



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

Programa de Estudios de Posgrado

**ESTUDIO ECOLÓGICO Y GENÉTICO DEL  
CARDÓN (*Pachycereus pringlei*)  
EN EL DESIERTO SONORENSE**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de

**Doctor en Ciencias**

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos  
Naturales  
(Orientación en Ecología)

p r e s e n t a

**Alfonso Medel Narváez**

**La Paz, B.C.S. Septiembre de 2008**

## **COMITÉ TUTORIAL**

Dr. José Luís León de la Luz (CIBNOR)  
Director de Tesis

Dr. Francisco E. Molina Frenaner (UNAM)  
Co-Director de Tesis

Dra. Norma Y. Hernández Saavedra (CIBNOR)  
Co-Tutora

Dra. G. Fabiola Arcos Ortega (CIBNOR)  
Co-Tutora

Dr. Ricardo Vázquez Juárez (CIBNOR)  
Co-Tutor

## **JUTADO DE EXAMEN DE GRADO**

Dr. José Luís León de la Luz

Dr. Francisco E. Molina Frenaner

Dra. Norma Y. Hernández Saavedra

Dra. Sara C. Díaz Castro

Dr. Francisco J. García de León.

## RESUMEN

*Pachycereus pringlei* representa una especie de gran interés de estudio para botánicos, ecólogos y evolucionistas. Llama la atención como ha logrado adaptarse a las distintas condiciones del ambiente en el territorio peninsular, insular y continental. A pesar de su valor ecológico poco se ha documentado de esta especie emblemática del desierto.

La presente investigación parte de realizar muestreos en su amplia zona de distribución natural. Entre varios resultados se encontró que las poblaciones al sur de la península presentan densidades que van de 22 a 554 ind/ha., en Sonora de 27 a 88 y las islas de 202 a 10,250. Solo en la península las poblaciones son más densas al sur que al norte, mientras que en Sonora se comportan de manera homogénea. Solo en la península se puede observar que la altura media y el diámetro promedio de los individuos se asocia negativamente con la densidad poblacional y precipitación de verano, pero positivamente con las temperaturas más frías en invierno, es decir que a temperaturas menos frías en invierno presenta mayor densidad poblacional. En general la altura promedio de los individuos maduros es menor en las islas que en el resto de las poblaciones.

El índice de regeneración para los individuos en el norte de la península fue de 22 %, al sur fue de 24 %, en Sonora de 19 % y en las islas de 41 %. Este porcentaje representa la proporción de individuos hasta un metro de altura (plántulas y pre-juveniles de menos de 15 años de edad), estos porcentajes son relativamente altos considerando que el resto de los individuos se encuentran en categorías que llegan a 17m.

Las islas tienen la característica de presentar individuos menos ramificados que las poblaciones sonorenses y peninsulares, en Sonora por ejemplo, se presentó el individuo más ramificado con 132 brazos. Así mismo los individuos ramificados en las islas presentan un tronco de porte bajo y de diámetro promedio menor que los individuos del resto de su distribución.

La estructura poblacional del cardón se asemeja al de tipo de estructura en pulsos, caracterizados por la alternancia de periodos que promueven un alto reclutamiento (adecuada dispersión, precipitación y temperatura ambiental, ausencia de consumidores). De manera particular, los individuos de la península expresan características morfológicas y ecológicas que se asocian a un patrón latitudinal. Se documenta que la precipitación juega un papel importante en la estructura poblacional, abundancia y ciertos rasgos morfológicos.

En esta investigación se realiza un análisis detallado de los sistemas reproductivos, se describen poblaciones hermafroditas en al menos dos islas cercanas a la península. De esta manera se concluye que el cardón experimenta un gradiente evolutivo que va de sistemas hermafroditas a trioicos, presentando un estado intermedio denominado ginodioico. El dioicismo es considerado la etapa final de del desarrollo de los sistemas reproductivos, lo que hace suponer que eventualmente las poblaciones trioicas con baja proporción de hermafroditas sean las primeras en evolucionar al dioicismo. En la península se observa una alta proporción de individuos masculinos, que va de mayor a menor proporción de sur a norte, al grado de estar ausente en el límite norteño. En Sonora se observa un patrón similar, pero donde la abundancia

de individuos masculinos disminuye hacia al sur, donde solo se encuentran sistemas ginodioicos. Adicionalmente se observa que la frecuencia de individuos hermafroditas se asocia positivamente con la latitud en la península y negativamente en Sonora. Solo se detectaron dos poblaciones ginodioicas, una en el extremo norte de la península y la otra en el extremo sur de Sonora.

