



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

ECOLOGÍA

**DISPERSIÓN A LARGA DISTANCIA vs VICARIANZA: VARIACIÓN GENÉTICA EN UN CACTUS
COLUMNAR (*Stenocereus thurberi*) CON DISTRIBUCIÓN INSULAR, PENINSULAR Y
CONTINENTAL EN EL GOLFO DE CALIFORNIA**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

SEBASTIÁN ARENAS JIMÉNEZ

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOSÉ ALBERTO BÚRQUEZ MONTIJO
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**COMITÉ TUTOR: DR. LUIS ENRIQUE ENGUIARTE FRUNS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**COMITÉ TUTOR: DR. ENRIQUE MARTÍNEZ MEYER
INSTITUTO DE BIOLOGÍA**

MÉXICO, D.F. MES SEPTIEMBRE, 2015



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

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

ECOLOGÍA

**DISPERSIÓN A LARGA DISTANCIA vs VICARIANZA: VARIACIÓN GENÉTICA EN UN CACTUS
COLUMNAR (*Stenocereus thurberi*) CON DISTRIBUCIÓN INSULAR, PENINSULAR Y
CONTINENTAL EN EL GOLFO DE CALIFORNIA**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

SEBASTIÁN ARENAS JIMÉNEZ

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOSÉ ALBERTO BÚRQUEZ MONTIJO
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**COMITÉ TUTOR: DR. LUIS ENRIQUE ENGUIARTE FRUNS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**COMITÉ TUTOR: DR. ENRIQUE MARTÍNEZ MEYER
INSTITUTO DE BIOLOGÍA**

MÉXICO, D.F. MES SEPTIEMBRE, 2015

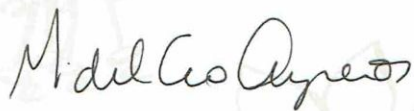
Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Evolutiva y Sistemática, en su sesión ordinaria del día 29 de junio de 2015, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **ARENAS JIMÉNEZ SEBASTIÁN** con número de cuenta **513453108** con la tesis titulada "**DISPERSIÓN A LARGA DISTANCIA vs VICARIANZA: VARIACIÓN GENÉTICA EN UN CACTUS COLUMNAR (*Stenocereus thurberi*) CON DISTRIBUCIÓN INSULAR, PENINSULAR Y CONTINENTAL EN EL GOLFO DE CALIFORNIA**", bajo la dirección del **DR. JOSÉ ALBERTO BÚRQUEZ MONTIJO**:

Presidente:	DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ
Vocal:	DRA. ENRIQUENA BUSTAMANTE ORTEGA
Secretario:	DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
Suplente:	DRA. ALEJANDRA MORENO LETELIER
Suplente	DR. JUAN FRANCISCO ORNELAS RODRÍGUEZ

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

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 08 de septiembre de 2015.



DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



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

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial a la Universidad Nacional Autónoma de México, al Posgrado en Ciencias Biológicas y al Instituto de Ecología por haber dado la oportunidad de realizar mis estudios en el programa de Maestría.

En el proyecto “Dinámica y genética de poblaciones de cactáceas columnares del noroeste de México”, se le agradece al PAPIIT tanto por el apoyo con el proyecto en general, como por la beca otorgada. En el caso de la beca, agradezco explícitamente al programa por la colaboración en la Investigación realizada gracias al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IN213814.

Agradecimiento también, al proyecto SEMARNAT-CONACYT (C01-0580) donde se colectaron las muestras de Sonora. Con sus respectivos permisos de colecta de SEMARNAT para las muestras de tejido que es el SGPA/DGGFS/712/3133/13. Agradezco el apoyo económico a través de la beca de Maestría otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con CVU no. 480152.

Gracias absolutas a los miembros del Comité Tutorial: Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns, Dr. Enrique Martínez-Meyer por su apoyo, orientación y tiempo, y agradecimiento personal al Dr. José Alberto Búrquez Montijo por sus buenos consejos, dirección y por las correcciones a esta tesis.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Al Dr. José Alberto Búrquez Montijo por su apoyo, amistad tiempo invertido en dirigir este trabajo, gracias por darme la oportunidad de conocer las maravillas de noroeste de México. A su esposa la Dra Angelina Martínez-Yrizar por tratarme como a otro de sus “hijos”. Al Dr. Luis Eguiarte Fruns y a la Dra Valeria Souza Saldivar por abrirme las puertas de su laboratorio, darme las herramientas para realizar mi tesis y tratarme como a otro de sus estudiantes... A todos ustedes, mi vida en México no hubiera sido igual si no los hubiera conocido y a los cuatro ¡ GRACIAS !

Agradezco a los miembros del jurado de mi examen de tesis por las revisiones, correcciones y buenos consejos, a la Dra. Ella Vázquez Domínguez, al Dr. Juan Francisco Ornelas Rodríguez, a la Dra. Enriquena Bustamante Ortega, al Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns y a la Dra. Alejandra Moreno Letelier, a todos ustedes gracias por su colaboración en mi proceso de formación profesional.

Un agradecimiento especial a la Universidad Nacional Autónoma de México que con sus lindas instalaciones y su magnificencia le ha dado la oportunidad de estudiar y salir adelante a miles de estudiantes, ¡UNAM, libre, laica, pública y gratuita!!!. A la directora del posgrado Dra. María del Coro Arizmendi por creer en mí y aceptarme en el programa de Maestría. A mis profesores Dr. Juan Pablo Jaramillo y la Dra. Ella Vázquez por enseñarme que la filogeografía y genética es una parte fundamental en mi vida, al Dr. Julio Campo por enseñarme lo poco que conozco de ecología de ecosistemas, al Dr. Juan Nuñez por sus enseñanzas y amistad y al Dr. Luis Eguiarte por sus clases de alto nivel.

A la Dra. Enriquena Bustamante Ortega por su colaboración en el muestreo de plantas y su apoyo con todos los estudiantes. Al M en C. Enrique Scheinvar Gottnier por su valiosa ayuda en el manejo de los datos, ayuda para correr programas y sus críticas en el escrito. A los dos, muchas gracias por la revisión, porque sin sus aportes el trabajo no se hubiera podido realizar satisfactoriamente.

Al Dr. Santiago Ramírez Barahona por enseñarme a hacer montaje de la técnica de PCRs para cloroplasto y por siempre ponerme a pensar con sus consejos. Al Msc. Gabriel Merino Díaz por enseñarme a hacer unas buenas extracciones de tejido vegetal y por esas charlas inconclusas de los pumas. Al Biól y amigo Josué Barrera por enseñarme a hacer curvas de PCRs y por abrirme las puertas de su casa y familia. A doña Silvia por su valiosa ayuda en las extracciones de cactus y por ser un apoyo moral cuando yo lo necesité, le agradezco a la vida por haber puesto a alguien como usted en mi camino, a la Msc. Gabriela Castellanos por sus revisiones y consejos.

A las dos gentiles y sonrientes técnicas del laboratorio Erika Aguirre Planter y Laura Espinosa Asuar por brindarme todas las herramientas para la realización de la tesis y por su cuidado para que nunca faltara nada en el laboratorio (o al menos para que hubiera Taq). A Manuel Rosas por sus buenos consejos sobre extracción vegetal y sus trucos de electroforesis. Al Dr. Jaime Gasca Pineda, al Biól Jonas Aguirre, a la Msc Alejandra Gutierrez, a la Biól Felicitas Lagunes, a la Dra. Alejandra Vazquez-Lobo, a la Biól. Yoselyn Gutierrez, porque sus consejos, porque, por más pequeños que fueran ayudaron en mi crecimiento profesional y en el desarrollo de la tesis. A los demás estudiantes del laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, por su compañerismo, consejos, enseñanzas mexicanas y compañía los lunes festivos.

Un agradecimiento a mis compañeros Sonorenses del laboratorio de Ecología de Zonas Áridas y Semiáridas de la UNAM. Keno, Juan Carlos, Adrián, Ricardo y Bárbara, a todos, gracias por sus consejos, compañía y apoyo, ¡Arriba el norte!. A mis otros compañeros del Instituto de Ecología por su valiosa amistad Paola, Iván, Palestina, Anaitzi, Daniela, Laura, Adriana, Diana, Alán y Fátima... te admiro mujer.

Los agradecimientos más especiales van dirigidos para las personas más importantes en mi vida. Mis dos padres Ariel Eduardo y Silvia Patricia tan fuertes, tan guerreros, tan cariñosos y siempre apoyando mis deseos de superación y de salir adelante. Gracias por toda la confianza, por su interés cada vez que quiero llegar a un nuevo lugar en mi vida, por los dos años creyendo ciegamente en mí y por cuidarme a través de la distancia. A mi hermanos Juan Guillermo y Carlos Fernando que siempre han creído en mí y en mi forma de ver la vida. A la dueña de mi corazón a María Juliana "Mi princesa" porque con sus canciones y palabras era la única que me hacía pensar que todo estaba bien, por ser un ejemplo para mí, por el inmenso amor y dedicación que le tiene a la Música y eso me impulsa, porque me entrega credibilidad y enseñanza de ser mejor cada día. A mis dos abuelos por ser la fuerza motriz de mi familia y porque siempre han creído en mí, aunque no entienden porque me voy al desierto a cortar pedazos de cactus.

Unos agradecimientos especiales a esos amigos que desde Bucaramanga nunca se han olvidado ni alejado de mí, haciéndome reír de vez en cuando recordando bromas y contándome chismes. A los dos esquizoprendos Daniel y Christian, porque más que mis amigos son otros dos hermanos en vida que tengo de casa, a Angie por acompañarme con sus historias, a Erika y Susana por acompañarme con risas, a Mauricio, Pablo, Edinson porque aún que pase el tiempo siempre hemos compartido el lema "vivir y vencer". A Gerardo bacano que hubiera venido, Leonardo, Freddy, Victor, Juliette, Nathaly, Logan, Nestor, Sarely, Giohanna, Silvia, Carolina, David, Margarita, Jairo, Juanka, Dayana, Alejandra por ser mis parceros.

Agradecimientos a esos buenos amigos que he hecho en México, algunos de aquí, otros paisanos y otros de un poco más lejos. A Franzi por ser la persona más linda que he conocido aquí, a Cathy por siempre recibirme con una historia diferente pero con la misma sonrisa, a Felipe, Oliver y Marco por ser los tres chiflados y siempre tener esa gentileza que solo se da en el sur de Sudamérica, a mi tigre y a Diego Márquez gracias por su inmenso apoyo y amistad, a Lukasz por ser mi compañero de locuras, a Juan Felipe por su transparencia y amistad, a Florrie por creer en mí aunque sabía que yo estaba un poco loco, a Dani Figueroa por ser el apoyo Santandereano desde mi querida UIS, a Yesi Sepulveda y Cami Gallego por ser las dos colombianas más encantadoras que he conocido y porque siempre tenían las palabras indicadas, en el momento indicado, a mis amigos Lufe Valbuena, Alejandra GI, Elkin, Aleja de la Cruz, Melissa, a Andrés, Carlitos R. Estefa, Jason Herrera, Cortés, Cami Bernal, Yeyo, Andresito, el Rocha, Dani paisa, Rocha, Meli, Yéssica, y a "la paisana", por enseñarme que uno puede hacer buenos amigos de mi casa fuera de ella. A Inna, Caro, Kat, Sabrina, Claudia, Aida y Mara por brindarme una amistad linda y sincera ...! Las quiero ¡. A mis queridos amigos Pablo etcetera, Marta, Ana María, Jazmín, Paulita, Sito, Miki, Dani, Rosy, Karla, Lucho, Guillermo, Jousen, Pilote, Yayo, Leyandr, Claudia Sonora, Gibrán, Luis de la Selva, Alán Nuñez, Eisenia, Andrea, Gaby, Miguel... a y a Lalo, gracias por compartir sus locuras conmigo, que la vida nos vuelva a reunir brindando. A mis amigos Shary, Oscar y Pablo los admiro y siempre se los hice saber. Finalmente, un inmenso gracias a un gran amigo, compañero que fue el apoyo más firme que tuve en México. Negro, en la buena, ojala que pronto estemos en el caballo de la UIS como en los viejos tiempos !!!

DEDICATORIA

Con cariño y admiración a un país verde como una manzana

A Baja California con sus mamíferos majestuosos y

Su arte rupestre rodeado por gigantes sirios del desierto

A Chiapas por su agua sobre nuestras cabezas y bajo nuestros pies,

Junto con sus paisajes verdes, sumidéricos, sonoros y sus lagunas bellas como el monte

A Oaxaca que con sus artesanías, mezcal y chocolate siempre sorprenden

Pero más sorprenden su punta de cometa, sus olas gigantes con diferentes azules y sus tlayudas

A Sonora que con su cultura Seri y Mayo que cambiaron mi vida y

Su gentileza, sus naranjas, su milla, sus cactus esplendidos y sus siempre inolvidable Taco Fish

A San Luis Potosí con sus catorce reales, sus huicholes y su carretera sin destino cambiaron mi vida,

Que con su huasteca, su barrio San Miguelito y su infaltable Oruga me hicieron sentir en casa

A Quintana Roo que con sus murallas junto al océano hicieron de mi vida una aventura y

que con sus ríos subterráneos y ceviches tendrá una puerta Maya abierta

A todo México, te dedico lo más importante que he hecho en ti,

Porque sos la decisión más importante que he tomado en mí vida.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1 <i>Modelos de distribución de especies en filogeografía</i>	21
1.2 ANTECEDENTES	21
1.2.1 <i>La familia Cactaceae</i>	22
1.2.2. <i>Análisis moleculares en cactáceas columnares</i>	23
1.3 <i>ESPECIE EN ESTUDIO</i>	24
2. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	26
3. OBJETIVOS	27
3.1 Objetivo general.....	27
3.2 Objetivos específicos.....	27
4. MATERIALES Y MÉTODOS	28
4.1 Poblaciones de estudio.	28
4.2 Obtención de muestras, extracción del ADN y métodos analíticos.	29
4.3 Análisis estadístico.	32
4.3.1 <i>Secuenciación</i>	32
4.3.2 <i>Estadísticos de resumen</i>	32
4.3.3. <i>Estructuración</i>	35
4.3.4 <i>Métodos filogenéticos</i>	35
4.3.5 <i>Red de haplotipos</i>	36
4.3.6. <i>Análisis de agrupaciones espaciales genéticas y estructura filogeográfica</i>	36
4.3.7 <i>Aislamiento por distancia</i>	37
4.3.8 <i>Barreras geográficas</i>	37
4.3.9. <i>Análisis de mismatch</i>	38
4.3.10. <i>Análisis de Skyline Plot</i>	38
4.3.11. <i>Distribución potencial</i>	39
4.3.12. <i>Aislamiento por resistencia</i>	41
5. RESULTADOS.....	42
5.1.1 <i>Estadísticos de resumen</i>	42
5.1.2 <i>Estructuración</i>	45

5.2 . Métodos gráficos – basados en árboles de genes –	46
5.2.1. Red de haplotipos	50
5.2.2. Análisis de agrupaciones espaciales genéticas y estructura filogeográfica	52
5.2.3. Aislamiento por distancia.....	53
5.2.4. Barreras geográficas.....	53
5.2.5. Grafica de mismach	54
5.2.7. Distribución Potencial	57
5.2.8. Análisis ambiental	61
5.2.9. Aislamiento por resistencia	63
6. DISCUSIÓN	65
6.1. Dispersión vs. vicarianza: variación genética de <i>S. thurberi</i> en el Golfo de California	68
6.2. El papel de los vectores de dispersión	71
6.3. Eventos temporales y demográficos entre poblaciones Golfo de California	72
6.4. Refugios pleistocénicos en comunidades de <i>S. thurberi</i>	75
6.5. Conservación del desierto.....	79
7. CONCLUSIONES	82
8. APÉNDICES.....	84
8.1 Apéndice I: PROTOCOLO DE LABORATORIO	84
8.1.1. PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN PARA <i>Stenocereus thurberi</i>	84
8.1.2. BUFFER DE EXTRACCIÓN CTAB2X	85
8.1.3. BUFFER DE EXTRACCIÓN CTAB	85
8.1.4. BUFFER DE EXTRACCIÓN STE.....	85
BUFFER DE ELECTROFORESIS TAE.....	86
8.2. Apéndice II: Fórmula utilizada de N_e	86
8.3. Apéndice III: Descripción del modelo en Beast	87
8.4. Apéndice IV: Descripción del modelo en Maxent.....	87
8.5. Apéndice V: Frecuencia de los haplotipos	88

8.6. Apéndice VI: Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con tres niveles jerárquicos para el conjunto de poblaciones de <i>S. thurberi</i> en la parte superior están los valores para el grupo continental y en la parte inferior el grupo de las peninsulares.	88
8.7. Apéndice VII. Topología resultado del análisis bayesiano realizado con solo los haplotipos.	89
8.8. Apéndice VIII: Matriz de aislamiento por distancia (IBD)	89
8.9. Apéndice IX: Curvas de validación del modelo de nicho	90
8.10. Apéndice X: Matriz de aislamiento por resistencia (IBR)	91
8.11. Apéndice XI. Análisis de clústers para las 19 variables bioclimáticas extraídas en el modelo. En el mapa los puntos morados son las poblaciones de Sonora y los puntos azules son las poblaciones de Baja California	92
9. LITERATURA CITADA	93

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Distribución geográfica de las muestras de *Stenocereus thurberi* (Cactaceae) en su área de distribución. Los puntos azules corresponden a las poblaciones continentales en Sonora y los puntos rojos son las de Baja California.....29
- Figura 2.** Modelo potencial de distribución de *Stenocereus thurberi* (Cactaceae). Los puntos azules corresponden con las posibles presencias continentales y los verdes con las peninsulares.....40.
- Figura 3.** Distribución y frecuencias de los haplotipos por cada población. Cada uno de los puntos rojos equivale a una población, la cual presenta su nombre en la gráfica. Todas las muestras se colectaron en el Golfo de California. Los haplotipos presentan la siguiente configuración: Hap1=Gris claro; Hap2=Azul; Hap3=Rojo; Hap4=Amarillo; Hap5=Azul claro; Hap6=Gris oscuro; Hap7=Naranja; Hap8=Rosa; Hap9=Rosa claro; Hap10= Morado; Hap11=Piel; Hap12=Verde.....44
- Figura 4.** Topología resultado del análisis bayesiano realizado con el total de individuos de *S. thurberi*. Basado en 2238 pb de tres genes de cloroplasto. Los números sobre los nodos de las ramas corresponden con la probabilidad posterior. Las letras frente a los taxos corresponden con los nombres de las poblaciones: Carbó=C, G=Guásimas, Kino=K, Magdalena=M, S= Sonoyta, T= Tecoripa, Z=Zacate Blanco (Sonora), Balandra, El Palmar= P, Nopolo= N, San Francisco= SF, Santa Rosalía= SR (Baja California Sur).....47
- Figura 5.** Reloj molecular resultado para el análisis de datos en BEAST. Los números sobre los nodos corresponden con tiempos de divergencia de los linajes y los círculos de colores son los 12 haplotipos.....49
- Figura 6.** Relaciones genealógicas entre el concatenado de los tres genes (*trnL-trnF*, *trnL-rpL32* y *petB* intrón D4), inferido por el algoritmo de red de haplotipos median-joining. El tamaño del círculo es proporcional a la frecuencia de individuos que presentan el correspondiente haplotipo. Los puntos negros corresponden a los pasos mutacionales. Los haplotipos que se encuentran en el rectángulo rojo corresponden con haplotipos exclusivos de Baja California.....51
- Figura 7.** Resultado del análisis bayesiano de estructura poblacional (BAPS). Los colores corresponden con los grupos genéticos de la mejor partición de los datos (log maximum likelihood = -438,3127; P=0,999) y es indicado por los diferentes colores de los polígonos de Voronoi. El grupo A= rojo; grupo B=azul; grupo C=verde; grupo D=amarillo.....52
- Figura 8.** Test de Mantel para *S. thurberi* entre las distancias genéticas de *Fst* entre poblaciones por pares y su distancia geográfica simple (km). Se observan tres regresiones lineales, la color gris corresponde con todas las poblaciones, la color azul corresponde con todas las poblaciones, la color azul corresponde con las poblaciones continentales y la color verde contiene solo al grupo de las poblaciones peninsulares..... 53
- Figura 9.** Cálculo de las barreras con Barrier v.2.0. Se realizó a partir de 200 matrices de distancias genéticas y una matriz de las coordenadas geográficas de las poblaciones. Cada una de las líneas rojas representa una barrera genética y los números sobre los nodos representan el valor de bootstrap de las barreras. En la gráfica las siglas corresponden con las poblaciones Son= Sonoyta, Mag= Magdalena, Kin= Kino, Car= Carbó, Tec= Tecoripa, Gua=

Guásimas, Zac= Zacate Blanco, S_Fr= San Francisco, S_R= Santa Rosalía, Nop= Nopolo, Bal= Balandra, Pal= El Palmar.....	54
Figura 10. <i>Skyline plot</i> bayesiano. La línea azul muestra el cambio del tamaño demográfico histórico en función del tiempo para los cuatro principales linajes encontrados. Las líneas negras corresponden a los intervalos de confianza. El eje y corresponde al estimado de tamaño poblacional calculado en unidades de $N_e\mu$, el producto del tamaño efectivo poblacional por tasa de mutación y el eje x muestra el tiempo generacional, estimado a partir de las mutaciones por sitio donde el cero corresponde con el presente. Estas líneas sólidas son el estimado de la mediana. La grafica corresponde con cada uno de las pozas génicas estimadas en el análisis bayesiano de BAPS en la figura 6. El color rojo equivale a la poza génica A, el color azul a la poza génica B, el color verde con la poza génica C y el color amarillo con la poza génica D.....	56
Figura 11. Modelos de distribución de <i>S. thurberi</i> utilizando los registros de presencia de la especie y las capas bioclimáticas de WorldClim junto con algunas topográficas. El área en verde representa la distribución probable restando el 10 percentil a) Modelo de distribución del último máximo glacial, c) Último inter glacial.....	60
Figura 12. Relación entre los dos primeros componentes para las 19 variables bioclimáticas de WorldClim. El color azul corresponde a los puntos ambientales del continente y los puntos verdes los de la península. Los círculos rosas corresponden con las poblaciones continentales y los círculos azules son las poblaciones peninsulares.....	61
Figura 13. Correlación entre las distancias genéticas de Nei entre poblaciones pareadas y su distancia ecológica, calculada como el valor del costo mínimo. La prueba de Mantel representa la regresión lineal para el grupo de todas las poblaciones en color gris, el valor de todas las muestras continentales de color azul y el valor para solo las muestras de la península de forma verde.....	63

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 . Poblaciones muestreadas de <i>Stenocereus thurberi</i> en Sonora y en la península de Baja California, México.	28
Tabla 2 . Iniciadores amplificados para <i>S. thurberi</i>	30
Tabla 3. Concentraciones estandarizadas de los reactivos de PCR, para los tres marcadores <i>trnL-trnF</i> , <i>petB</i> intrón D4 y <i>trnL-rpl32</i>	31
Tabla 4 . Condiciones estandarizadas para hacer las PCR de los tres primers.	31
Tabla 5 . Número de individuos amplificados por población, para cada uno de los tres marcadores.	32
Tabla 6 . Representación de los polimorfismos debido a cambios en una posición particular del fragmento concatenado (columnas) utilizado en este estudio y su distinción en haplotipos (hileras).	42
Tabla 7 . Número de individuos (N), número de haplotipos, número de sitios polimórficos (S), diversidad haplotípica (H_d), diversidad nucleotídica (π) y Theta-W, de las poblaciones y de la muestra total.....	43
Tabla 9 . Análisis jerárquico de Varianza Molecular (AMOVA) en cpADN basado en 2238 bp para el conjunto de poblaciones de <i>S. thurberi</i> . El porcentaje de variación asociado a cada nivel de agrupación.	45
Tabla 10 . Porcentaje de determinación de cada variable en los cuatro componentes principales calculados más probables para el análisis de componentes principales realizado a partir del modelo de nicho estimado para <i>S. thurberi</i> (PCA).	61
Tabla 11 . Estudios de genética de poblaciones y filogeografía en diferentes plantas utilizando ADNcp. Número de individuos (N), longitud de la secuencia (pb), diversidad haplotípica (H_d), diversidad nucleotídica (π) y coeficiente de estructuración genética (F_{st} o G_{st}).	65

RESUMEN

Por su longitud y escasa anchura, la península de Baja California es un ambiente casi insular. Como consecuencia las especies que habitan la península se encuentran parcialmente o completamente aisladas. Procesos evolutivos como la vicarianza y eventos recientes como la dispersión y la migración de individuos juegan un papel clave en la diferenciación poblacional. En el presente estudio se utilizó el pitayo, *Stenocereus thurberi* como una especie modelo para explorar la relación entre la distribución geográfica actual, y la estructura genética y el flujo génico. Asimismo, con base en la información genética de la especie, se explora el efecto de la separación de la península y su complicada evolución entre sistemas insulares y peninsulares, teniendo en cuenta el movimiento de los polinizadores y los dispersores de semillas. Se estudiaron 12 poblaciones a lo largo de su área de distribución geográfica para evaluar la diversidad y la estructura genética. Se pusieron a prueba métodos para modelar los procesos filogeográficos con base en las secuencias de ADN de cloroplasto: *trnL-trnF*, *rpl32-trnL* y *petB* intron D4. Los resultados mostraron alta variabilidad genética, donde la diversidad haplotípica fue mayor en poblaciones continentales que peninsulares (promedio $Hd=0.813$ y $Hd=0.713$, respectivamente), con una estructura genética más marcada en las peninsulares ($G_{st}=0.143$ en continente y $G_{st}=0.358$ en la península). La mayor diferenciación se presentó entre las poblaciones peninsulares y continentales (40.38%), con aislamiento por distancia ($r=0.466$; $P=0.001$). Se encontraron tres posibles barreras geográficas ancestrales 1) en la península y el continente, 2) una en la porción sur de Baja California y 3) en la población de Sonoyta en Sonora. El análisis bayesiano muestra una separación de los haplotipos de Baja California, lo cual sugiere un evento de vicarianza acompañado de eventos de dispersión a través del Golfo de Baja California de forma más reciente y por ello algunos haplotipos se comparten. Se reconstruyeron dos haplotipos ancestrales continentales y uno peninsular. Este último incluye una población costera de Sonora (Kino), probablemente relacionada con las poblaciones de Baja California Sur desde el Pleistoceno. En el Último Máximo Glacial (aproximadamente hace 21,000 años) las poblaciones se contrajeron en el sur de Sonora y Baja California. Actualmente, existe una expansión poblacional muy reciente y la especie aún se encuentra en actual divergencia poblacional pese al flujo génico actual.

ABSTRACT

Because of its length and narrow width, the peninsula of Baja California is an almost insular environment. As a result its species are partially isolated. Evolutionary processes including vicariance and other recent events play a key role in population differentiation. The pitayo *Stenocereus thurberi* is used as a model specie to explore the effect of the current geographical distribution in genetic structure and gene flow. This study explores the effect of the separation of the peninsula and the complicated evolution among island and peninsular systems based on genetic information. It further takes into account the complex movements of pollinators and seed dispersers. 12 populations were used throughout its range to assess diversity and genetic structure. Phylogeographical methods were tested to model processes based on the chloroplast DNA sequences: *trnL-trnF*, *rpl32-trnL* *petB* intron and D4. It was found that there is high genetic diversity. The genetic variance was higher in mainland populations than in peninsular populations ($H_d = 0.81336$; $H_d = 0.71335$), however the structure was more marked in the peninsular populations ($G_{st} = 0.4677$). Greater differentiation occurs between peninsular and continental (40.38%) populations, with isolation by distance ($r = 0.466$, $P = 0.001$). Three possible ancestral geographic barriers were found. Bayesian analysis showed a partial separation of Baja California haplotype, which suggests vicariance accompanied by a subsequent dispersion across the Gulf of Baja California. Two continental ancestral haplotypes and one peninsular were reconstructed. The latter includes the continental population of Kino probably from contact during the Pleistocene and environmental similarities between Baja California and the coastal populations of Sonora. In the Last Glacial Maximum (c.a 210000 years ago) the populations contracted in southern Sonora and Baja California. Currently, these populations are undergoing a recent population expansion and the species is still in current population divergence despite the current gene flow.

1. INTRODUCCIÓN

La península de Baja California es un ambiente casi insular por su extensión y poca anchura. Como consecuencia las especies cercanamente emparentadas se encuentran parcialmente aisladas por el golfo de California. Los procesos evolutivos incluyendo la vicarianza y otros eventos más recientes como: endogamia, deriva génica y flujo de genes, juegan un papel clave en la diferenciación poblacional. Debido a los movimientos relativos de las placas tectónicas del Pacífico y de Norteamérica, la península se ha ido apartando del continente con la paulatina creación de un nuevo piso oceánico en los últimos 12 millones de años (finales del Mioceno medio; Sandoval-Castillo *et al.*, 2003; Riddle *et al.*, 2000). El resultado final fue un surgimiento gradual del llamado “Golfo de California” hace aproximadamente 4-5 millones de años y la creación de la placa Rivera a través de lo que se conoce como “fallas transformes” (Calmus *et al.*, 2008). Este episodio geológico condujo a notables transformaciones ecológicas y a procesos evolutivos como la vicarianza que puede producir especiación de forma alopátrica, como se ha reportado en mamíferos, peces, plantas, entre otros (Karig y Jansky, 1972; Riddle *et al.*, 2000; Grismer, 2000). El Golfo de California, conocido también como Mar de Cortés es actualmente una barrera geográfica para muchas especies de la costa del Pacífico Mexicano. Algunas especies que derivaron de antiguas poblaciones que allí habitaban durante la apertura del Golfo, probablemente evolucionaron en aislamiento geográfico bajo nuevas determinantes ecológicas, geológicas y oceanográficas (Ezcurra *et al.*, 2002). Otras especies, que migraron después de la apertura del Golfo han evolucionado posteriormente en aislamiento, y mientras que otras, mantienen diversos grados de conexión genética con el continente. Esta disyunción ha tenido un enorme efecto en el origen, distribución y evolución de organismos, donde actualmente se albergan ambientes templados, desértico-cálidos, subtropicales y tropicales (Grismer, 2000; Mulcahy y Macey, 2009).

Antes de la teoría de la deriva continental y la tectónica de placas, se propusieron algunos modelos para explicar los procesos evolutivos que produjeron la diversidad y aislamiento de la flora y fauna actual de esta región natural (Wood *et al.*, 2008; Mulcahy y Macey, 2009). Orr (1960), propuso modelos ecogeográficos de dispersión para explicar la distribución de mamíferos. Lo mismo hizo Stager (1960) para la avifauna, y Savage (1960)

para los reptiles y anfibios a lo largo de la península. Posteriormente, con la aceptación de la teoría de tectónica de placas y el avance en el estudio de la geología regional. Murphy (1983) y Grismer (1994) propusieron a la vicarianza generada por la separación de la región de los Cabos, como elemento fundamental para explicar la historia de la herpetofauna peninsular. De acuerdo a Grismer (2000), Upton y Murphy (1997) y Riddle *et al.*, (2000), existen tres procesos mayores de fragmentación que fueron importantes en generar la diversidad actual de la región del Alto Golfo de California (1) una extensión del Golfo durante el Plioceno Tardío, (2) la desaparición del istmo de La Paz que fue cubierto por agua durante este mismo periodo, y (3) la aparición de un canal somero que se encontraba en la actual región central de Baja California, antes del Pleistoceno Medio.

