



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIO SUPERIORES IZTACALA

“ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD Y LA ESTRUCTURA GENÉTICA
POBLACIONAL DE DOS ESPECIES DEL GÉNERO *Mammillaria*,
ENDÉMICAS DEL VALLE DE TEHUACÁN-CUICATLÁN”.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)

P R E S E N T A

HÉCTOR JAVIER TAPIA SALCIDO

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. SOFÍA SOLÓRZANO LUJANO

COMITÉ TUTOR: DR. ALEJANDRO CASAS FERNÁNDEZ
DR. SALVADOR ARIAS MONTES

MÉXICO, D.F.

ABRIL, 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 28 de junio del 2010, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA AMBIENTAL)** del (la) alumno (a) **TAPIA SALCIDO HÉCTOR JAVIER** con número de cuenta **97100908** con la tesis titulada **“Análisis de la diversidad y la estructura genética poblacional de dos especies del género *Mammillaria*, endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlan”**, realizada bajo la dirección del (la) **DRA. SOFÍA SOLÓRZANO LUJANO**:

Presidente: DR. ALEJANDRO CASAS FERNÁNDEZ
Vocal: DRA. PATRICIA DOLORES DÁVILA ARANDA
Secretario: DRA. SOFÍA SOLÓRZANO LUJANO
Suplente: DR. JORGE EDUARDO CAMPOS CONTRERAS
Suplente: DR. SALVADOR ARIAS MONTES

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

Atentamente
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cd. Universitaria, D.F., a 11 de abril de 2011.


Dra. María del Coro Arizmerdi Arriaga
Coordinadora del Programa

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

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por permitirme crecer en el ámbito académico y científico de la biología.

Al CONACYT, por la beca de manutención para cursar mis estudios de maestría (CVU/Becario: 256333/220293).

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la UNAM (PAPIIT-IN217808), por el financiamiento.

Al Macroproyecto “Programa de Manejo de Ecosistemas y Desarrollo Humano” (UNAM, SDEI-PTID-02), por su contribución.

Al Dr. Alejandro Casas Fernández, por ser ejemplo de esfuerzo, compromiso y dedicación.

Al Dr. Salvador Arias Montes, por su colaboración para ubicar localidades y determinar las especies colectadas.

A la Dra. Sofía Solórzano Lujano, que con paciencia, coraje y determinación ha intentado hacer de mí un profesional competente y calificado.

A la Dra. Patricia Dávila Aranda y al Dr. Jorge Campos Contreras, por revisar el manuscrito de esta tesis y sacar la viga de mi ojo.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Gracias a todos, porque lo mucho que me han dado hace que parezca nada lo poco que yo he retribuido...

Al Dr. Salvador, por sus sabios, apreciables y atinados consejos y por darme animo en todo momento.

A la M. en C. Laura Márquez, por su inapreciable asistencia para efectuar las electroforesis capilares.

Al Dr. Oswaldo Téllez, por su ayuda para ubicar localidades y generar el mapa de distribución de las especies.

A Ulises, por compartir un poco de su extenso conocimiento sobre mamilarias.

A Alejandro, por los consejos y la buena vibra de siempre.

A la Dra. Martha, por esa alegría que contagia.

A todos y cada uno de mis compañeros y ex compañeros del Laboratorio de Bioquímica Molecular: Verónica, Francisco Alberto, Gustavo, Carlos R., Salomón, Carolina, Jazmín, Aline, Sandra, Arturo, Diana, Laura, Carlos V., Marisol y los que faltaron.

Porque todos han sido ejemplo de trabajo, amistad y amor a la camiseta, por el apoyo en el trabajo de campo, en el laboratorio y, lo más importante, en el día con día.

DEDICATORIA

A ti, Berenice...

porque tú me has halado contigo para
que nunca me quede atrás en el camino;

porque con tus desvelos y ayunos has sido el
ejemplo de lucha, coraje y perseverancia a prueba
de todo que necesito hoy para continuar;

porque tú me has demostrado que el esfuerzo es
indispensable para alcanzar el éxito en cualquier terreno.

A mis padres,

porque siguen teniendo cuidado de mi...
igual que el primer día.

A mis hermanos,

porque han salido avante, superando toda
adversidad, luchando contracorriente,
motivándome para seguir en mi camino.

A Dayana,

que es un sol en nuestras vidas.

A los que se fueron,

dejando sólo semillas que ahora florecen.

*"La misión del conocimiento no es iluminar a un alma
que es oscura de por sí, ni hacer ver a un ciego.
Su misión no es descubrir los ojos del hombre,
sino guiarlo, gobernarlo y dirigir sus pasos
a condición de que tenga piernas y pies para caminar".*

Michel de Montaigne.

ÍNDICE

Lista de cuadros y figuras.....	II
Resumen.....	III
Abstract.....	V
Introducción.....	1
Antecedentes.....	4
Hipótesis.....	9
Objetivo general:.....	9
– Objetivo particular:.....	9
Área de estudio.....	10
Especies Estudiadas.....	12
Métodos.....	15
Trabajo de Campo.....	15
Trabajo de laboratorio.....	17
Análisis estadístico.....	19
Resultados.....	21
<i>Mammillaria napina</i>	21
– Densidad poblacional e índice de agregación de Lloyd.....	21
– Diversidad genética y alélica.....	21
– Flujo de genes y estructura genética.....	23
<i>Mammillaria sphaelata</i>	24
– Densidad poblacional.....	24
– Diversidad genética y alélica.....	24
– Flujo de genes y estructura genética.....	26
Discusión.....	27
<i>Mammillaria napina</i>	27
<i>Mammillaria sphaelata</i>	28
<i>Flujo génico y estructuración genética en especies de Cactáceas</i>	29
Conclusiones.....	30
Literatura Citada.....	31
Anexo 1: Ecuaciones.....	41

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.

Cuadro 1. Atributos demográficos, de distribución y de historia de vida de las especies estudiadas.	7
Cuadro 2. Lista de oligonucleótidos ensayados.	19
Cuadro 3. Tamaño de las plantas de <i>M. napina</i> y tipo de distribución.	23
Cuadro 4. Diversidad genética, estructuración y flujo génico para <i>M. napina</i> .	23
Cuadro 5. Heterocigosidad total esperada y diversidad alélica por locus para <i>M. napina</i> .	24
Cuadro 6. Diversidad genética, estructuración y flujo génico para <i>M. sphacelata</i> .	26
Cuadro 7. Heterocigosidad total esperada y diversidad alélica por locus para <i>M. sphacelata</i> .	27
Figura 1. Ubicación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán y distribución de las localidades de recolecta y localidades referenciadas.	11
Figura 2. Individuo de la especie <i>M. napina</i> .	13
Figura 3. Plantas de la especie <i>M. sphacelata</i> .	14

RESUMEN

Este estudio analiza la diversidad genética y el flujo génico poblacional en dos especies de cactáceas endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán: *Mammillaria napina*, de distribución restringida, con poblaciones aisladas y tamaños poblacionales pequeños, y *M. sphacelata* cuya distribución es amplia dentro de este valle, sus poblaciones son casi continuas y los tamaños poblacionales son relativamente más grandes que los de *M. napina*. En total se recolectaron 193 muestras de tejido de 87 individuos de *M. napina* de cuatro localidades y de 106 genets de *M. sphacelata* de cinco localidades. En cada sitio de *M. napina* se determinó la densidad poblacional usando un método de muestreo dirigido, mediante cuadros de 1 m². En el caso de *M. sphacelata* se usó un método sistemático, trazando cuadros de 100 m². Para *M. napina* se calculó el índice de agregación de Lloyd a partir de los datos de densidad. Los genotipos individuales se determinaron con base en tres loci de microsatélites, y con esta información se estimó: heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e), desviaciones con respecto al equilibrio Hardy-Weinberg, índices F de Wright, así como flujo de genes (Nm) y se efectuaron análisis moleculares de varianza (AMOVA). *M. napina* presentó densidades poblacionales entre 1.53 y 4.54 ind. / m², el tamaño promedio de las plantas por población fluctuó de 3.39 a 3.74 cm de diámetro. Esta especie presentó distribución agregada en tres de las cuatro localidades analizadas. Su diversidad genética fue moderada-alta, con un promedio de H_o = 0.58. Además, ninguna de sus poblaciones estuvo en equilibrio Hardy-Weinberg, se encontró un elevado nivel de endogamia (F_{IS} = 0.3313), un bajo índice de diferenciación (F_{ST} = 0.0910) y presencia de flujo génico (Nm > 1). Es decir, *M. napina* presentó una baja estructuración poblacional. Por su parte, *M. sphacelata* presentó densidades poblacionales altamente variables, de 2.8 a

34 genets / 100 m². De la misma forma, el área de cobertura de los genets fluctuó desde 6 hasta 1447 cm². En este caso, la diversidad genética fue alta, con un promedio de $H_o = 0.67$. La localidad de San Pedro no se encontró en equilibrio Hardy-Weinberg, posiblemente debido al elevado índice de endogamia que presentó ($F_{IS} = 0.2542$). La localidad de Tilapa presentó el valor de endogamia más alto ($F_{IS} = 0.5392$) y un tamaño poblacional de sólo 18 genets. En todas las localidades el índice de diferenciación fue bajo ($F_{ST} = 0.1035$), con presencia de flujo génico ($Nm > 1$), indicando también una baja estructuración genética. En ambas especies, el AMOVA indicó que la mayor proporción de la variación genética se presenta entre el total de los individuos, seguida por la que ocurre entre los individuos dentro de las poblaciones, lo cual apoya el supuesto de escasa estructuración genética. *M. napina* y *M. sphacelata* presentan valores de diversidad genética y alélica similares a los valores documentados para otras especies pertenecientes a la familia Cactaceae y al género *Mammillaria*. Debido a la movilidad limitada de polen y semillas que supuestamente presenta la especie *M. napina*, los altos valores estimados de flujo de genes podrían ser el reflejo de eventos de históricos de dispersión más no de eventos recientes. Los resultados de este estudio permiten caracterizar a las poblaciones de estas dos especies desde el punto de vista genético y sirven como antecedente para futuros estudios sobre conservación y manejo de estas especies endémicas.

