



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA  
CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Estructura genética y niveles de daño en poblaciones de  
*Stenocereus stellatus* (Pfeiffer) Riccobono, sujetas a  
diferentes formas de manejo

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A

Biól. VERONICA PATIÑO LOPEZ

Comité tutorial:

Directora:

Dra. Beatriz Rendón Aguilar.

Asesores:

Dr. Carlos Fabián Vargas Mendoza.

Dr. José Juan Blancas Vázquez.

Noviembre, 2019

La Maestría en Biología de la  
Universidad Autónoma Metropolitana  
pertenece al Padrón de  
Postgrados de Calidad del CONACyT.

El jurado designado por la  
**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**  
de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

**VERONICA PATIÑO LOPEZ**

El día 6 de noviembre de 2019

*Comité Tutoral y Jurado*

Directora: Dra. BEATRIZ RENDÓN AGUILAR

Asesor: Dr. CARLOS FABIÁN VARGAS MENDOZA

Asesor: Dr. JOSÉ JUAN BLANCAS VÁZQUEZ

Sinodal: Dr. DAVID BRAVO AVILEZ

Sinodal: Dr. JORDAN KYRIL GOLUBOV FIGUEROA



## **Comité tutorial**

### **Dra. Beatriz Rendón Aguilar**

División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa  
Av. San Rafael Atlixco 186, Colonia Vicentina, C.P. 09340, Iztapalapa, Ciudad de  
México.  
betyrendon@gmail.com

### **Dr. Carlos Fabián Vargas Mendoza**

Departamento de Zoología  
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN  
Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Casco de Santo Tomas, C.P.  
11340, Delegación Miguel Hidalgo, Ciudad de México.  
carfvargas@yahoo.com

### **Dr. José Juan Blancas Vázquez**

Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC)  
Universidad Autónoma del Estado de Morelos  
Av. Universidad No. 1001, Col. Chamilpa, C.P. 62209, Cuernavaca, Morelos,  
México.  
jose.blancas@uaem.mx

**"Las palabras nunca alcanzan cuando lo que hay que decir desborda el alma"**

**Julio Cortázar**

**Dedicada a las personas que me han permitido formar parte de su vida y que siempre estarán presentes en la mía.**

## **Agradecimientos**

A mi directora de tesis, la Dra. Beatriz Rendón-Aguilar, por el apoyo que me brindó. Distingo su conocimiento y las oportunidades profesionales y personales que me ha proporcionado.

Reconozco la colaboración de mis tutores, el Dr. Carlos Fabián Vargas-Mendoza y el Dr. José Juan Blancas-Vázquez, por la instrucción en la investigación.

Gracias al Dr. David Bravo-Aviles y al Dr. Jordan K. Golubov, por las observaciones en la mejora del trabajo.

A la Dra. Alejandra Serrato por compartir sus conocimientos y lugar de trabajo en el Laboratorio Divisional de Biología Molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa.

A la Mtra. Aline Méndez y la Dra. Tania Garrido porque cuando no lograba comprender algún análisis, me ofrecieron parte de su conocimiento y tiempo.

Agradezco la beca proporcionada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT 717629) mediante el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) que ofrece la Maestría en Biología de la UAM-Iztapalapa del departamento de Ciencias Biológicas y de la Salud.

Aprecio el apoyo de mi familia, porque no basta estar unidos por consanguinidad, sino también por respeto, confianza, amor y dedicación.

A mis amigos y compañeros de vivencias: Iveth, Víctor e Izcoatl, les agradezco que pese al paso del tiempo siempre han estado presentes.

Y por último, pero no menos importante, distingo los buenos momentos compartidos con mis compañeros y amigos de generación.

**“La ciencia es incapaz de resolver los últimos misterios de la naturaleza porque, en el último análisis, nosotros mismos somos parte de la naturaleza, es decir, somos parte del misterio que tratamos de resolver”**

**Max Planck**



[Fotografía de Verónica Patiño](2016).

*Stenocereus stellatus* (Pfeiffer) Riccobono.

## Contenido

Índice de tablas.....	XI
Índice de figuras.....	XII
Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Especie en estudio.....	11
Antecedentes.....	14
Niveles de daño, mecanismos de defensa y adecuación en <i>S. stellatus</i> .....	14
Preguntas de investigación.....	17
Objetivo.....	17
Hipótesis.....	18
Material y métodos.....	19
Área de estudio.....	19
Colecta de material.....	22
Análisis genético.....	22
Extracción de ADN.....	22



Amplificación de microsatélites (PCR) .....	23
Electroforesis en secuenciador automático .....	27
Genotipificación .....	27
Análisis de datos.....	28
Alelos nulos .....	28
Equilibrio de Hardy-Weinberg .....	29
Desequilibrio de ligamiento .....	29
Diversidad genética .....	30
Estructura genética .....	30
Análisis Factorial de Correspondencias (AFC) .....	31
Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) .....	31
Distancia genética .....	32
Flujo génico .....	32
Correlación entre diversidad genética, niveles de daño, mecanismos de defensa y adecuación.....	33
Resultados .....	34
Amplificación de loci microsatélites (PCR).....	34

Alelos nulos .....	34
Equilibrio de Hardy-Weinberg .....	36
Desequilibrio de ligamiento .....	36
Diversidad genética .....	38
Estructura genética .....	41
Análisis Factorial de Correspondencias (AFC) .....	43
Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) .....	43
Distancias genéticas .....	47
Flujo génico .....	48
Correlación entre diversidad genética, niveles de daño, mecanismos de defensa y adecuación.....	50
Discusión .....	55
Conclusiones.....	66
Referencias.....	70

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Poblaciones con manejo silvestre, <i>in situ</i> y cultivo de <i>S. stellatus</i> en el Valle de Tehuacán y en la Mixteca Baja .....	20
<b>Tabla 2.</b> Microsatélites diseñados para <i>Polaskia chichipe</i> y <i>S. stellatus</i> .....	25
<b>Tabla 3.</b> Matriz de presencia-ausencia de alelos nulos.....	35
<b>Tabla 4.</b> Valores de $F_{ST}$ y $F_{ST}$ con exclusión de alelos nulos .....	35
<b>Tabla 5.</b> Probabilidad de desviación del equilibrio Hardy-Weinberg .....	37
<b>Tabla 6.</b> Parámetros de diversidad genética .....	39
<b>Tabla 7.</b> AMOVA con base en valores de $F_{ST}$ .....	45
<b>Tabla 8.</b> AMOVA con base en valores de $R_{ST}$ .....	46
<b>Tabla 9.</b> Matriz de distancias genéticas de Nei.....	47
<b>Tabla 10.</b> Número de migrantes ( $Nm$ ) de acuerdo a la $F_{ST}$ y $R_{ST}$ .....	49
<b>Tabla 11.</b> Parámetros de correlación de Spearman por forma de manejo .....	52
<b>Tabla 12.</b> Parámetros de correlación de Spearman por región.....	54
<b>Tabla 13.</b> Comparación de valores de diversidad genética de <i>S. stellatus</i> .....	58

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> <i>Stenocereus stellatus</i> .....	11
<b>Figura 2.</b> Zona de estudio de <i>S. stellatus</i> .....	21
<b>Figura 3.</b> Gel de agarosa al 1% de la integridad del ADN .....	23
<b>Figura 4.</b> Etapas de la PCR para los loci Pchi .....	26
<b>Figura 5.</b> Estructura genética por el método bayesiano .....	41
<b>Figura 6.</b> Probabilidad de pertenencia de los individuos a un grupo genético ..	42
<b>Figura 7.</b> Prueba de Evanno .....	42
<b>Figura 8.</b> Proyección tridimensional del AFC.....	44
<b>Figura 9.</b> Fenograma con base en las distancias genéticas de Nei.....	48
<b>Figura 10.</b> Diagrama de dispersión Diversidad Genética - Daño Total por manejo.....	51
<b>Figura 11.</b> Diagrama de dispersión Adecuación - Resistencia por región.....	53
<b>Figura 12.</b> Diagrama de dispersión Daño biológico - Resistencia por región ....	54
<b>Figura 13.</b> Diagrama de dispersión de la Diversidad Genética con el Daño total, la Resistencia y la Adecuación en el manejo silvestre e <i>in situ</i> .....	63
<b>Figura 14.</b> Hipótesis de la diversidad genética por manejo.....	69

## Resumen

Esta investigación aborda el tema de la domesticación con enfoque en la diversidad genética, el daño, los mecanismos de defensa (resistencia y tolerancia) y la adecuación en *Stenocereus stellatus*, cactácea columnar endémica del centro-sur de México, en poblaciones silvestres, con manejo *in situ* y cultivadas, distribuidas en el Valle de Tehuacán y en la Mixteca Baja. Se utilizó el ADN de primordios florales de 176 individuos estudiados en la evaluación de los niveles de daño y se determinó la estructura y diversidad genética empleando cinco microsatélites. La diversidad genética en las poblaciones manejadas *in situ* presentó un aumento no significativo respecto a las poblaciones silvestres ( $H_e = 0.737 \pm 0.028$ ,  $H_e = 0.691 \pm 0.031$ ,  $P = 0.3483$ ), mientras que las poblaciones cultivadas presentaron significativamente la menor diversidad genética ( $H_e = 0.565 \pm 0.052$ ) ( $P = 0.011$ ). El Valle de Tehuacán presentó mayor diversidad genética con respecto a la de la Mixteca Baja ( $H_e = 0.683 \pm 0.023$  y  $H_e = 0.646 \pm 0.045$ ,  $P = 0.4443$ ), pero esta no fue significativa.

La estructura genética determinó cuatro grupos genéticos asociados regionalmente. El manejo *in situ* destaca de los demás análisis por presentar una relación negativa y significativa en la correlación diversidad genética - daño total, daño - resistencia, daño total - tolerancia y relación positiva en la diversidad genética - resistencia y resistencia - adecuación.

Palabras clave: *Stenocereus stellatus*, domesticación, manejo, diversidad genética, estructura genética, daño, adecuación, resistencia, tolerancia.

## Abstract

This research approaches the issue of domestication with a focus on genetic diversity, damage, fitness and defense mechanisms (resistance and tolerance) in *Stenocereus stellatus*, columnar cacti endemic to central-southern Mexico, in wild populations, management *in situ* and cultivated populations, distributed in the Tehuacán Valley and in La Mixteca Baja. The floral buds DNA of 176 studied individuals was used in the evaluation of damage levels and genetic structure and diversity was determined using five microsatellites. The genetic diversity in the managed *in situ* populations showed a non-significant increase compared with the wild populations ( $H_e = 0.737 \pm 0.028$ ,  $H_e = 0.691 \pm 0.031$ ,  $P = 0.3483$ ), while the cultivated populations had significantly less genetic diversity ( $H_e = 0.565 \pm 0.052$ ) ( $P = 0.011$ ). The Tehuacán Valley presented greater genetic diversity compared with that of La Mixteca Baja ( $H_e = 0.683 \pm 0.023$  and  $H_e = 0.646 \pm 0.045$ ,  $P = 0.4443$ ), but this was not significant.

The genetic structure determined four regionally associated genetic groups. *in situ* management stands out from other analyzes because it presents a negative and significant relationship in the genetic diversity - total damage, damage – resistance, total damage – tolerance and positive and significant relationship in genetic diversity - resistance and resistance - fitness.

Key words: *Stenocereus stellatus*, domestication, management, genetic diversity, genetic structure, damage, fitness, resistance, tolerance.

## Introducción

La domesticación es un proceso evolutivo que ocurre de manera continua de diferentes formas biológicas, dirigido por los seres humanos, principalmente por selección artificial, favoreciendo la supervivencia y reproducción de fenotipos convenientes y desfavoreciendo e incluso eliminando otros no convenientes (Darwin, 1859; Harlan, 1992; Casas *et al.*, 1997; 2007; Blancas *et al.*, 2013; 2014). La consecuencia de la domesticación son divergencias morfológicas, fisiológicas y genéticas entre las poblaciones de organismos manejados y las de sus parientes silvestres (Casas *et al.*, 1999) conocidas como síndromes o tendencias de domesticación (Schwanitz, 1966; Harlan, 1975; Gepts, 2004).

El estudio del proceso de domesticación se ha abordado en poblaciones de plantas sujetas a diferentes formas de manejo (tanto de especies perennes como anuales) (Casas *et al.*, 1997, 1999; Rendón y Núñez-Farfán, 1998; Rodríguez *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2013). Se entiende por manejar a la actividad eminentemente humana, pues se trata de acciones deliberadas para transformar sistemas ecológicos o socioecológicos, de acuerdo con los requerimientos (alimenticio, medicinal, comercial) e intereses de las sociedades de las que los humanos forman parte (Lindig y Casas, 2013; Casas *et al.*, 2014; 2015), con el objetivo de asegurar la disponibilidad de aquellos organismos de mayor conveniencia (Casas *et al.*, 1997; 2007; Blancas *et al.*, 2013; 2014).

De acuerdo con Casas *et al.*, 1997, los procesos selectivos de la vegetación (*in situ* y *ex situ*); han ocurrido en diversas formas de aprovechamiento que implican la recolección, la tolerancia y el cultivo e involucran el favorecimiento de ciertos organismos debido a un atributo o conjunto de ellos que les permiten un mejor desempeño en términos de supervivencia y reproducción que otros (Casas *et al.*, 1997, 1999). En el caso de las plantas, específicamente de las cactáceas columnares en donde el carácter blanco de selección es el componente de la adecuación (frutos). La recolección (*in situ*) suele involucrar la selección de los mejores fenotipos, de manera que, se puede afectar negativamente la aptitud de aquellos más favorables y abatir sus números en las poblaciones.

En la tolerancia (*in situ*) la gente deja en pie los fenotipos más convenientes, los cuales reciben algunos cuidados especiales y mediante estrategias selectivas estos fenotipos aumentan su densidad poblacional (Casas *et al.*, 1997; Blancas *et al.*, 2010, 2013). El cultivo, trasplante y propagación selectiva (*ex situ*) de los fenotipos son estrategias de distinta intensidad que contrarrestan el posible efecto de la recolección simple al propagar fenotipos adecuados cuyas poblaciones han disminuido bajo condiciones naturales.

Tales estrategias de manejo, en principio, pueden operar con el fin de asegurar la disponibilidad de los mejores fenotipos (Casas *et al.*, 1997; Blancas *et al.*, 2010, 2013), en donde la selección artificial brinda las capacidades para incluso aumentar su calidad, exacerbando aquellos rasgos que son de interés humano (Casas y Parra, 2016).



En un sentido amplio, la domesticación es entonces, el resultado deliberado de manejar la naturaleza de acuerdo con propósitos humanos (Casas *et al.*, 2015).

En las cactáceas columnares, apreciables principalmente por su fruto comestible, se han documentado los efectos del proceso de domesticación en poblaciones con diferentes formas de manejo: en poblaciones silvestres, que se aprovechan en los sitios donde crecen y se distribuyen naturalmente; en poblaciones manejadas *in situ*, las cuales, tras un desmonte, son dejadas en pie, lo que implica un manejo agroforestal y en poblaciones cultivadas, que se establecen en campos de cultivo, o en huertos de traspatio (Casas *et al.*, 1997; Casas, 2001; Parra *et al.*, 2008). En ellos, se reporta que los síndromes de domesticación a menudo comprenden cambios en el color, tamaño, sabor y grosor del epicarpio de los frutos, así como en el tamaño y cantidad de las espinas y semillas (Luna-Morales, 2004; Casas *et al.*, 2006; Blancas *et al.*, 2006, 2009) generalmente involucrando cambios fisiológicos asociados al periodo de maduración de los frutos (Cruz y Casas, 2002; Blancas *et al.*, 2006, 2009).

El manejo de los recursos bióticos por los seres humanos muy comúnmente modifica las frecuencias alélicas y genotípicas entre las poblaciones manejadas y las silvestres de modo que, los parientes silvestres de los organismos domesticados poseen una elevada diversidad genética acumulada a lo largo de cientos de miles a millones de años de evolución natural (Doebly *et al.*, 2006; Casas *et al.*, 2007; Pickersgill, 2007), a diferencia de los taxones domesticados, cuya diversidad genética puede ser extraordinariamente baja, resultado de la

selección de fragmentos de tal diversidad por parte de los seres humanos y su desarrollo en el contexto de cientos o miles de años de domesticación (Maxted *et al.*, 2013). Pero los problemas son vigentes: tan estrecha diversidad genética significa enormes riesgos en los cultivos por su vulnerabilidad al ataque de herbívoros y/o patógenos atribuidos a la pérdida de mecanismos químicos y estructurales de protección (Pickersgill, 2007; Bravo-Aviles *et al.*, 2014; Casas y Parra, 2016; Bravo-Aviles, 2017). Se ha argumentado que este efecto es el resultado indirecto del incremento en la productividad, como el aumento en tamaño de flores, frutos y semillas (Benrey *et al.*, 1998), a expensas de una reducción en la distribución de la energía en otras funciones, tales como síntesis de metabolitos secundarios o estructuras de defensa (Shaller, 2008). En consecuencia, las plantas domesticadas frecuentemente se tornan más vulnerables a los herbívoros, patógenos y competidores que sus contrapartes silvestres.