En la península de Baja California existen numerosos casos de endemismo (Riemann y Ezcurra, 2007; Ramírez-Acosta *et al.*, 2012). Muchos de ellos son indudablemente el producto de la vicarianza (Bernadi *et al.*, 2003; Garrick *et al.*, 2009). Sin embargo, existen especies en la península (y en las islas) que exhiben poca o escasa diferenciación morfológica pese a las barrera geográfica que representa el Golfo de California (Rumemark *et al.*, 2012). Esta similitud fenotípica, puede indicar (1) la presencia de flujo genético tanto por el norte de la península, como a través del Golfo de California o (2) que si haya una diferenciación genética entre poblaciones separadas por el Golfo de California, pero que no sea aparente a nivel morfológico (criptoespecies) (Mulcahy y Macey, 2009). Por otro lado un proceso de vicarianza de biota ancestral por aislamiento alopátrico durante el Neógeno tardío se explicaría por la diferenciación poblacional entre especies presentes en ambas costas del golfo, o de monofilia recíproca entre filogrupos intraespecíficos (Croizat *et al.*, 1974; Kroft *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2011). Estos procesos que causan divergencia debido a las barreras geográficas no excluye eventos dispersivos recientes (Kroft *et al.*, 2006).

La estructura genética de las poblaciones naturales de los organismos incluyendo las plantas está determinada por la interacción entre fuerzas evolutivas como selección natural, mutación, deriva génica, endogamia y flujo génico (Hedrick, 2005). La magnitud y la dirección de estas fuerzas favorece en algunos casos la diferenciación, y en otros la homogenización genética entre poblaciones (Hedrick, 2005; Wang *et al.*, 2008). Este movimiento de genes que conduce al reordenamiento de las poblaciones de cada especie, está íntimamente relacionado

con la biología reproductiva de las especies, por ejemplo, los procesos de polinización, dispersión de semillas y su posterior establecimiento. En este sentido, la estructura genética de las poblaciones, está relacionada con los movimientos locales y migratorios de los polinizadores y dispersores de semillas. En muchos ecosistemas es importante incluyendo el desierto el papel de la quiropterofilia desierto es muy importante en la estructuración de las poblaciones de cactáceas columnares. Los murciélagos tienen una amplia capacidad de forrajear en distintos ambientes con condiciones cambiantes alrededor de su área de distribución (Neuweiler, 2000). En general, los murciélagos nectarívoros cumplen un papel importante en los ecosistemas porque son un vector importante para el transporte de polen, favoreciendo la fertilización de muchas plantas con flores (Fleming, 1982; Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet, 2000). Algunas especies como *Leptonycteris yerbabuena* además de polinizar se alimentan de los frutos de ciertas especies y la dispersan sus semillas, facilitando la exploración y colonización de nuevos espacios o nichos para la planta (Valiente- Banuet *et al.*, 1996).

La filogeografía integra conceptos y técnicas de genética de poblaciones, demografía, sistemática molecular, paleontología y biogeografía (Avise, 2000; Knowles 2009). Trabaja con componentes históricos de la distribución espacial de los linajes de genes, tomando en consideración momentos el tiempo y el espacio para describir las relaciones interespecíficas y jerárquicas (Nielsen y Beaumont, 2009), o conocer las relaciones entre genes ancestrales (Templeton *et al.*, 2004). La filogeografía estudia la variación entre y dentro de especies y poblaciones de especies, generando información para comprender aspectos que determinan divergencia poblacional (Avise, 2000). También, evalúa las relaciones evolutivas, con base en la distribución espacial de las poblaciones (relaciones espaciales de la distribución geográfica) (Avise, 2000; Hey y Machado, 2003; Freeland, 2005; Richards *et. al.*, 2007; Nielsen y Beaumonmt, 2009; Vázquez-Domínguez, 2009).

Los estudios filogeográficos no sólo implican analizar factores que explican los niveles de variación genética, también se debe pensar en la historia, la ecología e historia de vida de los organismos. En estos estudios se deben tener en cuenta aspectos como: la definición de linajes monofiléticos, a partir de análisis de fragmentos de secuencias de ADN conocidos como haplotipos que en filogeografía se evalúan a nivel de individuos dentro de las poblaciones (Soltis *et al.*, 1993; Hedrick 2005). Con dichas secuencias de ADN, se puede inferir procesos

evolutivos en el pasado a nivel poblacional trazar una relación ancestral hacia atrás en el tiempo, por medio de genealogías de genes, y que permiten determinar el ancestro común más reciente (Hey y Machado, 2003). Además, cuando se trabaja con ADN extracromosómico la herencia es primordialmente materna, la recombinación casi nula y con alta tasa de variación, los estudios con ADN cloroplástico (ADNcp, plantas) o mitocondrial (ADNmt, animales) han sido útiles como fuente de información para obtener la historia de las relaciones en forma lineal (Knowles y Maddison, 2002; Avise 2009; Arteaga, 2011). Dentro de las desventajas están que a veces no ofrecen información suficiente para resolver las relaciones entre géneros muy relacionados, es ADN que se encuentra ligado (Gielly y Taberlet, 1994), en ocasiones diferentes partes del genoma reconstruyen una historia diferente (Vázquez-Domínguez *et al.*, 2009),

A partir de los modelos matemáticos de demografía histórica de Kingman (1982) y Hudson (1983) sobre filogeografía se ha desarrollado la teoría de la coalescencia, la cual ha sido fundamental en los estudios de genética de poblaciones. Esta teoría se basa en la estocasticidad de los procesos evolutivos (Rosenberg y Nordborg, 2002), y permitir a partir de los linajes muestreados, simular estadísticos de resumen que expliquen los datos a partir de miles de genealogías posibles, y dar una probabilidad de cada uno de ellos (Hickerson *et al.*, 2010). También, propone que la población deben provenir de una única secuencia gen original o del ancestro común más reciente (MRCA por sus siglas en ingles), y la determinación del tiempo de este MRCA está dada a partir de los estadísticos de resumen o estadísticos sumario.

La filogeografía es una herramienta que permite poner a prueba procesos relacionados con la colonización de islas desde el continente, abordando los temas de la dispersión y la colonización a larga distancia en un marco teórico. La filogeografía permite evaluar cómo estos eventos históricos han afectado recientemente la distribución de la variación genética en linajes (Barton y Charlesworth, 1984). Así, esta disciplina ha aportado evidencia genética sobre los procesos que han afectado las poblaciones aisladas geográficamente, donde el flujo genético juega un papel importante, como en el caso de algunas plantas (Nakamura *et al.*, 2010; Walter *et al.*, 2010).

En este contexto, las poblaciones insulares, probablemente fundadas por individuos provenientes del continente, y mostrarían menor diversidad genética en comparación con las

del continente (Epperson, 2004). Por tanto, si el flujo genético a grandes distancias es esporádico, la diferenciación genética sería directamente proporcional a la distancia (Rousset, 1997)

1.1 *Modelos de distribución de especies en filogeografía*

Los dos principales componentes para acoplar la distribución y los modelos genéticos con técnicas moleculares son (1) generar hipótesis filogeográficas alternativas para los datos, y (2) evaluar estadísticamente estas hipótesis. Para explorar la influencia de los factores históricos sobre la diversidad y estructura genética de las poblaciones podemos combinar el enfoque filogeográfico utilizando técnicas moleculares con modelos de distribución potencial (Richards *et al.*, 2007).

Los modelos de distribución de especies pueden ayudarnos a resolver preguntas relacionadas con inferencias del cambio climático, paleodistribuciones, hibridación, áreas de endemismo, rutas de colonización post-glacial, y temas de filogeografía comparativa de taxos o taxones codistribuidos que pueden informar sobre los cambios en la estructura de la comunidad (Richards *et al.*, 2007; Weins *et al.*, 2006) y extinciones (Martínez–Meyer *et al.*, 2004).

En el caso de la historia de las especies de plantas en el Desierto Sonorense, se puede producir un mapa de distribución potencial en el pasado, utilizando una base de datos geográfica, que represente las condiciones climáticas que prevalecieron en el Pleistoceno. El Desierto Sonorense aparentemente se formó en respuesta a una tendencia de sequía en el Mioceno tardío (5,000 a 8,000 millones de años atrás), sin embargo, la mayoría de las especies del desierto (incluyendo las cactáceas) probablemente evolucionaron más temprano en el matorral espinoso ó el bosque tropical caducifolio (Van Devender, 1990, 2000). Las distribuciones actuales de cactáceas columnares del Desierto Sonorense probablemente ocurrieron en cada uno de los 15-20 interglaciares durante el Pleistoceno (Van Devender, 1990, 2000).

1.2 ANTECEDENTES

Este trabajo tiene como antecedente directo los trabajos sobre cactáceas columnares que iniciaron con los estudios sobre la ecología de poblaciones de especies del Desierto Sonorense como en el caso de Forrest Shreve quien inicio investigando al saguaro (Shreve,

1910). Después, Steenbergh y Lowe (1969, 1976), Turner (1960) y Huto *et al.*, (1986), produjeron el primer gran compendio monográfico sobre la ecología de la vegetación del Desierto Sonorense destacando como una especie muy importante al saguaro.

En el noroeste de México, Turner (1992) comenzó trabajos de fotografía repetida con saguaros que posteriormente permearon a otras especies (Bullock *et al.*, 2005), junto con trabajos de biología reproductiva (Parker, 1987; Nason *et al.*, 2002, Hartmann *et al.*, 2002; Fleming *et al.*, 1996, Holland y Fleming, 1998), y que se extendieron a conocer los aspectos genéticos y evolutivos asociados a la diferenciación poblacional de estas especies. Es importante estudiar estas especies debido a que son endémicas y representativas de los ecosistemas desérticos. Dentro de los estudios genéticos se ha encontrado niveles moderados de variación genética y relativamente poca diferenciación se han descrito para las cactáceas del noroeste de México, incluyendo *Stenocereus eruca*-*S. gummosus* (Clark-Tapia y Molina, 2003; Clark-Tapia *et al.*, 2005), *Lophocereus schottii* (Nason *et al.*, 2002), *Pachycereus pringlei* (Fleming *et al.*, 1998), y marginalmente para, *S. thurberi*, *Carnegiea gigantea*, *L. schottii* y *Pachycereus pringlei* (Hamrick *et al.*, 2002).

En el caso de *S. thurberi*, Bustamente *et al.* (enviado) describen la variación, estructura y flujo genético a detalle en las poblaciones del continente, encontrando poca estructuración genética entre poblaciones debido al flujo genético que impide la diferenciación entre poblaciones. Este trabajo, busca responder que tanta es la estructura genética y el flujo genético a través del Golfo de California en poblaciones continentales y peninsulares de *S. thurberi*, para discernir patrones de diferenciación por vicarianza y/o geodispersión.

1.2.1 La familia Cactaceae

La familia Cactaceae está formada por más de 2000 especies en 200 géneros (Nyffeler, 2002), que se caracterizan por presentar notables modificaciones morfológicas y fisiológicas que les permite enfrentar condiciones de limitación hídrica (Prado *et al.*, 2010; Vázquez-Sánchez *et al.*, 2012). También, son un elemento fitogeográfico importante del paisaje de las zonas áridas y semiáridas del Nuevo Mundo: desde Canadá hasta Argentina. La distribución actual de las especies de cactáceas es atribuible a eventos geoclimáticos, que se estiman empezaron a ocurrir desde hace aproximadamente 30 millones de años (Cota-Sánchez, 2008). La familia Cactaceae es representativa de la radiación evolutiva de los taxa de biomas áridos de

América. Estudios de evolución molecular señalan que este grupo monofilético presenta altas tasas de especiación y su radiación ocurrió recientemente durante la expansión de ambientes áridos, muy posiblemente en el Mioceno/Plioceno (Hernández-Hernández 2010; Hernández-Hernández *et al.*, 2011). La radiación del grupo coincide con la reducción global en la precipitación y en la concentración de CO₂ (Arakaki *et al.*, 2011), así como eventos geológicos continentales. Estos procesos incluyeron intensificación de la aridez y surgimiento de diversos hábitats que las cactáceas colonizaron con éxito (Hernández-Hernández, 2010).

Las cactáceas pertenecen a una familia joven, de la cual se tienen muy pocas muestras de fósiles, y parece que están en proceso de diferenciación, debido a mutaciones y poliploidías, que continuamente han hecho surgir nuevas taxa (Hernández-Hernández *et al.*, 2014). Los que en general, son plantas con ciclos de vida largos y bajas tasas de crecimiento (Ortega-Baes y Godínez-Alvares, 2006, Dávila *et al.*, 2002).

México es un país importante para la conservación de cactáceas ya que es uno de los principales centros de diversificación de la familia (Ortega-Baes y Godínez-Alvares, 2006; Fersham *et al.*, 2011). En México, existen aproximadamente 660 especies del total de las entre 1600 y 1800 reconocidas para la familia, y de estas, el 78% son especies endémicas (Gibson y Nobel, 1986). Ciertos ecosistemas mexicanos han sido favorecidos por la radiación adaptativa del grupo.

En especies de cactus columnares, el estudio de la separación geográfica de las poblaciones en los géneros *Lophocereus* y *Stenocereus*, ha provisto de algunos ejemplos con patrones evolutivos interesantes (Nason *et al.*, 2003 ; Clark-Tapia y Molina-Freaner, 2002). En particular, en la colonización de un ambiente diferencial desde poblaciones continentales, se ha encontrado la presencia de estos patrones en algunas especies de cactáceas columnares (Nason *et al.*, 2002; Nassar *et al.*, 2003).

1.2.2. *Análisis moleculares en cactáceas columnares*

Pocos análisis moleculares se han hecho con cactáceas. Los marcadores RAPD (random amplified polymorphic DNA, por sus siglas en inglés) han sido utilizados para el análisis de diversidad genética en algunas columnares (Nassar *et al.*, 2003; Clark-Tapia *et al.*, 2005; Figueredo *et al.*, 2010), y en todos los estudios los resultados muestran valores altos de variabilidad genética para este tipo de plantas.

En el caso de *Stenocereus thurberi*, Bustamante *et al.*, (enviado), utilizaron ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) y, determinaron valores altos de diversidad genética producto del flujo de genes continuo entre poblaciones. Hamrick *et al.*, (2002) utilizando aloenzimas en especies de cactus columnares del Desierto Sonorense con distribución disyunta entre Sonora y la península de Baja California (*L. schottii*, *P. pringlei* y *S. thurberi*), presentan valores altos de variación genética y que esta mayor en las poblaciones de la península de Baja California. Otero-Arnaiz *et al.*, (2005) y Parra *et al.*, (2010) utilizando como marcadores microsatélites estudiaron en el Centro y Sur de México en *Polanskia chichipe* y *Stenocereus pruinosus* respectivamente, utilizando como marcadores microsatélites y encontraron una fuerte estructura genética.

Butterworth *et al.*, (2002) incluyendo genes de cloroplasto estudiaron algunas relaciones filogenéticas entre géneros de la tribu Cactaeae. Arias *et al.*, (2003) y Arias *et al.* (2005) han incluido algunas regiones de cloroplasto para resolver la filogenia molecular en los géneros de cactus columnar *Pachycereus* y *Peniocereus*. Los análisis filogenéticos con datos de secuencias de cloroplasto han sido realizados a niveles taxonómicos de familias y ordenes (Nyffeler, 2001; López-Sesé *et al.*, 2003; Hernández-Hernández *et al.*, 2011), incluyendo genes y espaciadores intergénicos (Nyffeler, 2001), resolviendo relaciones filogenéticas de monofilia en la familia Cactaceae (Hernández-Hernández *et al.*, 2011).

Por otra parte, la reciente publicación del genoma del cloroplasto de *Carnegiea gigantea* (Sanderson *et al.*, 2015).

1.3 ESPECIE EN ESTUDIO

Stenocereus thurberi comúnmente llamado pitaya dulce, es un cactus columnar de 3 a 8 m de altura, con una extensa distribución en el Desierto Sonorense. Normalmente presenta numerosas ramas o brazos que emergen desde la base o desde un tronco corto (Turner *et al.*, 1995; Bustamante y Búrquez, 2008). Se caracteriza por que sus tallos tienen aproximadamente 6 pulgadas de diámetro, con entre 12 y 17 costillas por brazo. Presenta entre 9 y 10 espinas por areola (Arreola-Nava y Terrazas, 2003). Es una especie diploide con 11 pares de cromosomas (pinkawa y Parfitt, 1982).

Stenocereus thurberi presenta flores solitarias, perfectas, hermafroditas y típicamente

quiropterófilas, con diferentes tonalidades que oscilan entre crema y rosa. Las flores abren poco después del crepúsculo y cierran en el transcurso de la mañana del día siguiente. Generalmente *S. thurberi* inicia su floración a mediados de mayo, a veces desde finales de abril. Dependiendo de la localización geográfica, la floración dura entre 8 y 12 semanas (Bustamante y Búrquez, 2008).

Dado que *S. thurberi* es una especie auto-incompatible, su polinización depende de la interacción biótica con animales (Fleming et al., 1996; Fleming et al., 2001; Bustamante et al., 2001). El murciélago nectarívoro *Leptonycteis yerbabuena* es su principal polinizador. Sin embargo, también se reportan visitas de varias especies de colibríes y pájaros carpinteros, así como de otros polinizadores (esfíngidos). *Leptonycteris yerbabuena* se refugia durante el invierno en latitudes del sur y centro de México y en el verano aumenta sus visitas de polinización (Valiente-Banuet et al., 1996; Bustamante et al., 2010). Los frutos maduran a lo largo del verano, ofreciendo el pericarpio a los dispersores, principalmente murciélagos y aves, aunque otros animales vertebrados (incluyendo humanos) también dispersan semillas, por los mismos se afirma que la endozoocoria es el mecanismo de dispersión primaria de las semillas (Sosa et al., 2005; Otero-Arnaiz et al., 2005). Además, la pitaya dulce tiene gran importancia etnobotánica, dado que sus frutos son utilizados como alimento por los pobladores locales.

2. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

Teniendo en cuenta que el cactus columnar *Stenocereus thurberi* es una especie autoincompatible y la polinización y dispersión de las semillas es dependiente de la zoocoria. Por ello, se afirma que la variación genética de las plantas en los ambientes continental y peninsular del Golfo de California es resultado de procesos biogeográficos de vicarianza histórica y/o en caso contrario de geodispersión de genes a través del mar.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general.

Determinar los patrones de variación y estructura genética, con base en ADN de cloroplasto cpADN, así como, analizar la estructura filogeográfica de poblaciones de *Stenocereus thurberi*, en el contexto de los diferentes procesos históricos que han operado en las regiones del Desierto Sonorense y Baja California.

3.2 Objetivos específicos.

- Evaluar y comparar los niveles y patrones de variación genética entre poblaciones de *Stenocereus thurberi* utilizando marcadores moleculares del cloroplasto.
- Estimar la diversidad haplotípica y su relación con la diferenciación fenotípica en poblaciones de *S. thurberi*.
- Estimar la distancia genética y flujo genético entre poblaciones disyuntas continentales y peninsulares a lo largo del área de distribución de esta especie.
- Evaluar si las poblaciones peninsulares muestran un patrón de eventos de dispersión a larga distancia o de vicarianza.
- Obtener el modelo de distribución potencial de *S. thurberi* y proyectarlo al Pleistoceno para estimar los posibles cambios de distribución de la especie en el tiempo.

4. METODOLOGÍA

4.1 Poblaciones de estudio.

Se eligieron 12 poblaciones de *S. thurberi* distribuidas a lo largo del Desierto Sonorense siete en el continente y cinco en Baja California Sur (poblaciones peninsulares). Las siete poblaciones continentales se localizan a lo largo de un gradiente latitudinal que cubre desde la planicie costera del sur de Sonora hasta la subdivisión del Desierto Sonorense y Altiplano de Arizona en el norte del estado. Estas poblaciones también incluyen un gradiente altitudinal desde el nivel del mar hasta casi los 1000 m de elevación. Son sitios con diferentes características edáficas y de temperatura, Sonoyta es la población más al norte y Zacate Blanco la más sureña (ver Figura 1). Adicionalmente, se seleccionaron cinco poblaciones peninsulares distribuidas en la península de Baja California, desde la región de Los Cabos hasta el Desierto del Vizcaíno, incluye poblaciones que se localizan en elevaciones que van desde el nivel del mar hasta casi los 1000 m de elevación (Tabla 1, Fig. 1). Dicha variación altitudinal se expresa en una amplia variación climática, edáfica y biótica (ver Búrquez *et al.*, 1999).

Tabla 1 . Poblaciones muestreadas de *Stenocereus thurberi* en Sonora y en la península de Baja California, México.

Población	Ubicación	Latitud N	Longitud O	Altitud (msnm)	Número de ejemplares colectados
CONTINENTALES					
Carbó	Sonora	29°34'06''	111°05'29''	501	42
Guásimas	Sonora	27°52'10''	110°28'55''	5	43
Kino	Sonora	28°52'56''	112°01'39''	60	30
Magdalena	Sonora	30°40'57''	110°58'46''	964	45
Sonoyta	Sonora	31°48'17''	112°51'56''	512	44
Tecoripa	Sonora	28°37'50''	109°57'42''	411	30
Zacate blanco	Sonora	26°38'12''	109°18'39''	15	
PENINSULARES					
Balandra	Baja California Sur	24°19'22''	110°18'45''	11	41
El Palmar	Baja California Sur	23°16'24''	110°8'11''	58	39
Nopolo	Baja California Sur	25°56'6''	111°22'11''	63	31
Santa Rosalía	Baja California Sur	27°22'50''	112°23'31''	372	36
San Francisco	Baja California Sur	27°28'15''	113°13'19''	182	35
					Total=566

4.2 Obtención de muestras, extracción del ADN y métodos analíticos.

Para cada una de las poblaciones seleccionadas se colectó tejido de las costillas de brazos jóvenes de 15 a 20 individuos adultos en estado reproductivo, elegidos arbitrariamente conforme aparecieron en el muestreo. Para ello se tomó una muestra angosta del tejido fotosintético de aproximadamente 10 cm de longitud y 1-2 cm de anchura. En Sonora las muestras de tejido se guardaron provisionalmente en una hielera para transportarlo antes de colocarlas en un congelador a -19°C , y luego se almacenaron en un ultra congelador (-80°C). Las muestras de Baja California Sur se colocaron en bolsas ziplock con aproximadamente 15 gramos de sílica gel para lograr una rápida desecación. Posteriormente, se guardaron en un ultra congelador a -80°C . La colecta en las poblaciones de Sonora se hizo en el año 2005 por la Dra. Enriquena Bustamante Ortega y fue quien las facilitó para poder realizar esta investigación

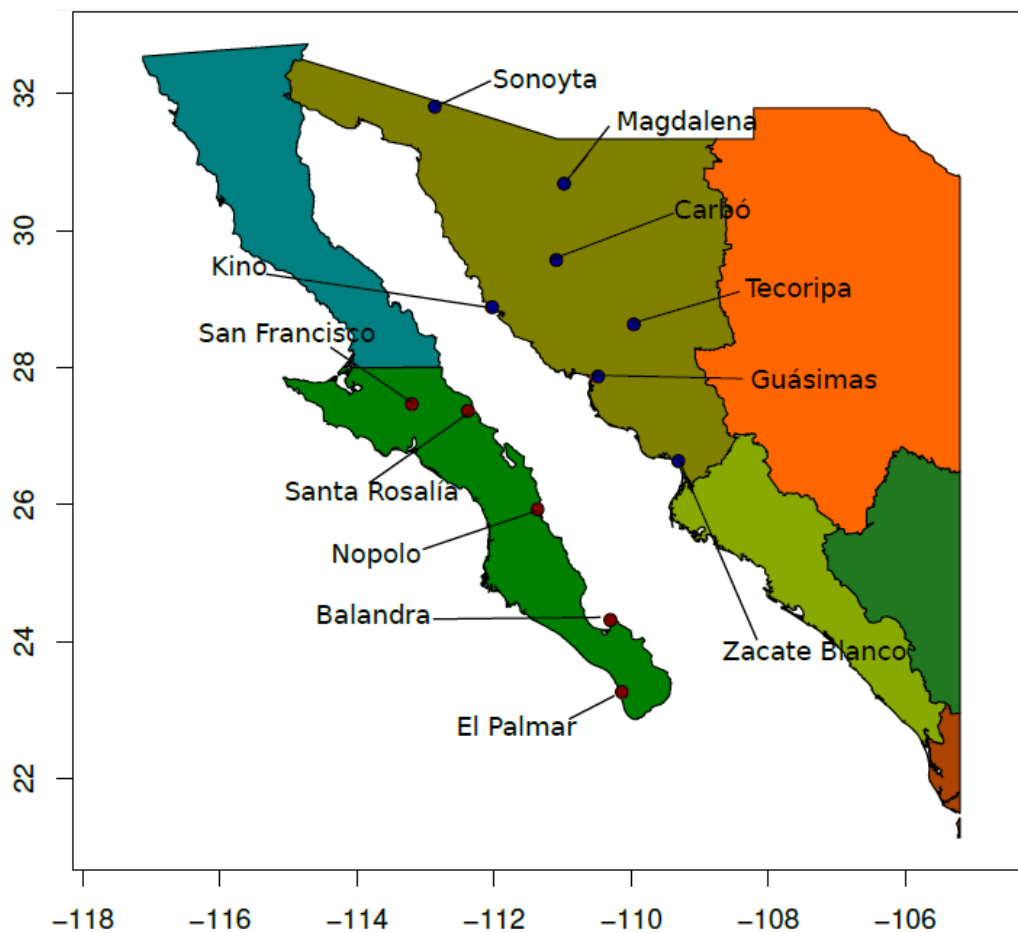


Figura 1. Distribución geográfica de las muestras de *Stenocereus thurberi* (Cactaceae) en su área de distribución. Los puntos azules corresponden a las poblaciones continentales en Sonora y los puntos rojos son las de Baja California.

La técnica de extracción de ADN se realizó según la metodología propuesta por Doyle y Doyle (1987) utilizando minipreparaciones. Se realizaron algunas modificaciones que responden de forma adecuada para plantas con caracteres de vegetales suculentos descritos por Valera y Falcón, (2007) y ajustes realizados por E. Bustamante (datos no publicados). Debido en gran parte a la abundante cantidad de mucílago (polisacáridos) que contienen los tallos de las cactáceas, las muestras fueron tratadas con proteínasa K y RNAsa (Apéndice I).

Tabla 2. Iniciadores amplificados para *S. thurberi*

Oligonucleotidos	Anclaje	Secuencias 5' →3'
<i>petB</i> intron D4	Sak23F (exón/D1)	GGARTATGAGTGTGTGACTTG
	Sak24R(D5)	ATRTGAGANTTTCATCTCGTAC
Shaw Vcd	<i>trnL</i>(UAG)	CTG CTT CCT AAG AGC AGC GT
	<i>rpl32-F</i>	CAG TTC CAA AAA AA GTA CTT C
Taberlet CF	<i>trnL</i> (UAA)	CGA AAT CGG TAG ACG CTA CG
	<i>trnF</i> (GAA)	ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG

Se amplificaron tres regiones del cloroplasto mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Estas regiones incluyen el fragmento intergénico *rpl32-trnL* o Shaw Vcd de la sección corta de copia única (Shaw *et al.*, 2005), el intrón D4 del fragmento *petB*, y del fragmento intergénico *trnL-trnF* de Taberlet *et al.*, (1991) que está en la sección larga de copia única. Las secuencias utilizadas son no codificantes debido a que estos genes evolucionan más rápidamente que las secuencias codificantes como el gen *rbcL*, estas últimas son más utilizadas para estudiar las diferencias entre especies (Gielly y Taberlet, 1994). Debido a la baja tasa de recombinación del cloroplasto las diferentes combinaciones de variantes en las regiones del cloroplasto son considerados como haplotipos. Las secuencias de los iniciadores sintetizados por Invitrogen se muestran en la Tabla 2. Para su amplificación se utilizaron termocicladores PCR-express marca Thermo Electron y enzima Taq polimerasa recombinante. Las condiciones de reacción obtenidas para un volumen de 25µL fueron: 2µL DNA total, 1U Taq polimerasa (Amplificasa), 1XBuffer con MgCl₂ 1mM, dNTP 2.5mM c/u, iniciadores 0,3µM. Los productos de PCR corroboraron mediante electroforesis, utilizando TAE 0.5X como buffer, gel de agarosa al 2% y bromuro de etidio como agente intercalante. Los geles se fotografiaron con una cámara digital. Las imágenes se digitalizaron con el programa Kodak ID.

Se concatenaron los fragmentos amplificados de acuerdo al orden reportado en un mapa de cloroplasto de referencia en *Nicotiana tabacum*. Finalmente, se realizaron las PCRs para las

poblaciones con condiciones estandarizadas en términos de temperatura de alineamiento y concentraciones de MgCl₂ (Tablas 4).

Tabla 3. Concentraciones estandarizadas de los reactivos de PCR, para los tres marcadores *trnL-trnF*, *petB* intrón D4 y *trnL-rpl32*.

Reactivos	[inicial]	[final]	Reacción
Agua			15.96 µl
Buffer	10X	1X	2.5 µl
MgCl ₂	30mM	1mM	0.83 µl
dNTP	2.5 mM c/u	0.2 mM c/u	2 µl
Primer Fwd	10 µM	0.3 µM	0.75 µl
Primer Rvs	10 µM	0.3 µM	0.75 µl
Taq pol.	5 U/µl	1 U/µl	0.2 µl
DNA			2 µl
Total			25 µl

Tabla 4. Condiciones estandarizadas para hacer las PCR de los tres primers.

Proceso	temperatura	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización inicial	94°C	5 min	1
Desnaturalización	94°C	30 seg	
Alineación	56°C	30 seg	35
Extensión	72°C	60 seg	
Extensión final	72°C	min (ShNab y TabCF)	1
		5 min (ShVcd)	
	4°C	12hrs	1

Las muestras fueron enviadas a secuenciar en el High-Throughput Genomics Unit de la Universidad de Washington en Seattle, Estados Unidos de América. Posteriormente, se realizó un concatenado de las secuencias, para los 165 individuos en los que amplificaron las tres regiones, con una longitud de 2338 pares de bases (Tabla 5). La extracción, y amplificación de las muestras secadas en sílica gel fue más difícil, ya que fueron muestras muy duras y en el momento de manipularlas era más difícil, porque hacer los cortes no era sencillo, además algunas poblaciones continentales tenían más degradado el ADN.

4.3 Análisis estadístico.

4.3.1 Secuenciación

La revisión manual y la edición de las secuencias se realizó visualizando la calidad de cada cromatograma con los software Chromas Lite v.2.1.1 (McCarthy, 1996) y Consed (Gordon *et al.*, 1998). Después se editaron las secuencias manualmente con los programas BioEdit v5.0.6 (Hall, 2001) y Mesquite v2.5 (Maddison y Maddison, 2008). Realizando los concatenados de *forward* y *reverse* de cada gen en BioEdit v5.0.6 y la revisión de los polimorfismos con el Mesquite v2.5

Tabla 5. Número de individuos amplificados por población, para cada uno de los tres marcadores.

	<i>rpL32-trnL</i>	<i>trnL-trnF</i>	<i>Pet B</i> intrón D4
CONTINENTALES			
Carbó	15	11	15
Guásimas	14	15	14
Kino	15	12	15
Magdalena	16	16	15
Sonoyta	17	16	16
Tecoripa	15	14	15
Zacate	15	15	15
PENINSULARES			
Balandra	15	14	15
El Palmar	15	13	13
Nopolo	14	12	13
San Francisco	14	15	14
Santa Rosalía	16	15	15

4.3.2 Estadísticos de resumen

Las secuencias obtenidas se componen de 764 (*trnL-rpL32*), 917 (*trnL-trnF*) y 657 *petB* intron D4 657 pares de bases que en conjunto suman 2338 pb. Estos iniciadores han sido utilizados para reconstrucciones filogenéticas por ser variables e informativos. Las secuencias moleculares fueron alineadas con el algoritmo de Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation MUSCLE v3.6 (Edgar, 2004). Los tres segmentos fueron concatenados

conservando la dirección y el orden en que se encuentran en el cloroplasto de *N. tabacum* asumiendo un ADN no recombinante utilizando el software SeaView v4.3.0 (Gouy *et al.*, 2010).

Se utilizó el programa DnaSP v 5 (Libardo y Rozas, 2009) para obtener el número de sitios nucleotídicos segregantes S , y el número de haplotipos a partir del número total de nucleótidos en el estudio.

La diversidad haplotídica (h o Hd) se determinó a nivel de población, de grupos (continentales-peninsulares) y del total de las poblaciones, nuevamente con DNAsp utilizando las fórmulas de h con su respectiva corrección por tamaño de muestra [1], donde n es equivalente al tamaño de muestra y x_i la frecuencia del i -ésimo haplotipo.

