedio es de 2.6 individuos/m² (Solórzano y Dávila 2015). Para las poblaciones de esta especie se registran tasas de germinación y reclutamiento de cero, así como un decrecimiento poblacional (Contreras y Valverde 2002). La distribución de esta especie cubre un área aproximada de 132 km² (Fig. 9; Peters y Martorell 2001), posiblemente debido a su especialización edáfica (Contreras y Valverde 2002).

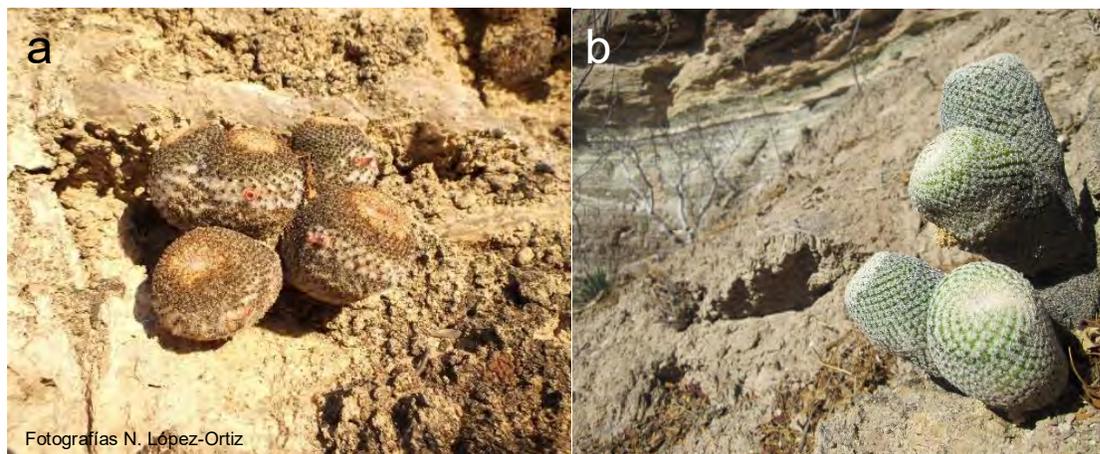


Fig. 8. Individuos adultos de *M. crucigera* en a. Cerro Blanco, Puebla, b. Malinala, Oaxaca.

Las poblaciones de *M. crucigera* se ubican en dos tipos de vegetación, en el bosque tropical caducifolio creciendo junto con especies de *Bursera*, *Fouqueria*, *Cercidium* y *Acacia*; y también sobre acantilados con matorral xerófilo con especies como *Ferocactus recurvus*, *Agave macrocantha*, *Coryphantha*, *Cephalocereus columna-trajani* y *Opuntia pillosa* (Contreras y Valverde 2002).

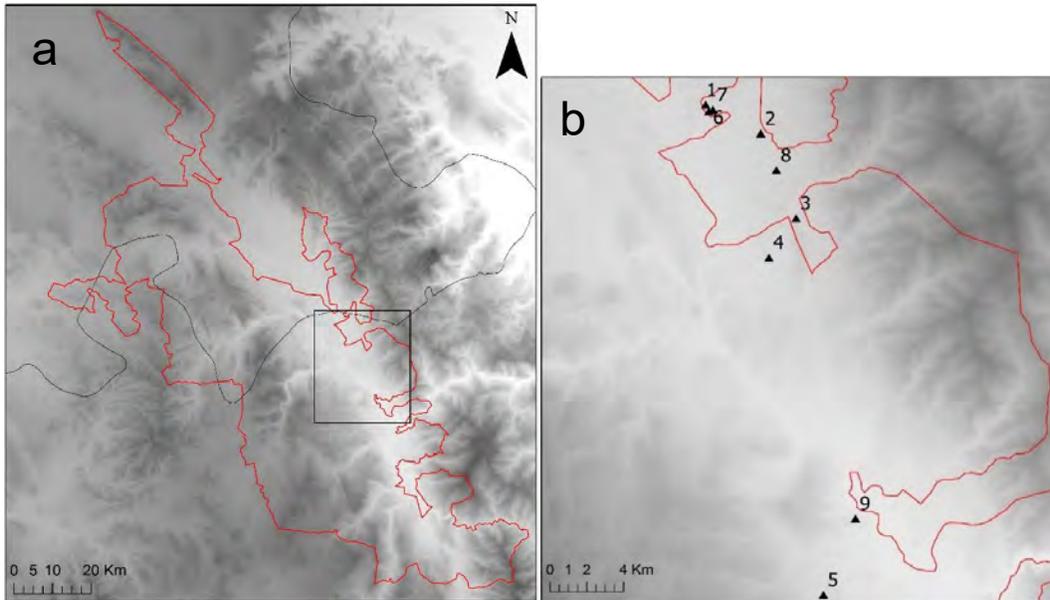


Fig. 9. a. Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán (RBTC) señalada en rojo. b. Poblaciones estudiadas de *M. crucigera* (▲) 1 – Tilapa, 2 – Cerro Blanco, 3 – Toxpa, 4 – Malinala, 5 – Ixcatlán, 6 – Tilapa 2, 7 – Tilapa 3, 8 – Teotitlán, 9 – Tecomavaca. Las poblaciones 1 – 5 solo fueron estudiadas en los análisis genéticos, mientras que en los análisis edáficos se estudiaron todas.

Mammillaria huitzilopochtli mide menos de 13 cm de alto (Fig. 10) y restringe su distribución a la porción sur del Valle (Fig. 11), en un área aproximada de 40 km² (Peters y Martorell 2001). Las tasas de germinación y establecimiento se han documentado de cero hasta por cinco años, lo que se refleja en la tendencia de disminución en su tasa de crecimiento poblacional y en su densidad poblacional tan baja (< 1 individuo/m²) (Flores-Martínez *et al.* 2010). De acuerdo con estudios sobre su fenología reproductiva, *M. huitzilopochtli* se considera una especie xenógama facultativa, debido a que produce pocos frutos con semilla en experimentos de autofecundación (Flores-Martínez *et al.* 2013).



Fig. 10. Individuos adultos de *M. huitzilopochtli* en estado vegetativo en a. Coyula, Santiago Quiotepec, Oaxaca. b. Ruinas, Cuicatlán, Oaxaca.

Los sitios donde crece la especie se caracterizan por la presencia de *Neobuxbaumia tetetzo* como especie dominante, con especies acompañantes de *Escontria chiotilla*, *Pachycereus weberi*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Hechtia* sp., *Turnera difusa*, *Plumeria rubra* y *Bursera morelensis* (Flores-Martínez *et al.* 2010).

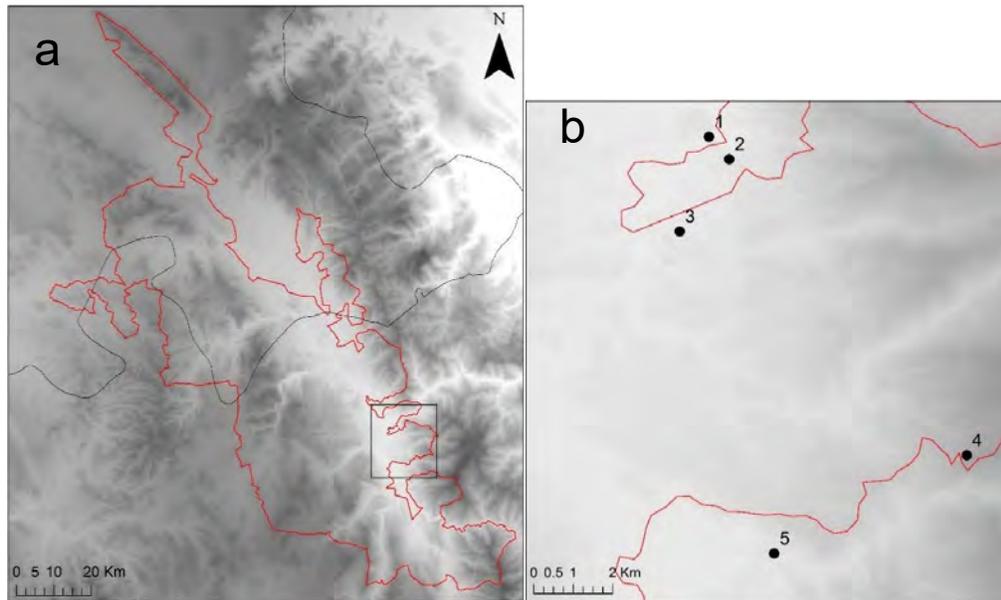


Fig. 11. a. Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán (RBTC) señalada en rojo. b. Poblaciones estudiadas de *M. huitzilopochtli* (●) 1 – Ruinas, 2 – Coyula, 3 – Quiotepec, 4 – Cacahuatal, 5 – Cuicatlán.

Los individuos de *M. supertexta* son cilíndricos de entre 5 – 16 cm de altura (Fig. 12; Arias *et al.* 2012). El área de distribución de la especie se estima que es de 350 km² (Fig. 13; Peters y Martorell 2001), con una densidad poblacional <1 individuo/m² (Avendaño-Calvo 2007). Las poblaciones de *M. supertexta* registran un equilibrio en cuanto a su tasa de crecimiento poblacional, sin embargo, no se registra reclutamiento en períodos de hasta dos años (Avendaño-Calvo 2007).



Fig. 12. Individuos de adultos de *M. supertexta* distribuidos en a. Comulco, Puebla, b. Y-Quioitepec, Oaxaca, c. Puente, Quiotepec, Oaxaca.

Entre las especies acompañantes están *Escontria chiotilla*, *Myrtillocactus geometrizans*, *M. carnea*, *Neobuxbaumia tetetzo* y especies del género *Bursera*, *Fouquieria*, *Hechtia* sp., *Agave*, *Opuntia* y *Jatropha* (Peters y Martorell 2001).

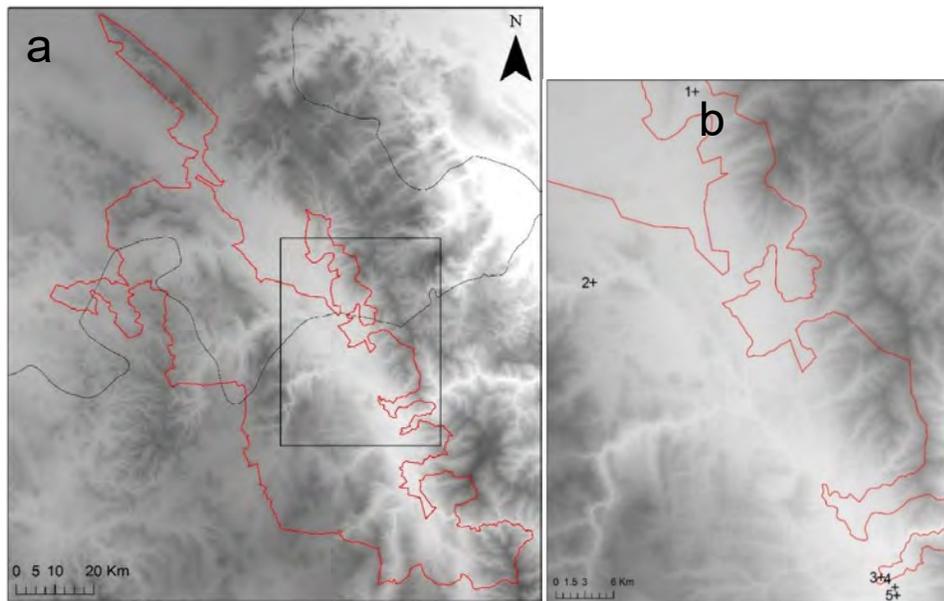


Fig. 13. a. Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán (RBTC) señalada en rojo. b. Poblaciones de *M. supertexta* (+) 1 – Comulco, 2 – Lucía, 3 – Y Quiotepec, 4 – Puente, 5 – Escoba.

5.2 Análisis para la determinación de la estructura filogeográfica

5.2.1 Análisis molecular de regiones de cloroplasto

El análisis molecular para las tres especies se basó en secuencias repetidas en tándem tipo microsatélite y en polimorfismos de regiones de ADN de cloroplasto. En total se colectaron cinco poblaciones para cada una de las tres especies de *Mammillaria* estudiadas. Estas poblaciones se ubican en los estados de Puebla y Oaxaca (Figs. 7 – 9). El ADN genómico de las muestras se obtuvo siguiendo el protocolo descrito por el DNAeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, USA). El ADN se visualizó en geles de agarosa al 0.8 %, teñido con bromuro de etidio y visualizado con luz UV.

5.2.1.1 Exploración de regiones microsatélite

Para cada una de las tres especies de estudio se usaron diez loci de microsatélites de ADN de cloroplasto diseñados para *Nicotiana tabacum* (Weising y Gardner 1999) (Cuadro 5). El ciclo de PCR para amplificar las regiones microsatélite para las tres especies consistió en 94 °C de desnaturalización inicial por 4 minutos, seguido de 35 ciclos a 94 °C por 30 segundos, alineamiento durante 1 minuto a la temperatura del oligonucleótido utilizado (Cuadro 4), 72 °C por 1 minuto y un ciclo de extensión final a 72 °C durante 5 minutos. Cada reacción de 6 µl contenía H₂O desionizada, 4 mM de MgCl₂, oligonucleótidos F y R a 10 mM, Taq polimerasa 0.5 u (Invitrogen, USA) y ADN genómico total 5 ng. Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1.2%, teñidos con 0.5 µg/ml con SYBR® Safe (Invitrogen, USA) con luz UV. Incluyendo un marcador de 100 pb para estimar el tamaño del producto de PCR. Para identificar los alelos de microsatélites se utilizaron para cada uno de los diez loci analizados, el oligonucleótido F (5'-3') marcado con fluorocromo NED, FAM, VIC o PET (Cuadro 5). La electroforesis se llevó a cabo en el secuenciador ABI PRISM™ 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, UNAM Campus Morelia. Para determinar el tamaño de los alelos amplificados se empleó el programa PeakScanner™v. 1.0 (Applied Biosystems, USA), estableciendo así el tamaño de los alelos, de acuerdo con el tamaño del producto de PCR en pares de bases.

Cuadro 5. Loci de microsatélites de cloroplasto analizados para las tres especies de estudio. Se indica el nombre del locus, su secuencia, su ubicación y la secuencia repetida en tándem, seguido de las condiciones específicas de las especies de *Mammillaria* estudiadas: la temperatura y el tamaño del producto de PCR. NA indica que ese locus no amplificó.

Nombre del locus	Secuencia de oligonucleótido	Ubicación	Repetición	Temperatura (°C)	Tamaño en <i>Mammillaria</i> (pb)
ccpm1	F-FAM: CAGGTAAACTTCTCAACGGA R: CCGAAGTCAAAAGAGCGATT	intrón <i>tmK</i>	(T) ₁₀	52	117
ccpm2	F-VIC: GATCCCGGACGTAATCCTG R- ATCGTACCGAGGGTTCTGAAT	5' <i>tmS</i>	(A) ₁₁	52	202-214
ccpm3	F-PET: CAGACCAAAAGCTGACATAG R: GTTTCATTCCGGCTCCTTTAT	Intrón <i>tmG</i>	(T) ₁₁	52	108
ccpm4	F-VIC: AATGCTGAATCGAYGACCTA R: CCAAAAATATTBGGAGGACTCT	Intrón <i>atpF</i>	(T) ₁₃	NA	NA
ccpm5	F-NED: TGTTCGAATATCTTCTTGTCATT R: AGGTCCATCGGAACAATTAT	3' <i>rps2</i>	(C) ₇ (T) ₁₀ (T) ₅ C(A) ₁₁	NA	NA
ccpm6	F-FAM: CGATGCATATGTAGAAAGCC R: CATTACGTGCGACTATCTCC	<i>ORF77-ORF82</i>	(T) ₅ C(T) ₁₇	48	90
cppm7	F-VIC: CAACATATACCACTGTCAAG R: ACATCATTATTGTATACTTTTC	<i>atpB-rbcL</i>	(A) ₁₃	48	141
cppm8	F-PET: TTGGCTACTCTAACCTTCCC R: TTCTTTCTTATTTTCGCGAGDGAA	<i>rpl20-rps12</i>	(T) ₆ C(T) ₁₄	NA	NA
cppm9	F-NED: GGATTTGTACATATAGGACA R: CTCAACTCTAAGAAATACTTG	<i>ORF 74b-psbB</i>	(T) ₁₁	NA	NA
cppm10	F-FAM: TTTTTTTTAGTGAACGTGTCA R: TTCGTCGDCGTAGTAAATAG	<i>rpl2-rps19</i>	(T) ₁₄	48	102-124

5.2.1.2 Exploración de regiones de ADN

Con base en los antecedentes, para cada una de las tres especies se analizaron 12 regiones, por medio de secuenciación Sanger (Cuadro 6). Para las tres especies y para todas las regiones estudiadas el ciclo general de PCR fue el siguiente: 94 °C de desnaturalización inicial por 4 minutos, seguido de 35 ciclos a 94 °C por 30 segundos, alineamiento durante 1 minuto a la temperatura del oligonucleótido utilizado (Cuadro 6), 72 °C por 1 minuto y un ciclo de extensión final a 72 °C durante 5 minutos. Cada región de ADN se obtuvo con PCR individuales en un termociclador Veriti® 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA). El volumen final de cada reacción fue de 10 µl y contenía H₂O desionizada, Buffer tris-HCl 1 x, MgCl₂ 3 – 5 mM, dNTPs 0.3 mM, Primer F y R 0.15 pM, BSA 0.1 x (Bovine Serum Albumin), Taq DNA polimerasa 0.5 u (Invitrogen, USA) y ADN genómico total 5 ng. Las reacciones de secuenciación se llevaron a cabo con el kit BigDye Terminator v. 3.1 (Applied Biosystems, USA) en el secuenciador 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA) del Instituto de Biología de la UNAM.

Las regiones que no amplificaron inicialmente se ensayaron con dos condiciones de PCR, cuatro temperaturas de alineamiento y dos concentraciones de MgCl₂ para descartar su falta de amplificación. El gen *ycf1* se ensayó con un ciclo de PCR con cuatro temperaturas de alineamiento, dos concentraciones de oligonucleótidos, dos concentraciones de MgCl₂ y dos concentraciones de BSA. Sin embargo, la región fue descartada después de ensayos con controles negativos y positivos (especie *Strophocactus chontalensis*, Cactaceae).

Cuadro 6. Nombre de las 12 regiones de ADN de cloroplasto analizadas, su secuencia y la fuente donde fueron publicadas. Las condiciones específicas de temperatura y del tamaño de las regiones, son las obtenidas para las tres especies de *Mammillaria* estudiadas. NA indica que ese locus no amplificó.

Nombre de la región (locus)	Secuencia de los oligonucleótidos (5' - 3')	Referencia	Temperatura (°C)	Tamaño (pb)
1. <i>atpI-atpH</i>	atpI: TAT TTA CAA GYG GTA TTC AAG CT atpH: CCA AYC CAG CAG CAA TAA C	Shaw <i>et al.</i> 2007	60	583-632
2. <i>ndhF-rpl32</i>	rpl32.Op: TGG TCA AAC GAA TCT TTG ndhF.Op: TGC TGA ATA GAC AGC TTC A	Majure <i>et al.</i> 2012b	NA	NA
3. <i>petL-psbE</i>	petL: AGT AGA AAA CCG AAA TAA CTA GTT A psbE: TAT CGA ATA CTG GTA ATA ATA TCA GC	Shaw <i>et al.</i> 2007	57	827-837
4. <i>psbA-trnH</i>	psbAF: GTT ATG CAT GGA CGT AAT GCT C trnHR (GUG): CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC	Sang <i>et al.</i> 1997 Tate y Simpson 2003	60	336
5. <i>psbD-trnT</i>	psbD: CTC CGT ARC CAG TCA TCC ATA trnT(GGU)-R: CCC TTT TAA CTC AGT GGT AG	Shaw <i>et al.</i> 2007	56	684-755
6. <i>psbJ-petA</i>	psbJ: ATA GGT ACT GTA RCY GGT ATT petA.Op: CAA CAT CAA GTT CGT AAC AAG	Shaw <i>et al.</i> 2007 Majure <i>et al.</i> 2012b	NA	NA
7. <i>rpl16</i>	rpl161F: GCT ATG CTT AGT GTG TGA CTC GTT rpl163R: CTT CTA TTT GTC TAG GCG TGA TCC	Hernández-Hernández <i>et al.</i> 2011	67	909-913
8. <i>rps16-trnK</i>	rpS16x2F2: AAA GTG GGT TTT TAT GAT CC trnK(UUU)x1: TTA AAA GCC GAG TAC TCT ACC	Shaw <i>et al.</i> 2007	NA	NA
9. <i>trnQ-5'rps16</i>	trnQ(UUG): GCG TGG CCA AGY GGT AAG GC rps16x1: GTT GCT TTY TAC CAC ATC GTT T	Shaw <i>et al.</i> 2007	53	327
10. <i>trnT-trnL</i>	trnTa: CAT TAC AAA TGC GAT GCT CT trnLb: TCT ACC GAT TTC GCC ATA TC	Taberlet <i>et al.</i> 1991	54	526-529
11. <i>3'trnV-ndhC</i>	trnV(UAC)x2: GTC TAC GGT TCG ART CCG TA ndhC: TAT TAT TAG AAA TGY CCA RAA AAT ATC ATA TTC	Shaw <i>et al.</i> 2007	NA	NA
12. <i>ycf1</i>	ycf1-4182F: AAA TAY RRA TAG AAA ATA TTT KGA TT ycf1-5248R: GAA TTC TYA ATT CTC TAC GAC G	Franck <i>et al.</i> 2012	NA	NA

5.2.2 Análisis estadísticos de la variación molecular de regiones de cloroplasto

5.2.2.1 Variación molecular en regiones microsatélite

Para cada población de cada una de las tres especies estudiadas se estimó el número de haplotipos, su proporción en cada población y el total de las poblaciones de cada especie. Las relaciones genealógicas entre los haplotipos se infirieron con el programa Network v. 4.6.1.1. (Bandelt *et al.* 1999). Por último, se determinó la estructura filogeográfica, con N_{ST} que estima la distancia filogenética entre los haplotipos. Si el valor calculado de N_{ST} es significativamente mayor comparado con un valor N_{ST} permutado (N_{ST} > pN_{ST}), sugiere que los haplotipos más relacionados genealógicamente se ubican juntos en las poblaciones (Pons y Petit 1996). Este análisis se llevó a cabo en el programa SPAGeDi v. 1.5 (Hardy y Vekemans 2002), usando 1000 permutaciones para definir su significancia.

5.2.2.2 Variación molecular en regiones de ADN

Las secuencias obtenidas para las tres especies fueron ensambladas y editadas en el programa Sequencher v. 4.8 (Genes Codes Corporation, USA). Posteriormente se realizó el alineamiento con el programa Mesquite v. 2.74 (Maddison y Maddison 2010) utilizando el algoritmo MUSCLE (Edgar 2004). El polimorfismo se evaluó de dos maneras, la primera a nivel de cada región de ADN de cloroplasto analizada y a nivel intraespecífico.

Para conocer el polimorfismo de cada región de ADN se contó el número de haplotipos en de cada especie. Además, se calculó el índice PIC (Caracteres Potencialmente Informativos) que es la suma del número de sustituciones nucleotídicas (SN), el número de “indels” (ID) y el número de inversiones (IV), entre la longitud en pares de bases de la región (L) (Shaw *et al.* 2005). Finalmente, se estimó el nivel de variación genética de cada región para cada especie con los índices de diversidad haplotípica (h_d) y de diversidad nucleotídica (π) con el programa DnaSP v. 5 (Librado y Rozas 2009).

El polimorfismo a nivel intraespecífico se determinó con el número de haplotipos por región y con el índice PIC (Shaw *et al.* 2005). Además, se estimó el nivel de variación genética para cada especie con los índices de diversidad haplotípica (h_d) y nucleotídica (π) con el programa DnaSP v. 5, considerando solo las sustituciones nucleotídicas (Librado y Rozas 2009). Las regiones polimórficas fueron concatenadas y para cada especie se contó con el número de haplotipos, su proporción en cada población y para el total de las poblaciones de cada especie. Asimismo, se construyó una red de haplotipos con parsimonia estadística en el programa TCS v. 1.21 (Clement *et al.* 2000). El límite de conexión entre haplotipos fue de 95 % y los “indels” fueron tratados como quinto estado. Finalmente, para determinar la estructura filogeográfica de cada especie se calculó el coeficiente de diferenciación poblacional G_{ST} , que está basado en las frecuencias de los haplotipos (alelos no ordenados) y el coeficiente N_{ST} , que toma en cuenta las relaciones genealógicas entre los haplotipos (alelos ordenados). El programa Permut v. 2.0 (Pons y Petit 1996) se utilizó para el cálculo de ambos coeficientes y para la prueba de permutación que compara G_{ST} y N_{ST} , estableciendo un nivel de significancia con 1000 permutaciones. Si el valor de N_{ST} respecto a G_{ST} resultaba alto y significativo indicaría que los haplotipos más relacionados genealógicamente se ubican juntos en las poblaciones, sugiriendo así, una estructura filogeográfica (Pons y Petit 1996).

Las relaciones genealógicas entre las tres especies estudiadas se evaluaron a partir de los siguientes análisis estadísticos. Con un análisis de máxima parsimonia en el programa PAUP* v. 4 (Swofford 2002) se determinaron las relaciones genealógicas entre las tres especies de estudio, con una búsqueda exhaustiva de 1000 árboles. El soporte de las ramas se estableció a partir de 100 réplicas de “bootstrap”. Los “indels” y las inversiones se trataron como eventos filogenéticamente informativos (Graham *et al.* 2000; Simmons y Ochoterena 2000) por lo que fueron codificados de manera binaria como presencia/ausencia (0/1) y agregados al final de la matriz del alineamiento. La especie *Ferocactus flavovirens* (Britton y Rose 1922) se utilizó como grupo externo a debido a su cercanía con el género *Mammillaria* (Butterworth y Wallace 2004; Vázquez-Sánchez *et al.* 2013).

Además, para determinar las relaciones filogenéticas entre las tres especies estudiadas se generaron secuencias de las regiones de ADN de cloroplasto, *rpl16* y *psbA-trnH*, utilizadas en la filogenia del género *Mammillaria* propuesta por Butterworth y Wallace (2004). Para esto se incorporaron las secuencias obtenidas de estas regiones de ADN a la matriz de las secuencias descargadas del GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Todas las secuencias fueron alineadas con el programa Mesquite v. 2.74 (Maddison y Maddison 2010) utilizando el algoritmo MUSCLE (Edgar 2004). Los “indels” considerados filogenéticamente informativos por Butterworth y Wallace (2004) (Cuadro 7) fueron codificados de manera binaria como presencia/ausencia (0/1) y agregadas al final de la matriz del alineamiento. En el caso de los “indels” que se encontraron contiguos se trataron como un solo evento mutacional (582 – 646, 818 – 835). Las relaciones filogenéticas se infirieron con el método de máxima parsimonia implementado en el programa PAUP* v. 4 (Swofford 2002). Se realizó una búsqueda heurística inicial con el algoritmo de intercambio de ramas TBR, en un árbol inicial obtenido a partir de adición gradual, guardando árboles parsimoniosos múltiples (MAXTREES = 1000). Las búsquedas adicionales al azar se hicieron con 50 réplicas, cada réplica limitada a guardar un máximo de 1000 árboles parsimoniosos (NCHUCK = 1000 CHUCKSCORE = 1), con el fin de encontrar islas de árboles cortos. Los valores de bootstrap se calcularon a partir de 45 réplicas, guardando un máximo de 1000 árboles. Además, estas relaciones filogenéticas se analizaron también con inferencia bayesiana, previo a este análisis se utilizó el programa jModelTest 2.0 (Darriba *et al.* 2012) para estimar el modelo de sustitución (GTR + G + I). El análisis bayesiano se llevó a cabo con el programa MrBayes v. 3.2.6 (Ronquist *et al.* 2012) con un árbol al azar y una corrida de 10 000 000 de cadenas Markovianas, con un burn in del 25 %.

Cuadro 7. Posición y longitud en pares de bases (pb) de los “indels” codificados de manera binaria, así como las regiones que los autores eliminaron debido a que su alta variación no permitió el alineamiento en el intrón *rpl16*.