ABSTRACT

This study analyzes the genetic diversity and gene flow in populations of two endemic cactus species of the Tehuacan-Cuicatlan Valley: *Mammillaria napina* with restricted distribution of isolated and small populations, and *M. sphaelata* which has wider distribution within this valley, with almost continuous and larger populations. A total of 193 tissue samples were collected from 87 *M. napina* individuals from four sites, and 106 *M. sphaelata* genets from five sites. To determine population density in every site of *M. napina* we used a purposive sampling method through squares of 1 m². In the case of *M. sphaelata* we used a systematic sampling method through quadrats of 100 m². The Lloyd aggregation index was calculated for *M. napina* density data. Individual genotypes were characterized from three microsatellite loci and with this information the following parameters were calculated: observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), deviation from Hardy-Weinberg equilibrium, Wright's F indices, gene flow (Nm) and analysis of molecular variance (AMOVA). *M. napina* had population densities between 1.53 and 4.54 ind. / m², and average plant sizes per site ranged from 3.39 to 3.74 cm in diameter. This species presented aggregate distribution in three of the four sites analyzed. Its genetic diversity was moderately high, with an average Ho = 0.58. Furthermore, none of their populations were at Hardy-Weinberg equilibrium, a high average levels of inbreeding (F_{IS} = 0.3313), low differentiation index (F_{ST} = 0.0910) and presence of gene flow (Nm > 1) were observed. That is, *M. napina* presented a low population structure. Meanwhile, *M. sphaelata* had highly variable population densities, ranging from 2.8 to 34 genets / 100 m². In the same way, genet covering areas fluctuate from 6 to 1447 cm². In this case, genetic diversity was high, with an average Ho = 0.67. The population of San Pedro was not in

Hardy-Weinberg equilibrium, probably due to the high level of inbreeding ($F_{IS} = 0.2542$). The population of *Tilapia* presented the highest value of inbreeding ($F_{IS} = 0.5392$) and a population size of only 18 genets. Differentiation index was low ($F_{ST} = 0.1035$) and gene flow high ($Nm > 1$) at all sites, indicating low population structure. In both species, the AMOVA indicated that the largest proportion of the variation occurs among all individuals, followed by the variation occurring among individuals within populations, which supports the assumption of null genetic structure. *M. napina* and *M. sphacelata* have genetic and allelic diversity values that are similar to the values reported for other species belonging to the Cactaceae family and the *Mammillaria* genus. Due to the mobility limitations supposed for *M. napina*, the observed values of gene flow may reflect historical more than recent pollen or seed dispersal events. Results of this study help to genetically characterize the populations of these two species and serve as background for future studies on the conservation of these endemic species.

INTRODUCCIÓN

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán es una región árida ubicada en el centro de México que se distingue por sus características ambientales, su ubicación intertropical y su compleja historia geológica. Estos factores han permitido el establecimiento de una enorme diversidad de especies vegetales, incluyendo una cantidad elevada de endemismos (Méndez-Larios et al. 2004). Por tratarse de una región árida, la familia Cactaceae es una de las más diversas (81 especies) y con una de las tasas de endemismo más alta (20 especies) (Arias-Montes et al. 1997). En particular, el género *Mammillaria* contribuye a la diversidad de esta familia con 22 especies, nueve de las cuales son endémicas al valle (Arias-Montes et al. 1997).

A pesar de su riqueza excepcional, son varias las especies del género *Mammillaria* que se consideran raras debido a que presentan un área de distribución restringida y tamaños poblacionales pequeños (Peters y Martorell 2001). La rareza, como atributo particular de algunas especies, puede conjugarse con el deterioro ambiental y poblacional ocasionado por actividades productivas del hombre (e.g., agricultura y ganadería), por la extracción indiscriminada de individuos y por la destrucción del hábitat. En el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, la combinación de estos factores amenaza la supervivencia de especies particulares de *Mammillaria* (Martorell y Peters 2005, 2009). Considerando el peligro de extinción que experimentan, son pocas las especies de este género que se incluyen en los listados de especies bajo protección, en alguna categoría de riesgo. La Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (Protección Ambiental - Especies nativas de México de Flora y Fauna Silvestre) incluye 103 especies de *Mammillaria* en

todo el país, 25 de las cuales son consideradas como amenazadas y 10 en peligro de extinción (DOF 2010). Por su parte, la lista roja de la IUCN (2010) incluye 34 especies de este género: 21 se consideran en alguna de las cinco categorías de mayor riesgo (vulnerable, amenazada, críticamente amenazada, extinta en estado silvestre o extinta), 12 se consideran en la categoría de preocupación menor y una presenta datos insuficientes.

El Método de Evaluación del Riesgo de Extinción de Especies Silvestres en México (MER) es la principal herramienta para incluir y asignar a las especies dentro de las diferentes categorías de riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF 2010). Desde su aparición en la Norma Oficial Mexicana previa, NOM-059-ECOL-2001 (DOF 2002), el MER ha considerado atributos demográficos y ecológicos, así como el impacto de las actividades humanas sobre las especies (Tambutti et al. 2001), pero no toma en cuenta ningún parámetro de genética de poblaciones. En particular, la información sobre genética de poblaciones es relevante en el caso de las especies con poblaciones pequeñas, debido a que habitualmente presentan una baja variabilidad genética y niveles de endogamia altos, lo cual suele relacionarse con un bajo potencial adaptativo (Willi et al. 2006). Ciertos procesos determinísticos y aleatorios como los cuellos de botella y la deriva génica son señalados como responsables de la reducción de la variabilidad genética y el aumento de la endogamia en poblaciones pequeñas (Ellstrand y Elam 1993). La pérdida de potencial adaptativo es un peligro para la supervivencia de cualquier especie cuando afecta su capacidad para responder a los cambios ambientales (Willi et al. 2006).

Sin embargo, los estudios realizados en poblaciones de especies raras no han encontrado una correspondencia clara entre los atributos demográficos y los genéticos. Desde el punto de vista demográfico, las especies raras generalmente presentan tasas de

crecimiento bajas y limitaciones importantes en su reproducción, mientras que su variabilidad genética presenta valores heterogéneos en cuanto a número de loci polimórficos y número de alelos por locus, entre otros parámetros (Esparza-Olguín 2004). Ante este escenario, se ha sugerido que las diferencias y afinidades ecológicas y filogenéticas podrían tener mayor relevancia para establecer un análisis comparativo (Esparza-Olguín 2004), puesto que la rareza es un concepto artificial.

Hoy en día, las técnicas de análisis de la genética molecular son herramientas que permiten identificar el polimorfismo que existe entre los individuos y son útiles para estimar la variabilidad genética a nivel de poblaciones o de especies (Haig 1998, Parker et al. 1998, Avise 2004, Selkoe y Toonen 2006). La comparación de los atributos genéticos (e.g. diversidad genética, flujo génico poblacional) entre una especie de distribución limitada y una especie emparentada de distribución amplia, permite detectar factores de riesgo y contribuye a la toma de decisiones sobre su manejo y conservación (Gibson et al. 2008). En este contexto, el presente estudio analiza la diversidad genética y el flujo génico en poblaciones de dos especies endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, las cuales presentan diferencias en la amplitud de su distribución geográfica y en su densidad poblacional. La especie *M. napina* Purpus tiene un área de distribución restringida, bajas densidades poblacionales y se considera como amenazada por la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF 2010). En contraste, *M. sphacelata* Martius tiene un área de distribución más amplia, densidades poblacionales altas y no se considera en alguna categoría de riesgo.

ANTECEDENTES.

La presente tesis se enmarca en el campo de la genética de la conservación. De forma más general, la biología de la conservación es un área que integra el conocimiento de disciplinas como la demografía, la ecología y la genética para evaluar el riesgo de extinción en especies susceptibles a desaparecer (Primack 2002, Ferrière et al. 2004). A continuación se presentan algunos estudios que se han realizado en especies emparentadas con *M. napina* y *M. sphacelata*, tanto en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán como en otras zonas áridas del país. Los trabajos se presentan de forma separada, de acuerdo a la disciplina que se involucra. Posteriormente, se señalan los principales factores ecológicos y de historia de vida que se han relacionado con los niveles de diversidad genética y flujo de genes en especies vegetales. Finalmente, se presentan algunos trabajos sobre genética de poblaciones en especies de la familia Cactaceae y del género *Mammillaria*.

Demografía. El análisis demográfico permite identificar vulnerabilidades en términos de tamaños poblacionales, crecimiento, supervivencia y reclutamiento de individuos, así como sus fluctuaciones temporales (Schemske et al. 1994). Algunas especies del género *Mammillaria*, como *M. pectinifera*, *M. crucigera* y *M. huitzilopochtli*, han sido monitoreadas durante un año o más, para evaluar su estado de conservación a través de su dinámica poblacional. En estos estudios se señaló la existencia de tamaños poblacionales pequeños, poblaciones aisladas y se estimaron valores de λ menores a uno, lo cual es indicio de un decremento de los tamaños poblacionales (Contreras y Valverde 2002, Valverde y Zavala-Hurtado 2006, Flores-Martínez et al. 2010).

Ecología. Los trabajos de tipo ecológico, realizados en especies del género *Mammillaria*, han identificado algunos factores que contribuyen al establecimiento de plántulas (Peters et al. 2008), los requerimientos particulares de hábitat de algunas especies (Zavala-Hurtado y Valverde 2003), la adaptación de algunas especies a ambientes con temperaturas extremas viviendo en peñascos (Martorell y Patiño 2006), así como el valor adaptativo de la dispersión de semillas almacenadas por las mismas plantas (Peters et al. 2009).