Se calcularon dos medidas extra de diversidad genética. Una de estas medidas se estima considerando la frecuencia de la variación que es la diversidad nucleotídica (π) con la fórmula de Nei (1987), en la cual p_i y p_j son las frecuencias de la secuencia i y j , respectivamente es la proporción de diferencias nucleotídicas entre la secuencia i -ésima y la j -ésima. Se incluyó la corrección $n/(n-1)$ por tamaño de muestra, donde n es el número de secuencias en la muestra (Hedrick, 2005) [2].

$$\hat{h} = n \frac{(1 - \sum x_i^2)}{(n-1)} \quad [1] \quad \hat{\pi} = \frac{n}{(n-1)} \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k p_i p_j \hat{d}_{ij} \quad [2]$$

Además, con base en un modelo de sitios infinitos se calculó el estimador Theta de Waterson (θ_W , theta-W, ecuación [3]). Donde S es el número de sitios segregantes y n el tamaño de muestra.

$$\theta(S) = \frac{pn}{A} \quad [3]$$

donde $A=1+1/2+\dots+(n-1)^{-1}$ y $p_n=S_n/m\tau$, siendo S_n el número de sitios polimórficos por secuencia y $m\tau$ el número de nucleótidos examinados (Nei, 1987), cuando se está presentando equilibrio *mutación-deriva génica* [4],

Para estimar el tamaño efectivo poblacional, se utilizó un modelo de sitios infinitos donde N_e es el tamaño poblacional y u es la tasa de mutación por nucleótido por generación (Hedrick, 2011). Se calculó N_e a partir de los datos de diversidad nucleotídica por generación (Hedrick, 2011), considerando la tasa mutacional de cloroplasto reportadas para angiospermas, utilizando

el valor de $u=10^{-8}$ y $u=10^{-9}$, porque no hubo mucha variación teniendo en cuenta el n muestral (Apéndice II).

$$\theta = 2Neu$$

$$Ne = \frac{\theta}{2u} \quad [4]$$

Finalmente, se realizó un test de neutralidad D' de Tajima para probar si se está presentando selección o si se dan cambios demográficos poblacionales con la fórmula de Tajima (1989) [5], bajo la hipótesis de que todas las mutaciones son selectivamente neutrales (Kimura, 1983). Bajo un modelo de sitios infinitos no recombinantes, utilizando el programa DNAsp v5 (Librado y Rosas, 2009).

$$D = \frac{\hat{\pi} - \hat{\theta}_w}{\sqrt{\text{Var}(\hat{\pi} - \hat{\theta}_w)}} \quad [5]$$

Donde $\hat{\theta}_w = S / \sum_{i=1}^{n-1} (1/i)$, siendo S el número de sitios segregantes e i es el número de alelos. Esta prueba se basa en la comparación entre el número de sitios segregantes θ_w y el número promedio de nucleótidos diferentes π , los cuales bajo neutralidad deberían ser iguales, pero sensibles a distintos escenarios selectivos (Hedrick, 2011). Es importante resaltar que en particular la π es poco sensible a la presencia de alelos raros, mientras que la θ_w sí lo es. De esta forma, poblaciones bajo selección direccional (o purificadora) se caracterizan por presentar valores de θ_w mayores que π , generando valores de D negativos, mientras que poblaciones bajo selección balanceadora se caracterizan por presentar valores de π mayores a los de θ_w , causando valores de D positivos. Para probar diferencias significativas se comparan los valores D con los de un modelo neutral, en el cual los datos siguen una distribución beta (Tajima, 1989). Los valores de D estadísticamente no diferentes de 0 indican un equilibrio demográfico, mientras que valores significativos positivos sugieren reducciones poblacionales, (i. e., cuellos de botella), mientras que valores de D negativos indican expansiones poblacionales (Excoffier *et al.*, 2007).

4.3.3. Estructuración

Para evaluar la distribución de la variación genética dentro y entre las poblaciones se realizaron tres análisis de varianza molecular (AMOVA) utilizando Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier y Lischer, 2010): uno para la muestra total (las 12 poblaciones), otro para las poblaciones continentales (las 7 de Sonora), y otro para las poblaciones peninsulares (las 5 de Baja California Sur). Se realizaron 3000 permutaciones en cada caso para conocer la significancia de los índices de fijación. A continuación, se realizó una evaluación de los estimadores de diferenciación y estructuración poblacional (F_{st}), a partir de las secuencias de las poblaciones utilizando el programa DNAsp v.5 (Libardo y Rozas, 2009).

4.3.4 Métodos filogenéticos

Para el análisis filogenético se incluyó la totalidad de los individuos de las 12 poblaciones secuenciadas de la especie, además de dos grupos externos pertenecientes a las especies *Stenocereus griseus* y *Stenocereus gummosus*. Arias *et al.*, (2003), señalan como especies cercanas filogenéticamente a *S. thurberi*. Sin embargo, aún no se tiene la información de las relaciones claras entre especies, ni fechas aproximadas de la divergencia de todas las especies del género *Stenocereus*. Para el análisis filogenético, se ajustó un modelo de mutación bajo el criterio Akaike (Akaike, 1973) que se obtuvo con el jModelTest v0.1.1 (Posada, 1998) para reconstruir la filogenia. El modelo mutacional fue TPM1 de 1981 en donde la frecuencia de las bases, es igual, posee sitios invariantes (I) y las tasas de sustitución, se comportan como AC=GT, AT=CG y AG=CT. Se llevó a cabo un análisis de inferencia Bayesiana para los datos moleculares y para todos los haplotipos en el software MrBayes 3.1 (Huelsenbeck y Ronquist, 2005), efectuando una búsqueda con 20 millones de generaciones, cuatro cadenas de Markov Monte Carlo y una frecuencia de muestreo cada 1,000 generaciones, en 4 corridas independientes (Nylander *et al.*, 2004).

Para fechar los tiempos de divergencia de la especie se utilizó una metodología para elaborando una filogenia bayesiana con el programa BEAST v.1.7.5 (Drummond, et al.,2013) a partir de las muestras trabajadas de *S. thurberi* de las 12 poblaciones y las secuencias obtenidas de GeneBank de *S. gummosus* como el outgroup utilizando nuevamente las secuencias de *trnL-rpL32*, *trnL-trnF* y *pet B* intrón D4. Se concatenaron las secuencias de cloroplasto. Los modelos mutacionales definidos en BEAST v. 1.7.5 fueron los estimados por jModelTest

v0.1.1 (Posada, 1998), se estimó una filogenia bayesiana a partir del concatenado. Para esto se utilizó BEAST v.1.7.5 (Drummond, *et al.*, 2013) en el que se corrieron 50 millones de cadenas Markov Monte Carlo y se descartó los primeros 10% de los arboles como *burn-in*. Se utilizó un reloj molecular relajado (*Lognormal relaxed clock*) porque se llegó a la convergencia de las cadenas aunque los intervalos de confianza fueran grandes. La filogenia se calibró con el nodo interno de ingroup de 4.8 Ma (3.05-7.16) para la tribu Stenocereinae publicada por Hernández-Hernandez *et al.*, (2014) definiéndolo como un grupo monofilético, no se pudieron utilizar más puntos de calibración porque la información que se tiene de este grupo es escasa, fijando como *prior* una distribución Log Normal.

4.3.5 Red de haplotipos

Se realizó una red de haplotipos con el programa Network 4.6.1.1. (Polzin y Vahdati, 2004), mediante el criterio de *median-joining* para el concatenado de los tres genes. Este criterio es un modelo parsimonioso de *median-joining network*, para determinar la conexión entre la genealogía de genes y su relación con la distribución geográfica, permitiendo hacer una interpretación de los resultados en términos evolutivos (Avise, 2000).

4.3.6. Análisis de agrupaciones espaciales genéticas

Se evaluó que las poblaciones definidas ecológicamente estuvieran delimitadas de forma genética también. Para ello se puso a prueba la partición de la varianza genética sobre la distribución geográfica buscando la estructura que mejor se ajusta a los datos, utilizando una aproximación Bayesiana. Este análisis se realizó con el software BAPS v-6.0 (Corander *et al.*, 2003), haciendo búsquedas basadas en probabilidades *a posteriori* a partir de la información genética de las poblaciones y de las coordenadas geográficas de los individuos. Se aplicó un modelo de agrupaciones espaciales, al que se ajustó los valores para dar una resolución fina a la prueba. La corrida se realizó muestreando a nivel individual indicando que los sitios se encuentran ligados (cada uno de los 165 individuos), probando un número mínimo de 20 poblaciones (Nclusters= 20).

4.3.7 Aislamiento por distancia

Se evaluó que tan diferentes resultan las poblaciones a partir de las secuencias nucleotídicas utilizando el estadístico F_{st} que se fundamenta para genoma haploide en la formula [6] (Hedrick, 2011), utilizando el programa R 2.0.8 (Venables y Smith 2008). Las mismas distancias genéticas fueron utilizadas para realizar una prueba estadística multivariada.

$$F_{st} = \frac{1}{(2Nm+1)} \quad [6]$$

Donde F_{st} es una medida de las diferencias genéticas entre dos poblaciones, N es el tamaño efectivo poblacional y m es el número de inmigrantes por generación.

Se evaluó con una prueba de Mantel (1967) el patrón de aislamiento por distancia entre las poblaciones utilizando el software R v2.0.8 (Venables y Smith 2008), poniendo a prueba la correlación entre la matriz de distancias genéticas F_{st} , y las distancias geográficas lineales. Estas últimas se calcularon con el paquete *geosphere* de R utilizando como base las coordenadas geográficas de las poblaciones (Tabla 1).

El Test de Mantel ha sido utilizado en diferentes tipos de estudios como morfología (van Schaik *et al.*, 2003), comportamiento (Cheverud, 1989), ecología (Wright y Wilkinson, 2001). Aunque, es de tener en cuenta que tiene algunas limitaciones debido a que en algunos casos no es correctamente estimada la proporción de la variación explicada por la estructura espacial. No obstante, puede no ser un método erróneo para investigar las relaciones lineales o espaciales en datos univariados o multivariados. También, por la influencia en la variación genética espacial de procesos naturales como la dispersión de semillas y procesos selectivos, además de que también se están forzando las variables ambientales (Legendre y Fortin, 2010).

4.3.8 Barreras geográficas

Para demostrar la existencia de límites geográficos entre los grupos poblacionales (continentales y peninsulares), se utilizó el programa *Barrier* v2.0 (Guerard y Manni, 2002), que permite explorar la relación entre las discontinuidades genéticas y la distribución geográfica. *Barrier* es un método que se fundamenta en la utilización del algoritmo de Monmonier (Monmonier, 1973), o algoritmo de la máxima diferencia, el cual fue ideado para hacer un análisis geográfico diseñando mapas hipotéticos que contienen los datos de las

matrices. La computación geométrica del algoritmo provee la ubicación y la dirección de las barreras geográficas, generando una representación realística de estas barreras en un “paisaje genético”, aplicando además una red geométrica que conecta las poblaciones (o localidades) mediante una triangulación de Delaunay (Brassel y Reif, 1973). Para darle soporte estadístico a las triangulaciones de Monmonier se realizó un remuestreo por bootstrapping de matrices (Manni *et al.*, 2004). Con el bootstrapping se calcularon 200 matrices de distancias genéticas de Nei (1972) entre poblaciones.

4.3.9. *Análisis de distribuciones mismatch*

La distancia genética entre individuos puede medir la distancia genealógica entre ellos. Los datos genéticos permiten conocer los cambios demográficos de las poblaciones y el tiempo transcurrido cuando esto ocurre (Rogers, 1995), dependiendo del marcador y del estimador de la distancia genética. En poblaciones variables, la distancia genética crece con el tamaño poblacional. Conociendo el grado de “*mismatch*”, esto es la distribuciones de frecuencias de muestras genéticas pareadas para sitios de nucleótidos o de restricción, es posible inferir los cambios históricos en el tamaño poblacional (Rogers 1995). Las distribuciones “*mismatch*” son histogramas que muestran el patrón de diferencias para *i* nucleótidos entre pares de individuos en una muestra (Rogers, 1995). Los análisis específicos que se realian con base en las secuencias, permiten conocer los cambios demográficos de las poblaciones y el tiempo transcurrido cuando esto ocurre (Rogers, 1995). Se calcularon las frecuencias de diferencias pareadas entre secuencias (prueba de *mismatch*) con el programa DNAsp v.5 (Libardo y Rozas, 2009), porque este no asume que los sitios variables sean independientes. Las muestras fueron tratadas ajo el criterio de las cuatro pozas génicas estimadas en el análisis de BAPS colocando a prueba la hipótesis de expansión de las poblacional, la cual supone que una población haploide se mantendría en equilibrio demográfico y repentinamente presenta un cambio poblacional, posteriormente utilizando 2.0.8 (Venables y Smith 2008), se realizó una prueba de Welch para observar diferencias estadísticamente significativas entre la frecuencias observadas y la esperadas.

4.3.10. *Análisis de Skyline Plot*

Se realizó también un análisis de líneas de cielo o *Skyline Plot Bayesiano*, que permiten explorar la historia demográfica y evolutiva de las poblaciones. Se aplicaron modelos no

paramétricos y herramientas de selección de modelos utilizando las secuencias de cloroplasto concatenadas con el programa BEAST v.1.6.1 (Drummond y Rambaut, 2007). Es posible conocer el modelo paramétrico $N(t)$ que estima los cambios en el tamaño efectivo poblacional a lo largo del tiempo (Strimmer y Pybus, 2001), para posteriormente conocer los estimados de tiempo del ancestro común más reciente (MRCA, por sus siglas en inglés). El análisis de cambio en el tamaño poblacional en el tiempo se realizó separando las cuatro pozas génicas estimadas con el programa BAPS (roja, azul, verde y amarilla), utilizando en todos los casos el modelo de evolución molecular de Tamura Nei 93 (TN93), debido a que con los modelos disponibles en BEAST es el más similar al obtenido por los resultados de JModelTest v0.1.1. Se escogió el reloj molecular relajado log normal (recomendado por los autores del software). Los parámetros utilizados se explican en el Apéndice III. Finalmente, con el software Tracer se estimó la convergencia de las cadenas y se corroboró que las gráficas de la probabilidad *a posteriori* fuera una curva unimodal, evidenciando el comportamiento de las pozas génicas a través de las generaciones en términos del tamaño efectivo poblacional.

4.3.11. *Distribución potencial*

Conocer la distribución potencial de las especies y como ha cambiado a lo largo del tiempo es fundamental para entender los patrones de migración de las especies y la distribución de los linajes (Arteaga, 2011). Los modelos de distribución potencial aproximan el nicho ecológico fundamental que ocupa una especie y se generan con información del medio ambiente del presente y se proyectó para el último máximo glacial (LGM, aproximadamente hace 21 mil años atrás) y el último interglaciario (LIG, aproximadamente 130 mil años atrás), para detectar posibles refugios durante el Pleistoceno (Martínez-Meyer *et al.*, 2004).

La distribución potencial de *Stenocereus thurberi* fue modelada con el programa MaxEnt v3.3.3k (Phillips *et al.*, 2006). El modelo se generó a partir de puntos de colecta de las poblaciones del presente estudio y de los registros de la base de datos GBIF (<http://www.gbif.org/>). Los registros de presencia de la especie se correlacionaron con 19 variables bioclimáticas que se encuentran en la base de datos WorldClim (www.worldclim.org) (Hijmans *et al.*, 2005) y con cinco capas topográficas de la United States Geological Survey USGS (www.usgs.gov). La descripción del modelo se muestra en el Apéndice IV. Los modelos generados fueron visualizados mediante el software R v2.0.8 (Venables y Smith 2008),

eliminando todas las regiones que estuvieran debajo del 10 percentil de probabilidad de presencia para delimitar el área de mayor probabilidad de presencia de la especie.

Se realizó un análisis de componentes principales para eliminar la autocorrelación espacial, y para identificar las variables que influyen más en el modelo. Posteriormente, se seleccionaron los cuatro componentes más importantes que contribuyen con el 85% de la variación. Estos componentes incluyen 12 variables bioclimáticas de WorldClim (temperatura media anual, rango diurno promedio, isotermalidad, temperatura estacional, temperatura máxima del mes más cálido, temperatura mínima del mes más frío, el promedio de temperatura del cuarto más cálido, la precipitación anual, precipitación estacional, la precipitación del cuarto más húmedo, precipitación del cuarto más seco y precipitación del cuarto más frío) y 4 variables topográficas de la USGS (pendiente, topografía, FlowAc y FlowDir).

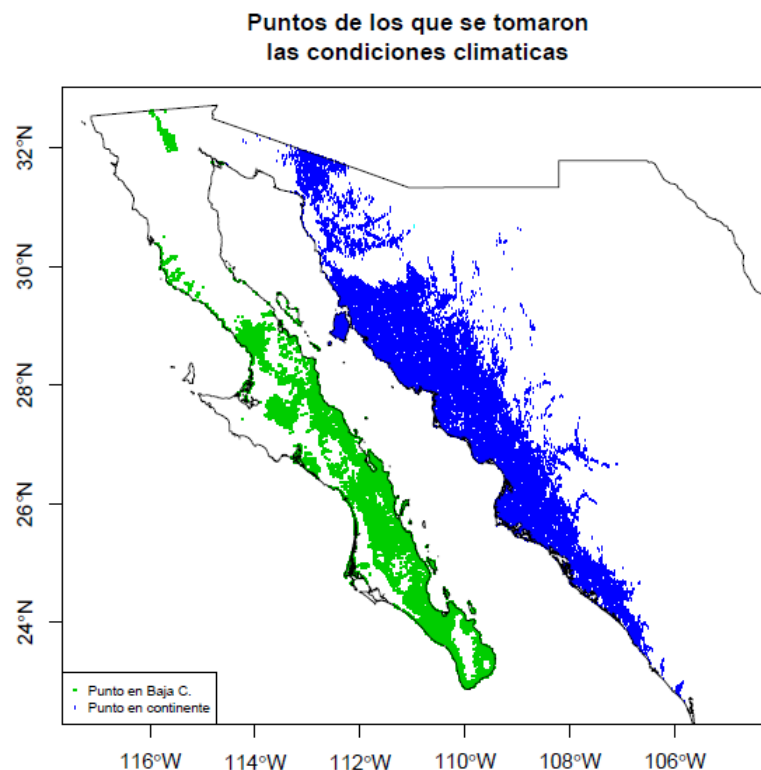


Figura 2. Modelo potencial de distribución de Stenocereus thurberi (Cactaceae). Los puntos azules corresponden con las posibles presencias continentales y los verdes con las peninsulares.

Además, se realizó un análisis ambiental para el cual se extrajeron las 19 variables ambientales del modelo y con base en estas se generaron puntos al azar dentro de la distribución de la especie (Figura 2), para las poblaciones continentales (azules) y para las peninsulares (verdes). Se hizo un análisis de componentes principales para seleccionar los

componentes que aportaban juntos un valor mayor al 80% de la variación. Posteriormente se hizo un análisis de clusters que agrupó la variación ambiental.

4.3.12. *Aislamiento por resistencia*

Utilizando el programa DNAsp v.5 (Librado y Rozas, 2009), se evaluó que tan diferentes resultan las poblaciones a partir de las secuencias utilizando las distancias F_{st} estimadas igual en el aislamiento por distancia (IBD).

Se evaluó con una prueba de Mantel (1967) el patrón de aislamiento por resistencia entre las poblaciones utilizando el software R v2.0.8 (Venable y Smith, 2008), poniendo a prueba la correlación entre la matriz de distancias genéticas de F_{st} , y las distancias ambientales calculadas como Distancia de Costo Mínimo (*Least Path Cost Distance*). El análisis de la Distancia del Costo Mínimo es una herramienta que se utiliza en los sistemas de información geográfica que se fundamenta en un algoritmo para determinar la ruta más fácil entre dos ubicaciones de dos celdas. En general este análisis crea una red para estimar las distancias en función de los diferentes factores y encontrar el vector de menor valor (ESRI, 2014). Estas últimas se calcularon con el inverso del modelo de distribución al presente (que sería uno menos la proyección de Maxent al presente) como matriz de fricción (Van Etten, 2014). Con la cual, se hizo una matriz de transición en 16 direcciones usando el promedio como función de transformación. Con dicha matriz de transición se estimó la distancia de costo. Todos los análisis se hicieron con el paquete gdistance de R (van Etten, 2014).

5. RESULTADOS

La región intergénica *trnL* con su complemento *trnF* midió 917 pb y presentó 4 sitios polimórficos de los cuales todos son sustituciones, Tabla 5). El segundo fragmento *trnL-rpl32* con 764pb presentó 6 sustituciones. Finalmente, el marcador *petB* intrón *D4* que con 657pb fue el que menos cambios presentó a nivel de su secuencia con solo 2 sitios polimórficos.

Al recortar las regiones iniciales y finales de los marcadores donde la secuenciación no era tan eficiente, el tamaño total del fragmento concatenado de los tres marcadores fue de 2338pb. Los haplotipos (Hap) se encuentran representados dentro del conjunto de las secuencias de las muestras, los 10 polimorfismos que se detectaron en el concatenado de secuencias (Tabla 6).

Tabla 6. Representación de los polimorfismos debido a cambios en una posición particular del fragmento concatenado (columnas) utilizado en este estudio y su distinción en haplotipos (hileras).

	359	432	440	494	499	878	1021	1024	1919	2168
Haplotipo 1	G	A	-	C	G	G	T	-	T	G
Haplotipo 2	T	A	T	A	T	G	T	A	T	G
Haplotipo 3	G	A	-	A	T	G	T	-	T	G
Haplotipo 4	T	T	T	A	T	G	T	A	T	G
Haplotipo 5	T	A	T	A	T	G	T	A	C	G
Haplotipo 6	T	A	T	A	G	G	T	A	T	G
Haplotipo 7	T	T	T	A	G	G	T	A	T	G
Haplotipo 8	G	A	-	A	T	G	T	A	T	G
Haplotipo 9	T	A	T	A	G	G	T	-	T	G
Haplotipo 10	T	T	T	A	T	G	G	A	T	G
Haplotipo 11	T	T	T	A	T	G	T	A	T	A
Haplotipo 12	T	T	T	A	T	A	T	A	T	A

5. 1.1 Estadísticos de resumen

Se encontraron 12 haplotipos en total. De estos, ocho haplotipos se encuentran en las poblaciones continentales (Carbó, Tecoripa, Kino, Magdalena, Guásimas, Sonoyta y Zacate Blanco) y seis en las peninsulares (Balandra, El Palmar, Nopolo, San Francisco y Santa Rosalía). En ambos grupos poblacionales se comparten cinco de los 10 sitios polimórficos que se presentan para el total para las muestras. En la Figura 2 y Apéndice V se muestra la distribución y frecuencia de cada haplotipo.

Tabla 7. Número de individuos (N), número de haplotipos, número de sitios polimórficos (S), diversidad haplotípica (H_d), diversidad nucleotídica (π) y Theta- W , de las poblaciones y de la muestra total.

Población	N	Haplotipos	S	H_d	Π	Theta- Θ	D' Tajima
Carbó	11	4	3	0.8000	0.0005	0.00044	0.465 ns
Guásimas	14	3	2	0.6593	0.00027	0.00034	0.700 ns
Kino	12	3	3	0.7121	0.00056	0.00042	1.022 ns
Magdalena	15	4	3	0.7714	0.00055	0.00039	1.201 ns
Sonoyta	16	2	1	0.5250	0.00022	0.00013	1473ns
Tecoripa	14	3	2	0.6923	0.00038	0.00027	1.127 ns
Zacate Blanco	15	4	3	0.7523	0.00063	0.00039	1.754 ns
Total continentales	97	9	8	0.81336	0.00062	0.00066	-0.166 ns
Balandra	14	3	5	0.6483	0.0008	0.00067	0.651 ns
Nopolo	12	3	4	0.6818	0.00091	0.00057	2.115 *
El Palmar	13	3	5	0.6410	0.00087	0.00069	0.916 ns
San Francisco	14	3	4	0.3846	0.0004	0.00054	-0.847 ns
Santa Rosalía	15	1	0	0	0	0	0
Total Peninsulares	68	8	6	0.71335	0.00092	0.00054	1.724 ns
Muestra total	165	12	10	0.8702	0.00107	0.00075	1.015 ns

Los valores más altos de diversidad haplotípica se encontraron en las poblaciones de Magdalena ($H_d = 0.7714$), Zacate Blanco ($H_d = 0.7523$) y Carbó ($H_d = 0.8000$) (Tabla 7). Los menores en Santa Rosalía ($H_d = 0$) y San Francisco ($H_d = 0.3846$): las poblaciones más norteñas de la península. En Sonora la población más norteña también presenta el valor relativamente bajo ($H_d = 0.5250$ para Sonoyta). En cuanto a la diversidad nucleotídica se presentó el caso contrario los mayores valores se distribuyeron en las poblaciones de Baja California en Balandra, Nopolo y El Palmar ($\pi = 0.0008$, 0.00091 y 0.00087 respectivamente) y los menores en Santa Rosalía, Sonoyta y Guásimas ($\pi = 0$, 0.00022 y 0.00034). Los mayores valores para la Theta de Watterson se distribuyeron en poblaciones de Baja California para El Palmar, Balandra y Nopolo ($\Theta = 0.00069$, 0.00067 y 0.00057 respectivamente) y los menores para Santa Rosalía, Sonoyta y Tecoripa ($\Theta = 0$, 0.00013 y 0.00013) (Tabla 7).

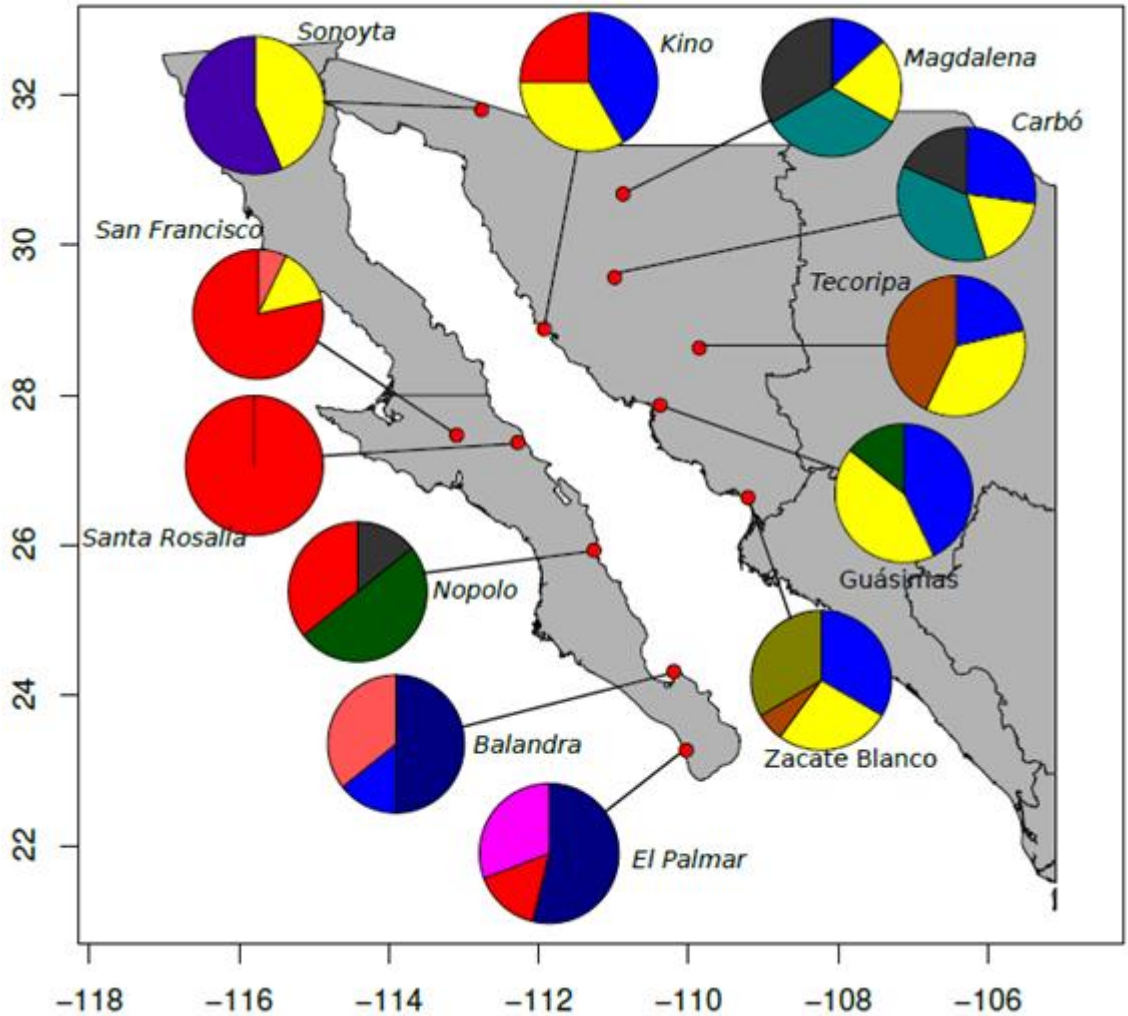


Figura 3. Distribución y frecuencias de los haplotipos por cada población. Cada uno de los puntos rojos equivale a una población, la cual presenta su nombre en la gráfica. Todas las muestras se colectaron en el Golfo de California. Los haplotipos presentan la siguiente configuración: Hap1=Gris claro; Hap2=Azul; Hap3=Rojo; Hap4=Amarillo; Hap5=Azul claro; Hap6=Gris oscuro; Hap7=Naranja; Hap8=Rosa; Hap9=Rosa claro; Hap10= Morado; Hap11=Piel; Hap12=Verde.

Las diversidades haplotípicas en promedio fueron superiores en las poblaciones continentales de Sonora (H_d promedio = 0.813) en comparación con las peninsulares (H_d promedio = 0.713). El caso contrario se detectó para las diversidades nucleotídicas para las continentales (π promedio = 0.00062) y para las peninsulares (π promedio = 0.00092) (Tabla 7). Pero con la theta de Watterson en el continente encontramos un valor ligeramente mayor (0.00066) en comparación con la agrupación de las peninsulares (0.00054) (Tabla 7). De igual manera, las poblaciones que tuvieron mayor número de haplotipos fueron Carbó, Magdalena y

Zacate Blanco (con 4 haplotipos), y Sonoyta y Santa Rosalía las que menos tuvieron (2 y 1 respectivamente) (Tabla 7). La gran mayoría de los haplotipos fueron compartidos entre poblaciones y solamente los haplotipos Hap9, Hap10 y Hap12 fueron específicos de las poblaciones de El Palmar, Sonoyta y Zacate Blanco respectivamente (Apéndice V). Las estimación de la D' de Tajima fue significativa y positiva para la población de Nopolo; el resto fueron no significativas.

Las poblaciones con 4 haplotipos (Carbó, Magdalena y Zacate Blanco), son las que presentan las mayores diversidades haplotípicas y las mayores nucleotídicas. En la península, destaca la población de San Francisco que presenta 3 haplotipos al igual que Balandra, Nopolo y El Palmar, pero presenta mucha menor diversidad haplotípica. Lo mismo ocurre en la población de Sonoyta que con solo 2 haplotipos tiene mayor H_d que San Francisco con 3 haplotipos (Tabla 7).

La estimación del tamaño efectivo poblacional con base en la ecuación [4], se despejó a partir de una theta de Watterson (Θ) de 0.00075 estimado con DNAsp (Apéndice II), y se obtuvieron valores de 37500 y de 370000 individuos, de acuerdo a las dos diferentes tasas de mutación trabajadas.

5.1.2 Estructuración

Los valores de F_{st} pareado variaron entre 0.0032, para las poblaciones más cercanas que comparten alelos a 0.6139 para las poblaciones más diferenciadas.

Tabla 8. Análisis jerárquico de Varianza Molecular (AMOVA) en cpADN basado en 2238 bp para el conjunto de poblaciones de *S. thurberi*. El porcentaje de variación asociado a cada nivel de agrupación.