Se evaluaron PCR-SSCP, PCR-cpSSR, PCR-RFLP y secuenciación con la finalidad de observar variaciones alélicas del cloroplasto dentro y entre poblaciones, y relacionarlas con las expresiones sexuales. La evaluación de cpADN por lo métodos utilizados describe que existe una muy baja variación genética entre poblaciones.

Se discute la baja variabilidad haplotípica como un “cuello de botella”, resultante tal vez del último eventos glaciario del pleistoceno, seguido de una muy rápida expansión durante el último periodo xerotérmico, hace pocos miles de años, a partir de un solo genotipo materno. Se registra hasta el momento la variación haplotípica mas baja reportada hasta el momento en cactáceas. Se recomienda el análisis del mtADN para evaluar la variación genética de los sistemas reproductivos.

Palabras Clave: Patrón latitudinal, estructura poblacional, abundancia, trimorfismo sexual, baja diversidad haplotípica, evolución de sistemas reproductivos.

## ABSTRACT

*Pachycereus pringlei* represents an interesting plant species for botanists, ecologists and “evolutionary”. It is noticeable how this plant species has become adapted to different environmental conditions along the peninsular, insular and continental territory. Despite its ecological significance little is documented for this plant species considered an emblem of the desert.

This investigation started from field sampling of cardón along its broad distribution. Among several findings it was observed that southern populations in the península have plant densities from 22 to 554 ind/ha, while in Sonora plant density ranged from 27 to 88 and from 202 to 10,250 in the islands. Only in Peninsula it was observed that the average size and average diameter were negatively correlated to plant density and summer rainfall, but there were positively correlated to the coldest temperatures in the winter, meaning that warm winters are associated to high plant densities. In general, mature individuals in islands averaging shorter size than rest of populations.

Recruitment index in northern Peninsula was 22%, in southern was 24%, in Sonora it was 19%, while Islands is more than 41%. These percentages represent the proportion of individuals up to one meter of size (seedlings and pre-juveniles less than 15 years old). Those percentages are relatively higher considering that most of individuals belong to classes higher to 1m and up to 17 m. Population structure follow a pulse type structure formed by alternating climatic conditions in terms of decades and relative high mortality in some size classes

Islands have individuals distinctively less branched than Sonoran and Peninsular regions. In Sonora for instance, there was observed the most branched individual (132 branches). Moreover, individual in the islands have a smaller height of trunk and trunks with an averaging diameter lower than those at other sites.

In this investigation, a detailed analysis of breeding systems is made. The conclusion is that *P. pringlei* express a evolutionary gradient from hermaphrodite to trioecious, where gynodioecy is present too. Dioecy is considerate as final stage of evolutionary process of breeding systems, this permit to suppose that trioecious population with less represented proportion of hermaphrodite individuals eventually trends to be dioecy. In peninsula, male proportion increase from north to south and hermaphrodite increase from south to north. There are only two gynodioecious regions, one on the northern border of the peninsula and other located in the southern border of Sonora. In Sonora present a inverse latitudinal pattern, where male proportion increase to north and hermaphrodite increase to south

PCR-SSCP, PCR-cpSSR, PCR-RFLP and sequencing were used to explore genetic variation in *P. pringlei* in all its geographic distribution. Molecular markers indicate no variation between populations and sequencing show a net of 4 haplotypes that not show

association with geographical distribution of breeding systems. Analysis show no variation among sex and genetic variation.

Is discussed the low genetic variation promoted for bottlenecks resulting from glaciation events and a relative high colonization of actual territory in xerothermic periods in a few thousand of years. This indicates that actual genetic variation comes from a single maternal lineage. This is the first time that low genetic variation is documented for columnar cacti. Is recommended use mitochondrial genome in order to explore association between breeding systems and genetic variation.

Key words: Latitudinal pattern, population structure, abundance, sexual trimorphism, haplotype diversity, breeding systems evolution.

## DEDICATORIA

A Blanquita,  
que por mas de quince años me has apoyado incondicionalmente y que representaste  
el principal motivo y apoyo para la realización de esta tesis.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo otorgado a través de la beca 158498. Así mismo por el apoyo otorgado para el traslado y manutención de la estancia realizada en la Universidad Estatal de Oregon.

A las autoridades de la Dirección de posgrado del CIBNOR por las facilidades otorgadas durante la realización de este estudio.