La variabilidad genética es la materia prima para la evolución, le confiere a las especies la capacidad de responder a los posibles cambios ambientales, permitiendo la adaptación y por consiguiente la supervivencia a largo plazo. La forma en cómo se distribuye la variación genética así como el cambio en las frecuencias alélicas de una población a otra en el tiempo y en el espacio, nos refleja la estructura genética de la especie (Hamrick *et al.*, 1979; Boshier *et al.*, 1995).

Las diferencias en los niveles de diversidad genética de una especie entre organismos sujetos a procesos de domesticación se pueden cuantificar haciendo uso de marcadores genéticos. Autores como Otero-Arnaiz *et al.* (2005); Tinoco *et al.* (2005) y Blancas *et al.* (2006) han aportado evidencias sobre los efectos de la domesticación en la genética de poblaciones de algunas especies de cactáceas columnares como *Polaskia chichipe*, *Escontria chiotilla* y *Polaskia chende*, respectivamente. Los estudios del género *Polaskia* reportaron una tendencia a disminuir la diversidad genética en las poblaciones manejadas *in situ* y cultivadas respecto a las poblaciones silvestres. Sin embargo, las diferencias no fueron significativas y para *Escontria chiotilla*, las poblaciones silvestres presentaron significativamente mayor diversidad genética que las poblaciones manejadas *in situ*.

Casas *et al.* (2006) y Parra *et al.* (2008) estimaron la diversidad genética mediante isoenzimas como marcador genético en poblaciones de *S. stellatus* y *S. pruinosus*, respectivamente. Estos estudios reportaron que el manejo ha contribuido a aumentar la diversidad genética en las poblaciones manejadas *in situ* y cultivadas en comparación con las poblaciones silvestres. Este patrón se debe, de acuerdo con los autores, a que el manejo tradicional de las especies involucra un continuo recambio de plantas, introduciendo germoplasma de otros pueblos o regiones, así como la tolerancia de plántulas que llegan a establecerse en las áreas de cultivo, provenientes de semillas dispersadas por aves, murciélagos y humanos, lo que favorece los procesos de flujo génico, desde poblaciones silvestres a manejadas *in situ* y cultivadas.

En el caso particular de *S. stellatus*, Casas *et al.* (2006) reportaron diferencias significativas en el estimador de heterocigosidad esperada ( $H_e$ ,  $P < 0.05$ ) entre regiones y por forma de manejo, documentando que la heterocigosidad esperada en la Mixteca Baja es más elevada que en el Valle de Tehuacán ( $H_e = 0.279$  y  $H_e = 0.265$ ), respectivamente. La agrupación de las poblaciones por forma de manejo permitió cuantificar que las poblaciones cultivadas contienen los niveles más altos de variabilidad genética ( $H_e = 0.289 \pm 0.015$ ), seguidas de las poblaciones de manejo *in situ* ( $H_e = 0.270 \pm 0.006$ ) y silvestres ( $H_e = 0.253 \pm 0.016$ ).

Cruse-Sanders *et al.* (2013) utilizando microsatélites como marcador genético más sensible para detectar variación genética que las isoenzimas, ratificó un aumento significativo en la diversidad genética de *S. stellatus* en poblaciones manejadas *in situ* y cultivadas respecto a poblaciones silvestres ( $H_e = 0.64 \pm 0.066$ ,  $0.63 \pm 0.069$  y  $0.55 \pm 0.091$ ,  $P = 0.011$ , respectivamente), sin diferencias significativas entre regiones.

Como se mencionó en párrafos anteriores, una de las hipótesis respecto a la pérdida de diversidad genética en las poblaciones domesticadas es que los mecanismos de defensa disminuyen o se pierden. Las plantas poseen dos estrategias básicas de defensa contra sus herbívoros o patógenos: la resistencia y la tolerancia (Strauss y Agrawal, 1999). Las plantas resistentes pueden reducir la cantidad de daño por herbívoros o patógenos mediante la posesión de defensas químicas y físicas (Ehrlich y Raven, 1964; Berenbaum *et al.*, 1986).

Por otra parte, la tolerancia no evita el herbivorismo pero le permite a la planta compensar el daño producido por sus enemigos naturales.

Varios autores han argumentado que, teóricamente, la resistencia y la tolerancia deberían covariar negativamente, de tal manera que la evolución de ambas estrategias podría estar limitada debido a sus costos asociados (Fineblum y Rausher, 1995) por lo que, se esperaría que estas estrategias involucren una disyuntiva en la evolución de la defensa en plantas (Van der Meijden *et al.*, 1988).

La idea crucial de esta argumentación se basa en que tanto la posesión de la tolerancia así como de la resistencia tienen costos significativos en términos de la adecuación.

Uno de los supuestos sobre el efecto de la domesticación en el destino de los recursos adquiridos por la planta, es que se compromete la defensa para favorecer el crecimiento y la reproducción (Bazzaz *et al.*, 1987).

Desde el punto de vista ecológico en la interacción planta-patógeno, no solo las plantas son capaces de conocer un organismo foráneo y defenderse por sí mismas de él, sino que el patógeno también puede ser capaz de manipular la biología de la planta para crear un ambiente óptimo para su propio crecimiento y desarrollo a costa de la respuesta de la planta (Smale, 2012; Boyd *et al.*, 2013). La combinación génica de ambos organismos determina el tipo de interacción. En una interacción compatible, el patógeno inicia la infección en la que puede multiplicarse y progresar sistémicamente invadiendo otros tejidos desencadenando la enfermedad. La interacción incompatible se caracteriza por el establecimiento de una infección patogénica inicial que no logra progresar debido

a que la planta reacciona restringiendo la dispersión del patógeno (resistencia) (Keen, 1990; van Kan *et al.*, 1992; Gil, 2005; Bhupendra, 2013).

La incapacidad del hospedero en resistir el efecto dañino de los fitopatógenos causa un desequilibrio en la planta ocasionando la enfermedad la cual se manifiesta con diversos síntomas tales como enanismo, agallas, necrosamiento, marchitez y deformaciones. Todo esto es un desarreglo en la fisiología de la planta trayendo en consecuencia la baja productividad de la planta (Campo, 2014).

Por ejemplo, Valverde *et al.* (2003) reportaron que existe variación genética en los niveles de resistencia a la herbivoría de *Datura stramonium* frente a *Lema trilineata*; la variación en la resistencia tiene consecuencias en la adecuación de la planta (Núñez-Farfán y Dirzo, 1994; Fornoni y Núñez-Farfán, 2000; Valverde *et al.*, 2003); los herbívoros responden diferencialmente a los niveles de resistencia de la planta (Espinosa y Fornoni, 2006), y que esta respuesta tiene bases genéticas y consecuencias para su adecuación (Espinosa y Fornoni, 2006).

En este sentido, es de esperar que los procesos de selección artificial al que han estado sujetas algunas cactáceas columnares del centro de México estén relacionados con la diversidad genética, el daño, la resistencia, la tolerancia y la adecuación de las plantas. Sin embargo, al respecto no existen evidencias. El presente, es el primer trabajo en el que se aborda la relación de la diversidad genética, el daño, los mecanismos de defensa y la adecuación en los procesos de domesticación de *S. stellatus*, cactácea columnar del centro de México.

## Especie en estudio

### *Stenocereus stellatus*

*Stenocereus stellatus* (Pfeiffer) Riccobono (Figura 1), conocido comúnmente como “xoconochtli” o “pitaya de agosto” es un cactus columnar de 2-6 m, endémico del centro-sur de México (Casas, 2001), cuya distribución está centrada en los estados de Guerrero, Morelos, Oaxaca y Puebla (Casas y Caballero, 1996, 1998; Guzmán *et al.*, 2003).



Fotografías de Verónica Patiño

Figura 1. *Stenocereus stellatus* “xoconochtli”.

Es una planta cuyos frutos, semillas y flores son comestibles, las ramas se aprovechan como forraje y leña y los individuos completos para formar barreras de protección de suelos (Casas y Caballero, 1998). Los frutos son recolectados en poblaciones silvestres que forman parte de matorrales xerófilos y selvas bajas en el Valle de Tehuacán y la porción de la cuenca del río Balsas, particularmente la región de la Mixteca Baja; así como en poblaciones manejadas *in situ* y cultivadas (*ex situ*).

El manejo humano ha promovido la existencia de variedades de esta especie, que se diferencian principalmente por el color de la pulpa, la cual puede ser de color rojo, blanco, solferino, amarillo o anaranjado. Sin embargo, el color que predomina en las poblaciones silvestres es el rojo. Las flores son hermafroditas con sistema de autoincompatibilidad, la antesis es nocturna y son polinizadas por murciélagos nectarívoros: *Leptonycteris curasoae*, *L. nivalis* y *Choeronycteris mexicana*, especies migratorias y altamente dependientes del consumo de recursos florales, capaces de volar cerca de 100 Km en una noche (Koopman, 1981, Fleming *et al.*, 1993, Valiente-Bunuet *et al.*, 1996, Casas *et al.*, 1999).

Además de reproducirse sexualmente, *S. stellatus* también puede propagarse vegetativamente a través de esquejes (Bravo, 1978; Casas *et al.*, 1999).



El uso y manejo de *S. stellatus* es muy antiguo. En excavaciones arqueológicas del Valle de Tehuacán, MacNeish (1967) y Smith (1967) revelaron que en la fase el Riego (8500-7000 años A.P.) las cactáceas columnares fueron de los principales recursos utilizados por los humanos durante la prehistoria de Mesoamérica. Los restos de la fase Abejas (5400-4300 años A.P.) y Palo Blanco (2150-1300 años A.P.), sugieren que el consumo de los frutos y semillas de *S. stellatus* fue importante para la subsistencia de los asentamientos humanos (Casas, 2002).

Actualmente, en el Valle de Tehuacán y la Mixteca Baja, *S. stellatus* continúa bajo procesos de domesticación (Casas *et al.*, 1997), con una simpatria en las distintas formas de manejo (Casas *et al.*, 1999; Casas, 2002), lo que permite analizar comparativamente la estructura y diversidad genética de poblaciones silvestres, manejadas *in situ* y cultivadas (Casas y Caballero, 1998; Casas *et al.*, 2006; Cruse-Sanders *et al.*, 2013), así como las implicaciones del manejo en aspectos relacionados con la susceptibilidad al daño (Bravo-Avilez *et al.*, 2014; Bravo-Avilez, 2017; Bravo-Avilez *et al.*, En prensa ) y la pérdida de la variación genética dentro y entre poblaciones de *S. stellatus*.

## **Antecedentes**

### **Niveles de daño, mecanismos de defensa y adecuación en *S.***

#### ***stellatus***

El estudio del daño en cactáceas columnares ha sido pobremente abordado (Pimienta *et al.*, 1999; Villalobos *et al.*, 2007; Bravo-Aviles *et al.*, 2014; Bravo-Aviles *et al.*, En prensa) y mucho menos lo ha sido su relación con los mecanismos de defensa, la adecuación y la diversidad genética (del cual no hay ninguna investigación).

En particular, para *S. stellatus*, el único estudio corresponde a Bravo-Aviles (2017), quien estimó las diferencias poblacionales derivadas de la domesticación en términos de los niveles de daño, los mecanismos de defensa y la adecuación en poblaciones silvestres, manejadas *in situ* y cultivadas entre las regiones del Valle de Tehuacán y la Mixteca Baja (Tabla 1).

Mediante un muestreo aleatorio de 1,043 ramas constituidas en 180 individuos de *S. stellatus* distribuidos en los estados de Puebla y Oaxaca, Bravo-Aviles (2017), estimó cualitativamente un porcentaje de daño en una escala de: 0 a 100% y observó que el daño es provocado por factores bióticos y/o abióticos, clasificándolos de manera general en dos tipos: daño biológico, causado por: insectos, entre ellos *Cactophagus spinolae* el cual posiblemente esté relacionado con presencia de hongos y bacterias y daño por factores físicos como quemaduras

por exceso de radiación, fuego, machetazos y anidamiento de aves (Bravo-Aviles, 2017).

Tomando en cuenta el daño total (biológico y por factores físicos) los resultados indican que: 1) Por forma de manejo, los niveles de daño son significativamente mayores en las poblaciones cultivadas y 2) entre regiones, en el Valle de Tehuacán se detectó significativamente mayor incidencia de daño respecto a la Mixteca Baja.

Se observó que el daño biológico es causado por larvas e individuos adultos de *Cactophagus spinolae* y se manifiesta como una pudrición en las ramas de la planta, visualizado en el exterior con una coloración marrón. En el interior, la rama se deforma e hincha y emite un olor desagradable, en algunos casos se presenta escurrimiento de un líquido viscoso. Dicha pudrición se expande y puede llegar a la rama principal, provocando la muerte de la planta (Bravo-Aviles *et al.*, 2014).

En cuanto a los mecanismos de defensa (resistencia y tolerancia), Bravo-Aviles (2017) cuantificó la resistencia como la longitud de la espina central en un área de 150 cm<sup>2</sup> del tallo (30 cm x 5 cm), a la altura del pecho (1.20 m) y, encontró que: 1) el manejo *in situ* fue significativamente más resistente, 2) las poblaciones cultivadas presentaron la menor resistencia y 3) la Mixteca Baja presentó mayor resistencia que el Valle de Tehuacán.

Para estimar la tolerancia consideró la tasa de ramificación, medida como el número de brotes nuevos de la rama muestreada y encontró que 1) por forma de

manejo y por región no hubo diferencias significativas, 2) en la interacción manejo por región, las poblaciones silvestres en el Valle de Tehuacán y de manejo *in situ* en la Mixteca Baja presentaron la mayor tasa de ramificación y 3) las poblaciones de manejo *in situ* en el Valle de Tehuacán y silvestre en la Mixteca Baja presentaron la menor tasa de ramificación.

Los componentes de la adecuación que se consideraron en el estudio de Bravo-Aviles (2017) corresponden al éxito reproductivo femenino: el número de frutos producidos, el número de semillas por fruto y el porcentaje de germinación de semillas. Los resultados indicaron que 1) la población cultivada en el Valle de Tehuacán fue la que produjo mayor cantidad de frutos, mientras que en la Mixteca Baja, fueron la población silvestre y de manejo *in situ*, 2) los frutos de las poblaciones con manejo *in situ* y cultivadas presentaron mayor número de semillas por fruto en ambas regiones y 3) La Mixteca Baja presentó mayor porcentaje de germinación.

De acuerdo con Bravo-Aviles (2017) el daño se correlacionó negativamente con la adecuación, lo que indica que las plantas con mayor daño producen menos frutos. La resistencia se correlacionó positivamente con la adecuación, así las plantas más resistentes producen mayor número de frutos. Con base en estos resultados es interesante conocer si estos componentes están relacionados con la diversidad genética de las plantas.

## Preguntas de investigación

1. ¿Existirá relación entre la diversidad genética, los niveles de daño, los mecanismos de defensa (resistencia y tolerancia) y la adecuación de *S. stellatus*, en poblaciones silvestres, manejadas *in situ* y cultivadas?
2. ¿Existe una estructuración genética en poblaciones de *S. stellatus* asociada a diferentes formas de manejo distribuidas en el Valle de Tehuacán y la Mixteca Baja?

## Objetivo

- Analizar la diversidad y estructura genética de *Stenocereus stellatus* en poblaciones silvestres, manejadas *in situ* y cultivadas, distribuidas en el Valle de Tehuacán y la Mixteca Baja y estimar la correlación de los niveles de diversidad genética con los niveles de daño, los mecanismos de defensa (resistencia y tolerancia) y la adecuación que presentan las plantas.

## Hipótesis

Se espera encontrar un efecto de la domesticación de *S. stellatus* entre poblaciones con diferentes formas de manejo, de modo que; las poblaciones manejadas *in situ* y cultivadas presentarán una diversidad genética menor respecto a las poblaciones silvestres; por otro lado, se espera una correlación negativa entre los niveles de diversidad genética y los niveles de daño que presentan las plantas.

De igual forma y bajo la perspectiva de que el daño puede afectar el rendimiento reproductivo de las plantas (adecuación), se espera encontrar que entre menor daño presenten las plantas, mayor será el número de frutos producidos.

Se espera que la respuesta de las plantas ante el ataque de herbívoros y/o patógenos sea más efectiva entre mayor sea la variación genética disponible. De manera que, las poblaciones de plantas que presenten mayor cantidad de espinas (resistencia) y mayor número de ramas (tolerancia) se correlacionen positivamente con la diversidad genética pero negativamente con el daño.

Así mismo y debido a que los registros arqueológicos reportan evidencias de uso de *S. stellatus* desde épocas tempranas de la domesticación en el Valle de Tehuacán, se espera encontrar una diferenciación genética entre regiones, de manera que, el Valle de Tehuacán presentará una diversidad genética menor así como mayores niveles de daño que la de la Mixteca Baja a consecuencia de un manejo histórico.

## **Materiales y métodos**

### **Área de estudio**

El estudio se llevó a cabo en los estados de Puebla y Oaxaca, en el Valle de Tehuacán y la Mixteca Baja (Tabla 1; Figura 2), sitios donde crecen poblaciones silvestres de *S. stellatus* y es manejada de manera *in situ* y cultivada por esquejes en huertos y plantaciones (Casas *et al.*, 1997; Bravo-Aviles, 2017).