Variación	d.f.	Suma de Cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre grupos (continente vs península)	1	64.123	0.73603 Va	40.38
Entre poblaciones	10	52.404	0.33927 Vb	20.46
Dentro de las poblaciones	153	89.219	0.58313 Vc	35.16
	164	205.745	1.65844	

Por otro lado, el valor de estructuración G_{st} para las poblaciones continentales fue moderada de 0.14296 y para las poblaciones peninsulares de 0.35803. Según los valores del F_{st}

el número de migrantes estimado (Nm) fue 1.50 para las poblaciones continentales y 0.45 para las poblaciones peninsulares, y en general entre todas las poblaciones fue de 0.31276 de G_{st} y de Nm un 0.55. Así, la estructuración es menor en las poblaciones continentales posiblemente debido a que allí se presenta un mayor flujo de genes.

El AMOVA muestra que la mayor parte de la variación se encuentra entre los grupos poblacionales (continentales vs peninsulares, 40.38%) (Tabla 8). La variación dentro de las poblaciones fue también alta (35.16), mientras que la diferenciación entre poblaciones fue más baja (20.46). Los componentes de varianza así como los índices de fijación fueron significativos en F_{sc} entre poblaciones dentro grupos (0.3678; $P < 0.001$) y F_{st} entre poblaciones entre de los grupos (0.6483; $P < 0.001$) y F_{ct} entre grupos (0.4438; $P = 0.002$).

Con el AMOVA para cada uno de los dos conjuntos poblacionales se obtuvieron los datos que se muestran en la Apéndice VI, donde cabe resaltar que la diferenciación dentro de las poblaciones fue la que más aportó en la distribución de la variación para los grupos poblacionales.

5.2 . Métodos gráficos – basados en árboles de genes –

A partir de la matriz del concatenado con los tres genes se realizó un análisis bayesiano y su correspondiente representación gráfica (Figura 4), en la cual se utilizaron como grupos externos a las especies cercanas de las cuales se tenía información molecular (*S. gummosus* y *S. griseus*). En la topología se observa que se forman grupos, por un lado Baja California forma un grupo monofilético hermano al grupo del continente. Se observa que en el grupo de Baja California se separan individuos que se muestrearon en la punta de la península de Baja California con una probabilidad posterior alta de 0.988. También, cabe señalar que individuos de la población Kino se anidan en el clado de la península, lo cual sugiere flujo génico entre los grupos, pero, es posiblemente que por la falta de suficiente variación de los datos para resolver las relaciones filogenéticas entre poblaciones (Figura 4).

Algunos grupos que se encuentran en Sonora mantienen una relación de cercanía genética especialmente el grupo *Magdalena-Carbó* que también es cercano geográficamente y otro de las muestras de *Sonoyta* (probabilidad de 0.9798), que es un grupo más estructurado en el continente. Además, se ve un grupo entre individuos de Zacate Blanco con Tecoripa mostrando un patrón genético por cercanía filogenética entre ellas.

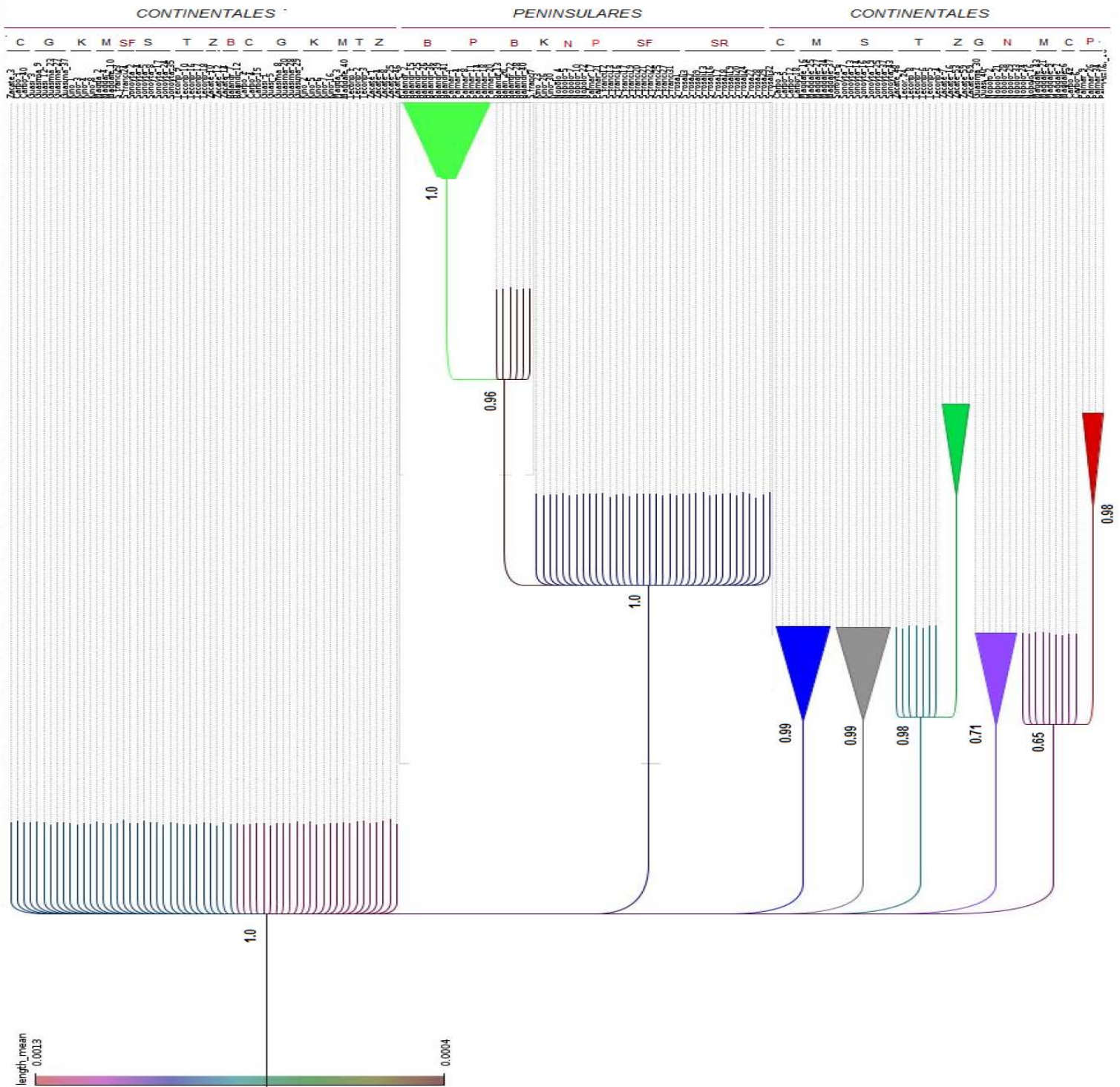


Figura 4. Topología resultado del análisis bayesiano realizado con el total de individuos de *S. thurberi*. Basado en 2238 pb de tres genes de cloroplasto. Los números sobre los nodos de las ramas corresponden con la probabilidad posterior. Las letras frente a los taxa corresponden con los nombres de las poblaciones: Carbó=C, G=Guásimas, Kino=K, Magdalena=M, S= Sonoyta, T=Tecoripa, Z=Zacate Blanco (Sonora), Balandra, El Palmar= P, Nopolo= N, San Francisco= SF, Santa Rosalía= SR (Baja California Sur).

Otro grupo que se resalta es el de individuos de Nopolo que se encuentra anidado dentro de los individuos continentales (0.7162), lo cual argumenta una falta de señal filogenética clara a causa del flujo génico actual. Aunque, como los datos son intraespecíficos de algunos sencillos locus, no se puede distinguir entre plomorfismo ancestrales y flujo génico.

La filogenia basada en el análisis Bayesiano para los haplotipos (Apéndice VII), muestra que los haplotipos “ancestrales” son en su mayoría representados por individuos continentales formando un peine en la base del árbol (Hap2-Hap5-Hap6-Hap7-Hap9). Se observa la separación de dos clados de haplotipos que están representados primero por un grupo de Hap1-Hap3-Hap8 que son principalmente de Baja California con altos valores de probabilidad posterior, y un segundo clado de haplotipos Sonorenses donde derivan del Hap4 los haplotipos Hap7, Hap11 y Hap12 que son más recientes y se encuentran distribuidos en poblaciones hacia el sur de Sonora (Zacate Blanco y Tecoripa) (Figura 4). Normalmente el análisis bayesiano realiza asignaciones de altos valores de probabilidad posterior en la mayoría de los clados, no obstante, bajo este criterio es claro que a nivel de las poblaciones las relaciones entre estas no son del todo claras puesto que no se ha dado totalmente la divergencia de cada una de las poblaciones (Figura 4). Este último patrón no es común en plantas longevas y quizá se deba a que el género *Stenocereus* es un género relativamente joven y aún se encuentra en divergencia total, en parte debido al flujo génico activo.

En términos generales, hay concordancia entre la reconstrucción filogenética y el AMOVA porque se da una separación entre grupos poblacionales. Además, las relaciones entre individuos son claras porque los grupos externos se separan de todas las poblaciones de *Stenocereus thurberi*.

La filogenia interna obtenida resultado del reloj molecular de *S. thurberi* junto a su *outgroup* (*S. gummosus*), muestra que es una especie que probablemente divergió en poco tiempo si hablamos en tiempos geológicos (5.95 Myr). Los resultados de la calibración del reloj molecular sobre la reconstrucción filogenética con un análisis bayesiano, indican que probablemente el haplotipo ancestral es Hap4 que es un haplotipo con mayor distribución en Sonora. A partir de los 3.96 Myr divergió el segundo haplotipo muy frecuente en Sonora (Hap2), fecha en la cual todavía no se había desprendido del todo la península de Baja California (Figura 5)

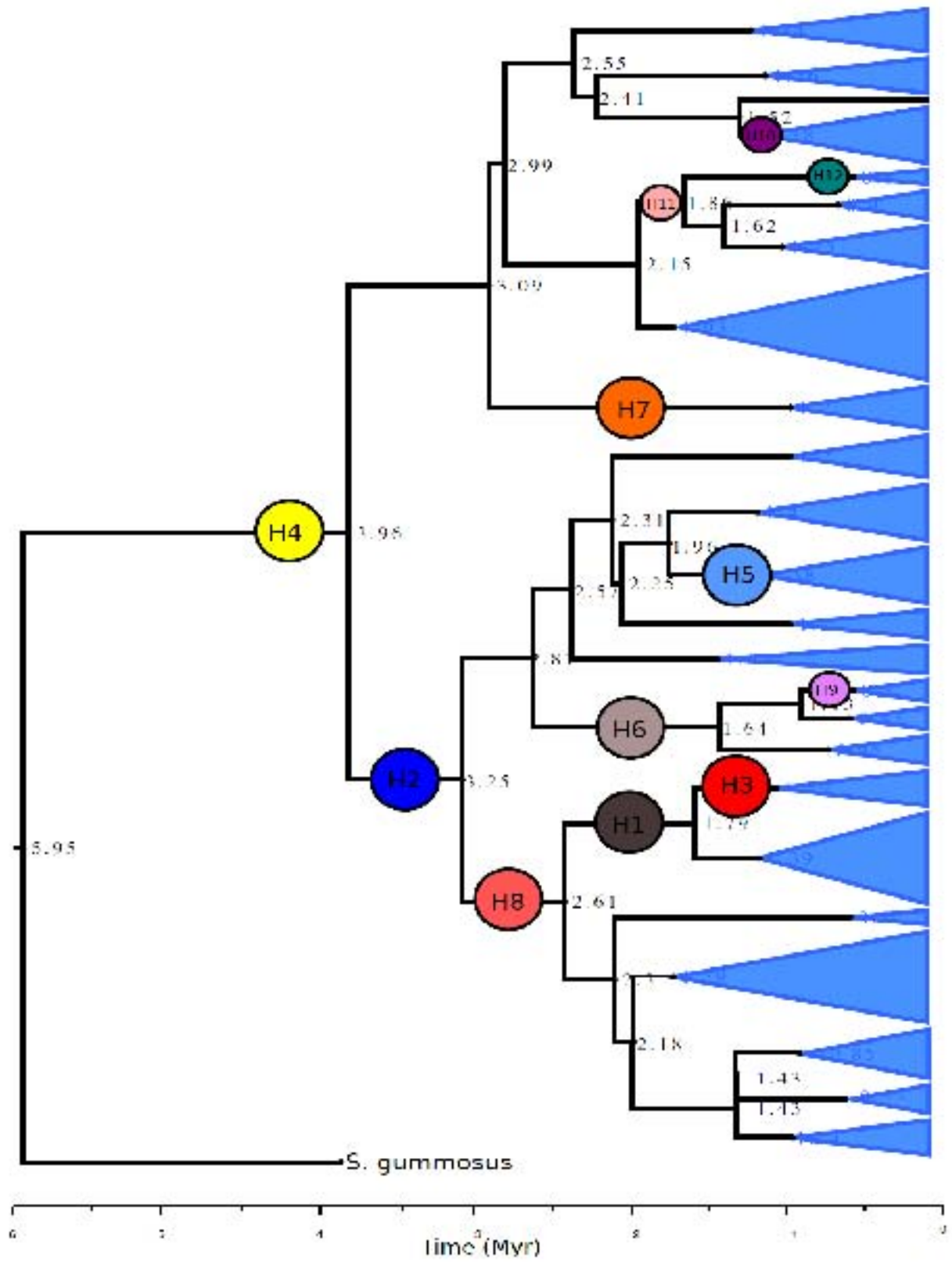


Figura 5. Reloj molecular resultado para el análisis de datos en BEAST. Los números sobre los nodos corresponden con tiempos de divergencia de los linajes y los círculos de colores son los 12 haplotipos.

Genéticamente la separación entre península y continente fue aproximadamente hace 3.25 millones de años (Ma), tiempo en el cual el Golfo de California ya tenía más de un millón de años haber comenzado su proceso de separación y muchas partes de la península ya no tenían un contacto directo con la porción continental. La divergencia del grupo de las poblaciones de la punta de la península es un poco más reciente (2.61 Ma), momento en el cual ya se había formado la región de Los Cabos y el aislamiento de esta porción peninsular y la lejanía que tenía en aquel momento de Sonora facilitó que las mutaciones ocurridas allí no se dispersaran a otros lugares (hap1 y hap3). El hap7 divergió hace 3.09 Ma que se encuentra en Guásimas y Nopolo, probablemente se dispersó a través del Golfo, demostrando que hay más de una ruta de migración de semillas. El hap6 que corresponde con un tiempo de 2.81 Ma se encuentra presente en ambos lados Golfo, fuerte señal de migración en ese lugar cuando un continuaba la separación geográfica. El hap5 tiene menos de 2 millones de años de divergencia con la cual se supone la migración de genes entre Carbó y Magdalena. El hap10 está en la población de Sonoyta el cual tiene uno de los tiempos de divergencia más cortos (1.52 Ma).

5.2.1. *Red de haplotipos*

La red de haplotipos forman un solo haplogrupo (Figura 6), que contiene a todas las poblaciones entre haplotipos ancestrales y derivados, observándose en la red la formación de un anillo con relaciones no definidas entre los haplotipos H2, H4, H6 y H7 (Fig. 11), estos haplotipos se encuentran distribuidos principalmente en las poblaciones continentales, dicha falta de resolución también se registra como la politomía basal en el árbol filogenético de los haplotipos (Apéndice VII) y esta falta en la resolución filogenética la politomía evita que se forme una red con forma de estrella. Esta reticulación sugiere homoplasia, o bien que falta secuenciar más datos para distinguir mejor la historia de los haplotipos.

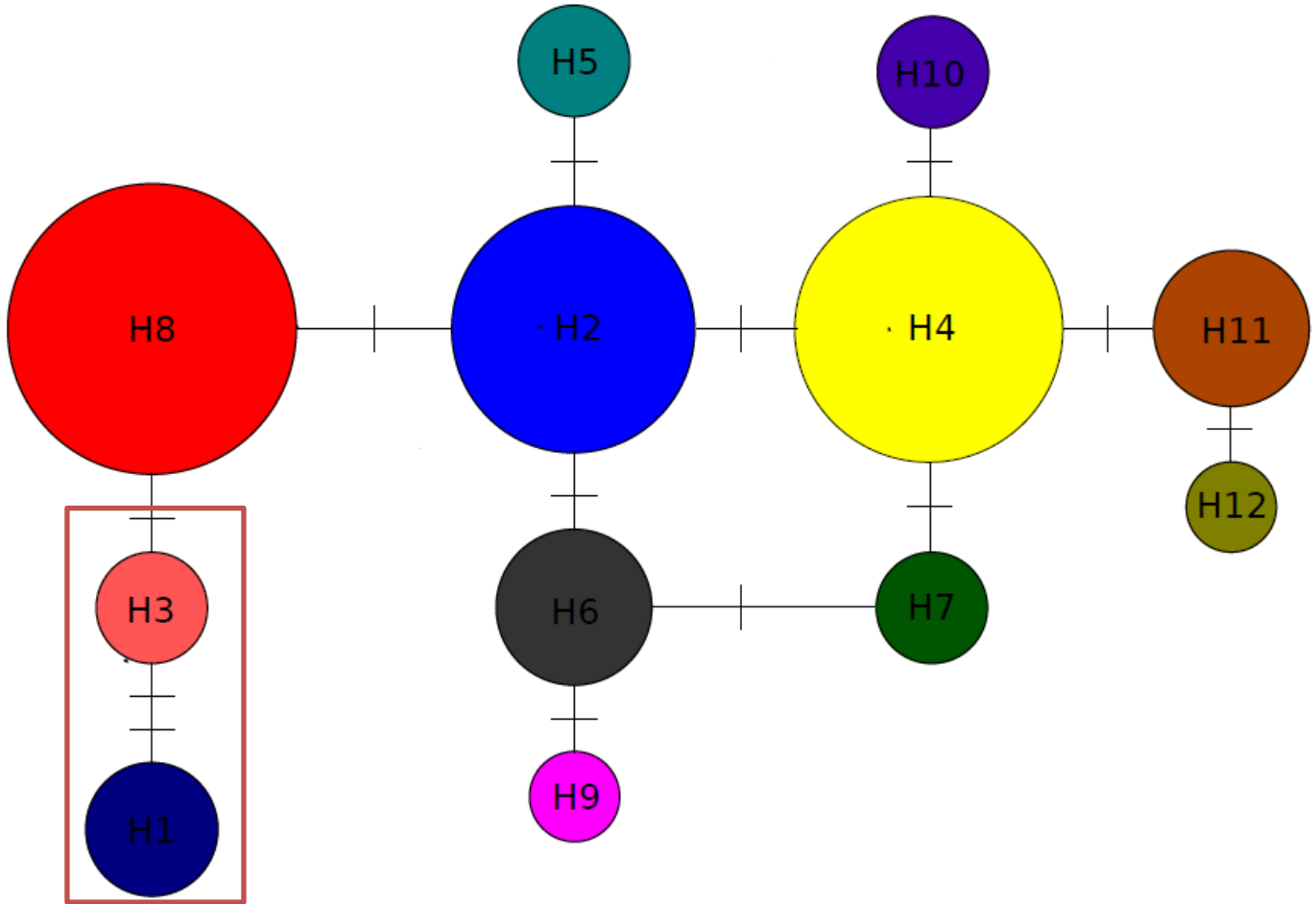


Figura 6. Relaciones genealógicas entre el concatenado de los tres genes (*trnL-trnF*, *trnL-rpL32* y *petB* intrón *D4*), inferido por el algoritmo de red de haplotipos median-joining. El tamaño del círculo es proporcional a la frecuencia de individuos que presentan el correspondiente haplotipo. Los puntos negros corresponden a los pasos mutacionales. Los haplotipos que se encuentran en el rectángulo rojo corresponden con haplotipos exclusivos de Baja California

La red resultante así como la proporción de los diferentes haplotipos se presentan a en la Figura 6 y Apéndice V. Por otro lado, se observan claramente tres haplotipos centrales y los más frecuentes de todos (H2, H4 y H8), de los cuales se deriva el resto. Además, se observa la separación de poblaciones ubicadas en Baja California (H3 y H1), haplotipos derivados H11 y H12 ubicados para Carbó y Magdalena, y otros haplotipos H7 y H10 también derivados en Sonora. En la red se incluyó la especie externa *S. gummosus* la cual se asocia el haplotipo H4 (Figura 6).

El haplotipo H8 posiblemente surgió en la península y se dispersó por flujo génico hacia la población de Kino en las costas de Sonora. El haplotipo tres sólo se observa en las

poblaciones peninsulares el cual tal vez llegó a las diferentes poblaciones donde se encuentra por dispersión a larga distancia.

5.2.2. Análisis de agrupaciones espaciales genéticas y estructura filogeográfica

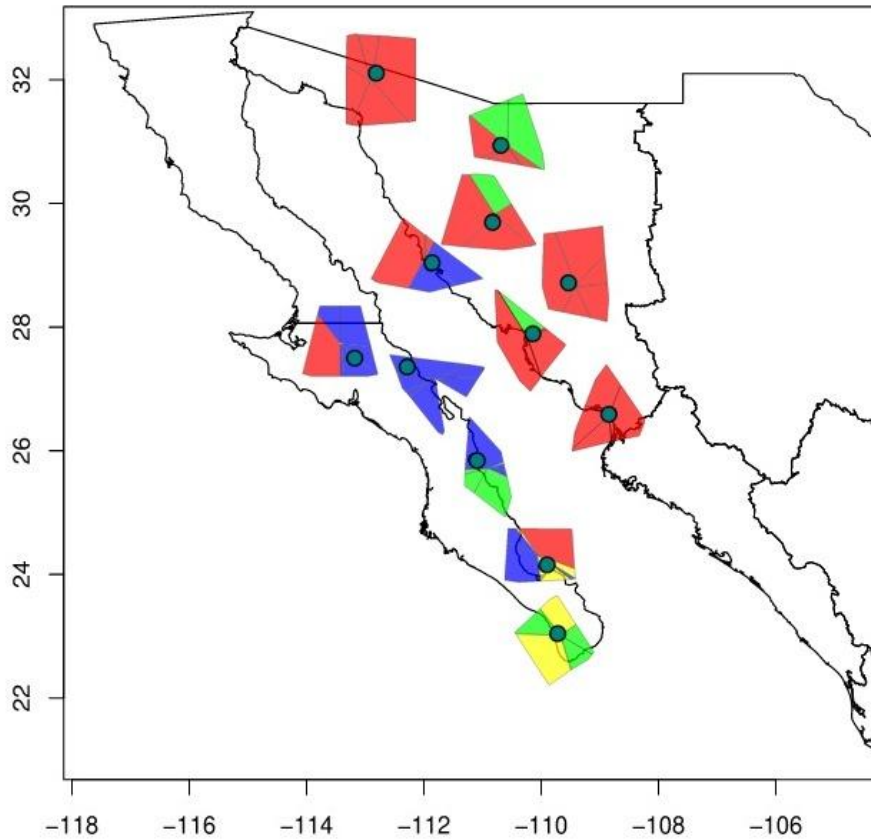


Figura 7. Resultado del análisis bayesiano de estructura poblacional (BAPS). Los colores corresponden con los grupos genéticos de la mejor partición de los datos (\log máximo likelihood = -438,3127; $P=0,999$) y es indicado por los diferentes colores de los polígonos de Voronoi. El grupo A= rojo; grupo B=azul; grupo C=verde; grupo D=amarillo.

Se obtuvo un valor máximo de verosimilitud de -438.3127 (Para un valor de K de cuatro). El valor más compatible del número de grupos genéticos que representan la variación genética total de los datos observados, maximizando la estimación de log-likelihood para diferenciar valores de K (Figura 7), así se encontraron cuatro pozas génicas que corresponden con los cuatro colores en la figura. También, se realizaron corridas independientes para un K de cuatro poblaciones teniendo en cuenta que Bustamante (2012) encontró 4 pozas génicas en las poblaciones continentales en un análisis de STRUCTURE (comunicación personal), pero de las tres corridas independientes forzando el número de K, siempre tuvo mayor probabilidad el valor de cuatro agrupaciones genéticas.

5.2.3. Aislamiento por distancia

Al evaluar la correlación entre las distancias genéticas de F_{st} pareados y las distancias geográficas con la prueba de Mantel (1967) (Apéndice VIII; Figura 8), se encontró un patrón de aislamiento por distancia por una correlación positiva en la especie con un $r = 0.466$ ($P = 0.003$) en el grupo de todas las poblaciones (península/continente). Sin embargo, al separar las poblaciones peninsulares de las continentales, se encontró que gran parte de la varianza estadísticamente significativa se concentraba en las poblaciones peninsulares ($r = 0.749$; $P < 0.038$).

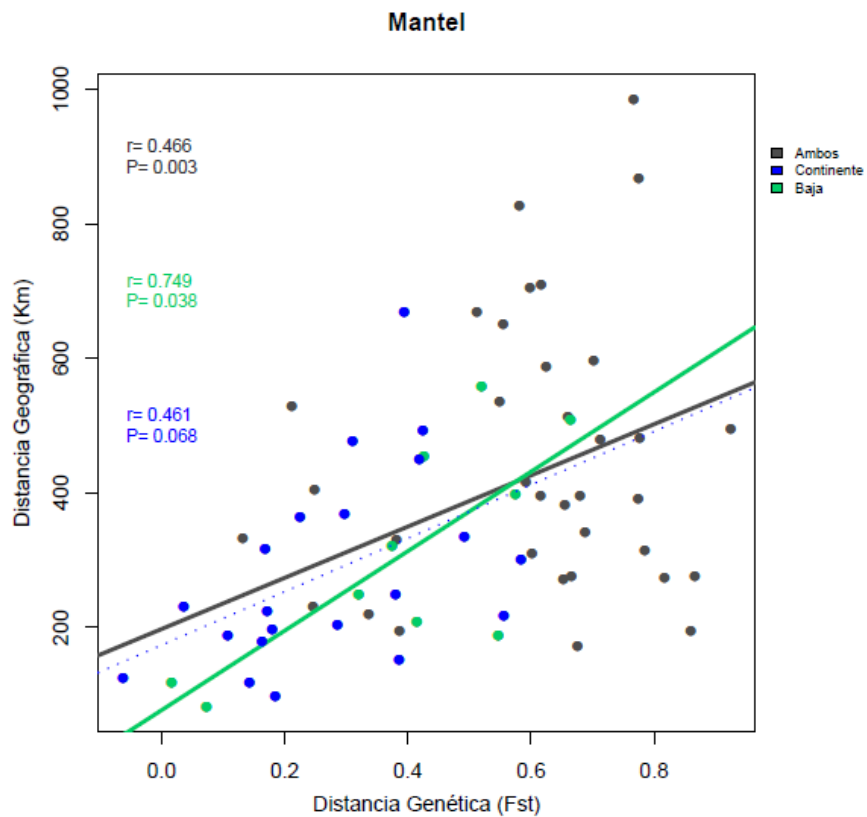


Figura 8. Test de Mantel para *S. thurberi* entre las distancias genéticas de F_{st} entre poblaciones por pares y su distancia geográfica simple (km). Se observan tres regresiones lineales, la color gris corresponde con todas las poblaciones, la color azul corresponde con todas las poblaciones continentales y la color verde contiene solo al grupo de las poblaciones peninsulares.

5.2.4. Barreras geográficas

Con el algoritmo de Monmonier se determinó la presencia de barreras geográficas. Se pusieron a prueba tres barreras geográficas ya que se presentaron cuatro grupos genéticos del Análisis Bayesiano de Estructura Poblacional (BAPS). Se obtuvo: 1) una barrera que separa las

poblaciones peninsulares de las continentales (bootstrapping 100%), que es más débil entre la población Nopolo y el continente (con Zacate Blanco y Guásimas), 2) barreras que establecen una separación entre las dos poblaciones norteñas de la península (Santa Rosalía y San Francisco), la población central (Nopolo), y también las dos poblaciones del sur (Balandra y El Palmar), y 3) una barrera débil que separa la población del norte del continente de las demás poblaciones (Figura 9).

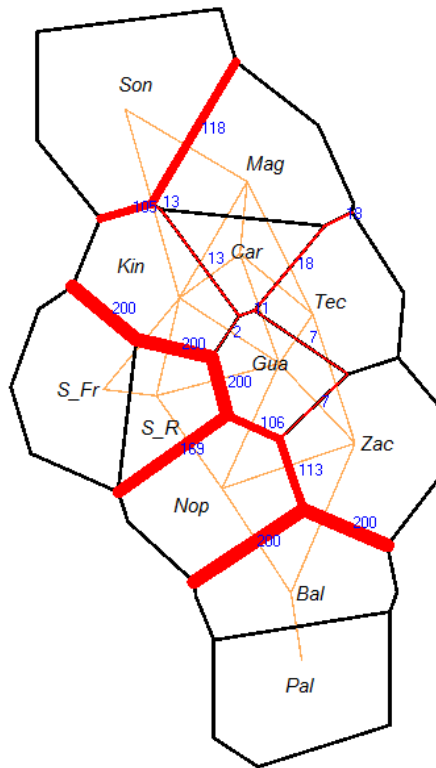


Figura 9. Cálculo de las barreras con *Barrier* v.2.0. Se realizó a partir de 200 matrices de distancias genéticas y una matriz de las coordenadas geográficas de las poblaciones. Cada una de las líneas rojas representa una barrera genética y los números sobre los nodos representan el valor de bootstrap de las barreras. En la gráfica las siglas corresponden con las poblaciones Son= Sonoyta, Mag= Magdalena, Kin= Kino, Car= Carbó, Tec= Tecoripa, Gua= Guásimas, Zac= Zacate Blanco, S_Fr= San Francisco, S_R= Santa Rosalía, Nop= Nopolo, Bal= Balandra, Pal= El Palmar.

5.2.5. Gráfica de *mismach*

La prueba de las frecuencias del número de diferencias pareadas o *mismach* para cada una de las cuatro pozas génicas en un escenario donde se pone a prueba la hipótesis de expansión poblacional presentan muy poca variación, debido a que la tasa evolutiva del cloroplasto no es tan rápida. Los resultados obtenidos parecen estar de acuerdo con lo modelado para una expansión poblacional lenta, porque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Poza A

P=0.97, Poza B P=0.47, Poza C P=0.12 y Poza D P=0.38). Sin embargo, el aumento puede no ser tan rápido dado que una población es monomórfica y en general se presenta poca variación en las muestras (Hamilton, 2009), en general lo que encontramos son muchas secuencias con pocas diferencias y pocas secuencias con muchas diferencias

5.2.6. Graficas de “Skyline Plot”

El análisis de Skyline-plot se realizó independientemente para cada una de las pozas génicas determinadas por el BAPS y encontramos altas las probabilidades posteriores en los nodos que separan los individuos (Apéndice VII), por lo que los gráficos proveen de un buen soporte para la evaluación de los cambios en el tamaño efectivo poblacional a lo largo del tiempo. En las gráficas se identificó un comportamiento demográfico histórico similar al obtenido en la prueba BAPS para la estructura genética (Figura 7), puesto que en la poza génica A se presenta un incremento en el tamaño efectivo hacia el presente, señal que da un poco más de soporte a la idea de un crecimiento o expansión poblacional en los pitayos.

Las distribución de probabilidad de los diferentes parámetros calculados y su probabilidad posterior se ajustaron a una distribución *log-normal* para 100,000'000,000 de generaciones. El diagrama “*skyline*” sugiere que el tamaño efectivo de las demás pozas génicas se ha mantenido relativamente constante (Figura 10). Se observa en los casos de poza génica B, C y D donde no ha habido un gran cambio, y hacia el presente se ha dado un pequeño cuello de botella. Esto último respalda los análisis de neutralidad (D' Tajima) donde se sugiere un evento de contracción poblacional.