Al proyecto SEMARNAT-CONACyT Estudio ecológico y genético del cardón (*Pachycereus pringlei*) en el Desierto Sonorense, por el financiamiento para realizar esta tesis

A mi comité tutorial: Al Dr. José Luís León, por permitirme nuevamente estar bajo su dirección, agradecerle la gestión de recursos económicos para la realización de esta tesis y darme la oportunidad de recorrer, aunque sea de pasadita, toda la Península. Al Dr. Francisco Molina por su trato amable y su apoyo incondicional en la dirección de esta tesis, también agradezco su esfuerzo en la realización de los dos manuscritos. A la Dra. Norma Hernández por su amistad y motivación para continuar con el estudio del análisis genético, además me ofreció desinteresadamente hacer uso de material y equipo de su laboratorio. A la Dra. Fabiola Arcos que me motivo a aventurarme a explorar el análisis genético, por su valiosa amistad y sus acertados comentarios en la tesis. Al Dr. Ricardo Vázquez, por sus comentarios acertados a los avances de tesis y por la pronta respuesta ante urgencias académicas.

Al Dr. Richard Cronn, que de manera desinteresada me proporcionó materiales y reactivos para evaluar la variabilidad genética en mi estancia con Corvallis, OR.

A Sadiel, Daniel, Jechu, Ray y Don Miguiel, que fueron parte importante en el equipo de campo y que sin su ayuda no se pudo haber obtenido los valiosos datos que encierra este estudio.

A Delia, por su sincera amistad y por el trato personalizado y paciencia del que fui acreedor en el laboratorio, espero haber sido un buen saltamontes.

A mis papas, y hermanitos por expresar su orgullo y apoyo incondicional y demostrar que no importa la distancia para sentir sus manos en mi hombro.

A Fausto y Mariana, que me han permitido ausentarme del trabajo para concluir este valioso propósito en mi vida.



## CONTENIDO

<b>CONTENIDO</b> .....	i
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	iii
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.- Abundancia y estructura poblacional de <i>Pachycereus pringlei</i> .....	4
1.1. ANTECEDENTES.....	5
1.1.3. Generalidades.....	5
1.1.1.- Especie de estudio.....	6
1.1.2.- Biología floral.....	9
1.1.4. Las cactáceas columnares.....	12
1.1.5. Ecología poblacional.....	14
1.1.5. Estructura poblacional.....	17
1.1.6. Densidad Poblacional.....	19
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	20
1.3. HIPOTESIS.....	22
1.4. OBJETIVOS.....	22
1.5. MATERIALES Y METODOS.....	23
1.5.1. Área de estudio.....	23
1.5.2. Densidad poblacional.....	23
1.5.3. Estructura poblacional.....	24
1.5.4. Índice de regeneración.....	25
1.5.5. Análisis estadístico.....	26
1.6. RESULTADOS.....	28
1.6.1. Abundancia.....	28
1.6.2. Efecto latitudinal.....	28
1.6.3. Influencia del clima.....	34
1.6.4. Regeneración.....	38
1.6.5. Características de individuos ramificados.....	38
1.6.6. Estructura poblacional.....	41
1.7. DISCUSIÓN.....	46
1.8. LITERATURA CITADA.....	53
CAPITULO II.- Sistemas reproductivos y variabilidad genética de <i>Pachycereus pringlei</i> .....	56
2.1.- ANTECEDENTES.....	57
2.1.1.- Sistemas reproductivos.....	57
2.1.3.- Variabilidad genética.....	65
2.2.- JUSTIFICACIÓN.....	66
2.3.- HIPÓTESIS.....	69
2.4.- OBJETIVOS.....	69
2.5.- MATERIALES Y METODOS.....	70
2.5.1.- Área de estudio.....	70
2.5.2.- Sistemas reproductivos.....	70
2.5.3.- Extracción de ADN.....	72

2.5.4.- Amplificación de ADN .....	74
2.5.4.- PCR-SSCP .....	74
2.5.4.- cpSSR .....	76
2.5.5.- PCR-RFLP .....	79
2.5.6.- Secuenciación .....	81
2.5.6.- Análisis de datos .....	82
2.6.- RESULTADOS .....	84
2.6.1.- Sistemas reproductivos .....	84
2.6.2.- Extracción y amplificación de ADN .....	86
2.6.3.- PCR-SSCP .....	87
2.6.4.- PCR-cpSSR .....	89
2.6.5.- PCR-RFLP .....	91
2.6.6.- Secuenciación .....	93
2.6.6.1.- Polimorfismo .....	93
2.6.6.2.- Asociación del sexo y haplotipos .....	94
2.7.- DISCUSIÓN .....	96
2.8.- LITERATURA CITADA .....	106
2.8.- CONCLUSIONES .....	110