El Valle de Tehuacán se localiza en la porción sureste del estado de Puebla y el noroeste del estado de Oaxaca. El clima es árido y semiárido con una temperatura media anual de 21 °C y una precipitación media anual de 400 mm (Dávila *et al.*, 2002). *S. stellatus* se distribuye en áreas con altitudes de 1220 a 2000 m y entre los 300 y 650 mm de precipitación anual (Casas *et al.*, 1999).

La región de la Mixteca Baja se localiza en el noroeste del estado de Oaxaca, al sureste de Puebla y al noreste de Guerrero. Su relieve es abrupto y desigual, con altitudes de entre 600 y 3000 m snm (Casas *et al.*, 2006). *S. stellatus* se distribuye de 600 a 1800 m con precipitaciones entre los 600 y 800 mm por año (Casas *et al.*, 1999).

Tabla 1. Poblaciones con manejo silvestre, *in situ* y cultivo de *S. stellatus* en el Valle de Tehuacán y la Mixteca Baja, analizadas por Bravo-Aviles (2017).

Región	Municipio	Población	Estado	Manejo	Coordenadas geográficas
Valle de Tehuacán	Ajalpan	Ajalpan	Puebla	Silvestre	18°24'58.6''N 97°15'34.8''W
Valle de Tehuacán	Ajalpan	Ajalpan	Puebla	<i>in situ</i>	18°25'3.4''N 97°15'24.6''W
Valle de Tehuacán	Santiago Miahuatlán	Miahuatlán	Puebla	Cultivo	18°33'4''N 97°26'56.9''W
Mixteca Baja	San Pedro y San Pablo Tequixtepec	Chinango	Oaxaca	Silvestre	18°7'31.6''N 97°46'21.5''W
Mixteca Baja	San Pedro y San Pablo Tequixtepec	Chinango	Oaxaca	<i>in situ</i>	18°6'35.4''N 97°45'26.4''W
Mixteca Baja	San Pedro y San Pablo Tequixtepec	Chinango	Oaxaca	Cultivo	18°6'19.6''N 97°45'23.2''W



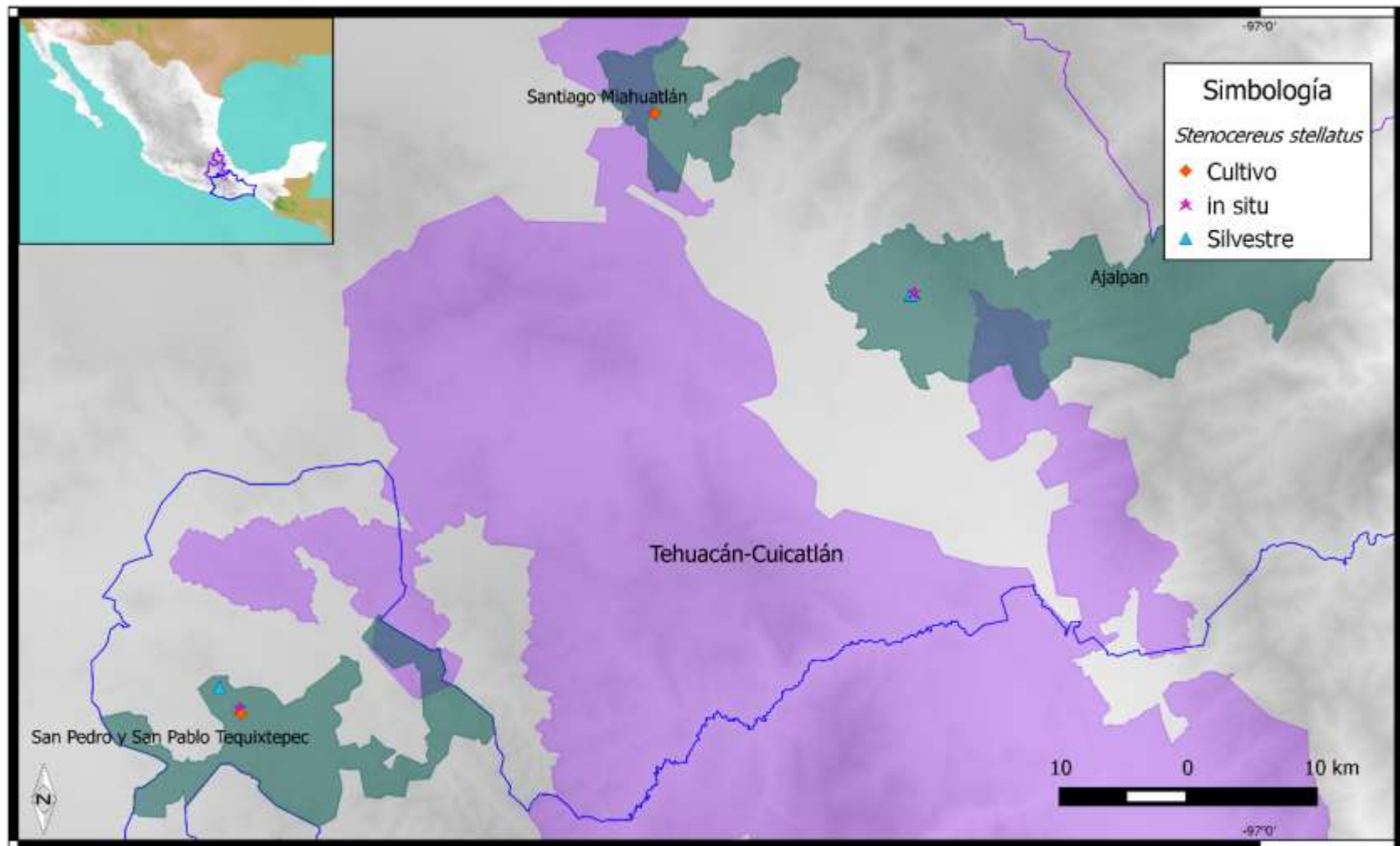


Figura 2. Zona de estudio de *S. stellatus*. Ubicación de las poblaciones en donde se hizo el análisis de los niveles de daño (Bravo-Aviles, 2017) y se colectaron los primordios florales de *S. stellatus* utilizados para el análisis genético. La delimitación en color morado corresponde al estado de Puebla y la delimitación en color azul al estado de Oaxaca.

## **Colecta de material**

De cada individuo analizado por Bravo-Aviles (2017), se colectaron 2 primordios florales, los cuales, envueltos y etiquetados en papel aluminio se guardaron en bolsas de plástico, almacenándolos en un ultracongelador SANYO Scientific a -80°C hasta su análisis genético en el Laboratorio Divisional de Biología Molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

## **Análisis genético**

### **Extracción de ADN**

La extracción del ADN consistió en la homogeneización mecánica del tejido vegetal (primordio floral) con nitrógeno líquido, en morteros de porcelana. Se empleó el protocolo comercial de extracción de ADN vegetal DNeasy® Plant Mini Kit de QIAGEN, con modificaciones menores y se verificó el rendimiento mediante el espectrofotómetro Nanodrop 2000, obteniendo la concentración en nanogramos/ microlitro (ng/μl). Se estimó la pureza considerando la proporción de la absorbancia a 260 nm y 280 nm. Se hizo una comprobación de la integridad del ADN por electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con 0.2 μl de GelRed™ utilizando un marcador de peso molecular con bandas de 100 pb, conectado a una fuente de poder a 100V durante 30 minutos, se visualizó con luz ultravioleta por el sistema de bio-foto documentación MiniLumi DNR Bio-Imaging Systems (Figura 3).

Una vez probado el rendimiento y la integridad del ADN, éste se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  para su posterior amplificación.

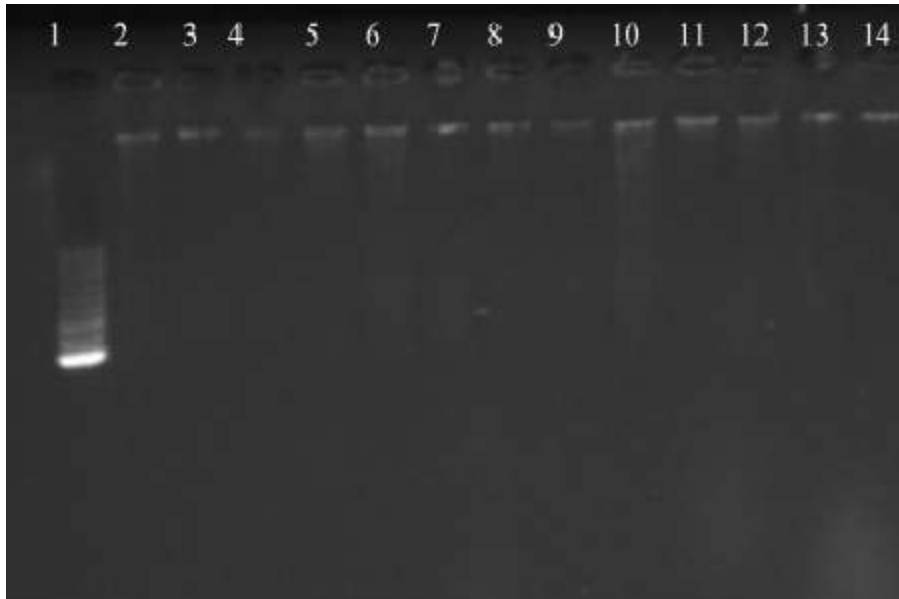


Figura 3. Gel de agarosa al 1% para observar la integridad del ADN. Carril 1 marcador de peso molecular de 100 pb. Carriles 2-14 muestras de ADN íntegro.

### **Amplificación de microsatélites (PCR)**

La amplificación de los microsatelites o SSR (simple sequence repeats) (Tabla 2) se realizó a un volumen de  $12.5\ \mu\text{l}$ , mezclando  $6.25\ \mu\text{l}$  de mezcla Master Mix de PCR, marca PROMEGA,  $0.75\ \mu\text{l}$  del Forward marcado con fluorescencia a  $10\ \mu\text{M}$ ,  $0.75\ \mu\text{l}$  del Reverse a  $10\ \mu\text{M}$ ,  $0.75\ \mu\text{l}$  de agua libre de nucleasas y  $4\ \mu\text{l}$  de ADN. La síntesis de nuevas cadenas de ADN se llevó a cabo mediante la técnica molecular de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un termociclador T100<sup>TM</sup> con módulo de reacción de 96 pozos Bio-Rad, las condiciones de amplificación para

los loci (JCS) diseñados para *S. stellatus* por Cruse-Sander *et al.*, (2013); iniciaron con una desnaturalización a 94 °C por 4 minutos, seguida de 25 ciclos sucesivos de desnaturalización a 94 °C por 1 minuto, alineamiento según la temperatura de cada locus (Tabla 2) y extensión a 72 °C por 2 minutos, con una extensión final a 72 °C durante 4 minutos. En el caso de los loci (Pchi), específicos para la especie *Polaskia chichipe* (Otero-Arnaiz *et al.*, 2004; 2005), las condiciones de amplificación se muestran en la figura 4. Estos loci se transfirieron de *P. chichipe* a *S. stellatus* por ser un grupo monofilético (Hernández–Hernández *et al.*, 2011).

Los resultados de las amplificaciones se observaron en una electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con 0.2 µl de GelRed™ utilizando un marcador de peso molecular con bandas de 100 pb y, se visualizó con luz ultravioleta por el sistema de bio-foto documentación MiniLumi DNR Bio-Imaging Systems.

Tabla 2. Microsatélites diseñados para *P. chichipe* (Otero-Arnaiz *et al.*, 2004; 2005) y *S. stellatus* (Cruse-Sanders *et al.*, 2013). El forward de cada primer está marcado con un flouorforo (VIC<sup>®</sup>, PET<sup>®</sup>, 6FAM<sup>™</sup> y NED<sup>™</sup>).

Locus	Secuencia (5'-3') y (3'5')	Temperatura	Tamaño (pb)
Pchi9	F-VIC <sup>®</sup> GTGGCCGAGAAAGAAGTTTG R: AAAGGCCCAAATCATAAGCA	60 °C	208-218
Pchi21	F-VIC <sup>®</sup> CGTTTAGCCCCTCTTTCTCC R: GTTCCCAACTGACCGACAAC	60 °C	120-134
Pchi54	F-PET <sup>®</sup> CCTTGAGCTTTGACATTGAGA R: GGAAGGTTTTTCATTGGATGAG	60 °C	158-182
Pchi20	F-PET <sup>®</sup> GTGGCCGAGAAAGAAGTTTG R: AAAGGCCCAAATCATAAGCA	56 °C	230-256
Pchi50	F-PET <sup>®</sup> CCTGGGCAAACCTCTGTTTA R: GTTCCCAACTGACCGACAAC	56 °C	216-230
JCS1	F-6FAM <sup>™</sup> CCCGAAAGCACATCAAAAAT R: CAGAGAATCGCCAGAGGAAG	52°C	174-212
JCS49	F-6FAM <sup>™</sup> CAAACCCAAAAGCAAAGAA R: AAGAGACAAGTCCTCAGGTTGG	52°C	192-230
JCS51	F- PET <sup>®</sup> CCCATGCCAAAATATCAACC R: AACTAGGCCCGAAAATGGAT	60°C	200-224

JCS68	F-NED <sup>IM</sup> CATCATTGTCCCACTTAAAGCA	54°C	195-215
	R: TCCCAAAAACCAAAATCATCA		
JCS73	F-NED <sup>IM</sup> TGCGAATTAATGGTTTCCAA	54°C	165-219
	R:TCACATGATGTCATAACAAGCAA		

---

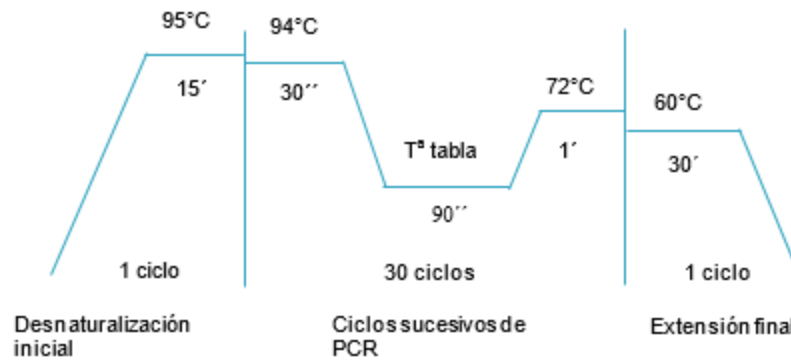


Figura 4. Etapas de la PCR. Temperaturas, tiempos y ciclos para los loci Pchi (Otero-Arnaiz *et al.*, 2004; 2005).

## **Electroforesis en secuenciador automático**

Se realizó una mezcla con 0.6 µl de GeneScan™ 500 LIZ® dye Size Standard y 9.25 µl de formamida para cada pozo y se depositaron alícuotas de 9.85 µl en una placa de 96. Los productos amplificados de la PCR se combinaron con esta mezcla en reacción multiplex, tomando 2 µl de cada amplificación. La placa se desnaturalizó a una temperatura de 94°C por 5 minutos en un termociclador T100™, seguido de una incubación en hielo por 5 minutos. El análisis de loci de microsatélites se realizó en un secuenciador ABI PRISM 3130x/ Genetic Analyzers (Applied BioSystems).

## **Genotipificación**

La caracterización genética de los alelos se realizó mediante el software GeneMarker® (Applied BioSystems) y en reacción multiplex, se calibró con la escalera LIZ 500. Se obtuvo el tamaño de los alelos en pares de bases y debido a la naturaleza codominante de los microsatélites, se distinguieron los genotipos homocigotos y los heterocigotos.

## **Análisis de datos**

### **Alelos nulos**

Debido a que en los microsatélites puede haber mutaciones en las regiones flanqueantes al motivo, los primers pueden no unirse y en consecuencia no amplificar, generando que los heterocigotos sean considerados como homocigotos, y así generar un aparente exceso de homocigotos y desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg. Es por ello que se verificó la presencia y frecuencia de alelos nulos para cada locus por población, mediante el programa MICROCHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004), con un intervalo de confianza del 95% y 1000 repeticiones.

Para conocer si la presencia de alelos nulos modifica significativamente los resultados de los análisis, se calculó la  $F_{ST}$  de Weir y Cokherham (1984) mediante el programa FREENA (Chapuis y Estoup, 2007) y el método de exclusión de alelos nulos (ENA, por sus siglas en inglés). Este software calcula la frecuencia esperada de alelos nulos y les asigna un tamaño alélico para construir una segunda matriz de  $F_{ST}$  corregida. Se utilizó una prueba t-Student para identificar si la distribución de los valores de las matrices  $F_{ST}$  y  $F_{ST}$  corregida por alelos nulos se distribuye de manera diferente.



## **Equilibrio de Hardy-Weinberg**

Se estimó la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg para cada locus por población, a través de una prueba exacta basada en el algoritmo de cadenas de Markov, con 10, 000 dememorizaciones, 20 “batches” y 5, 000 iteraciones por batch con el programa GENEPOP v. 4.6.9 (Raymond y Rousset, 1995) y con la corrección de Bonferroni secuencial. Así mismo, se obtuvieron los coeficientes de endogamia  $F_{IS}$  por el método de Weir y Cokherham para cada locus por población, con el objetivo de obtener el exceso (valor negativo) o deficiencia (valor positivo) de heterocigotos.