Genética. La genética de la conservación analiza factores y procesos que reducen la heterocigosidad o la diversidad genética, incrementando la endogamia (Frankham 1995, 2003, 2005, Frankham et al. 2002, Allendorf y Luikart 2007). Los procesos demográficos como cuellos de botella reducen aceleradamente el tamaño poblacional y presentan consecuencias drásticas sobre la heterocigosidad de las especies con un alto grado de endemismo, de las especies con poblaciones pequeñas y de las especies de distribución restringida (Willi et al. 2006).

Autores como Schemske y colaboradores (1994) han abordado de forma conjunta los aspectos demográficos y genéticos para la conservación de especies raras y amenazadas. Recientemente, González Romero (2010) realizó una evaluación preliminar del estado de conservación de *M. napina* en tres localidades, aplicando el Método de Evaluación del Riesgo de Extinción en México (MER) de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001 (DOF 2002). Los resultados obtenidos indican que las tres localidades analizadas deben considerarse en la categoría de “Peligro de Extinción” (P) y señala que la combinación de ciertos factores ambientales y presiones originadas por el hombre podrían llevar a la extinción local de algunas de sus poblaciones.

Factores que afectan la diversidad genética y el flujo de genes. Varios autores han estudiado los factores ecológicos (Loveless y Hamrick 1984) y de historia de vida (Hamrick y Godt 1995, 1996) que afectan la diversidad genética y el flujo génico poblacional en plantas con semilla. Entre los factores reconocidos que afectan la diversidad genética se encuentran la forma de vida (hierba, arbusto o árbol), el tamaño poblacional, el tipo de reproducción (sexual o asexual) y el sistema reproductivo (autofecundación, fecundación cruzada o mixta); mientras que los síndromes de dispersión de polen y de semillas, así como el tamaño y los límites de distribución de las poblaciones afectan la cantidad y la calidad del flujo de genes (Loveless y Hamrick 1984, Falk y Holsinger 1991, Hamrick y Godt 1995, 1996). En el Cuadro 1 se resumen los principales factores ecológicos y de historia de vida que pueden afectar la diversidad genética y el flujo génico poblacional de *M. napina* y *M. sphacelata*. Los atributos de las especies que se presentan en este cuadro se obtuvieron de fuentes bibliográficas (Bravo-Hollis 1978, Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada 1991a, 1991b, Arias-Montes et al. 1997, Anderson et al. 2001, Godínez-Álvarez et al. 2003, Fenster et al. 2004) y de observaciones realizadas en campo durante el desarrollo de esta tesis.

Diversidad genética y flujo de genes en especies de Cactáceas. Si se compara con otros grupos de plantas, la información sobre diversidad genética en especies de cactáceas es escasa y la mayor parte de estos trabajos se concentran en especies columnares que se han analizado usando marcadores bioquímicos como las aloenzimas (Hamrick et al. 2002). En comparación con otras plantas leñosas, perennes y polinizadas por animales, algunas cactáceas columnares son ricas en loci polimórficos y en alelos por locus polimórfico, pero tienen una diversidad genética moderada debido a la prevalencia de un solo tipo de alelo

común y de pocos alelos raros (Hamrick et al. 2002, Nassar et al. 2002, Nassar et al. 2003). En el caso de especies globosas como *Melocactus curvispinus*, el uso de marcadores genéticos de tipo aloenzimas también muestra niveles de heterocigosidad moderados a nivel macrogeográfico y regional. Estos niveles de heterocigosidad se atribuyen a valores elevados de endogamia, ocasionada por factores tales como la dispersión limitada de polen y semillas como consecuencia del tamaño de sus polinizadores y dispersores, la baja proporción de entrecruzamiento y la deriva génica (Nassar et al. 2001).

Cuadro 1. Atributos demográficos, de distribución y de historia de vida de las especies estudiadas.

Atributo	<i>M. napina</i>	<i>M. sphaelata</i>
Tipo de reproducción	Sexual (+, +)	Sexual (+, +) Asexual (-, +)
Sistema reproductivo	Cruzado (+, +)	Cruzado (+, +)
Tamaño poblacional	Pequeño (-, -)	Grande (+, +)
Banco de semillas (serotinia)	Presente (+, -)	Ausente (-, +)
Síndrome de polinización	Insectos (-, -)	Insectos (-, -)
Síndrome de dispersión	Pasiva (-, -)	Zoocoria (+, +)
Área de distribución	Limitada (-, -)	Amplia (+, +)
Tipo de distribución	Aislada (-, -)	Casi continua (+, +)

Los signos positivos o negativos anotados entre paréntesis corresponden a la diversidad genética y al flujo de genes que se esperan, de acuerdo con observaciones realizadas en especies con características ecológicas y de historia de vida semejantes a las de *M. napina* y *M. sphaelata* (Loveless y Hamrick 1984, Falk y Holsinger 1991, Hamrick y Godt 1995, 1996, Bravo-Hollis 1978, Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada 1991a, 1991b, Arias-Montes et al. 1997, Anderson et al. 2001, Godínez-Álvarez et al. 2003, Fenster et al. 2004).

Los marcadores moleculares de ADN de tipo microsatélite se han desarrollado recientemente para un número reducido de especies de la familia Cactaceae, incluyendo a *Polaskia chichipe* (Otero-Arnaiz et al. 2004), *Astrophytum asterias* (Terry et al. 2006), *Opuntia echios* (Helsen et al. 2007), *Echinocactus grusonii* (Hardesty et al. 2008), *Mammillaria crucigera* (Solórzano et al. 2009) y *Stenocereus pruinosus* (Parra et al. 2010). Para estas especies, la heterocigosidad observada (H_o) presenta valores altamente variables, que van de 0.09 a 0.967, dependiendo de la especie y del locus en cuestión.

HIPÓTESIS

Debido a la distribución discontinua y al tamaño relativamente pequeño de las poblaciones de la especie *M. napina*, se esperaría que la diversidad genética y el flujo génico fueran bajos y su estructuración genética alta. En contraste, en el caso de *M. sphaelata*, que tiene una distribución casi continua y sus poblaciones son relativamente grandes, se esperarían niveles de diversidad genética y flujo génico más altos, pero una estructuración poblacional más baja.

OBJETIVO GENERAL:

- Analizar los atributos genéticos poblacionales de las especies *Mammillaria napina* y *Mammillaria sphaelata*, endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, con el fin de contribuir al conocimiento de los factores y procesos que afectan la composición y el flujo de genes dentro y entre poblaciones de especies con distribución limitada.

– OBJETIVO PARTICULAR:

- Estimar y contrastar la diversidad genética y el flujo génico poblacional de las especies *M. napina* y de *M. sphaelata*, con el fin de identificar posibles efectos de los límites de distribución geográfica y de las densidades poblacionales que caracterizan a cada una de estas dos especies.

ÁREA DE ESTUDIO

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán es la región xerofítica más meridional de México, se ubica en el centro del país entre los estados de Puebla y Oaxaca (Fig. 1). Su extensión es de 6472 km² y los tipos de clima mejor representados aquí son los áridos, semiáridos y templados. Esta composición climática es resultado de la sombra orográfica de las cadenas montañosas que rodean al valle (Arriaga et al. 2000). La topografía está conformada por lomeríos con suelos calizos poco profundos, debido a la erosión hídrica y eólica. La vegetación que predomina es la selva baja caducifolia, seguida en cobertura por las áreas dedicadas a la agricultura y al pastoreo, por el bosque de encino, por diferentes tipos de matorral y otros tipos de vegetación (Arriaga et al. 2000). Valiente-Banuet y colaboradores (2000) distinguen 29 asociaciones vegetales agrupadas en seis categorías. Las cactáceas columnares son especies dominantes dentro de asociaciones vegetales como: jiotillal, cardonal, tetechera o chichipera. En otras asociaciones vegetales las cactáceas ocupan un lugar menos preponderante, como la selva baja, el bosque, el izotal y el matorral (Valiente-Banuet et al. 2000).

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán es una región de alta diversidad biológica que cuenta con más de 2500 especies vegetales, de las cuales se han identificado 1910 especies como pertenecientes a comunidades xerófilas y un total de 207 especies se consideran como endémicas (Méndez-Larios et al. 2004). Las familias botánicas mejor representadas en el Valle son: Asteraceae (345), Fabaceae (290), Poaceae (215), Labiatae (95), Cactaceae (81) y Orchidaceae (60). Por su parte, las familias con un mayor número de especies endémicas son: Cactaceae (28), Crassulaceae (25) y Lamiaceae (18) (Dávila et al. 2002).