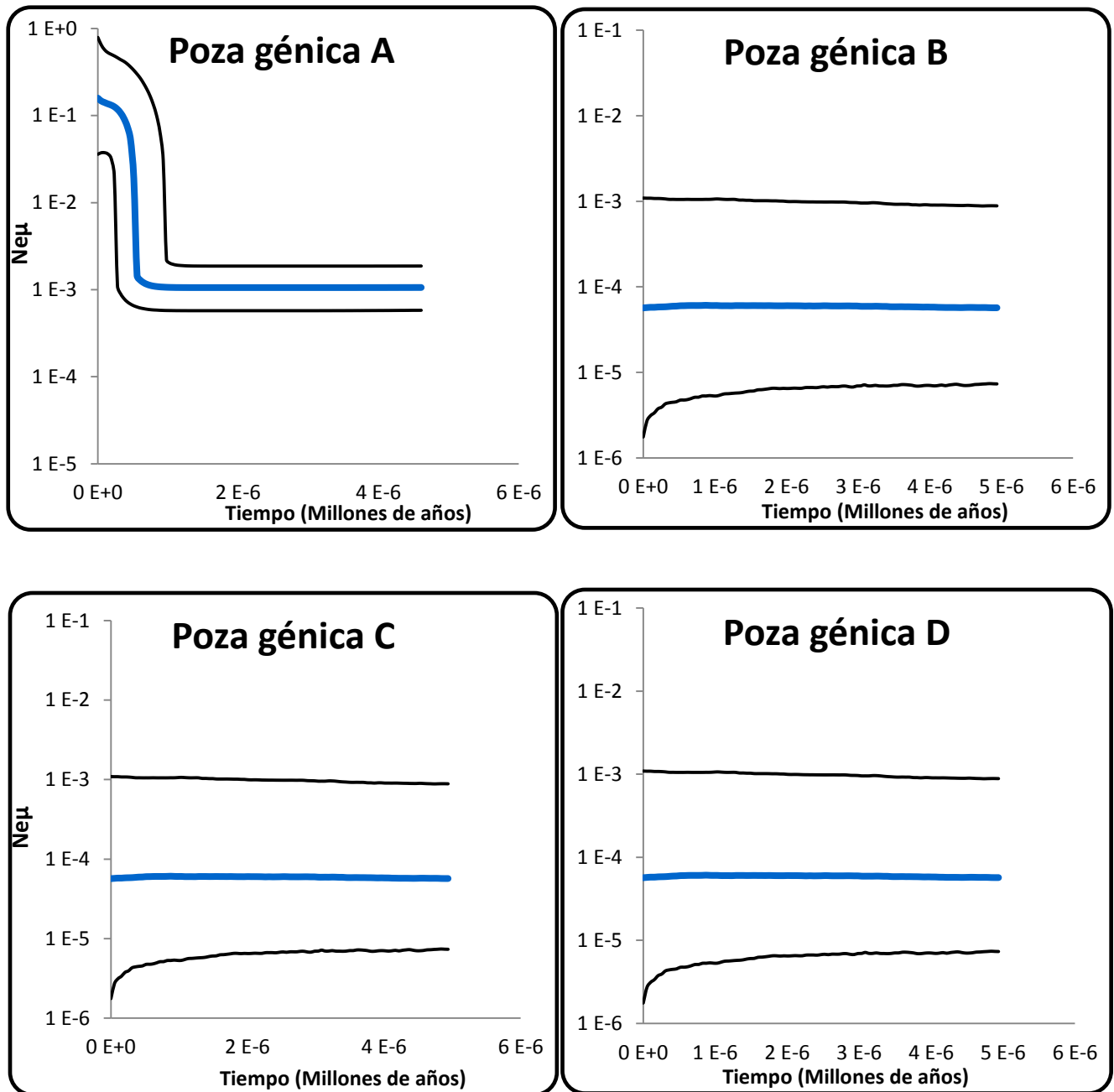
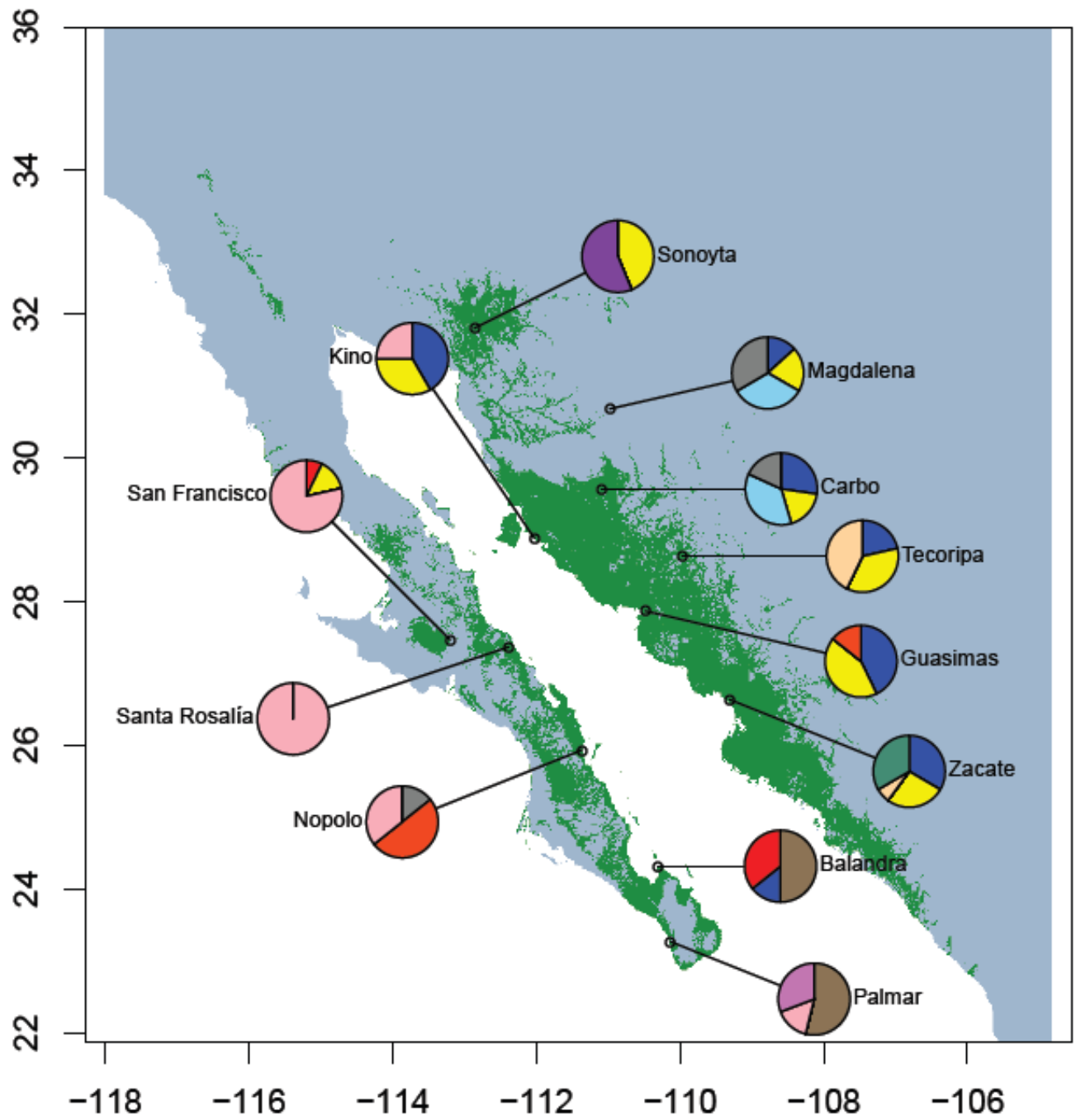


Figura 10. Skyline plot bayesiano. La línea azul muestra el cambio del tamaño demográfico histórico en función del tiempo para los cuatro principales linajes encontrados. Las líneas negras corresponden a los intervalos de confianza. El eje y corresponde al estimado de tamaño poblacional calculado en unidades de $N_e\mu$, el producto del tamaño efectivo poblacional por tasa de mutación y el eje x muestra el tiempo generacional, estimado a partir de las mutaciones por sitio donde el cero corresponde con el presente. Estas líneas sólidas son el estimado de la mediana. La grafica corresponde con cada uno de las pozas génicas estimadas en el análisis bayesiano de BAPS en la figura 6. El color rojo equivale a la poza génica A, el color azul a la poza génica B, el color verde con la poza génica C y el color amarillo con la poza génica D.

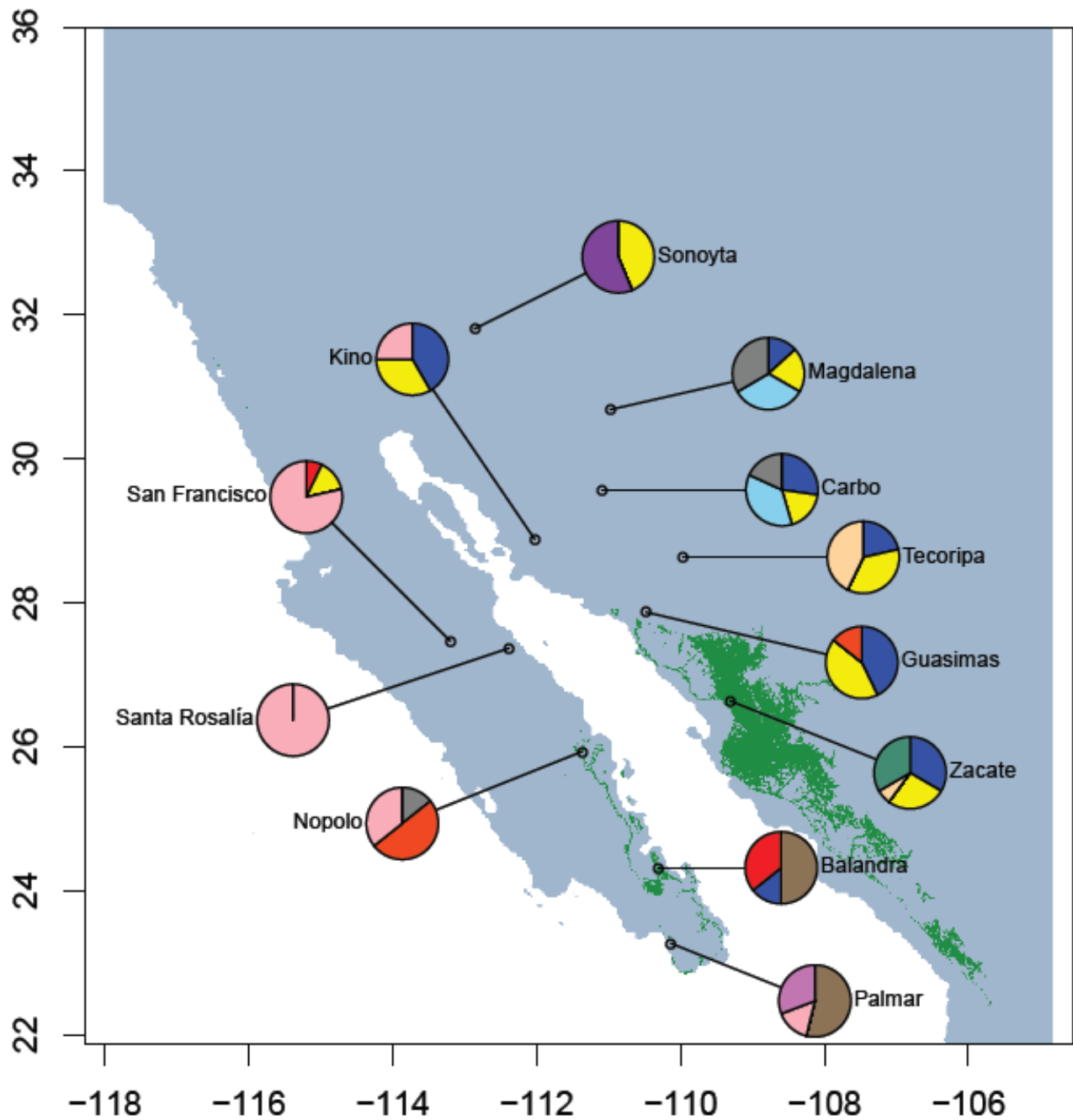
5.2.7. Distribución Potencial

En el modelo de distribución potencial proyectado sobre un espacio geográfico, se obtuvieron los modelos de distribución de *S. thurberi* para el presente, el último máximo el glacial (21 mil años) y el último interglacial (130 mil años, Figura 11). La curva de omisión y predicción de datos estuvo por encima de la línea de omisión predicha y el área promedio bajo la curva ROC fue cercana a la unidad en los modelos (0.972 en el LGM y 0.973 del LIG, Apéndice IX).

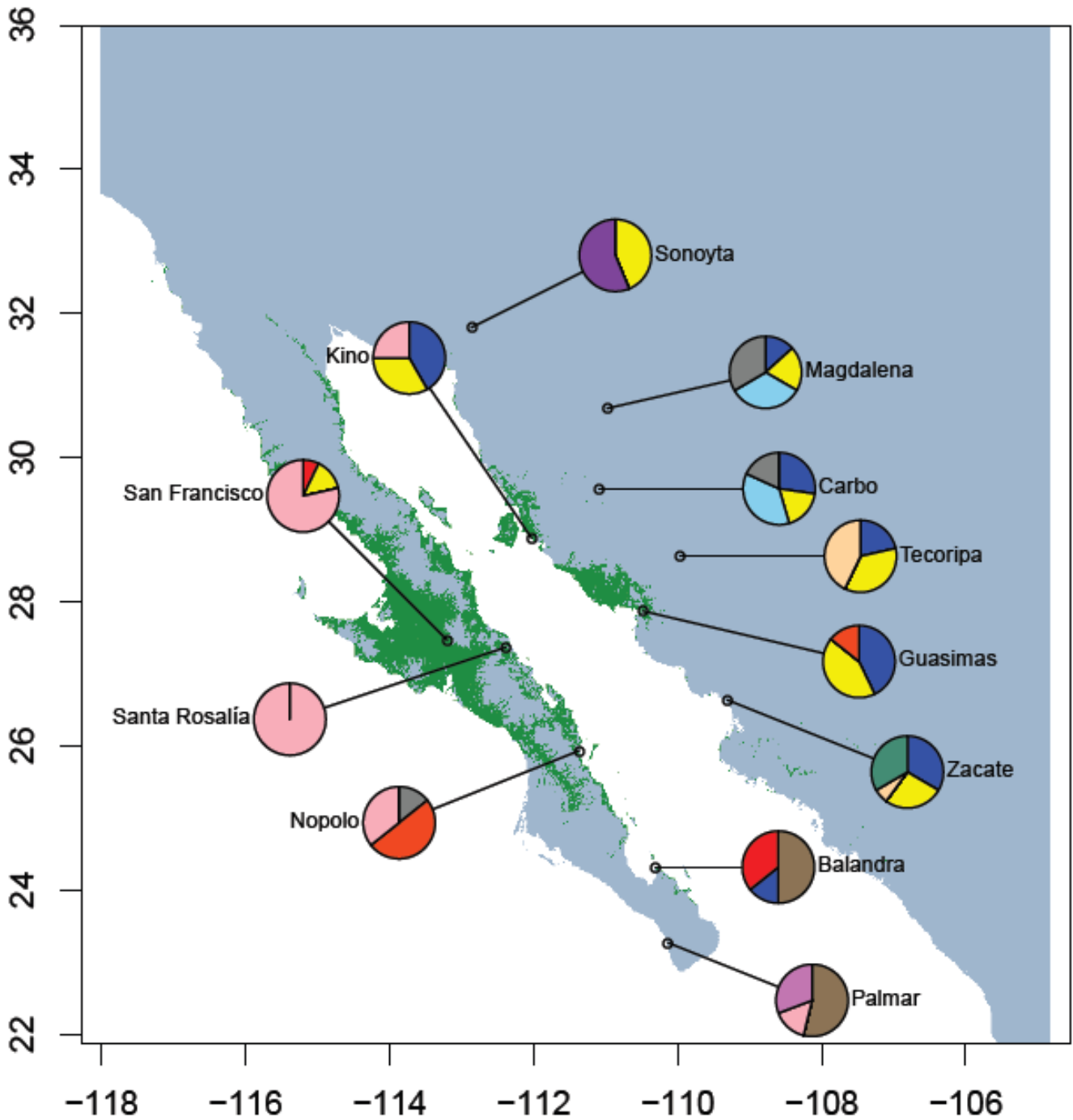
Con base en el modelo de distribución, la actual del pitayo está bien representada, y es muy diferente a la distribución potencial en los dos periodos del pasado (LIG y LGM). La distribución calculada es altamente probable de acuerdo a los resultados de las curva de validación y curva ROC (Apéndice IX). El área de distribución durante el LGM es menor que en el presente, pero coincide con una porción de la distribución geográfica actual. Así, varias de las poblaciones muestreadas no se encontraron en el modelo generado del LGM, se sugiere que las poblaciones del norte de la península y del continente (Sonoyta, Tecoripa, Carbó, Kino, Magdalena, San Francisco y Santa Rosalía) se fundaron cuando la distribución de la especie se expandió hacia la parte del Noroeste de México y el Suroeste de Estados Unidos, posiblemente debido al incremento en aridez a partir del Holoceno.



a) *Modelo de nicho del presente*



b) Modelo de nicho proyectado hacia el último máximo glacial (LGM, hace 21000 años atrás)



c) Modelo de nicho proyectado hacia el último interglaciar (LIG, hace 130000 años atrás)

Figura 11. Modelos de distribución de *S. thurberi* utilizando los registros de presencia de las especie y las capas bioclimáticas de WorldClim junto con algunas topográficas. El área en verde representa la distribución probable restando el 10 percentil a) Modelo de distribución del último máximo glacial, c) Último inter glacial.

Cuando se corrió el modelo para el último interglaciario (LIG; Figura 11b) observamos que la especie se encontraba más ampliamente distribuida en la península de Baja California en comparación con el continente. Es posible que las condiciones en ese entonces fueran más parecidas a las actuales, permitiendo una distribución más al norte en la península (Figura 11). En este modelo proyecta que donde se ubica Kino, Guásimas, Nopolo, Santa Rosalía y San Francisco en el LIG las condiciones eran propicias para que se mantuviera *S. thurberi*. De acuerdo al modelo del último máximo glacial la distribución posteriormente empezó a descender y las poblaciones que se mantuvieron fueron las del sur (Guásimas, Zacate Blanco, Nopolo, Balandra y Palmar). Es posible del puente para los murciélagos aproximadamente 21000 años y en ese momento la profundidad del golfo es tal que probablemente las costas eran muy parecidas excepto en algunos lugares como el estrecho del infiernillo (localizado entre la isla de Tiburón y Sonora), en este modelo parece que algunos haplotipos presentes en tiempos ancestrales se mantuvieron en poblaciones de ambos lugares (Nopolo y Guásimas para el Hap7), y posiblemente se fijaron por deriva génica.

5.2.8. Análisis ambiental

Tabla 9. Porcentaje de determinación de cada variable en los cuatro componentes principales calculados más probables para el análisis de componentes principales realizado a partir del modelo de nicho estimado para *S. thurberi* (PCA).

PCA1		PCA2	
Variable	%	Variable	%
Rango diario promedio	0,54	Temperatura media anual	0,6
Temperatura mínima del mes más frío	0,62	Precipitación estacional	0,73
Precipitación anual	0,68		
Precipitación de cuarto más húmedo	0,56		
Precipitación del cuarto más seco	0,87		
Precipitación del cuarto más frío	0,88		
PCA3		PCA4	
Variable	%	Variable	%
Isotermalidad	0,64	FlowAccum	0,91
Temperatura estacional	0,68	FlowDir	0,91
Temperatura máxima del mes más cálido	0,67	Pendiente	0,91
Temperatura media del cuarto más cálido	0,6	Topoind	0,91

El análisis ambiental realizado mediante un análisis de componentes principales (PCA) para las 19 variables bioclimáticas de Worldclim, extraídas del modelo de nicho del presente (Tabla 9), muestra que desde un punto de vista ambiental existe una diferenciación entre el ambiente continental y el peninsular (Figura 12). Un total de 86% de la variación total se explicó con 5 componentes principales que resumen la información de las variables bioclimáticas y las topográficas. El primer componente (PCA1) representó el 32.8% de la variación, el segundo el 21.6% de la variación, el tercero el 16.8% de la variación, el cuarto el 8.8% de la variación y el quinto el 6.5% de la variación.

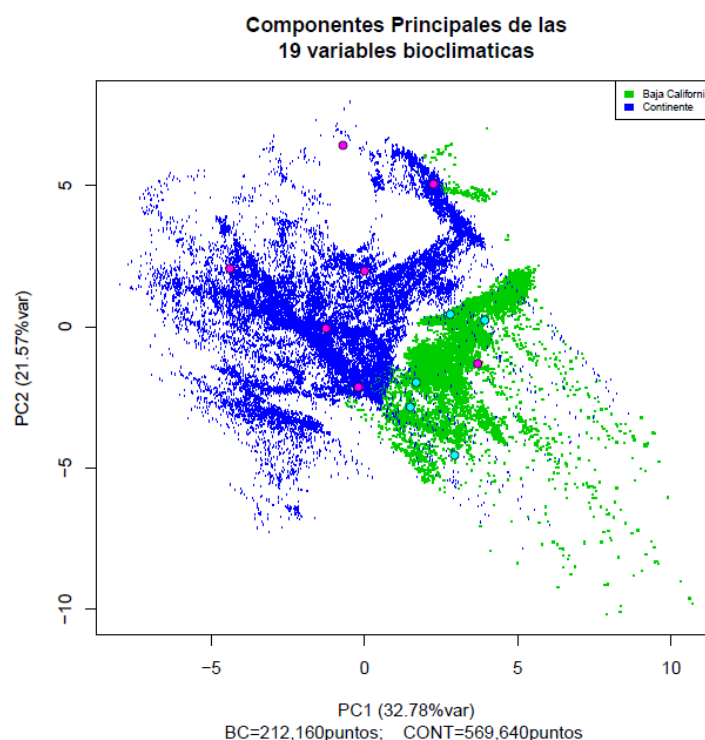


Figura 12. Figura 5. Relación entre los dos primeros componentes para las 19 variables bioclimáticas de WorldClim. El color azul corresponde a los puntos ambientales del continente y los puntos verdes los de la península. Los círculos rosas corresponden con las poblaciones continentales y los círculos azules son las poblaciones peninsulares.

El componente PCA1 está muy relacionado con la temperatura mínima del mes más frío, mientras que el PCA2 son la temperatura anual promedio y la precipitación estacional, las que lo determinan. Climáticamente, la población continental de Kino se agrupa con las poblaciones peninsulares (Tabla 10).

Se realizó un análisis de agrupación por clústers utilizando los valores de componentes

principales para establecer las relaciones entre los ambientes y se encontró que se forman dos grupos claramente diferenciados, uno donde están las cinco poblaciones de Baja California dejando más alejada de las cinco a Nopolo, agrupando por un lado a Balandra y el Palmar y por otro lado a Santa Rosalía con San Francisco, no obstante, en la base de estas se agrega Kino de las poblaciones continentales. Por otro lado el otro clúster donde están las poblaciones de Sonora donde se ubica un grupo de las dos sureñas (Guásimas-Zacate), las tres centrales no costeras (Tecoripa-Carbó-Magdalena) y en la base de estos a Sonoyta, demostrando que las más cercanas geográficamente están más relacionadas a nivel ambiental y que Sonoyta habita en un ambiente distinto de las otras 5 anteriores (Apéndice. XI).

5.2.9. Aislamiento por resistencia

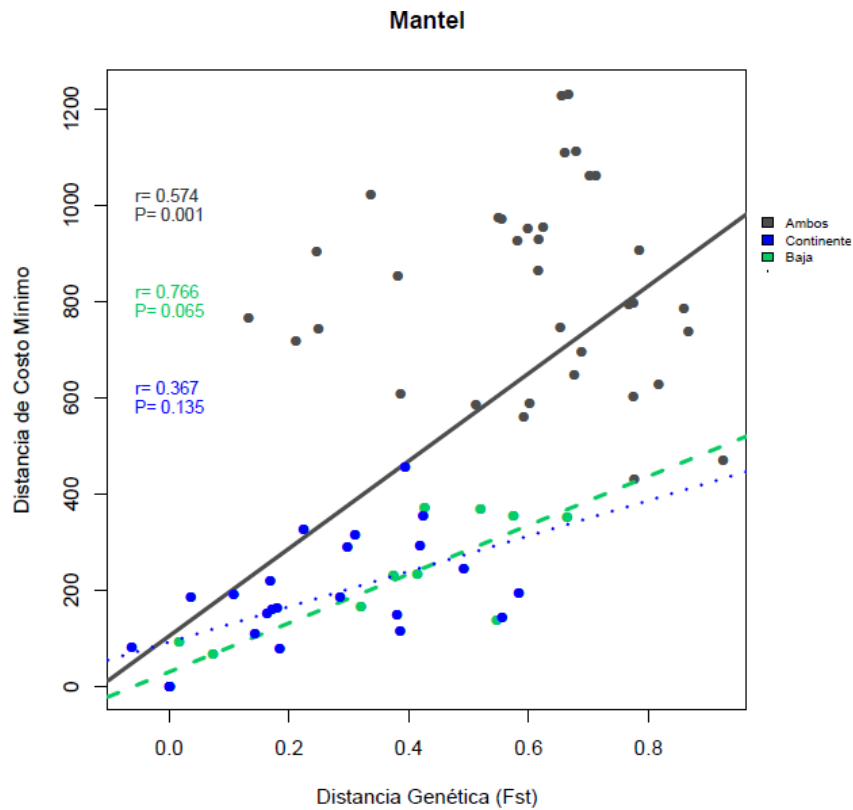


Figura 13. Correlación entre las distancias genéticas de Nei entre poblaciones pareadas y su distancia ecológica, calculada como el valor del costo mínimo. La prueba de Mantel representa la regresión lineal para el grupo de todas las poblaciones en color gris, el valor de todas las muestras continentales de color azul y el valor para solo las muestras de la península de forma verde.

Al evaluar el nivel de correlación entre las matrices de las distancias genéticas Fst contra la distancia ambiental que se estimó mediante la Distancias del Costo Mínimo (*Leasth Path*

Cost Distance), con la prueba de Mantel sencilla (1967) (Apéndice X; Figura 13). Se encontró en el grupo de todas las poblaciones, una correlación positiva de aislamiento por resistencia ambiental (r de 0.574; $P= 0.001$). La dificultad está en determinar si el clima es lo más importante en la distribución genética, pues, también se encontró significancia en el aislamiento por distancia (IBD), al igual del porque las poblaciones cercanas con ambiente similar presentan significancia en análisis de aislamiento por resistencia, lo cual probablemente es solo un artefacto estadístico por la otra correlación. Pero cuando se hizo el test separando las peninsulares de las continentales, se indicó ausencia de significancia ($P=0.135$ para los continentales y $r= 0.367$; $P=0.065$ y $r=0.766$ en los peninsulares). Esta diferencia tal vez se deba a que las poblaciones del continente que en general tienen ambientes más parecidos entre sí y, presentan más flujo génico (menores valores de F_{st}).

6. DISCUSIÓN

La disponibilidad de estudios de genética de poblaciones sobre cactáceas columnares, permite hacer comparaciones con base a patrones genéticos. Sin embargo, ya que la mayoría de los estudios realizados en el grupo son con isoenzimas o ISSRs, resulta complicada la comparación de diversidad, estructura, y diferenciación genética (Figueredo *et al.*, 2010). Por lo tanto, se contrastaron los valores de las estimaciones de diversidad y estructura frente a otras publicaciones filogeográficas o de genética de poblaciones en angiospermas con marcadores de cpADN (Tabla 10).

Tabla 10. Estudios de genética de poblaciones y filogeografía en diferentes plantas utilizando ADNcp. Número de individuos (N), longitud de la secuencia (pb), diversidad haplotípica (H_d), diversidad nucleotídica (π) y coeficiente de estructuración genética (F_{st} o G_{st}).

Autor	Especie	Marcador	N	Pb	H_d	π	G_{st} F_{st}^*
Aguirre 2014	<i>Fouquieria</i> <i>Shevei</i>	psbJ-petA ndhF-rpl32 trnL-rpl32	92	2769	0.743	0.00077	0.651
Alquiera 2010	<i>Oxalis</i> <i>Alpina</i>	psbA-trnH rbcL-psaI	250	1104	0.79	0.0021	0.73
Colín (en prensa)	<i>Phragmites</i> <i>Australis</i>	trnT-trnL rbcL-trnL	427	1926	0,67	0,00052	0.309
Aoki et al., 2006	<i>Photinia</i> <i>Glabra</i>	rps16 intron 1 trnG, intrón psbC-trnS psbC-trnP petB intrón petD-rpoA rpl16, intrón trnL-trnF atpB-rbcL	129	4111	0,429- 0,693	0,00031- 0,00046	0,51
Chen et al., 2012	<i>Quercus</i> <i>Variabilis</i>	trnL-trnF atpB-rbcL trnH-psbA	528	167	0,0-0,821	0,0-0,00088	0,090- 0,294
Fehlberg y	<i>Encenia</i>	psbA-trnH	310	433- 455	0,1897	0,0013	0,8425

Ranker	<i>Farinosa</i>						
Garrick et al., 2009	<i>Euphorbia</i> <i>Lomelii</i>	matK ndhF	327	933	0,493	-	0,181- 0,128
Liu et al., 2012	<i>Camellia</i> <i>Taliensis</i>	rpl32-trnL	183	858	0.836	0.00417	0.301
Martínez 2012	<i>Agave stricta</i> <i>Agave striata</i>	trnF-trnL psbJ-petA trnL-rpl32	57 54	2100	0.524 0.713	0.00047 0.00166	0.898 -0.944* 0.697 0.938*
Ornelas et al., 2010	<i>Podocarpus</i> <i>Matudae</i>	trnF-trnL psbA-trnH	157	1034	0.811	-	0.707- 0.813*
Ramírez 2009	<i>Alsophila firma</i> y <i>Cyathea fulva</i>	atpB-rbcL	63 54	615	0.442 0.442	0.0009 0.00097	0.0623 0.0955
Shepherd <i>et al.</i> , 2007	<i>Asplenium</i> <i>Hookerianum</i>	trnF-trnL	242	929	0.0-0.758	0.0-0.00216	0.34
Wang <i>et al.</i> , 2008	<i>Primula</i> <i>Secundiflora</i>	trnL-trnF rps16	109	855- 877	0.895	0.00495	0.816
Zhang <i>et</i> <i>al.</i> , 2005	<i>Juniperus</i> <i>Przewalskii</i>	trnT-trnF trnS-trnG	392	1024	-	-	0.772
Este estudio	<i>Stenocereus</i> <i>Thurberi</i>	trnF-trnL trnL-rpl32 <i>petB</i> , intron	165	2338	0.8702	0.00107	0.31276

La variación genética obtenida en este estudio es una de las más altas en comparación con lo reportado para otras angiospermas (Tabla 10) ($H_d = 0.8702$), aun teniendo en cuenta que la tasa de evolución en organismos con tiempos generacionales largos no es tan rápida (en caso de *S. thurberi* estimado de 50 y 100 años de edad, Bustamante *et al.*, 2010). Los valores obtenidos de variación y diversidad genética de *S. thurberi*, están en el rango de las otras especies reportadas en este estudio para el cloroplasto. En esta comparación se incluyen especies con estrategias de vida asociadas con altos niveles de diversidad genética, como el ser plantas leñosas de larga vida, con distribución geográfica amplia, alta densidad poblacional y dispersión de semillas y/o polen a larga distancia (Hamrick y Golt, 1996).

Este patrón en *S. thurberi* de diversidad haplotípica total (H_d) alta en comparación con otras cactáceas del Desierto Sonorense, concuerda con los resultados del estudio de Hamrick *et al.*, (2002) quienes utilizaron aloenzimas como marcador molecular. En *S. thurberi* en primera instancia, se observa que los valores de diversidad haplotípica son mayores y más constantes para las poblaciones continentales (0.525-0.800), mientras que en las peninsulares fueron menores y más variables, entre otros motivos, por haber encontrado un haplotipo fijo en la población de Santa Rosalía (0- 0.682).