La corrección de Bonferroni secuencial, permite evaluar la significancia de los valores  $P$  a partir de un nivel de significancia dado ( $\alpha= 0.05$ ) respecto a un número  $K$  de comparaciones, bajo el siguiente procedimiento: 1) ordenar los valores  $P$  de menor a mayor ( $P_1 < P_2 < \dots P_i$ ) y 2) Sí  $P_1 \leq \alpha/K$ , se rechaza la hipótesis nula y se prosigue con el segundo valor más pequeño y así sucesivamente hasta que se acepte la hipótesis (Rice, 1989; Hedrick, 2005).

## **Desequilibrio de ligamiento**

Para conocer el grado de correlación o asociación estadística entre los loci se estimó el desequilibrio de ligamiento mediante el programa ARLEQUIN 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) analizando todas las combinaciones por pares de loci con 10, 000 permutaciones y aplicando la corrección de Bonferroni secuencial con un nivel de significancia del 95% ( $\alpha= 0.05$ ).

## Diversidad genética

La diversidad genética de las poblaciones se evaluó con el programa GENALEX 6.5 (Peakall y Smouse, 2006); se estimaron para cada población, el número observado de alelos ( $N_a$ ), número de alelos efectivos ( $N_e$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ), heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) y la heterocigosidad de Nei ( $H_{NEI}$ ) basada en la heterocigosidad esperada, con una corrección apropiada para tamaños poblacionales pequeños.

## Estructura genética

Para inferir la estructura genética se utilizó el algoritmo de asignación bayesiana con el software STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard *et al.*, 2000), el cual permite asignar de forma aleatoria a los individuos a un número específico ( $K$ ) de poblaciones a partir de la información genética por medio de cadenas de Markov tipo Monte Carlo (MCMC) (Pritchard *et al.*, 2000). Las condiciones de corrida fueron 100, 000 iteraciones y 10, 000 batches, probando desde  $K= 2$  hasta  $K= 7$  con 20 corridas por  $K$ . Además, se llevó a cabo una prueba estadística *ad hoc* de  $\Delta K$  (Evanno *et al.*, 2005) en el software STRUCTURE HARVESTER (Earl y VonHoldt, 2012) para identificar el valor de  $K$  que explica mejor los genotipos observados. (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>).

## **Análisis factorial de correspondencias (AFC)**

Se realizó un análisis Factorial de Correspondencias con el programa GENETIX 4.5.2, para tener una perspectiva de la tendencia de similitud genética entre los individuos estudiados, graficándolos de acuerdo en sus estados alélicos (Belkhir *et al.*, 2004).

## **Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)**

La evaluación a niveles jerárquicos (diferencia entre formas de manejo y entre poblaciones) se realizó por medio de un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992), con el programa ARLEQUIN 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005), utilizando 30, 000 permutaciones. Los estimadores fueron la  $F_{ST}$  y la  $R_{ST}$  que es una mejor aproximación para microsatélites. La primera considera el modelo de alelos infinitos (*Infinite Allele Model*, IAM) (Kimura y Crow, 1964); en el que las unidades de repetición mutan en número variable y por lo tanto el resultado no depende del estado alélico previo de la población, y la segunda considera el modelo del salto mutacional (*Stepwise Mutation Model*, SMM) (Kimura y Ohta, 1978) para explicar la evolución de los microsatélites; en este caso las mutaciones suponen la pérdida o ganancia de una sola unidad de repetición, y por lo tanto, las mutaciones tiene lugar sobre alelos ya presentes en la población, es decir, que mantienen cierta “memoria” sobre el estado alélico anterior (Balloux y Goudet, 2002).

## **Distancia genética**

Para estudiar la diferenciación genética entre las poblaciones y entre los grupos genéticos se calcularon las distancias genéticas estándar de Nei ( $D_s$ ) con el programa POPULATIONS 1.2.32 (Langella, 1999). El valor de la distancia genética es inversamente proporcional a la similitud genética y con base en estas distancias genéticas de Nei se elaboró un fenograma con el programa TFPGA 1.3 que utiliza el algoritmo filogenético UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages) (Sneath y Sokal, 1973) para agrupar a las poblaciones de acuerdo a la distancia más pequeña en la matriz de distancias genéticas, recalculando la matriz hasta que todas las poblaciones estén conectadas a un único grupo (ancestro hipotético).

## **Flujo génico**

Para valorar la transferencia de genes entre las poblaciones estudiadas, se evaluó el número de migrantes ( $Nm$ ) con base en los valores de  $F_{ST}$  y  $R_{ST}$ , utilizando el programa ARLEQUIN 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) con un nivel de significancia de ( $\alpha=0.05$ ).

## **Correlación entre diversidad genética, niveles de daño, mecanismos de defensa y adecuación**

Con el fin de analizar si la diversidad genética se correlaciona con los niveles de daño, los mecanismos de defensa y la adecuación en plantas de *S. stellatus*, se utilizaron los valores obtenidos por Bravo-Avilez (2017). Con el objetivo de corroborar la correlación entre los factores físicos y biológicos de las plantas, el daño se evaluó en dos análisis comparativos. En el primer análisis se utilizaron los datos del daño biológico (herbívoros, hongos) y el daño por factores físicos (quemaduras por exceso de radiación, fuego, machetazos y anidamiento de aves) (Daño Total); en el segundo análisis únicamente se consideraron los datos del Daño Biológico, causado por larvas e insectos, entre ellos *Cactophagus spinolae* y hongos.

Se realizó una disgregación de la diversidad genética por individuo (176) con base en la genotipificación, se consideró el número de loci heterocigotos como parámetro de la diversidad genética y se elaboraron análisis de correlación de Spearman ( $\rho$ ) en el software JMP<sup>®</sup> considerando los niveles de daño, los mecanismos de defensa; la resistencia como la longitud de la espina central y la tolerancia como el número de brotes nuevos. Para la adecuación se consideró el número de frutos producidos (Bravo-Avilez, 2017).

Se hicieron análisis por forma de manejo y por región.

## Resultados

### Amplificación de loci microsatélites (PCR)

De los 10 microsatélites trabajados (Tabla 2), siete amplificaron favorablemente y fueron polimórficos. Los loci Pchi 21, Pchi 50 y Pchi 54 reportados por Otero-Arnaiz *et al.*, (2004; 2005) no lograron ser amplificados, a pesar de que se realizaron modificaciones en las condiciones de la PCR.

### Alelos nulos

Se observó la presencia de alelos nulos, en todas las poblaciones muestreadas y en todos los loci. De los siete loci analizados, los que presentaron el mayor número de alelos nulos fueron: JCS 1, JCS 68, JCS 73 y JCS 71 con tres poblaciones, seguidos de Pchi 9 y JCS 49 con dos poblaciones y por último Pchi 20 con una población (Tabla 3). Los resultados de la prueba t-Student con los valores de las matrices  $F_{ST}$  y  $F_{ST}$  con exclusión de alelos nulos (ENA) hicieron necesario que dos de los loci fueran descartados del análisis, debido a que mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) (Tabla 4).

Tabla 3. Matriz de presencia - ausencia de alelos nulos por población y por locus. La ausencia de alelos nulos se representa con el número 0 y la presencia con el número 1.

	Pchi 9	Pchi 20	JCS 1	JCS 68	JCS 73	JCS 49	JCS 51
Chinango	1	1	1	1	1	1	1
Ajalpan	1	0	1	1	1	1	1
Miahuatlán	0	0	1	1	1	0	1

Tabla 4. Valores de  $F_{ST}$  para los siete loci sin y con exclusión de alelos nulos (ENA) utilizando el programa informático FREENA. Los valores marcados en negro son los que resultaron con alelos nulos significativos, al ser descartados del análisis se obtuvo una probabilidad de 0.0689 con  $\alpha=0.05$ .

Locus	$F_{ST}$	$F_{ST}$ con corrección ENA
Pchi 9	0.198993	0.19361
<b>Pchi 20</b>	<b>0.183202</b>	<b>0.167901</b>
JCS 1	0.070407	0.064255
JCS 68	0.153698	0.142651
JCS 73	0.134709	0.102985
JCS 49	0.168979	0.161995
<b>JCS 51</b>	<b>0.097225</b>	<b>0.067839</b>

## **Equilibrio de Hardy-Weinberg**

En la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg por locus por población (Tabla 5) se observó que en la población cultivada en la Mixteca Baja (CC) el locus Pchi 9 y el locus JCS 68 estuvieron en equilibrio, el resto de los loci presentaron una desviación significativa de Hardy-Weinberg ( $P \leq 0.05$ ). Los valores de  $F_{IS}$  según Weir y Cockerman variaron de -0.002 a 0.898 y se encontraron valores negativos para la población Cultivada en la Mixteca Baja (CC) en los loci JCS 68 y JCS 49 y para la población cultivada en el Valle de Tehuacán (CM) en el locus JCS 49, lo cual indica un exceso de heterocigotos.

## **Desequilibrio de ligamiento**

El análisis de desequilibrio de ligamiento indicó que de las 60 comparaciones entre los cinco loci, después de la corrección de Bonferroni, se presentaron dos combinaciones con desequilibrio de ligamiento en la población *in situ* en la Mixteca Baja (IC), siete en la población silvestre en el Valle de Tehuacán (SA) y tres combinaciones en la población cultivada en el Valle de Tehuacán (CM).



Tabla 5. Probabilidad de desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg ( $P$ ) y coeficientes de endogamia ( $F_{IS}$ ) de Weir y Cockerman ( $W \& C$ ) para cada locus por población de *S. stellatus*.

Región	Población		Pchi 9	JCS 1	JCS 68	JCS 73	JCS 49
		$P$	0.0000	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000
MB	SC	$W \& C$	0.4743	0.291	0.7445	0.729	0.4265
		$P$	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
MB	IC	$W \& C$	0.496	0.4284	0.3506	0.3265	0.3095
		$P$	0.2004	0.0000	0.0899	0.0000	0.0000
MB	CC	$W \& C$	0.0149	0.1289	-0.203	0.8413	-0.0017
		$P$	0.0008	0.0005	0.0000	0.0000	0.0000
VT	SA	$W \& C$	0.0361	0.1796	0.1717	0.8978	0.0969
		$P$	0.0000	0.0000	0.0004	0.0000	0.0000
VT	IA	$W \& C$	0.292	0.6924	0.2575	0.6063	0.5388
		$P$	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0033
VT	CM	$W \& C$	0.2343	0.316	0.7746	0.7914	-0.0613

SC. Población silvestre en Chinango; IC. *in situ* en Chinango; CC. Cultivo en Chinango, de la región de la Mixteca Baja (MB); SA. Silvestre en Ajalpan; IA *in situ* en Ajalpan y CM. Cultivo en Miahuatlán en el Valle de Tehuacán (VT).

## Diversidad genética

El mayor número de alelos observados y alelos efectivos se presentó en la población de manejo *in situ* en la Mixteca Baja (Chinango) con un promedio de 8 y 4.81, respectivamente, mientras que en la población cultivada de la misma región se presentó el menor valor tanto de alelos observados como efectivos con 5.6 y 2.10, respectivamente (Tabla 6).

La heterocigosidad esperada presentó una media total de  $0.664 \pm 0.025$ , la población de manejo *in situ* en la Mixteca Baja presentó el valor más alto (0.788) y el valor más bajo se presentó en la población cultivada de la misma región (0.485) (Tabla 6). El valor promedio total de heterocigosidad observada fue de  $0.422 \pm 0.036$ ; los valores por población variaron entre 0.533 y 0.327 en la población silvestre del Valle de Tehuacán y silvestre de la Mixteca Baja, respectivamente (Tabla 6). Por último, la heterocigosidad de Nei presentó una media total  $0.676 \pm 0.026$  y varió desde 0.802 en la población de manejo *in situ* en la Mixteca Baja hasta 0.493 en la población cultivada de la misma región (Tabla 6).

Tabla 6. Parámetros de diversidad genética por locus y por población de *S. stellatus*.

SC. Población silvestre en Chinango; IC. *in situ* en Chinango; CC. Cultivo en Chinango en la región de la Mixteca Baja (MB); SA. Silvestre en Ajalpan; IA *in situ* en Ajalpan y CM. Cultivo en Miahuatlán en el Valle de Tehuacán (VT).

Región	Población		Pchi9	JCS1	JCS68	JCS73	JCS49	Media
MB	S Chinango	$N_a$	8.000	7.000	6.000	7.000	9.000	7.400
		$N_e$	2.256	3.226	2.727	2.483	6.716	3.482
		$H_o$	0.300	0.500	0.167	0.167	0.500	0.327
		$H_e$	0.557	0.690	0.633	0.597	0.851	0.666
		$H_{NEI}$	0.566	0.702	0.644	0.607	0.866	0.677
MB	I Chinango	$N_a$	9.000	6.000	6.000	9.000	10.00	8.000
		$N_e$	4.423	3.846	5.070	5.643	5.070	4.810
		$H_o$	0.400	0.433	0.533	0.567	0.567	0.500
		$H_e$	0.774	0.740	0.803	0.823	0.803	0.788
		$H_{NEI}$	0.787	0.753	0.816	0.837	0.816	0.802
MB	C Chinango	$N_a$	4.000	10.00	3.000	4.000	7.000	5.600
		$N_e$	1.363	3.488	1.620	1.687	2.894	2.210
		$H_o$	0.267	0.633	0.467	0.067	0.667	0.420
		$H_e$	0.266	0.713	0.383	0.407	0.654	0.485
		$H_{NEI}$	0.271	0.725	0.389	0.414	0.666	0.493
VT	S Ajalpan	$N_a$	7.000	4.000	7.000	5.000	6.000	5.800
		$N_e$	4.061	2.348	4.703	3.329	4.226	3.733
		$H_o$	0.741	0.481	0.667	0.074	0.704	0.533
		$H_e$	0.754	0.574	0.787	0.700	0.763	0.716

		$H_{NEI}$	0.768	0.585	0.802	0.713	0.778	0.729
VT	I Ajalpan	$N_a$	5.000	10.00	7.000	5.000	8.000	7.000
		$N_e$	2.493	3.805	4.787	3.871	2.290	3.449
		$H_o$	0.433	0.233	0.600	0.300	0.267	0.367
		$H_e$	0.599	0.737	0.791	0.742	0.563	0.686
		$H_{NEI}$	0.609	0.750	0.805	0.754	0.573	0.698
VT	C Miahuatlán	$N_a$	7.000	7.000	5.000	7.000	7.000	6.600
		$N_e$	2.951	4.725	2.459	2.785	2.190	3.022
		$H_o$	0.517	0.552	0.138	0.138	0.586	0.386
		$H_e$	0.661	0.788	0.593	0.641	0.543	0.645
		$H_{NEI}$	0.673	0.802	0.604	0.652	0.553	0.657

---

$N_a$ : Alelos observados;  $N_e$ : Alelos efectivos;  $H_o$ : Heterocigosidad observada;  $H_e$ : Heterocigosidad esperada;  $H_{NEI}$ : Heterocigosidad de Nei.

Los resultados del ANOVA revelaron que no hubo diferencias significativas por forma de manejo ni por región en la heterocigosidad observada. En la heterocigosidad esperada se encontraron diferencias significativas por forma de manejo ( $F= 5.363$ ,  $P= 0.011$ ). Posteriormente, se elaboraron pruebas t-Student comparando las poblaciones (S - I); (S - C) e (I - C). Se observó que las diferencias se presentaron entre las poblaciones (S - C) ( $t= 2.611$ ,  $P= 0.028$ ) e (I - C) ( $t= 2.626$ ,  $P= 0.027$ ). La prueba t-Student entre regiones no presentó diferencias significativas.

S. Silvestre; I. Manejo *in situ*; C. Cultivo

## Estructura genética

### Grupos genéticos

El análisis de asignación bayesiana realizado con el programa STRUCTURE 2.3.3 mostró que los 176 individuos de *S. stellatus*, distribuidos en las seis poblaciones estudiadas, están asociados en cuatro grupos genéticos ( $K= 4$ ) (Figuras 5 y 6), éste resultado se confirmó con la prueba estadística *ad hoc* de  $\Delta K$  (Figura 7); el grupo I (amarillo) se conformó por las poblaciones silvestre (S) y cultivada (C) en la Mixteca Baja, el grupo II (verde) por la población *in situ* en la Mixteca Baja, el grupo III (azul) por las poblaciones Silvestre e *in situ* en el Valle de Tehuacán y el grupo IV (rojo) por la población Cultivada en el Valle de Tehuacán (Figuras 5 y 6). Se observa una combinación de colores en la agrupación antes mencionada, esto representa la presencia de migrantes.