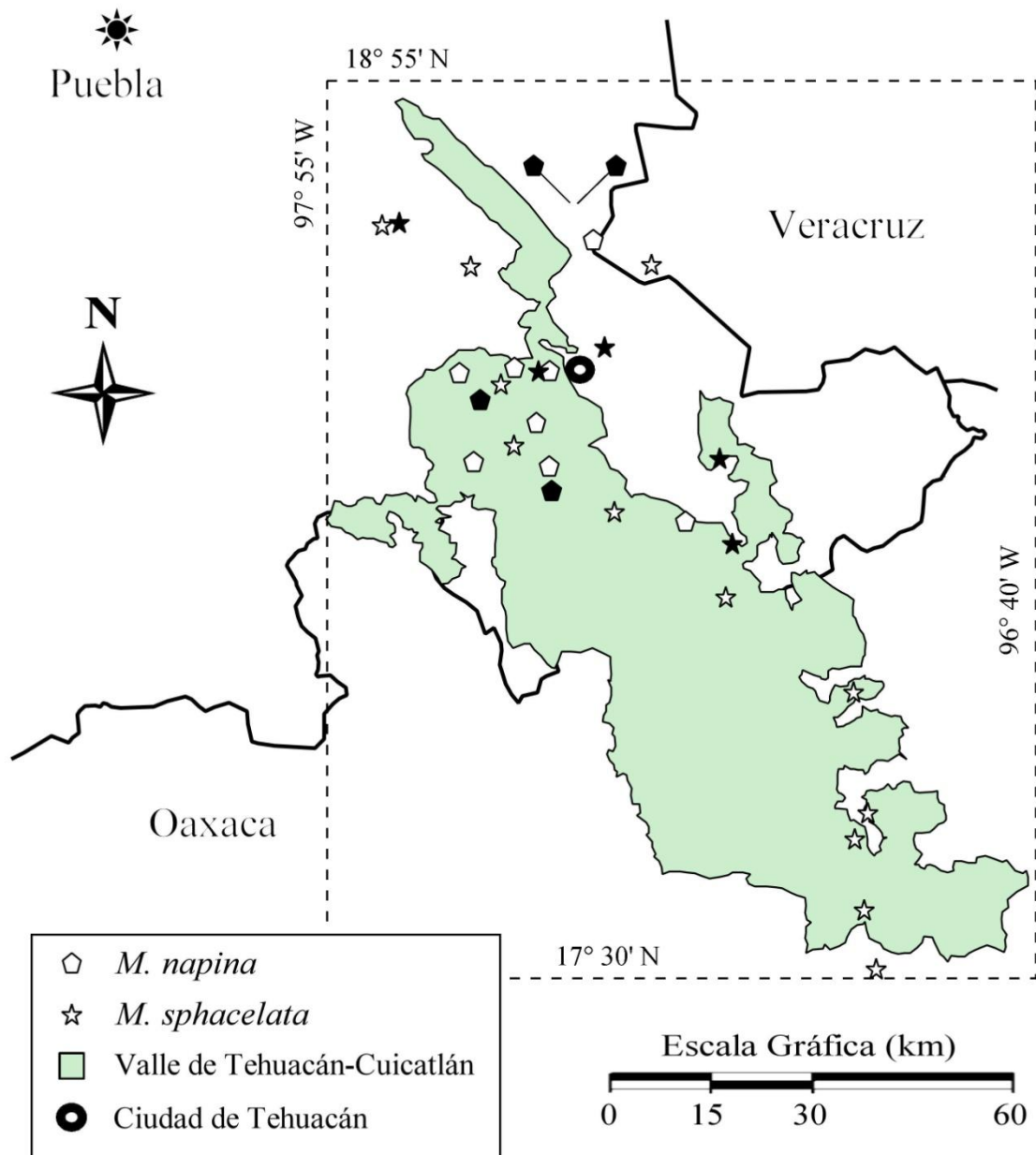


Figura 1. Ubicación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán y distribución de localidades de recolecta (figuras sólidas) y localidades referenciadas (figuras abiertas).

ESPECIES ESTUDIADAS

El género *Mammillaria* es uno de los más diversos y representativos de la familia Cactaceae. Este género está conformado por plantas pequeñas, de formas globosas, globoso-deprimidas hasta cilíndricas, que pueden presentar tallos simples o ramificados. Sus flores suelen ser pequeñas, de 5-10 mm de diámetro, de número variable y habitualmente crecen formando una corona. Una característica distintiva del género son las mamilas o tubérculos, sin surco longitudinal, que crecen de forma espiralada sobre sus tallos. Las aréolas en este género son bipartidas: en las axilas producen flores y en el ápice de las mamilas producen espinas y lana (Arias-Montes et al. 1997).

Mammillaria napina es una planta de 4 a 6 centímetros de ancho, sus tallos son simples, de forma globoso-deprimida y su raíz tiene forma de nabo. Esta especie presenta de 10 a 12 espinas radiales, a veces pectinadas, y raramente espinas centrales (Fig. 2). Las flores de *M. napina* miden hasta 4 cm y son ligeramente campanuladas, presentan pétalos de color rosa claro con una línea media longitudinal de color rosa púrpura; sus frutos se desarrollan semiembebidos en las axilas (Arias-Montes et al. 1997). Esta característica de los frutos puede favorecer que sean retenidos y permanezcan por un año o más después de madurar entre las espinas (serotinia; Boke 1960), formando bancos de semillas (Peter et al. 2009).

La distribución de *M. napina* se restringe a poblaciones aisladas que se desarrollan sobre lomeríos con poca pendiente, sobre suelos calizos y pedregosos, entre los 1700 y los 2400 msnm (Arias-Montes et al. 1997, Guzmán et al. 2003). Las poblaciones que han sido objeto de estudios demográficos reportan un área de ocupación menor a 800 m², su

distribución es muy limitada y las plantas se encuentran dispersas entre sí (Álvarez-Espino et al. 2008). Esta especie es endémica al Valle de Tehuacán-Cuicatlán y se considera como amenazada por la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF 2010), pero no aparece en ninguna categoría de riesgo en la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN 2010).



Figura 2. Individuo de *M. napina*.
Fotografía tomada en campo que muestra:
1) botón floral y 2) perianto seco.

Mammillaria sphacelata tiene tallos cilíndricos, de 1.5 a 4 centímetros de ancho, que pueden ser erectos o decumbentes. Sus flores son pequeñas, de color púrpura a rojo carmín, sus frutos son de color rojo brillante y tienen forma de chile (Fig. 3). Presenta de 10 a 15 espinas radiales blanquecinas, que llegan a ser de color pardo a rojizo en el ápice del tallo. Su distribución es casi continua a lo largo del VTC, entre los 900 y los 2100 metros de altitud (Arias-Montes et al. 1997). El hábito de crecimiento de esta planta es cespitoso o clonal, formando rametos y genetos. Los rametos son organismos modulares independientes y los genetos son organismos que proceden de un mismo cigoto o de la reproducción asexual de un rameto, por lo que presentan identidad genética (Arizaga y Ezcurra 2002). Esta especie no se encuentra en ninguna categoría de riesgo nacional (DOF 2010) ni internacional (IUCN 2010).



Figura 3. Plantas de *M. sphacelata*: a) rameto con flor;
b) geneto conformado por varios rametos que exhiben:
1) botones florales y 2) frutos maduros.



MÉTODOS

TRABAJO DE CAMPO

Ubicación de localidades. Las localidades de recolecta se ubicaron a partir de registros de ejemplares depositados en el Herbario Nacional (MEXU) y de comunicaciones personales con especialistas en cactáceas. Para todas las localidades de colecta se registraron las coordenadas en campo, mediante un dispositivo GPS. Todas las coordenadas obtenidas directamente en campo y de otras fuentes se introdujeron en el Sistema de Información Geográfica ArcView GIS ver. 3.1 (ESRI), para proyectarlas sobre un mapa digital del Valle de Tehuacán-Cuicatlán y obtener la distribución de las dos especies estudiadas (véase Figura 1). En total se obtuvieron registros de 28 localidades, de las cuales 17 corresponden a *M. sphaelata* y 11 a *M. napina*.

Colecta de tejido. Se ubicaron cuatro localidades de colecta de *M. napina*: Cañada Morelos I, Cañada Morelos II, Santa Ana Teloxtoc y Xochiltepec. En el caso de *M. sphaelata* se ubicaron cinco localidades: San Lucas El Viejo, Calipán, Tilapa, El Riego y San Pedro. En cada sitio se tomó un mínimo de 20 individuos o genetos para la colecta de tejido vegetativo fresco (5–10 mamilas / individuo), con excepción de Tilapa donde sólo se encontraron 18 genetos o grupos de clones. El tejido se preservó en nitrógeno líquido en campo y se trasladó al laboratorio donde se mantuvo a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

La especie *M. sphaelata* ramifica desde la base, por lo que los grupos de clones se contabilizaron como individuos (genetos) sólo cuando existía una clara separación entre las

raíces de sus rametos. Considerando lo anterior, las muestras de tejido se tomaron de un solo rameto por cada geneto.

También se colectaron individuos completos de las dos especies, los cuales se depositaron en el Herbario Nacional (MEXU) para ser herborizados. El Dr. Salvador Arias Montes (Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM) determinó las especies colectadas a partir de los ejemplares herborizados y de fotografías de plantas tomadas en campo.

Densidad poblacional. Este parámetro se tomó como un estimador del tamaño poblacional. Para *M. napina* la densidad se estimó aplicando un muestreo dirigido, que consistió en el trazo de cuadros de 1 m². El vértice de cada cuadro se ubicó a partir de la primera planta localizada, orientando el trazo para incluir el mayor número posible de plantas. El número de cuadros que se muestrearon fue variable para cada localidad (13–17 cuadros), debido al número de plantas y al tamaño del área que ocupaban.

Para *M. sphacelata* se realizó un muestreo sistemático usando cinco cuadros de 100 m² (10 X 10 m), los cuales se trazaron de forma alterna a partir de una línea recta orientada con la pendiente del terreno (de menor a mayor altitud) y con una separación de cinco metros entre cuadros. En la localidad de Tilapa se realizó un conteo total de los genetos que ahí se encontraron, los cuales abarcaban un área de 7 x 7.6 m. En las localidades de Calipán, San Pedro y Tilapa se midió el diámetro mayor y menor de cada geneto.

Las diferencias en el área de ocupación, tamaño de las plantas y hábito de crecimiento de estas dos especies dificultan una comparación en términos demográficos y justifican la diferencia en las unidades de muestreo. La cobertura de las plantas de *M. sphacelata* es un parámetro que nos permite representar las diferencias de tamaño y número

de rametos por geneto, la cual se calculó usando la fórmula del área de una elipse: $A = \pi \cdot a \cdot b$, donde a y b representan el radio menor y el radio mayor del geneto.

TRABAJO DE LABORATORIO

Aislamiento de ADN genómico total. Se procesaron 193 muestras de tejido vegetativo, de las cuales 87 pertenecen a individuos de *M. napina* y 106 a rametos de *M. sphacelata*. Se retiraron las areolas y las espinas para tomar de 100 a 200 mg de tejido por individuo. El tejido se lavó con agua destilada para retirar impurezas y se maceró con nitrógeno líquido en morteros de porcelana, hasta obtener un polvo fino. El resto del aislamiento de ADN se realizó siguiendo el procedimiento indicado en el sistema comercial DNeasy Plant Minikit de QIAGEN ®. La presencia de ADN se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.8%, teñido con bromuro de etidio.