En promedio el valor de diversidad en el continente es mayor que el que se presenta en la península ($H_d = 0.813$ y 0.713 respectivamente), y el continente tiene valor de estructuración genética menor ($G_{st}=0.142$ continental; $G_{st}=0.358$ peninsular), debido a que se presenta menores distancias genéticas (Apéndice VIII), aparente flujo génico de forma más activa en el continente, que con las poblaciones de la península ($Nm=0.55$ en el equilibrio). Por otro lado, en la península se está presentando mayor estructura, porque en la región de Los Cabos se da una fuerte diferenciación por la baja migración de individuos en esta región ($Nm=0.45$ en el equilibrio). Por tanto, el Golfo de California es una limitante en la dispersión para los murciélagos y los otros vectores de dispersión y/o polinización favoreciendo el aumento en la estructuración genética.

Es importante, citar que en la mayor parte de los reportes que se han hecho en la tribu de las Pachycereeae se observa una alta diversidad genética y un nivel de estructuración bajo. Estos valores altos de variación son comunes en los rangos de diversidad y diferenciación genética reportados para especies leñosas de vida larga, polinizadas y dispersadas por animales (Hamrick *et al.*, 2002). Posiblemente, debido en parte a que estas especies presentan entrecruzamiento obligado, dispersión a larga distancia y polinización por animales, principalmente murciélagos, además del largo ciclo de vida, que permite acumular mutaciones somáticas (Cornejo-Romero, 2012). Finalmente, en lo que respecta a los estudios en cactáceas columnares, pocos se han realizado con un enfoque filogeográfico o de genética de poblaciones poniendo a prueba hipótesis biogeográficas en el desierto Sonorense. Son muy representativos el de *Lophocereus schottii* (Nason *et al.*, 2002) y el de *Stenocereus gummosus* (Clark-Tapia y Molina-Freaner, 2003). En estas las poblaciones muestran linajes genéticos, estructurados

geográficamente a causa de vicarianza y dispersión, así como por los cambios climáticos del Pleistoceno.

6.1. *Dispersión vs. vicarianza: variación genética de S. thurberi en el Golfo de California*

La barrera genética del Golfo de California se caracteriza por haber tenido una historia geológica muy compleja desde los últimos 12 millones de años, momento en el cual lo que hoy es península aún hacía parte de la porción continental. Con el pasar del tiempo se fue dando una estructuración geológica, en la cual una gran porción de tierra se fue despegando del continente de forma heterogénea, es decir que unos lugares se separaron más rápido y más fuertemente que otros, como el caso de la porción más sur de Baja California Sur (Lizarralde *et al.*, 2007). Con base en lo anterior, se puso a prueba la hipótesis de evaluar el efecto de la fragmentación geográfica entre las poblaciones peninsulares y continentales del cactus columnar *S. thurberi*, evaluando la cantidad y la forma como se encuentra distribuida la variación genética en los grupos poblacionales. Pues, la mayor representación de haplotipos está en el continente y hay similitudes genéticas entre las poblaciones que están allí.

Se encontró que la población ancestral probablemente está en el continente y data de aproximadamente un poco más de 5 millones de años atrás (5.95 Ma), momento en el cual se estaba dando la divergencia del grupo de cactus columnares Stenocerinae y momento en el cual aún se mantenían puentes marinos de hielo entre península y continente (Hernández-Hernández *et al.*, 2013). Siendo así, la radiación de la especie ocurrió como un evento continental, a medida que la península se iba formando. Fue con el pasar del tiempo cuando las semillas se fueron movilizandando entre los lugares cercanos. Inicialmente entre el continente, pues para los murciélagos migratorios es más fácil moverse dentro de Sonora, porque es más homogéneo y para estos están más cerca de sus cuevas de maternidad y el hábitat. De acuerdo a la presencia de los haplotipos más frecuentes en las poblaciones de Sonora se sugiere que hay ligera homogeneidad entre ciertas poblaciones cercanas (como en Magdalena y Carbó, Fig. 3). Esta similitud corresponde con ausencia de aislamiento por distancia, en estas poblaciones que carecen de barrera genética entre ellas (resultado de Barrier, Figura 8), por tanto, el alto valor de aparente flujo génico en el equilibrio. Bustamante (2012) en su tesis doctoral.

Posteriormente, llegó el momento cuando las semillas empezaron a ser geodispersadas cada vez más lejos para llegar definitivamente a una península en formación y separación. En este otro lugar las condiciones genéticas y ecológicas se facilitaron para que se diera la divergencia de un nuevo linaje en este nuevo lugar geográfico (3.25 Ma atrás). El surgimiento de un nuevo grupo se dio por la presencia del aislamiento geográfico.

Entre poblaciones del Golfo históricamente ocurrió una divergencia genética a causa del flujo génico ancestral desde hace 3.25 Ma cuando los haplotipos más frecuentes en el continente viajaron una larga distancia y se diferenciaron como un nuevo grupo poblacional. Sin embargo, debido al movimiento activo de los polinizadores se ha presentado un continuo flujo génico entre ambos grupos poblacionales lo que ha conllevado el mantenimiento de haplotipos comunes (Hap2-Hap3-Hap4-Hap6-Hap7-Hap8). Pero, hay otros particulares en el continente que surgieron más recientemente, producto de la interacción de las fuerzas evolutivas (Hap5-Hap10-Hap11- Hap12). Los haplotipos más exclusivos de la península diferenciados (Hap1-Hap9), se debe a que en la parte sur de la península, por limitaciones biológicas, geográficas y ecológicas para los dispersores, se ha dado de forma más pronunciada la estructuración genética. Además de ello, para esas poblaciones que estaban más lejanas, por procesos genéticos como deriva génica, endogamia y cuello de botella, las poblaciones de la península se fueron diferenciando de las del continente.

Siendo así, la mayor parte de la variación se encuentra distribuida entre los grupos de cada lado del golfo (continente vs. península con 40.38% en AMOVA, Tabla 8 y Fig. 6). Sin embargo, una proporción alta de la variación se debe a las diferencias dentro de las poblaciones, resultado compatible en lo obtenido en la tesis doctoral de Bustamante (2012) usando marcadores nucleares (ISSRs). Esta similitud podría darse, porque aunque se han trabajado diferentes marcadores moleculares, los diferentes genomas han experimentado los mismos procesos ecológicos y evolutivos.

En la población Sonorense norteña (Sonoyta) del continente se presentaron unos patrones de distribución genética diferentes a las demás poblaciones continentales, debido a que entre esta y las demás poblaciones hay una limitación parcial de tipo biológica, genética, geográfica y/o ecológica (53% con Kino y 56% con Magdalena, Fig. 9), por esto Sonoyta es la población menos diversa (Tabla 7). De acuerdo al reloj molecular estimado esta fue colonizada más

recientemente (1.52 Ma), y probablemente tuvo su origen a partir de un efecto fundador, mutación y/o deriva génica (Hewitt 2000; Petit *et al.*, 2003). Quizá el flujo de genes hacia el norte de la península no es tan frecuente como se da en las poblaciones de centro y sur de Sonora (Figura 5).

Los resultados apoyan la idea que la colonización a larga distancia con dinámica metapoblacional de los murciélagos no es solamente a través de las islas, es posible que los murciélagos tengan un movimiento mucho más activo y que puedan atravesar el Golfo sobre un puente marino y por ello, se comparten haplotipos entre poblaciones limitadas por el Golfo, en las cuales para que ocurra dispersión no depende de un flujo genético por *stepping stone* (Balandra y Zacate para hap4, Nopolo y Guásimas para hap7). Así, viajan las semillas entre península y continente, generando mezcla genética entre poblaciones separadas alopatricamente. Pero también podría ser por retención del polimorfismos ancestrales, aunque se necesitaría de otro tipo de marcador molecular para distinguir entre polimorfismo ancestral y flujo génico reciente. Es importante tener presente que en algunos lugares era más fácil que se diera migración de semillas, a causa de que el origen de la península no fue un proceso constante y por algunos lugares era más factible que los vectores de dispersión y polinización atravesaran (Lizarralde *et al.*, 2007).

Con el surgimiento de un clado peninsular (3.25 Ma), probablemente en las poblaciones más del norte de la península, donde se encuentra la distribución del haplotipo más frecuente con el pasar del tiempo, se presentó la diferenciación genética de un grupo en el extremo sur de la península (Poza génica D), el cual se señala como un clado en la región geográfica de Los Cabos en el 2.61 Ma (Plioceno tardío), momento en que se estaba secando el puente transpeninsular que unía a las poblaciones de sur y centro de la península. Este proceso se dio por flujo génico derivado de haplotipo ancestral más al norte, acompañado con la diferenciación ambiental se dio un segundo momento de diferenciación genética por limitaciones biogeográficas. Por tanto, la interacción de las fuerzas evolutivas favorece la diferenciación y estructura genética de forma más pronunciada en la península que en el continente. Esto es consistente con el aislamiento por distancia positivo en la península (Fig. 8), menor flujo génico peninsular ($Nm=0.45$) y una barrera genética debido a las limitaciones geográficas y ambientales para la migración de *L. yerbabuena*, las cuales pudiesen ser las dos

sierras que separan allí a estas dos poblaciones (Sierra La Giganta y Sierra La Laguna, Riemann y Excurra, 2007), estas pruebas ponen en evidencia que no hay equilibrio entre flujo genético-deriva génica y por eso se han diferenciado las poblaciones más distantes (Slatkin, 1993)

Por último, se ha sugerido que la selección natural es una fuerza determinante en la evolución de las cactáceas (Gibson y Nobel 1986). Aunque no presentamos datos sobre selección natural de caracteres adaptativos en *S. thurberi*, este estudio sugiere que la dispersión histórica y su efecto homogenizador entre ciertas poblaciones ha sido una fuerza evolutiva importante en las poblaciones continentales (Hamrick *et al.*, 2002). Aunque, Gorelick (2009) propone que la deriva génica puede ser una fuerza evolutiva muy importante en la evolución de cactáceas, porque gran parte de estas tienen tamaño efectivo poblacional pequeño, son endémicas y se distribuyen de forma restringida, pero, este no es el caso de la especie de estudio.

6.2. El papel de los vectores de dispersión

En general, los murciélagos son considerados polinizadores efectivos de columnares y son capaces de desplazarse en grandes distancias (Rojas y Martínez y Valiente-Banuet, 1996). El sistema de polinización y dispersión de semillas a larga distancia puede promover el flujo de genes entre poblaciones de cactáceas columnares. Para *S. thurberi* murciélagos, aves y esfíngidos están asociados al movimiento del polen, de aves y murciélagos a la dispersión de semillas (Bustamante y Búrquez, 2010). Al comparar con Hamrick *et al.*, (2002), quienes utilizaron igualmente poblaciones continentales (Sonora) y peninsulares (Baja California), utilizando isoenzimas, ellos encontraron mayor cantidad de la varianza genética en la península que en el continente, por tener mayor presencia de alelos raros y restringidos.

Por otro lado, comparando con Bustamante (2012) quien utilizó ISSRs nucleares reporta que la diversidad genética en *S. thurberi* es más alta que en otros cactus quiropterófilos. Nuestros resultados coinciden en que en ambos estudios Carbó presentó una de las diversidades más altas ($H_{pop} = 0.187 \pm 0.017$ en núcleo y $H_d = 0.800$ en cloroplasto) y que en Guásimas se da una de las menores ($H_{pop} = 0.146 \pm 0.018$ en núcleo y $H_d = 0.6593$ en cloroplasto). Esto es señal de que internamente dentro del continente los vectores de dispersión presentan una tasa de

polinización diferencial.

Los murciélagos migratorios en general, no presentan una ruta simple en el noroeste de México, sino que realizan complejos movimientos siguiendo la floración de agaváceas y cactáceas columnares que se presentan en el desierto de Sonora (Cockrum, 1991). No obstante, Bustamante y Búrquez, (2010), demuestran que las poblaciones más norteñas son visitadas por murciélagos y las centrales y sureñas son visitadas al inicio de la floración por aves percheras y esfíngidos, y al final de la época por murciélagos, y que presentan consecuentemente un periodo de floración extendido. Por ende, se puede inferir que los patrones de rutas migratorias de los polinizadores y dispersores entre península y continente, están asociados con la variación en los tiempos de floración y fructificación de *S. thurberi*, y consecuentemente sus diferencias en los patrones de diversidad genética. En este estudio, se puede inferir que los patrones ecológicos del polinizador y la planta podrían influir en la diversidad genética, como parece suceder con las poblaciones más norteñas, donde se presenta la menor variación (San Francisco, Santa Rosalía y Sonoyta).

De acuerdo a la distribución geográfica de los haplotipos hap2, hap4, hap7 y 8, se sugiere que los procesos ocurridos podrían ser colonización a larga distancia (Fig.3), posterior a la formación completa del Golfo de California. Según el modelo de nicho (Figura 11), las condiciones ecológicas para que la especie se desarrolle son adecuadas, pues, los murciélagos tienen la capacidad de volar a través del golfo para arrastrar haplotipos ancestrales en el polen y semillas entre Kino (continente) y San Francisco (península), lo cual argumenta una colonización a larga distancia por disponibilidad de hábitat en estas regiones durante los periodos glaciares.

El comportamiento de las especies nectarívoras está determinando los patrones de dispersión del polen y semillas (Godínez-Alvarez *et al.*, 2003 y Valiente-Banuet, 2000). Estas especies tienen la capacidad de transportar a gran distancia el pool genético de las plantas (Tschapke y Dressler, 2002). Se ha sugerido que la pérdida o disminución de las poblaciones de dispersores puede ocasionar un impacto negativo en algunas especies vegetales. Sería fundamental y complementario hacer el modelamiento de la distribución potencial del nicho del presente y pasado de *Leptonycteris yerbabuena* para sobreponerlo con el de *S. thurberi*.

6.3. Eventos temporales y demográficos entre poblaciones Golfo de California

Como hay muy escaso registro fósil sobre cactáceas columnares y son registros recientes más bien de tipo arqueológico, las inferencias históricas se tienen que hacer a partir de aproximaciones y estudios genéticos para conocer patrones temporales y demográficos (Grivet y Petit, 2003). Inicialmente, se compara entre las diversidades y sirve para modelar los procesos demográficos que se han presentado en las poblaciones (Avise, 2000). Se obtuvieron valores relativamente altos de diversidad genética, así, se sugiere inicialmente que la especie pasó por un evento de expansión poblacional (Tabla 7), donde se han originado haplotipos nuevos poco divergentes, que no se han perdido por deriva génica.

El reloj molecular estimado determina que la separación demográfica en dos grupos poblacionales (peninsulares y continentales) es mucho más reciente que la formación del Golfo de Baja California, así se forman dos unidades genéticas por medio de la dispersión orientada por animales. Siendo así, se sugiere que el aumento demográfico en el Golfo de California comenzó más al norte, pero cuando la temperatura bajó en el Último Máximo Glaciar (LGM), probablemente los individuos se fueron moviendo más hacia el sur a causa de las bajas temperaturas en el invierno y probablemente sus poblaciones se fueron contrayendo hacia la parte sur trayendo efectos desfavorables como la reducción de hábitats de *S. thurberi* o de sus dispersores y polinizadores e inclusive favoreciendo la pérdida de otros haplotipos ancestrales ausentes en el presente.

El *Skylineplot* presentó un crecimiento poblacional solo en la poza génica representativa del continente (Poza A, Fig. 10), mientras que los demás se comportaron de forma neutral. Esto sugiere que una vez que las poblaciones se concentraron más hacia el sur, en Sonora se ha estado dando mayor y más rápido crecimiento demográfico que en la península. Un efecto explicado por la mayor presencia de visitas por parte de los polinizadores y dispersores en las poblaciones continentales. Sin embargo, también es importante que siendo los haplotipos más antiguos de Sonora, son estos los más propensos a tener mayor crecimiento poblacional actual. En comparación las poblaciones de la punta de la península que tienen historia poco más reciente (2.61 Myr), tienen una historia demográfica neutral.

Los análisis infirieron que los modelos de distribución para los tres momentos históricos dan una idea de los cambios en el nicho en el tiempo, debido principalmente a los cambios inminentes que se dieron en el clima y en el ambiente abiótico, especialmente en la temperatura

mínima invernal, el cual es la variable más determinante en la distribución de *S. thurberi* y/o para el flujo de genes histórico por los polinizadores. Se muestra que los cambios en la temperatura fueron determinantes en la distribución de los individuos, que conllevaron a que entre LIG y LGM las poblaciones más del norte se perdieran y los individuos se concentraran en el sur de la distribución actual (Fig. 11b). Posteriormente, entre el LGM (21000 en el pasado) y el presente con el incremento de la temperatura las condiciones se hicieron más propicias para el crecimiento demográfico actual (Fig. 11a).

El resultado de aislamiento por resistencia (IBR), confirma que las distancias genéticas entre las poblaciones se correlacionan con las distancias ambientales (distancia del menor costo), lo que permite dar claridad a que la diferenciación entre el ambiente peninsular y el continental ha facilitado a la diferenciación genética de las poblaciones (Fig. 13). Por tanto, en el Golfo de California donde se encuentran distribuidas las poblaciones de *S. thurberi* se presenta diferenciación ecológicas entre los ambientes donde esta crece y se desarrolla (Fig. 12). De esta manera, la barrera genética estimada en los cabos se puede explicar porque estas poblaciones están distribuidas en un ambiente diferencial, es decir en un bosque tropical deciduo (Apéndice XI), como consecuencia de ello el surgimiento de una poza génica restringida en Balandra y El Palmar. Por lo tanto, hay una influencia ambiental en la dinámica poblacional del movimiento de los murciélagos, porque a *L. yerbabuena* se le facilita y/o le gusta más moverse por el Desierto Sonorense. Al mismo tiempo, las migraciones de los murciélagos al sur de la península son poco frecuentes y por ello es el linaje más reciente de todos (2.61Myr).

Debido a que se está presentado movimiento de genes constante, de los murciélagos entre esas dos regiones geográficas, se podría proponer que diferentes factores ecológicos y ambientales han promovido la variación genética de *S. thurberi* en el Desierto Sonorense y en Baja California. En síntesis las diferencias se deben a: 1) mayor diversidad de ambientes en el continente, 2) aislamiento en la península que ha producido diferenciación por un proceso que involucra la deriva genética y también quizá debido a un efecto selectivo por la presencia de ambientes únicos en la península y 3) un mayor crecimiento poblacional aparente en las poblaciones continentales en comparación con las peninsulares.

La especie se caracteriza por ser muy sensible a los cambios en la temperatura, por

tanto la variación de esta en el tiempo, ha favorecido que los tamaños poblacionales aparentemente hayan cambiado muy radicalmente su área de distribución y su tamaño poblacional. Los cambios de temperatura en diferentes lugares dentro del área de distribución de *S. thurberi*, podrían explicar un poco los resultados del *Skyline plot*, donde en tres de cuatro grupos genéticos el tamaño poblacional se mantiene casi que constante a través de las generaciones y solamente en la más representativa del Desierto Sonorense es donde se da un aumento poblacional, porque las necesidades fisiológicas son más óptimas y porque el flujo genético activo mantiene a estas poblaciones con un mayor crecimiento demográfico. Aunque, es claro que las condiciones edáficas, la pendiente y demás variables topográficas también influyen en el modelo de nicho (Sosa *et al.*, 2009; Moore y Jansen, 2007).

Análisis como la distribución de los haplotipos, permite sostener, que la inferencia de la expansión contigua y crecimiento demográfico puede estar sesgado si se realiza en unos pocos loci (Templeton 2004). Sería de esperar que si hacemos el análisis en otras partes del genoma de *S. thurberi* encontráramos también un crecimiento demográfico, porque normalmente este patrón afecta a varios loci (Ramirez-Soriano *et al.*, 2008). Si bien la señal que arroja los marcadores de cloroplasto para las poblaciones de *S. thurberi* es consistente a través de diferentes métodos de análisis. En la poza génica A se acepta la hipótesis de expansión poblacional contigua con *skyline plot* (Fig. 10).

6.4. Refugios pleistocénicos en comunidades de *S. thurberi*

Durante el Pleistoceno tardío los desiertos de Norte América se caracterizaron por ser más fríos y húmedos que en la actualidad por la presencia de lluvias en el invierno, siendo así la vegetación en los desiertos no era igual que hoy en día (Melcalfe *et al.*, 2002). El incremento de la humedad seguramente tuvo un efecto negativo en las poblaciones de cactáceas columnares debido a la pérdida de un porcentaje de suelo desértico.

Stenocereus es un género en el cual la divergencia de sus especies ha comenzado a suceder desde hace aproximadamente 7 millones de años atrás (Hernandez-Hernandez *et al.*, 2014), cuando se separó completamente la península y *S. thurberi* es una especie con 5.95 Myr según los tiempos de divergencia estimados. Para el caso de la especie hermana *S. gummosus*, el origen disyunto de las poblaciones en la península, islas y Sonora se atribuye mucho a la dispersión histórica (Clark-Tapia y Molina-Freaner, 2003). Donde los patrones de variación

genética y estructura son consistentes con los cambios en la distribución histórica, como las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno (Garrick *et al.*, 2009). En *L. schotti* se encontró evidencia de vicarianza y dispersión, y formación de filogrupos que tuvieron expansión hacia el norte durante los ciclos de contracción y expansión del Pleistoceno. Patrón que aparentemente se podría suponer en *S. thurberi* al observar que sucedió una expansión, en gran parte, debido a la alta influencia de la temperatura mínima invernal. Se podría pensar que la historia de *S. thurberi* ha sido muy compleja en la cual el origen se dio en Sonora, el flujo genético entre península y continente se dio luego de la formación del Golfo (3.25 Myr), momento en el cual la especie se distribuía más al norte, posteriormente por los cambios de temperatura se generaron cambios en las poblaciones para que finalmente las poblaciones hubieran aumentado hacia el presente de forma exponencial.

La distribución de la variación genética debida al movimiento de vectores de dispersión y/o polinización ha sido eficiente para entender los cambios medio ambientales en momentos del pasado como el cuaternario (Aguirre, 2012), para entender el origen mismo de diferentes linajes de cloroplasto, como es el caso del haplotipo ancestral de *S. thurberi* (hap4). En general, diferentes estudios han encontrado que la mayor parte de la diversidad genética se centra en los orígenes de los linajes o en los refugios del pasado, que posteriormente se ha dispersado a las regiones aledañas (Hewitt, 2000). Teniendo en cuenta que el cloroplasto nos cuenta la historia materna, con recombinación casi nula y baja tasa mutacional, podemos obtener una señal evolutiva de una historia antigua.

Los modelos de distribución basada en variables bioclimáticas, son indicadores gruesos de la distribución potencial bajo esas condiciones. De acuerdo a estos podemos reportar sitios que se sugieren haber sido refugios Pleistocénicos de *S. thurberi*. Según el mapa de distribución potencial del Pleistoceno (Figura 11b), se modeló una menor abundancia de la especie *S. thurberi* en el golfo de California durante los periodos más fríos del Último Máximo Glacial (hace 21000 años). Si bien, hacia el presente no todas las pruebas aplicadas aportan evidencia de expansión demográfica, la estimación es acorde con evidencia independiente (Knowles y Carstens, 2007), como viene siendo el caso de la adecuación de las condiciones ambientales por el modelo de nicho, en el cual en el presente en términos geográficos hay una mayor disponibilidad de recursos para que se distribuyan los individuos. Este es el caso de la

costa Sonorense adyacente a la isla Tiburón en donde está Kino, pues, el ambiente actualmente se comporta como si fuera de la península de Baja California (Apéndice XI), por lo cual se puede sugerir que los murciélagos desde algún momento del pasado se han dispersado transportando genes a través del puente marítimo de las islas del Golfo, volando en medio de éstas, hasta llegar a colonizar nuevas tierras y facilitar un aumento demográfico.

En el Último Interglaciario (LIG) en la península divergieron primero las poblaciones más norteñas (Santa Rosalía, Nopolo y San Francisco) y en el continente fueron Kino y Guásimas. Posteriormente, en el Último Máximo Glaciario (LGM) fue cuando la temperatura bajó por la formación del casquete polar Lauréntido en el hemisferio norte y las poblaciones se contrajeron y migraron hacia el sur de Sonora y más al sur en Baja California. Las poblaciones que se modelaron para aquel momento fueron Zacate Blanco, Guásimas, Nopolo, Balandra y Palmar, permitiendo definirlos como los refugios pleistocénicos para la especie *S. thurberi*. A partir de este modelo de paleo-distribución, las variables bioclimáticas fueron paulatinamente cada vez más favorables para que la especie sobreviviera hacia la actualidad, y a partir de estas poblaciones ancestrales se fue dando origen de otras poblaciones acompañado de un aparente crecimiento demográfico como lo apoya en el *skyline plot* y *mismatch* (Fig. 10).

En Sonora las poblaciones de donde se derivan las demás son Zacate Blanco y Guásimas, que portan los haplotipos con mayor frecuencia (hap2 y hap4), la expansión poblacional se dio de sur a norte, acompañado de un flujo genético a larga distancia. Es resaltante que el haplotipo ancestral está en Sonora (hap4) y seguramente a partir de él se dio el origen de todos los demás. Por lo tanto, se puede inferir que la población ancestral es Sonorense, que posiblemente esté localizada entre Zacate Blanco y Guásimas, y a partir de este lugar se dio la divergencia genética de las otras poblaciones, que posteriormente migraron hacia la península.

Se podría inferir que en el estudio la población con más tiempo es Zacate Blanco porque se caracteriza por ser una población con una de las mayores diversidades haplotípicas ($H_d=0.75$). Esta población porta un haplotipo restringido en ella (haplotipo 12), que seguramente es derivado del haplotipo ancestral y se ha restringido allí, debido a que posiblemente surgió en respuesta a las condiciones ambientales del matorral costero y bosque deciduo, donde se desarrolla esta población (Bustamante, en prensa).

En la península de Baja California podemos observar que Nopolo que hay un haplotipo más frecuente en ese grupo, que igualmente es representativo en San Francisco, Santa Rosalía y El Palmar. Por lo tanto, podemos sugerir que a partir de esta, creció la población hacia el norte y hacía el sur de la península. También, es posible que en *S. thurberi* estén ciertos haplotipos que representen polimorfismos ancestrales que no se han perdido por deriva y muestren eventos de flujo genético ancestral con el continente cuando las poblaciones ya existían (ej. el Hap2 entre Balandra y Zacate Blanco y el Hap7 entre Nopolo y Guásimas, Apéndice VII).

Con base en lo anterior, Guásimas se caracteriza por tener un ambiente costero y en cual es posible que esto favoreciera que los murciélagos pudieran volar y forrajear con Nopolo restringiendo entre estas dos el haplotipo 7, concordante con la formación de una ambigüedad en la red de haplotipos (Fig. 5). Este haplotipo que quizá es resultado de un polimorfismo ancestral quizás no migro a poblaciones más cercanas como Tecoripa y Zacate Blanco porque éstas están en diferentes ambientes (matorral espinoso y matorral costero, respectivamente, Bustamante, en prensa).

En conclusión, podemos observar que se presentan dos historias diferentes, una para el continente y otra paralela para la península, donde se dio diferenciación genética y dispersión entre poblaciones cercanas y en algunos casos a través del Golfo de Baja California, lo que ocasionó que las poblaciones fueron creciendo hacia al presente y expandiéndose.

Para interpretar los movimientos de los organismos, es necesario tener en cuenta la historia geológica y la distribución pasada, para hacer inferencias sobre la historia evolutiva (Avice 2000). Las pruebas de *mistmach* y *Skylineplot*, indican que la especie ha aumentado su crecimiento poblacional hacia el presente. El cambio poblacional lento puede argumentarse por la ausencia de significancia en D' de Tajima. De este crecimiento poblacional han surgido las poblaciones más norteñas como Sonoyta y Santa Rosalía que parecen ser más recientes. Estos resultados respaldan la hipótesis de que la especie se ha mantenido en la península y en el continente desde hace mucho tiempo, y que en los dos lugares se presentaron refugios Plesitocénico independientes. Porque en determinado momento histórico aparentemente desde el Plioceno tardío los linajes de los haplotipos hap4 y/o hap8 migraron por dispersión a larga distancia entre Sonora y Baja California generando una mezcla de genes (Fig. 3), y luego por las facilidades ecológicas y geográficas se siguió dando la migración en ambos lados del Golfo.

Recientemente, se ha reportado sobre la influencia de los cambios climáticos del Pleistoceno en la estructura filogeográfica de las familias Asteraceae (Fehlberg y Ranker, 2009) y Euphorbiaceae (Garrick *et al.*, 2009) en el desierto del norte de México. Estos cambios climáticos determinaron los cambios en la distribución de las biotas, lo cual ha provocado contracciones, expansiones, fragmentación poblacional y aislamiento geográfico y demás procesos que han generado divergencia genética (Ramírez-Barahona y Eguiarte, 2014). Este patrón que también se presenta en *S. thurberi* permite suponer que estas especies han persistido en diferentes refugios durante los periodos más fríos y húmedos y luego a partir de estos se han expandido, dando lugar a un incremento en la diversidad genética y nuevos linajes (Garrick *et al.*, 2009). Estas evidencias pueden ser referencia para plantear posibles escenarios evolutivos para cactus que se distribuyen en estos desiertos.

6.5. Conservación del desierto

Los desiertos son ecosistemas con alta riqueza en flora endémica (Rzedowski, 1978) y este es el caso del Desierto Sonorense, porque, a pesar de ser pequeño, es el desierto más rico de América del Norte (Van Devender, 2000). Los ecosistemas y la biodiversidad del desierto están muy amenazados, al grado que muchos han sido establecidos como lugares prioritarios para la conservación de especies con importancia ecológica (Escudero *et al.*, 1999). Estos ecosistemas se encuentran en riesgo debido a: 1) pérdida de hábitat de especies; 2) fragmentación por cambio en el uso del suelo, debido a minería, tala indiscriminada y agriculturas 3) la sedimentación de los ríos, construcción de represas (Búrquez y Martínez-Yrizar 2006; Parson, 1976); 4) calentamiento global, por las exigencias ecofisiológicas de las plantas (Campo, 2013).

Es importante la protección de las comunidades vegetales debido a que son modelos interesantes para entender procesos evolutivos como especiación (Moore y Jansen, 2007) y procesos ecológicos como dispersión e historias de vida (Meyer, 1986). Siendo así, especies como el *S. thurberi*, por ser un cactus presente solamente en los desiertos del noroeste de México y una pequeña parte al suroeste de Estados Unidos, es un modelo interesante para proponer planes de conservación de comunidades en ambientes desérticas en México.

Se infiere que en esta especie, factores ambientales como la temperatura fría pone en

evidencia la importancia de estos factores en el patrón de distribución de *S. thurberi*. Por ello, es fundamental el conocer los factores ecológicos diferenciales que conllevan a la distribución actual de esta especie, porque la variación genética y los patrones de migración de los murciélagos dispersores están relacionados con los cambios en la temperatura y la precipitación y quizá es por esto, se sugiere limitado flujo génico en las poblaciones de la punta de la península (Balandra y El Palmar).

En Norte América a lo largo del Plioceno y Pleistoceno los eventos biogeográficos y climáticos configuraron la distribución actual de los biomas áridos, de manera que estos eventos pudieron tener una fuerte influencia en la distribución de la variación genética de los cactus y su especiación tal y como se sugiere en *S. thurberi*. Los tres modelos de distribución potencial son muy contrastantes, por tanto, se sugiere que por las glaciaciones la distribución de esta especie ha cambiado entre el Último Interglacial y el presente. Debido que en algunas cactáceas de regiones áridas y semiáridas del norte de México, se ha planteado que la divergencia de especies de forma alopátrica puede ser el modo predominante de especiación (Hernández-Hernández 2010, Cornejo-Romero *et al.*, 2012).