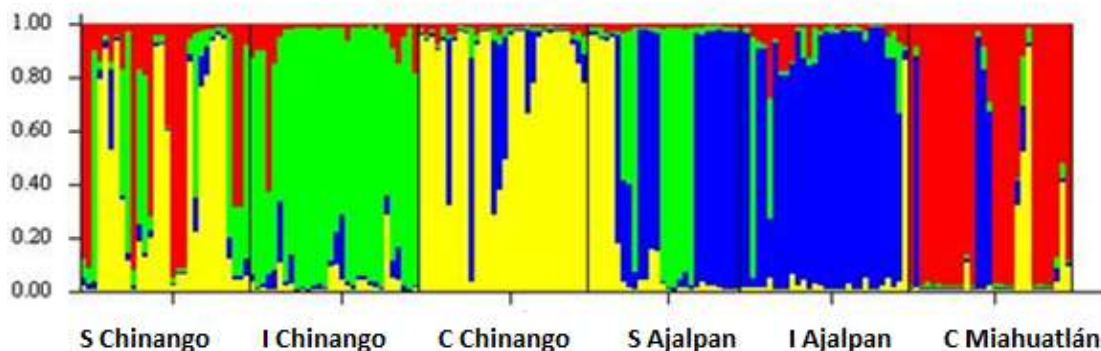


Figura 5. Análisis de estructura genética. Muestra la distribución genética de las 6 poblaciones de *S. stellatus*. Las poblaciones de Chinango corresponden a la región de la Mixteca Baja, mientras que las poblaciones de Ajalpan y Miahuatlán, corresponden a la región del Valle de Tehuacán.

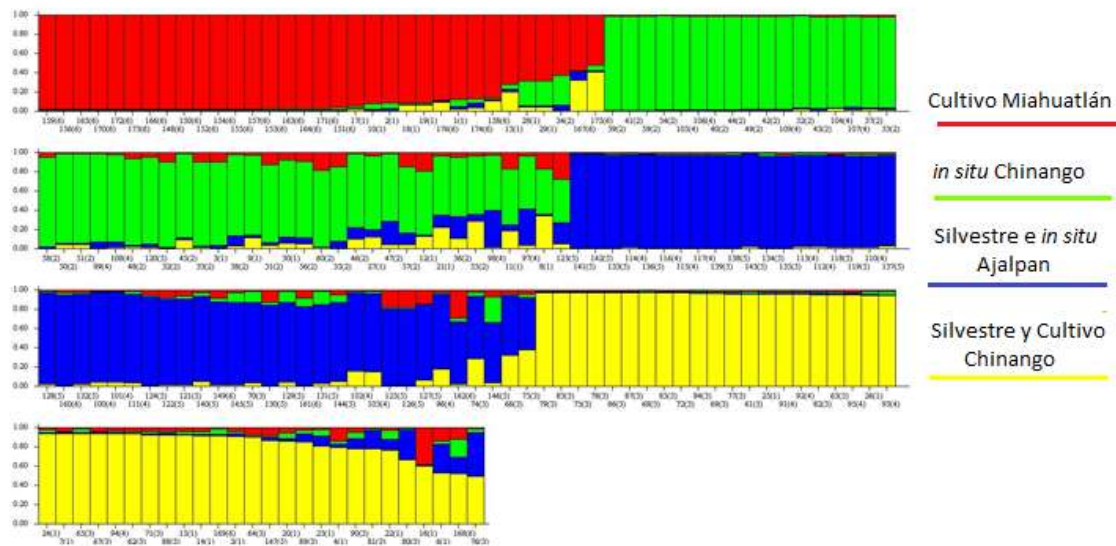


Figura 6. Probabilidad de pertenencia a cada grupo genético definido por el método bayesiano. Cada línea corresponde a un individuo y los colores representan la probabilidad de pertenecer a un grupo.

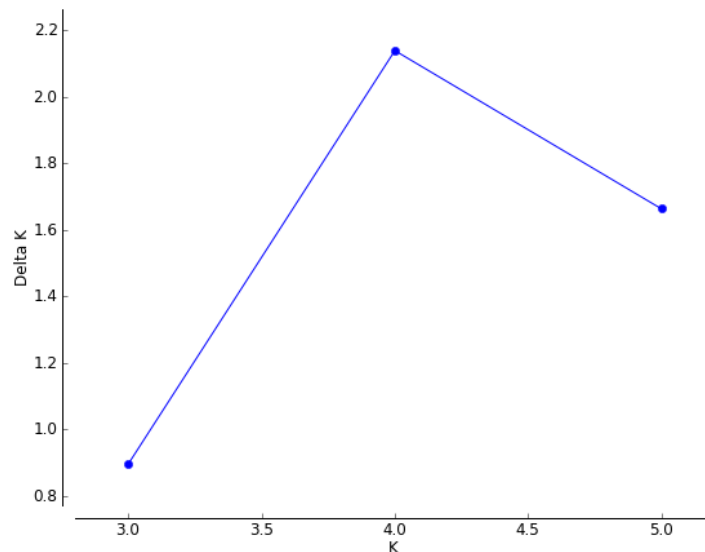


Figura 7. Prueba estadística propuesta por Evanno *et al.* (2005). El punto máximo de la gráfica determina el valor de  $K$  real de acuerdo a la tasa de cambio *ad hoc* de la  $\Delta K$ .

## **Análisis Factorial de Correspondencias (AFC)**

Se visualiza la posición relativa de los 176 individuos de *S. stellatus* (puntos), conformando los cuatro grupos genéticos (Figura 8) encontrados antes por STRUCTURE y la prueba de Evanno.

El primer grupo incluyó en su mayoría individuos de la población silvestre (puntos amarillos) y cultivada en la Mixteca Baja (puntos blancos), el segundo se conformó en general con individuos de la población con manejo *in situ* en la Mixteca Baja (puntos azules), el tercer grupo comprendió individuos de la población silvestre (puntos grises) y con manejo *in situ* (puntos rosas) en el Valle de Tehuacán y el cuarto grupo incorporó en su mayoría individuos de la población cultivada en el Valle de Tehuacán (puntos verdes) (Figura 8).

## **Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)**

Los resultados del análisis de Varianza Molecular mostraron con base en los valores de  $F_{ST}$  y  $R_{ST}$  que poco más del 52 % y del 61 %, respectivamente de la variación se distribuyó en los individuos dentro de las poblaciones, seguido de la variación entre poblaciones dentro de la forma de manejo con un 32.58 % con base en los valores de  $F_{ST}$  y un 24.7 % de acuerdo a los valores de  $R_{ST}$  y, la menor variación fue entre la forma de manejo, con valores de 14.56 % y 13.59 %, respectivamente ( $P \leq 0.001$ ). El coeficiente de endogamia dentro de las poblaciones fue de  $F_{IS} = 0.38135$  y  $R_{IS} = 0.28586$  y el coeficiente de endogamia total fue de  $F_{IT} = 0.47146$  y  $R_{IT} = 0.38289$  (Tablas 7 y 8).

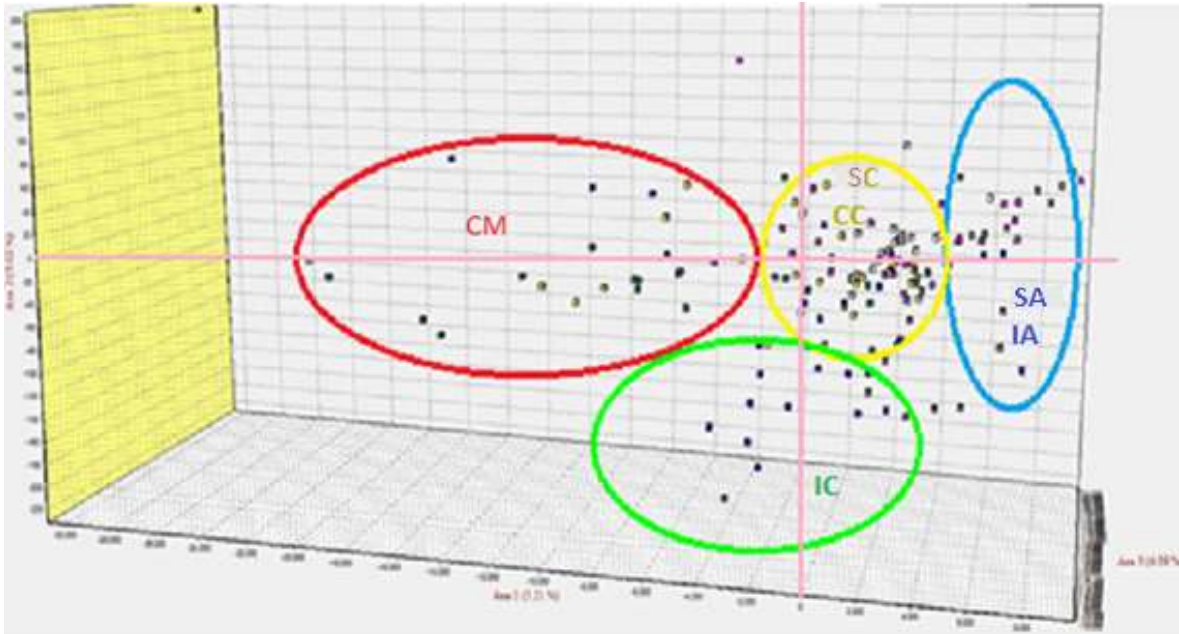


Figura 8. Proyección tridimensional del Análisis Factorial de Correspondencias. El óvalo en amarillo simboliza el **grupo genético I**; el verde representa el **grupo II**; el azul alude al **grupo III** y el rojo simboliza el **grupo IV**.

SC. Población silvestre en Chinango (puntos amarillos); IC. *in situ* en Chinango (puntos azules); CC. Cultivo en Chinango (puntos blancos) (**Mixteca Baja**); SA. Silvestre en Ajalpan (puntos grises); IA *in situ* en Ajalpan (puntos rosas) y CM. Cultivo en Miahuatlán (puntos verdes) (**Valle de Tehuacán**).



Tabla 7. Análisis de Varianza Molecular con base en los valores de  $F_{ST}$  por forma de manejo.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	% de variación	<i>P</i>
Entre forma de manejo	5	96.676	0.28965	14.56	0.00000
Entre poblaciones dentro de la forma de manejo	170	398.997	0.64795	32.58	0.00000
Individuos dentro de las poblaciones	176	185.000	1.05114	52.85	0.00000
Total	351	680.673	1.98874		
<b>Índice de fijación</b>	<b><math>F_{IS}</math>:0.38135</b>	<b><math>F_{ST}</math>:0.14565</b>	<b><math>F_{IT}</math>: 0.47146</b>		

$F_{ST}$ . Coeficiente de diferenciación genética entre forma de manejo,  $F_{IS}$ . Coeficiente de endogamia dentro de las poblaciones,  $F_{IT}$ . Coeficiente de endogamia total

Tabla 8. Análisis de Varianza Molecular con base en los valores de  $R_{ST}$  por forma de manejo.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	% de variación	<i>P</i>
Entre forma de manejo	5	7486.325	22.40469	13.59	0.00000
Entre poblaciones dentro de la forma de manejo	170	31149.050	40.73417	24.70	0.00000
Individuos dentro de las poblaciones	176	17910.000	101.76136	61.71	0.00000
Total	351	56545.375	164.90023		
<b>Índice de fijación</b>	<b><math>R_{IS}</math>:0.28586</b>	<b><math>R_{ST}</math>:0.13587</b>	<b><math>R_{IT}</math>:0.38289</b>		

$R_{ST}$ . Coeficiente de diferenciación genética entre forma de manejo,  $R_{IS}$ . Coeficiente de endogamia dentro de las poblaciones,  $R_{IT}$ . Coeficiente de endogamia total

## Distancia genética

Las distancias genéticas de Nei entre poblaciones variaron de 0.261 a 0.701. La distancia más grande se presentó entre las poblaciones *in situ* en la Mixteca Baja y cultivada en el Valle de Tehuacán, mientras que la distancia más corta se presentó entre la población silvestre con la cultivada en la Mixteca Baja (SC - CC), así como entre la población silvestre y manejo *in situ* en el Valle de Tehuacán (SA - IA) (Tabla 9). En el fenograma obtenido se puede observar esta estructuración y una cercanía de las poblaciones pertenecientes a la misma región (Figura 9).

Tabla 9. Matriz de distancias genéticas de Nei por población.

	SC	IC	CC	SA	IA	CM
SC	0.000					
IC	0.377477	0.000				
CC	<b>0.261263</b>	0.442171	0.000			
SA	0.526305	0.429125	0.46191	0.000		
IA	0.538899	0.625993	0.617927	<b>0.362941</b>	0.000	
CM	0.390051	<b>0.701068</b>	0.521017	0.546847	0.483363	0.000

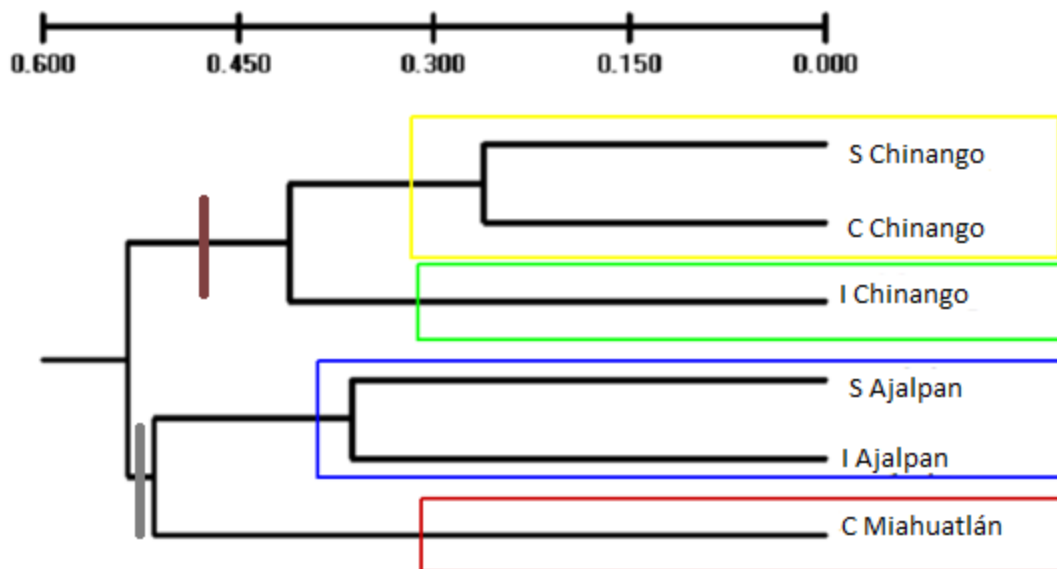


Figura 9. Fenograma construido con base en las distancias genéticas de Nei entre poblaciones. Se empleó el algoritmo UPGMA.

Población silvestre (S), con manejo *in situ* (I) y cultivo (C). La línea café simboliza la región de la Mixteca Baja, y la línea gris al Valle de Tehuacán.

## Flujo génico

Las poblaciones con mayor número de migrantes de acuerdo a la  $F_{ST}$ , son las poblaciones IC - SA (5.13211), seguido de las poblaciones SC - IC (4.72216) y SA - IA (4.52826), mientras que las poblaciones con menor contacto fueron CC - IA (1.58559) y CC - CM (1.67358) (Tabla 10).

Los resultados de acuerdo a  $R_{ST}$  mostraron que el mayor número de migrantes fue entre las poblaciones IC - CC (36.46363) seguido de las poblaciones SC - IC (26.75638), y las poblaciones con menor número de migrantes son SC - SA (0.99562) y CC - SA (1.45780) (Tabla 10).

Se detectó que la Mixteca Baja presenta mayor número de migrantes que el Valle de Tehuacán, lo cual concuerda con los valores de la  $F_{ST}$  y  $R_{ST}$  entre la población silvestre e *in situ* en Chinango.

Tabla 10. Número de migrantes ( $Nm$ ) de acuerdo a la  $F_{ST}$  y a la  $R_{ST}$ , entre poblaciones. Los números en negritas representan las poblaciones con mayor número de migrantes.

Poblaciones comparadas	$Nm$	
	$F_{ST}$	$R_{ST}$
SC - IC	<b>4.72216</b>	<b>26.75638</b>
SC - CC	3.06534	-
SC - SA	3.05480	0.99562
SC - IA	2.78127	2.12106
SC - CM	3.33366	1.64096
IC - CC	2.30503	<b>36.46363</b>
IC - SA	<b>5.13211</b>	1.71780
IC - IA	3.33800	4.69202
IC - CM	2.70928	3.11901
CC - SA	2.04332	1.45780
CC - IA	1.58559	3.50554
CC - CM	1.67358	2.22457
SA - IA	<b>4.52826</b>	<b>8.01459</b>
SA - CM	2.80412	<b>8.86625</b>
IA - CM	2.89784	5.43700

SC. Población silvestre en Chinango; IC. *in situ* en Chinango; CC. Cultivo en Chinango (Mixteca Baja); SA. Silvestre en Ajalpan; IA *in situ* en Ajalpan y CM. Cultivo en Miahuatlán (Valle de Tehuacán).

## **Correlación entre diversidad genética, niveles de daño, mecanismos de defensa y adecuación**

### Forma de manejo

El coeficiente de correlación de Spearman por forma de manejo mostró relación significativa entre la diversidad genética y el daño total (físico y biológico); siendo positiva en el manejo silvestre y negativa en el manejo *in situ*. (Figura 10, Tabla 11). El cultivo no se muestra debido a que no presentó correlación alguna.

El manejo silvestre mostró correlación positiva en el daño total - tolerancia y negativa entre la diversidad genética con la resistencia y entre el daño total con la resistencia.