Secuencia	Butterworth y Wallace 2004		Esta tesis	
	Posición	Longitud (pb)	Posición	Longitud (pb)
<i>rpl16</i>	29-32	4	27-30	4
	104-106	3	98-100	3
	203-212	10	197-206	10
	230-233	4	224-227	4
	316	1	311	1
	531-534	4	525-529	4
	617-639	23	582-646	65
	640-644	5		
	645-685	41		
	735-754	20	670-688	19
	727-838	112	668-778	111
	770-775	6	710-715	6
	875-880	6	818-835	18
	881-887	7		
	888-892	5		
	995-997	3	849-851	3
	588-615	28	528-609	28
	686-713	28	647-674	28
<i>psbA-trnH</i>	28-41	14	28-41	14
	63-67	5	59-65	7
	68-74	7	59-70	12
	104-109	6	103-108	6
	110-115	6	110-115	6
	148-151	4	144-147	4
	225-312	88	213-305	93
	240-246	7	226-232	7
	294-297	4	280-283	4
	356-367	12	342-350	9

5.3 Evaluación de la diferenciación del nicho ecológico

5.3.1 Caracterización y modelado del nicho ecológico

Los registros de los sitios donde se distribuyen las tres especies estudiadas se obtuvieron con la revisión de los ejemplares disponibles en el Herbario Nacional (MEXU, Instituto de Biología, UNAM), así como de recursos en línea del Global Biodiversity Information Facility (GBIF 2015), el portal del Jardín Botánico de Missouri (<http://www.tropicos.org/>) y la Red Mundial de Información sobre Biodiversidad (CONABIO 2015). También se utilizaron los registros georreferenciados de los proyectos de la CONABIO “Conocimiento y conservación de las mamilarias endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán” (Peters y Martorell 2001) y “Actualización e incremento del banco de datos de la colección de herbario del Jardín Etnobotánico de Oaxaca” (Chávez-Rendón 2006). Después de la depuración de la base de datos, en total para *M. crucigera* se obtuvieron 17 registros, para *M. huitzilopochtli* 25 y para *M. supertexta* 13.

Las coberturas climáticas digitales utilizadas derivan de registros de 1910 a 2009 de 5 000 estaciones meteorológicas, generadas a partir del algoritmo “thin-plate smoothing spline interpolation” implementado en ANUSPLIN (Cuervo-Robayo *et al.* 2014). Estas coberturas corresponden a 19 variables climáticas y a dos características topográficas obtenidas a partir del modelo digital de elevación (Cuadro 8). El área definida para las coberturas abarca un polígono con extremos latitud 19.02162 °, longitud -98.01379 °, latitud 17.48622° y longitud -96.64084°, con una resolución de grid de 45 m x 45 m. La caracterización del nicho ecológico se realizó extrayendo para los registros de presencia de cada especie los valores de las 19 variables climáticas en ArcGis 10.2 (ESRI 2014). Para cada variable se calculó la media y la varianza, con la finalidad de obtener el perfil bioclimático de cada especie.

Actualmente se disponen de varias estrategias analíticas para modelar la distribución geográfica de una especie, entre ellas están BIOCLIM (Busby 1991), GARP (Stockwell y Peters 1999), Maxent (Phillips *et al.* 2006) entre otros. En particular, Maxent utiliza datos de presencia e información sobre la variación ambiental próxima al área de estudio (área “background”, o área de calibración de aquí en adelante) en el desarrollo del modelo (Phillips *et al.* 2006). Las inferencias realizadas con Maxent estiman una distribución de probabilidad de máxima entropía (que está más cerca de ser uniforme) la cual se limita al conjunto de variables ambientales dadas por el usuario. El algoritmo de Maxent utiliza solo puntos de presencia, que son empleados para el entrenamiento y la generación del modelo (Elith *et al.* 2011). Lejos de representar una desventaja, la utilización de datos de presencia puede brindar conjeturas sobre los datos de ausencia, debido a que, si una especie está ausente en un área en particular, está sugiriendo que esta área no es adecuada para la especie (Yackulic *et al.* 2013). En general, Maxent ha probado ser robusto, de uso accesible y computacionalmente eficiente (Elith *et al.* 2011). Aunque se documentan algunas desventajas, los modelos creados con Maxent se caracterizan por discriminar de manera adecuada las áreas adecuadas vs inadecuadas para las especies (Phillips *et al.* 2006), registrar un desempeño promedio alto (Qiao *et al.* 2015), además de un funcionamiento correcto con un número de puntos de presencia limitado (Pearson *et al.* 2007; Rinnhofer *et al.* 2012). Por lo anterior, para el modelado de nicho ecológico de cada especie se utilizó el algoritmo de máxima entropía implementado en el programa Maxent v. 3.3.3 a (Phillips *et al.* 2006).

Los modelos de nicho requieren de la estimación previa de la correlación entre las variables. Esto se realizó con el programa SDMtools (Brown 2014) implementado en ArcGis v. 10.2 (ESRI 2014). Las variables climáticas o topográficas que registraron valores altos de correlación ($r \geq 0.9$) fueron descartadas. Las variables no correlacionadas fueron la oscilación diurna de la temperatura (bio2), la isothermalidad (bio3), la estacionalidad de la temperatura (bio4), la temperatura máxima del mes más cálido (bio5), la oscilación anual de la temperatura (bio7), la estacionalidad de la precipitación (bio15), la precipitación del trimestre más seco (bio17), la precipitación del trimestre más cálido (bio18), la precipitación del trimestre más frío (bio19), la orientación y la pendiente de la ladera. Para las tres especies de estudio la oscilación diurna de la temperatura (bio2), la estacionalidad de la precipitación (bio15), la precipitación del trimestre más seco (bio17) y la pendiente de la ladera, aportaron menos del 2 % para la elaboración del modelo. Sin embargo, la inclusión de dichas variables correspondía a valores negativos en la prueba de jackknife, por lo que estas variables fueron descartadas.

Con la finalidad de conocer las variables que determinan la presencia de los taxa, así como la sensibilidad de los parámetros elegidos en la elaboración del modelo, Chunco *et al.* (2013) emplearon un método para construir modelos independientes y reconocer el mejor modelo. De esta manera, para cada especie se elaboró un primer modelo con las 19 variables climáticas y un segundo modelo con las 19 variables climáticas y las tres de superficie (Cuadro 8). Los dos modelos generados para cada especie fueron comparados y se eligieron las variables que aportaron al menos 3 % en la elaboración del modelo y aquellas que no estuvieron correlacionadas. Una vez establecidas las variables más importantes para cada especie, se elaboró un modelo para cada especie utilizando 100 réplicas, el 75 % de los registros de presencia para el entrenamiento y el 25 % para la validación del modelo. Los parámetros utilizados fueron el multiplicador de regularización de 1, el número máximo de iteraciones 1000, el límite de convergencia 1×10^{-5} y el número máximo de puntos de fondo 1000. No se utilizó el método de extrapolación.

Cuadro 8. Lista de las 19 variables climáticas y tres topográficas utilizadas para la elaboración de los modelos de nicho ecológico de las tres especies de *Mammillaria* estudiadas.

Variable (unidades) (abreviatura)
1. Temperatura promedio anual (°C) (bio 1)
2. Oscilación diurna de la temperatura (°C) (bio 2)
3. Isotermalidad (°C, cociente entre parámetros 2 y 7) (bio 3)
4. Estacionalidad de la temperatura (% , coeficiente de variación) (bio 4)
5. Temperatura máxima promedio del mes más cálido (°C) (bio 5)
6. Temperatura mínima promedio del mes más frío (°C) (bio 6)
7. Oscilación anual de la temperatura (°C, cociente entre parámetros 5 y 6) (bio 7)
8. Temperatura promedio del trimestre más lluvioso (°C) (bio 8)
9. Temperatura promedio del trimestre más seco (°C) (bio 9)
10. Temperatura promedio del trimestre más cálido (°C) (bio 10)
11. Temperatura promedio del trimestre más frío (°C) (bio 11)
12. Precipitación anual (mm) (bio 12)
13. Precipitación del mes más lluvioso (mm) (bio 13)
14. Precipitación del mes más seco (mm) (bio 14)
15. Estacionalidad de la precipitación (% , coeficiente de variación) (bio 15)
16. Precipitación del trimestre más lluvioso (mm) (bio 16)
17. Precipitación del trimestre más seco (mm) (bio 17)
18. Precipitación del trimestre más cálido (mm) (bio 18)
19. Precipitación del trimestre más frío (mm) (bio 19)
20. Altitud (msnm)
21. Orientación (grados)
22. Pendiente (grados)

La validación del modelo se realizó evaluando el área bajo la curva (AUC por sus siglas en inglés) de la Característica Operativa del Receptor (ROC por sus siglas en inglés). La curva ROC se obtiene graficando en el eje x los valores de especificidad (tasa de errores falsos positivos) contra la tasa de sensibilidad (tasa de verdaderos positivos en el eje y), basados en cada valor de probabilidad predicho por el modelo para el conjunto de datos (Fielding y Bell 1997; Franklin 2010). El valor de AUC va 0.5 a 1, cuando toma valores próximos a 1 existe un buen ajuste con los datos de evaluación (Fielding y Bell 1997). El valor de AUC comúnmente clasifica las presencias versus las ausencias, pero en Maxent es usado para clasificar las presencias versus los puntos en el área de calibración, los cuales pueden ser o no ausencias verdaderas (Phillips *et al.* 2006). De las 100 réplicas obtenidas de cada modelo elaborado para cada especie, se realizó una preselección de acuerdo con los valores más altos del área bajo la curva (AUC > 0.95), analizando las curvas ROC de los modelos y las curvas de respuestas de cada variable. Para cada modelo preseleccionado por especie se extrajeron los valores de idoneidad de los puntos de presencia en ArcGis v. 10.2 (ESRI 2014). El modelo con el valor más alto de idoneidad fue elegido para cada especie. Asimismo, con este programa se reclasificaron los modelos de nicho con intervalos de idoneidad tomando en cuenta el valor más alto.

5.3.2 Comparación de los nichos ecológicos entre las especies

Para responder el cuarto objetivo se utilizaron dos tipos métodos, uno basado en modelos de nicho y otro en análisis multivariados. En este último método se considera como ventaja que al utilizar un Análisis de Componentes Principales (PCA, por sus siglas en inglés), se reducen los datos de las coberturas climáticas a un conjunto de ejes independientes del espacio ambiental (Arteaga *et al.* 2011).

5.3.2.1 Análisis de los modelos de nicho entre especies

Los modelos de nicho ecológico se compararon con el programa ENMTools v. 1.3 (Warren *et al.* 2008), por medio de la medición la similitud o superposición del nicho (valor observado de similitud o “niche overlap”), con el índice D de Schoener (1968) y con el índice I , que es una medida similar a la distancia de Hellinger (Warren *et al.* 2008). Este valor de superposición se obtiene comparando las estimaciones de idoneidad de hábitat generadas previamente para los modelos de nicho ecológico (Warren *et al.* 2008). Los valores obtenidos van de 0, cuando son nichos completamente diferentes, a 1 para el caso de nichos idénticos (Warren *et al.* 2010). Una vez obtenido este valor, se evaluaron dos planteamientos: a) si los nichos eran idénticos (prueba de equivalencia o “identity test”) y b) si los nichos eran similares (prueba de similitud o “background test”) (Warren *et al.* 2008). En la prueba de equivalencia se obtuvieron los valores de similitud o superposición del nicho, I y D , entre las especies de estudio, suponiendo que las poblaciones comparten su nicho ecológico (Warren *et al.* 2010). Estos valores generados se utilizaron para elaborar una distribución nula, evaluando su significancia con los percentiles 0.5 y 0.95. Así, si el valor observado de similitud I o D resulta menor que los valores esperados en la distribución nula, se rechaza que los nichos son idénticos (Warren *et al.* 2008).

Por otra parte, en la prueba de similitud se examinó si los modelos de nicho ecológico entre las especies eran más similares o diferentes, dadas las diferencias ambientales entre las regiones donde las especies habitan (Warren *et al.* 2010; Arteaga *et al.* 2011). La delimitación del área de calibración, que es equivalente al área M (Fig. 14) (Soberón y Peterson 2005), puede afectar las conclusiones al comparar los nichos ecológicos de las especies debido a que la similitud entre los nichos es mayor si el área de calibración es mayor (Barve *et al.* 2011). Por tanto, se utilizaron dos técnicas para el establecimiento del área de calibración de cada especie, la primera a partir de modelos de nicho ecológico binarios (presencia/ausencia) y a partir de un polígono mínimo convexo de la distribución geográfica (Fig. 15). Los modelos binarios se obtuvieron utilizando un punto de corte independiente, “10 percentile training presence” (Pearson *et al.* 2007; Fouquet *et al.* 2010), que indica que una celda es idónea si su valor de idoneidad es mayor que el 10 % de los registros de presencia del entrenamiento. El polígono mínimo convexo se estableció alrededor de los puntos de presencia de cada especie con la herramienta de Hawth's v. 3 para ArcGIS v. 10.2 (ESRI 2014), de esta manera se delimitó la distribución geográfica de cada especie (Warren *et al.* 2008; McCormack *et al.* 2010).

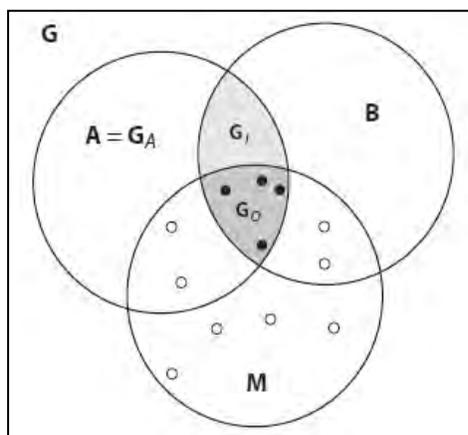


Fig. 14. El área de distribución de una especie está determinada por la interacción entre los factores bióticos (B), abióticos (A) y el movimiento (M) (Soberón y Peterson 2005). El espacio **A** representa las regiones geográficas donde las condiciones abióticas que permiten a la tasa intrínseca de crecimiento ser positiva. El espacio **B** representa las regiones geográficas donde las condiciones bióticas son favorables para la presencia de las especies. Finalmente, **M** corresponde a las regiones geográficas que han sido accesibles a las especies dentro de un lapso de tiempo dado. El espacio geográfico G se subdivide en tres áreas, G_A el área ambientalmente adecuada, G_O el área de distribución ocupada y G_I el área de distribución que puede ser invadida. Los círculos negros indican presencias y los blancos ausencias (Modificado de Peterson *et al.* 2011).

La evaluación de la similitud del nicho entre las especies se estableció al comparar los valores observados, es decir, de similitud de nicho con los percentiles 0.5 y 0.95 de la distribución nula. Esta prueba es de dos colas, si los valores observados son significativamente mayores a 0.95, se interpreta que los nichos son más distintos de lo que se esperaría por azar. Por el contrario, si el valor observado resulta ser menor a 0.5, esto indicaría que los nichos son más similares de lo que se esperaría por azar (Warren *et al.* 2010). Tanto para la prueba de similitud como de equivalencia se corrieron 100 réplicas para cada comparación, las cuales se consideran estadísticamente suficientes (Warren *et al.* 2008).

5.3.2.2 Análisis multivariado para comparar el nicho entre especies

La comparación multivariada del nicho ecológico se llevó a cabo utilizando el análisis de ejes de nicho independientes propuesto por McCormack *et al.* (2010). Esta prueba evalúa el grado de diferenciación ambiental entre las presencias de las especies, representadas en los componentes principales, respecto al área de calibración de cada especie. Para llevar a cabo el análisis anterior, se extrajeron para los puntos de presencia de cada especie los valores de las coberturas climáticas utilizadas en los modelos de nicho ecológico y de 500 puntos al azar ubicados dentro de los límites geográficos de las especies, los cuales representan las distribuciones del área de calibración (polígono azul Fig. 15). Con la herramienta de Hawth's v. 3 para ArcGIS v. 10.2 (ESRI 2014), se generaron los 500 puntos al azar dentro de un polígono mínimo convexo dibujado alrededor de los puntos de presencia de cada especie. Con los datos extraídos se realizó un PCA, extrayendo los ejes que fueran biológicamente interpretables y que presentaron un porcentaje de variación alto (Arteaga *et al.* 2011). Para cada eje del nicho se calculó el valor observado de diferenciación comparando las diferencias observadas entre los promedios para cada especie en dicho eje, con la diferencia promedio del área de calibración del mismo. Con el programa Stata v. 12 (StataCorp 2013) se calculó la distribución nula de divergencia del área de calibración recalculando el valor de la divergencia de esta área. Asimismo, la significancia del grado de diferenciación se evaluó a un nivel del 95 % de confianza, con 1000 réplicas jackknife con 75 % de reemplazo, siguiendo la rutina de McCormack *et al.* (2010). Si el valor de diferenciación observado en un eje resulta ser mayor que la distribución nula de divergencia del área de calibración, se considera que ese eje del nicho está conservado entre las especies analizadas. Por el contrario, se considera como divergente a un eje del nicho si los valores de diferenciación son mayores y significativamente diferentes que la distribución nula de divergencia del área de calibración. Finalmente se calculó la correlación entre los ejes extraídos con la longitud y la latitud, para conocer la relación del ambiente con el espacio geográfico.

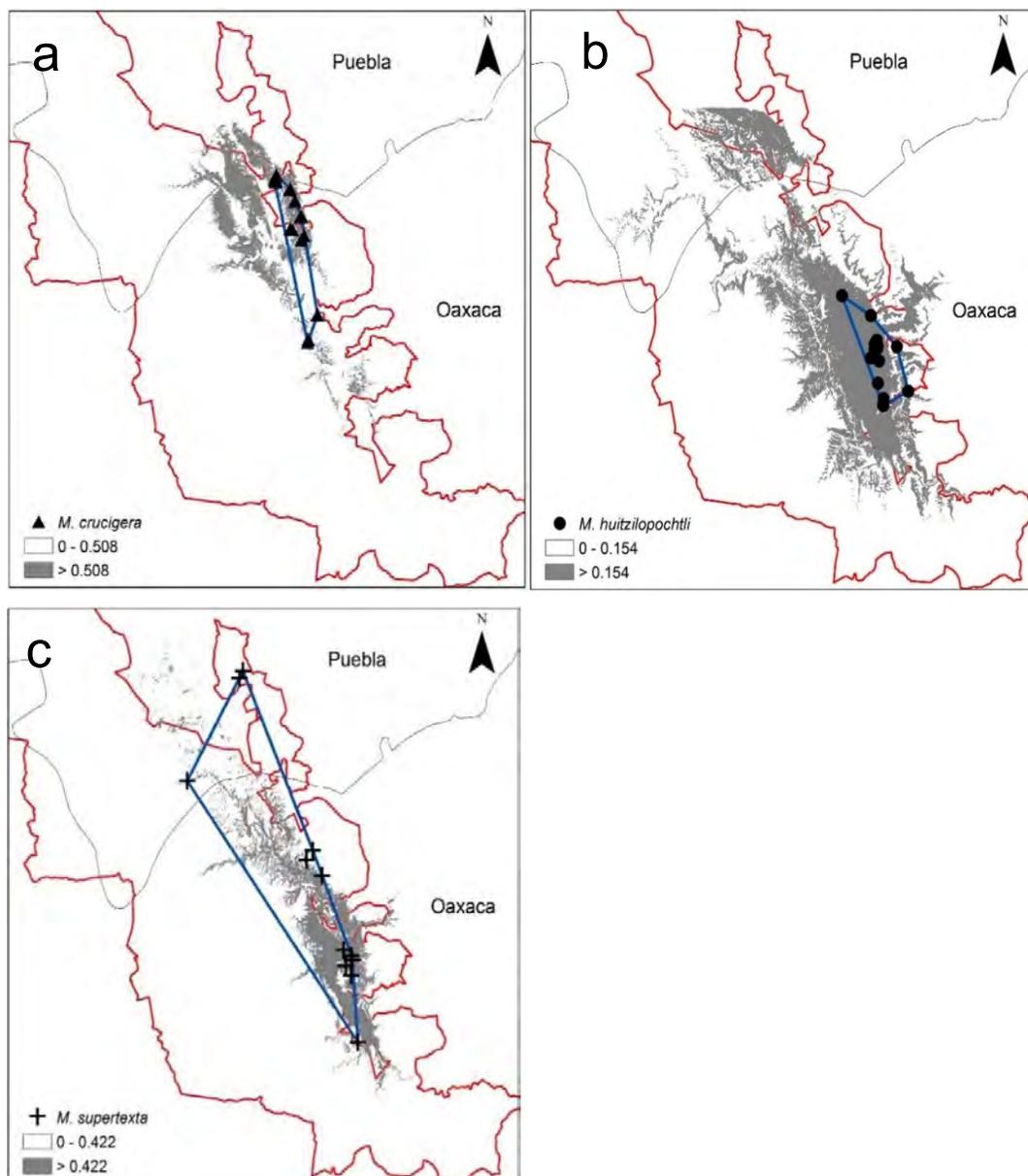


Fig. 15. Áreas de calibración utilizadas para a *M. crucigera* (▲), b *M. huitzilopochtli* (●) y c *M. supertexta* (+). El área sombreada en gris representa el área idónea establecida a partir del punto de corte para cada modelo de nicho ecológico. El polígono en azul delimita la distribución geográfica de cada especie.

5.3.3 Análisis del ambiente edáfico entre especies

La caracterización edáfica de nueve localidades de *M. crucigera*, cuatro de *M. huitzilopochtli* y cinco localidades de *M. supertexta* fue realizada con 18 variables (Figs. 7 – 9; Cuadro 9) por Solórzano *et al.* (2010). Estas variables se analizaron con un PCA y se midió el valor observado de diferenciación entre las especies con la rutina propuesta por McCormack *et al.* (2010). Además, se realizó un segundo PCA con las variables climáticas y topográficas no correlacionadas y las 18 variables edáficas, asimismo se calculó el valor observado de diferenciación entre las especies (McCormack *et al.* 2010).

Cuadro 9. Lista de las 18 variables utilizadas para el análisis edáfico de las tres especies de *Mammillaria* estudiadas (Solórzano *et al.* 2010).

Nombre de la variable (unidades)
1. Densidad Aparente (g/cc)
2. Densidad Real (g/cc)
3. Porosidad (%)
4. Saturación de la humedad (%)
5. Arenas (%)
6. Limos (%)
7. Arcillas (%)
8. Conductividad eléctrica (DS/m)
9. pH (H+)
10. Materia orgánica (%)
11. Carbonatos (%)
12. Capacidad de Intercambio Catiónico (cmol(+)/kg)
13. Calcio (cmol(+)/kg)
14. Magnesio (ppm)
15. Potasio (ppm)
16. Sodio (ppm)
17. Nitrógeno total (%)
18. Fósforo (ppm)

VI. Resultados

6.1 Estructura filogeográfica

6.1.1 Microsatélites

De los 10 loci de microsatélites analizados, seis de ellos amplificaron para las tres especies analizadas. Los cuatro loci monomórficos identificaron un solo alelo para las tres especies. En los loci polimórficos, el locus ccpm2 encontró cuatro alelos y el locus ccpm10 encontró tres, sin embargo, en cada especie se identificaron distintos alelos, lo cual se detalla a continuación.

Mammillaria crucigera. El locus ccpm2 resultó monomórfico y en el locus ccpm10 se registraron dos alelos. A partir de ellos se identificaron dos haplotipos (Fig. 16 a). Las poblaciones de Tilapa, Cerro Blanco e Ixcatlán mostraron el haplotipo H7 y Toxpa y Malinala el haplotipo H1 (Fig. 16 b). El haplotipo H7 fue el más frecuente, pues se registró en 13 individuos de tres poblaciones (Cuadro 10).

Cuadro 10. Nombre asignado a los haplotipos encontrados y su proporción en cada población de *M. crucigera*. El número de individuos analizado para cada población se indica entre paréntesis. En la última columna se muestra el número total de individuos analizados para la especie (entre paréntesis) y la proporción de individuos de cada haplotipo.

Haplotipo	Tilapa (5)	Cerro Blanco (3)	Malinala (5)	Toxpa (5)	Ixcatlán (5)	Total (23)
H1	0	0	1	1	0	0.43
H7	1	1	0	0	1	0.57

Los dos haplotipos identificados en las poblaciones de *M. crucigera* mostraron divergencia evolutiva baja, ya que estuvieron separados por solo un paso mutacional (Fig. 16 a). Las cinco poblaciones analizadas de *M. crucigera* no mostraron estructura filogeográfica significativa ($N_{ST} = 1$, $pN_{ST} = 1$, $p > 0.05$).

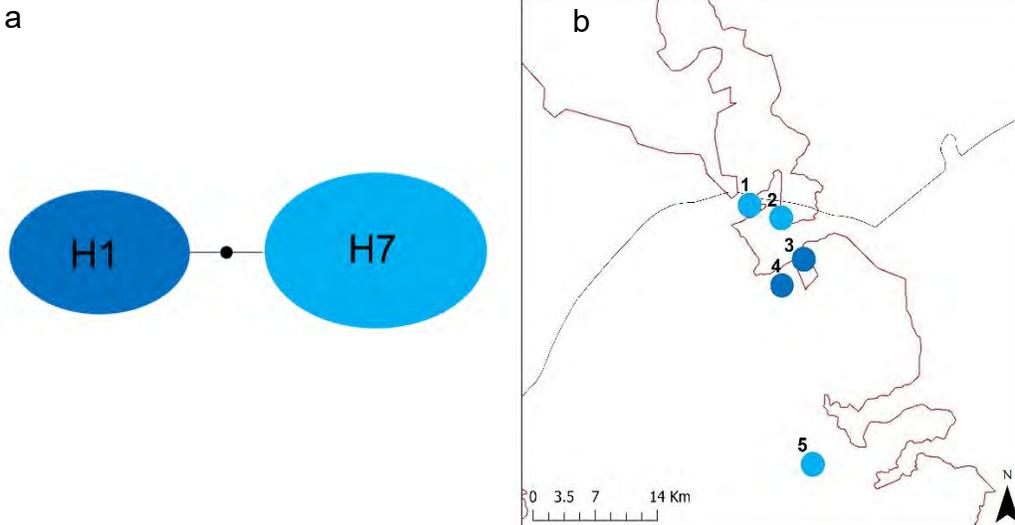


Fig. 16. a. Red de haplotipos de microsatélites de cloroplasto obtenida para los 23 individuos analizados de *M. crucigera*. El haplotipo H7 (N = 13) fue más frecuente que H1 (N = 10). b. Poblaciones en las que se distribuyen cada uno de los haplotipos identificados por su color. Los números señalan a las poblaciones, 1 - Tilapa, 2 - Cerro Blanco, 3 - Toxpa, 4 - Malinala y 5 -Ixcatlán.

Mammillaria huitzilopochtli. En el locus *ccpm2* se registraron tres alelos y en el locus *ccpm10* dos alelos. A partir de ellos se identificaron cinco haplotipos (Cuadro 11). Las poblaciones de Quiotepec, Coyula y Cacahuatal fueron monomórficas, aunque para haplotipos distintos (Cuadro 11). Para el total de las poblaciones, los haplotipos más frecuentes fueron el H2 y H3, identificados en dos poblaciones cada uno (Fig. 17 b).

Cuadro 11. Nombre asignado a los haplotipos encontrados y su proporción en cada población de *M. huitzilopochtli*. El número de individuos analizado para cada población se indica entre paréntesis. En la última columna se muestra el número total de individuos analizados para la especie (entre paréntesis) y la proporción de individuos de cada haplotipo.

Nombre del haplotipo	Ruinas (5)	Quiotepec (5)	Coyula (5)	Cacahuatal (4)	Cuicatlán (5)	Total (24)
H2	0.8	1	0	0	0	0.38
H3	0	0	1	0	0.8	0.38
H4	0	0	0	1	0	0.16
H6	0.2	0	0	0	0	0.04
H7	0	0	0	0	0.2	0.04

Los cinco haplotipos registrados para *M. huitzilopochtli* mostraron que están cercanamente relacionados, los haplotipos H2 y H3 registraron una relación más cercana (Fig. 17 a). Las cinco poblaciones analizadas de *M. huitzilopochtli* no mostraron estructura filogeográfica significativa ($N_{ST} = 0.83$, $p_{NST} = 0.81$, $p > 0.05$).

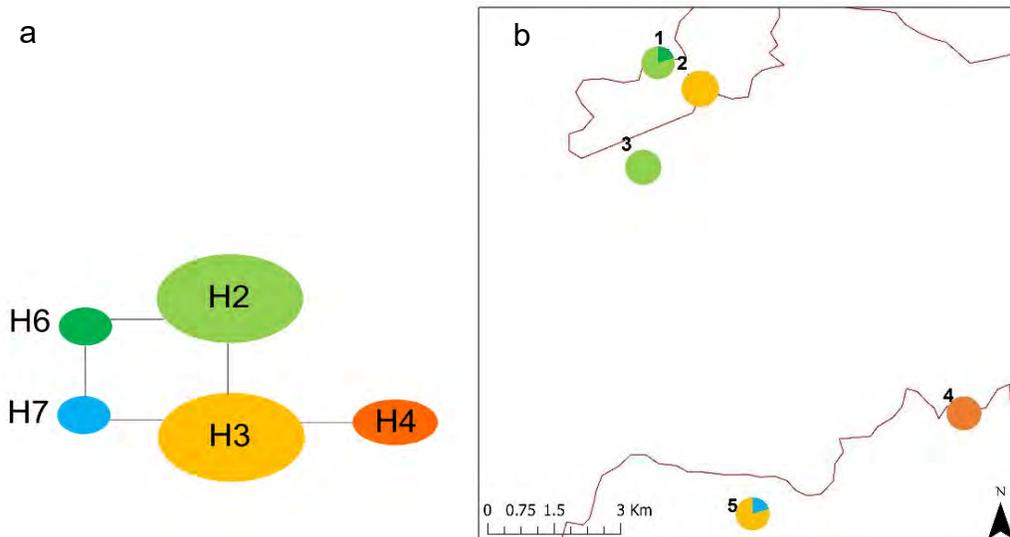


Fig. 17. a. Red de haplotipos de microsatélites de cloroplasto obtenido para los 24 individuos analizados en *M. huitzilopochtli*. Los haplotipos H2 y H3 fueron los haplotipos más frecuentes (N = 9). b. Poblaciones en las que se distribuyen cada uno de los haplotipos identificados por su color. Los números señalan a las poblaciones, 1 - Cuicatlán, 2 - Coyula, 3 - Quiotepec, 4 - Cacahuatal y 5 - Cuicatlán.