El Golfo de California es una región geográfica con ambientes desérticos que ha estado sometida a diferentes procesos geográficos y geológicos a lo largo del tiempo, y siendo que los ambientes de distribución de *S. thurberi* pueden llegar a ser muy cambiantes es importante determinar ciertas localidades desérticas como unidades de conservación abundantes en especies Mexicanas como esta. En este sentido, es necesario definir como poblaciones prioritarias para conservarlas a aquellas que presenten menor diversidad genética, es decir las más norteñas (Sonoyta, Santa Rosalía y San Francisco) porque serían las más posibles de perder por deriva génica o depresión por endogamia debido a la expresión de un alelo recesivo letal en la población, a causa de una mutación en el genoma (Barret y Kohn, 1991). También, es importante conservar a las que tengan mucha variación genética que puedan servir como reservorios de alelos importantes, porque seguramente corresponden con poblaciones de las cuales divergieron otras más recientes, como lo son Zacate Blanco, Carbó y Magdalena en el continente y Nopolo en la península. Estas poblaciones con mayor diversidad son de conservar, porque probablemente son importantes en los patrones biológicos y ecológicos de los polinizadores y dispersores.

Finalmente, conservar las poblaciones que sobrevivieron a los cambios climáticos y que portan los haplotipos ancestrales (de acuerdo a la modelación del nicho), de las cuales derivaron otros, es decir: Guásimas, Zacate Blanco, Balandra, El Palmar y Nopolo por ser refugios pleistocénicos. Otro argumento para conservar las poblaciones de la punta de la península de Baja, es porque al estar distribuido *Stenocereus littoralis* (Esquivel, 2004), se podría presentar una introgresión genética en los Cabos y por ende mayor diferenciación o una especiación. Consistente con patrones evolutivos de una nueva especie debido a una barrera al flujo génico y al patrón de aislamiento por distancia donde hay haplotipos restringidos.

El área que ocupan poblaciones como Zacate Blanco, Nopolo y Guásimas, fueron refugios pleistocénicos, pero no se pueden definir como unidades evolutivas independientes, porque a nivel de la filogenia no se está presentando una monofilia recíproca en ellas, aunque presenten variación molecular antigua (Avice, 2000). Finalmente, para determinar las estrategias de conservación, es necesario conocer los movimientos de dispersión por parte de los polinizadores, porque existen registros de *L. yerbabunae* en las costas de Sonora, en las islas del golfo de California y en la península. De igual manera, sería muy complementario hacer análisis como los microsatélites y/o SNPs para proponer un rescate genético más robusto.

Los estudios de genética de poblaciones y filogeografía realizado hasta el día de hoy en la familia cactaceae son escasos, lo cual dificulta la posibilidad de establecer patrones sobre la evolución que explique la alta diversidad. Aunque, esta tesis junto con los demás estudios son evidencia que prueba que el componente histórico ha moldeado la estructura genética y ha originado gran cantidad de endemismos en zonas áridas (Riddle *et al.*, 2000). Por tanto, la historia de *S. thurberi*, contribuye en comprender la respuesta de las cactáceas a eventos históricos que han promovido el aislamiento geográfico y el flujo génico por zoocoria en especies de los desiertos. Así como también, establecer o confirmar posibles rutas de colonización para poner a prueba hipótesis de migración en estos ecosistemas.

7. CONCLUSIONES

1) La utilización de secuencias intergénicas e intrones de ADN de cloroplasto resulta ser una técnica de relativamente bajo costo y fácil montaje y elaboración, aunque la cantidad de DNA que se logre extraer no sea muy alta, resultaron en la detección de polimorfismos variables que aportaron información útil para estimar procesos evolutivos dentro de la especie estudiada. Por ser fácilmente reproducibles, se recomienda hacer la reconstrucción también con secuencias nucleotídicas de núcleo para inferir la historia de dispersión paterna (polen), porque diferentes marcadores pueden tener diferentes historias.

2) En general se presentan valores altos de diversidad genética en *S. thurberi*. La región con mayor diversidad genética es la región continental de su distribución, pero debido al fuerte flujo genético hay poca estructuración.

3) En la zona más norteñas de la península y del continente se presentan los valores de diversidad más bajos, lo cual es quizás debido a que se presenta menor flujo de genes hacia el norte o porque son poblaciones periféricas relativamente recientes.

4) Hay una separación genética entre los grupos poblacionales del continente y la península, debido a la presencia del Golfo de California. Se encontraron evidencias de procesos de diferenciación genética ancestral, principalmente en las poblaciones de los cabos. Sin embargo, encontramos también evidencia de separación por distancia geográfica en la península.

5) Hay una separación genética entre los dos grupos poblacionales, debido a la presencia del Golfo de Baja California, a causa de procesos de vicarianza ancestral. Sin embargo, también el flujo genético más reciente ha influido en los procesos evolutivos de esta región geográficamente discreta. Pero esto último también se puede explicar por la presencia de polimorfismos ancestrales, introgregación o hibridación y/o flujo genético.

6) Los ambientes de distribución de los pitayos son muy diversos. Se sugiere que este efecto puede conducir a la diferenciación genética, pero que debido al intenso flujo genético en el continente la estructuración poblacional es menor que en la península donde las poblaciones están más diferenciadas.

7) Es importante conservar a las poblaciones que fueron en el pasado refugios de la especie durante el Pleistoceno y que portan haplotipos ancestrales (Guásimas, Zacate Blanco, Balandra, El Palmar y Nopolo).

8) Las poblaciones de Baja California se ajustan a un modelo de aislamiento por distancia. Sin embargo, las poblaciones del continente tienen patrones de relación más complejos que no se explican con un modelo simple de aislamiento por distancia.

9) Las poblaciones de Baja California se diferencian ambientalmente de las del continente. Pero la población de Kino se agrupa dentro de las poblaciones de Baja California, lo cual apoya la posibilidad de que los murciélagos a veces se muevan acarreado polen y semillas a través del Golfo de California.

10) En los diferentes ambientes las poblaciones han seguido trayectorias evolutivas distintas. Estos patrones son muy complejos e incluyen fenómenos de aislamiento ancestral, restricciones en el flujo génico local, diferencias ambientales locales y regionales y ensamblajes de polinizadores y dispersores distintos.

11) Se sugiere realizar análisis filogeográfico de las poblaciones distribuidas en las islas del Golfo de California para así determinar más claramente la dirección del flujo de genes entre los grupos de poblaciones.

12) El flujo genético actual de los murciélagos, parece ser relevante a lo largo de todo el área de distribución. Pero parece ser más importante el movimiento entre las poblaciones de Sonora, que los que cruzan el Golfo de California, pero se pueden parecer por ancestría común, no por flujo génico actual, se necesitaría análisis más ecológicos, y otros datos .

8. APÉNDICES

8.1 Apéndice I: PROTOCOLO DE LABORATORIO

8. 1.1. PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN PARA *Stenocereus thurberi*

1. Descartando el hidrénquima, cortar fragmentos de tejido fotosintético (aproximadamente 1g) en un mortero y moler con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino. De ser posible, tratar no moler la muestra en exceso para el evitar el fraccionamiento del DNA.
2. El ADN genómico fue extraído añadiendo 900 µl de alcohol etílico,
3. Agregar 600 µl del buffer de extracción CTAB, 750 µl del buffer STE y 65 µl de SDS al 20% y recuperar en un microtubo de 1.5 mL. Y subsecuentemente fue centrifugada a 12,000 rpm por 8 minutos.
4. El sobrenadante fue eliminado y el precipitado resuspendido en 250 µl de buffer CTAB 2X y 750 µl del buffer STE. Y nuevamente las muestras fueron centrifugadas a 12,000 rpm por 8 minutos.
5. El sobrenadante fue eliminado y el precipitado resuspendido en 400 µl de buffer CTAB 2X y 600 µl del buffer STE, para nuevamente centrifugar las muestras a 10,000 rpm durante 8 minutos,
6. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendieron con 800 µl del buffer CTAB 2X.
7. Las muestras fueron tratadas con ribonucleasa agregando 25 µl (7000 u/ml) a 37° C por 20 minutos para disminuir el ARN (agitando los tubos cada 4 minutos).
8. Después, se agregaron 50 µl de proteinasa-K (20 mg/ml) y se incubó a 65° C por 30 minutos. Y se colocaron las muestras en hielo por 15 minutos para detener la reacción.
9. Se agregaron 600 µl de cloroformo:octanol (24:1) por muestra, homogenizando en vortex y centrifugando a 9000 rpm por 12 minutos.
10. El sobrenadante fue transferido a un nuevo tubo de centrifugado (70% de la muestra). El ADN fue precipitado con 600 µl de isopropanol frío (-20° C) y mantenido por 12 horas a -20° C.
11. Después de este tiempo las muestras fueron centrifugadas a 12,500 rpm por 7 minutos y el sobrenadante fue desechado.
12. El pellet fue lavado agregando un 1 ml de etanol frío (-20° C) al 70% y centrifugando a 14,500 rpm por 5 minutos. Se eliminó el sobrenadante.
13. Se secó el pellet, se resuspendió en 100 µl de agua ultra pura, el volumen de agua depende del tamaño del pellet de ADN y podría ir de 15 µl a 150 µl aproximadamente.

8.1.2. BUFFER DE EXTRACCIÓN CTAB2X

- Tris-HCl 100mM pH8
- NaCl 1.4 M
- EDTA 20mM pH8
- CTAB 2%
- Opcional: PVP40 4% p/v (remueve compuestos. fenólicos, alcaloides y estabiliza enzimas)
- Opcional: Ac. Ascórbico 0.1% p/v
- Opcional: DIECA 0.1% p/v
- Opcional: Polietilen Glicol 4% p/v (captura azúcares de alto p.m.)
- b-mercaptoetanol 0.3% (agregar hasta el momento de usar el buffer)

1. Preparar solución 0.5 M de Tris (la cantidad a preparar se calcula en el paso 4) y ajustar pH a 8 con HCL.

2. Preparar solución 3.0 M de NaCl (la cantidad a preparar se calcula en el paso 4).

3. Preparar solución 0.5M de EDTA (la cantidad a preparar se calcula en el paso 4) y ajustar pH a 8 con NaOH.

4. Preparar solución de Tris-HCl 100mM, NaCl 1.4M y EDTA 20mM.

5. Agregar (en gramos) 2% del volumen total de CTAB.

6. Aforar con agua destilada al volumen final.

7. Al momento de utilizar, agregar 0.3% de b-mercaptoetanol.

8. Guardar en frasco ambar.

8.1.3. BUFFER DE EXTRACCIÓN CTAB

- Tris-HCL 100mM pH8
- NaCl 1.5M
- EDTA 20mM pH8
- CTAB 4%
- PVP40 4%
- Acido Ascorbico 0.1%
- DIECA 0.1%
- b-mercaptoetanol 0.3 % (agregar hasta el momento de usar el buffer)

1.- Preparar solución 0.5 M de Tris (la cantidad a preparar se calcula en el paso 4) y ajustar pH a 8 con HCL.

2.- Preparar solución 3.0 M de NaCl (la cantidad a preparar se calcula en el paso 4).

3.- Preparar solución 0.5M de EDTA (la cantidad a preparar se calcula en el paso 4) y ajustar pH a 8 con NaOH.

4.- Preparar solución de Tris-HCl 100mM, NaCl 1.5M y EDTA 20mM.

5.- Agregar (en gramos) 4% del volumen total de CTAB, 4% de PVP40, .01% de Ac. Ascórbico y 0.1% de DIECA.

6.- Aforar con agua destilada al volumen final.

7.- Al momento de utilizar, agregar 0.3% de b-mercaptoetanol.

8.- Guardar en frasco ambar.

8.1.4. BUFFER DE EXTRACCIÓN STE

- Tris-HCl 100mM pH8

- EDTA 50 mM pH8
- NaCl 100mM
- b-mercaptoetanol 0.3% (agregar hasta el momento de usar el buffer)

1.- Preparar solución 0.5 M de Tris (la cantidad a preparar se calcula en el paso 4) y ajustar pH a 8 con HCL

2.- Preparar solución 3.0 M de NaCl (la cantidad a preparar se calcula en el paso 4)

3.- Preparar solución 0.5M de EDTA (la cantidad a preparar se calcula en el paso 4) y ajustar pH a 8 con NaOH

4.- Preparar solución de Tris-HCl 100mM, NaCl 100mM y EDTA 50mM

6.- Aforar con agua destilada al volumen final

7.- Al momento de utilizar, agregar 0.3% de b-mercaptoetanol

BUFFER DE ELECTROFORESIS TAE

Para preparar 1 litro a 10X:

- 48.4 gramos de Tris ultra puro
- 11.42 ml de Acido Acetico Glacial
- 20 ml de EDTA 0.5M pH=8
- Aforar a 1000 ml
- Ajustar pH final a 8.2-8.3 (con Ac. acetico glacial o EDTA)

8.2. Apéndice II: Fórmula utilizada de N_e

Ecuación despejada del tamaño efectivo poblacional.

$$N_e = \frac{\theta}{2 * u}$$

Para una tasa mutacional del 10-8

$$N_e = \frac{0.00075}{2 * 10^{-8}}$$

$$N_e \approx 37.500$$

Para una tasa mutacional del 10-9

$$N_e = \frac{0.00075}{2 * 10^{-9}}$$

$$N_e \approx 375.000$$

8.3. Apéndice III: Descripción del modelo en Beast

BEAST estima la probabilidad de la genealogía (g) dados los diferentes parámetros de tamaño efectivo poblacional en el tiempo (Θ) y los tamaños de grupos (A). La distribución posterior para los cuatro clusters se obtuvo a partir de 100'000.000 de cadenas Markov Monte Carlo, esta probabilidad se refiere a la probabilidad de Θ , A , g y demás parámetros de sustitución (Ω) dada la tasa de mutación. De esta forma cada poza génica tiene una genealogía y unos parámetros demográficos asociados.

8.4. Apéndice IV: Descripción del modelo en Maxent

Para la realización del modelo potencial de distribución, se realizó una limpieza de las bases de datos para eliminar los registros doblemente reportados y las presencias mal reportadas. Y con todos estos pixeles se calcula el píxel promedio con sus valores ajustados a todas las variables a partir de una nube de puntos. El software caracteriza la entropía de Shannon de los pixeles de las posibles presencias, para elegir la distribución de probabilidades en los pixeles que aumente la entropía. Al igual genera un modelo de probabilidad de pertenencia de un conjunto de datos a otro bajo el criterio de entropía. La validación del modelo se evalúa utilizando las pruebas curvas de omisión y las curvas de *Receiver Operating Characteristic* (ROC) estimada por el programa. De esta manera se corrieron los modelos para sugerir un posible modelo de expansión o contracción demográfica y extrapolarlo con propósitos de conservación. Las capas fueron recortadas para abarcar una parte del noroeste de México.

Los modelos de distribución potencial producto de MaxEnt se corrieron con 500 iteraciones con un margen de convergencia de 0.00001. Se corrieron treinta réplicas de los modelos para cada especie en los espacios temporales. Por otro lado, la importancia de las variables ambientales se validó realizando 30 réplicas del análisis por medio de un *bootstrap*. Los modelos generados fueron visualizados mediante el software R 2.0.8 (Venables y Smith 2008), donde se eliminaron todas las regiones que estuvieran debajo del 10 percentil de probabilidad de presencia para delimitar el área de mayor probabilidad de presencia de la especie.

8.5. Apéndice V: Frecuencia de los haplotipos

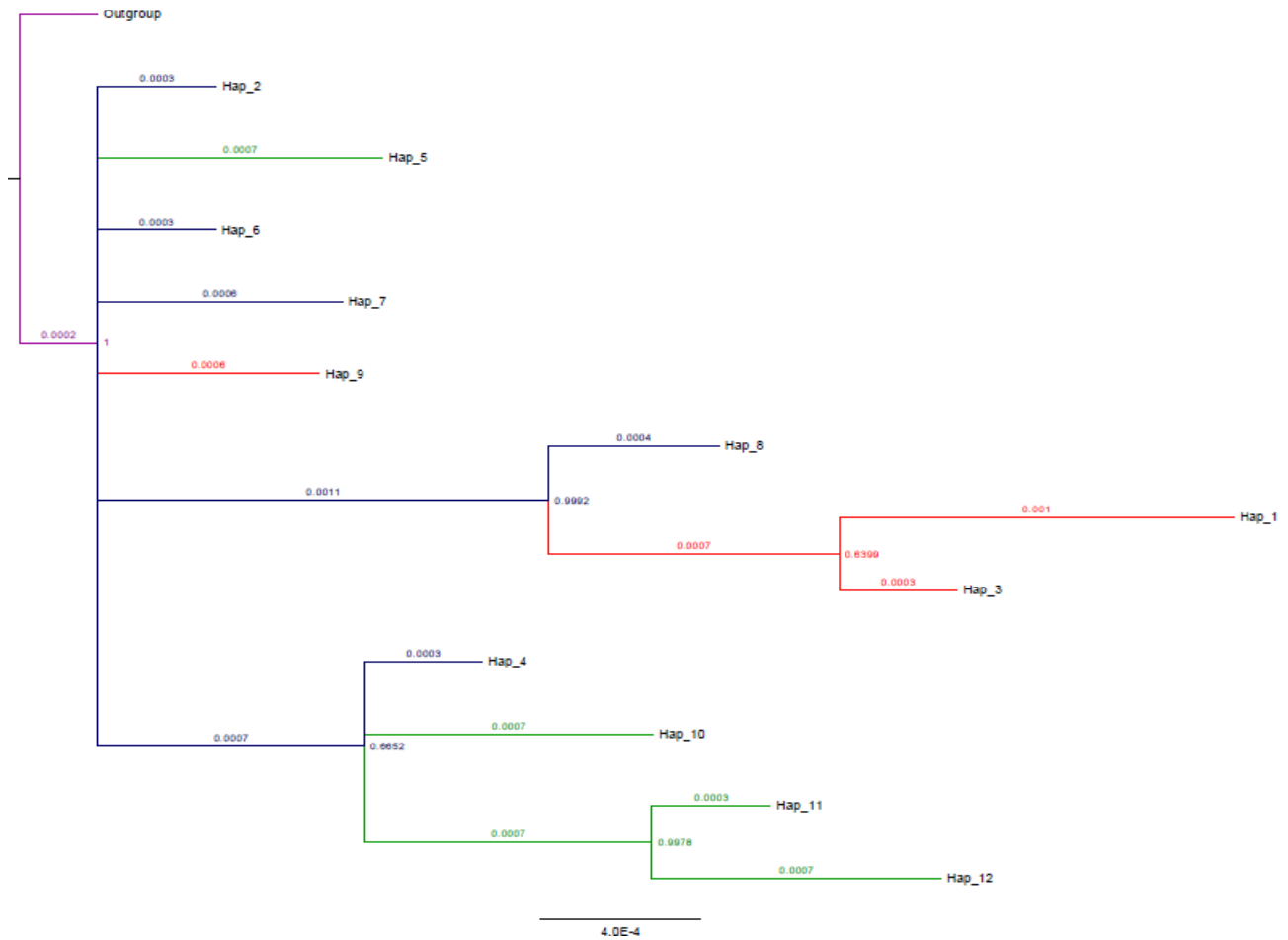
Tabla de distribución de las frecuencias de cada una de las poblaciones en los haplotipos.

Poblaciones	n	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12
<i>Continetales</i>													
Carbó	11	-	27.3	-	18.2	36.4	18.2	-	-	-	-	-	-
Guásimas	14	-	42.9	-	42.9	-	-	14.3	-	-	-	-	-
Kino	12	-	41.7	-	33.3	-	-	-	25.0	-	-	-	-
Magdalena	15	-	13.3	-	20	33.3	33.3	-	-	-	-	-	-
Sonoyta	16	-	-	-	43.8	-	-	-	-	-	56.3	-	-
Tecoripa	14	-	21.4	-	35.7	-	-	-	-	-	-	42.9	-
Zacate	15	-	33.3	-	26.7	-	-	-	-	-	-	6.7	33.3
<i>Peninsulares</i>													
Balandra	14	50	14.3	35.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nopolo	12	-	-	-	-	-	14.3	50	35.7	-	-	-	-
El Palmar	13	53.8	-	-	-	-	-	-	15.4	30.8	-	-	-
Santa Rosalía	15	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-
San Francisco	14	-	-	7.1	14.3	-	-	-	78.6	-	-	-	-

8.6. Apéndice VI: Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con tres niveles jerárquicos para el conjunto de poblaciones de *S. thurberi* en la parte superior están los valores para el grupo continental y en la parte inferior el grupo de las peninsulares.

Variación	d.f.	Suma de Cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	6	22.321	0.2311 Va	30.6
Dentro de las poblaciones	90	89.219	0.5242 Vb	69.4
Total	96	69.505	0.75544 Vc	
Entre poblaciones	4	30.083	0.5046 Va	43.06
Dentro de las poblaciones	63	42.035	0.6672 Vb	56.94
Total	67	72.118	1.1718 Vc	

8.7. Apéndice VII. Topología resultado del análisis bayesiano realizado con solo los haplotipos.



8.8. Apéndice VIII: Matriz de aislamiento por distancia (IBD)

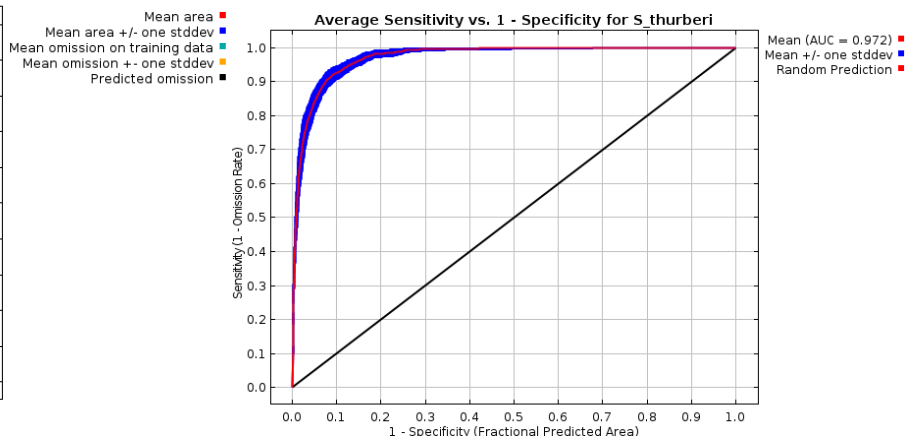
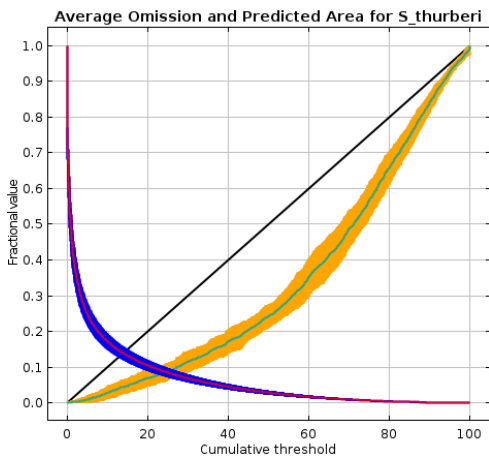
Distancia genética de F_{st} (diagonal superior) y geográficas en km (diagonal inferior) entre las doce poblaciones estudiadas de *Stenocereus thurberi*. S = Sonora, BC = Baja California.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 Balandra (BC)	-	0.624	0.679	0.549	0.616	0.414	0.016	0.574	0.425	0.774	0.712	0.666
2 Carbó (S)	602.502	-	0.179	0.143	-0.063	0.249	0.598	0.817	0.601	0.583	0.385	0.297
3 Guásimas (S)	406.067	227	-	0.107	0.168	0.246	0.660	0.859	0.652	0.424	0.184	0.163
4 Kino (S)	543.219	119	288	-	0.171	0.132	0.554	0.675	0.386	0.491	0.285	0.224
5 Magdalena (S)	709.779	299,4	227	217	-	0.211	0.581	0.774	0.591	0.555	0.380	0.310
6 Nopolo (BC)	202.32	401.874	230.01	328.31	523.83	-	0.373	0.546	0.320	0.511	0.381	0.336
7 Palmar (S)	117.547	705.722	510.44	651.45	829.23	323.45	-	0.664	0.519	0.767	0.702	0.655

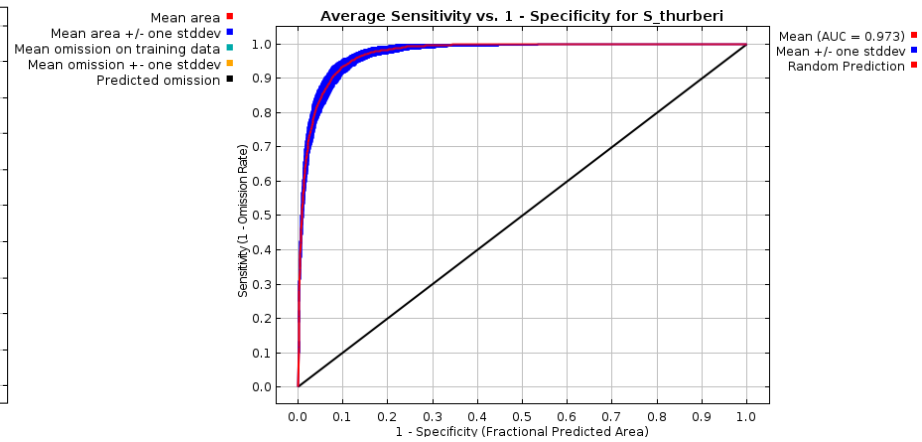
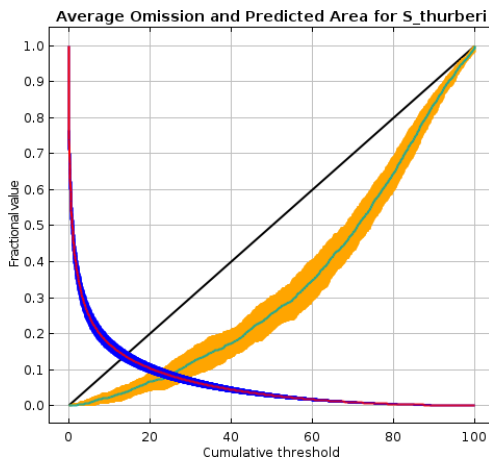
8 San Francisco (BC)	457.877	316.187	274.47	199.02	423.25	251.53	561.507	-	0.073	0.924	0.866	0.784
9 Santa Rosalía (BC)	402.427	277.183	196.41	174.79	394.23	191.26	509.381	84.326	-	0.776	0.687	0.615
10 Sonoyta (S)	873.443	299.4	493	333.29	222.06	662.95	981.609	486.991	494.534	-	0.418	0.393
11 Tecoripa (S)	492.617	240	99	203	240	327.89	593.381	346.985	278.972	448	-	0.036
12 Zacate Blanco (S)	285.427	368	178	364	470	226.8	379.878	401.908	314.574	668	230	-

8.9. Apéndice IX: Curvas de validación del modelo de nicho

LGM



LIG

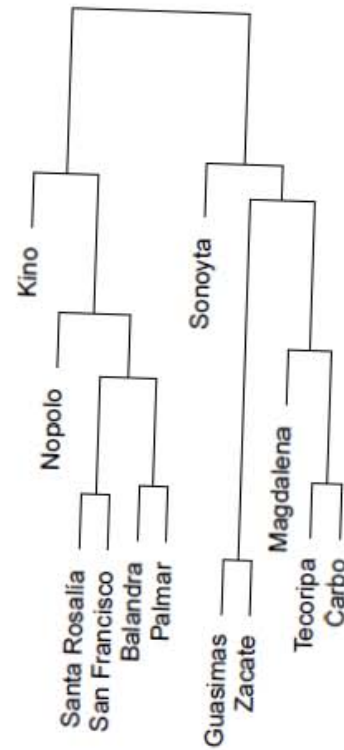


8.10. Apéndice X: Matriz de aislamiento por resistencia (IBR)

Distancia genética de F_{st} (diagonal superior) y Least cost path distance (diagonal inferior) entre las doce poblaciones estudiadas de *Stenocereus thurberi*. S = Sonora, BC = Baja California.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 Balandra (BC)	-	0.624	0.679	0.549	0.616	0.414	0.016	0.574	0.425	0.774	0.712	0.666
2 Carbó (S)	588.666	-	0.179	0.143	-0.063	0.249	0.598	0.817	0.601	0.583	0.385	0.297
3 Guásimas (S)	395.084	197.901	-	0.107	0.168	0.246	0.660	0.859	0.652	0.424	0.184	0.163
4 Kino (S)	535.378	118.547	188.407	-	0.171	0.132	0.554	0.675	0.386	0.491	0.285	0.224
5 Magdalena (S)	710.402	124.273	316.283	224.129	-	0.211	0.581	0.774	0.591	0.555	0.380	0.310
6 Nopolo (BC)	209.102	404.799	232.305	334.060	529.056	-	0.373	0.546	0.320	0.511	0.381	0.336
7 Palmar (S)	117.909	706.563	512.526	651.843	828.159	321.364	-	0.664	0.519	0.767	0.702	0.655
8 San Francisco (BC)	454.354	311.326	271.297	194.762	417.334	249.371	559.053	-	0.073	0.924	0.866	0.784
9 Santa Rosalía (BC)	397.898	275.103	195.411	171.753	392.683	188.813	508.692	81.269	-	0.776	0.687	0.615
10 Sonoyta (S)	869.011	300.818	493.929	334.541	218.303	668.467	985.949	483.057	495.082	-	0.418	0.393
11 Tecoripa (S)	480.446	151.294	98.724	203.176	248.287	330.259	596.159	342.954	275.969	449.567	-	0.036
12 Zacate Blanco (S)	276.207	369.556	179.298	365.519	478.086	219.257	383.417	395.879	315.006	669.678	230.637	-

8.11. Apéndice XI. Análisis de clústers para las 19 variables bioclimáticas extraídas en el modelo. En el mapa los puntos morados son las poblaciones de Sonora y los puntos azules son las poblaciones de Baja California



hclust (*. "average")

9. LITERATURA CITADA

- Aguirre, L. J. A. 2012. Genética de poblaciones y filogeografía de *Fouquieria shrevei* (Familia Fouquieriaceae), especie gipsófila endémica de Couhuila. Tesis para obtener el título de Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. México D.F.
- Aoki, K., T. Matsumura, T. Hattori, y N. Murakami. 2006. Chloroplast DNA phylogeography of *Photinia glabra* (Rosaceae) in Japan. *American Journal of Botany*, 93(12): 1852–1858.
- Akaike, H. 1973. Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. Pages 267–281 in Second International Symposium on Information Theory (B. N. Petrov and E. Csaki, eds.). Akademiai Kiado, Budapest.
- Arakaki M., P. A. Christin, R. Nyffeler, A. Lendel, U. Egglic, R. M. Ogburn, E. Spriggs, M. J. Moored y E. J. Edwards. 2011. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:8379–8384.
- Arias, S., T. Terrazas, H. J. Arreola-Nava, M. Vázquez-Sánchez y K. M. Cameron. 2005. Phylogenetic relationships in *Peniocereus* (Cactaceae) inferred from plastid DNA sequence data. *Journal of Plant Research*, 118: 317–328.
- Arias, S., T. Terrazas, y K. Cameron. 2003. Phylogenetic Analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on Chloroplast and Nuclear DNA Sequences. *Systematic Botany*, 28(3): 547–557.
- Arreola-Nava H. J. y T. Terrazas 2003. Especies de *Stenocereus* con aréola morenas clave y descripciones. *Acta botánica Mexicana*. 64: 1–18.
- Arteaga M.C. 2011. Filogeografía del armadillo de nueve bandas (*Dasyus novemcinctus*) en México. Tesis para obtener el título de doctora en ciencias. Instituto de Ecología, UNAM. México D. F.
- Avise, J. 2000. Phylogeography, the history and formation of species. Harvard University Press. Londres, Inglaterra Pp. 37–90, 262–272, 327–340.
- Avise j. C. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36:3–15.
- Beaumont, M., Zhang, W. y Balding, D. J. 2002. Approximate Bayesian computation in population genetics. *Genetics*, 162: 2025–2035.
- Beaumont, M. 2010. Approximate Bayesian computation in evolution and ecology. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 41, 397–406.
- Bernardi, G., L. Findley, y A Rocha-Olivares. 2003. Vicariance and dispersal across Baja California in disjunct marine fish populations. *Evolution*, 57(7): 1599–1609.
- Boubou, A., Migeon A., G. K. Roderick, P. Auger., J. M. Cornuet, S. Magalhaes y M Navajas. 2012. Test of Colonisation scenarios reveals complex invasion history of the Red Tomato Spider Mite *Tetranychus evansi*. *PLoS One*. Vol 7. 4, 1–11.
- Brassel, K. E. y D. Reif. 1979. A procedure to generate Thiessen polygons. *Geography Analysis*. 32:31–36.
- Bullock, S. H., E. Nora., R. Martijena, R. H. Webb y R. M. Turner. 2005. Twentieth century demographic changes in cirio and cardón in Baja California, Mexico. *Journal of Biogeography*, 32: 127–143.
- Búrquez J. A. y Martínez-Yrizar A. 2006 Conservation and Landscape Transformation in Northwestern Mexico. In *Dry borders : great natural areas of the Gran Desierto and upper Gulf of California* / Richard Stephen Felger and Bill Broyles, editors

- Bustamante, E. y A. Búrquez. 2008. Effects of Plant Size and Weather on the Flowering Phenology of the Organ Pipe Cactus (*Stenocereus thurberi*). *Annals of Botany*, 102: 1019-1030.
- Bustamante, E., A. Casas y A. Búrquez. 2010. Geographic variation in reproductive success of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae): effects of pollination timing and pollinator guild. *American Journal of Botany*, 97(12): 2020-2030.
- Bustamante, E. 2012. Efectos de escala en la biología reproductiva, dinámica poblacional y estructura genética de *Stenocereus thurberi* (Engelm. Buxb. (Cactaceae)). Tesis de doctorado. Instituto de Ecología UNAM. Dirigido por Dr. Alberto Búrquez Montijo.
- Butterworth, C. A., J. H. Cota-Sanchez, y R. S. Wallace. 2002. Molecular Systematics of Tribe Cactae (Cactaceae: Cactoideae): A phylogeny based on *rpL16* intron sequence variation. *Systematic Botany*, 27(2): 257-270.
- Calmus, T., C. Pallares, H. Bellon, M. Benoit, R. Maury, A. Aguillón-Robles, y J. Cotten. 2008. Temporal geochemical evolution of Neogene volcanism in northern Baja California (27°-30°N): insights on the origin of post-subduction magnesian andesites. *Lithos*, 105: 162-180.
- Campo A. J. 2013. Conocer nuestro invernadero natural. Instituto de Ecología, UNAM Oikos, No 7
- Casas, A., J. Caballero y A. Valiente-Banuet. 1999. Use, management and domestication of columnar cacti south-central Mexico: a Historical perspective. *Journal of Ethnobiology*, 19(1): 71-95.
- Casas, A. 2002. Uso y manejo de cactáceas columnares mesoamericanas. CONABIO. *Biodiversitas*, 40:18-23.
- Cassens, I., K. V. Waerebeek, P. B. Best, A. Tzika, A. L. Van Helden, E. A. Crepos y M. C. Milinkovitch. 2005. Evidence for male dispersal along the coasts but no migration in pelagic waters in dusky dolphins (*Lagenorhynchus obscurus*). *Molecular Ecology*, 14: 107-121.
- Cheverud JM (1989) A comparative analysis of morphological variation patterns in the Papionins. *Evolution*, 43, 1737-1747.
- Chen, D., X. Zhang, H. Kang, X. Sun, S. Yin, H. Du, N. Yamanaka, W. Gapare, H. X. Wu, C. Liu. 2012. Phylogeography of *Quercus variabilis* Based on Chloroplast DNA Sequence in East Asia: Multiple Glacial Refugia and Mainland-Migrated Island Populations. *Plosone*, (7): 10.
- 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.
- Clark-Tapia R, C. Alfonso-Corrado, L. E. Eguiarte y F Molina-Freaner. 2005. Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca* (Cactaceae), a narrow endemic cactus of the Sonoran desert. *American Journal of Botany* 92(2): 272-278
- Corander, J., P. Waldmann y M.J. Sillanpää. 2003. Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics*, 163: 367-374.
- Cota-Sánchez, J. H., 2008. Evolución de cactáceas en la región del Golfo de California. pp 67-79. *En: Estudios de las Islas del Golfo de California*. Flores-Campaña, L.M. (ed). Universidad Autónoma de Sinaloa-Gobierno del Estado de Sinaloa-Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México. 221 p.
- Cockrum, E. L. 1991. Seasonal distribution of northwestern populations of the long-nosed bats, *Leptonycteris sanborni* family Phyllostomidae. *Anales del Instituto de Biología, UNAM. Serie Zoología*, 62: 181-202.
- Cornejo-Romero A. 2004. Diversidad genética y estructura clonal de *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) en una cronosecuencia edáfica del Valle de Tehuacán. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, UNAM. México, D.F.
- Croizat, L., G. Nelson y D. Rosen. 1974. Centers of origin and related concepts. *Systematic Zoology*, 23: 265-287.