El manejo *in situ* presentó correlación positiva entre la diversidad genética con la resistencia y la adecuación y entre la adecuación con la resistencia. El daño total se correlacionó negativamente con la resistencia y la tolerancia y el daño biológico presentó relación negativa con la resistencia.

La especie (176 individuos) mostró correlación positiva entre la adecuación y la resistencia y negativa entre el daño total con la adecuación y la resistencia y entre el daño biológico y la resistencia (Tabla 11).

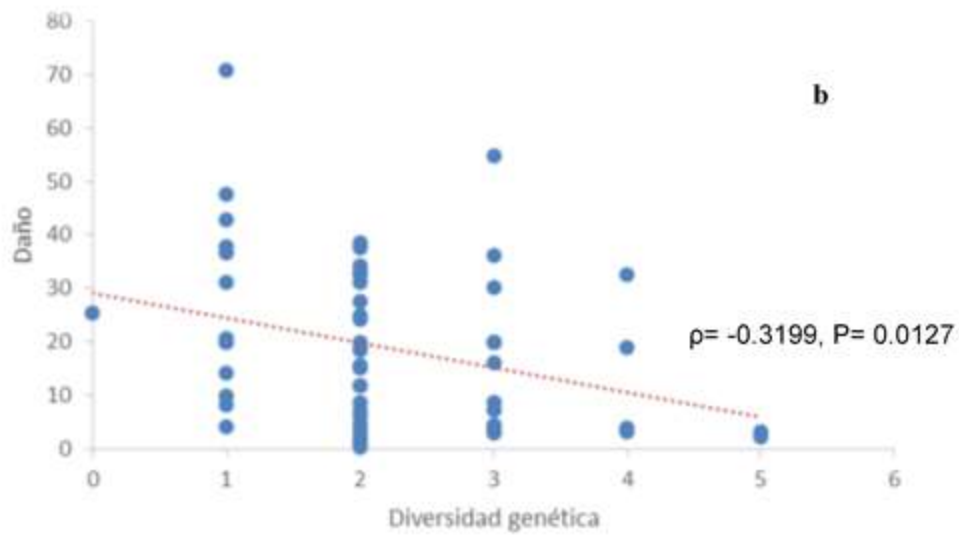
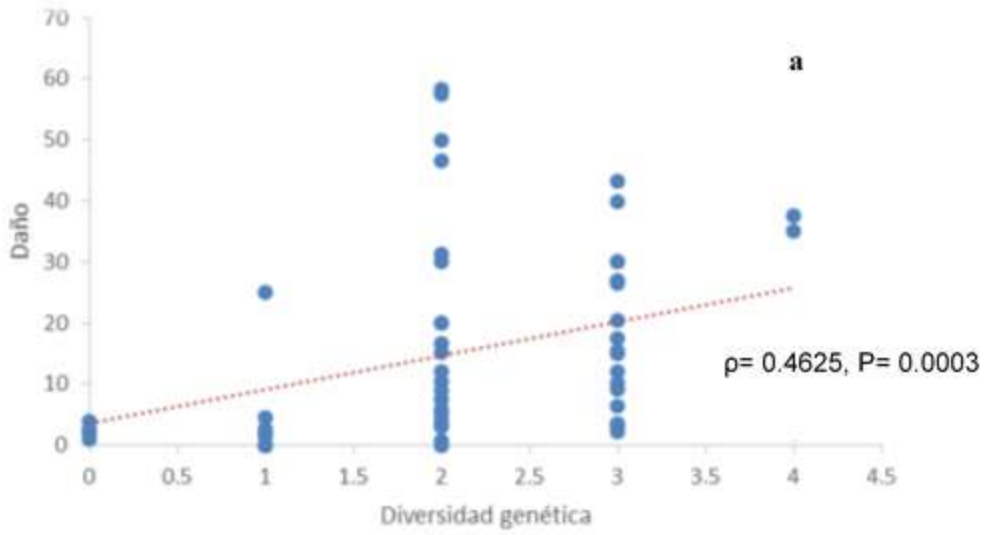


Figura 10. Diagrama de dispersión entre la diversidad genética y el daño total en el manejo silvestre (a) y en el manejo *in situ* (b).

Tabla 11. Parámetros de correlación de Spearman por forma de manejo.

Correlación	Total		Silvestre		Manejo <i>in situ</i>	
	n= 176		n= 57		n= 60	
	$\rho$	P	$\rho$	P	$\rho$	P
	Spearman		Spearman		Spearman	
Div. Gen. – Daño T.			0.4625	0.0003	-0.3199	0.0127
Div. Gen. – Resistencia			-0.3401	0.0096	0.4017	0.0015
Div. Gen. – Adecuación					0.2958	0.0218
Daño T. – Adecuación	-0.1506	0.0461				
Daño T. – Resistencia	-0.3589	<0.0001	-0.3834	0.0032	-0.4137	0.0010
Daño T. – Tolerancia			0.2753	0.0382	-0.4079	0.0012
Daño B. – Resistencia	-0.2345	0.0017			-0.2829	0.0285
Adecuación – Resistencia	0.2265	0.0025			0.4762	0.0001



## Entre regiones

El Valle de Tehuacán presentó correlación positiva entre la adecuación y la resistencia (Figura 11, Tabla 12) y correlación negativa entre el daño total y la resistencia.

La Mixteca Baja presentó correlación positiva entre la adecuación y la resistencia y negativa entre el daño total y biológico con la resistencia (Figura 12)

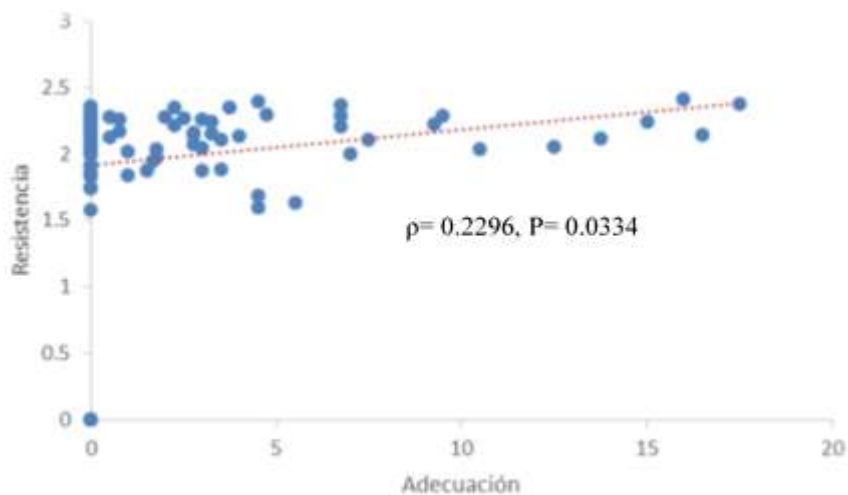


Figura 11. Diagrama de dispersión entre la adecuación y la resistencia en el Valle de Tehuacán.

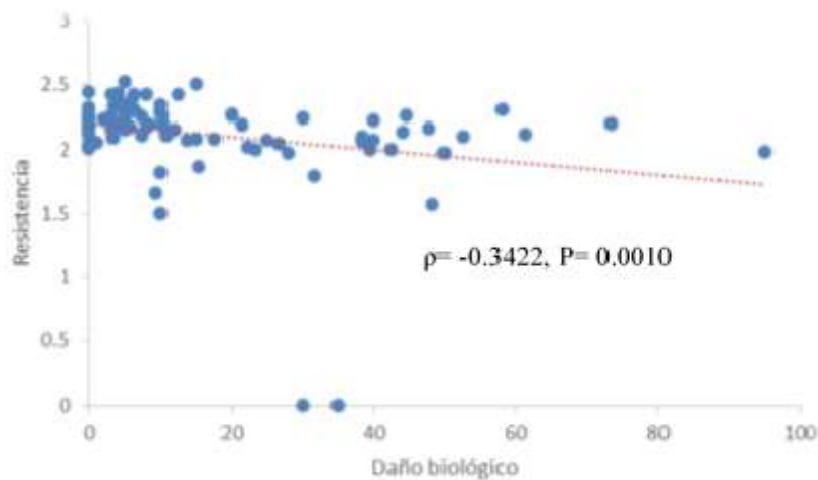


Figura 12. Diagrama de dispersión entre el daño biológico y la resistencia en la Mixteca Baja.

Tabla 12. Parámetros de correlación de Spearman por región.

Correlación	VT		MB	
	n= 86		n= 90	
	ρ	P	ρ	P
	Spearman		Spearman	
Daño T. – Resistencia	-0.2535	0.0185	-0.4106	<0.0001
Daño B. – Resistencia			-0.3422	0.0010
Adecuación – Resistencia	0.2296	0.0334	0.2255	0.0326

VT. Valle de Tehuacán; MB. Mixteca Baja.

## Discusión

El presente estudio muestra los primeros acercamientos en la relación de la diversidad genética, el daño, los mecanismos de defensa (resistencia y tolerancia) y la adecuación en poblaciones de *Stenocereus stellatus*, cactácea columnar bajo domesticación con manejo silvestre, *in situ* y cultivo, distribuida en el Valle de Tehuacán y la Mixteca Baja.

### Diversidad y estructura genética

Desde el punto de vista genético, la domesticación implica la selección y fijación de los alelos relacionados con la expresión de los fenotipos valorados en un conjunto de loci. Estos alelos pueden estar presentes en el germoplasma silvestre o surgir posteriormente durante el proceso de domesticación, ya sea por mutaciones espontáneas o debido a flujo génico con otras poblaciones (Doebley, 1992; Jaenicke-Després *et al.*, 2003).

Se ha hipotetizado que a mayor intensidad de manejo, los procesos de domesticación y divergencia son más notorios. Así, las poblaciones bajo manejo *in situ* se parecen más a las silvestres que a las cultivadas, pues dichas poblaciones derivan directamente de poblaciones silvestres. Pero si la selección artificial opera más intensamente, la divergencia (tanto morfológica como fisiológica y genética) puede ser más pronunciada. En cuanto al efecto de la domesticación sobre la diversidad genética en especies de gran interés agronómico, Hyten *et al.* (2006)

estiman que la soya domesticada (*Glycine max*) redujo un 50% la diversidad genética presente en *Glycine soja*. Kovach y McCouch (2008) reportan que el arroz domesticado (*Oryza sativa*) tiene entre el 10 y el 20% de la diversidad genética presente en su ancestro silvestre *Oryza rufipogon*.

Autores como Hawkes (1983) y Doebley (1992) plantearon que la domesticación generalmente determina una reducción en la diversidad genética de las poblaciones de organismos que se manipulan, debido a que los grupos de individuos domesticados comúnmente involucran solo una fracción de la diversidad existente en poblaciones silvestres. En cactáceas columnares, utilizando microsatélites como marcador molecular Otero-Arnaiz *et al.* (2005) en *Polaskia chichipe* y Parra *et al.* (2010) en *S. pruinosus* reportaron que las poblaciones cultivadas generalmente tienen menor diversidad genética que las silvestres.

En *S. stellatus* (Tabla 13) los resultados de este estudio mostraron una disminución significativa en la diversidad genética de las poblaciones cultivadas, lo que sugiere que cuando el manejo busca favorecer directamente algún fenotipo dentro de la población, es posible esperar una influencia determinante en el cambio de las frecuencias genotípicas de la misma. De esta manera se cumplió la hipótesis del efecto de la domesticación. Sin embargo, estos resultados no coinciden con los reportados para la especie por Casas *et al.* (2006) y Cruse-Sanders *et al.* (2013) quienes documentaron que las poblaciones domesticadas pueden tener mayor diversidad genética que las poblaciones silvestres.

Al comparar la diversidad genética entre regiones se observó una tendencia no significativa a que el Valle de Tehuacán presente mayor diversidad genética ( $H_e = 0.683 \pm 0.023$ ) que la Mixteca Baja ( $H_e = 0.646 \pm 0.045$ ). Por esta razón no se cumplió la hipótesis de un manejo histórico en el Valle de Tehuacán. Al ser comparados con los valores de la Tabla 13, se puede apreciar que no presentan el mismo patrón. A partir de esto, es necesario analizar la dispersión de la especie mediante un estudio filogeográfico, con el objetivo de dilucidar su origen y diversificación, planteándose las siguientes hipótesis; 1) Si los restos más antiguos de *S. stellatus* se encontraron en el Valle de Tehuacán (MacNeish, 1967; Smith, 1967), entonces esta región es el centro de origen de la especie, 2) La especie fue diseminada desde la cuenca del río Balsas (Mixteca Baja) hasta el Valle de Tehuacán (Casas *et al.* 2006; Cruse-Sanders *et al.* 2013), 3) La especie es parte de una enorme población sometida desde hace miles de años a procesos de domesticación, lo cual ha ocasionado que exista en ambas regiones distribuyéndose en los estados de Guerrero, Morelos, Oaxaca y Puebla.

Tabla 13. Comparación de valores de diversidad genética ( $H_e$ ) de *S. stellatus* con tres formas de manejo (silvestre, *in situ* y cultivo) entre el Valle de Tehuacán y la Mixteca Baja.

	Casas <i>et al.</i> , (2006) (isoenzimas, 19 poblaciones)	Cruse-Sanders <i>et al.</i> , (2013) (microsatélites, 15 poblaciones)	Resultados de este trabajo (microsatélites, 6 poblaciones)
Silvestre	$H_e = 0.253 \pm 0.016$	$H_e = 0.55 \pm 0.091^a$	$H_e = 0.691 \pm 0.031$
<i>in situ</i>	$H_e = 0.270 \pm 0.006$	$H_e = 0.64 \pm 0.066^b$	$H_e = 0.737 \pm 0.028$
Cultivo	$H_e = 0.289 \pm 0.015$	$H_e = 0.63 \pm 0.069^{a,b}$	<b><math>H_e = 0.565 \pm 0.052</math></b>
Mixteca Baja	$H_e = 0.279$	$H_e = 0.61 \pm 0.056$	$H_e = 0.646 \pm 0.045$
Valle de Tehuacán	$H_e = 0.265$	$H_e = 0.60 \pm 0.070$	$H_e = 0.683 \pm 0.023$

Los valores en negritas representan diferencias significativas.

Los resultados de la estructura genética mostraron que los grupos genéticos ( $K=4$ ) están asociados geográficamente (Figura 9). El número de migrantes ( $Nm$ ) de acuerdo a la  $F_{ST}$  y  $R_{ST}$  sugieren que el flujo génico es regional, entre poblaciones silvestres y domesticadas, favorecido por la intervención de los murciélagos en la polinización; murciélagos y aves en la dispersión de semillas, y en parte por el interés de la gente por mantener una gran cantidad de variantes con diferentes atributos especiales. Estos resultados se sustentaron tanto con el análisis de estructura genética como con el de distancias genéticas; los cuales mostraron que las poblaciones más parecidas genéticamente fueron SC – CC en la Mixteca Baja y SA – IA en el Valle de Tehuacán.

## Correlación entre diversidad genética, niveles de daño, mecanismos de defensa y adecuación

### Forma de manejo

Los procesos de domesticación generalmente inician determinando un efecto cuello de botella en relación con la diversidad genética que se encuentra en las poblaciones silvestres de un organismo sujeto a domesticación. Asociado a este proceso se ha mencionado un decremento en los mecanismos de defensa (resistencia y/o tolerancia), así como una mayor susceptibilidad al daño (Harlan, 1975; Pickersgill, 2007; Maxted *et al.*, 2013; Bravo-Avilez *et al.*, 2014; Casas y Parra, 2016; Bravo-Avilez, 2017). Esto significa que mientras las poblaciones silvestres tienen mayor diversidad genética, mecanismos de defensa más desarrollados y menos daño, lo opuesto se deberá encontrar en las poblaciones domesticadas (Rosenthal y Dirzo, 1997; Gepts, 2004, 2008; Bravo-Avilez, 2017). Sin embargo, este paradigma de mayor diversidad genética - menor nivel de daño está en entredicho y por tanto, es necesario replantear este modelo en términos de los procesos de domesticación en plantas.

Estudios recientes han evidenciado la relación positiva entre la diversidad genética y el daño en algunas especies de plantas. Por ejemplo, Cronin y Abrahamson (2001) documentaron que la preferencia de algunos herbívoros para seleccionar el hospedero sobre el cual van a ovipositar tiene una base genética, tal es el caso de

plantas de *Solidago altissima*, en el cual la abundancia de los insectos inductores de agallas *Rhopalomyia solidaginis* está en función del genotipo de la planta hospedera.

Johnson y Agrawal (2005) examinaron la importancia del genotipo y los factores ambientales en la herbácea *Oenothera biennis* y su variación en la diversidad de artrópodos. Los resultados indicaron que las diferencias genotípicas de las plantas representaron hasta el 41% de la variación en la diversidad de artrópodos.

Castagneyrol *et al.* (2012) basado en una comunidad sintética de robles (*Quercus robur*) describen un aumento en la herbivoría al aumentar la diversidad genética en la población huésped.