En contraste, los 18 individuos analizados de *M. supertexta* registraron solo el haplotipo H5 en todas las 5 poblaciones, lo que no permitió los análisis de estructura filogeográfica.

6.1.2 Regiones de ADN de cloroplasto

6.1.2.1 Nivel de polimorfismo en regiones de ADN de cloroplasto

De las 12 regiones analizadas para las tres especies, solo siete de ellas amplificaron (Cuadro 12). En las tres especies estas siete regiones registraron valores de polimorfismo bajos ($PIC < 2$), además este polimorfismo varió entre regiones y entre especies (Cuadros 12 al 15). Las regiones con el polimorfismo más alto fueron el *petL-psbE* y *rpl16* ($PIC = 1.31$) y con el menor polimorfismo fue el *atpI-atpH* ($PIC = 1.11$), la región *trnQ-5'rps16* no presentó polimorfismo ($PIC = 0$). El número de haplotipos varió por región desde uno hasta siete (Cuadro 12). A continuación, se detallan los resultados para cada una de las tres especies.

Cuadro 12. Variación en los niveles de polimorfismo, donde N es el total de individuos por región analizados para las tres especies. Se indica el número de haplotipos (H) y el valor PIC, que representa las sustituciones (SN), los “indels” (ID), las inversiones (IV) y la longitud de la región en pares de bases (L).

Región	N	H	(SN+ID+IV)/L = PIC
1. <i>atpI-atpH</i>	31	6	(4+3+0)/632 = 1.11
2. <i>petL-psbE</i>	72	7	(7+4+0)/837 = 1.31
3. <i>psbA-trnH</i>	42	2	(1+0+0)/336 = 0.30
4. <i>psbD-trnT</i>	33	6	(3+2+0)/755 = 0.66
5. <i>rpl16</i>	68	7	(6+5+1)/913 = 1.31
6. <i>trnQ-5'rps16</i>	27	1	(0+0+0)/328 = 0.0
7. <i>trnT-trnL</i>	60	4	(1+2+0)/529 = 0.57

Mammillaria crucigera. El polimorfismo más alto se encontró en la región *atpI-atpH* (PIC = 0.63). Por su parte, las regiones que no mostraron polimorfismo fueron *petL-psbE*, *psbA-trnH* y el *trnQ-5'rps16* (PIC = 0) (Cuadro 13). Este nivel de polimorfismo no permitió determinar el número de haplotipos, ya que por ejemplo las regiones *atpI-atpH* y *psbD-trnT* registraron el mismo número de haplotipos, pero la primera región tuvo el doble de PIC (Cuadro 13). La diversidad haplotípica fue menor a 0.6 para cada región y la diversidad nucleotídica fue menor de 0.005.

Cuadro 13. Variación en los niveles de polimorfismo en *M. crucigera*. Para cada región se indica el número de individuos analizados (N), el número de haplotipos (H) y el valor PIC, que representa las sustituciones (SN), los “indels” (ID), las inversiones (IV) y la longitud de la región en pares de bases (L). Además, se muestra la diversidad haplotípica (h_d) y la diversidad nucleotídica (π).

Región (N)	H	(SN+ID+IV)/L = PIC	h_d	π
1. <i>atpI-atpH</i> (11)	3	(2+2+0)/629 = 0.63	0.509	0.00171
2. <i>petL-psbE</i> (15)	1	(0+0+0)/827 = 0	0	0
3. <i>psbA-trnH</i> (15)	1	(0+0+0)/336 = 0	0	0
4. <i>psbD-trnT</i> (11)	3	(0+2+0)/755 = 0.26	0	0
5. <i>rpl16</i> (22)	2	(1+0+0)/908 = 0.11	0.324	0.00036
6. <i>trnQ-5'rps16</i> (10)	1	(0+0+0)/327 = 0	0	0
7. <i>trnT-trnL</i> (21)	2	(0+1+0)/529 = 0.18	0	0

Mammillaria huitzilopochtli. La región con el mayor polimorfismo fue el *petL-psbE* (PIC = 0.71). Por su parte, las regiones *psbA-trnH* y el *trnQ-5'rps16* no mostraron polimorfismo (PIC = 0) (Cuadro 14). Este nivel de polimorfismo se recupera con el número de haplotipos encontrados por región, tal es el caso de las regiones *atpI-atpH* y *trnT-trnL* que mostraron valores similares en el número de haplotipos y de valor PIC (Cuadro 14). La diversidad haplotípica fue menor a 0.7 y la diversidad nucleotídica fue menor a 0.005.

Cuadro 14. Variación en los niveles de polimorfismo en *M. huitzilopochtli*. Para cada región se indica el número de individuos analizados (N), el número de haplotipos (H) y el valor PIC, que representa las sustituciones (SN), los “indels” (ID), las inversiones (IV) y la longitud de la región en pares de bases (L). Además, se muestra la diversidad haplotípica (h_d) y la diversidad nucleotídica (π).

Región (N)	H	(SN+ID+IV)/L = PIC	h_d	π
1. <i>atpI-atpH</i> (10)	2	(0+1+0)/583 = 0.17	0	0
2. <i>petL-psbE</i> (45)	5	(4+2+0)/837 = 0.71	0.622	0.00141
3. <i>psbA-trnH</i> (14)	1	(0+0+0)/336 = 0	0	0
4. <i>psbD-trnT</i> (12)	2	(1+0+0)/755 = 0.13	0.530	0.00069
5. <i>rpl16</i> (23)	3	(2+2+0)/910 = 0.44	0.437	0.00050
6. <i>trnQ-5'rps16</i> (10)	1	(0+0+0)/327 = 0	0	0
7. <i>trnT-trnL</i> (25)	2	(0+1+0)/526 = 0.19	0.368	0.00070

Mammillaria supertexta. Las siete regiones analizadas no registraron polimorfismo en las cinco poblaciones analizadas (Cuadro 15), aunque el intrón *rpl16* mostró un “indel” que delimitó dos haplotipos. Los valores de diversidad haplotípica (h_d) y nucleotídica (π) para todas las regiones fueron de cero.

Cuadro 15. Variación en los niveles de polimorfismo en *M. supertexta*. Para cada región se indica el número de individuos analizados (N), el número de haplotipos (H) y el valor PIC, que representa las sustituciones (SN), los “indels” (ID), las inversiones (IV) y la longitud de la región en pares de bases (L).

Región (N)	H	(SN+ID+IV)/L = PIC
1. <i>atpI-atpH</i> (10)	1	(0+0+0)/586 = 0
2. <i>petL-psbE</i> (15)	1	(0+0+0)/827 = 0
3. <i>psbA-trnH</i> (13)	1	(0+0+0)/336 = 0
4. <i>psbD-trnT</i> (10)	1	(0+0+0)/755 = 0
5. <i>rpl16</i> (23)	2	(0+1+0)/913 = 0.11
6. <i>trnQ-7-5'rps16</i> (8)	1	(0+0+0)/327 = 0
7. <i>trnT-trnL</i> (10)	1	(0+0+0)/526 = 0

6.1.2.2 Relaciones genealógicas en las especies

Mammillaria crucigera. Las regiones *petL-psbE*, *psbA-trnH* y *trnQ-rps16* registraron un solo haplotipo en todas las poblaciones, por lo que no se construyeron sus relaciones genealógicas. Aunque el número de haplotipos en cada una de las cuatro regiones polimórficas fue distinto (Fig. 18), las poblaciones de Tilapa y Cerro Blanco mostraron el mismo haplotipo. La población con la distribución más sureña, Ixcatlán, registró su propio haplotipo para todas las regiones polimórficas, con excepción del *trnT-trnL*. El análisis concatenado de las cuatro regiones no incrementó el número de haplotipos, sin embargo, las relaciones sí cambiaron entre los haplotipos, ya que cada uno representó un haplogrupo distinto (Fig. 19). No obstante, al considerar los “indels” como datos faltantes y no como caracteres informativos, el número de haplotipos disminuyó a uno en las regiones *psbD-trnT* y *trnT-trnL*. En el caso del *atpI-atpH* se registraron solo dos haplotipos. Las poblaciones de Tilapa, Cerro Blanco, Malinala y Toxpa mostraron el mismo haplotipo e Ixcatlán registró un haplotipo distinto. La única región que mantuvo el número y la relación entre los haplotipos fue el intrón *rpl16*.

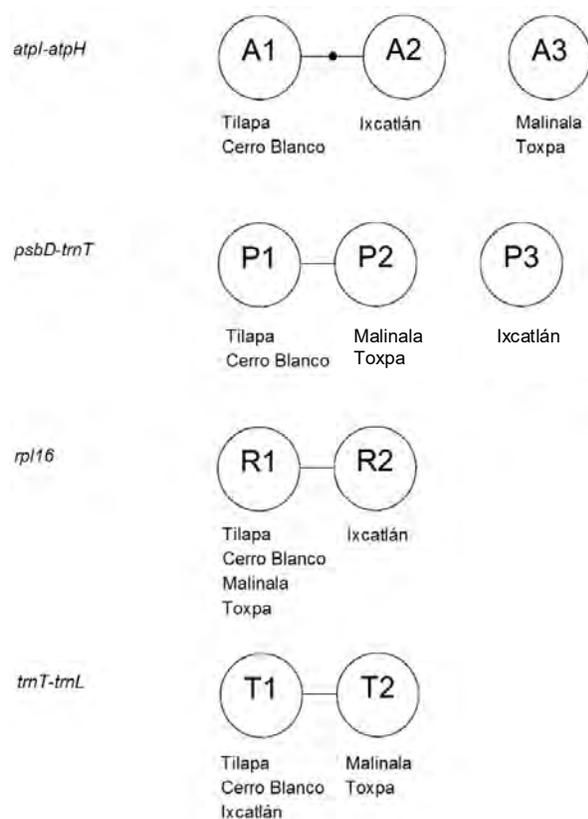


Fig. 18. Red de haplotipos obtenida para cada región analizada en las cinco poblaciones de *M. crucigera*. Para cada haplotipo (círculos) se indican las poblaciones en las que se registró.

A partir de las cuatro regiones de ADN de cloroplasto que mostraron polimorfismo en las poblaciones de *M. crucigera*, se encontró que la diversidad haplotípica (h_d) fue de 0.389 y la diversidad nucleotídica (π) fue de 0.0004. Las cinco poblaciones resultaron monomórficas, Tilapa y Cerro Blanco registraron el haplotipo C1, Toxpa y Malinala el haplotipo C2 e Ixcatlán el haplotipo C3 (Cuadro 16).

Cuadro 16. Nombre asignado a los haplotipos encontrados y su proporción en cada población de *M. crucigera*. El número de individuos analizado para cada población se indica entre paréntesis. En la última columna se muestra el número total de individuos analizados para la especie (entre paréntesis) y la proporción de individuos de cada haplotipo.

Nombre del haplotipo	Tilapa (3)	Cerro Blanco (1)	Malinala (2)	Toxpa (2)	Ixcatlán (3)	Total (11)
C1	1	1	0	0	0	0.36
C2	0	0	1	1	0	0.36
C3	0	0	0	0	1	0.27

Los tres haplotipos representaron un haplogrupo distinto cada uno (Fig. 19 a), debido a que en las regiones *atpI-atpH* y *psbD-trnT* se presentaron indels > 40 pb (Fig. 18). El nivel de flujo génico entre las poblaciones fue de cero, ya que el índice de diferenciación genética fue $G_{ST} = 1$. La distribución geográfica de esta variación genética no registró estructura filogeográfica significativa ($N_{ST} = 1$, $G_{ST} = 1$, $p > 0.05$).

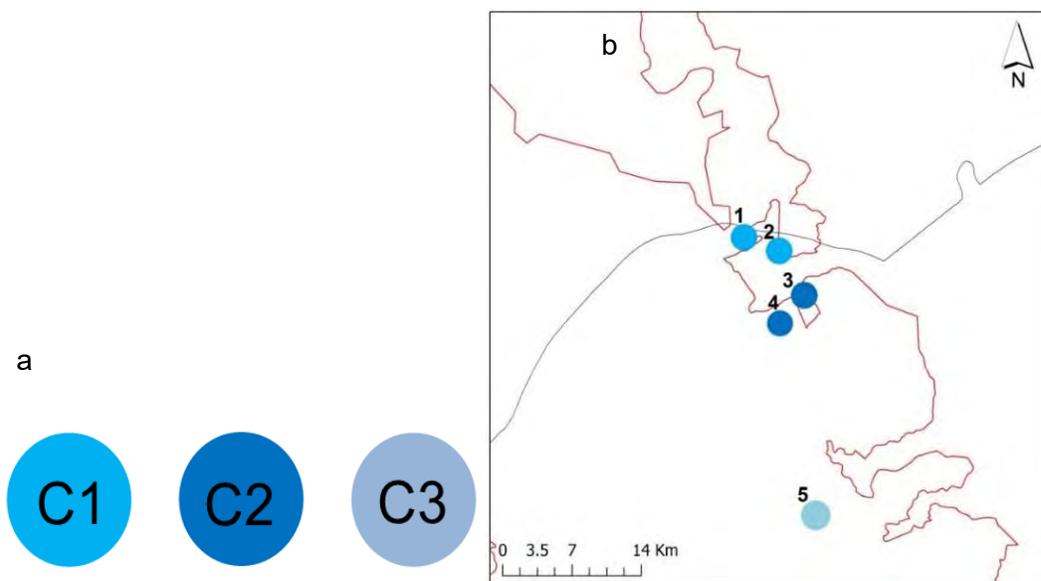


Fig. 19. a. Haplotipos registrados para las cinco poblaciones de *M. crucigera* obtenidos a partir de las regiones concatenadas *atpI-atpH*, *psbD-trnT*, *trnT-trnL* y *rpl16*. b. Poblaciones en las que se distribuyen cada uno de los haplotipos identificados por su color. Los números señalan a las poblaciones, 1 - Tilapa, 2 - Cerro Blanco, 3 - Toxpa, 4 - Malinala y 5 - Ixcatlán.

Mammillaria huitzilopochtli. Las regiones *psbA-trnH* y *trnQ-rps16* mostraron un solo haplotipo en todas las poblaciones, por lo que no se construyeron sus relaciones genealógicas. En las cinco regiones que resultaron polimórficas el número de haplotipos y las relaciones genealógicas entre las poblaciones fueron distintos (Fig. 20). Las regiones concatenadas recuperan el número de haplotipos registrados en el espaciador intergénico *petL-psbE*, pero la divergencia entre los haplotipos es mayor (Fig. 21). Sin embargo, al considerar los “indels” como datos faltantes, el número de haplotipos disminuye a uno en las regiones *atpI-atpH* y *trnT-trnL*. En la región *petL-psbE*, el haplotipo raro E3 forma parte del haplotipo E4, en tanto que en el intrón *rpl16* se mantiene el número de haplotipos, pero la divergencia entre los haplotipos L1 y L2 es menor (solo las separa un paso mutacional). En la región *psbD-trnT* los haplotipos y la divergencia entre éstos se mantienen.

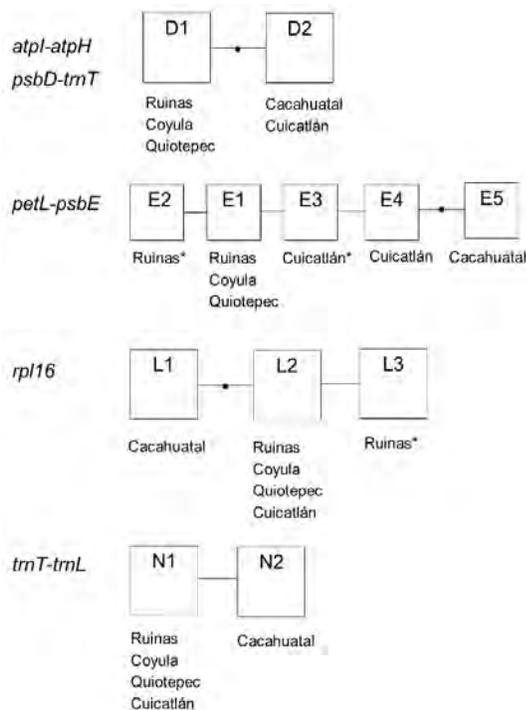


Fig. 20. Red de haplotipos obtenida para cada región analizada en *M. huitzilopochtli*. Para cada haplotipo se indican las poblaciones en las que se registró, el asterisco indica que ese haplotipo se documentó en un solo individuo de esa población.

Las cinco poblaciones mostraron un valor de diversidad haplotípica (h_d) de 0.8 y un valor de diversidad nucleotídica (π) de 0.0009. El haplotipo H1 se registró en tres poblaciones y el resto de los haplotipos en una sola población (Cuadro 17). En la población de Ruinas se registraron dos haplotipos, siendo el haplotipo H2 exclusivo de esta población y el haplotipo H1 compartido con Coyula y Quiotepec. Los haplotipos documentados en Cuicatlán fueron únicos para esta población. Los individuos de Cacahuatal mostraron el haplotipo H5 (Fig. 21).

Cuadro 17. Nombre asignado a los haplotipos encontrados y su proporción en cada población de *M. huitzilopochtli*. El número de individuos analizado para cada población se indica entre paréntesis. En la última columna se muestra el número total de individuos analizados para la especie (entre paréntesis) y la proporción de individuos de cada haplotipo.

Nombre del haplotipo	Ruinas (3)	Quiotepec (1)	Coyula (1)	Cacahuatal (3)	Cuicatlán (3)	Total (11)
H1	0.7	1	1	0	0	0.36
H2	0.3	0	0	0	0	0.09
H3	0	0	0	0	0.7	0.18
H4	0	0	0	0	0.3	0.09
H5	0	0	0	1	0	0.27

Tanto las poblaciones del norte, como Cuicatlán están más relacionadas con Cacahuatal (Fig. 21). Sin embargo, no existe tal relación entre Cuicatlán y Cacahuatal. La distribución geográfica de la variación genética de las cinco poblaciones analizadas mostró una estructura filogeográfica no significativa ($N_{ST} = 0.922$, $G_{ST} = 0.733$, $p > 0.05$).

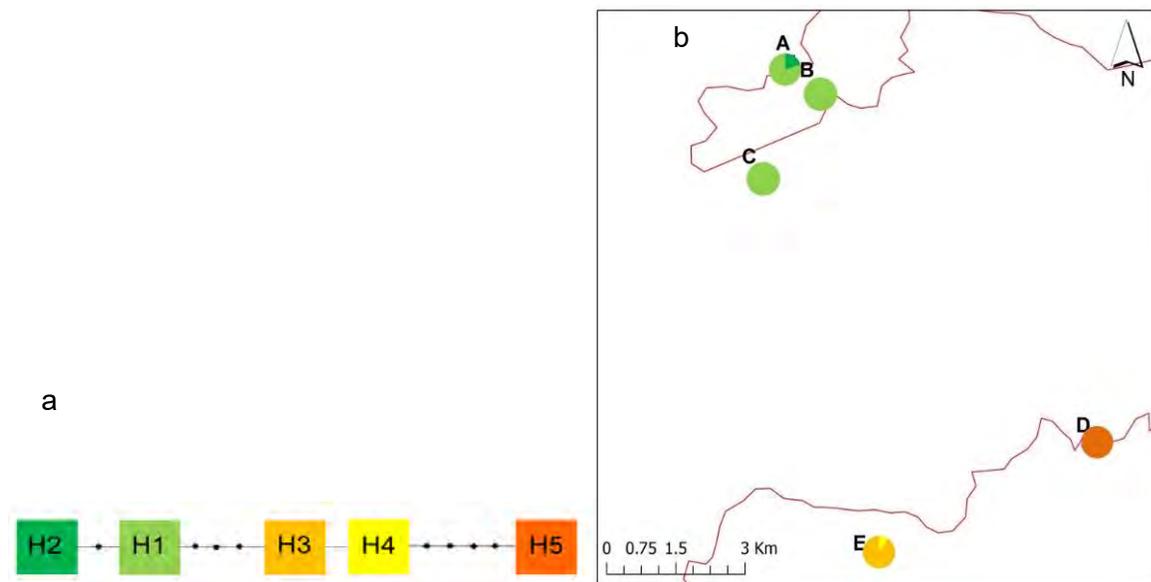


Fig. 21. a. Red de haplotipos de los individuos de cinco poblaciones de *M. huitzilopochtli* obtenida a partir de las regiones concatenadas. *atpI-atpH*, *petL-psbE*, *psbD-trnT*, *trnT-trnL* y *rpl16*. b. Poblaciones en las que se distribuyen cada uno de los haplotipos identificados por su color. Los números señalan a las poblaciones, 1 - Cuicatlán, 2 - Coyula, 3 - Quiotepec, 4 - Cacahuatal y 5 - Cuicatlán.

Mammillaria supertexta. Los análisis filogeográficos entre las poblaciones de esta especie no se llevaron a cabo debido a que mostraron un nivel de polimorfismo de cero, solo el intrón *rpl16* delimitó dos haplotipos. En esta región, las poblaciones de Comulco, Y-Quiotepec, Puente y Escoba mostraron el haplotipo S1 y la población de Lucía el haplotipo S2.

6.1.2.3 Relaciones filogeográficas

Los resultados de las relaciones filogeográficas entre las especies de *Mammillaria* analizadas no fueron concordantes entre las seis regiones analizadas (Fig. 22). La región *trnQ-rps16* no registró variación entre las tres especies de *Mammillaria*. Por su parte, en la región *psbA-trnH* las especies *M. crucigera* y *M. supertexta* mostraron el mismo haplotipo, en tanto que en la región *trnT-trnL*, *M. supertexta* mostró uno de los haplotipos registrados para *M. huitzilopochtli*. En el resto de las tres regiones de ADN de cloroplasto las especies no compartieron haplotipos (Fig. 22).

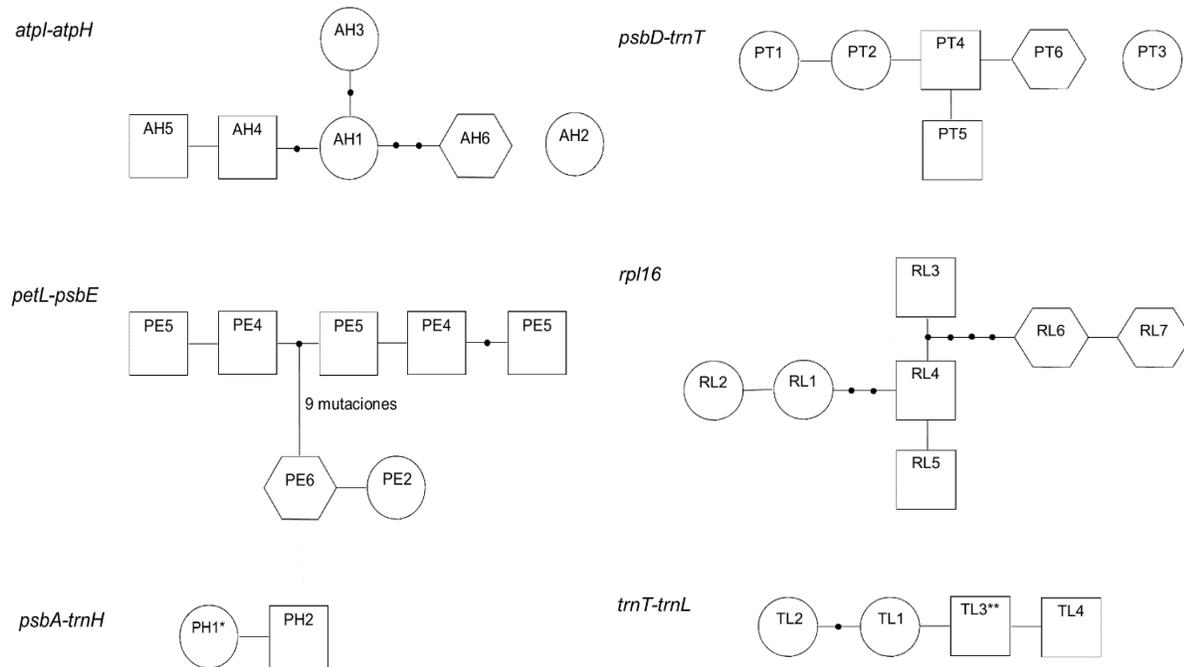


Fig. 22. Red de haplotipos obtenida para cada región en las especies de *Mammillaria* analizadas. *M. crucigera* (○), *M. huitzilopochtli* (□) y *M. supertexta* (⬡). * En la región *psbA-trnH* el haplotipo PH1 se registró en las especies *M. crucigera* y *M. supertexta* ** En la región *trnT-trnL* el haplotipo TL3 se registró *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta*.

En las seis regiones concatenadas cada especie registró sus propios haplotipos (Fig. 23). Los haplotipos de *M. crucigera* y *M. supertexta* mostraron una relación evolutiva más cercana, ya que mostraron un número menor de mutaciones respecto a *M. huitzilopochtli* (Fig. 23).

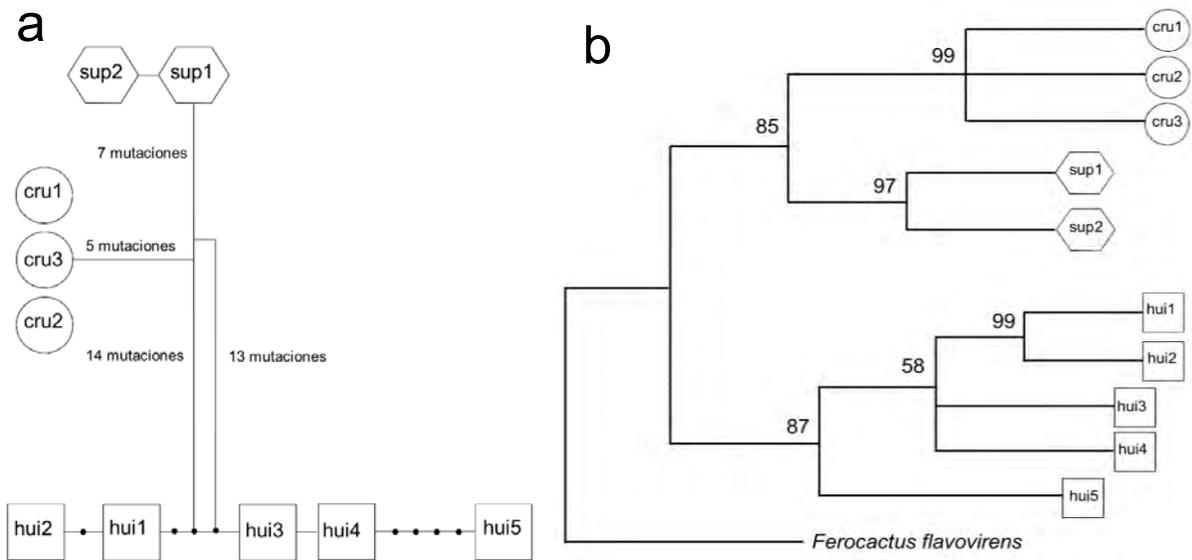


Fig. 23. Relaciones genealógicas entre los haplotipos de *M. crucigera* (cru1 – cru3), *M. huitzilopochtli* (hui1 – hui5) y *M. supertexta* (sup1 y sup2), obtenidos a partir de las regiones concatenadas *atpI-atpH*, *petL-psbE*, *psbA-trnH*, *psbD-trnT*, *trnT-trnL* y *rpl16*. a. Red de parsimonia estadística. Los puntos indican una mutación. b. Árbol filogenético de Parsimonia, los valores de bootstrap ≥ 50 se muestran por encima de las ramas.

Con respecto a las relaciones genealógicas entre las especies analizadas en esta tesis y las demás especies de la serie Supertextae, la filogenia obtenida mostró que es un grupo monofilético con soporte moderado (bootstrap 78 %; Figs. 24 y 25). Los resultados de este trabajo mostraron una agrupación de la serie Supertextae distinta a la documentada por Butterworth y Wallace (2004). El primer grupo lo conformaron *M. albilanata*, *M. haageana* y *M. supertexta*, mientras que el segundo grupo lo representaron *M. crucigera*, *M. dixanthocentron* y *M. huitzilopochtli*. Lo anterior se debe a que en el intrón *rpl16* se registró una inversión pequeña de 46 pb en las especies *M. crucigera*, *M. dixanthocentron* y *M. huitzilopochtli* (Fig. 26).