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa que muestra en la región sombreada la distribución de <i>Pachycereus pringlei</i> (Modificado de Turner et al. 1995). .....	8
Figura 2. Mapa de distribución del cardón, <i>Pachycereus pringlei</i> donde se muestra la localización geográfica de las 26 poblaciones de en el Desierto Sonorense (Modificado de Turner et al. 1995). La localización específica de las localidades se describe en la Tabla 1 (página 25). .....	24
Figura 3. Asociación entre la latitud con la abundancia de <i>Pachycereus pringlei</i> en: a) la Península de Baja California Sur y b) Sonora. ....	31
Figura 4. Correspondencia entre la abundancia de <i>Pachycereus pringlei</i> en condición Peninsular con: a) la altura media de los individuos adultos, y b) su diámetro basal. ....	32
Figura 5. Ausencia de relación entre la abundancia de <i>Pachycereus pringlei</i> con: a) el número de ramificaciones en individuos de la Península (círculos en negro) e individuos de Sonora (círculos en blanco), y b) la altura de la base a la primera ramificación en individuos Peninsulares. ....	33
Figura 6. Asociación entre la densidad media con a) la precipitación promedio de verano-otoño b) relación de la densidad por la precipitación promedio anual, y c) relación entre la abundancia media y la temperatura mínima de invierno, que corresponde a los meses de Diciembre, Enero, Febrero y Marzo. Los círculos en blanco corresponde a poblaciones Sonorenses y los círculos en negro corresponden a datos Peninsulares. ....	35
Figura 7. Relación directa entre la altura media de los individuos adultos y su diámetro. ....	36
Figura 8. Relación entre la abundancia en poblaciones Peninsulares con a) la altura media de los individuos ramificados, y b) el diámetro promedio de los mismos individuos. ....	37
Figura 9. Efecto positivo de la latitud en la Península sobre a) la altura promedio de todos los individuos, b) la altura promedio de solo los individuos ramificados, y c) el diámetro basal de los individuos ramificados. ....	40
Figura 10. Representación de la estructura poblacional de 26 poblaciones de <i>Pachycereus pringlei</i> a lo largo de Desierto Sonorense. Las barras en cada ilustración representa en número de individuos (+ 1 desviación estándar) en clases de altura de 1 m: Las barras en blanco corresponden a los individuos sin ramificaciones y las barras en gris corresponden a los individuos con brazos. El número debajo del nombre de la población corresponde al número total de individuos por hectárea en cada localidad. La escala del eje de las Y no es uniforme en todas las poblaciones, están escaladas de acuerdo a la variación entre sitios. ....	42
Figura 11. Representación esquemática de la ruta evolutiva de sistemas sexuales dioicos. ....	63
Figura 12. Mapa mostrando la distribución geográfica del <i>Pachycereus pringlei</i> en el Desierto Sonorense. Los números indican la localizaron de las 15 poblaciones consideradas para el análisis de los sistemas reproductivos. (Ver tabla 7 para detalles de las poblaciones) .....	71
Figura 13.- Distribución geográfica de los sistemas reproductivos de 15 poblaciones de <i>Pachycereus pringlei</i> en el Desierto Sonorense. Las graficas tipo pastel en el mapa indican la frecuencia relativa de sexos: la porción región blanca corresponde al a proporción de individuos femeninos, la región gris corresponde	

a la proporción hermafrodita y la región negra corresponde a la proporción de individuos masculinos. ....	86
Figura 14. Gel de poliacrilamida 7% que muestra un patrón de bandeo homogéneo obtenido mediante protocolos de análisis PCR-SSCP. Pp01, Pp02, y Pp03, los números representan a la población analizada .....	88
Figura 15.- Evidencia que muestra la amplificación consistente en 7 microsátelites (ccmp1, ccmp2, ccmp3, ccmp4, ccmp6, ccmp10 y trnH-psbA). La última columna corresponde al marcador $\Phi$ X-174/HaeIII .....	89
Figura 16.- Representación de la ausencia de polimorfismo entre dos poblaciones distantes geográficamente de <i>P. pringlei</i> analizada con microsátelites. La última columna corresponde al marcador $\Phi$ X-174/HaeIII .....	90
Figura 17.- Presencia de productos resultado de la amplificación de cuatro regiones no codificantes del cloroplasto: a) accD-psaI-75R , b) 5'rpS12-rpl20, c) trnT <sub>UGU</sub> -trnL <sub>UAA</sub> y d) Intron rpl16(f)-rpl16(r).....	92
Figura 18.- Patrón de bandeo observado en dos poblaciones distantes de <i>Pachycereus pringlei</i> . La digestión de 3 enzimas fue dirigida a productos de cuatro espacios intergénicos. La última columna corresponde al marcador Lambda HindIII - $\Phi$ X-174/HaeIII (pb).....	93
Figura 19.- Red de haplotipos del alineamiento de nucleótidos mostrando substituciones (■) e indels (●) dada por cuatro haplotipos (a). Distribución geográfica de los haplotipos observados en <i>Pachycereus pringlei</i> (b).....	95
Figura 20. Representación de las condiciones climáticas prevalecientes en los últimos 40,000 años (retomado de Heine 1973 y Toledo 1976).....	101