El resultado de la relación positiva entre la diversidad genética y el daño total en el manejo silvestre ( $\rho = 0.4625$ ,  $P = 0.0003$ ) y una relación negativa en el manejo *in situ* ( $\rho = -0.3199$ ,  $P = 0.0127$ ) permite suponer que durante el proceso de selección, los individuos más dañados en estado silvestre no son seleccionados. Por tanto se eligen aquellos individuos que muestren menos daño y alguna evidencia de mayor resistencia que a su vez mantiene la adecuación. Es posible entonces pensar que en las poblaciones silvestres los mecanismos de defensa no fueron evaluados adecuadamente. En cambio, en las poblaciones *in situ* sí hay una búsqueda de fenotipos con más resistencia y menos daño, que a su vez no han sacrificado la diversidad genética o bien el flujo génico ha evitado su erosión (Figura 13). Sin embargo, los datos estadísticos deben tomarse con reserva ya que los valores del coeficiente de correlación de Spearman ( $\rho$ ) obtenidos en este



estudio generalmente se encuentran entre valores menores a 0.5, considerados como una relación débil (Martínez *et al.*, 2009) por lo que es necesario aumentar el número individuos, poblaciones, marcadores moleculares y hacer estudios con factores abióticos para esclarecer las correlaciones obtenidas.

En las poblaciones cultivadas la erosión genética ha ocurrido (fue significativamente menor, Tabla 13), por eso no se detecta correlación alguna.

Dado que la correlación entre la diversidad genética y el daño varió significativamente por forma de manejo, es posible que el manejo silvestre presente una relación positiva por el aumento en la diversidad de recursos disponibles para los herbívoros en las poblaciones naturales y no solo por la diversidad genética de las plantas (Cronin y Abrahamson, 2001; Crawford *et al.*, 2007), las cuales crecen de manera simpátrica con otras especies, contraponiéndose a lo observado en el manejo *in situ*, el cual se compone por plantas que han tenido una selección artificial en áreas de vegetación agroforestal sometidas a perturbación deliberada (Casas *et al.*, 1996, 1997). Estos resultados y la no correlación observada en el cultivo, sugieren el impacto del manejo humano, el cual selecciona el fenotipo de las plantas que, finalmente, involucra el genotipo. Por lo tanto, parece que en las poblaciones silvestres existe un equilibrio en la diversidad genética de las plantas, en las plantas con manejo *in situ* la diversidad genética tiene una selección direccional y en las plantas cultivadas la diversidad genética disminuye drásticamente debido a que el cultivo de la especie es mediante esquejes, propagándose de manera deliberada ciertos genotipos.

Esto, aunado a la correlación positiva observada entre la diversidad genética y la adecuación en el manejo *in situ* ( $\rho = 0.2958$ ,  $P = 0.0218$ ) expresa que el daño, aun cuando tiene un costo asociado en la adecuación, puede generar una respuesta compensatoria que puede ser favorecida por la selección si existe variabilidad genética dentro de la población (Fornoni y Nuñez-Farfan, 2000), asumiendo entonces que, la producción de frutos no solo está relacionada con la diversidad genética de la planta sino también con la capacidad de las plantas para responder ante el ataque de herbívoros y/o patógenos (resistencia (manejo *in situ* (Figura 13)).

A pesar de que la resistencia no se correlacionó con la tolerancia, los resultados de la correlación resistencia - adecuación, sugieren la presencia de un “*trade off*” (Fineblum y Rahuser, 1995; Mauricio *et al.*, 1997) entre los mecanismos defensivos de la especie, interpretándose entonces que la resistencia en *S. stellatus* tiene un efecto positivo en la adecuación; así las plantas más resistentes producen mayor número de frutos. Estos resultados concuerdan con lo observado por Bravo-Avilez (2017) quien propuso que la especie está optando por la resistencia como principal mecanismo de defensa.

La correlación negativa que se observó entre el daño total y el éxito reproductivo (adecuación) en la especie ( $\rho = - 0.1506$ ,  $P = 0.0461$ ), aun cuando son marginalmente significativas, sugiere que el daño puede estar limitando la cantidad de recursos que la planta pudiera utilizar para su reproducción (Marquis, 1992).

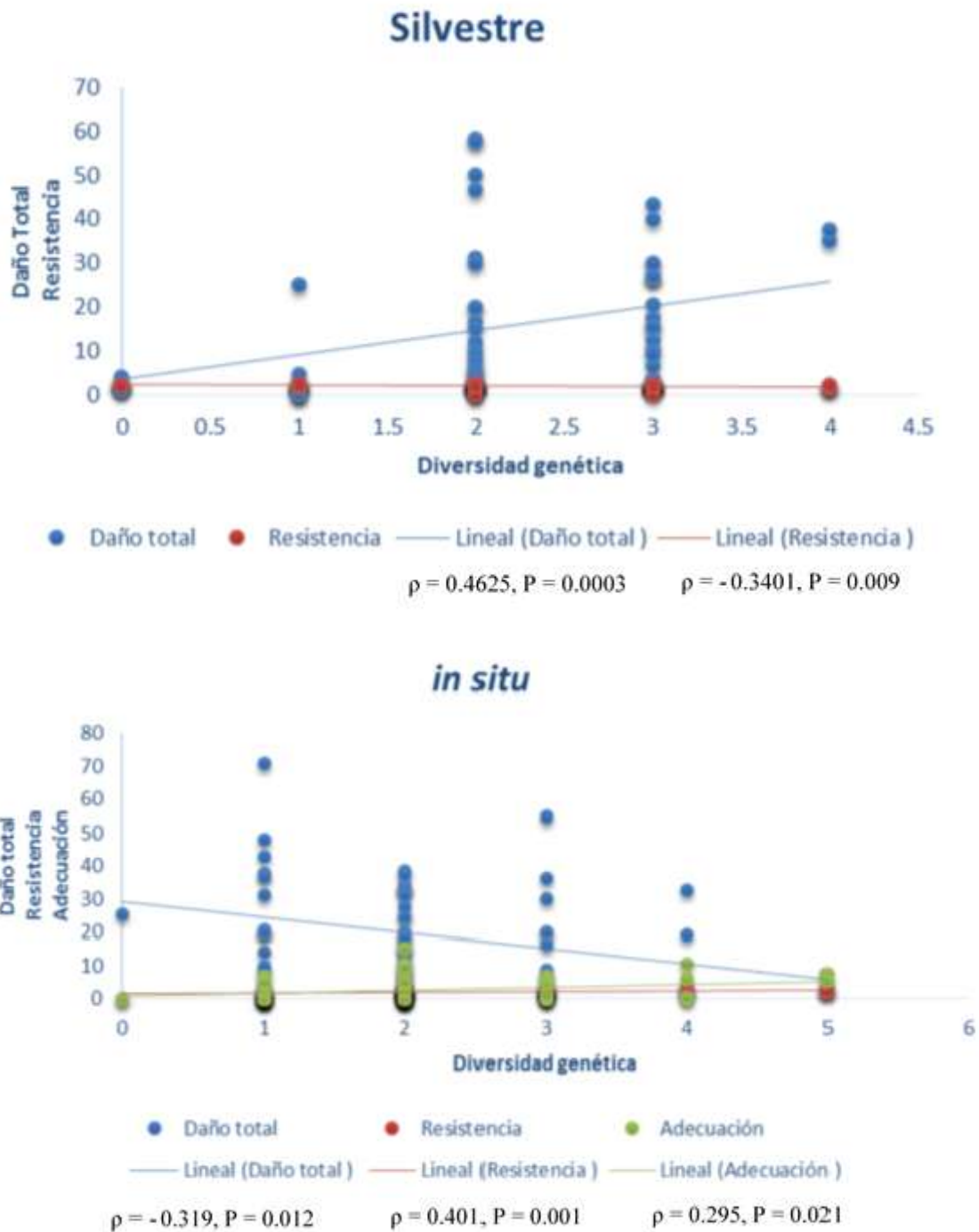


Figura 13. Diagrama de dispersión entre la Diversidad Genética y el Daño Total, la Resistencia y la Adecuación en el manejo silvestre y en el manejo *in situ* de *S. stellatus*.

## Entre regiones

Inicialmente se esperaba detectar una reducción en la diversidad genética en el Valle de Tehuacán con respecto a la Mixteca Baja a consecuencia de un manejo histórico con base en los hallazgos arqueológicos del uso de *S. stellatus* en la fase Abejas (5400-4300 años A.P.) y Palo Blanco (2150-1300 años A.P.) en el Valle de Tehuacán (MacNeish y Smith, 1967). Se planteó entonces que, entre menor diversidad genética mayor sería el daño en las plantas. De acuerdo con Bravo-Aviles (2017) el Valle de Tehuacán sí presentó significativamente mayor daño con respecto a la Mixteca Baja pero no presentó diferencias significativas en la diversidad genética. La correlación de Spearman no mostró significancia. Esto sugiere que el manejo está teniendo cambios genéticos entre las plantas domesticadas y sus parientes silvestres y que hay condiciones ambientales que han favorecido la presencia de daño que no fueron evaluadas, por lo que es necesario ampliar el estudio incluyendo análisis con componentes abióticos como factores climáticos y/o edáficos así como interacción planta – patógeno.

En cuanto a las correlaciones entre la diversidad genética con los mecanismos de defensa no se presentaron relaciones significativas. El daño total y biológico se correlacionó negativamente con la resistencia y esta última se correlacionó positivamente con la adecuación. Se asume entonces que entre mayor es la resistencia que presentan las plantas son menos susceptibles al ataque de herbívoros y/o patógenos observándose menor daño en ellas y a su vez, entre mayor resistencia las plantas producen mayor número de frutos.

Bravo-Aviles (2017) manifestó una incertidumbre en consideración a si el daño está dado por la reducción del número de espinas o si las plantas dañadas están perdiendo las espinas después de sufrir el daño. Esto y la disyuntiva en la correlación entre la diversidad genética y la resistencia en el manejo silvestre e *in situ* ( $\rho = - 0.3401$ ,  $P = 0.009$ ;  $\rho = 0.401$ ,  $P = 0.001$ ) respectivamente, sugieren la necesidad de abordar la respuesta al daño a partir del análisis de otros componentes de resistencia como la interacción planta – patógeno.

## Conclusiones

- La diversidad genética disminuyó significativamente en las poblaciones cultivadas respecto a las poblaciones con manejo *in situ* y las poblaciones silvestres, lo que sugiere que la domesticación ha generado alteraciones en la variación genética. De esta manera se demostró la primera hipótesis planteada en el estudio.
- De acuerdo con Bravo-Aviles (2017) el Valle de Tehuacán presenta significativamente mayor daño respecto a la Mixteca Baja. En cuanto a la diversidad genética no se observaron diferencias significativas entre regiones por lo que no se cumplió la hipótesis de un manejo histórico. Se propone un estudio filogeográfico de la especie con el fin de dilucidar su origen y diversificación.
- Se encontraron cuatro grupos genéticos obtenidos por el programa STRUCTURE, este resultado fue confirmado con la prueba de Evanno. Se observó que el flujo génico es entre poblaciones silvestres y domesticadas y de acuerdo al fenograma obtenido en las distancias de Nei, se asociaron regionalmente.
- Las correlaciones entre la diversidad genética y el daño total mostraron dos relaciones significativas, la primera en el manejo silvestre (positiva) y la segunda en el manejo *in situ* (negativa), esta divergencia sugiere que el daño además de estar relacionado con la diversidad genética de las plantas, también está relacionado con las prácticas de manejo.

- El manejo *in situ* apoyó las hipótesis planteadas: relación negativa entre la diversidad genética y el daño total, daño total y biológico con la resistencia, entre el daño total con la tolerancia y correlación positiva entre la diversidad genética con la resistencia y adecuación con resistencia.
- Se asume que una mayor diversidad genética se relaciona con menor daño total y mayor resistencia ante el ataque de herbívoros y/o patógenos y que esta última se relaciona con mayor número de frutos.
- El daño se correlacionó negativamente con la resistencia y la tolerancia, lo que indica que las plantas con menor daño tienen mayor cantidad de espinas y mayor número de ramas. Sin embargo, se sugiere que *S. stellatus* está optando por la resistencia como principal mecanismo de defensa, debido a que se correlacionó con la adecuación tanto por forma de manejo como por región, a diferencia de la tolerancia que sólo se correlacionó con el daño total.
- El manejo de organismos por selección artificial puede incidir en la diversidad genética de la especie y esta a su vez afectar la respuesta de las plantas al ataque de herbívoros y/o patógenos manifestando un daño o enfermedad de la planta, pero este no afecta la adecuación.
- Entre regiones, no se encontró correlación entre la diversidad genética con los niveles de daño, la adecuación y los mecanismos de defensa, pero sí entre los niveles de daño con la resistencia y esta última con la adecuación, por lo que se descarta la hipótesis de un manejo histórico en el Valle de Tehuacán lo que sugiere que el manejo está teniendo cambios genéticos

entre las plantas domesticadas y sus parientes silvestres, apoyando así la hipótesis del efecto de la domesticación.

- Se considera que al ampliar el análisis aumentando el número de individuos, poblaciones, marcadores moleculares e implementando estudios de interacción planta – patógeno y análisis de componentes abióticos de las poblaciones estudiadas será posible esclarecer de manera consistente los resultados obtenidos.
- Se propone una hipótesis del comportamiento de la diversidad genética por forma de manejo (Figura 14). De manera que, en las poblaciones silvestres la diversidad genética está en equilibrio siendo muy importante para su conservación, en donde se están seleccionando fenotipos resistentes, con menor daño y sin afectar la adecuación; en las plantas con manejo *in situ* la diversidad genética tiende a una selección direccional mediante individuos fenotípicamente menos dañados con mayor resistencia y a su vez mayor producción de frutos y en las plantas cultivadas la diversidad genética se pierde debido a que el cultivo de la especie es mediante esquejes, favoreciendo ciertos genotipos. De manera que no se encuentran correlaciones (Figura 14).



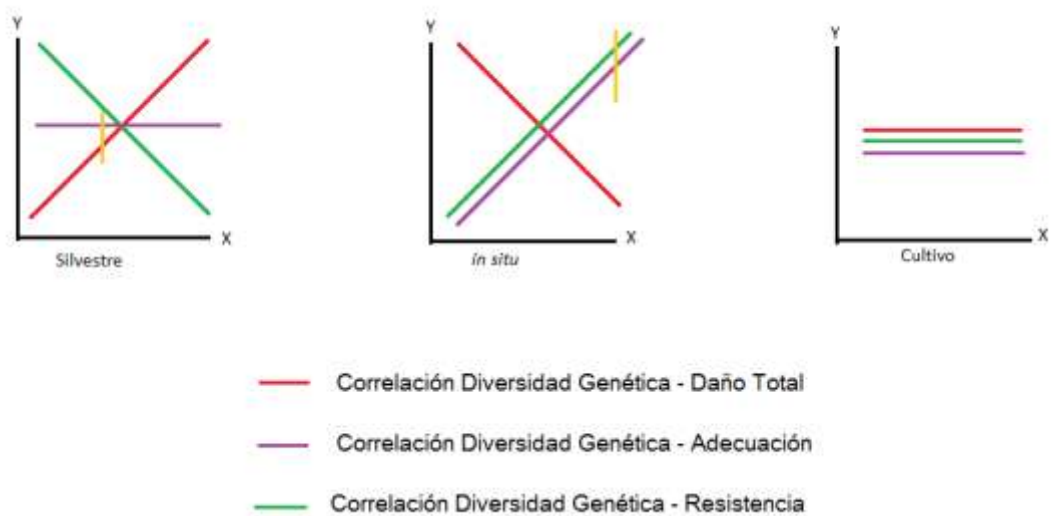


Figura 14. Hipótesis con base en las correlaciones de la diversidad genética por forma de manejo. La línea amarilla representa el momento de la selección.

## Referencias

Balloux, F. y Goudet, J. (2002). Statistical properties of population differentiation estimators under stepwise mutation in a finite island model. 4: 771-783.

Bazzas, F., Chiarello, N., Coley, P y Pitelka, L. (1987). Allocationg resources to reproduction and defense. *BioSci.* 37:58-67.

Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Arrufaste, N. y Bonhomme, F. (2004). GENETIX 4.5.2, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000. Université de Montpellier II, Montpellier, France.

Benrey, B., Callejas, A., Rios, L., Oyama, K., y Denno, R. (1998). The effects of domestication of *Brassica* and *Phaseolus* on the interaction between phytophagous insects and parasitoids. *Biol. Control* 11: 130-140.

Berenbaum, M., Zangerl, A. y Nitao, J. (1986). Constraints on chemical coevolution: wild parsnips and the parsnips webworm. *Evolution*, 1215-1228.

Bhupendra, C. (2013). Plant Domestication and Resistance to Herbivory. Hindawi Publishing Corporation International Journal of Plant Genomics.

Blancas, J., Casas, A., Lira, R. y Caballero, J. (2009). Traditional management and morphological patterns of *Myrtillocactus schenckii* (Cactaceae) in the Tehuacan Valley, Central Mexico. *Economic Botany* 63: 375-387.

Blancas, J., Casas, A., Pérez-Salicrup, D., Caballero, J. y Vega, E. (2013). Ecological and sociocultural factors influencing plant management in Náhuatl communities of the Tehuacán Valley, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 9: 39.

Blancas, J., Casas, A., Rangel-Landa, S., Torres, I., Pérez-Negrón, E., Solís, L., *et al.* (2010). Plant management in the Tehuacan Valley. *Economy Botanic*. 64(4): 287-302.