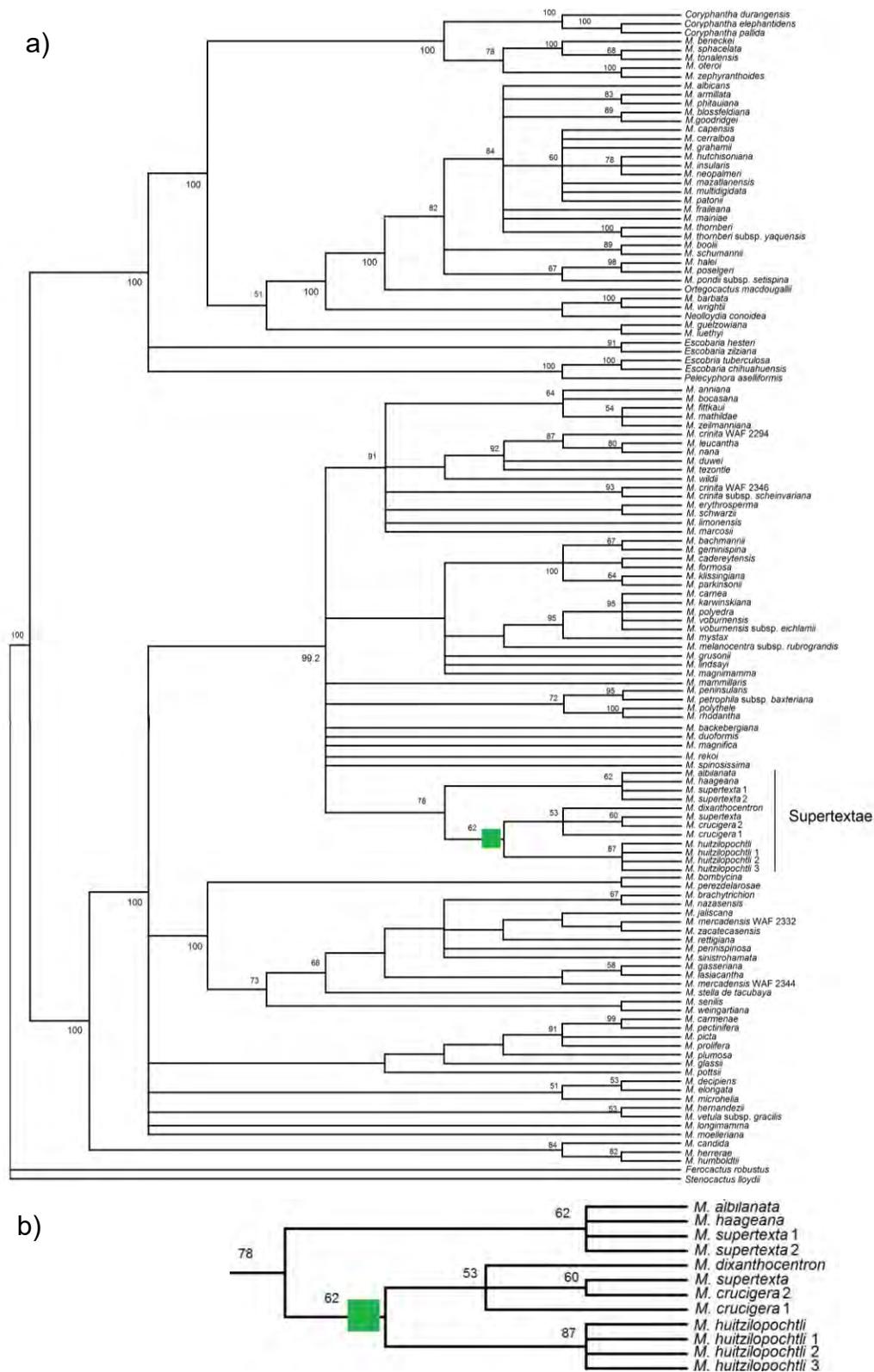


Fig. 24. a) Árbol de consenso estricto de 1000 árboles más parsimoniosos a partir del intrón *rpl16* y del espaciador intergénico *psbA-trnH*. Los valores de soporte bootstrap mayores a 50 % se muestran encima de las ramas y el porcentaje de soporte de mayoría se muestra debajo de las ramas. Las terminales de *M. crucigera* 1 y 2, *M. huitzilopochtli* 1 – 3 y *M. superexta* 1 y 2 indican muestras generadas en esta tesis. En verde se marca la inversión encontrada con el intrón *rpl16*. La muestra identificada por Butterworth y Wallace (2004) como *M. superexta* se agrupa con *M. crucigera* 2 (población de Ixcatlán).

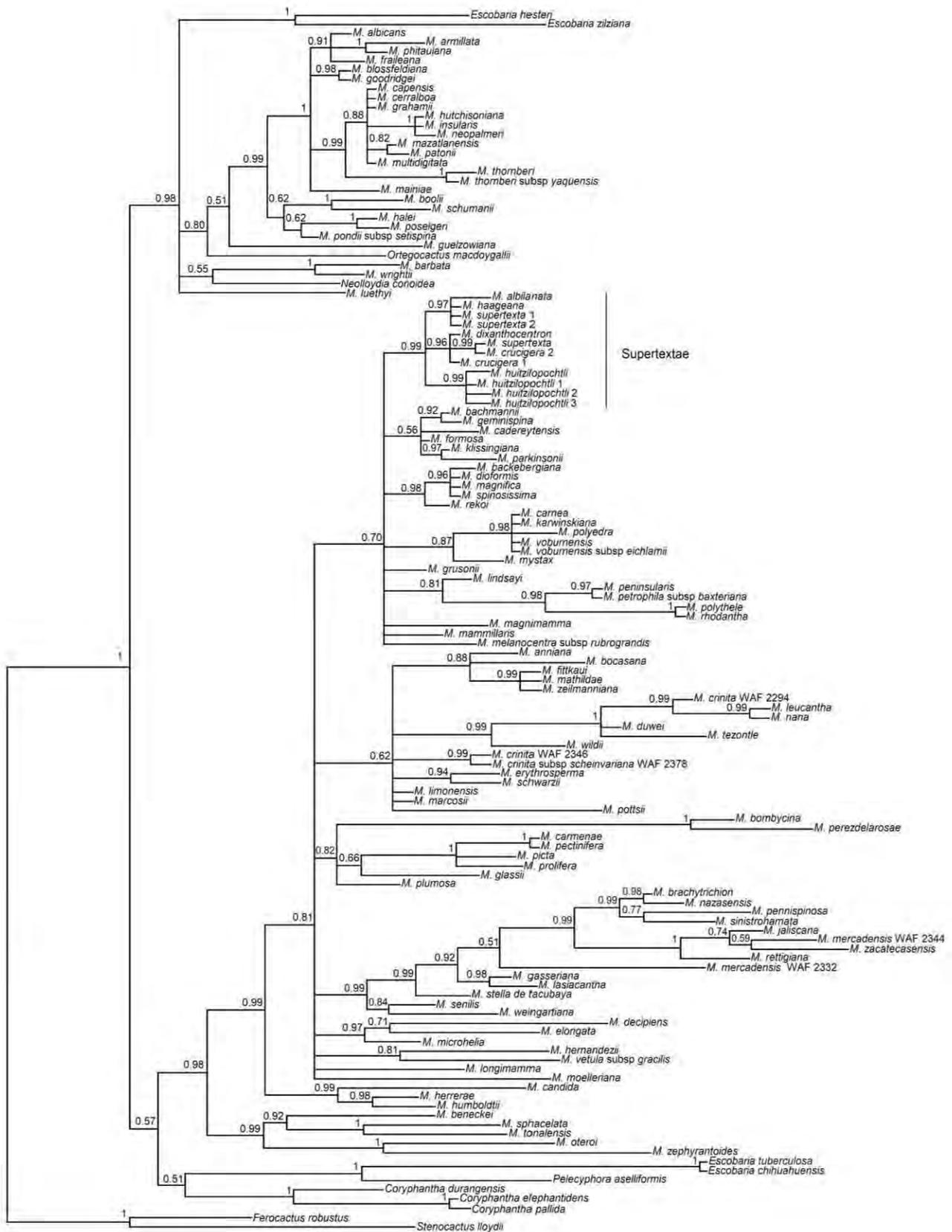


Fig. 25. Árbol de mayoría obtenido por inferencia bayesiana, a partir del intrón *rp16* y del espaciador intergénico *psbA-trnH*. Los valores de probabilidad posterior mayores a 0.5 se muestran encima de las ramas. Las terminales de *M. crucigera* 1 y 2, *M. hutzilopochtli* 1 – 3 y *M. supertexta* 1 y 2 indican muestras generadas en esta tesis.

En esta tesis se utilizaron muestras de cinco poblaciones distintas de *M. supertexta*, por lo que se consideró como un error de identificación a la especie referida como *M. supertexta* por Butterworth y Wallace (2004).

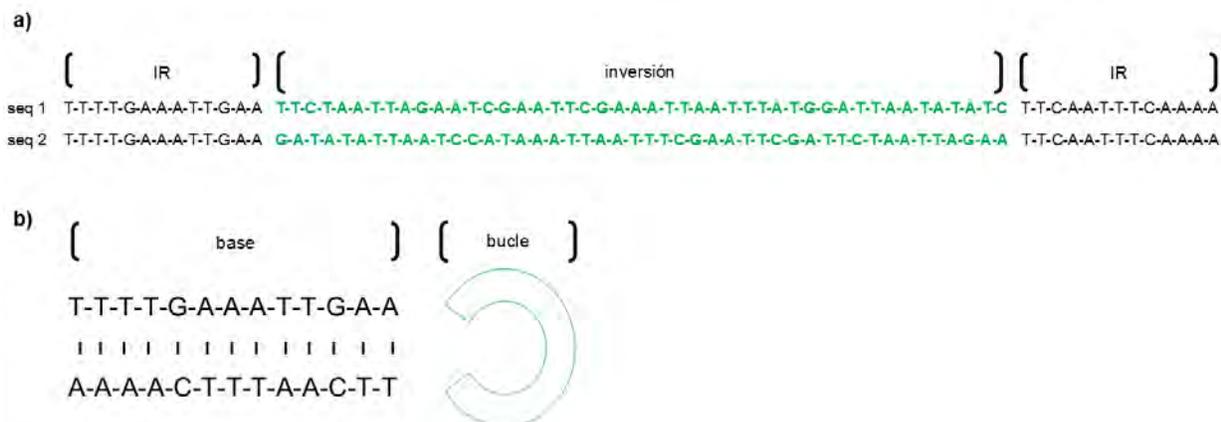


Fig. 26. Inversión registrada en el intrón *rpl16*. a) seq 1 indica la secuencia de las especies *M. crucigera*, *M. dixanthocentron* y *M. huitzilopochtli*, y seq 2 indica las muestras de *M. albilanata*, *M. haageana* y *M. supertexta*. b) estructura tipo “hairpin”, flanqueada por IR, que representan la base del bucle formado.

6.2 Diferenciación del nicho ecológico

6.2.1 Características y modelos del nicho ecológico

Mammillaria crucigera. Las variables de temperatura mostraron una variación menor que las de precipitación. La temperatura máxima del mes más cálido (bio5), la oscilación anual de la temperatura (bio7) y la precipitación del trimestre más cálido (bio18), contribuyeron de manera similar a la elaboración del modelo de esta especie (Cuadro 18).

Cuadro 18. Caracterización del nicho ecológico de *M. crucigera*. Se indican los valores mínimos y máximos de cada variable y entre paréntesis el promedio seguido de la desviación estándar. En la última columna se muestra el porcentaje de contribución de cada variable en la elaboración del modelo de nicho ecológico.

Variable (unidad)	Varianza (promedio \pm D. E.)	Contribución al modelo
Temperatura promedio anual ($^{\circ}$ C)	22.96 - 24.62 (23.54 \pm 0.45)	
Oscilación diaria de la temperatura ($^{\circ}$ C)	14.09 - 15.01 (14.79 \pm 0.22)	
Isotermalidad ($^{\circ}$ C)	0.58 - 0.61 (0.60 \pm 0.01)	5.8
Estacionalidad de la temperatura (CV)	0.79 - 0.83 (0.80 \pm 0.01)	39.6
Temperatura máxima promedio del mes más cálido ($^{\circ}$ C)	35.29 - 36.88 (35.91 \pm 0.49)	14.6
Temperatura mínima promedio del mes más frío ($^{\circ}$ C)	10.71 - 12.55 (11.31 \pm 0.49)	
Oscilación anual de la temperatura ($^{\circ}$ C)	24.33 - 24.82 (24.60 \pm 0.12)	16.5
Temperatura promedio del trimestre más lluvioso ($^{\circ}$ C)	24.15 - 25.91 (24.73 \pm 0.48)	
Temperatura promedio del trimestre más seco ($^{\circ}$ C)	20.45 - 21.83 (20.96 \pm 0.39)	
Temperatura promedio del trimestre más cálido ($^{\circ}$ C)	25.58 - 27.33 (26.20 \pm 0.49)	
Temperatura promedio del trimestre más frío ($^{\circ}$ C)	19.77 - 21.22 (20.30 \pm 0.40)	
Precipitación anual (mm)	465.07 - 797.05 (572.54 \pm 74.13)	
Precipitación del mes más lluvioso (mm)	25.11 - 40.87 (30.10 \pm 3.46)	
Precipitación del mes más seco (mm)	0.79 - 1.93 (1.12 \pm 0.26)	
Estacionalidad de la precipitación (%)	96.84 - 100.93 (98.53 \pm 1.21)	
Precipitación del trimestre más lluvioso (mm)	264.68 - 465.33 (330.70 \pm 44.01)	
Precipitación del trimestre más seco (mm)	12.91 - 27.01 (17.24 \pm 3.41)	
Precipitación del trimestre más cálido (mm)	82.17 - 155.97 (118.98 \pm 14.80)	19.6
Precipitación del trimestre más frío (mm)	14.32 - 29.60 (19.16 \pm 3.71)	

El valor de AUC para el modelo de nicho ecológico fue de 0.987, lo que representó un buen ajuste (Fig. 27). Los valores de idoneidad de los registros de presencia de esta especie variaron entre 0.19 y 0.85, con un promedio de 0.56. Este modelo predijo áreas donde no se tienen registros de presencia de esta especie con valores de idoneidad relativamente altos (0.5). Además, el modelo de *M. crucigera* predijo con idoneidad moderada (0.26 – 0.64) áreas de la distribución geográfica de *M. huitzilopochtli*.

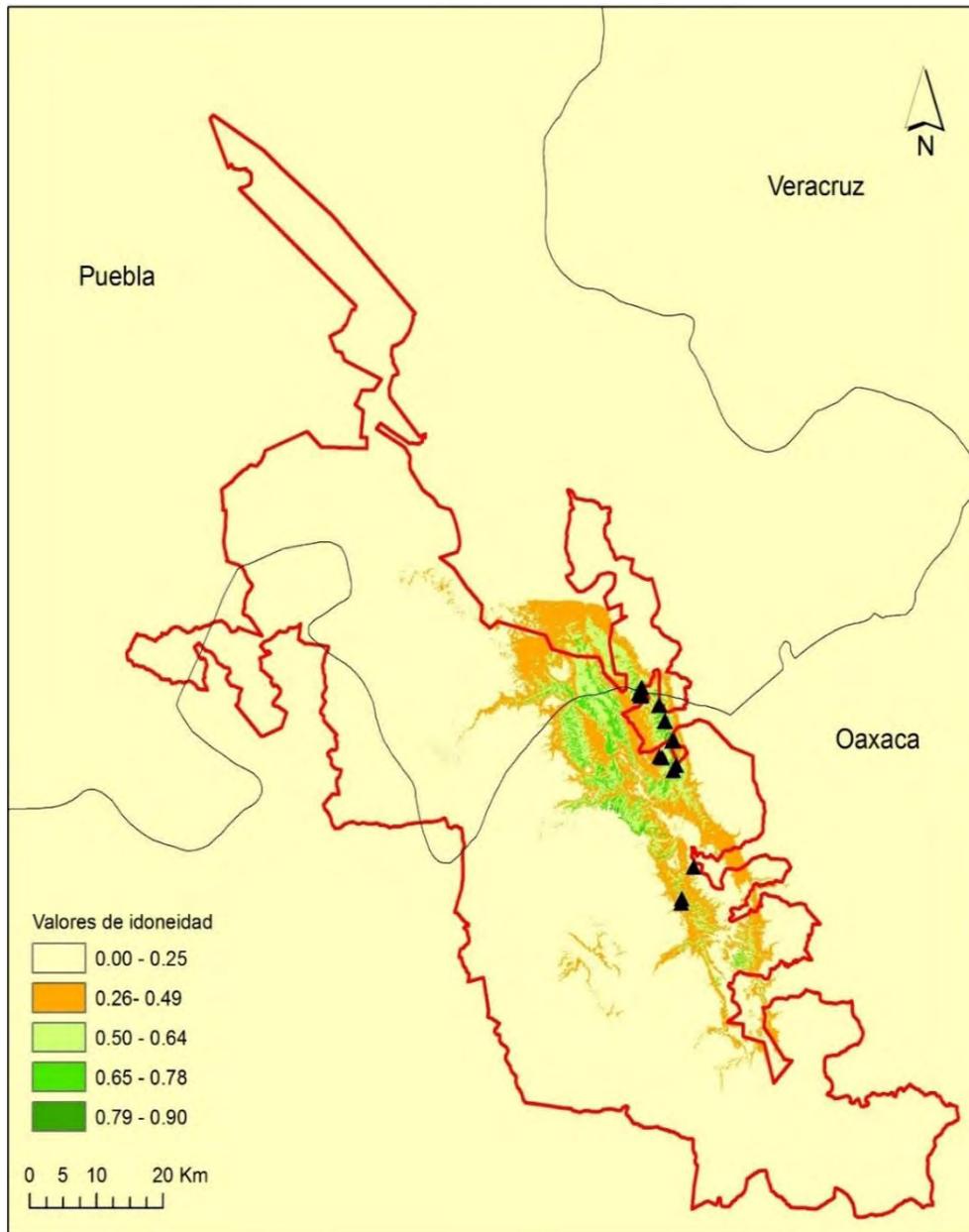


Fig. 27. Modelo de nicho ecológico de *M. crucigera*, obtenido a partir de 17 registros de presencia (▲). En rojo se muestra el polígono de la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán (RBTC). La escala de colores señala el valor de idoneidad, en tonalidades más bajas se indican las áreas menos idóneas y en tonalidades más altas las áreas con mayor idoneidad.

Mammillaria huitzilopochtli. Las variables de temperatura registraron una variación menor que las de precipitación. Además de la estacionalidad de la temperatura (bio4), la temperatura promedio del mes más cálido (bio5), la oscilación anual de la temperatura (bio7) y la precipitación del trimestre más cálido (bio18), contribuyeron a la elaboración del modelo de *M. huitzilopochtli* (Cuadro 19).

Cuadro 19. Caracterización del nicho ecológico de *M. huitzilopochtli*. Se indican los valores mínimos y máximos de cada variable y entre paréntesis el promedio seguido de la desviación estándar. En la última columna se muestra el porcentaje de contribución de cada variable en la elaboración del modelo de nicho ecológico.

Variable (unidad)	<i>M. huitzilopochtli</i>	Contribución al modelo
Temperatura promedio anual (°C)	18.36 - 25.03 (24.30 ± 1.50)	
Oscilación diurna de la temperatura (°C)	12.60 - 14.36 (13.67 ± 0.38)	
Isotermalidad (°C)	0.57 - 0.62 (0.58 ± 0.15)	
Estacionalidad de la temperatura (CV)	0.64 - 0.85 (0.82 ± 0.05)	73.0
Temperatura máxima promedio del mes más cálido (°C)	28.92 - 37.51 (36.36 ± 1.90)	14.7
Temperatura mínima promedio del mes más frío (°C)	8.63 - 13.30 (12.59 ± 1.01)	
Oscilación anual de la temperatura (°C)	20.30 - 24.55 (23.77 ± 0.94)	14.5
Temperatura promedio del trimestre más lluvioso (°C)	19.08 - 26.33 (25.55 ± 1.64)	
Temperatura promedio del trimestre más seco (°C)	17.15 - 22.40 (21.55 ± 1.12)	
Temperatura promedio del trimestre más cálido (°C)	20.64 - 27.86 (26.99 ± 1.62)	
Temperatura promedio del trimestre más frío (°C)	15.91 - 21.61 (20.97 ± 1.27)	
Precipitación anual (mm)	546.81 - 1269.70 (863.10 ± 175.22)	
Precipitación del mes más lluvioso (mm)	28.92 - 66.57 (45.07 ± 9.28)	
Precipitación del mes más seco (mm)	1.03 - 3.71 (2.178 ± 0.68)	
Estacionalidad de la precipitación (%)	93.18 - 101.35 (96.49 ± 1.88)	
Precipitación del trimestre más lluvioso (mm)	324.58 - 734.46 (504.05 ± 99.99)	
Precipitación del trimestre más seco (mm)	14.61 - 53.19 (30.97 ± 9.36)	
Precipitación del trimestre más cálido (mm)	91.65 - 387.51 (173.52 ± 66.12)	4.4
Precipitación del trimestre más frío (mm)	16.35 - 59.62 (34.71 ± 10.39)	

El modelo de *M. huitzilopochtli* mostró un ajuste con un valor de AUC de 0.984. Los valores de idoneidad para los registros de presencia de la especie variaron 0.15 y 0.85, con un promedio de 0.69. Las áreas cercanas al área de distribución geográfica registraron valores de relativamente altos (0.5 - 0.75) (Fig. 28). No obstante, los registros de presencia mostraron valores de idoneidad de hasta 0.85.

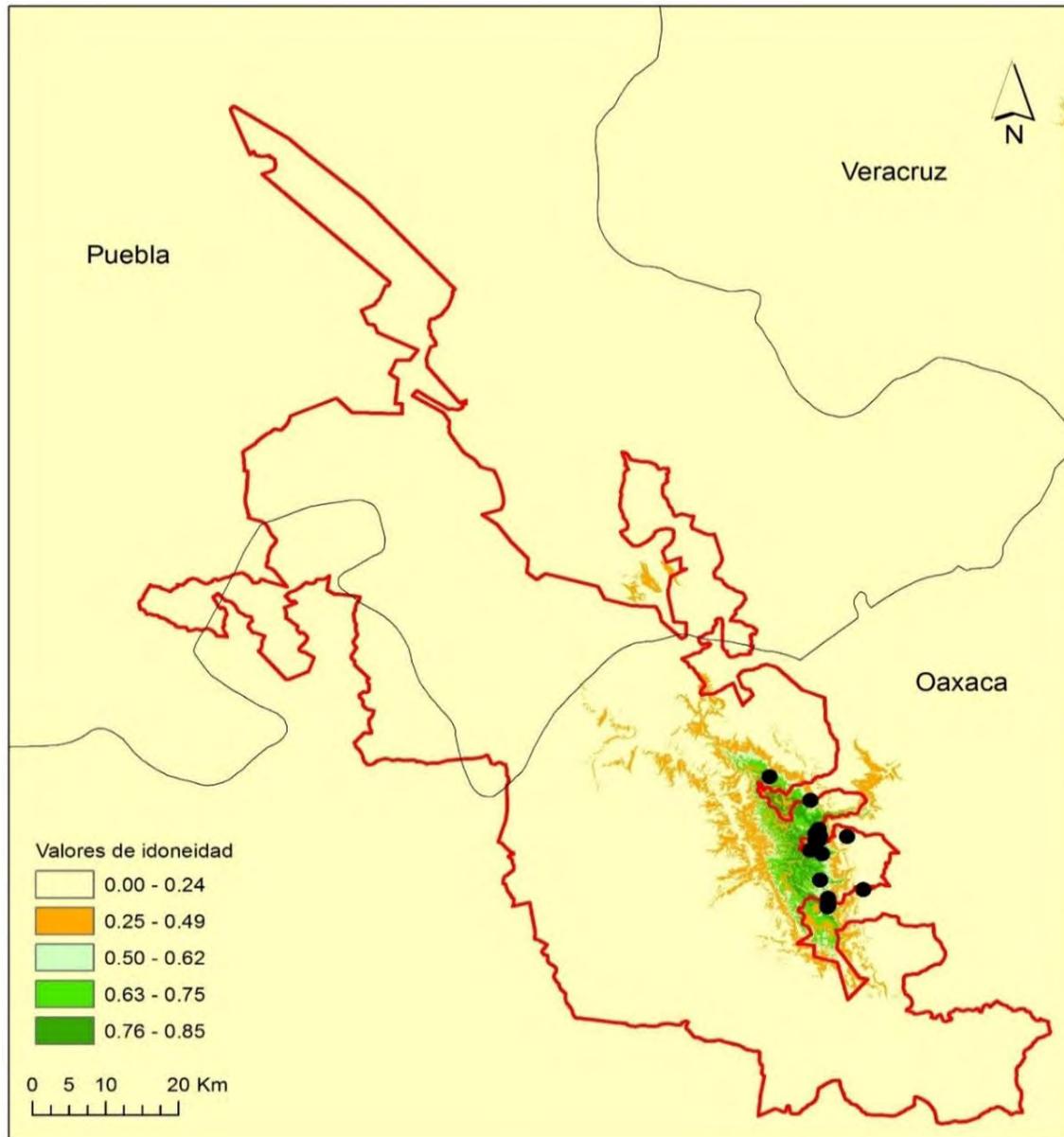


Fig. 28. Modelo de nicho ecológico de *M. huitzilopochtli*, elaborado a partir de 25 registros de presencia (●). En rojo se muestra el polígono de la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán (RBTC). La escala de colores señala el valor de idoneidad, en tonalidades más bajas se indican las áreas menos idóneas y en tonalidades más altas las áreas con mayor idoneidad.

Mammillaria supertexta. Las variables de temperatura mostraron una variación menor que las de precipitación. La precipitación del trimestre más cálido (bio18) y la precipitación del trimestre más frío (bio19) contribuyeron de manera significativa en la elaboración del modelo, además de la estacionalidad de la temperatura (bio4) (Cuadro 20).

Cuadro 20. Caracterización del nicho ecológico de *M. supertexta*. Se indican los valores mínimos y máximos de cada variable y entre paréntesis el promedio seguido de la desviación estándar. En la última columna se muestra el porcentaje de contribución de cada variable en la elaboración del modelo de nicho ecológico.

Variable (unidad)	<i>M. supertexta</i>	Contribución al modelo
Temperatura promedio anual (°C)	21.54 - 25.06 (23.99 ± 1.51)	
Oscilación diurna de la temperatura (°C)	13.43 - 15.99 (14.31 ± 0.65)	
Isotermalidad (°C)	0.57 - 0.63 (0.59 ± 0.02)	
Estacionalidad de la temperatura (CV)	0.78 - 0.84 (0.82 ± 0.02)	75.5
Temperatura máxima promedio del mes más cálido (°C)	33.37 - 37.68 (36.24 ± 1.27)	11.4
Temperatura mínima promedio del mes más frío (°C)	9.76 - 13.32 (11.99 ± 1.18)	
Oscilación anual de la temperatura (°C)	23.61 - 25.53 (24.25 ± 0.49)	
Temperatura promedio del trimestre más lluvioso (°C)	22.92 - 26.43 (25.26 ± 1.13)	
Temperatura promedio del trimestre más seco (°C)	18.95 - 22.19 (21.23 ± 1.05)	
Temperatura promedio del trimestre más cálido (°C)	24.06 - 27.82 (26.68 ± 1.23)	
Temperatura promedio del trimestre más frío (°C)	18.31 - 21.68 (20.67 ± 1.08)	
Precipitación anual (mm)	350.39 - 1217.44 (712.39 ± 225.85)	
Precipitación del mes más lluvioso (mm)	20.47- 63.65 (37.41 ± 11.44)	
Precipitación del mes más seco (mm)	0.39 - 3.49 (1.63 ± 0.82)	
Estacionalidad de la precipitación (%)	93.52 - 101.73 (97.50 ± 2.10)	
Precipitación del trimestre más lluvioso (mm)	194.17 - 704.53 (412.98 ± 134.07)	
Precipitación del trimestre más seco (mm)	7.25 - 49.79 (23.84 ± 10.83)	
Precipitación del trimestre más cálido (mm)	91.69 - 375.31 (164.49 ± 66.65)	3.0
Precipitación del trimestre más frío (mm)	7.58 - 55.49 (26.24 ± 12.16)	7.0

El valor de AUC para el modelo fue de 0.97. Los registros de presencia de la especie mostraron valores de idoneidad entre 0.19 y 0.83, con un promedio de 0.53. Por su parte, el área de la distribución norte de *M. supertexta* se predijo con una idoneidad muy baja (< 0.4) (Fig. 29). No obstante, los registros de la distribución sur de la especie mostraron valores de idoneidad relativamente altos (> 0.7).