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Principales atributos botánicos y poblaciones de <i>Pachycereus pringlei</i> muestreados en todo el rango de distribución en el Desierto Sonorense	25
Tabla 2	Lista de los microsatélites seleccionados para la evaluación de polimorfismo en poblaciones de <i>Pachycereus pringlei</i> . ir = Región Intergénica.	73
Tabla 3	Fórmula utilizada para amplificar microsatélites como primer acercamientos a obtener productos.	73
Tabla 4	Fórmula para la amplificación de ADN doble hebra utilizando (*) primers etiquetados con fluorescencia para su posterior secuenciación.	75
Tabla 5	Fórmula para amplificar fragmentos relativamente grandes destinados para el análisis PCR-RFLP	76
Tabla 6	Mezcla maestra de enzimas de para PCR-RFLP dirigida a 4 regiones no codificantes del cloroplasto en <i>Pachycereus pringlei</i> .	77
Tabla 7.-	Localización de los sitios de muestreo para el análisis de los sistemas reproductivos de <i>Pachycereus pringlei</i> . También se muestra la proporción de individuos de diferente expresión sexual que define a cada sistema. La cifra en paréntesis indica el número de individuos contabilizados.	81
Tabla 8.	Longitud de fragmentos (pb) correspondientes a seis cpSSR de <i>Pachycereus pringlei</i> . En la tercer columna se muestra la longitud de los fragmentos en <i>Nicotiana tabacum</i> como comparación. -) Indica la ausencia de la región microsatelital en <i>Pachycereus pringlei</i> . *) Corresponde al microsatélite no secuenciado pero presente en el cloroplasto de la especie.	86
Tabla 9	Resumen del polimorfismo detectado en 12 poblaciones de <i>Pachycereus pringlei</i> .	90

## INTRODUCCIÓN

El presente estudio aborda aspectos de estructura poblacional y variabilidad genética de *Pachycereus pringlei* en todo su rango de distribución. El importante papel ecológico, la amplia distribución geográfica y el desarrollo de sus longevos individuos en condiciones de aridez, son los principales elementos que motivaron a la realización de este estudio.

Esta tesis prosigue a la investigación de maestría del mismo autor, misma que fue dirigida a indagar sobre el análisis de biología floral y estructura ecológica poblacional del cardón en una localidad escasamente perturbada cercana a la Cd. de La Paz, B. C. S. Algunas recomendaciones tomadas de ese estudio fue el realizar un análisis más fino de la estructura poblacional tomando un mayor número de ambientes con el fin de tener mejor representación geográfica.

La estructura poblacional hace referencia a la distribución de tamaños y su abundancia en una determinada superficie geográfica, la estructura genética, por otro lado indica la conformación alélica de cada población. Su análisis en conjunto permite entender el efecto de las variables ambientales en la conformación genotípica y genotípica e inferir patrones evolutivos.

El interés por proponer el estudio de la variabilidad genética en esta especie obedece a varias razones, Por un lado, la variabilidad genética en cactáceas columnares es una

disciplina incipiente y del que se tienen pocas referencias. De manera particular, no se tienen registros que evalúen la variabilidad genética de *P. pringlei* en todo su rango de distribución. El análisis genético de la variación geográfica de las frecuencias sexuales ofrece otro objeto de estudio que ayudaría a entender los modelos teóricos sobre la evolución del sexo en plantas, aspecto de gran importancia en estudios contemporáneos. Esta especie representa una gran oportunidad donde se puede evaluar el efecto insular sobre la variabilidad genética y su asociación con la estructura poblacional, abundancia y sistemas reproductivos. El estudio de la densidad, estructura poblacional, sistemas reproductivos y variabilidad genética *Pachycereus pringlei* permiten discutir la capacidad de colonización y permanencia de *P. pringlei* en varios ambientes desérticos.