Blancas, J., Parra, F., Lucio, J., Ruíz, Ma., Pérez, E., Otero, A., Pérez, N. y Casas, A. (2006). Manejo tradicional y conservación de la biodiversidad de *Polaskia* spp. (Cactaceae) en México. *Zonas Áridas*.

Blancas, J., Pérez-Salicrup, D. y Casas, A. (2014). Evaluando la incertidumbre en la disponibilidad de recursos vegetales. *Gaia Scientia (Volume Especial Populações Tridicionais)* pp. 137-160

Boshier, D., Chase, M. y Bawa, K. (1995). Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree. *American Journal of Botany* 82: 476–483.

Boyd, L., Ridout, C., O'Sullivan, D., Leach, J. y Leung, H. (2013). Plant-pathogen interactions: disease resistance in modern agriculture. *Trends in Genetics* 29(4): 233–240.

Bravo-Aviles, D. (2017). Variación en los niveles de daño, mecanismos de defensa y adecuación en dos cactáceas columnares del centro de México bajo domesticación. Tesis doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana.

Bravo-Aviles, D., Rendón-Aguilar, B., Zavala-Hurtado, J. A. y Fornoni, J. (2014). Primer registro de *Cactophagus spinolae* (Coleoptera: Curculionidae) sobre dos especies de *Stenocereus* (Cactaceae) en el centro de México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 85(3), 972-974.

Bravo-Aviles, D., Navarrete-Heredia, J. y Rendón-Aguilar, B. (En prensa). New Hosts of Insects Associated with the Process of Rot Damage in Edible Columnar Cacti of Central Mexico. *Southwestern Entomologist*. 44(3).

Bravo, H. (1978). Las cactáceas de México. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México. 743 p.

Castagneyrol, B., Lagache, L., Giffard, B., Kremer, A. y Jactel, H. (2012). Genetic Diversity Increases Insect Herbivory on Oak Saplings. *PLOS ONE*.

Campo, A. (2014). Manejo de enfermedades en cultivo tropicales. Universidad de Córdoba. Montería, Córdoba, Colombia. 673 p.

Casas, A. (2001). Silvicultura y domesticación de plantas en Mesoamérica. En: Plantas, cultura y sociedad. Eds. Rendón, B., Rebollar, S., Caballero, J. y Martínez, M. México. pp. 123-157.

Casas, A. (2002). Uso y manejo de cactáceas columnares mesoamericanas. CONABIO. Biodiversitas 40:18-23.

Casas, A. y Caballero, J. (1996). Traditional management and morphological variation in *Leucaena esculenta* (Fabaceae: Mimosoideae) in the Mixtec region of Guerrero, Mexico. Economic Botany. 50: 167-181.

Casas, A. y Caballero, J. (1998). Diversidad morfológica y genética de xoconochtli *Stenocereus stellatus* (Pfeiffer) Riccob. (Cactaceae): conocimiento, uso y estrategias para su conservación. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. G023. México D.F.

Casas, A., Caballero, J., Valiente, A., Soriano, A. y Dávila, P. (1999). Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central Mexico. American Journal of Botany 86: 522-533.

Casas, A., Camou, A., Rangel-Landa, S., Solís, L., Torres, I., Delgado-Lemus, A., Moreno Calles, A., Vallejo, M., Guillén, S., Blancas, J., Parra, F., Aguirre, X., Farfán-Heredia, B., Arellanes, Y. y Pérez-Negrón, E. (2014). Manejo tradicional de biodiversidad y ecosistemas en Mesoamérica: El Valle de Tehuacán. *Investigación Ambiental, Ciencia y Política Pública*, 6 (2): 23-44.

Casas A., Cruse-Sanders, J., Morales, E., Otero-Arnaiz, A. y Valiente-Banuet, A. (2006). Maintenance of phenotypic and genotypic diversity in managed populations of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) by indigenous peoples in Central Mexico. *Biodiversity and Conservation*. 1-20.

Casas, A., Otero-Arnaiz, A., Pérez-Negrón, E y Valiente-Banuet, A, (2007). *In situ* management and domestication of plants in Mesoamerica. *Annals of Botany* 100: 1101-1115.

Casas, A. y Parra, F. (2016). Capítulo 5. La domesticación como proceso evolutivo. En: Casas, A., Torres-Guevara, J. y Parra, F. (Eds.). *Domesticación en el continente americano. Volumen 1. Manejo de biodiversidad y evolución dirigida por las culturas del Nuevo Mundo*. Universidad Nacional Autónoma de México /Universidad Nacional Agraria La Molina, pp. 133-158.

Casas, A., Parra, F. y Blancas, J. (2015). Evolution of humans and by humans. Albuquerque, U.P. Medeiros., P. y Casas, A. (Eds.). *Evolutionary ethnobiology*. Springer, Países bajos, pp. 21-36.

Casas, A., Pickersgill, B., Caballero, J., y Valiente-Banuet, A. (1997). Ethnobotany and domestication in Xoconochtili, *Stenocereus stellatus* (Cactaceae), in the Tehuacán Valley and La Mixteca Baja, México. *Economic Botany* 51: 279-292.

Chapuis, M. y Estoup, A. (2007). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular and Biology Evolution*, 24: 621- 631.

Crawford, K., Crutsinger, G. y Sanders, N. (2007). Host-plant genotypic diversity mediates the distribution of an ecosystem engineer. *Ecology*. 88: 2114-2120.

Cronin, J. y Abrahamson, W. (2001). Goldenrod stem galler preference and performance: effects of multiple herbivores and plant genotypes. *Oecologia*. 27: 87-96.

Cruse-Sanders, J., Parker, K., Friar, E., Huang, D., Mashayekhi, S., Prince, L., Otero-Arnaiz, A. y Casas, A. (2013). Managing diversity: Domestication and gene flow in *Stenocereus stellatus* Riccob. (Cactaceae) in Mexico. *Ecology and Evolution* 3: 1340-1355.

Cruz, M. y Casas, A. (2002). Morphological variation and reproductive biology of *Polaskia chende* (Cactaceae) under domestication in Central Mexico. *Journal of Arid Environments* 51: 561-576.

Darwin, C. (1859). The origins of species by means in natural selection or the preservation of favoured races in the struggle for life. John Murray, London.

Dávila, P., Arizmendi, M., Valiente-Banuet, V., Villaseñor, J., Casas, A. y Lira, R. (2002). Biological diversity in Tehuacan-Cuicatlan Valley, Mexico. *Biodiversity Conservation*. 11:421-442.

Doebley, J., Gaut, B. y Smith, B. (2006). The Molecular Genetics of Crop Domestication. *Cell*: 1309-1321.

Earl, D. y VonHoldt, B. (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* vol. 4 (2) pp. 359-361 doi: 10.1007/s12686-011-9548-7

Ehrlich, P. y Raven, P. (1964). Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.

Espinosa, E. y Fornoni, J. (2006). Host tolerance does not impose selection on natural enemies. *The New phytologist* 170 (3): 609-614.

Evanno, G., Regnaut, S. y Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8): 2611-2620.



Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S. (2005). Arlequín ver. 3.1: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1: 47-50.

Excoffier, L., Smouse, P y Quattro, J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*.

Fineblum, W. y Rausher, M. (1995). Trade off between resistance and tolerance to herbivore damage in a morning glory. *Nature* 377: 517-520.

Fornoni, J. y Núñez-Farfán, J. (2000). Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: genetic variation and cost for tolerance to defoliation. *Evolution* 54(3): 789-797.

Fleming, T., Nuñez, R. y Stenberg, L. (1993). Seasonal changes in the diets of migrant and non-migrant nectarivorous bats as revealed by carbon stable isotope analysis. *Oecologia* 94: 72-75.

Gepts, P. (2004). Crop domestication as a long-term selection experiment. *Plant Breeding Reviews* 24: 1-44.

Gepts, P. (2008). Plant genetic resources conservation and utilization: the accomplishments and future of a societal insurance policy. *Crop Sci.* 46: 2278-2292.

Gil, M. (2005). Disección genética del mecanismo de resistencia frente a patógenos biotrofos mediado por el gen CSB3 en *Arabidopsis thaliana*. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. 147 p.

Guzmán, U., Arias, S. y Dávila, P. (2003). Catálogo de cactáceas mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 315 p.

Hamrick, J., Linhart, Y. y Mitton, J. (1979). Relationships Between Life History Characteristics and Electrophoretically Detectable Genetic Variation in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics.* 10:173-200

Harlan, J. (1975). *Crops and man.* American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, USA.

Harlan, J. (1992). Origins and processes of domestication. *En:* Chapman, G. Ed. *Grass Evolution and Domestication*, pp. 159-175, Cambridge University Press, Cambridge.

Hedrick, P. (2005). A standardized genetic differentiation measure. *Evolution.* 59: 1633-1638.

Hernández-Hernández, T., Hernández, H., De-Nova, A., Puente, R., Eguiarte, L. y Magallón, S. (2011). Phylogenetic relationship and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany*. 98: 44-61.

Hernández, V., Vargas, Ma., Muruaga, J., Hernández, S. y Mayek, N. (2013). Origen, domesticación y diversificación del frijol común. *Avances y perspectivas. Revista fitotecnia mexicana*. 36: 95-104.

Hyten, D., Song, Q., Zhu, Y., Chou, R., Nelson, J., Costa, J., Spech, J., Shoemaker, R., y Cregan, P. (2006). Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 103: 16666-16671.

Jaenicke-Després, V., Bucklerz, Ed., Smith, B., Thomas, M., Cooper, A., Doebleys, J. y Pääbo, S. (2003). Early allelic selection in maize as revealed by ancient DNA. *Science*.

Johnson, M y Agrawal, A. (2005). Plant genotype and environment interact to shape a diverse arthropod community on evening primrose (*Oenothera biennis*). *Ecology*. 86: 874-888.

Keen, N. (1990). Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions. *Annu. Rev. Genet.* 24: 447- 463.

Kimura, M. y Crow, J. (1964). The Number of Alleles That Can Be Maintained in a Finite Population. *Genetics*. 4: 725-738.

Kimura, M. y Ohta, T. (1978). Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *PNAS*. 6: 2868- 2872.

Koopman, K. (1981). The distributional patterns of new world nectar-feeding bats. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68: 352-369.

Kovach, M., McCouch, S. (2008). Leveraging natural diversity: back through the bottleneck. *Curr Opin. Plant Biol.*, 11: 193-200.

Langella, O. (1999). POPULATIONS 1.2.32: a population genetic software. <http://www.mybiosoftware.com/populations-1-2-32-population-genetic-software.html>

Lindig, R. y Casas, A. (2013). Experiencias docentes en integración de conocimientos ambientales en comunidades rurales. En: Camou-Guerrero, A., Castillo, A. y García-Frapolli, E. (Eds.). *Procesos de formación educativa interdisciplinaria: miradas desde las Ciencias Ambientales*. CIEco, UNAM, Morelia. pp. 125-144.

Luna-Morales, C. (2004). Recolección, cultivo y domesticación de cactáceas columnares en la Mixteca Baja, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 10: 95-102.

MacNeish, R. (1967). An interdisciplinary approach to an archaeological problema. In: Byers, D. (ed.). *The prehistory of the Tehuacan Valley. Volumen one: Environment and subsistence*. University of Texas Press. Austin Texas, USA. pp. 14-24.

Marquis, R. (1992). The selective impact of herbivores. In *Plant resistance to herbivores and pathogens. Ecology, evolution, and genetics*. The University of Chicago Press, Chicago.

Martínez, Rosa., Tuya, L., Martínez, M., Pérez, A., y Cánovas, A. (2009). El coeficiente de correlación de los rangos de Spearman caracterización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 8(2).

Mauricio, R., Rausher, M. y Burdick, D. (1997). Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? *Ecology* 78: 1301-1311.

Maxted, N., Ford-Lloyd, B. y Hawkes, J. (2013). *Plant genetic conservation: the in situ approach*. Springer Science & Business Media.

Núñez-Farfán, J. y Dirzo, R. (1994). Evolutionary Ecology of *Datura stramonium* L. In Central Mexico: Natural Selection for Resistance to Herbivorous Insects. *Evolution* 48. 2: 423-436.

Otero-Arnaiz, A., Cruse-Sanders, J., Casas, A. y Hamrick, J. (2004). Isolation and characterization of microsatellites in the columnar cactus: *Polaskia chichipe* and cross species amplification within the Tribe Pachycereae (Cactaceae). *Molecular Ecology Notes*. 4: 265-269.

Otero-Arnaiz, A., Casas, A., Hamrick, L. y Cruse-Sanders, J. (2005). Genetic variation of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacan Valley, central Mexico. *Molecular Ecology*. 14: 1603-1611.

Parra, F., Pérez, N., Lira, R., Pérez, D. y Casas, A. (2008). Population genetics and process of domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, Mexico. *Journal of Arid Environments* 72: 1997-2010.

Peakall, R. y Smouse, P. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.

Pickersgill, B. (2007). Domestication of plants in the Americas: Insights from mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany* 100: 925-940.

Pimienta, B., Ovalle, P. y Covarrubias, L. (1999). Descripción de los sistemas de producción de pitayo. En: El pitayo en Jalisco y especies afines en México. Pimienta, B. (Ed). Universidad de Guadalajara, 1999. Fundación produce Jalisco, A.C. Jalisco, México. Pp 91-113.

Pritchard, J., Stephens, M. y Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.

Raymond, M. y Rousset, F. (1995). Genepop: population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal Heredity* 86: 248-249.

Rendón, B. y Núñez-Farfán, J. (1998). Genética evolutiva del proceso de domesticación en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 63:131-151.

Rice, W. (1989). Analyzing tables of statistical test. *Evolution*, 43: 223-225.

Rindos D. (1980). Symbiosis, instability, and the origins and spread of agriculture: A New Model. *Current Anthropology* 6: 751-772.

Rodríguez, I., Casa, A., Lira, R. y Campos, J. (2006). Uso, manejo y procesos de domesticación de *Pachycereus hollianus* (f.a.c. Weber) Buxb. (Cactaceae), en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. *Interciencia Association* 31:677-685.

Rosenthal, J. y Dirzo, R. (1997). Effects of life history, domestication and agronomic selection on plant defence against insects: evidence from maizes and wild relatives. *Evolutionary Ecology* 11: 337-355.

Schaller, A. (2008). *Induced plant resistance to herbivory*. Germany: Springer.

Schlötterer, C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma* 109: 365-371.

Schwanitz, F. (1966). *The origin of cultivated plants*. Harvard University Press. Cambridge.

Smale, S. (2012). Transcriptional regulation in the innate immune system. *Current Opinion in Immunology* 24(1): 51–57. doi: 10.1016/j.coi.2011.12.008

Smith, C. (1967). Plant Remains. In: Byers, D. (ed.). *The prehistory of Tehuacan Valley*. University of Texas Press. Austin, Texas, USA. pp. 220-225.

Sneath, P. y Sokal, R. (1973). *Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification*. Freeman, San Francisco, CA.

Strauss, S. y Agrawal, A. (1999). The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology & Evolution* 14: 179-185.



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

Valiente-Banuet, A., Arizmendi, M., Rojas-Martínez, A. y Domínguez-Canseco, L. (1996). Ecological relationship between columnar cacti and nectar feedings bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 12: 103-119.

Valverde, P., Fornoni, J. y Núñez-Farfán, J. (2003). Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: equal plant fitness benefits of growth and resistance against herbivory. *Journal of Evolutionary Biology* 16(1): 127-137.

Van der Meijden., Wijn, E. y Verkaar, J. (1988). Defence and regrowth: alternative plant strategies in the struggle against herbivores. *Oikos* 51: 355-363.

Van Kan, J., Joosten, M., Wagemakers, C., Van den Berg-Velthuis, G. y de Wit, P. (1992). Differential accumulation of mRNAs encoding extracellular and intracellular PR proteins in tomato induced by virulent and avirulent races of *Cladosporium fulvum*. *Plant Mol. Biol.* 20: 513-527.

Van Oosterhout, C., Hutchinson, W., Willis, D. y Shipley, P. (2004). MICROCHECKER software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellites data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-538.

Villalobos, S., Vargas, O. y Melo, S. (2007). Usage, management and conservation of “yosu”, *Stenocereus griseus* (Cactaceae), in the upper Guajira, Colombia. *Acta Biologica Colombiana*. 12: 99-112.

Weir, B. y Cockerham, C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00183

Matrícula: 2153804072

Estructura genética y niveles de daño en poblaciones de *Stenocereus stellatus* (Pfeiffer) Riccobono, sujetas a diferentes formas de manejo.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 13:00 horas del día 6 del mes de noviembre del año 2019 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DR. JORDAN KYRIL GOLUBOV FIGUEROA
- DR. DAVID BRAVO AVILEZ
- DR. CARLOS FABIAN VARGAS MENDOZA
- DR. JOSE JUAN BLANCAS VAZQUEZ




VERONICA PATIÑO LOPEZ  
ALUMNA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA

DE: VERONICA PATIÑO LOPEZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

*Aprobar*

REVISÓ



MTRA. ROSALVA BERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS




DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTE




DR. JORDAN KYRIL GOLUBOV FIGUEROA

VOCAL



DR. DAVID BRAVO AVILEZ

VOCAL



DR. CARLOS FABIAN VARGAS MENDOZA

SECRETARIO



DR. JOSE JUAN BLANCAS VAZQUEZ