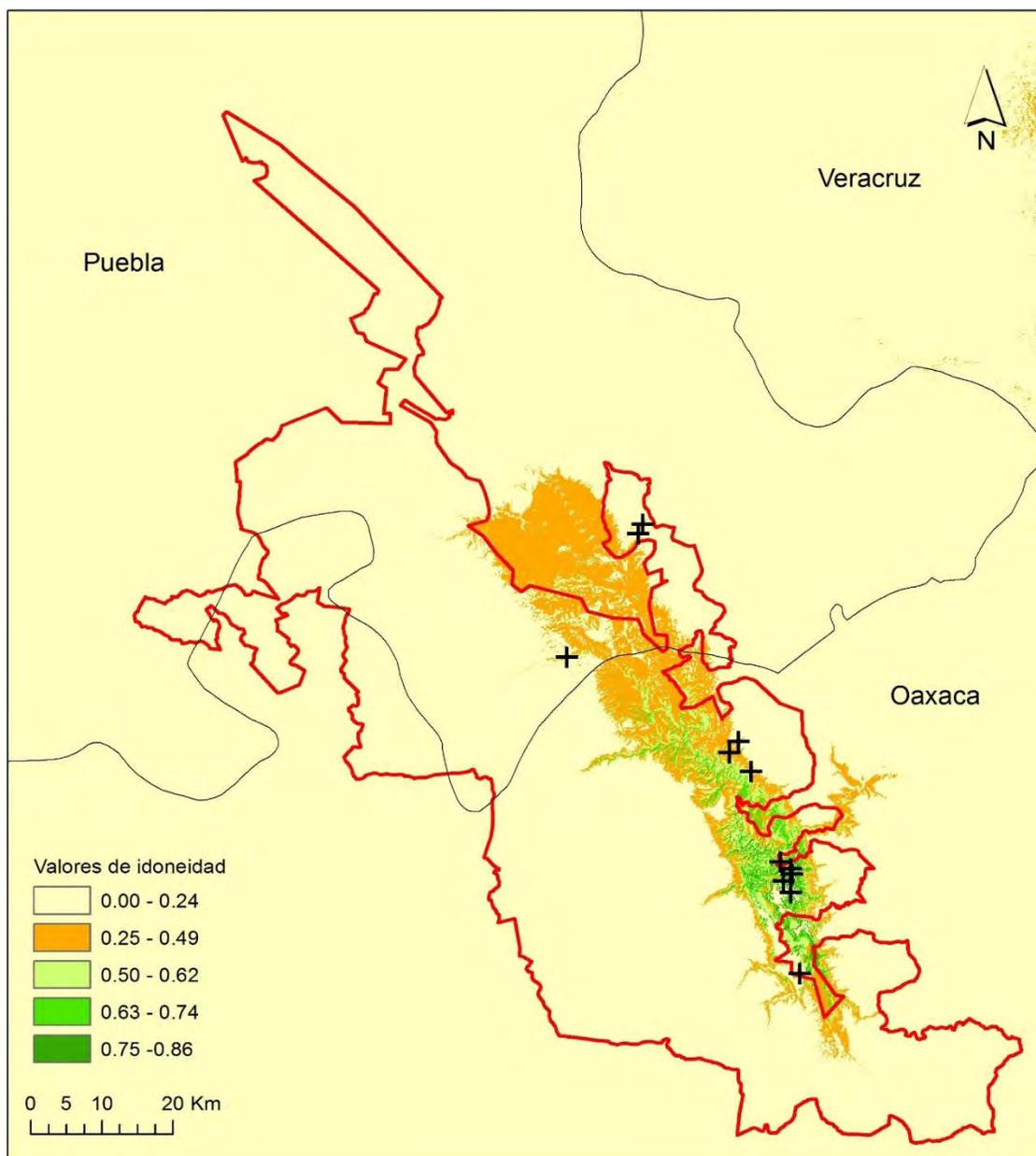


Fig. 29. Modelo de nicho ecológico de *M. supertexta*, obtenido a partir de 13 registros de presencia (+). En rojo se muestra el polígono de la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán (RBTC). La escala de colores señala el valor de idoneidad, en tonalidades más bajas se indican las áreas menos idóneas y en tonalidades más altas las áreas con mayor idoneidad.

6.2.2 El nicho ecológico entre especies cercanamente relacionadas

6.2.2.1 La diferenciación del nicho ecológico basada en modelos

Los índices de superposición de nicho, I y D, mostraron que los modelos de nicho ecológico entre las especies no fueron equivalentes, sino estadísticamente distintos (Cuadro 21).

Cuadro 21. Equivalencia de nicho ecológico entre especies. Con asterisco se muestran los valores de sobreposición de nicho observados representados con I y D, significativamente distintos a los valores percentiles 0.5 y 0.95 de la distribución nula (DN).

Comparación	I observado	DN índice I	D observado	DN índice D
<i>M. crucigera</i> vs <i>M. huitzilopochtli</i>	0.596*	0.822 - 0.964	0.321*	0.601 - 0.818
<i>M. crucigera</i> vs <i>M. supertexta</i>	0.744*	0.833 - 0.939	0.529*	0.558 - 0.759
<i>M. huitzilopochtli</i> vs <i>M. supertexta</i>	0.685*	0.716 - 0.939	0.437*	0.447 - 0.749

La prueba de similitud a partir de los modelos de nicho y de los polígonos de la amplitud de la distribución geográfica de cada especie difirió significativamente (Cuadros 21 y 22). Al utilizar los modelos de nicho como área de calibración, se obtuvo que las diferencias observadas entre los nichos fueron el resultado de las diferencias ambientales de las regiones donde las especies habitan (Cuadro 22). Con excepción de los nichos de *M. crucigera* y *M. supertexta* que mostraron, con el índice I, que los nichos fueron estadísticamente más diferentes de lo que se esperaría por azar.

Cuadro 22. Similitud de nicho ecológico con el área de calibración establecida a partir de los modelos de nicho. Se muestran los valores de sobreposición de nicho observados de I y D y la distribución nula (DN). Las comparaciones donde el valor observado es significativamente distinto ($p < 0.05$) a la distribución nula se muestran con asterisco.

A	B	I observado	Distribución nula I		D observado	Distribución nula D	
			A vs B	B vs A		A vs B	B vs A
<i>M. crucigera</i>	<i>M. huitzilopochtli</i>	0.596	0.509 - 0.621	0.565 - 0.718	0.321	0.294 - 0.422	0.250 - 0.323
<i>M. crucigera</i>	<i>M. supertexta</i>	0.744	0.753 - 0.826*	0.755 - 0.863*	0.529	0.462 - 0.538	0.448 - 0.594
<i>M. huitzilopochtli</i>	<i>M. supertexta</i>	0.685	0.592 - 0.731	0.628 - 0.759	0.437	0.321 - 0.443	0.380 - 0.476

No obstante, al utilizar los polígonos de la distribución geográfica de cada especie como área de calibración, los nichos entre las especies fueron más similares de lo que se esperaría por azar. Es decir, los nichos de las especies muestran conservadurismo (Cuadro 23).

Cuadro 23. Similitud de nicho ecológico con el área de calibración establecida a partir de polígonos de la distribución geográfica de cada especie. Se muestran los valores de sobreposición de nicho observados de I y D y la distribución nula (DN). Las comparaciones donde el valor observado es significativamente distinto ($p < 0.05$) a la distribución nula se muestran con asterisco.

A	B	I observado	Distribución nula I		D observado	Distribución nula D	
			A vs B	B vs A		A vs B	B vs A
<i>M. crucigera</i>	<i>M. huitzilopochtli</i>	0.596	0.179 - 0.277*	0.387 - 0.512*	0.321	0.046 - 0.093*	0.165 - 0.244*
<i>M. crucigera</i>	<i>M. supertexta</i>	0.744	0.199 - 0.288*	0.278 - 0.439*	0.529	0.053 - 0.098*	0.082 - 0.165*
<i>M. huitzilopochtli</i>	<i>M. supertexta</i>	0.685	0.420 - 0.495*	0.285 - 0.417*	0.437	0.187 - 0.234*	0.084 - 0.153*

6.2.2.2 La diferenciación del nicho ecológico basada en análisis multivariados

La comparación de los ejes de nicho independiente mostró que en los cuatro primeros Componentes Principales se retiene el 98 % de la variación ambiental. El primero y el cuarto eje estuvieron correlacionados moderadamente con la latitud y la longitud (Cuadro 24). El tercer eje no estuvo correlacionado con la latitud y la longitud y el segundo fue el más altamente correlacionado con estas dos variables. El conservadurismo o divergencia del nicho ecológico entre las especies analizadas varió dependiendo del eje ambiental analizado.

Cuadro 24. Prueba multivariada de divergencia de nicho ecológico entre las tres especies de *Mammillaria* estudiadas. Para cada comparación se indica si es divergencia (D) o conservadurismo (C) de nicho comparado con la distribución nula mostrada entre paréntesis. Los valores señalados con asterisco indican una significancia $p < 0.05$.

Comparación	PC1	PC2	PC3	PC4
<i>M. crucigera</i> vs <i>M. huitzilopochtli</i>	2.09 D* (0.40, 0.75)	1.61* (1.58, 1.82)	0.01 (0.00, 0.18)	0.53 D* (0.20, 0.32)
<i>M. crucigera</i> vs <i>M. supertexta</i>	1.23 D* (0.43, 0.73)	0.78 D* (0.18, 0.37)	0.42 D (0.13, 0.33)	0.08 C (0.18, 0.25)
<i>M. huitzilopochtli</i> vs <i>M. supertexta</i>	0.86 C (0.94, 1.39)	0.83 C (1.83, 2.11)	0.43 D (0.07, 0.28)	0.61 D (0.41, 0.54)
% de varianza explicada	51.83	28.63	13.56	4.47
Variables con mayor aportación	(Isotermalidad) Estacionalidad de la temperatura Temperatura máxima del mes más cálido	Oscilación anual de la temperatura (Precipitación del trimestre más frío) Temperatura máxima del mes más cálido	Orientación	Precipitación del trimestre más cálido
Correlación con latitud/longitud	-0.33/0.29	0.43/-0.63	0.02/0.04	0.51/-0.52

Comparación del nicho ecológico de *M. crucigera* con *M. huitzilopochtli*. Las especies mostraron divergencia de nicho en los ejes 1 y 4 (Cuadro 24). El eje 1 estuvo relacionado con la estacionalidad de la temperatura y la temperatura máxima del mes más cálido, siendo las localidades de *M. huitzilopochtli* las que registraron una oscilación mayor de la temperatura con respecto a *M. crucigera* (Fig. 30). En el eje 4, que estuvo relacionado con la precipitación del trimestre más cálido, las localidades de *M. huitzilopochtli* mostraron un régimen más alto de precipitación, en relación a *M. crucigera*.

Comparación del nicho ecológico de *M. crucigera* con *M. supertexta*. Los nichos de estas especies mostraron divergencia en el eje 1 y 2. Las localidades de *M. supertexta* registraron una estacionalidad de la temperatura mayor que a las localidades de *M. crucigera*. El eje 2 estuvo relacionado con la oscilación anual de la temperatura, la precipitación del trimestre más frío y la temperatura máxima del mes más cálido. Las localidades de *M. crucigera* registraron un régimen de precipitación más estrecho que las de *M. supertexta*. El eje 3, relacionado con la orientación de la ladera, mostró una divergencia no significativa entre los nichos de estas cactáceas.

Comparación del nicho ecológico de *M. huitzilopochtli* con *M. supertexta*. En los dos primeros ejes del nicho estas especies registraron conservadurismo y en el eje 3 y 4 una divergencia no significativa.

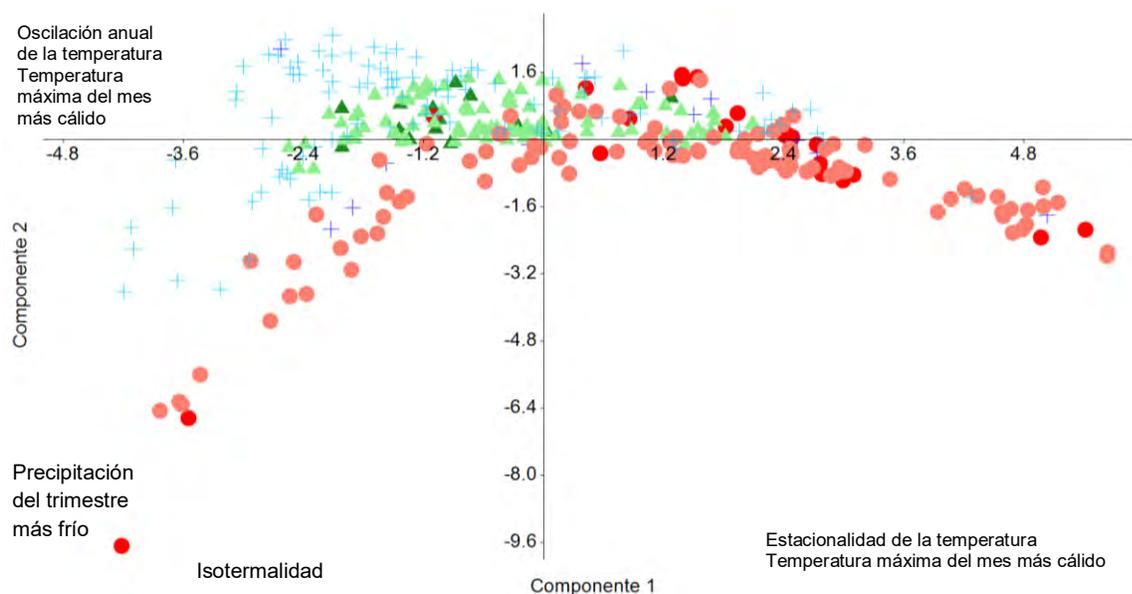


Fig. 30. Análisis de Componentes Principales de las variables climáticas entre *M. crucigera* (▲), *M. huitzilopochtli* (●) y *M. supertexta* (+). Los CP 1 y 2 retienen el 80.63 % de la variación, en tonos claros se señalan los puntos observados para cada especie y en tonos oscuros los valores de los puntos del área de calibración.

6.2.3 Diferenciación del espacio edáfico entre especies

Los cuatro primeros Componentes Principales de las 18 variables edáficas recuperaron el 71.27 % de la variación. El PC2 y 4 registraron una correlación mayor con la latitud y la longitud. El PC1 explicó el 33.34 % de la variación. Las variables con mayor peso fueron la densidad real y la densidad aparente, así como el porcentaje de humedad (Cuadro 25). Los valores observados de diferenciación no fueron estadísticamente significativos para ninguna de las comparaciones ($p > 0.05$).

Cuadro 25. Valores de diferenciación observados de 18 variables edáficas en cuatro ejes del espacio edáfico. Las variables con contribución negativa en el PCA se señalan entre paréntesis.

Comparación	PC1	PC2	PC3	PC4
<i>M. crucigera</i> vs <i>M. huitzilopochtli</i>	2.18	1.79	1.18	0.69
<i>M. crucigera</i> vs <i>M. supertexta</i>	2.78	1.77	1.03	0.16
<i>M. huitzilopochtli</i> vs <i>M. supertexta</i>	0.60	0.02	0.16	0.84
% de varianza explicada	33.34	15.27	11.94	10.72
Variables con mayor aportación	Densidad aparente (Densidad real) Humedad	Conductividad Fósforo C. I. C.	(Porosidad) Nitrógeno Arenas	Potasio Carbonatos Arcillas
Correlación con latitud/ longitud	0.255 / -0.032	0.297 / -0.312	-0.089 / 0.067	0.209 / -0.138

Las localidades de *M. crucigera* mostraron una dispersión mayor en el espacio edáfico, debido a que registraron los valores más bajos y entre los más altos de densidad aparente, densidad real y fósforo (Fig. 31). Las localidades de *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* mostraron una agrupación mayor, debido a que la varianza de los valores de densidad aparente y densidad real fue menor y a que registraron los valores de C. I. C más bajos. De tal manera que los índices de diferenciación entre *M. crucigera* respecto *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* fueron mayores, que los índices entre *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* (Cuadro 25).

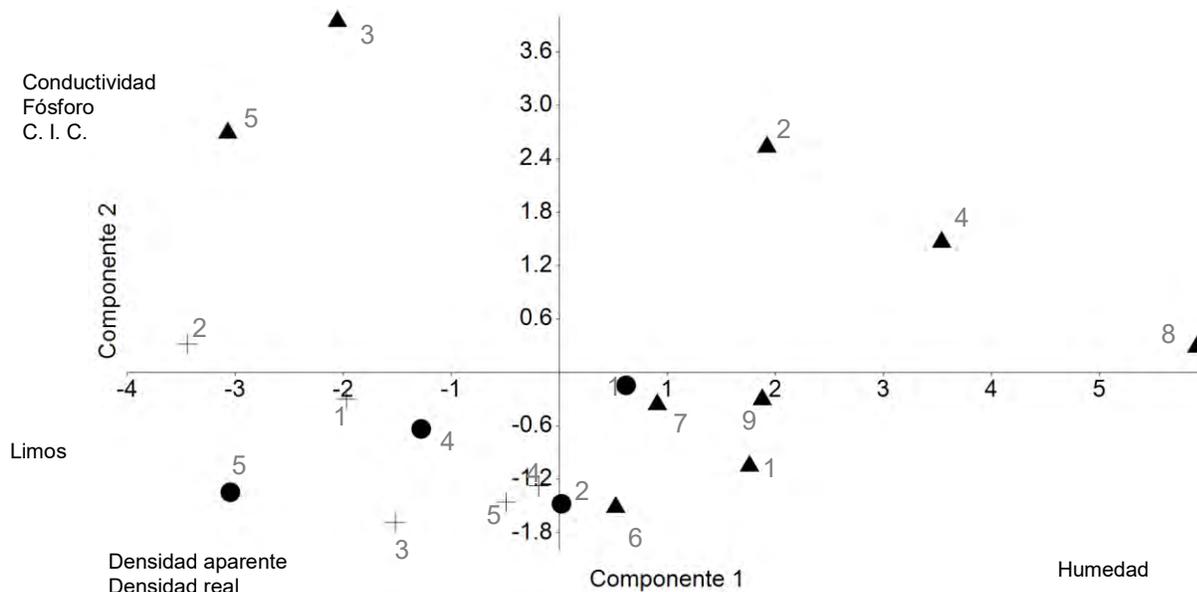


Fig. 31. Análisis de Componentes Principales de las variables edáficas entre *M. crucigera* (▲), *M. huitzilopochtli* (●) y *M. supertexta* (+). Los CP 1 y 2 retienen el 48.61 % de la variación. Los números se refieren, en *M. crucigera* a 1 – Tilapa, 2 – Cerro Blanco, 3 – Toxpa, 4 – Malinala, 5 – Ixcatlán, 6 – Tilapa 2, 7 – Tilapa 3, 8 – Teotitlán y 9 – Tecomavaca. En *M. huitzilopochtli* 1 – Ruinas, 2 – Coyula, 4 – Cacahuatal, 5 – Cuicatlán. Finalmente, en *M. supertexta* 1 – Comulco, 2 – Lucía, 3 – Y Quiotepec, 4 – Puente, 5 – Escoba.

El análisis de variables climáticas y edáficas de los cuatro PC recuperan el 66.36 % de la variación, en las cuales las variables climáticas y las variables edáficas retienen valores similares de variación, 23 y 21 %, respectivamente. Sin embargo, la diferenciación observada es mayor en los PC relacionados con el clima (Cuadro 26). La correlación entre el PC1 respecto a la latitud y longitud es muy alta.

Cuadro 26. Valores de diferenciación observados entre las variables edáficas y las variables climáticas no correlacionadas, obtenidos en cuatro ejes. Las variables con contribución negativa en el PCA se señalan entre paréntesis. Los valores marcados con asterisco indican significancia a nivel 0.05.

Comparación	PC1	PC2	PC3	PC4
<i>M. crucigera</i> vs <i>M. huitzilopochtli</i>	4.270*	0.517	1.257	0.868
<i>M. crucigera</i> vs <i>M. supertexta</i>	3.533	1.633	0.782	0.364
<i>M. huitzilopochtli</i> vs <i>M. supertexta</i>	0.737	1.116	2.039	0.504
% de varianza explicada	23.383	21.009	12.847	9.1278
Variables con mayor aportación	(Precipitación del trimestre más frío) (Precipitación del trimestre más seco) Estacionalidad de la precipitación	Humedad (Densidad real) (Densidad aparente)	Estacionalidad de la temperatura Temperatura máxima del mes más cálido Rango de temperatura anual	Potasio Pendiente Orientación
Correlación con latitud/ longitud	-0.607/0.529	0.233/0.034	-0.277/0.125	-0.084/0.174

Las localidades de *M. crucigera* muestran una mayor agrupación, ya que se ubican en zonas donde la precipitación en los períodos fríos y secos es muy baja (Fig. 32). Asimismo, las localidades de *M. huitzilopochtli* se agrupan en aquellas zonas donde la precipitación en períodos fríos y secos es mayor. La localidad de Lucía (2, *M. supertexta*) se ubica en donde la isothermalidad es mayor y la precipitación en período cálido es menor.

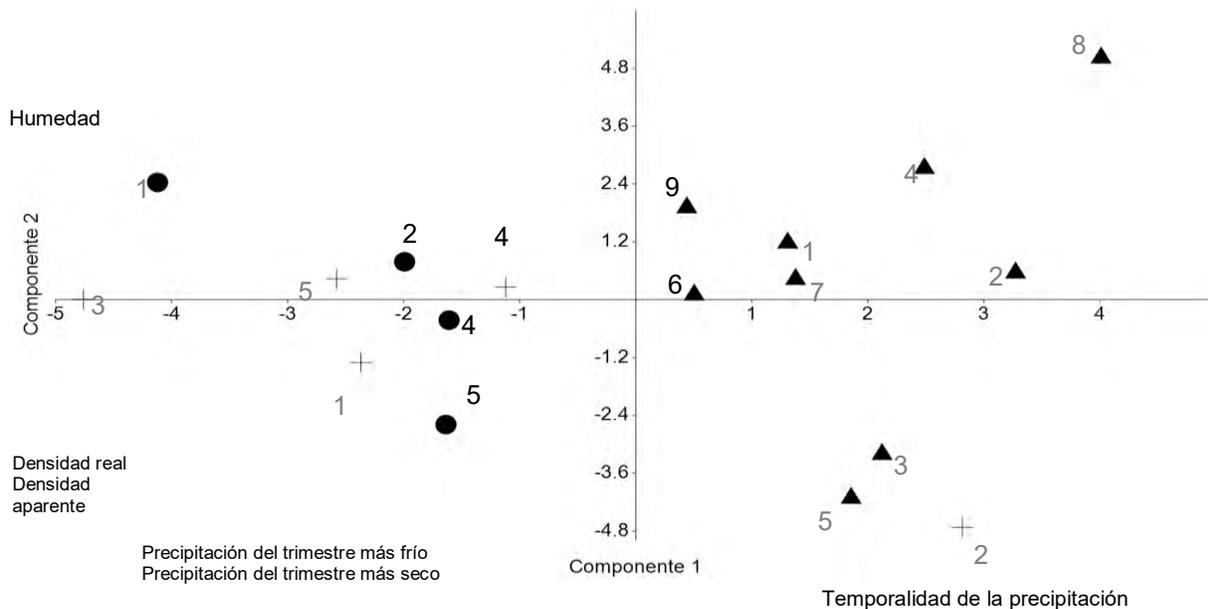


Fig. 32. Resultado del Análisis de Componentes Principales de variables edáficas y climáticas entre *M. crucigera* (▲), *M. huitzilopochtli* (●) y *M. supertexta* (+). Los números se refieren, en *M. crucigera* a 1 – Tilapa, 2 – Cerro Blanco, 3 – Toxpa, 4 – Malinala, 5 – Ixcatlán, 6 – Tilapa 2, 7 – Tilapa 3, 8 – Teotitlán y 9 – Tecomavaca. En *M. huitzilopochtli* 1 – Ruinas, 2 – Coyula, 4 – Cacahuatal, 5 – Cuicatlán. Finalmente, en *M. supertexta* 1 – Comulco, 2 – Lucía, 3 – Y Quiotepec, 4 – Puente, 5 – Escoba.

VII. Discusión

Debido a que la estimación de las relaciones genealógicas depende de la variación molecular, se discute brevemente el nivel de polimorfismo registrado en la familia Cactaceae. Enseguida se exponen las hipótesis generadas a partir de los resultados filogeográficos y de nicho ecológico. En la sección “Posible radiación adaptativa de *Mammillaria*” se hace una integración de ambas perspectivas. Finalmente se hacen algunas recomendaciones para su conservación.

7.1 La divergencia evolutiva en especies cercanas desde un escenario filogeográfico

7.1.1 Polimorfismo en las regiones de ADN de cloroplasto

Los resultados de esta tesis mostraron un polimorfismo muy bajo, que en general en plantas se explica con hipótesis como especiación reciente y rápida (Schaal y Olsen 2000), heterogeneidad en las tasas de sustitución (Shaw *et al.* 2014), variabilidad linaje – específica de las regiones de ADN (Korotkova *et al.* 2014), tamaños poblacionales efectivos pequeños (Avice 2000) y flujo de genes intraespecífico bajo (Petit y Excoffier 2009). Para la familia Cactaceae (Nyffeler 2002; Hernández-Hernández *et al.* 2014) y para géneros como *Gymnocalycium* (Demaio *et al.* 2011), *Pilosocereus* (Calvente *et al.* 2016) y *Opuntia* (Pinkava *et al.* 2002), el polimorfismo bajo, < 5 %, se explica por la especiación reciente y rápida de estos grupos. Asimismo, la heterogeneidad en las tasas de sustitución del ADN de cloroplasto, es otra hipótesis acerca del polimorfismo bajo en cactáceas (Romeiro-Brito *et al.* 2016; Silva *et al.* 2016). Esta hipótesis podría explicar el polimorfismo heterogéneo en el espaciador intergénico *petL-psbE*, ya que fue el más polimórfico para *M. huiquilopochtli*, pero que en *M. crucigera* y *M. supertexta* no mostró variación molecular. Además, en las regiones no codificantes del cloroplasto, como es el caso de las regiones analizadas en esta tesis, se documenta que la variabilidad genética es linaje – específica (Löhne *et al.* 2007; Timme *et al.* 2007), por lo que los bajos niveles de polimorfismo pueden deberse a las características intrínsecas de los taxa estudiados. Entre las características propias de los linajes, destaca el tamaño efectivo poblacional reducido que está relacionado con niveles de variación genética bajos (Avice 2000). Para algunas especies del género *Mammillaria* se han sugerido tamaños efectivos pequeños (Peters y Martorell 2001), mientras que otras especies registran un decremento en sus tasas de crecimiento poblacional (Contreras y Valverde 2002; Flores-Martínez *et al.* 2011; Ferrer-Cervantes *et al.* 2012). En las tres especies de estudio se registra esta característica intrínseca en sus poblaciones (Contreras y Valverde 2002; Flores-Martínez *et al.* 2008; 2010; Avendaño-Calvo 2007), por lo que podría ser un factor que explique el polimorfismo bajo. Respecto al flujo de genes, la dispersión de semillas en cactáceas globosas pequeñas, incluidas las especies del género *Mammillaria*, se considera poco eficiente (Ortega-Baes y Godínez-Álvarez 2006; Avendaño-Calvo 2007).

Respecto al tipo de polimorfismo registrado en y entre las tres especies de estudio, la incorporación de “indels” permitió el reconocimiento de haplotipos únicos. En particular en *M. crucigera*, con los “indels” no repetitivos registrados en los espaciadores *atpI-atpH* y *psbD-trnT*, se delimitaron los haplotipos que separaron a las poblaciones en distintos haplogrupos. En otras regiones como *petL-psbE* y *rpl16* algunos haplotipos se caracterizaron por diferencias en el número de repeticiones en regiones poli-A y poli-T, las cuales registran homoplasia (Korotkova *et al.* 2014). En estudios filogenéticos en Cactaceae se reconoce el valor informativo de los “indels” a nivel de familia (Nyffeler 2002), tribu (Butterworth y Wallace 2004) y género (Vázquez-Sánchez *et al.* 2013; Bonatelli *et al.* 2014; Cruz *et al.* 2016; Franco-Estrada 2017). No obstante en estudios de cactáceas realizados a nivel poblacional (Bonatelli *et al.* 2014; Comejo-Romero *et al.* 2014; Ornelas y Rodríguez-Gómez 2015) la utilidad de los “indels” repetitivos no ha sido evaluada. Otro polimorfismo registrado, incluye una inversión pequeña en el intrón *rpl16*, en *M. supertexta* respecto a *M. crucigera* y *M. huitzilopochtli*. Esta inversión de 46 pb está flanqueada por repeticiones invertidas (IR, por sus siglas en inglés) que forman la base de una estructura denominada “hairpin” de cadena simple estable (Kelchner y Wendel 1996; Kelchner y Clark 1997). Las inversiones documentadas en las estructuras “hairpin” son comunes en el intrón *rpl16* (Kelchner y Clark 1997; Borsch y Quandt 2009), así como en otras regiones de ADN de cloroplasto (e. g. *trnF-trnL* Kim y Lee 2005; *psbC-trnS* Catalano *et al.* 2009). Por lo que se ha sugerido que las regiones “hairpin” promueven la presencia de inversiones (Graham y Olmstead 2000; Borsch y Quandt 2009), las cuales pueden tratarse como un solo evento mutacional (Kim y Lee 2005; Catalano *et al.* 2009). Las regiones IR, la base de la estructura “hairpin”, son estructuras estables y ampliamente distribuidas en las angiospermas (Graham y Olmstead 2000; Bain y Jansen 2006).