Condiciones de amplificación de fragmentos y electroforesis capilar. Se ensayaron siete loci de microsatélites desarrollados para la especie *M. crucigera* (Solórzano et al. 2009). Cuatro loci mostraron una amplificación positiva y resultados repetibles (Cuadro 2). Los oligonucleótidos “forward” (dirección 5’-3’), se identificaron como „primer F” y los oligonucleótidos “reverse” (dirección 3’-5’) como „primer R”. Las reacciones de amplificación de fragmentos se realizaron usando la técnica de PCR, en un termociclador Mastercycler® gradient (Eppendorf, USA), usando el siguiente programa: 1) ciclo inicial de desnaturalización (95 °C / 3 min.); 2) 34 ciclos consistentes en: desnaturalización (94 °C / 10 seg.), alineamiento (Ta / 10 seg.) y extensión (72 °C / 10 seg.); 3) ciclo final de extensión (72 °C / 3 min.). La temperatura de alineamiento (Ta) se ajustó para cada pareja

de oligonucleótidos (Cuadro 2). Las concentraciones finales de cada componente de la reacción fueron: Trizma-HCl [10 mM] pH 8.3, KCl [75 mM], MgCl₂ [2 mM], BSA [0.08%], DNTPs [4 mM] (c/u), primer F [5 μM], primer R [5 μM], Taq polimerasa 1U y ADN 5 - 20 ng, en un volumen final de 10 μL.

Cuadro 2. Lista de oligonucleótidos ensayados. Oligonucleótidos diseñados previamente para la especie *M. crucigera* por Solórzano et al. (2009).

Locus	Secuencia	Ta (°C)	Microsatélite	Tamaño
MamVTC2	F (FAM): TCTCACTGCCCGTTTTCTCT	60	(CTTCTTCAT) ₂ CTT(CT) ₂ C(T) ₁₄	183–197
	R: ACGGTGATGGTGGGTGTTAT			
MamVTC5	F (NED): TACAGACGCCATAGGCAAAG	59	(GA) ₅ CA(GA) ₇ AA(GA) ₁₂	184–242
	R: GGTGGAGATGAGGGACTGAA			
MamVTC8	F (FAM): TCGATTATCTGCTGCTTCCA	60	(GA) ₁₅ GGG(GAA) ₅	163–190
	R: CCGAGAAAGCCCTAAAACCT			
MamVTC12	F (NED): TGGGGAATGGGCTATGATTA	58	(TC) ₄ AT(TC) ₁₀ (C) ₄ TC(TG) ₄	222–240
	R: CGGCGTTTATTAGCCAATCT			

Nombre del locus, secuencia del oligonucleótido (dirección y fluorocromo), temperatura de alineamiento (Ta), Secuencia del microsatélite, tamaños observados de los alelos.

Una vez que se estandarizaron las condiciones de PCR se realizó la amplificación de las regiones de microsatélites usando el „primer F“ respectivo marcado con alguno de los fluorocromos NED o FAM (Cuadro 2). Posteriormente se realizó la lectura de los fragmentos en el secuenciador ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, California, USA) del Instituto de Biología, UNAM. Los electroferogramas obtenidos se visualizaron con el programa Peak Scanner v1.0 (Applied Biosystems), para identificar alelos, generar los genotipos individuales y proceder con el análisis estadístico de los datos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Densidad Poblacional e Índice de Agregación de Lloyd: La densidad de individuos por localidad se calculó como el número promedio de plantas de *M. napina* / 1 m² o de genetos de *M. sphacelata* / 100 m², por localidad. El tamaño del cuadro se ajustó en consideración del tamaño de los individuos o genetos de cada especie. El índice de Lloyd (1967) se empleó para precisar si la distribución espacial de los individuos de *M. napina* correspondía a una distribución agregada ($\bar{m}^* > 1$), uniforme ($\bar{m}^* < 1$) o aleatorio ($\bar{m}^* = 1$), a partir de los datos de densidad registrados por cada cuadro de 1 m². El índice \bar{m}^* representa el número promedio de otros individuos en el mismo cuadro para cada planta (Anexo 1).

Análisis Genético. Se usó el programa Arlequín 3.11 (Excoffier et al. 2007) para estimar: a) heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), b) estadísticos F de Wright (Wright 1951, Weir y Cockerham 1984, Weir y Hill 2002): F_{ST} , F_{IS} y F_{IT} , c) prueba de probabilidad exacta para el equilibrio Hardy-Weinberg y d) análisis molecular de varianza (AMOVA). El estadístico F_{ST} , calculado mediante el método de diferentes alelos, se usó para estimar la diferenciación poblacional y para calcular la magnitud del flujo de genes o número de migrantes (Nm). Las ecuaciones para calcular los distintos estimadores de heterocigosidad, los estadísticos F y el flujo génico se presentan en el Anexo 1.

Para las pruebas de probabilidad exacta para el equilibrio Hardy-Weinberg y de diferenciación entre subpoblaciones se aplicó la corrección de *Bonferroni* para el valor de α (Anexo 1). Cada locus polimórfico se consideró como un análisis independiente y cada análisis se declaró significativo cuando el valor de probabilidad observado fue igual o menor al valor calculado de α para cada prueba.

Se estimaron estadísticos descriptivos de heterocigosidad total esperada (H_T), número promedio de alelos (A), número total de alelos (A_T) y amplitud de los tamaños de los alelos para los 4 *loci* ensayados a nivel de especie. El locus MamVTC5 se consideró monomórfico debido a la ausencia de aproximadamente 30 datos (> 5%) correspondientes a dos poblaciones de *M. napina* y se excluyó de los análisis poblacionales. Para la especie *M. sphacelata* se estimó la diversidad clonal, como la proporción de genotipos distintos (G) entre el número de individuos o genets colectados (N).

RESULTADOS

Mammillaria napina

– DENSIDAD POBLACIONAL E ÍNDICE DE AGREGACIÓN DE LLOYD

La densidad poblacional fue semejante en tres de las cuatro localidades de *M. napina*: Cañada Morelos I, Cañada Morelos II y Santa Ana Teloxtoc, las cuales presentaron valores de 1.76, 1.53 y 1.73 plantas / m², respectivamente. Por su parte, la localidad de Xochiltepec fue la más densamente poblada, alcanzando un valor de 4.54 plantas / m².

El índice de Lloyd fue superior a la unidad en tres de las cuatro localidades: Cañada Morelos I, Santa Ana Teloxtoc y particularmente en Xochiltepec, lo cual indica una distribución agregada de los individuos; mientras que en la localidad de Cañada Morelos II el índice de Lloyd fue menor a la unidad, indicando una distribución de los individuos de tipo uniforme. En cuanto al tamaño de las plantas, los valores fueron semejantes en todos los sitios. El diámetro promedio fue de 3.48 cm (s = 0.91), con un intervalo de tamaños desde 1 hasta 6.2 cm (Cuadro 3).

– DIVERSIDAD GENÉTICA Y ALÉLICA

La heterocigosidad observada de *M. napina* fue de moderada a alta, alcanzando un promedio de 0.5822 para los tres loci analizados en las cuatro localidades de estudio. No obstante, todas las poblaciones de *M. napina* presentaron un desequilibrio de sus frecuencias alélicas y genotípicas de acuerdo con la prueba de probabilidad exacta para el

Equilibrio de Hardy-Weinberg. En todos los casos los valores de probabilidad observados fueron menores al valor corregido de α (Cuadro 4).

Cuadro 3. Tamaño de las plantas de *M. napina* y tipo de distribución.

Localidad	Mín.	Máy.	Promedio	s	\bar{m}^*
Cañada Morelos I	1.5	4.2	3.42	0.70	2.13 •
Cañada Morelos II	2.5	5.5	3.47	0.70	0.75 ○
Santa Ana Teloxtoc	1	5.5	3.74	1.01	1.84 •
Xochiltepec	1	6.2	3.39	1.01	4.37 •
Total	-	-	3.48	0.91	-

Diámetros mínimos (*Mín.*), máximos (*Máy.*) y promedio en centímetros; desviación estándar (s) e índice de agregación de Lloyd (\bar{m}^*). • = distribución agregada, ○ = distribución uniforme.

Cuadro 4. Diversidad genética, estructuración y flujo génico para *M. napina*.

Localidad	H _o	H _e	P (H-W)	F _{ST}	N _m	F _{IS}
Cañada Morelos I	0.5150	0.6275	0.0125*	0.1269	2.3066	0.0951
Cañada Morelos II	0.5477	0.7248	0.0001*	0.0765	3.2256	0.1648
Santa Ana Teloxtoc	0.6536	0.7724	0.0010*	0.0836	3.3695	0.5934
Xochiltepec	0.6125	0.7659	0.0001*	0.1130	2.8352	0.4718
Promedio	0.5822	0.7227	0.0034*	0.0910	2.9342	0.3313

Heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), valor de probabilidad para la prueba de Equilibrio Hardy-Weinberg (P), índice de diferenciación (F_{ST}), flujo génico o número de migrantes por generación (N_m), índice de endogamia (F_{IS}), * = diferencia significativa.

Estadísticos descriptivos: La heterocigosidad total esperada (H_T) tuvo valores altos en tres de los cuatro loci analizados a nivel de especie, con excepción del locus MamVTC2, que presentó un valor moderado. Los valores de H_T fluctuaron desde 0.55 hasta 0.93 para los diferentes loci. La variación del promedio de alelos por población (A) y del número total de alelos por locus (A_T) fue de 3.25 a 11.5 y de 5 a 25 alelos, respectivamente, presentando sus valores más bajos para el locus MamVTC2 en ambos casos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Heterocigosidad total esperada y diversidad alélica por locus para *M. napina*.

Locus	H_T	A	A_T	Tamaño observado
MamVTC2	0.5510	3.25	5	169-178
MamVTC5	0.9117	8.75	21	165-245
MamVTC8	0.7146	8.5	23	147-188
MamVTC12	0.9282	11.5	25	207-247
Promedio	0.7744	8	18.25	-

Heterocigosidad total esperada (H_T), número promedio de alelos por población (A) número total de alelos por locus (A_T) y amplitud de los tamaños observados de los alelos.