- Dávila, P., M. C. Arizmendi, A. Valiente-Banuet, A. J. Villaseñor, A. Casas. Y R. Lira. 2002. Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 11: 421–442.
- Diniz-Filho J.A. F., M. P. C. Telle, S. Bonatto, E. Eizirik, T. R. O. Freitas, P. de Marco, F. R. Santos, T. N. Solé-Cava. 2008. Mapping the evolutionary twilight zone: molecular marker, populations and geography. *Journal of Biogeography*, 35: 1-11.
- Doyle, J., L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19: 11-15.
- Drummond, A. y A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC. Evolutionary Biology*, 7: 222-241.
- Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput, *Nucleic Acids Research*, 32(5): 1792-1797.
- Esquivel P. 2004. Los frutos de las cactáceas y su potencial como materia prima. *Agronomía mesoamericana*, 15(2): 215-219.
- Escudero, A., R. Somolinos, J. M. Olano y A. Rubio. 1999. Factors controlling the establishment of *Helianthemum squamatum*, an endemic gypsophile of semi-arid Spain. *Journal of Ecology*, 87: 290-302.
- ESRI. 2014. “Distance Analysis Using ArcGIS.” *ESRI Virtual Campus*. Personal Notes.
- Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider. 2007. Arlequin ver. 3.11: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*. 1: 47-50.
- Excoffier, L. y H. E. L. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.
- Ezcurra, E., E. Peters, A. Búrquez y E. Mellink. 2002. The Sonoran and Baja Californian Deserts, 315–333.
- Fehlberg, A. y T. A. Ranker. 2009. Evolutionary history and phylogeography of *Encelia farinosa* (Asteraceae) from the Sonoran, Mojave, and Peninsular Deserts a Desert Botanical Garden, 1201 N. Galvin Pkwy., Phoenix, AZ 85008-3437, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50: 326–335.
- Figueredo, C. J., J. M. Nassar, A. E. García-Rivas y J. A. González-Carcacia. 2010. Population genetic diversity and structure of *Pilosocereus tillianus* (Cactaceae, Cereae), a columnar cactus endemic to the Venezuelan Andes. *Journal of Arid Environments*, 74: 1392-1398.
- Fleming, T. H. 1982. Foraging strategies of plant-visiting bats. *Ecology of bats*. Pp. 287-325.
- Fleming, T., M. Tuttle y M. Horner. 1996. Pollination biology and the relative importance of nocturnal and diurnal pollinators in three species of Sonoran Desert columnar cacti. *Southwestern Naturalist*, 41(3): 257 – 269.
- Fleming, T. H., S. Maurice, J.L. Hamrick. 1998. Geographic variation in the breeding system and the evolutionary stability of trioecy in *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Evolutionary Ecology*, 12(3): 279-289.
- Fleming, T. H., C. T. Sahley, J. N. Holland, J. D. Nason y J. L. Hamrick. 2001. Sonoran desert columnar cacti and the evolution of generalized pollination systems. *Ecological Monographs*, 71: 511-530.
- Freeland, Jr. 2005. *Molecular ecology*. John Wiley & Sons, Ltd., London, United Kingdom. 388 Pp. Publishing
- Garrick, R. C., J. D. Nason, C. A. Meadows y R. J. Dyer. 2009. Not just vicariance: phylogeography of a Sonoran Desert euphorb indicates a major role of range expansion along the Baja peninsula. *Molecular Ecology*. 18: 1916–1931.

- Gibson, A. C. y P. S. Nobel. 1986. The Cactus Primer. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. Noncoding versus *rbcL* Sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 11(5):769-777.
- Gielly L., P. Taberlet. 1994. The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: noncoding versus *rbcL* sequences. *Molecular Biology and Evolution*.;11(5):769-77.
- Godínez-Alvarez, H. y Valiente-Banuet, A. 2000. Fruit-Feeding behavior of the bats *Leptonycteris curasoae* and *Choeronycteris mexicana* in flight cage experiments: consequences for dispersal of columnar cactus seeds. *Biotropica*, 32(3):552-556.
- Godínez-Álvarez, H., T. Valverde y P. Ortega-Baes. 2003. Demographic Trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*, 69(2): 173–203.
- Gorelick R. 2009. Evolution of cacti is largely driven by genetic drift, not selection. *Bradleya*, 27: 37-48.
- Gordon, D., C. Abajan y P. Green. 1998. Consed: a graphical tool for sequence finishing. *Genome Research*, 8: 195-202.
- Gouy, M., Guindon S. y Gascuel O. 2010. SeaView versión 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution*, 27: 221-224.
- Grismer, L. 2000. Evolutionary biogeography on Mexico's Baja California peninsula: A synthesis of molecules and historical geology. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 97(16): 14017–14018.
- Grismer, L. 1994. The origin and evolution of the peninsular herpetofauna of Baja California, Mexico. *Herpetology Natural History*, 2: 51–106.
- Grivet, D, y R. J. Petit. 2003. Chloroplast DNA phylogeography Of the Hornbeam in Europe: Evidence for A bottleneck at the outset of postglacial colonization. *Conservation Genetics*, 4: 47-56.
- Guerard, E. y F. Manni. 2002. Barrier versión 2.2. MNHN.
- Guerrero, R. F., F. Rousset, M. Kirkpatrick. 2012. Coalescent patterns for chromosomal inversions in divergent populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1587): 430-438.
- Gunell, G. F., y Simmons B. N. 2005. Fossil Evidence and the Origin of Bats. *Journal of Mammalian Evolution*, 12 (1/2):209-246.
- Guzmán, U., S. Arias y P. Dávila. 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México–Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 315 Pp.
- Hamilton, M. 2009. Population genetics. Wiley-Blackwell. Malasia. Pp 68-73, 105-149 y 235-281.
- Hamrick, J. L. y J. Golt. 1996. Effect of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Biological Sciences*, 351:1291-1298.
- Hamrick, J. L., J. D. Nason, T. H Fleming y J. F. Nassar. 2002. Genetic diversity in columnar cacti. En T. Fleming y A. Valiente (eds.), *Columnar cacti and their mutualist: evolution, ecology, and conservation*, Pp. 122-133. University of Arizona Press, Tucson, Arizona, USA.
- Hartmann, S., J. D. Nason y D. Bhattacharya. 2002. Phylogenetic origins of *Lophocereus* (Cactaceae) and the senita cactus-senita moth pollination mutualist. *American Journal of Botany*, 89(7): 1085-1092.
- Hedrick P.W. 2005. Genetics of Population. Third Edition. Massachusetts: Jones and Barlett Publishers. 737 p.
- Hedrick, P. W. 2005. Conservation genetics: where are we now?. *Trends in Ecology and Evolution*,

16: 629-636.

- Hedrick, P. W. 2011. *Genetics Of populations*. 4a ed. Jones And Bartlett Publishers. Sudbury MA, USA.
- Hernández-Hernández T. 2010. Radiaciones evolutivas de linajes de plantas suculentas en el orden Caryophyllales con énfasis en la Familia Cactaceae. Tesis doctoral, UNAM. México, D.F.
- Hernández-Hernández, T., H. M. Hernández , J. A. De-Nova , R. Puente, L. E. Eguiarte y S. Magallón. 2011. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany*, 98(1): 44–61.
- Hernández-Hernández, T., Brown, J. W., Schlumpberger, B. O., Eguiarte, L. E., & Magallón, S. 2014. Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New Phytologist*, 202(4), 1382-1397.
- Hewitt G. 2000. The genetic Legacy of the Quaternary Ice ages. *Nature*, 405: 907-913.
- Hey, J. y C. C. Machado. 2003. The study of structured populations – New hope for a difficult and divided science. *Nature Reviews Genetics*, 4(7): 535-543.
- Hickerson M. J., Carstens B. C., Cavender-Bares J., Crandall K. A., Graham C. H., Johnson J. B., Rissler L., Victoriano R. F. Yoder A. D. 2010. Phylogeography's past present and future: Ten years after Avise, 2000. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54:291-301.
- Holland, J. N., y T. H. Fleming. 1998. The evolution of obligate pollination mutualisms: Senita cactus and senita moth. *Oecologia*, 114(3): 368-375.
- Holland, J. N. y T. H. Fleming. 1999. Geographic and population variation in pollinating seed-consuming interactions between senita cacti (*Lophocereus schottii*) and senita moths (*Upiga virescens*). *Oecologia*, 121: 405-410.
- Horner, M., T. Fleming y C. Sahley. 1998. Foraging behaviour and energetics of a nectarfeeding bat, *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Zoology*, 244: 575-586.
- Hudson, R. R. 1983. Testing the constant-rate neutral allele model with protein sequence data. *Evolution*, 37: 203–207.
- Huelsenbeck, J. P y Ronquist, F. 2001. MrBayes v3.1.2: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17, 754-755.
- Hijmans, R.J., S.E. Cameron, J.L. Parra, P.G. Jones and A. Jarvis, 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965-1978.
- Hutto, R. L, J. R. McAuliffe y L. Hogan. 1986. Distributional associates of the saguaro (*Carnegiea gigantea*). *The Southwestern Naturalist*, 31(4): 469-476.
- Hutchinson G. G. 1957. Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology.*, 22: 4015-4026.
- Karrig, R. y W. Jensky. 1972. The proto gulf of California. *Earth Planet Sc. Letters*, 17: 169-174.
- Kingman, J. F. C. 1982. The coalescent. *Stochastic Processes and Their Applications*, 13: 235–248
- Kimura, M. 1983. *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Knowles, L. L., Maddison W. P. 2002. Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*, 11: 2623-2635.
- Kropf M., H. Comes y J. Kadereit. 2006. Long-distance dispersal vs. vicariance: The origin and genetic diversity of alpine plants in the Spanish Sierra Nevada. *The new phytologist*, 172: 169–184.
- Jong M. A.,N. Wahlberg, M. van Ejik, P. M Brakefield y B. J. Zwann. 2011. Mitochondrial DNA Signature for Range-Wide Populations of *Bicyclus anynana* Suggests a Rapid Expansion from Recent Refugia. *PLoSone*, Vol 6: 1-5.

- Legendre P. y M.-J. Fortin. 2010. Comparison of the Mantel test and alternative approaches for detecting complex multivariate relationships in the spatial analysis of genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 10, 831–844
- Librado, P. y J. Rozas. 2009. *DnaSP v5*: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451-1452.
- Liu, Y., S. Yang, P. Ji y L. Gao. 2012. Phylogeography of *Camellia taliensis* (Theaceae) inferred from chloroplast and nuclear DNA: insights into evolutionary history and conservation. *BMC Evolutionary Biology*, 12:92.
- López-Sesé, A.I., J. E. Staub, y M. L. Gomez-Guillamon, 2003. “Genetic analysis of Spanish melon (*Cucumis melo* L.) germplasm using a standardized molecular-marker array and geographically diverse reference accessions,” *Theoretical and Applied Genetics*, 108(1): 41–52.
- Maddison, W. P. y D. R. Maddison. 2008. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.5 <http://mesquiteproject.org>.
- Manni, F., E. Gerard y E. Heyer. 2004. Geographic Patterns of (Genetic, Morphologic, Linguistic) Variation: How Barriers Can Be Detected by Using Monmonier’s Algorithm. *Human Biology*, 76(2): 173–190.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27(2): 209–220.
- Martínez, A. N. E. 2013. Genética de poblaciones de *Agave stricta* Salm-Dyck, especie endémica al Valle de Tehuacán-Cuicatlan, México. Tesis para obtener el título de Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. México D.F.
- Martínez-Meyer, E., A. T. Peterson, y W. W. Hargrove. 2004. Ecological niches as stable distributional constraints on mammal species, with implications for Pleistocene extinctions and climate change projections for biodiversity. *Global Ecology and Biogeography*, 13, 305–314.
- McCarthy, A. 1996. ChromasLite
- Metcalfe, S. E., A. Say, S. Black, R. McCulloch, S. S. O’Hara. 2002. Wet conditions during the last glaciation in the Chihuahuan desert, Alta Baticora basin, Mexico. *Quaternary Research*, 57: 91-101.
- Meyer, S. E. 1986. The ecology of gypsophile endemic in the Eastern Mojave Desert. *Ecology*, 67: 1303-1313.
- Midway, S. R. y A. M. Hodge. 2012. Carlquist revisited: history, success, and applicability of a natural history model. *Biology and Philosophy*, 27 (4):497-520.
- Monmonier, M. 1973. Maximum-difference barriers: An alternative numerical regionalization method. *Geography Anaisys*, 3: 245–261.
- Moore, M. J., Jansen R. K. 2007. Origins And biogeography Of gypsophily In the Chihuahuan Desert plant Group *Tiquilla* subg. *Eddyia* (Boraginaceae). *Systematic Botany*, 32: 392---414.
- Mulcahy, D. y R. Macey. 2009. Vicariance and dispersal form a ring distribution in nightshakes around the Gulf of California. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53(2): 537-546.
- Murphy, R. 1983. Paleobiogeography and genetic differentiation of the Baja California herpetofauna. Occasional Papers of the California Academy of Sciences, 137: 1-48.
- Nason, J. D., J. L. Hamrick y T. H. Fleming. 2002. Historical vicariance and postglacial colonization effects on the evolution of genetic structure in *Lophocereus*, a Sonoran Desert columnar cactus. *Evolution*, 56:2214-2226.
- Nassar, J. M., J. L. Hamrick y T. H. Fleming. 2003. Population genetic estructura de Venezuelan chiropterophilus columnar cacti (Cactaceae). *American Journal of Botany*, 90: 1628-1637.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *The American naturalist*, Vol 106, no 949.

- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, USA.
- Neuweiler, G. 2000. *The Biology of Bats*. Oxford University Press. New York. 310 pp.
- Newton, A. C., T. R. Allnut, A. J. Gillies, A. J. Lowe, R.A. Ennos. 1999. Molecular phylogeography, Intraspecific variation and The conservation of tree species. *Trends in Ecology And Evolution*, 14: 140-145.
- Nielsen, R. y M. A. Beaumont. 2009. Invited Review: Statical inferences in phylogeography. *Molecular Ecology*, 18: 1034-1047.
- 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(2): 312–326.
- Nylander, J.A.A., F. Ronquist, J. P. Huelsenbeck, J.L. Nieves-Aldrey. 2004. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. *Systematic Biology*, 53: 47-67.
- Ornelas, J., E. Ruiz, V. Sosa. 2010. Phylogeography Of *Podocarpus Matudae* (Podocarpaceae): pre-Quaternary relicts in northern Mesoamerican Cloud forests. *Journal Of Biogeography*, 37: 2384-2396.
- Parsons, P. F. 1976. Gypsophily In plants: A review. *American Midland Naturalist*, 96: 1- 20.
- Petit, R. J., S. Brewer, S. Bordacs, K. Burg, R. Cheddadi, E. Coart, J. Cottrell, U. M. Csaiki, B. van Dam, J. D. Deans, S. Espimel, S. Fineschi, R. Finkeldey, I. Glaz, P. G. Golcoeshea, J. S. Jensen, A. O. Konlg, A. J. Lowe, S. F. Madsen, G. Matyas, R. C. Munro, F. Popescu, D. Slade, H. Tabbener, S. G. M. de Vries, B. Zlegenhaben, J. L. Beaulieu y A. Kremer A. 2002. Identification of refugia and post-glacial colonization routes of European White oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology And Management*, **156**: 49-74.
- Petit, R, I. Aguinagalde, J. L. Beaulieu, C. Bittkau, S. Brewer, R. Cheddadi, R. Ennos, S. Fineshi, D. Grivet, M. Lascoux, A. Mohanty , G. Starck, A. Palme, J. P. Martin, S. Rendell, G. G. Vendramin. 2003. Glacial refugia: hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science*, 300: 1563-1565.
- Philips, S., R. Anderson y R. schapire. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*. 190: 231-259.
- Pinkawa, D. J. y B. D. Parfitt. 1982. Chromosome number in some cacti of western North America. IV. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 109(2): 121-128.
- Ortega-Baes, P. y H. Godínez-Alvarez. 2006. Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity and Conservation*, 15:817–827.
- Otero-Arnaiz, A., A. Casas y J. Hamrick. 2005. Direct and indirect estimates of gene flow among wild and managed populations of *Polaskia chichipe*, an endemic columnar cactus in Central Mexico. *Molecular Ecology*, 14(14): 4313-4322.
- Otero-Arnaiz, A., A. Casas, J. Hamrick y J. Cruse- Sanders. 2005. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central Mexico. *Molecular Ecology*, 14(6): 1603–1611.
- Otero-Arnaiz, A., A. Casas, J. Hamrick y J. Cruse- Sanders J. 2004. Primer note: Isolation and characterization of microsatellites in the columnar cactus: *Polaskia chichipe* and cross-species amplification within the Tribe Pachycereae (Cactaceae). *Molecular Ecology Notes*, 4(2): 265–267.
- Orr, R. 1960. An analysis of the recent land mammals. *Systematic Zoology*, 9: 171–179.
- Pérez, M., M. Téó, D. Zappi, N. Taylor y E. Morales. 2011. Isolation, characterization, and cross-species amplification of polymorphic microsatellite markers for *Pilosocereus machrisii* (Cactaceae). *American Journal of Botany*, 98(8): 204–206.
- Polzin, J. K. y Vahdati A. 2004. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37-48.

- Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25: 1253-1256.
- Posada, D. 1998. JMODELTEST: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14: 817-818
- Prado, A., A. Julie, C. Yesson, R. T. Bárcenas. 2010. Multiple diversity measures to identify complementary conservation areas for the Baja California peninsular cacti. *Biological Conservation* 143: 1510–1520
- Ramírez-Acosta, J., A. Castellanos, G. Arnaud, A. Breceda, O. Rojas-Soto. 2012. Conservation of Endemic Terrestrial Vertebrates in the Protected Areas of the Baja California Peninsula. *Natural Areas Journal*. Volume, 32 (1).
- Ramírez-Barahona S. y L. Eguiarte 2014. Changes in the distribution of cloud forest during the last glacial predict the patterns of genetic diversity and demographic history of the tree fern *Alsophila firma* (Cyatheaceae). *Journal of Biogeography*, 1-12.
- Riddle, B. R., D. J. Hafner, L. F. Alexander y J. R. Jaeger. 2000. Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California peninsular desert biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(26): 14438-14443.
- Richards, C. L., Carstens B. C., y Knowles L.L. 2007. Distribution modeling and statistical phylogeography: an integrative framework for generating and testing alternative biogeographical hypothesis. *Journal of Biogeography*. 34, 1833-1845.
- Riemann, H. y E. Ezcurra. 2007. Endemic regions of the vascular flora of the peninsula of Baja California, Mexico. *Journal of Vegetation Science*, 18: 327-336.
- Robert, C.P., J. M. Cornuet, J. M. Marin y N. S. Pillai. 2011. Lack of confidence in approximate Bayesian computation model choice. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 108, 15112–15117.
- Rogers, R. 1995. Genetic evidence for a pleistocene population explosion. *Evolution* 49: 608-615.
- Rosenberg N. A., Nordborg M. 2002. Genealogical trees, Coalescent theory and the analysis of genetic polymorphisms. *Nature Reviews Genetics*, 3:380-390.
- Rogers, A. R, A. E. Fraley, M. J. Bamshad, S. T. Watkins y B. J. Lynn. 1996. Mitochondrial Mismatch Analysis is Insensitive to the Mutational Process, *Molecular Biology and Evolution*, 13(7): 895-902.
- Runemark A, B. Hansson, P. Pafilis, E. Valakos y E. I. Svensson. 2010. Island biology and morphological divergence of the Skyros wall lizard *Podarcis gaigeae*: a combined role for local selection and genetic drift on color morph frequency divergence?. *Evolutionary Biology*, 10: 269.
- Rzedowski, J. 1978. La vegetación de México. Limusa, México, D. F.
- Sanderson M. J., D. Copetti, A. Burquez, E. Bustamante, J. Charboneau, L. Eguiarte, S. Kumar, M. McMahon, K. Steele, R. Wing, T. J. Yang, D. Zwickl, y M. F. Wojciechowski. Exceptional Reduction of the plastid genome of saguaro cactus (*Carnegiea gigantea*, Cactaceae): Loss of the inverted repeat and the *Ndh* gene suite.
- Sandoval-Castillo J., E. A. Rocha-Olivares, C. Villavicencio-Garayzar E. Balart. 2004. Cryptic isolation of Gulf of California shovelnose guitarfish evidenced by mitochondrial DNA. *Marine Biology*, 145: 983–988.
- Savage, M. 1960. Evolution of a peninsular herpetofauna. Part of a symposium on the biogeography of Baja California and adjacent seas. *Systematic Zoology*. 9: 184–212.
- Shaw, J., B. L. Edgar, T. B. John, B. F., L. Wusheng, M. Jermey, C. S. Kunsiri., C. T. Winder, E. E. Schilling y R. Small. 2005. The tortoise and the hare ii: relative utility of 21 noncoding chloroplast dna sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany*. 92 (1): 142–

- Shreve, F. 1910. The rate of establishment of the giant cactus. *Plant World*, 13: 235-240.
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, 47: 264-279.
- Soltis, D. E., D. R. Morgan, A. Grable, P. S. Soltis y R. Kuzoff. 1993. Molecular systematics of Saxifragaceae sensu stricto. *American Journal of Botany*. 80: 1056- 108.
- Sosa, M., M. Muñoz y Y. Casart. 2005. Digestibilidad del polen de cactáceas columnares en los murciélagos glosófagos *Glossophaga longirostris* y *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Revista de Biología Tropical*, 53: 1-2.
- Stager, K. 1960. Baja California symposium: The composition and origin of the avifauna. *Systematic Zoology*, 9: 179–183.
- Steenberg, W. F. y C. H. Lowe 1969. Critical factors during the first years of life of the saguaro (*Carnegiea gigantea*) at Saguaro National Monument, Arizona. *Ecology*, 50: 825-834.
- Steenberg, W. F. y C. H. Lowe. 1976. Ecology of the saguaro. I The role of freezing weather in a warm-desert plant population. Symposium Series Number 1 Number 1, National Park Service, Washington, D. C., USA.
- Strimmer, K. y Pybus O. G. 2001. Exploring the demographic history of DNA sequences using the generalized skyline plot. *Molecular Biology and Evolution*, 18: 2298-2305.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou y J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17: 1105-1109.
- Tajima, F. 1989. Statistical Method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123: 585-595.
- Templeton, A. R. 2004. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular Ecology*, 13: 789-809.
- Tschapka, M. and Dressler, S. 2002. Chiropterophily: On bat-flowers and flower bats. Royal Botanic Gardens, Kew. 114- 123.
- Turner, R., Bowers J. y Burgess T. 1995. Sonoran Desert Plants: An ecological atlas. University of Arizona. Press. Tucson, Arizona. Estados Unidos.
- Turner, R. M., 1960, Evolution of the vegetation of the southwestern desert region. University of Arizona Arid Lands Colloquia for 1958-1959. Pp. 46-54.
- Turner, R. M. 1992. Long-term saguaro population studies at Saguaro National Monument. In: Stone, C.P., Bellantoni, E.S. (Eds.), Proceedings of the Symposium on Research in Saguaro National Monument. National Park Service, Tucson, Arizona. Pp. 3-11.
- Upton, D. E y R. W. Murphy. 1997. Phylogeny of the side-blotched lizards (Phrynosomatidae: Uta) based on mtDNA sequences: support for a midpeninsular seaway in Baja California. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 8 (1), 104-113.
- Valiente-Banuet, A., Arizmendi, M.C., Rojas-Martínez, A., and Domínguez-Canseco, L. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar-feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, 12:103-119.
- Valiente-Banuet, A, Casas A, Alcántara A, Dávila P, Flores-Hernández N, Arizmendi M. C., Ortega-Ramírez J y Soriano J. A. 2000. La vegetación del Valle de Tehuacan-Cuicatlan. Boletín de la Sociedad Botánica de México 67: 25–75.
- Valiente-Banuet, A., A. Rojas-Martínez, A. Casas, Ma. Del C. Arizmendi y P. Dávila. 1997. Pollination biology of two winter-blooming giant columnar cacti in the Tehuacán Valley, central Mexico. *Journal of Arid Environments*, 37: 331-341.
- Valiente- Banuet, A., O. Briones, A. Bolongaro-Crevenna, E. Ezcurra, y M. Rosas. 1991. Spatial relationships between cacti and nurse shrubs in a semi-arid environment in central Mexico.

- Journal of Vegetation Science*, 2: 15–20.
- Van Devender T. 2000. A natural history of the Sonoran Desert. Arizona-Sonora Desert Museum Tucson, Arizona
- Van Etten, J. 2014. gdistance: distances and routes on geographical grids. R package version 1.1-5. <http://CRAN.R-project.org/package=gdistance>.
- Venables, W. N., D. M. Smith. 2008. The R Development Core Team. A programming environment for data analysis and graphics.
- Vázquez-Domínguez, S. Castañeda-Rico, T Garrido-Garduño y T. A. Gutierrez-García. 2009. Avances metodológicos para el estudio conjunto de la información genética. Genealógica y geográfica en análisis evolutivos y de distribución. *Revista chilena de Historia Natural*, 82: 277-297.
- Vázquez-Sánchez, M., T. Terrazas, S. Arias y H. Ochoterena. 2013. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cactaeae (Cactaceae). *Systematics and Biodiversity*, 11(1): 103–116.
- Valera, A., y L. Falcón. 2007. Extracción de ácidos nucleicos. En L. E. Eguiarte, V. Souza y E. Aguirre (comps), *Ecología Molecular*, pp. 499-516. SEMARNAT-INE-UNAM-CONABIO.
- van Schaik CP, Ancrenaz M, Borgen G et al. (2003) Orangutan cultures and the evolution of material culture. *Science*, 299, 102–105.
- Wang, F., E. Xue-Jun, X. Gong y C. Hu, G. Hao. 2008. Strong Genetic Differentiation of *Primula sikkimensis* in the East Himalaya–Hengduan Mountains. *Biochemical Genetic*. 46 (1): 75–87.
- Wang, F., X. Gong, C. Ming y H. Gang. 2008. Phylogeography of an alpine species *Primula secundiflora* inferred from the chloroplast DNA sequence variation. *Journal of Systematics and Evolution*. 46 (1): 13–22.
- Weins, J.J., C.H. Graham, D. S. Moen, S. A. Smith y T. W. Reeder. 2006. Evolutionary and ecological causes of latitudinal diversity gradient in hylid frogs: treefrog trees unearth the roots of high tropical diversity. *The American Naturalist*, 168, 579–596.
- Wilson, A, Arcese P, Keller LF, Pruett CL, Winker K, Patten MA, Chan Y. 2009. The contribution Of island populations To in situ genetic conservation. *Conservation Genetics* 10: 419-430.
- Wood, D., Fisher R. y T Reeder. 2008. Novel patterns of historical isolation, dispersal, and secondary contact across Baja California in the Rosy Boa (*Lichanura trivirgata*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 46: 484–502.
- Wright S. (1951). The genetical structure of populations. *Annual Eugenetic*, 15:323-354.
- Wright TF, Wilkinson GS (2001) Population genetic structure and vocal dialects in an Amazon parrot. *Proceedings of the Royal Society of London, series B*, 268, 609–616.
- Zhang, Q., T. Y. Chiang, M. George, J. Q. Liu y R. J. Abott. 2005. Phylogeography of the Qinghay-Tibetan Plateau endemic *Juniperus przewalskii* (Cupressaceae) Inferred from chloroplast DNA Sequence variation. *Molecular Ecology*, 14: 3513-3524.