En relación a las regiones que no lograron ser amplificadas, *psbJ-psbA* y *trnK-rps16*, sería importante seguir ensayando otras condiciones de PCR. Sin embargo, los espaciadores ubicados en los genes *ndhF*, *3'trnV^(UAC)-ndhC* y *ndhF-rpl32*, podrían haberse perdido en el genoma del cloroplasto de *Mammillaria*, como se documentó en *Carnegiea gigantea* (Sanderson *et al.* 2015). Esta cactácea y el género *Mammillaria*, forman parte de la subfamilia Cactioideae (Hernández-Hernández *et al.* 2011) y se ha demostrado que, en otros linajes de esta misma subfamilia, como el género *Cereus* (Romeiro-Brito *et al.* 2015), estas regiones no amplifican.

7.1.2 Relaciones genealógicas en las especies

En los loci de microsatélites de cloroplasto analizados se observó un nivel de polimorfismo bajo en cada especie. Lo anterior puede explicarse por las mutaciones puntuales registradas en las repeticiones en tándem de los loci de microsatélites, que disminuyen su tasa evolutiva en períodos evolutivos relativamente cortos (Ceplitis *et al.* 2005). Por lo tanto, en aquellos loci de microsatélites de cloroplasto “universales” es probable que no se registren variabilidad intraespecífica alta (Weising y Gardner 1999; Provan *et al.* 2001). Debido a que los patrones de estructura filogeográfica documentados con estos marcadores moleculares se recuperaron con las regiones de ADN de cloroplasto, los resultados se discutieron en conjunto y se detallan a continuación.

Mammillaria crucigera. Los tres haplotipos encontrados registraron una subdivisión geográfica, reflejando una diferenciación genética poblacional fuerte ($G_{ST} = 1$). La divergencia entre los haplotipos fue igual ($G_{ST} = 1$; $N_{ST} = 1$), lo que indica que los haplotipos son filogenéticamente equivalentes (Pons y Petit 1996). En plantas, este patrón filogeográfico sugiere una interacción de tres factores principalmente, 1) la clonalidad de los individuos (Clark-Tapia *et al.* 2005), 2) el flujo génico restringido como resultado de la dispersión limitada de la especie vía semillas (Zhou *et al.* 2010 a) y 3) el aislamiento geográfico de las poblaciones (Avice 2000; Lorenz-Lemke *et al.* 2010).

Los individuos de *M. crucigera* registran ramificación apical (Contreras y Valverde 2002; Arias *et al.* 2012), donde los tallos no se desprenden del tallo basal (Silvertown y Charlesworth 2001). Sin embargo, ecológicamente los tallos producidos por ramificación apical son considerados como individuos, ya que producen estructuras reproductivas (Harper 1977). De este modo, el haplotipo de los tallos apicales reproductivos de un solo individuo está sobrerrepresentado en una población, lo que podría promover la fijación de ese haplotipo. Respecto al sistema de dispersión de semillas de *M. crucigera*, no ha sido estudiado, sin embargo, se sugiere que las semillas son dispersadas por escorrentía (Peters y Martorell 2001). La similitud de la morfología de los frutos de esta especie con otras especies de *Mammillaria* en las cuales se ha sugerido este tipo de dispersión (Avenidaño-Calvo 2007), respalda lo anterior. Asimismo, la retención de frutos maduros entre los tubérculos de esta especie (Contreras y Valverde 2002), se ha considerado como posible serotinia (Solórzano y Dávila 2015). Aunque la serotinia es considerada como una característica adaptativa en especies de *Mammillaria* (Rodríguez-Ortega *et al.* 2006; Peters *et al.* 2009), la dispersión de las semillas de los frutos serótinicos es poco eficiente, ya que el establecimiento de plántulas se favorece en un perímetro cercano a la planta madre. Esta dispersión poco eficiente de las semillas se refleja en la estructura genética tan alta entre las poblaciones de *M. crucigera*.

El aislamiento geográfico es un factor que contribuye a la diferenciación genética marcada (Avice 2000). Las áreas intermedias entre las poblaciones de *M. crucigera* registran condiciones de temperatura y precipitación distintas, lo que se muestra en los valores de idoneidad bajos (< 0.5) de los modelos de nicho ecológico. Lo anterior sugiere que existe una discontinuidad de las condiciones idóneas para el establecimiento de *M. crucigera*, por lo que no solo la topografía, sino también las condiciones climáticas podrían funcionar como barreras geográficas (McCormack *et al.* 2010).

Considerando las relaciones genealógicas entre las poblaciones de *M. crucigera*, se puede proponer un escenario de colonización seguido de divergencia por alopatría. Los eventos de dispersión pudieron ocurrir del norte hacia el sur de su distribución geográfica y éstos quedaron plasmados en los espaciadores *atpI-atpH*, *rpl16* y *trnT-trnL*, que muestran una relación más estrecha entre las poblaciones del norte y las del sur, respecto a las poblaciones de la distribución central, lo cual se respalda con antecedentes nucleares (Solórzano *et al.* 2015). Después del evento de colonización, las poblaciones quedaron aisladas, quizá durante condiciones adversas como niveles de humedad altos, los cuales se registran en el Valle durante el Holoceno (Canúl-Montañez 2008). Aunque se desconoce el tiempo de divergencia entre *M. crucigera* y su ancestro común más reciente, para linajes relacionados con *Mammillaria* se registran edades de entre 16 m. a. (Tribu Cacteeae; Arakaki *et al.* 2011) a 7.7 Ma (*Astrophytum*; Vázquez-Lobo *et al.* 2015), por lo que puede considerarse a *Mammillaria* un linaje relativamente reciente. De esta manera se promovió la divergencia alopatrida entre las poblaciones de *M. crucigera*, lo que concuerda con los niveles de estructura genética tan altos ($G_{ST} = 1$), que sugieren que las poblaciones han permanecido aisladas genéticamente (Burban y Petit 2003; Zhou *et al.* 2010 b).

Los dos haplotipos registrados a partir de considerar a los “indels” como datos faltantes, corresponden a las poblaciones del norte y a la población del sur. Lo anterior podría indicar que, en la población sureña, Ixcatlán, los efectos de la deriva génica son más acentuados, ya que se sugiere que la deriva génica promueve la diferenciación genética en ausencia de flujo génico (Schaal *et al.* 1998; Petit y Excoffier 2009) y en poblaciones con tamaños poblaciones pequeños (Barret y Kohn 1991).

Mammillaria huitzilopochtli. Las cinco poblaciones de esta especie no registraron estructura filogeográfica ($N_{ST} = 0.922$, $G_{ST} = 0.733$, $p > 0.05$). Entre los procesos y factores implicados en la formación de un patrón filogeográfico, se reconoce un nivel de flujo génico restringido vía semillas y el aislamiento geográfico (Avice 2000; Lorenz-Lemke *et al.* 2010). El sistema de dispersión de semillas de *M. huitzilopochtli* no ha sido estudiado, sin embargo, se sugiere que las semillas son dispersadas por escorrentía (Peters y Martorell 2001) o por lagartijas (Flores-Martínez *et al.* 2008). Este sistema de dispersión pasivo, podría generar la estructura filogeográfica alta entre las poblaciones, ya que el establecimiento de las plántulas es en un perímetro cercano a la madre. Respecto al aislamiento geográfico, a pesar de que el nicho de *M. huitzilopochtli* registró conservadurismo con el nicho de *M. supertexta*, en tres ejes indicó divergencia con *M. crucigera*, por lo que puede considerarse que *M. huitzilopochtli* habita un ambiente edáfico y climático único. Los factores antes citados pudieron ser las principales fuerzas que promovieron el aislamiento genético entre las poblaciones.

De acuerdo con los resultados de la distribución geográfica y las relaciones genealógicas de los haplotipos, así como a la divergencia gradual observada, se propone un escenario de migración de norte a sur de la distribución geográfica de *M. huitzilopochtli*, seguido de recolonización en el norte. De acuerdo con el índice de probabilidad del grupo externo obtenido con el programa TCS v. 1.21 (Clement *et al.* 2005), que está correlacionado con la edad del haplotipo, los haplotipos H4 y H5 mostraron la misma probabilidad de ser el haplotipo más ancestral (0.33). Sin embargo, podría considerarse como haplotipo ancestral a H1, ya que se registró en un número mayor de individuos (> 50%, tres poblaciones). De tal modo que, si el haplotipo H1 es el ancestral, la ruta de colonización de *M. huitzilopochtli* concuerda con el escenario propuesto para linajes del sur de Estados Unidos de América y México (Reberning *et al.* 2010; Gugger *et al.* 2011; Ruíz-Sánchez *et al.* 2012; Hernández-Hernández *et al.* 2013), para las cuales las condiciones húmedas y frías registradas en el Pleistoceno promovieron la expansión de linajes de plantas de zonas áridas hacia el sur. Debido a que en eventos fundadores se registra un solo haplotipo (Turchetto-Zolet *et al.* 2012), se sugiere la recolonización en la parte norte de la distribución, por la presencia de H1 en las poblaciones de Ruinas, Coyula y Quiotepec.

Mammillaria supertexta. Tanto con los microsátélites de cloroplasto como con las regiones de ADN no se documentó variación genética en las cinco poblaciones analizadas de *M. supertexta*. Con los microsátélites de cloroplasto en las cinco poblaciones se documentó un solo haplotipo, sin embargo, el número de loci usados fue muy bajo (2), por lo que los loci seleccionados pudieron no mostrar variación. En el caso de las regiones de ADN de cloroplasto, el muestreo molecular es mayor (siete regiones), en el cual solo se registró un "indel" en los individuos de una población en el intrón *rpl16*. Dado lo anterior, el muestreo molecular no es un factor que determinó el polimorfismo, en otras especies de plantas este patrón se considera resultado de la dinámica evolutiva del ADN de cloroplasto (Löhne *et al.* 2007; Timme *et al.* 2007) o de eventos demográficos históricos (Lorenz-Lemke *et al.* 2010).

El patrón de fijación de un solo haplotipo en todas las poblaciones de una especie ha sido atribuido a eventos de cuellos de botella poblacionales (Grivet y Petit 2003; Fernández-Mazuecos *et al.* 2014), a la expansión de su distribución geográfica (i. e. en las transiciones climáticas del Pleistoceno) (Twyford *et al.* 2013; Fiala *et al.* 2016) o a un evento fundador (Thode *et al.* 2014). En el caso de un cuello de botella poblacional reciente, la diversidad genética disminuye después de que una población experimenta una reducción en su tamaño efectivo poblacional (Allendorf y Luikart 2007). Los tamaños poblacionales de *M. supertexta* son pequeños (Peters y Martorell 2001; Avendaño-Calvo 2007), por lo que se puede sugerir que el haplotipo único registrado en esta especie puede ser resultado de un cuello de botella poblacional, seguido de una expansión reciente. La fijación de un solo haplotipo también podría ser resultado de deriva génica en poblaciones pequeñas (Barret y Kohn 1991), como en el caso de *M. supertexta*.

7.1.3 Relaciones filogeográficas entre especies filogenéticamente cercanas

Los resultados obtenidos con los microsatélites de cloroplasto sugieren un evento de introgresión entre *M. crucigera* y *M. huitzilopochtli*, debido a que el haplotipo H7 se registró en la población de Cuicatlán de *M. huitzilopochtli*, compartiéndose con las poblaciones de Tilapa, Cerro Blanco e Ixcatlán de *M. crucigera*. En este escenario de hibridación, la incorporación del genoma de cloroplasto pudo haber sido de *M. crucigera* a *M. huitzilopochtli*, promoviendo así el aumento de la diversidad genética en esta última especie (Arnold 1997). Esto se sustenta, en el hecho de que en las poblaciones de *M. huitzilopochtli* se documentó una mayor diversidad de haplotipos que en *M. crucigera*. Además, el flujo de genes interespecífico se ve favorecido por la ausencia de barreras reproductivas (Schluter 2001) y en el caso de estas dos especies se puede sugerir esto porque presentan sincronía en períodos de floración. Los individuos de *M. crucigera* florecen de noviembre a mayo (Contreras y Valverde 2002), en tanto que los individuos de *M. huitzilopochtli* florecen de septiembre a diciembre (Flores-Martínez *et al.* 2010). Sin embargo, sus poblaciones no son simpátricas y las poblaciones que comparten el haplotipo H7 no están geográficamente cercanas.

Sin embargo, esta hipótesis de introgresión no se respalda por el tipo de marcador molecular utilizado, debido a que los microsatélites registran homoplasia (Provan *et al.* 2001). De tal manera que el haplotipo H7 se pudo originar en ambas especies de manera independiente, como se ha propuesto para otras especies filogenéticamente cercanas (Hale *et al.* 2004; Heuertz *et al.* 2006; Odee *et al.* 2012). Cuando dos o más especies comparten haplotipos, se puede inferir también al sorteo incompleto de linajes (Avice 1994; Schaal y Olsen 2000; Wendel y Doyle 1998). Si la especiación entre las especies involucradas ha ocurrido recientemente, se infiere que no ha habido tiempo suficiente para su divergencia genética (Wendel y Doyle 1998). En el caso de *M. crucigera* y *M. huitzilopochtli*, no hay una datación para su divergencia, sin embargo, el número de pasos mutacionales bajo (< 5) entre los haplotipos, indica divergencia reciente. Además, si los alelos del ancestro común entre las especies analizadas son retenidos, se esperaría que estos alelos mostraran una distribución al azar en las poblaciones descendientes (Zhou *et al.* 2010 b) y que no estuvieran concentrados en los límites de la distribución de las especies o en zonas de hibridación, en poblaciones parapátricas (McGuire *et al.* 2010). En este caso, el haplotipo H7 no está distribuido en el límite de la distribución geográfica de las especies, en *M. huitzilopochtli* se registró en la población del extremo sur de su distribución y en *M. crucigera* en las poblaciones del norte y del sur.

Además, en el contexto de la hipótesis de introgresión, con los modelos de nicho se esperaría encontrar valores de idoneidad altos (> 0.8) en *M. crucigera* en el área donde se ubica la población de Cuicatlán, lo cual no ocurrió. Además, el tipo de sustrato en el que se ubican las poblaciones de *M. huitzilopochtli*, mostraron requerimientos distintos de densidad aparente, densidad real y de C. I. C. La diferenciación entre eventos de hibridación y subsecuente introgresión, de un evento de sorteo incompleto de linajes es difícil de discernir cuando se utilizan marcadores uniparentales y cuando las especies analizadas han divergido recientemente (Jakob y Blattner 2006; Lorenz-Lemke *et al.* 2010). Sin embargo, dadas las características de distribución geográfica de las poblaciones de ambas especies citadas anteriormente, se sugiere que la presencia compartida del haplotipo H7 se debe a la retención de polimorfismos ancestrales.

Este resultado de haplotipos compartidos entre especies, se registró también en tres de las regiones de ADN de cloroplasto analizadas. Debido a que los haplotipos compartidos no se registraron en los límites de la distribución geográfica de las especies, se sugiere que este resultado se debe al sorteo de linajes incompleto (Avice 1994; Schaal y Olsen 2000; Wendel y Doyle 1998). Además, las relaciones filogeográficas entre las especies analizadas no fueron concordantes entre las seis regiones de ADN de cloroplasto. En las seis regiones concatenadas, *M. crucigera* y *M. supertexta* mostraron una relación evolutiva más cercana, ya que mostraron un número menor de mutaciones respecto a *M. huitzilopochtli*. Sin embargo, en la filogenia obtenida a partir del intrón *rpl16* y *psbA-trnH*, *M. crucigera* y *M. huitzilopochtli* resultaron ser especies hermanas, debido a la inversión pequeña registrada para la región *rpl16*. Este tipo de inversiones son referidas como eventos de homoplasia, dado que se registran en taxa filogenéticamente distantes (Kelchner y Wendel 1996; Graham y Olmstead 2000; Kelchner 2000) o en individuos de una misma población (Huang *et al.* 2004). En Cactaceae, se registran inversiones en espaciadores intergénicos (*psbA-trnH*, *trnQ-rps16*, *trnS-trnG*), intrones (*trnK*) y genes (*matK*) (Korotkova *et al.* 2010; 2011), las cuales se sugieren como eventos potencialmente homoplásicos. Sin embargo, en otros casos se ha demostrado que a pesar de ser homoplásicas representan un valor filogenético (Bain y Jansen 2006) o bien se les ha considerado como un tipo de mutación linaje – específicas (Korotkova *et al.* 2014). Asimismo, en la tribu Cacteeae las inversiones fueron tratadas como potencialmente informativos (Vázquez-Sánchez *et al.* 2013) demostrando su utilidad, ya que resolvieron las relaciones entre algunos clados. Por lo tanto, la inversión encontrada en esta tesis se consideró como un evento mutacional filogenéticamente informativo.

7.2 La evolución del nicho ecológico entre especies filogenéticamente cercanas

A pesar de que los modelos de nicho ecológico obtenidos son de resolución fina (21 km²), se predicen áreas donde no se tienen registros. Esto podría ser resultado de tres factores, 1) las áreas no han sido exploradas y existen poblaciones no descubiertas, 2) el modelo utilizado es simplista y 3) existe un desequilibrio entre las especies y el clima. Con base en el descubrimiento de nuevas localidades para nueve especies del Valle, Peters y Martorell (2001) sugieren que existe un sesgo de exploración debido a las vías de comunicación, indicando que hace falta examinar otras áreas de esta región. Respecto a la simplicidad del modelo, se ha sugerido que utilizar un modelo más complejo, aumenta el área del modelo obtenido y las estimaciones de proyecciones al futuro son mejores (Warren *et al.* 2014). Sin embargo, en especies con un número de registros de presencia pequeño se recomienda utilizar un modelo simple (Warren y Seifert 2011), así como para especies de distribución amplia (Theodoridis *et al.* 2013). También se ha sugerido que para modelar la distribución de una especie es necesario estandarizar para cada especie sus propios parámetros (Elith *et al.* 2006). Asimismo, podrían existir características del microhábitat que están definiendo la presencia de las especies y que no se están reflejando en los modelos de nicho obtenidos en esta tesis (Fernández-Mazuecos *et al.* 2014).

El desequilibrio entre la especie y el clima se refiere a que a pesar de que existen las condiciones climáticamente adecuadas para que una especie pueda persistir, la capacidad de dispersión de la misma es limitada y no ha colonizado estas áreas idóneas (Fouquet *et al.* 2010). El sistema de dispersión, tanto vía semilla como polen, no se conoce para ninguna de las especies analizadas en esta tesis, sin embargo, de acuerdo a su morfología se sugiere que es por escorrentía (Peters y Martorell 2001; Avendaño-Calvo 2007; Flores-Martínez *et al.* 2008; 2014), por lo que la dispersión poco eficiente podría ser una causa de la sobrepredicción de áreas idóneas en los modelos de nicho ecológico.

Con respecto a las pruebas de identidad y similitud del nicho ecológico basadas en los modelos, se obtuvo que los nichos ecológicos de las tres especies no son idénticos. Sin embargo, los nichos no son más divergentes de lo que se esperaría dadas las diferencias ambientales donde las especies habitan (Warren *et al.* 2008). Si bien existe conservadurismo de nicho ecológico entre las especies analizadas, ésta es una característica inherente entre especies cercanamente relacionadas dadas sus relaciones genealógicas (Wiens y Graham 2005; Pyron *et al.* 2015). No obstante, en linajes cercanamente relacionados se ha demostrado que en algunas dimensiones del nicho ecológico hay divergencia (Anacker y Strauss 2014; Thode *et al.* 2014).

Las comparaciones de nicho basadas en modelos representan la diferenciación de nicho considerándolo como un todo y no dan información acerca de las variables particulares que son responsables de la diferenciación entre taxa, sin embargo, el enfoque multivariado sí lo hace (McCormack *et al.* 2010; Thode *et al.* 2014). Lo anterior se registró en los resultados del análisis de los ejes independientes del nicho. Las variables relacionadas con la estacionalidad de la temperatura (eje 1), precipitación del trimestre más frío (eje 2) y precipitación del trimestre más cálido (eje 3) fueron las características con divergencia en al menos un par de especies, lo que podría indicar que tuvieron una mayor influencia en la divergencia del nicho ecológico entre las especies de *Mammillaria* analizadas en esta tesis.

La divergencia encontrada en los ejes ambientales 1 y 4, sugiere que los individuos de *M. crucigera* habitan en áreas con una oscilación menor de la temperatura y con menor precipitación en temporadas secas y frías que los individuos de *M. huitzilopochtli*. La diferenciación ecológica entre estas especies está asentada también en el espacio edáfico. Asimismo, la zona de contacto potencial entre estas especies registra valores de idoneidad menores a 0.50 en ambos modelos de nicho, sugiriendo una probabilidad baja de mantener poblaciones viables (Raxworthy *et al.* 2007; Evans *et al.* 2009). Siguiendo la hipótesis planteada de hermandad entre estas especies, se puede sugerir que la diferenciación en algunas características de su nicho ecológico ha sido importante en su divergencia evolutiva, como se ha demostrado en otras especies (Loera *et al.* 2012; Jaime *et al.* 2015). Asimismo, la distribución alopátrida entre *M. crucigera* y *M. huitzilopochtli* sugiere que el aislamiento geográfico tuvo un papel importante en su diferenciación (Guerrero *et al.* 2011).

Al igual que las especies comparadas anteriormente, *M. crucigera* y *M. supertexta* registraron divergencia climática significativa, pero en este caso en los ejes ambientales 1 y 2. Sin embargo, la amplitud de la distribución geográfica de estas especies se traslapa. Este patrón de divergencia de nicho ecológico sin aislamiento geográfico, donde las especies muestran poco o nula superposición de nicho, sugiere que el aislamiento geográfico, por sí mismo, es menos importante que las diferencias ambientales (Nakazato *et al.* 2010).

Por otra parte, el conservadurismo de nicho ecológico entre *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* puede deberse a que esta diferenciación está relacionada a otras dimensiones del nicho que no fueron medidas en este estudio (Wiens 2004 a; McCormack *et al.* 2010). Sin embargo, el período de floración documentado para estas especies se presenta en meses distintos: *M. huitzilopochtli* florece de septiembre a diciembre (Flores-Martínez *et al.* 2010) y *M. supertexta* de enero a mayo (Avendaño-Calvo 2007), por lo que la divergencia evolutiva entre estas especies podría ser resultado de un aislamiento temporal (Loera *et al.* 2012).

No obstante, la conclusión sobre la divergencia o conservadurismo de nicho ecológico entre las especies debe hacerse con cautela. Con base en los datos climáticos usados en los análisis se puede concluir que existe una correlación geográfica fuerte, sugiriendo que muchos de los datos de las variables podrían indicar variación regional, más que características del nicho ecológico (Arteaga *et al.* 2011; Thode *et al.* 2014).

7.3 Posible radiación adaptativa en el género *Mammillaria*

El origen de Cacteeae, Tribu a la que pertenece *Mammillaria*, fue ubicado en la Sierra Madre Oriental en el Mioceno medio, hace 16 Ma (Vázquez-Sánchez *et al.* 2013). La diversificación de este grupo de plantas se propone ocurrió a finales del Mioceno e inicios del Plioceno, entre 11 – 4 Ma aproximadamente, asociada con el desarrollo del Desierto de Sonora (Arakaki *et al.* 2011; Vázquez-Sánchez *et al.* 2013). El centro de origen del género *Mammillaria* es desconocido, sin embargo, la edad propuesta para este clado es de 7.6 – 6.3 Ma (Arakaki *et al.* 2011). Considerado que en los estados de Coahuila (25), Durango (27), Guanajuato (30), Querétaro (29) y San Luis Potosí (31) y Zacatecas (28) (Guzmán *et al.* 2007) se registra el mayor número de especies de este género (Hernández y Bárcenas 1995; Guzmán 2007), el origen de *Mammillaria* al norte del país no puede ser descartado. Asimismo, al sur de México, los estados de Oaxaca (28) y Puebla (22) registran un número de especies alto, por lo que algunos de los linajes de este género pudieron dispersarse hacia el sur del país y subsecuentemente especiar. La Faja Volcánica Transmexicana se identificó como límite de distribución geográfica para la serie *Polyedrae* (Aquino-García 2014). Estas cordilleras volcánicas que cruzan el territorio mexicano de oeste a este, desde Nayarit hasta Veracruz (Ferrusquía-Villafranca 2007) iniciaron su formación en el Mioceno temprano, hace 20 Ma, con eventos orogénicos al final de Plioceno, hace 3 Ma (Ferrari *et al.* 2012). Asimismo, se reconoce que la Faja Volcánica Transmexicana ha tenido un impacto significativo en la divergencia de estas especies, además de actuar como un corredor para su dispersión, promoviendo así la migración del norte al sur de México (Gugger *et al.* 2011). Considerando que la edad estimada de los últimos eventos orogénicos de la Faja Volcánica Transmexicana es de 3 Ma, además de que este sistema montañoso representa una barrera en la conectividad genética de las especies, se puede considerar que la edad de las especies analizadas en esta tesis es menor a 3 Ma. Esta hipótesis se respalda con el patrón de distribución geográfica de las especies de la serie *Supertextae*, ya que se puede considerar como su límite norte a la Faja Volcánica Transmexicana (Hunt 2006).

En los linajes de plantas, la falta de resolución entre especies cercanamente relacionadas se ha propuesto como resultado de radiaciones adaptativas que resultan en historias evolutivas cortas y divergencia de regiones poco marcadas (Small *et al.* 1998). La radiación adaptativa se define como la evolución de la diversidad ecológica y fenotípica en un linaje rápidamente diversificado (Schluter 2000; Glor 2010). El reconocimiento de este proceso puede inferirse a partir de una serie de características como la ancestría común, la correlación entre el ambiente y el fenotipo, así como una especiación rápida (Schluter 2000). En referencia a la ancestría común, el clado que registra la radiación adaptativa debe haber divergido recientemente. En este sentido, no se conoce el tiempo de divergencia entre las especies de *Mammillaria* analizadas en esta tesis, pero con base en los resultados obtenidos de polimorfismo bajo, se puede inferir una divergencia reciente entre las especies (Nyffeler 2002). La especiación rápida se refiere a que las tasas de especiación son altamente variables entre clados contemporáneos y entre períodos muy largos (Schluter 2000). Respecto a esta característica se desconoce el tiempo de divergencia del clado Supertextae respecto a su ancestro común. Sin embargo, la especiación rápida se refiere también a las tasas de especiación muy variables entre períodos en un clado, en donde las tasas de ramificación exceden a las anteriores (Glor 2010). En la familia Cactaceae se han identificado clados con la característica anteriormente citada, como es el caso de *Mammillaria* que registra tasas de diversificación altas, así como un número mayor de especies de lo que se esperaría dada su edad (Arakaki *et al.* 2011; Hernández-Hernández *et al.* 2014). No obstante, hace falta evidencia ecológica y molecular que permita desarrollar hipótesis sobre una posible radiación adaptativa en *Mammillaria*. Es necesario explorar otras regiones de ADN de cloroplasto, inclusive de otros genomas, como el nuclear, para obtener el suficiente polimorfismo que permita la estimación de tiempos de divergencia entre especies cercanamente relacionadas de *Mammillaria*, así como la existente entre géneros cercanos como *Coryphantha* y *Escobaria*.

Finalmente, la distribución completamente alopátrida y la estructura filogeográfica tan alta documentadas para *M. crucigera* y *M. huitzilopochtli* (G_{ST} y N_{ST} cercanos a 1), sugieren que el flujo génico es muy bajo o nulo en las especies. En otros linajes de plantas como en los géneros *Primulina* (Gao *et al.* 2015) o el género *Begonia* (Hughes y Hollingsworth 2008; Twyford *et al.* 2013), se ha sugerido que este patrón de estructura genética poblacional fuerte está relacionado con procesos macroevolutivos de divergencia de especies por alopatría, por lo que este proceso puede inferirse también para *Mammillaria*.

Dadas las diferencias climáticas y edáficas entre las especies, se puede sugerir que las especies se pudieron adaptar a sus microhábitats vía selección divergente. Por lo que además del aislamiento genético, las presiones de selección ambientales, como la estacionalidad de la temperatura, pudieron contribuir a la divergencia evolutiva en este grupo de especies de *Mammillaria*.