– FLUJO DE GENES Y ESTRUCTURA GENÉTICA

El AMOVA explicó aproximadamente 95% de la variación en dos de sus cuatro variables. Las variables más significativas fueron „entre el total de los individuos“, con un valor de 62.5% y „entre los individuos dentro de las poblaciones“, con un valor de 32.9%. El índice de diferenciación (F_{ST}) fue bajo para todas las localidades, con un valor promedio de 0.091. El flujo de genes presentó valores altos, con un promedio de Nm = 2.93 individuos por generación. El índice de endogamia (F_{IS}) fue bajo para las localidades de Cañada Morelos I y II, las cuales presentaron valores de 0.0951 y 0.1648. En contraste, las localidades de Santa Ana Teloxtoc y Xochiltepec presentaron valores de moderados a altos, con valores de 0.5934 y 0.4718, respectivamente (Cuadro 4).

Mammillaria sphacelata

– DENSIDAD POBLACIONAL

La especie *M. sphacelata* presentó una densidad poblacional semejante en tres localidades: Calipán, San Pedro y El Riego, con valores de 2.8, 3 y 4 genetos / 100 m², respectivamente. La localidad de San Lucas El Viejo mostró la densidad poblacional más alta, con un valor de 8.2 genetos / 100 m²; esta localidad presenta una densidad que es mayor al doble de la encontrada para las localidades anteriores. Por último, en la localidad de Tilapa los genetos de *M. sphacelata* se distribuían en un pequeño parche de 53.2 m²; aquí se realizó un conteo total que arrojó una densidad equivalente a 34 genetos / 100 m². Sin embargo, este dato no es comparable con los valores anteriores debido a que el método de muestreo fue diferente.

La cobertura de los genetos o grupos de clones de esta especie fue notablemente diferente entre localidades. Los valores de cobertura fueron: 94.13 cm² para Calipán, 161.05 cm² para Tilapa y 276.15 cm² para San Pedro. El promedio del área de cobertura de las plantas en estas tres localidades fue de 184.27 cm², con una variación entre genetos desde 6 hasta 1447 cm² de cobertura. El promedio de rametos por geneto fue de 10.26, pero la variación también fue muy amplia, fluctuando desde 1 hasta 64 rametos por geneto.

– DIVERSIDAD GENÉTICA Y ALÉLICA

La heterocigosidad observada (H_o) para *M. sphacelata* fue alta, alcanzando un promedio de 0.6776 para tres loci analizados en cinco localidades de estudio. La heterocigosidad observada para esta especie fluctuó entre poblaciones desde 0.5808 en San

Pedro, hasta 0.7691 en Calipán. Para esta especie sólo la población de San Pedro presentó desequilibrio de sus proporciones alélicas y genotípicas (equilibrio Hardy-Weinberg), con un valor de probabilidad de $\alpha = 0.0101$ (Cuadro 6).

Cuadro 6. Diversidad genética, estructuración y flujo génico para *M. sphaelata*.

Localidad	H _o	H _e	P (H-W)	F _{ST}	N _m	F _{IS}
San Lucas El Viejo	0.7614	0.7336	0.1877	0.0812	6.6832	-0.0642
Calipán	0.7691	0.7046	0.2684	0.1017	2.6556	-0.0897
El Riego	0.6326	0.8033	0.0832	0.1800	1.1837	-0.1130
San Pedro	0.5808	0.7356	0.0101*	0.0602	6.5966	0.2542
Tilapa	0.6441	0.5191	0.3553	0.0941	6.8174	0.5392
Promedio	0.6776	0.6992	0.1809	0.1035	4.7873	0.1053

Heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), valor de probabilidad para la prueba de Equilibrio Hardy-Weinberg (P), índice de diferenciación (F_{ST}), flujo génico o número de migrantes por generación (N_m), índice de endogamia (F_{IS}), * = diferencia significativa.

Estadísticos descriptivos: La heterocigosidad total esperada (H_T) tuvo valores altos para los cuatro loci, los cuales fluctuaron entre 0.6075 y 0.9444. El locus MamVTC2 presentó el promedio de alelos por población y el número total de alelos por locus más bajos respecto a los valores hallados para los otros tres loci (Cuadro 7). En cuanto a la diversidad de genotipos, se encontraron valores altos para casi todas las localidades de *M. sphaelata*, presentando valores de diversidad clonal (G / N) de 0.95 y 1. La localidad de Tilapa presentó la menor cantidad de genotipos distintos y un valor de diversidad clonal de 0.5.

Cuadro 7. Heterocigosidad total esperada y diversidad alélica por locus para *M. sphaelata*.

Locus	H_T	A	A_{TOT}	Tamaño observado
MamVTC2	0.6075	5.2	14	167-192
MamVTC5	0.6912	6.8	21	165-239
MamVTC8	0.8004	9.8	26	143-181
MamVTC12	0.9444	15.8	34	206-249
Promedio	0.7609	9.4	23.75	-

Heterocigosidad total esperada (H_T), número promedio de alelos por población (A) número total de alelos por locus (A_T) y amplitud de los tamaños observados de los alelos.

– FLUJO DE GENES Y ESTRUCTURA GENÉTICA

Para esta especie, el AMOVA explicó más del 95% de la variación en dos de sus cuatro variables. Las variables más significativas fueron „entre el total de los individuos“ con un valor de 82.2%, seguido de la variable „entre los individuos dentro de las poblaciones“ con un valor de 15.2%. El índice de diferenciación (F_{ST}) mostró valores bajos para todas las localidades, con valores altos de flujo de genes, que en promedio fue de Nm = 4.79 individuos por generación. Los índices de endogamia (F_{IS}) fueron bajos en las localidades de: Calipán, San Lucas El Viejo y El Riego, donde alcanzaron valores negativos debido a un exceso de heterocigotos. Por el contrario, el índice de endogamia resultó particularmente alto en la localidad de Tilapa, con un valor de 0.5392 (Cuadro 4); en esta población también se reporta una cantidad baja de genotipos distintos.

DISCUSIÓN

Mammillaria napina

Estudios previos destacan ciertos factores que amenazan la supervivencia de *M. napina* y que podrían ocasionar la extinción de algunas de sus poblaciones. Entre los factores intrínsecos se encuentran los tamaños poblacionales pequeños (González-Rodríguez 2010), las áreas de ocupación pequeñas (menores a 800 m²; Álvarez-Espino et al. 2008) y las tasas de crecimiento poblacional bajas ($\lambda < 1$; Martorell & Peters 2009). Otros factores extrínsecos también representan riesgos para las poblaciones de esta especie, como son las actividades productivas del hombre, la destrucción del hábitat y la extracción indiscriminada de individuos (Martorell & Peters 2009, González-Rodríguez 2010).

Los resultados del presente estudio concuerdan con algunos de los factores de riesgo que se señalan arriba. Por ejemplo, la densidad poblacional que se estimó para *M. napina* resultó baja, comparada con la densidad que se ha reportado para otras especies emparentadas, como *M. pectinifera* (Valverde y Zavala-Hurtado 2006).

Por otra parte, el índice de Lloyd indica que los individuos de *M. napina* suelen distribuirse de forma agregada dentro de las poblaciones. Esta forma de distribución, aunada a la dispersión pasiva de semillas, puede favorecer la reproducción entre plantas cercanamente emparentadas, ocasionando la disminución de la diversidad genética y el aumento de la endogamia. En este caso, los valores de heterocigosidad observada (H_o) que presentó *M. napina* fueron de moderados a altos, pero ninguna de sus poblaciones se encontró en equilibrio Hardy-Weinberg. Coincidentemente, para *M. napina* el promedio de

endogamia fue alto ($F_{IS} = 0.3313$) en comparación con el valor que presentó *M. sphacelata* ($F_{IS} = 0.1053$). Por este motivo, se propone que la endogamia es el proceso más importante que ocasiona el desequilibrio de las frecuencias alélicas y genotípicas de la especie *M. napina* y puede representar un riesgo para algunas de sus poblaciones.

Mammillaria sphacelata.

Para esta especie, los atributos demográficos, de historia de vida y de distribución que se analizaron representan un riesgo bajo para su supervivencia. La distribución de las poblaciones de *M. sphacelata* abarcó un gradiente altitudinal amplio (900 – 2000 msnm) y el área de ocupación por localidad fue mayor a 1400 m². Estos datos indican que los tamaños poblacionales son grandes y las poblaciones son casi continuas en la mayoría de los casos. La única excepción fue la localidad de Tilapa, que presentó un área total de ocupación menor a 60 m² y su tamaño poblacional fue únicamente de 18 genets. Además de tener el tamaño poblacional más pequeño, en esta localidad se identificó la cantidad más baja de genotipos distintos y se presentó el nivel de endogamia más elevado de la especie. En este caso particular, se sugiere que los valores observados de endogamia son producto de la reproducción asexual y dispersión local de los rametos.

En cuanto a diversidad genética, ambas especies presentaron valores heterogéneos, dependiendo del locus y de la población en cuestión, pero se encuentran dentro del intervalo de valores reportados para otras especies de la familia (*P. chichipe*, *E. grusonii*, *A. asterias*, *S. pruinosus*) y del género (*M. crucigera*), usando microsatélites como marcador genético (Otero-Arnaiz et al. 2005, Terry et al. 2006, Hardesty et al. 2008, Parra et al. 2010, Solórzano et al. 2009). Mientras, otras especies que han sido estudiadas usando aloenzimas

presentan los valores de diversidad genética y alélica más bajos, como *S. gummosus* y *M. paucispinus* (Clark-Tapia y Molina-Freaner 2003, Mota-Lambert et al. 2006).

Flujo génico y estructuración genética en especies de Cactáceas.