En el Capítulo I hace referencia al análisis de la abundancia y estructura poblacional. De manera inicial se hace una recopilación de las características biológicas de la especie y los elementos que motivaron a realizar este estudio. Se analiza la estructura poblacional y la abundancia relativa en 26 sitios de muestreo seleccionados al azar tratando de tener una representación de toda su distribución. Se evalúa la estructura anatómica de cada población y las principales características ambientales que interfieren en la regeneración de los individuos. Este estudio fue publicado en la revista *Plant Ecology*. Se discute el estado biológico de la especie y los principales elementos que permiten distinguir a la especie en tres grandes regiones geográficas. El manuscrito en referencia se encuentra al final de este capítulo.

En el Capítulo II se realiza un estudio detallado sobre la variación geográfica de los sistemas reproductivos y la relación con su variabilidad genética utilizando varios marcadores moleculares. Primeramente se describe sobre la evolución de los sistemas reproductivos, en particular sobre la transformación de poblaciones hermafroditas a otros sistemas a través de la supresión de funciones sexuales. También se documenta acerca de los efectos de tener un genoma poliploide en la evolución de los sistemas reproductivos. Se describen los procedimientos y técnicas empleadas para evaluar la variabilidad genética en 14 poblaciones de cardón, una selección de sitios como resultado del estudio poblacional. Se documentan resultados interesantes que permiten describir la estructura de los sistemas reproductivos en tres regiones del Desierto Sonorenses, describiendo por primera vez el comportamiento de los sistemas insulares. Así mismo, se describe la baja variabilidad genética evaluada con tres marcadores moleculares y secuenciación en el genoma cloroplástico. La escasa variabilidad genética observada en *P. pringlei* suele encontrarse en especies longevas sujetas a cuellos de botella, posiblemente resultantes del efecto de los ciclos glaciales del pleistoceno. Esta investigación fue sometida a publicación a la revista *Molecular Ecology* (se anexa al final del Capítulo II). Finalmente se hace una discusión general donde se integran los resultados previamente descritos.



CAPÍTULO I.- Abundancia y estructura poblacional de *Pachycereus*  
*pringlei*.

## 1.1. ANTECEDENTES

### *1.1.3. Generalidades*

Durante la formación del Desierto Sonorense se han presentado eventos geológicos y cambios climáticos que sugieren procesos de diversidad genética y de especiación en muchas plantas (Van Devender 2002, Turner *et al.* 1995, McAuliffe y Van Devender 1998). Este desierto es un escenario propio para evaluar, entre otros, el efecto latitudinal y la condición “penínsular” sobre la variabilidad ecológica y genética de muchas plantas (Clark 2000, Turner *et al.* 1995, Shreve y Wiggins 1964).

*Pachycereus pringlei* es una de las formas de cactáceas columnar-arborescentes que está representada en la mayor parte de las diferentes provincias florísticas del desierto Sonorense. Su rango incluye la mayor parte del territorio de la Península de Baja California, la porción central costera de Sonora y todas las islas del Golfo de California. Especies de amplia distribución como el cardón, se encuentran expuestas a diversas presiones ambientales que promueven la expresión de una variedad de características cualitativas y cuantitativas que se asocian a cada ambiente y que habilitan a las poblaciones a enfrentar eventualidades ambientales.

La distribución de las especies vegetales está limitada por un lado, por las características del hábitat, es decir por la disponibilidad de nutrientes y refugio, y por otro por condiciones climáticas, geográficas y la disponibilidad de agua. En conjunto, estas condiciones promueven que los organismos se distribuyan en parches o poblaciones locales interconectadas unas con otras (Silvertown y Charlesthworth 2001). La presencia de dispersores de semilla facilita la interconexión o el contacto que existe entre los grupos de individuos (Valverde-Valdéz 1999).

La agrupación de individuos se debe, por lo tanto a la conjunción de diversos factores que varían en intensidad de un sitio a otro. El resultado es que cada agrupación de organismos refleja características anatómicas y demográficas asociadas a las condiciones del medio donde se desarrollaron (incluso a factores antropocéntricos). Entre otros, la estructura poblacional refleja la conformación de edades y tamaños de una población, y su análisis ayuda a discutir y comprender sobre los procesos evolutivos a corto y mediano plazo y determinar el estatus biológico de la especie.

### ***1.1.1.- Especie de estudio***

*Pachycereus pringlei*, es una cactácea columnar-arborescente que se desarrolla en la región sur- suroeste de la amplia provincia biogeográfica conocida como Desierto Sonorense. Por su amplia distribución y abundancia es considerada la cactácea columnar-arborescente con mayor distribución latitudinal en este desierto (Shreve y Wiggins 1964, Turner *et al.* 1995).