7.4 Conservación

La conservación de las especies y de sus hábitats es otra de las interpretaciones que permiten los resultados aquí obtenidos. Aunque no se planteó como uno de los objetivos originales de la tesis, es importante considerar que las tres especies estudiadas se incluyen en listas nacionales e internacionales de especies en riesgo. En *M. crucigera*, se reconocen a las subespecies, *crucigera* y *tlalocii* (Arias *et al.* 2012). Esta última corresponde a los individuos de la población Ixcatlán, los cuales los resultados mostraron un haplotipo único en las regiones *atpI-atpH*, *psbD-trnT* y *rpl16*. Esta población se encuentra a 67 km alejada del resto de las poblaciones y ya había sido identificada como un grupo genético distinto con marcadores microsatélite (Solórzano y Dávila 2015), lo que sugiere que el aislamiento geográfico podría estar promoviendo una divergencia evolutiva. La subespecie *crucigera* está representada por el resto de las poblaciones analizadas, sin embargo, Tilapa y Cerro Blanco se identificaron como un haplogrupo distinto a Toxpa y Malinala. Por tanto, la conservación de todas las poblaciones de *M. crucigera* permitiría salvaguardar su riqueza molecular y mantener los procesos ecológico-evolutivos que están ocurriendo. En *M. huitzilopochtli*, se reconocen también dos subespecies *huitzilopochtli* y *niduliformis*, la primera caracterizada por tener espinas cortas y la segunda por tener espinas tan largas que rodean el tallo completo de la planta (Arias *et al.* 2012). En las regiones de ADN de cloroplasto *petL-psbE* y *rpl16* la población de Ruinas, de la subespecie *niduliformis*, fue la única que mostró variación intrapoblacional con dos haplotipos. En análisis previos de microsatélites y de acuerdo con las diferencias mutacionales registradas, se confirma la agrupación de Ruinas con Coyula y Quiotepec, mientras que Cacahuatal y Cuicatlán forman grupos independientes. En contraste en las poblaciones de *M. supertexta* no se lograron hacer inferencias acerca de cómo son las relaciones genealógicas entre sus poblaciones dado que no presentó polimorfismo.

Por otra parte, los resultados de nicho ecológico mostraron que las especies tienen requerimientos ambientales distintos tanto edáficos como climáticos. Por tanto su conservación y la protección de sus hábitats podría ser desde una perspectiva de ecosistémica (Hamilton *et al.* 2012), ya que así se protegerían distintos microambientes que registrados dentro la Reserva de la Biosfera Tehuacán – Cuicatlán. Esta reserva, que se destaca por una riqueza específica alta (Dávila *et al.* 2002), con flora económica y culturalmente útil (Lira *et al.* 2009; Blancas *et al.* 2010), registra una distribución heterogénea de su diversidad biológica (Osorio *et al.* 1996; Méndez-Larios *et al.* 2004) y un mosaico de microambientes (Valiente-Banuet *et al.* 2000). Además, en esta región se distribuye un gran número de especies endémicas, siendo las de la vegetación xerófila las mayormente representadas (Méndez-Larios *et al.* 2004). Por tanto, a partir de los resultados aquí obtenidos se concluye que las selvas bajas caducifolias donde habita *M. supertexta*, los cerros calizos de *M. crucigera* y las extensiones de rocas rojas de *M. huitzilopochtli* deberían ser una prioridad de conservación como ya se ha señalado en otros estudios (Solórzano *et al.* 2014; Solórzano y Dávila 2015).

VIII. Conclusiones

A partir de los resultados de esta tesis, se concluye que las poblaciones de *M. crucigera* están representadas con tres linajes estrechamente ligados. En esta especie, las relaciones genealógicas se plantea un escenario del pasado donde a partir de una población ancestral de un evento de dispersión, seguido de divergencia genética por alopatría. Considerando la distancia evolutiva entre los haplotipos registrados en las poblaciones de *M. huitzilopochtli*, se concluye que esta especie presentó un evento de migración del norte hacia el sur de su distribución geográfica, además de experimentar flujo génico restringido, procesos que han contribuido en su historia evolutiva. La falta de polimorfismo en las poblaciones analizadas de *M. supertexta* se infiere como resultado de un evento de cuello de botella poblacional y de una expansión reciente de su distribución geográfica. Dada la fijación de haplotipos únicos en las poblaciones y la estructura genética tan alta entre las especies de estudio, se puede concluir que el aislamiento genético es uno de los factores que ha promovido la diferenciación de linajes en el género *Mammillaria*. Además, la deriva génica podría ser uno de los procesos responsables del polimorfismo tan bajo registrado en las tres especies de *Mammillaria* analizadas.

Las relaciones filogenéticas entre las tres especies no son concordantes entre las regiones de ADN de cloroplasto analizadas. Sin embargo, los análisis basados en las seis regiones indican que cada especie representa una entidad evolutiva independiente, con un polimorfismo ancestral compartido, sin que haya evidencia de algún proceso de hibridación después de su divergencia.

A diferencia de otras especies de plantas y de otros géneros de Cactaceae, donde ocho regiones de ADN de cloroplasto se recomiendan como fuentes de variación, las tres especies aquí estudiadas no apoyan tal recomendación, ya que registraron un nivel de polimorfismo < 2 %. Sin embargo, el intrón *rpl16* es una de las regiones con el nivel de polimorfismo más alto entre las especies, ya que registró sustituciones, “indels” e inversiones con valor filogenético. Asimismo, el espaciador intergénico *petL-psbE* fue otro marcador con variación intrapoblacional, pero solo en la especie *M. huitzilopochtli*. Los espaciadores *atpH-atpH*, *psbD-trnT* y *trnT-trnL* son útiles para delimitar poblaciones, pero no para estudios filogeográficos o de genética de poblaciones.

Los nichos de las tres especies analizadas mostraron una diferenciación relacionada con la estacionalidad de la temperatura, por lo que se sugiere que esta variable pudo promover su divergencia. No obstante, otras dimensiones del nicho relacionadas con la precipitación se encuentran conservadas entre las especies, por lo que estas características podrían representar su nicho fundamental. Aunque los análisis realizados no permiten asentar si los cambios en el nicho ecológico causaron directamente la divergencia entre las especies, es claro que los aspectos ecológicos están ligados con la especiación del género *Mammillaria*.

IX. Literatura citada

- Allendorf F, Luikart G (2007) *Conservation and the genetics of populations*. Blackwell, Malden, Massachusetts.
- Anacker BL, Strauss SY (2014) The geography and ecology of plant speciation: range overlap and niche divergence in sister species. *Proceedings of the Royal Society B*, 281, 1-9.
- Anderson E (1949) Introgressive Hybridization. John Wiley & Sons, Inc., New York. U. S. A. 109 p.
- Anderson E, Hubricht L (1938) Hybridization in *Tradescantia*. III. The evidence for introgressive hybridization. *American Journal of Botany*, 25, 396-402.
- Anderson EF (2001) *The cactus family*. Timber Press, Portland. U. S. A. 776 p.
- Aquino-García D (2014) Delimitación de las especies de *Mammillaria*, serie *Polyedrae* (Cactaceae). Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Arakaki M, Christin PA, Nyffeler R, Lendel A, Eggli U, Ogburn RM, Spriggs E, Moore MJ, Edwards EJ (2011) Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1-6.
- Arias S, Gama-López S, Guzmán-Cruz UL, Vázquez-Benítez B (2012) Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán Fascículo 95: Cactaceae, 2da. ed. Universidad Nacional Autónoma de México, D. F. México. 235 p.
- Arias S, Terrazas T, Cameron K (2003) Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany*, 28, 547–557.
- Arias S, Zavala-Hurtado A (2013) *Mammillaria crucigera*, *Mammillaria huitzilopochtli*, *Mammillaria supertexta*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org>. Consultado el 20 de abril de 2013.
- Arnold ML (1997) Natural hybridization and evolution. Oxford University Press, New York. U. S. A. 215 p.
- Arteaga MC, McCormack JE, Eguiarte LE, Medellín RA (2011) Genetic Admixture in multidimensional environmental space: asymmetrical niche similarity promotes gene flow in armadillos (*Dasypus novemcinctus*). *Evolution*, 65, 2470–2480.
- Avendaño-Calvo T (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. México.
- Avise JC (1994) Molecular markers, natural history and evolution. *Journal of Evolutionary Biology* 7, 766-767.
- Avise JC (2000) Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Avise JC (2009) Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36, 3–15.
- Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC (1987) Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 489-522.

- Avise JC, Wollenberg K (1997) Phylogenetics and the origin of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 7748-7755.
- Bain JF, Jansen RK (2006) Molecular Evolution and Phylogenetic Utility of the Chloroplast rpl16 Intron in *Chusquea* and the Bambusoideae (Poaceae). *Canadian Journal of Botany*, 84, 862-868.
- Balloux F, Moulin NL (2002) The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 11, 155-165.
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 37-48.
- Bárcenas RT, Yesson C, Hawkins JA (2011) Molecular Systematics of the Cactaceae. *Cladistics*, 27, 470-489.
- Barracough TG, Vloger AP (2000) Detecting the geographical pattern of speciation from species-level phylogenies. *American Naturalist*, 155, 419-434.
- 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* (eds. Falk DA, Holsinger KE), pp. 3-30. Oxford University Press, Nueva York. U. S. A.
- Barve N, Barve V, Jiménez-Valverde A, Lira-Noriega A, Maher SP, Peterson AT, Soberón J, Villalobos F (2011) The crucial role of the accessible area in ecological niche modeling and species distribution modelling. *Ecological Modelling*, 222, 1810-1819.
- Beheregaray LB (2008) Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology*, 17, 3754-3774.
- Beraldi-Campesi H, Cevallos-Ferriz SRS, Centeno-García E, Arenas-Abad C, Fernández LP (2006) Sedimentology and paleoecology of an Eocene-Oligocene alluvial-lacustrine arid system, Southern Mexico. *Sedimentary Geology*, 191, 227-254.
- Blancas J, Casas A, Rangel-Landa S, Moreno-Calles A, Torres I, Pérez-Negrón E, Solís L, Delgado-Lemus A, Parra F, Arellanes Y, Caballero J, Cortés L, Lira R, Dávila P (2010) Plant Management in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Economic Botany*, 64, 287-302.
- Bonatelli IAS, Perez MF, Peterson AT, Taylor NP, Zappi DC, Machado CM, Koch I, Pires AC, Moraes EM (2014) Interglacial microrefugia and diversification of a cactus species complex: phylogeography and paleodistributional reconstructions for *Pilosocereus aurisetus* and allies. *Molecular Ecology*, 12, 4579-4585.
- Boughman JW (2001) Divergent sexual selection enhances reproductive isolation in sticklebacks. *Nature*, 411, 944-948.
- Borsch T, Quandt D (2009) Mutational dynamics and phylogenetic utility of noncoding chloroplast DNA. *Plant Systematics and Evolution*, 282, 169-199.
- Bradshaw HD, Schmeske DW (2003) Allele substitution at a flower colour locus produces a pollinator shift in monkeyflowers. *Nature*, 426, 176-178.
- Bravo-Hollis H (1978) Las cactáceas de México Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México, D. F. México. 744 p.

- Brown JH, Lomolino MV (1998) Biogeography. 2da. ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland. U. S. A. 691 p.
- Brown JL (2014) SDMtoolbox: a python based GIS toolkit for landscape genetic, biogeographic and species distribution model analyses. *Methods in Ecology and Evolution*, 5, 694-700.
- Brunet J (1967) Geological Studies. En: *The prehistory of the Tehuacán Valley Vol. I Enviroments and subsistence* (ed. McNeish RS, Peterson FA, Flannery KV), p 67-86. University of Texas Press, Texas.
- Burban C, Petit RJ (2003) Phylogeography of maritime pine inferred with organelle markers having contrasted inheritance. *Molecular Ecology*, 12, 1487-1495.
- Burns JH, Strauss SY (2011) More closely related species are more ecologically similar in an experimental test. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 5302-5307.
- Busby J (1991) BIOCLIM - a bioclimate analysis and prediction system. *Plant Protection Quarterly*, 6, 8-9.
- Butterworth CA, Cota-Sánchez JH, Wallace RS (2002) Molecular systematics of Tribe Cacteeae (Cactaceae: Cactoideae): a phylogeny based on *rpl16* intron sequence variation. *Systematic Botany*, 27, 257-270.
- Butterworth CA, Wallace RS (2004) Phylogenetic studies of *Mammillaria* (Cactaceae) – Insights from chloroplast sequence variation and hypothesis testing using the parametric bootstrap. *American Journal of Botany*, 91, 1086-1098.
- Byrne (2008) Evidence for multiple refugia at different time scales during Pleistocene climatic oscillations in southern Australia inferred from phylogeography. *Quaternary Science Reviews*, 27, 2576-2585.
- Calvente A, Zappi DC, Forest F, Lohmann LG (2011) Molecular phylogeny, evolution, and biogeography of South American epiphytic cacti. *International Journal of Plant Sciences*, 172, 902-914.
- Canúl-Montañez ME (2008) Reconstrucción paleoclimática (Cuaternario-tardío) de la porción occidental del valle de Tehuacán, Puebla: Estudio palinológico. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Catalano SA, Vilardi JC, Tosto D, Saidman BO (2008) Molecular phylogeny and diversification history of *Prosopis* (Fabaceae: Mimosoideae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 93, 621-640.
- Ceplitis A, Su Y, Lascoux M (2005) Bayesian inference of evolutionary history from chloroplast microsatellites in the cosmopolitan weed *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae). *Molecular Ecology*, 14, 4221-4233.
- Chávez Rendón C (2006) Actualización e incremento del banco de datos de la colección de herbario del Jardín Etnobotánico de Oaxaca. Centro Cultural Santo Domingo. Bases de datos SNIB2010-CONABIO proyecto No. BC003. México, D.F.
- Chmielewski M, Meyza K, Chybicki IJ, Dzialuk A, Litkowiec M, Burczyk J (2015) Chloroplast microsatellites as a tool for phylogeographic studies: the case of white oaks in Poland. *Biogeosciences and forestry*, 8, 765-771.

- Chunco AJ, Phimmachak S, Sivongxay N, Stuart BL (2013) Predicting environmental suitability for a rare and threatened species (Lao Newt, *Laotriton laoensis*) using validated species distribution models. *Plos One*, 8, 1-13.
- CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres) (2017) Apéndices I, II y III. Disponible en: <https://cites.org/sites/default/files/esp/app/2017/S-Appendices-2017-04-04.pdf>. Consultado el 28 de agosto de 2017.
- Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: A computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9, 1657-1660.
- 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.
- Comes HP, Kadereit JW (1998) The effect of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution. *Trends in Plant Science Reviews*, 11, 1360–1385.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad) (2015) Red Mundial de Información sobre Biodiversidad. Disponible en: www.conabio.gob.mx/remib/doctos/remib_esp.html. Consultado el 17 de febrero de 2015.
- 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.
- Cornejo-Romero A (2013) Estructura genética y filogeografía de dos cactus endémicos del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Cornejo-Romero A, Medina-Sánchez J, Hernández-Hernández T, Rendón-Aguilar B, Valverde PL, Zavala-Hurtado A, Rivas-Arancibia SP, Pérez-Hernández MA, López-Ortega G, Jiménez-Sierra C, Vargas-Mendoza CF (2014) Quaternary origin and genetic divergence of the endemic cactus *Mammillaria pectinifera* in a changing landscape in the Tehuacán Valley, México. *Genetics and Molecular Research*, 13, 73-88.
- Crisp MD, Cook LG (2012) Phylogenetic niche conservatism: what are the underlying evolutionary and ecological causes? *New Phytologist*, 196, 681-694.
- Crozier BS (2005) Phylogeny, cpDNA evolution, and classification, with emphasis on the genus *Mammillaria* Haw. Doctor of Philosophy. University of Texas. Austin, Texas. 155 p
- Cruz MA, Arias S, Terrazas T (2016) Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Disocactus* (Cactaceae), based on the DNA sequences of six chloroplast markers. *Willdenowia*, 46, 145-164.
- Cuervo-Robayo AP, Téllez-Valdés O, Gómez-Albores MA, Venegas-Barrera CS, Manjarrez J, Martínez-Meyer E (2014) An update of high-resolution monthly climate surfaces for Mexico. *International Journal of Climatology*, 34, 2427–2437.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9, 772.

- Dávila P, Arizmendi MC, Valiente-Banuet A, Villaseñor JL, Casas A, Lira R (2002) Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 11, 421-442.
- De Nova AJ, Medina R, Montero JC, Weeks A, Rosell JA, Olson ME, Eguiarte LE, Magallón S (2012) Insights into the historical construction of species-rich Mesoamerican seasonally dry tropical forests: the diversification of *Bursera* (Burseraceae, Sapindales). *New Phytologist*, 193, 276–287.
- Del Angel-Piña C (2005) Análisis cromosómico y determinación del tamaño del genoma por citometría de flujo en especies de *Mammillaria* de la serie *Supertextae* (Cactaceae). Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Demaio PH, Barfuss MH, Kiesling R, Till W, Chiapella JO (2011) Molecular phylogeny of *Gymnocalycium* (Cactaceae): assessment of alternative infrageneric systems, a new subgenus, and trends in the evolution of the genus. *American Journal of Botany*, 98, 1841-1854.
- DOF (Diario Oficial de la Federación) (1998) Decreto por el que se declara área natural protegida con el carácter de reserva de la biosfera, la región denominada Tehuacán-Cuicatlán, ubicada en los estados de Puebla y Oaxaca, Estados Unidos Mexicanos, Presidencia de la República. México, D. F. 18 de septiembre de 1998. pp 8-20.
- 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.
- Dzialuk A, Muchewicz E, Boratynski A, Montserrat JM, Boratynska K, Burczyk J (2009) Genetic variation of *Pinus uncinata* (Pinaceae) in the Pyrenees determined with cpSSR markers. *Plant Systematics and Evolution*, 277, 197-205
- Edgar RC (2004) MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32, 1792-1797.
- Edwards EJ, Nyffeler R, Donoghue MJ (2005) Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. *American Journal of Botany*, 92, 1177-1188.
- Elith J, Phillips SJ, Hastie T, Dudik M, Chee YE, Yates CJ (2011) A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and Distributions*, 17, 43–57.
- Ellstrand NC (2014) Is gene flow the most important evolutionary force in plants? *American Journal of Botany*, 101, 737-753.
- Ennos RA, Sinclair WT, Hu XS, Langdon A (1999) Using organelle markers to elucidate the history, ecology and evolution of plant populations. En: *Molecular systematics and plant evolution* (eds. Hollingsworth M, Bateman RM, Gornal RJ), pp 1-19. Taylor & Francis, London, UK.
- Estoup A, Jarne P, Cornuet JM (2002) Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Molecular Ecology*, 11, 1591-1604.
- Evans M, Smith S, Flynn R, Donoghue M (2009) Climate, niche evolution, and diversification of the “Bird-Cage” evening primroses (*Oenothera*, Sections *Anogra* and *Kleinia*). *The American Naturalist*, 173, 222-240.

- Fernández-Mazuecos M, Jiménez-Mejías P, Rotllan-Puig X, Vargas P (2014) Narrow endemics to Mediterranean islands: Moderate genetic diversity but narrow climatic niche of the ancient, critically endangered *Naufraga* (Apiaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 16, 190-202.
- Ferrari L, Orozco-Esquivel T, Manea V, Manea M (2012) The dynamic history of the Trans-Mexican Volcanic Belt and the Mexico subduction zone. *Tectonophysics*, 522-523, 122-149.
- 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.
- Ferrusquía-Villafranca I (2007) Ensayo sobre la caracterización y significación biológica. En: *Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana*, pp. 7–23 (eds. Luna I, Morrone JJ, Espinosa D), Las prensas de Ciencias, UNAM, México.
- Fiala B, Slik F, Weising K, Maschwitz U, Mohamed M, Guicking D (2016) Phylogeography of three closely related myrmecophytic pioneer tree species in SE Asia: implications for species delimitation. *Organisms, Diversity and Evolution*, 16, 39–52.
- Fielding AH, Bell JF (1997) A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. *Environmental Conservation*, 24, 38-49.
- Flores-Martínez A, Manzanero GI, Golubov J, Mandujano MC (2013) Biología floral de *Mammillaria huitzilopochtli*, una especie rara que habita acantilados. *Botanical Sciences*, 91, 349-356.
- 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.
- Fouquet A, Ficetola GF, Haigh A, Gemmell N (2010) Using ecological niche modelling to infer past, present and future environmental suitability for *Leiopelma hochstetteri*, an endangered New Zealand native frog. *Biological Conservation*, 143, 1375–1384.
- Franck AR, Cochrane BJ, Garey JR (2012) Low-copy nuclear primers and *ycf1* primers in Cactaceae. *American Journal of Botany: Primer Notes & Protocols in the Plant Sciences*. E405-407.
- Franco-Estrada D (2017) Análisis filogenético del género *Peniocereus* (Cactaceae). Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas (Sistemática). Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Franklin J (2010) Mapping species distributions: spatial inference and prediction. Cambridge University Press. Cambridge. U. S. A. 320 p.
- Fuentes-Aguilar L, López-Recéndez R, Soto-Mora C (1971) Metodología para el análisis geográfico de la zona de San Juan Raya (Municipio de Zapotitlán, Puebla). *Boletín del Instituto de Geografía*, 4, 323-368.
- Funk DJ (2009) Investigating ecological speciation. En: *Speciation and patterns of diversity*, pp. 195-218 (eds. Butlin RK, Bridle JR, Schuller D) Cambridge University Press, Cambridge. U. S. A.

- Funk DJ, Nosil P, Etges WJ (2006) Ecological divergence exhibits consistently positive associations with reproductive isolation across disparate taxa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 3209-3213.
- Gao Y, Ai B, Kong H, Kang M, Huang H (2015) Geographical pattern of isolation and diversification in karst habitat islands: a case study in the *Primulina eburnea* complex. *Journal of Biogeography*, 42, 2131–2144.
- GBIF (Global Biodiversity Information Facility) (2015) Disponible en: <http://www.data.gbif.org>. Consultado el 17 de febrero de 2015.
- Givnish TJ (2010) Ecology of plant speciation. *Taxon*, 59, 1326–1366.
- Glor RE (2010) Phylogenetics insights on adaptive radiation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41, 251-270.
- Goettsch B, Hernández H (2006) Beta diversity and similarity among cactus assemblages in the Chihuahuan Desert. *Journal of Arid Environments*, 65, 513–528
- Goldstein DB, Pollock (1997) Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *Journal of Heredity*, 88, 335-342.
- Good-Ávila SV, Souza V, Gaut BS, Eguiarte LE (2006) Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 9124-9129.
- Gorelick R (2009) Evolution of cacti is largely driven by genetic drift, not selection. *Bradleya*, 27, 37-48.
- Graham CH, Ron SR, Santos JC, Schneider CJ, Moritz C (2004) Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanism in dendrobatid frogs. *Evolution*, 58, 1781-1793.
- Graham SW, Reeves PA, Burns ACE, Olmstead RG (2000) Microstructural changes in noncoding chloroplast DNA: interpretation, evolution, and utility of indels and inversion in basal angiosperm phylogenetic inference. *International Journal of Plant Sciences*, 161, S83-S96.
- Griffith MP, Porter JM (2009) Phylogeny of Opuntioideae (Cactaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 170, 107-116.
- Grivet D, Petit RJ (2003) Chloroplast DNA phylogeography of the hornbeam in Europe: Evidence for a bottleneck at the outset of postglacial colonization. *Conservation Genetics*, 4, 47-53.
- Guerrero PC, Arroyo MTK, Bustamante RO, Duarte M, Hagemann TK, Walter HE (2011) Phylogenetics and predictive distribution modeling provide insights into the geographic divergence of *Eriosyce* subgen. *Neoporteria* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 297, 113–128.
- Guisan A, Zimmermann NE (2000) Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling*, 135, 147-186.
- Guisan A, Thuiller W (2005) Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters*, 8, 993-1009.
- Gugger PF, González-Rodríguez A, Rodríguez-Correa H, Sugita S, Cavender-Bares J (2011) Southward Pleistocene migration of Douglas-fir into Mexico: phylogeography, ecological niche modeling, and conservation of 'rear edge' populations. *New Phytologist*, 189, 1185–1199.

- Gugger PF, Ikegami M, Sork VL (2013) Influence of late Quaternary climate change on present patterns of genetic variation in valley oak, *Quercus lobata* Née. *Molecular Ecology*, 22, 3598-3612.
- 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.
- Guzmán U, Arias S, Dávila P (2007) Catálogo de autoridades taxonómicas de las cactáceas (Cactaceae: Magnoliopsida) de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Base de datos SNIB-CONABIO, proyectos Q045 y AS021. D.F.
- Hale ML, Borland AM, Gustafsson MH, Wolff K (2004) Causes of size homoplasy among chloroplast microsatellites in closely related *Clusia* species. *Journal of Molecular Evolution*, 58, 182-190.
- Hamilton A, Shengji P, Huai H, Anderson S (2012) Why and how to make plant conservation ecosystem-based. *Sustainable Agriculture Research*, 1, 48-54.
- Hardy OJ, Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, 2, 618-620.
- Harper JL (1977) *Population biology of plants*. Academic Press, New York.
- Harpke D, Peterson A (2006) Non-concerted ITS evolution in *Mammillaria* (Cactaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41, 579-593.
- Hartman S, Nason JD, Bhattacharya D (2001) Extensive ribosomal DNA genic variation in the columnar cactus *Lophocereus*. *Journal of Molecular Evolution*, 53, 124-134.
- Hernández HM, Godinez H (1994) Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Botánica Mexicana*, 26, 33-52.
- Hernández HM, Gómez-Hinostrosa C (2015) Mapping the Cacti of Mexico, their geographical distribution based on referenced records. Part II *Mammillaria*. Succulent Plant Research. England, 189 p.
- Hernández-Hernández T, Brown JW, Schlumpberger BO, Eguiarte LE, Magallón S (2014) Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New Phytologist*, 202, 1382-1397.
- Hernández-Hernández T, Colorado WB, Sosa V (2013) Molecular evidence for the origin and evolutionary history of the rare American desert monotypic family Setchellanthaceae. *Organisms, Diversity and Evolution*, 13, 485-496.
- Hernández-Hernández T, Hernández HM, De-Nova JA, Puente R, Eguiarte LE, Magallón S (2011) Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (*Caryophyllales*, *Eudicotyledoneae*). *American Journal of Botany*, 98, 44-61.
- Hershkovitz MA, Zimmer EA (1997) On the evolutionary origins of the cacti. *Taxon*, 46, 217-232.
- Heuertz M, Carnevale S, Fineschi S, Sebastian F, Hausman JF, Paule L, Vendramin GG (2006) Chloroplast DNA phylogeography of European ashes, *Fraxinus* sp. (Oleaceae): roles of hybridization and life history traits. *Molecular Ecology*, 15, 2131-2140.
- Hewitt GM (2001) Speciation, hybrid zones and phylogeography-or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology*, 10, 537-549.
- Hewitt GM (2004) Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Serie B, Biological Sciences*. 359, 183-195.

- Hughes M, Hollingsworth PM (2008) Population genetic divergence corresponds with species-level biodiversity patterns in the large genus *Begonia*. *Molecular Ecology*, 17, 2643–2651.
- Hunt D (1971) Schumann and Buxbaum Reconciled. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain*, 33, 53-72.
- Hunt D (1979) Recent *Mammillaria* discoveries. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain*, 41, 95-110.
- Hunt D (2006) The new cactus lexicon. Vol. I. The Manse, Chapel Lane, Milborne Port Sherborne. U. K.
- Hutchinson E (1978) An Introduction to Population Ecology. Yale University Press, New Haven. U. S. A. 260 p.
- IUCN (2017) Red List of Threatened Species. v. 3.1. IUCN Red List. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org>. Consultado el 28 de agosto de 2017.
- Jaime R, Alcántara JM, Bastida JM, Rey PJ (2015) Complex patterns of environmental niche evolution in Iberian columbines (genus *Aquilegia*, Ranunculaceae). *Journal of Plant Ecology*, 8, 457-467.
- Jakob SS, Blattner FR (2006) A Chloroplast Genealogy of *Hordeum* (Poaceae): Long-Term Persisting Haplotypes, Incomplete Lineage Sorting, Regional Extinction, and the Consequences for Phylogenetic Inference. *Molecular Biology and Evolution*, 23, 1602-1612.
- Jardón-Barbolla L, Delgado-Valerio P, Geada-López G, Vázquez-Lobo A, Piñero D (2011) Phylogeography of *Pinus* subsection *Australes* in the Caribbean Basin. *Annals of Botany*, 107, 229-241.
- Kelchner SA (2000) The evolution of non-coding chloroplast DNA and its application in plant systematics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 87, 482-498.
- Kelchner SA, Clark (1997) Molecular Evolution and phylogenetic utility of the chloroplast rpl16 intron in *Chusquea* and the Bambusoideae (Poaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 8, 385-397.
- Kelchner SA, Wendel JF (1996) Hairpins create minute inversions in non-coding regions of chloroplast DNA. *Current Genetics*, 30, 259-262.
- Kim KJ, Lee HL (2005) Widespread occurrence of small inversions in the chloroplast genomes of land plants. *Molecules and Cells*, 19, 104-113.
- Klak C, Reeves G, Hedderson T (2004) Unmatched tempo of evolution in Southern African semi-desert ice plants. *Nature*, 427, 63- 65
- Knowles LL, Maddison WP (2002) Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*, 11, 2623-2635.
- Kosak KH, Wiens JJ (2006) Does niche conservatism promote speciation? A case study in North American salamanders. *Evolution*, 60, 2604-2621.
- Korotkova N, Borsch T, Quandt D, Taylor NP, Müller KF, Barthlott W (2011) What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? An example from the epiphytic Rhipsalideae (Cactaceae). *American Journal of Botany*, 98, 1549-1572.
- Korotkova N, Nauheimer L, Ter-Voskanyan H, Allgaier M, Borsch T (2014) Variability among the most rapidly evolving plastid genomic regions is lineage-specific: implications of pairwise genome comparisons in *Pyrus* (Rosaceae) and other angiosperms for marker choice. *Plos One*, 9, 1-16.