Algunos cactus columnares del centro de México son polinizados y dispersados por murciélagos, que viajan varias decenas de kilómetros a diario para alimentarse (Fleming y Valiente 2002). Esta alta movilidad favorece el intercambio de genes entre poblaciones distantes y una diversidad genética elevada (Hamrick et al. 2002). En cambio, muchas especies del género *Mammillaria* presentan flores pequeñas, que sólo pueden ser polinizadas por insectos, cuyos hábitos de forrajeo son limitados o territoriales, y sus semillas suelen ser dispersadas de forma pasiva (hidrocoria o anemocoria) o facilitada por animales no voladores (Faegri y Van der Pijl 1979). La movilidad limitada de los polinizadores y dispersores de las cactáceas no columnares y de tamaño pequeño, restringe el flujo de genes y puede producir estructuración poblacional, diversidad genética baja y niveles de endogamia elevados (Nassar et al. 2001).

Sin embargo, el índice de diferenciación (F_{ST}) presentó valores bajos en todas las poblaciones de las dos especies estudiadas, reflejando un flujo de genes elevado (>1) que impide la estructuración genética. Una desventaja del método empleado para estimar el flujo génico (Nm) es que no permite distinguir entre eventos históricos y recientes. Considerando que *M. napina* forma poblaciones aisladas, que los insectos son el grupo potencial de polinizadores (Giovanetti et al. 2007) y que la dispersión de semillas ocurre de forma pasiva, es más probable que la polinización y dispersión ocurra sobre distancias cortas. Es decir, se apoya el supuesto de flujo histórico y no reciente de genes o individuos.

CONCLUSIONES

Algunos atributos poblacionales presentan diferencias notables entre *M. napina* y *M. sphacelata*. Estas diferencias son de tipo demográfico como la densidad poblacional o en la distribución de sus individuos. De igual forma presentan diferencias en atributos reproductivos y ecológicos, como los síndromes de polinización, dispersión de semillas y dispersión vegetativa. Estas últimas diferencias se infieren del análisis de características morfológicas de las flores, de los frutos y de los tallos, y a partir de la bibliografía. Dichos atributos afectan la composición y el movimiento de genes dentro y entre poblaciones. Los factores y procesos genéticos que subyacen a tales atributos demográficos y ecológicos también han sido analizados aquí mediante la aplicación de análisis estadísticos tales como: heterocigosidad observada y esperada, índices F de Wright y análisis molecular de varianza. De nuestros resultados cabe resaltar el efecto de la endogamia para la especie *M. napina*, dados los tamaños poblacionales reducidos que presenta. El tipo de distribución agregada de esta especie es un factor que puede favorecer la polinización entre plantas cercanamente emparentadas, con el riesgo de aumentar la endogamia. Ambas especies presentan un flujo de genes elevado entre sus subpoblaciones, pero en el caso de *M. napina* se presume que puede ser resultado de eventos históricos de polinización o dispersión de semillas. La localidad de Tilapa es un caso especial en relación a la especie *M. sphacelata*, ya que presentó los valores de endogamia más altos, una diversidad de genotipos baja (0.5) y un tamaño poblacional total de sólo 18 genetos. En este caso se presume que la reproducción puede ocurrir principalmente por vía asexual.

LITERATURA CITADA

- Allendorf, F. W. y G. Luikart. 2007. Conservation and the genetics of populations. Blackwell publishing. Malden, Massachusetts. USA.
- Álvarez-Espino R., O. Téllez, E. Parra, K. Gutiérrez, V. González, I. Rosas, M. Ayala y F. González. 2008. Aspectos ecológicos y estado actual de poblaciones de cactáceas endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Cartel presentado en el 1er. Congreso "Diversidad Biológica y Cultural en la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán". Tehuacán, Puebla. México. Del 18 al 20 de septiembre de 2008.
- Anderson, E. F., W. Barthlott y R. Brown. 2001. The Cactus Family. Timber press. Portland, Oregon. USA.
- Arias-Montes, S., S. Gama-López y L. U. Guzmán-Cruz. 1997. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 14. Cactaceae A. L. Juss. IBUNAM. México.
- Arizaga, S. y E. Ezcurra. 2002. Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid-land succulent rosette. Am. J. Bot. 89: 632-641.
- Arriaga, L., J. M. Espinoza, C. Aguilar, E. Martínez, L. Gómez y E. Loa (Coordinadores). 2000. Regiones terrestres prioritarias de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. (Actualizado: 13/04/2004).
- Avise, J. C. 2004. Molecular markers, natural history and evolution. 2nd Ed. Sinauer associates. Sunderland, Massachusetts. USA.
- Boke, N. H. 1960. Anatomy and development in *Solisia*. Am. J. Bot. 47: 59-65.

- Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. Vol. 1, 2a ed. UNAM, México.
- Bravo-Hollis, H. y H. Sánchez-Mejorada R. 1991a. Las Cactáceas de México. Vol. 2. 2a ed. UNAM, México.
- Bravo-Hollis, H. y H. Sánchez-Mejorada R. 1991b. Las Cactáceas de México. Vol. 3. 2a ed. UNAM, México.
- Clark-Tapia, R. y F Molina-Freaner. 2003. The genetic structure of a columnar cactus with a disjunct distribution: *Stenocereus gummosus* in the Sonoran desert. *Heredity*. 90: 443-450.
- Contreras, C. y T. Valverde. 2002. Evaluation of the conservation status of a rare cactus (*Mammillaria crucigera*) through the analysis of its population dynamics. *J. Arid Environ.* 51: 89-102.
- Dávila, P., M. C. Arizmendi, A. Valiente-Banuet, J. L. Villaseñor, A. Casas y R. Lira. 2002. Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. *Biodivers. Conserv.* 11: 421-442.
- DOF. 2002. Norma Oficial Mexicana: NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. México. http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/normas/rec_nat/no_059.html (Actualizado: 31/03/2005)
- DOF. 2010. Norma Oficial Mexicana: NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. México.

<http://www.semarnat.gob.mx/leyesynormas/SEMARNAT%20DOF/Norma%20Oficial%20Mexicana%20NOM-059-SEMARNAT-2010.pdf> (Actualizado: 30/12/2010)

Ellstrand, N. C. y D. R. Elam. 1993. Population genetic consequences of a small population sizes: Implications for plant conservation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24: 217-242.

Esparza-Olguín, L. G. 2004. ¿Qué sabemos de la rareza en especies vegetales? Un enfoque genético-Demográfico. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 75: 17-32.

Excoffier, L. G. Laval, and S. Schneider (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online.* 1: 47-50.

Faegri K. and L. van der Pijl. 1979. *The Principles of Pollination Ecology.* 3rd. Ed. Pergamon Press. Oxford, England.

Falk, D. A. y K. E. Holsinger. 1991. *Genetics and Conservation of rare Plants.* Oxford University Press. New York, USA.

Fenster, C. B., W. S. Armbruster, P. Wilson, M. R. Dudash y J. D. Thompson. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35: 375-403.

Ferrière, R., U. Dieckmann y D. Couvet. 2004. *Evolutionary conservation biology.* Cambridge University Press.

Fleming, T. y Valiente-Banuet, A. (Eds). 2002. *Columnar Cacti and their Mutualists: Evolution, Ecology and Conservation.* University of Arizona Press. USA.

- Flores-Martínez A., G. I. Manzanero-Medina, J. Golubov, C. Montaña y M. C. Mandujano. 2010. Demography of an endangered endemic rupicolous cactus. *Plant Ecol.* 210: 53-66.
- Frankham, R. 1995. Conservation Genetics. *Annu. Rev. Genet.* 29: 305-327.
- Frankham, R., J. D. Ballou y D. A. Briscoe. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. 5th Ed. Cambridge University Press. GB.
- Frankham, R. 2003. Genetics and conservation biology. *C. R. Biol.* 32: S22-S29.
- Frankham, R. 2005. Genetics and extinction. *Biol. Conserv.* 126: 131-140.
- Gibson, J. P., S. A. Rice y C. M. Stucke. 2008. Comparison of population genetic diversity between a rare, narrowly distributed species and a common, widespread species of *Alnus* (Betulaceae). *Am. J. Bot.* 95: 588-596.
- Giovanetti M., J. C. Cervera y J. L. Andrade. 2007. Pollinators of an endemic and endangered species, *Mammillaria gaumeri* (Cactaceae), in its natural habitat (coastal dune) and in a botanical garden. *Madroño.* 54: 286-292.
- Godínez-Álvarez H., T. Valverde y P. Ortega-Baes. 2003. Demographic trends in the Cactaceae. *Bot. Rev.* 69: 173-203.
- Gonzalez-Romero A. V. 2010. Evaluación preliminar del estado de Conservación de *Mammillaria napina* (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. UNAM. México.
- Guzmán, U., S. Arias y P. Dávila. 2003. *Catálogo de cactáceas mexicanas*. UNAM-CONABIO. México.

- Haig, S. M. 1998. Molecular contributions to conservation. *Ecology*. 79: 413–425.
- Hamilton M. B. 2009. Population genetics. Wiley-Blackwell. USA.
- Hamrick, J. L. y M. J. Godt. 1995. Conservation genetics of endemic plant species. p 281-304. En: Conservation Genetics: Case histories from nature. Avise J. C. y J. L. Hamrick (Eds.). Springer. USA.
- Hamrick, J. L. y M. J. W. Godt. 1996. Effects of Life history Traits on Genetic Diversity in Plant Species. *Philos. T. R. Soc. B*. 351: 1291-1298.
- Hamrick J. L., J. D. Nason, T. H. Fleming, y J. M. Nassar. 2002. Chapter 6: Genetic Diversity in Columnar Cacti. In: Fleming T. H. y A. Valiente-Banuet (Eds.). 2002. Columnar cacti and their mutualists: evolution, ecology and conservation. University of Arizona Press. USA. p. 122–133.
- Hardesty B. D., S. L. Hugues, V. M. Rodriguez y J. A. Hawkins. 2008. Characterization of microsatellite loci for endangered cactus *Echinocactus grusonii*, and their cross-species utilization. *Mol. Ecol. Resour.* 8: 164-167.
- Helsen P., P. Verdyck, A. Tye, K. Desender, N. Van Houtte y S. Van Dongen. 2007. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in Galapagos prickly pear (*Opuntia*) cactus species. *Mol. Ecol. Notes*. 7: 454–456.
- IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.2. <<http://www.iucnredlist.org>>. Descargado el 29 de junio de 2010.
- Lloyd M. 1967. Mean Crowding. *J. Anim. Ecol.* 36: 1-30.