Se trata tal vez de la especie mas longeva de la familia Cactaceae, pues regularmente los individuos maduros logran vivir de dos a tres siglos, es también sin duda el miembro mas voluminoso, pues logra alcanzar hasta 19 metros de altura logrando más de dos toneladas de peso (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada 1991, Salak 2000). También, por el servicio ecológico que brinda a la fauna y por la abundancia de sus poblaciones a través de su amplia distribución, es sin duda uno de los vegetales de mayor importancia ecológica en el desierto (Turner *et al.* 1995, Van Devender 2002).

La relativa alta producción de estructuras florales y su consecuente producción recursos (botones y flores abortados, polen, néctar, semillas, frutos) representan recursos de primer orden para la fauna local y migratoria en la temporada de sequía, la más crítica de este ambiente (Medel-Narváez 2003, Moran 1968). Sus brazos y raíces funcionan en ocasiones como refugio y protección tanto a aves, mamíferos y reptiles (León de la Luz *et al.* 2003, Blázquez y Rodríguez-Estrella 2006). Un ejemplo de ello, es la reconocida relación simbiótica polinizador-planta-dispersor con el murciélago nectarívoro *Leptonycteris curasoae*, y la paloma de alas blancas *Zenaida asiatica* (Turner *et al.* 1995, Fleming *et al.* 1996, Petit 1997, Valiente-Banuet 2002).

El cardón, como comúnmente se conoce, se establece preferentemente en terrenos aluviales con suelos profundos, en donde se agrupa en unidades fisonómicas designadas vernáculamente como “cardonales”. Aunque en menor densidad, también suele establecerse en laderas rocosas de fuerte pendiente, e incluso en las inmediaciones de suelos salitrosos (Turner *et al.* 1995, Shreve y Wiggins 1964).

Se reconoce la distribución eminentemente peninsular, presentándose con mayor certeza en la región oriental de la misma, además en la costa central de Sonora y en numerosas islas del Golfo de California (Turner *et al.* 1995, Figura 1). Las densidades poblacionales documentadas hasta el momento indican ser muy variables y contrastantes en regiones (McAuliffe 1991, Silva 1996, Medel-Narváez 2003).

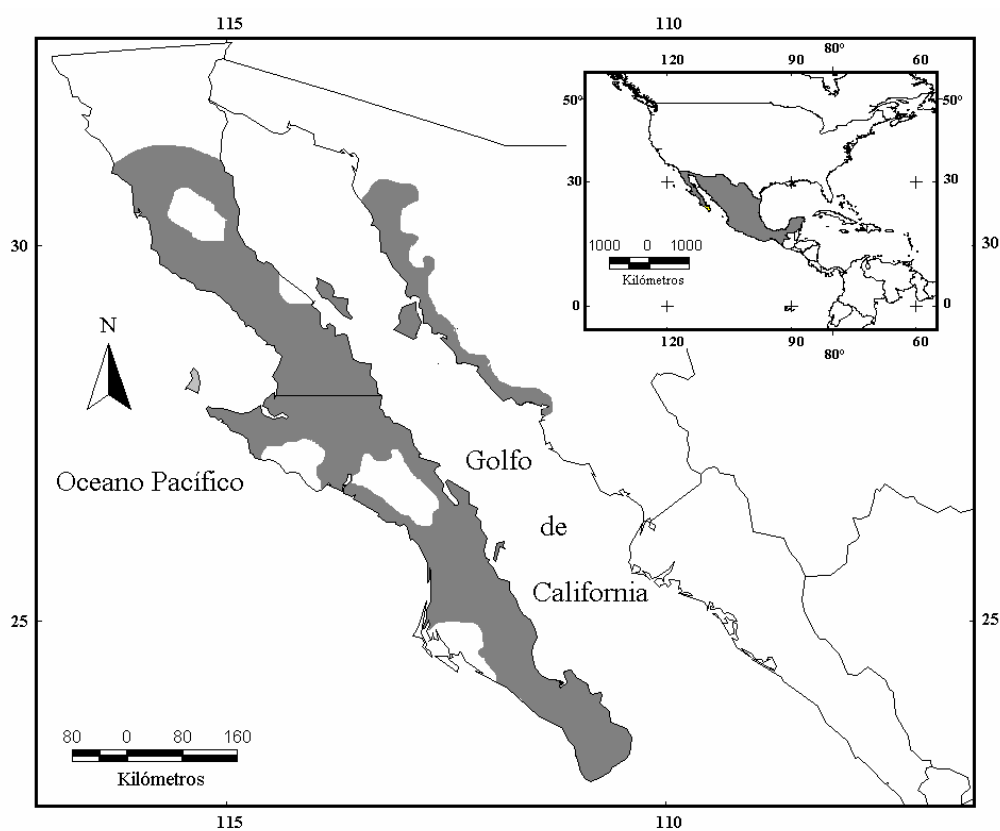


Figura 1. Mapa que muestra en la región sombreada la distribución de *Pachycereus pringlei* (Modificado de Turner *et al.* 1995).