- Korotkova N, Zabel L, Quandt D, Barthlott W (2010) A phylogenetic analysis of *Pfeiffera* and the reinstatement of *Lymanbensonia* as an independently evolved lineage of epiphytic Cactaceae within a new tribe Lymanbensonieae. *Willdenowia*, 40, 151-171.
- Lemes MR, Dick CW, Navarro C, Lowe AJ, Cavers S, Gribel R (2010) Chloroplast DNA microsatellites reveal contrasting phylogeographic structure in Mahogany (*Swietenia macrophylla* King, Meliaceae) from Amazonia and Central America. *Tropical Plant Biol.*, 3, 40-49.
- Leuenberger BE (1986) *Pereskia* Cactaceae. Bronx, New York, New York Botanical Garden. 141 p.
- Librado P, Rozas J (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25, 1451-1452.
- Lira R, Casas A, Rosas-López R, Paredes-Flores M, Pérez-Negrón E, Rangel-Landa S, Solís L, Torres I, Dávila P (2009) Traditional Knowledge and Useful Plant Richness in the Tehuacán–Cuicatlán Valley, Mexico. *Economic Botany*, XX, 1-17.
- Liu JQ, Sun YS, Ge XJ, Gao LM, Qiu YX (2012) Phylogeographic studies of plants in China: Advances in the past and directions in the future. *Journal of Systematics and Evolution*, 50, 267-275.
- Loera I, Sosa V, Ickert-Bond SM (2012) Diversification in North American arid lands: niche conservatism, divergence and expansion of habitat explain speciation in the genus *Ephedra*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65, 437-450.
- Lorenz-Lemke AP, Togni PD, Mäder G, Kiredt RA, Stehmann JR, Salzano FM, Bonatto SL, Freitas LB (2010) Diversification of plant species in a subtropical region of Eastern South American highlands: a phylogeographic perspective on native *Petunia* (Solanaceae). *Molecular Ecology*, 19, 5240-5251.
- López-Ortiz NM (2013) Diversidad y estructura genética poblacional de *Mammillaria zephyranthoides* (Cactaceae): una especie endémica de México. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Losos JB (2008) Phylogenetic niche conservatism, phylogenetic signal and the relationship between phylogenetic relatedness and ecological similarity among species. *Ecology Letters*, 11, 995-1007.
- Losos JB, Glor RE (2003) Phylogenetic comparative methods and the geography of speciation, *Trends in Ecology and Evolution*, 18, 220-227.
- Löhne C, Borsch T, Wiersema JH (2007) Phylogenetic analysis of Nymphaeales using fast-evolving and noncoding chloroplast markers. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 154, 141–163.
- Lüthy JM (1995) Taxonomische untersuchung der gattung *Mammillaria* Haw. Tesis de Doctorado. Universidad de Berna. Suiza.
- Macías-Arrastio FF (2014) Diversidad y estructura genética poblacional de *Mammillaria solisioides* Backeb. especie endémica de la Mixteca de Oaxaca y Puebla. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Maddison WP (1997) Gene Trees in Species Trees. *Systematic Biology*, 46, 523-536.
- Maddison WP, Maddison DR (2010) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.74. Disponible en <http://mesquiteproject.org>.

- Majure LC, Judd WS, Soltis PS, Soltis DE (2012 a) Cyto geography of the *Humifusa* clade of *Opuntia* s.s. Mill. 1754 (Cactaceae, Opuntioideae, Opuntieae): correlations with Pleistocene refugia and morphological traits in a polyploid complex. *Comparative Cytogenetics*, 61, 53-77.
- Majure LC, Puente R, Griffith MP, Judd WS, Soltis PS, Soltis DE (2012 b) Phylogeny of *Opuntia* S.S. (Cactaceae): clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American Journal of Botany*, 99, 847–864.
- Marshall HD, Newton C, Ritland K (2002) Chloroplast phylogeography and evolution of highly polymorphic microsatellites in lodgepole pine (*Pinus contorta*). *Theoretical Applied Genetics*, 104, 367-378.
- Martínez-Cabrera HI, Schlichting CD, Silander JA, Jones CS (2012) Low levels of climate niche conservatism may explain clade diversity patterns in the South African genus *Pelargonium* (Geraniaceae). *American Journal of Botany*, 99, 954–960.
- Martínez-Meyer E, Peterson AT (2006) Conservatism of ecological niche characteristics in North American plant species over the Pleistocene-to-Recent transition. *Journal of Biogeography*, 33, 1779–1789.
- Martorell C, Patiño P (2006) Globose cacti (Mammillaria) living on cliffs avoid high temperatures in a hot dryland of Southern Mexico. *Journal of Arid Environments*, 67, 541–552.
- Matos JA, Schaal BA (2000) Chloroplast evolution in the *Pinus montezumae* complex: a coalescent approach to hybridization. *Evolution*, 54, 1218-1233.
- McCauley DE (1995) The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 10, 198-202.
- McCormack JE, Zellmer AJ, Knowles LL (2010) Does niche divergence accompany allopatric divergence in *Aphelocoma* jays as predicted under ecological speciation?: Insights from test with niche models. *Evolution*, 64, 1231-1244.
- McGuire JA, Linkem CW, Koo MS, Hutchinson DW, Lappin AK, Orange DI, Lemos-Espinal J, Riddle BR, Jaeger JR (2010) Mitochondrial introgression and incomplete lineage sorting through space and time: phylogenetics of Crotaphytid lizards. *Evolution*, 61, 2879-2897.
- Medina-Sánchez J (2010) Cenozoic environmental evolution of the San Juan Raya Basin, south central Mexico. Tesis de Doctorado en Filosofía. Universidad de Leischester. Inglaterra.
- Méndez-Larios I, Ortiz E, Villaseñor JL (2004) Las Magnoliophyta endémicas de la porción xerofítica de la provincia florística del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. *Anales del Instituto de Biología*, 75, 87-104.
- Micheneau C, Duffy KJ, Smith RJ, Stevens LJ, Stout JC, Civeyrel L, Cowan RS, Fay MF (2010) Plastid microsatellites for the study of genetic variability in the widespread *Cephalanthera longifolia*, *C. damasonium* and *C. rubra* (Neottieae, Orchidaceae), and cross-amplification in other *Cephalanthera* species. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 163, 181–193.
- Miguel-Talonia C, Téllez-Váldes O, Murguía-Romero M (2014) Las cactáceas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México: estimación de la calidad del muestreo. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 436-444.

- Moreno-Letelier A, Piñero D (2009) Phylogeographic structure of *Pinus strobiformis* Engelm. across the Chihuahuan Desert filter-barrier. *Journal of Biogeography*, 36, 121–131.
- Mourelle C, Ezcurra E (1996) Species richness of Argentine cacti: a test of biogeographic hypotheses. *Journal of Vegetation Science*, 7, 667–680.
- Mourelle C, Ezcurra E (1997) Differentiation diversity of Argentine cacti and its relationship to environmental factors. *Journal of Vegetation Science*, 8, 547–558.
- Nakazato T, Warren DL, Moyle LC (2010) Ecological and geographic modes of species divergence in wild tomatoes. *American Journal of Botany*, 97, 680-693.
- Navascués M, Emerson BC (2005) Chloroplast microsatellites: measures of genetic diversity and the effect of homoplasy. *Molecular Ecology*, 14, 1333-1341.
- Neigel JE, Avise JC (1986) Phylogenetic relationships of mitochondrial DNA under various demographic models of speciation. En: *Evolutionary Process and Theory* (eds. Nevo E, Karlin S), pp. 515-534. Academic Press, New York. U. S. A.
- Newton AC, Allnutt TR, Gillies ACM, Lowe AJ, Ennos RA (1999) Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. *Trends in Ecology and Evolution*, 14, 140-145.
- Nieto-Feliner G (2014) Patterns and processes in plant phylogeography in the Mediterranean Basin. A review. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 16, 265-278.
- Nosil P (2012) Ecological speciation. Oxford University Press, Oxford. U. K. 280 p.
- Novoa-Lara CP (2008) Contribución al estudio taxonómico de *Mammillaria supertexta* y *M. dixanthocentron* de la serie Supertextae (Cactaceae). Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Nyffeler R (2002) Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from *trnK/matK* and *trnL-trnF* sequences. *American Journal of Botany*, 89, 312-326.
- Ocampo G, Columbus JT (2010) Molecular phylogenetics of suborder Cactineae (Caryophyllales), including insights into photosynthetic diversification and historical biogeography. *American Journal of Botany*, 97, 1827-1847.
- Ochoa-Tejeda V (2001) Geomorfología, clima y vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán Pue-Oax. México. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Odee DW, Telford A, Wilson J, Gaye A, Cavers S (2012) Plio-Pleistocene history and phylogeography of *Acacia senegal* in dry woodlands and savannahs of sub-Saharan tropical Africa: evidence of early colonization and recent range expansion. *Heredity*, 109, 372–382.
- Ornelas JF, Rodríguez-Gómez F (2015) Influence of Pleistocene glacial/interglacial cycles on the genetic structure of the mistletoe cactus *Rhipsalis baccifera* (Cactaceae) in Mesoamerica. *Journal of Heredity*, 1-15, doi:10.1093/jhered/esu113.
- Ortega-Baes P, Godinez-Álvarez H (2006) Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity and Conservation*, 15, 817-827.
- Osorio BO, Valiente-Banuet A, Dávila P, Medina R (1996) Tipos de vegetación y diversidad β en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 59, 35-58.

- Palmer JD (1985) Comparative organization of chloroplast genomes. *Annual Review of Genetics*, 19, 325–354.
- Pearson RG, Raxworthy CJ, Nakamura M, Peterson AT (2007) Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography*, 34, 102–117
- 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 reléase in *Mammillaria pectinifera* (Cactaceae), a small globose cactus. *American Journal of Botany*, 96, 537-541.
- Peterson AT (2011) Ecological niche conservatism: a time-structured review of evidence. *Journal of Biogeography*, 38, 817–827.
- Peterson AT, Soberón J, Sánchez-Cordero V (1999) Conservation of ecological niches in evolutionary time. *Science*, 285, 1265-1267.
- Peterson AW, Soberón K, Pearson RG, Anderson RP, Martínez-Meyer E, Nakamura M, Araújo MB (2011) Ecological niches and geographic distributions. Princeton University Press, Princeton. U. S. A. 314 p.
- Petit RJ, Excoffier L (2009) Gene flow and species delimitation. *Trends in Ecology and Evolution*, 24, 386-393.
- Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190, 231–259.
- Pilbeam J (1999) *The cactus file handbook 6: Mammillaria*. Cirio Publishing Services, Southampton. U. K. 376 p.
- Pinkava DJ (2002) On the evolution of the North American Opuntioideae (Cactaceae). En: *Studies in the Opuntioideae (Cactaceae)* (eds. Hunt DR, Taylor NP), pp. 59-98. The Manse, Chapel Lane, Milborne Port Sherborne. U. K.
- Plume O, Straub SCK, Tel-Zur N, Cisneros A, Schneider B, Doyle JJ (2013) Testing a hypothesis of intergeneric allopolyploidy in vine cacti (Cactaceae: Hylocereeae). *Systematic Botany*, 38, 737-751.
- Pons O, Petit RJ (1996) Measuring and Testing Genetic Differentiation with Ordered Versus Unordered Alleles. *Genetics*, 144, 1237–1245.
- Pontarp M, Ripa J, Lundberg P (2014) The biogeography of adaptive radiations and the geographic overlap of sister species. *The American Naturalist*, 186, 565-581.
- Posada D, Crandall KA (2001) Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, 37-45.
- Powell W, Machray GC, Provan J (1995) Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science Reviews*, 1, 215-222.

- Prinzing A, Durka W, Klotz S, Brandl R (2001) The niche of higher plants: evidence for phylogenetic conservatism. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*, 268, 2383-2389.
- Provan J, Soranzo N, Wilson NJ, McNiel JW, Morgante M, Powell W (1999) The use of uniparentally inherited simple sequence repeat markers in plant population studies and systematics. En: *Molecular systematics and plant evolution* (eds. Hollingsworth M, Bateman RM, Gornal RJ), pp 35–50. Taylor & Francis, London, UK.
- Provan J, Powell W, Hollingsworth PM (2001) Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, 142-147.
- Pyron RA, Costa GC, Patten MA, Burbrink FT (2015) Phylogenetic niche conservatism and the evolutionary basis of ecological speciation. *Biological Reviews*, 90, 1248-1262.
- Qiao H, Soberón J, Peterson AT (2015) No silver bullets in correlative ecological niche modelling: insights from testing among many potential algorithms for niche estimation. *Methods in Ecology and Evolution*, 6, 1126–1136.
- Quintela-Sabarís C, Vendramin GG, Castro-Fernández D, Fraga MI (2011) Chloroplast DNA phylogeography of the shrub *Cistus ladanifer* L. (Cistaceae) in the highly diverse Western Mediterranean Region. *Plant Biology*, 13, 391–400.
- Ramírez-Arriaga E, Prámparo MB, Martínez-Hernández E, Valiente-Banuet A (2006) Palynology of the Paleogene Cuayuca Formation (stratotype sections), southern Mexico: Chronostratigraphical and palaeoecological implications. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 141, 259–275.
- Ramírez-Arriaga E, Prámparo MB, Nieto-Samaniego AF, Martínez-Hernández E, Valiente-Banuet A, Macías-Romo, Dávalos-Álvarez OG (2014) Palynological evidence for Middle Miocene vegetation in the Tehuacán Formation of Puebla, Mexico. *Palynology*, 38, 1-27.
- Raxworthy CJ, Ingram CM, Rabibiosa N, Pearson RG (2007) Applications of ecological niche modeling for species delimitation: a review and empirical evaluation using day geckos (*Phelsuma*) from Madagascar. *Systematic Biology*, 56, 907-923.
- Rebernick CA, Schneeweiss GM, Bardy KE, Schönswetter P, Villaseñor JL, Obermayer R, Stuessy TF, Weiss-Schneeweiss H (2010) Multiple Pleistocene refugia and Holocene range expansion of an abundant southwestern American desert plant species (*Melampodium leucanthum*, Asteraceae). *Molecular Ecology*, 19, 3421–3443.
- Remski MF (1954) Cytological investigations in *Mammillaria* and some associated genera. *Botanical Gazette*, 116, 163-171.
- Reyes J, Brachet C, Pérez J, Gutiérrez A (2004) Cactáceas y otras plantas nativas de la Cañada, Cuicatlán, Oaxaca, México. Comisión Federal de Electricidad – Sociedad Mexicana de Cactología, A.C. México, D. F.
- Rieseberg LH, Willis JH (2007) Plant speciation. *Science*, 317, 910-914.
- Rinnhofer LK, Roura-Pascual N, Arthofer W, Dejaco T, Thaler-Knoflach B, Wachter GA, Christian E, Steiner FM, Schlick-Steiner BC (2012) Iterative species distribution modelling and ground validation in endemism research: an Alpine jumping bristletail example. *Biodiversity and Conservation*, 21, 2845-2863.

- Rissler LJ, Apodaca JJ (2007) Adding more ecology into species delimitation: ecological niche models and phylogeography help define cryptic species in the black salamander (*Aneides flavipunctatus*). *Systematic Biology*, 6, 924-942.
- 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.
- Romeiro-Brito M, Moraes EM, Taylor NP, Zappi DC, Franco FF (2016) Lineage-specific evolutionary rate in plants: contributions of screening for *Cereus* (Cactaceae). *Applications in Plants Sciences*, 4, 1500074.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61, 539-542.
- Rosenberg NA, Nordborg M (2002) Genealogical trees, coalescent theory and the analysis of genetic polymorphisms. *Nature Reviews Genetics*, 3, 380-390.
- Ruiz-Sánchez E, Rodríguez-Gómez F, Sosa V (2012) Refugia and geographic barriers of populations of the desert poppy, *Hunnemannia fumariifolia* (Papaveraceae). *Organisms, diversity and evolution*, 12, 133-143.
- Rundle HD, Nosil P (2005) Ecological speciation. *Ecology Letters*, 8, 336-352.
- Rundle HD, Schluter D (2004) Natural selection and ecological speciation in sticklebacks. En: *Adaptive Speciation* (eds. Dieckmann U, Doebeli M, Metz JAJ, Tautz D), pp. 192–209. Cambridge University Press, Cambridge. U. S. A.
- Rundle RJ, Price TD (2009) Adaptive radiation, nonadaptive radiation, ecological speciation and nonecological speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, 24, 394-399.
- Rzedowski J (1991) El endemismo en la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar. *Acta Botánica Mexicana*, 15, 47-64.
- Rzedowski J (2006) Vegetación de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. D. F. México
- Sánchez D, Arias S, Terrazas T (2014) Phylogenetic relationships in *Echinocereus* (Cactoideae, Cactoideae). *Systematic Botany*, 39, 1183-1196.
- Sanderson MJ, Copetti D, Búrquez A, Bustamante E, Charboneau JLM, Eguiarte LE, Kumar S, Lee HO, McMahon M, Steele K, Wing R, Yang TJ, Zwickl D, Wojciechowski MF (2015) Exceptional reduction of the plastid genome of saguaro cactus (*Carnegiea gigantea*): Loss of the *ndh* gene suite and inverted repeat. *American Journal of Botany*, 102, 1-13.
- Sang T, Crawford DJ, Stuessy TF (1997) Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany*, 84, 1120-1136.
- Schaal BA, Hayworth DA, Olsen KM, Rauscher JT, Smith WA (1998) Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology*, 7, 465-474.
- Schaal BA, Olsen KM (2000) Gene genealogies and population variation in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 7024-7029.

- Shafer ABA, Cullingham CI, Côté SD, Coltman DW (2010) Of glaciers and refugia: a decade of study sheds new light on the phylogeography of northwestern North America. *Molecular Ecology*, 19, 4589–4621.
- 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. U. S. A.
- Schlumpberger BO (2012) A survey on pollination modes in cacti and a potential key innovation. En *Evolution of plant-pollinator interactions* (ed. Patiny S). pp. 301-319. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Schluter D (2000) The ecology of adaptive radiation. Oxford University Press, Oxford. U. K. 288 p.
- Schluter D (2001) Ecology and the origin of species. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, 372-380.
- Schulter D (2009) Evidence for ecological speciation and its alternative. *Science*, 323, 737- 741.
- Shaw J, Lickey EB, Beck JT, Farmer SB, Liu W, Miller J, Siripun KC, Winder CT, Schilling EE, Small RL (2005) The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany*, 92, 142-166.
- Shaw J, Lickey EB, Schilling EE, Small RL (2007) Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94, 275-288
- Shaw J, Shafer HL, Leonard OR, Kovach MJ, Schorr M, Morris AB (2014) Chloroplast DNA sequence and phylogeographic inferences in angiosperms: the tortoise and the tortoise and the hare IV. *American Journal of Botany*, 101, 1987-2004.
- Silva GAR, Jojima CL, Moraes EM, Antonelli A, Manfrin MH, Franco FF (2016) Intra and interspecific sequence variation in closely related species of *Cereus* (CACTACEAE). *Biochemical Systematics and Ecology*, 65, 137-142.
- Silvertown, J Charlesworth D (2001) *Introduction to Plant Population Biology*, 4ta. ed. Blackwell Publishing, Oxford.
- Simmons ME, Ochoterena H (2000) Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology*, 49, 369-381.
- Small RL, Ryburn JA, Cronn RC, Tosak S, Wendel JE (1998) The tortoise and the hare: choosing between noncoding plastome and nuclear *Adh* sequences for phylogeny reconstruction in a recently diverged plant group. *American Journal of Botany*, 85, 1301-1315.
- Smith CR (1967) Plant Remains. En: *The prehistory of the Tehuacán Valley, Vol. I Environments and subsistence* (ed. McNeish RS, Peterson FA, Flannery KV). University of Texas Press, Texas.
- Smith SA, Donoghue MJ (2010) Combining Historical Biogeography with Niche Modeling in the *Caprifolium*Clade of *Lonicera* (Caprifoliaceae, Dipsacales). *Systematic Biology*, 59, 322-341.
- Sobel JM, Chen GF, Watt LR, Schemske DW (2009) The biology of speciation. *Evolution*, 64, 295–315.
- Soberón J, Nakamura M (2009) Niches and distributional areas: Concepts, methods, and assumptions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 17, 19644-19650.

- Soberón J, Peterson AT (2005) Interpretation of models of fundamental ecological niches and species' distribution areas. *Biodiversity Informatics*, 2, 1-10.
- Solórzano S, Arias S, Dávila P (2016) Genetics and conservation of plant species of extremely narrow geographic range y Supplementary Materials (S1). *Diversity*, 8, 1-12.
- Solórzano S, Cuevas-Alducin PD, García-Gómez V, Dávila P (2014) Genetic diversity and conservation of *Mammillaria huitzilopochtli* and *M. supertexta*, two threatened species endemic of the semiarid region of central Mexico. *Revista Mexicana de la Biodiversidad*, 85, 565-575.
- Solórzano S, Dávila P (2015) Identification of conservation units of *Mammillaria crucigera* (Cactaceae): perspectives for the conservation of rare species. *Plant Ecology and Diversity*, 8, 559–569.
- Solórzano S, López-Galindo F, Dávila P (2010) Factores edáficos asociados a la distribución restringida de especies endémicas de *Mammillaria* (Cactaceae). X Congreso Latinoamericano de Botánica, La Serena, Chile.
- Soltis DE, Morris AB, McLachlan JS, Manos PS, Soltis PS (2006) Comparative phylogeography of unglaciated eastern North America. *Molecular Ecology*, 15, 4261-4293.
- Stockwell D, Peters D (1999) The GARP modelling system: Problems and solutions to automated spatial prediction. *International Geographic Information Science*, 13, 143-158.
- Swofford DL (2002) PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). V. 4. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Massachusetts.
- Taberlet P (1998) Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*, 7, 453-464.
- Taberlet P, Gielly L, Pautou G, Bouvet J (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17, 1105-1109.
- Tate JA, Simpson BB (2003) Paraphyly of *Tarasa* (Malvaceae) and diverse origins of the polyploid species. *Systematic Botany*, 28, 723-737.
- Terrab A, Talavera S, Arista M, Paun O, Stuessy TF, Tremetsberger K (2007) Genetic diversity at chloroplast microsatellites (cpSSRs) and geographic structure in endangered West Mediterranean firs (*Abies* spp., Pinaceae). *Taxon*, 56, 409-416.
- Theodoridis S, Randin C, Broennimann O, Patsiou T, Conti E (2013) Divergent and narrower climatic niches characterize polyploid species of European primroses in *Primula* sect. *Aleuritia*. *Journal of Biogeography*, 40, 1278-1289.
- Thode VA, Silva-Arias G, Turchetto C, Segatto ALA, Mäder G, Bonatto SL, Freitas LB (2014) Genetic diversity and ecological niche modelling of the restricted *Recordia reitzii* (Verbenaceae) from southern Brazilian Atlantic forest. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 176, 332–348.
- Timme RE, Kuehl JV, Boore JL, Jansen RK (2007) A comparative analysis of the *Latuca* and *Helianthus* (Asteraceae) platid genomes: identification of divergent regions and categorization of shred repeats. *American Journal of Botany*, 94, 302–312.
- Turchetto C, Segatto A, Telles M, Diniz-Filho J, Freitas LB (2014) Intraspecific classification reflects genetic differentiation in the widespread *Petunia axillaris* complex: a comparison among

- morphological, ecological, and genetic patterns of geographic variation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 16, 75-82.
- Turchetto-Zolet AC, Cruz F, Vendramin GG, Simon MF, Salgueiro F, Margis-Pinheiro M, Margis R (2012) Large-scale phylogeography of the disjunct Neotropical tree species *Schizolobium parahyba* (Fabaceae – Caesalpinioideae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65, 174–182.
- Turchetto-Zolet AC, Pinheiro F, Salgueiro F, Silva-Palma (2013) Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology*, 22, 1193–1213.
- Turelli M, Barton NH, Coyne JA (2001) Theory and speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, 330-343.
- Twyford (2013) Population history and seed dispersal in widespread Central American Begonia species (Begoniaceae) inferred from plastome-derived microsatellite markers. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171, 260–276.
- Valiente-Banuet A, Casas A, Alcántara A, Dávila P, Flores-Hernández N, Villaseñor JL, Ortega-Ramírez J, Soriano A (2000) La vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 67, 25-75.
- 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.
- Vázquez-Lobo A, Aguilar-Montes G, Arias S, Golubov J, Hernández-Hernández T, Mandujano MC (2015) Phylogeny and biogeographic history of *Astrophytum* (Cactaceae). *Systematic Botany*, 40, 1022-1030.
- Vázquez-Sánchez M, Terrazas T, Arias S, Ochoterena H (2013) Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cacteeae (Cactaceae). *Systematics and Biodiversity*, 11, 103-116.
- Verboom GA, Linder P, Stock WD (2004) Phylogenetics of the grass genus *Ehrharta*: evidence for radiation in the summer-arid zone of the South African Cape. *Evolution*, 57, 1008-1021.
- Villaseñor JL, Dávila D, Chiang F (1990) Fitogeografía del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 50, 135-149.
- Wallace R, Gibson AC (2002) Evolution and systematics. En: *Cacti biology and uses* (ed. Nobel PS), pp. 1-22. University of California Press, California. U. S. A.
- Warren DL, Glor RE, Turelli M (2008) Environmental niche equivalency versus conservatism: quantitative approach to niche evolution. *Evolution*, 62, 2868-2883.
- Warren DL, Glor RE, Turelli M (2010) ENMTools: a toolbox for comparative studies of environmental niche models. *Ecography*, 33, 607-611.
- Warren DL, Seifert NE (2011) Ecological niche modeling in Maxent: the importance of model complexity and the performance of model selection criteria. *Ecological Applications*, 21, 335–342.
- Weising K, Gardner RC (1999) A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome*, 42, 9-19.

- Wendel JF, Doyle JJ (1998) Phylogenetic incongruence: window into genome history and molecular evolution. En: *Molecular systematics of plants II: DNA sequencing* (eds. Soltis DE, Soltis PS, Doyle JF), pp. 265-296. Springer Science + Business Media New York, New York. U. S. A.
- Wiens JJ (2004 a) Speciation and ecology revisited: phylogenetic niche conservatism and the origin of species. *Evolution*, 58, 193-197.
- Wiens JJ (2004 b) What Is Speciation and How Should We Study It? *The American Naturalist*, 163, 914-923.
- Wiens JJ Graham CH (2005) Niche conservatism: integrating Evolution, Ecology, and Conservation Biology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35, 519-539.
- Wiens JJ, Ackerly DD, Allen AP, Anacker BL, Buckley LB, Cornell HV, Damschen EI, Davies JT, Grytnes JA, Harrison SP, Hawkins BA, Holt RD, McCain CM, Stephens PR (2010) Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecology Letters*, 13, 1310-1324.
- Wolfe KH, Li WH, Sharp PM (1987) Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84, 9054-9058.
- Wright S (1943) Isolation by distance. *Genetics*, 28, 114-138.
- Yackulic CB, Chandler R, Zipkin EF, Royle JA, Nichols JD, Campbell Grant EH, Veran S (2013) Presence-only modelling using MAXENT: when can we trust the inferences? *Methods in Ecology and Evolution*, 4, 236–243.
- Zhou YF, Abbott RJ, Jiang ZY, Du FK, Milne RI, Liu JQ (2010 a) Gene flow and species delimitation: a case study of two pine species with overlapping distributions in southeast China. *Evolution*, 64, 2342-2352.
- Zhou TH, Li S, Qian ZQ, Su HL, Huang ZH, Guo ZG, Dai PF, Liu ZL, Zhao GF (2010 b) Strong phylogeographic pattern of cpDNA variation reveals multiple glacial refugia for *Saruma henryi* Oliv. (Aristolochiaceae), an endangered herb endemic to China. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57, 176-188.