- Loveless, M. D. y J. L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 15: 65-95
- Martorell, C. y P. Patiño. 2006. Globose cacti (*Mammillaria*) living on cliffs avoid high temperatures in a hot dryland of Southern México. *J. Arid Environ.* 67: 541-552.
- Martorell, C y E. M. Peters. 2005. The measurement of chronic disturbance and its effects on the threatened cactus *Mammillaria pectinifera*. *Biol. Conserv.* 124: 199-207.
- Martorell, C y E. M. Peters. 2009. Disturbance-Response Analysis: a method for rapid assessment of the threat to species in disturbed areas. *Conserv. Biol.* 23: 377-387.
- Méndez-Larios, I., E. Ortiz y J. L. Villaseñor. 2004. Las Magnoliophyta endémicas de la porción xerofítica de la provincia florística del valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. *An. Inst. Biol., UNAM. Serie Botánica.* 75: 87-104.
- Mota-Lambert S., E. Leite-Borba, M. Câmara-Machado, S. C. DaSilva-Andrade. 2006. Allozyme Diversity and Morphometrics of *Melocactus paucispinus* (Cactaceae) and Evidence for Hybridization with *M. concinnus* in the Chapada Diamantina, North-eastern Brazil. *Ann. Bot.* 97: 389-403.
- Nassar J. M., J. L. Hamrick y T. H. Fleming. 2001. Genetic variation and population structure of the mixed-mating cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Heredity.* 87: 69-79.
- Nassar J. M., J. L. Hamrick y T. H. Fleming. 2002. Allozyme Diversity and Genetic Structure of the Leafy Cactus (*Pereskia guamacho* [Cactaceae]). *J. Hered.* 2002. 93: 193-200.

- Nassar J. M., J. L. Hamrick y T H. Fleming. 2003. Population genetic structure of Venezuelan chiropterophilous columnar cacti (Cactaceae). *Am. J. Bot.* 90: 1628-1637.
- Nei M. 1973. Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 70: 3321-3323.
- Otero-Arnaiz A., J. Cruse-Sanders, A. Casas y J. L. Hamrick. 2004. Isolation and characterization of microsatellites in the columnar cactus: *Polaskia chichipe* and cross-species amplification within the Tribe Pachycereeae (Cactaceae). *Mol. Ecol. Notes.* 4: 265-267.
- Otero-Arnaiz, A., A. Casas, J. L. Hamrick y J. Cruse-Sanders. 2005. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central Mexico. *Mol. Ecol.* 14: 1603-1611.
- Parker, P. G., A. A. Snow, M. D. Schug, G. C. Booton y P. A. Fuerst. 1998. What molecules can tell us about populations: Choosing and using a molecular marker. *Ecology.* 79: 361–382.
- Parra, F., A. Casas, J. M. Peñalosa-Ramírez, A. C. Cortes-Palomec, V. Rocha-Ramírez y A. González-Rodríguez. 2010. Evolution under domestication: ongoing artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacán Valley, Mexico. *Annals of Bot.* 106: 483-496.
- Peters, E. y C. Martorell. 2001. Conocimiento y conservación de las mamilarias endémicas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Universidad Nacional Autónoma de México

- Instituto de Ecología. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. R166. México D. F. (Para las secciones de exploración y descripción de localidades).
- Peters, E. M., C. Martorell y E. Ezcurra. 2008. Nurse rocks are more important than nurse plants in determining the distribution and establishment of globose cacti (*Mammillaria*) in the Tehuacán Valley, Mexico. *J. Arid Environ.* 72: 593 - 601.
- Peters, E. M., C. Martorell y E. Ezcurra. 2009. The adaptive value of cued seed dispersal in desert plants: seed retention and release in *Mammillaria pectinifera* (Cactaceae), a small globose cactus. *Am. J. Bot.* 96: 537-541.
- Primack, R. B. 2002. *Essentials of conservation biology*. Sinauer. Sunderland, Massachusetts. USA.
- Pruett C. L. y K. Winker. 2008. The effects of sample size on population genetic diversity estimates in song sparrows *Melospiza melodia*. *J. Avian Biol.* 39: 251-256.
- Saldkind N. J. 2007. *Encyclopedia of measurement and statistics*. SAGE Publications Inc. USA.
- Schemske, D. W., B. C. Husband, M. H. Ruckelshaus, C. Goodwillie, I. M. Parker y J. G. Bishop. 1994. Evaluating Approaches to the Conservation of Rare and Endangered Plants. *Ecology.* 75: 584-606.
- Selkoe, K. A. y R. J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists: A practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecol Lett.* 9: 615-619.
- Solórzano S., A. C. Cortez-Palomec, A. Ibarra, P. Dávila y K. Oyama. 2009. Isolation, characterization and cross-amplification of polymorphic microsatellite loci in the

- threatened endemic *Mammillaria crucigera* (Cactaceae). *Mol. Ecol. Resour.* 9: 156-158.
- Tambutti M., A. Aldama, O. Sánchez, R. Medellín y J. Soberón. 2001. La determinación del riesgo de extinción en especies silvestres en México. *Gaceta Ecológica*, Instituto Nacional de Ecología. 61: 11-21.
- Terry M., A. E. Pepper y J. R. Manhart. 2006. Development and characterization of microsatellite loci in endangered *Astrophytum asterias* (Cactaceae). *Mol. Ecol. Notes.* 6: 865-866.
- Valiente-Banuet A., A. Casas, A. Alcántara, P. Dávila, H. N. Flores, A. M. C. Arizmendi, J. L. Villaseñor y J. Ortega. 2000. La vegetación del valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 67: 24-74.
- Valverde, P. L. y J. A. Zavala-Hurtado. 2006. Assessing the ecological status of *Mammillaria pectinifera* Weber (Cactaceae), a rare and threatened species endemic of the Tehuacán-Cuicatlán Region in Central México. *J. Arid Environ.* 64: 193-208.
- Weir, B. S. y C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution.* 38: 1358-1370.
- Weir, B. S. y W. G. Hill. 2002. Estimating F-Statistics. *Annu. Rev. Genet.* 36: 721-750.
- Willi, Y., J. V Buskirk y A. A. Hoffmann. 2006. Limits to the Adaptive Potential of Small Populations. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37: 433-458.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugenetic.* 15: 323-354.

Zavala-Hurtado, J. A. y P. L. Valverde. 2003. Habitat restriction in *Mammillaria pectinifera*, a threatened endemic Mexican cactus. *J. Veg. Sci.* 14: 891-898.

ANEXO 1: ECUACIONES.

A) **Índice de Lloyd (1967)**, para determinar el tipo de distribución espacial de los individuos dentro de una población:

$$\dot{m}^* = m + \left(\frac{\sigma^2}{m} - 1 \right)$$

Donde, m representa la densidad promedio de individuos por cada cuadro y σ^2 es la varianza que resulta de la acumulación de otros individuos en un mismo cuadro por cada individuo.

B) **Heterocigosidad observada (H_o):**

$$H_o = 1 - \sum_{i=1}^h H_i$$

Donde, H_i es la frecuencia observada de cada genotipo heterocigoto, respecto al número total de genotipos heterocigotos posibles: $h = k(k-1)/2$; k representa el número de alelos. Puede aplicarse para obtener el promedio de varios loci.

C) **Heterocigosidad esperada (He):**

$$He = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

Donde, k es el número de alelos en un locus y p_i^2 representa la frecuencia esperada de genotipos distintos, de acuerdo con las frecuencias alélicas.

D) **Heterocigosidad en poblaciones subdivididas:**

$$H_l = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \hat{H}_i$$

Promedio de la heterocigosidad observada dentro de cada subpoblación.

$$H_S = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n 2p_i q_i$$

Promedio de la heterocigosidad esperada de las subpoblaciones, asumiendo apareamiento al azar dentro de cada subpoblación.

$$H_T = 2\bar{p}\bar{q}$$

Heterocigosidad esperada de toda la población, asumiendo apareamiento al azar dentro de las subpoblaciones y sin divergencia en las frecuencias alélicas entre subpoblaciones.

E) Estadísticos F de Wright (Hamilton 2009):

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_I}{H_T}$$

Índice total de endogamia: la correlación entre dos alelos en un genotipo muestreado aleatoriamente dentro de una subpoblación dada la posibilidad de que ocurran apareamientos no aleatorios dentro de una población y la frecuencia de alelos diverja entre poblaciones.

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

Índice de endogamia de cada población: diferencia promedio entre la heterocigosidad observada y la esperada en el equilibrio Hardy-Weinberg, dentro de cada subpoblación, debida al apareamiento no aleatorio. La correlación entre dos alelos en un genotipo muestreado al azar de cualquier población.

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

Índice de diferenciación: la reducción en la heterocigosidad debida a la divergencia de una subpoblación en sus frecuencias alélicas. La diferencia entre el promedio de la heterocigosidad esperada en subpoblaciones y la heterocigosidad esperada en la población total. Alternativamente, la probabilidad de que dos alelos muestreados aleatoriamente de una misma subpoblación sean idénticos, dada la probabilidad de que dos alelos muestreados de la población total sean idénticos.

Los estadísticos F presentan la siguiente relación:

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$$

F) Flujo de genes o número de migrantes (Nm), a partir del índice de diferenciación entre poblaciones (F_{ST}):

$$Nm \approx \frac{1}{4} \left(\frac{1}{F_{ST}} - 1 \right)$$

G) Corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones:

$$\alpha [PT] = \frac{\alpha [PF]}{C}$$

Donde $\alpha[PT]$ es el valor de *alpha* para cada prueba, $\alpha[PF]$ es el valor de *alpha* para cada familia de pruebas y C es el número de pruebas computadas (Saldkin 2007).