### ***1.1.2.- Biología floral***

El periodo reproductivo del cardón es representado por la producción de estructuras florales posterior a un periodo de dormancia o latencia. Este periodo consiste en la suma de varias etapas fenológicas que involucra el desarrollo de botones florales, flores y frutos (Fleming *et al.* 1996). La etapa de brotación inicia con la formación de yemas florales en las areolas terminales de brazos maduros, estas yemas pueden abortar si se desarrollan de manera prematura o tardía, de otra manera dan lugar a los botones florales, mismos que tras un periodo de maduración se transforman en flores. Si la flor es fecundada se desarrollará un fruto dehiscente con pulpa de variado color (masa funicular o arilo de color amarillo, rojo o blanco) y protegido por un tejido de origen pericarpelar con espinas.

El aporte alimenticio que ofrece el cardón a la fauna local y migrante proviene de diferentes fuentes: previo a la brotación, antes de que la yema floral surja, se observa sobre las areolas una secreción de néctar extra-floral que atrae a insectos, de igual manera, cuando los botones se encuentran en desarrollo, e incluso cuando se abre la flor, se observan gotas de néctar extra-floral entre las brácteas del perianto. Las flores, una vez abiertas, proveen de carbohidratos mediante el néctar y proteínas a través del polen. Aunque se desconocen los carbohidratos que componen el néctar extra-floral, se sabe que el néctar floral está compuesto en su mayoría por glucosa, sacarosa y escasamente fructosa. Las flores abortadas, por el gran número observado en el campo, parecen representar un

elemento esencial en la dieta de varias especies de vertebrados. De igual manera el fruto dehiscente ofrece carbohidratos con su pulpa y proteínas mediante las semillas.

El cardón inicia el periodo reproductivo con la brotación durante el mes de Marzo, registrándose incluso activación del periodo en el mes de febrero. El desarrollo y maduración de los botones concluye con el inicio de la floración a finales de Abril. Durante Mayo se registra el periodo de mayor apertura floral, misma que se asocia con una alta actividad de polinizadores. Las flores fecundadas desarrollan un fruto carnoso semejante a una baya que madura en un periodo de dos meses, concluyendo a finales de Agosto con el periodo reproductivo. Se ha observado que el inicio, término y duración de las diferentes etapas dependerán del historial climático de la región y del desarrollo de los individuos durante las estaciones previas (Medel-Narváez 2003).

En una población estudiada por el autor al norte de la Cd. de La Paz, se ha estimado por hectárea la producción de 17,826 botones florales, 4,285 flores y 1,222 frutos, observando una relación de producción de 14:3:1 (menos del 7% de los botones florales transforma en fruto). Esta relación nos ofrece una idea del gasto energético requerido para la producción de un grupo de semillas. A este modelo fenológico hay que sumar el efecto de diversas eventualidades bióticas y ambientales que las semillas experimentan para germinar, establecerse y convertirse en un nuevo individuo. Se ha reportado la producción de diferentes tipos de carbohidratos en el néctar, los cuales se resumen en la siguiente lista (Medel-Narváez 2003):

Glucosa	64 %
Sacarosa	30 %
Fructosa	1 %
Otros	5 %

Se observó que durante la apertura floral del cardón, la mayor producción fue dentro de las primeras dos horas de antésis, decayendo a partir de las 2 am, y cesando después de las 12:30 pm. También se determinó que por su reducido tamaño, las flores femeninas producen menor cantidad de néctar que las otras expresiones sexuales. Por otro lado, la producción promedio de néctar de flores de cardón por hectárea fue estimada en 8 litros, mismos que contienen 356 gr/litro de carbohidratos y 0.27 gr/litro de proteínas totales (Medel-Narváez 2003)

El trimorfismo sexual y la auto-compatibilidad, son dos elementos poco comunes en especies de la familia Cactaceae, mismos que caracterizan y diferencian al cardón del resto de las especies de la familia (Bravo-Hollis 1978, Murawski *et al.* 1994, Fleming *et al.* 1994). El trimorfismo sexual se caracteriza por la expresión de tres morfos sexuales: plantas masculinas, femeninas y hermafroditas, que pueden o no co-existir en una misma población. En su distribución, *P. pringlei* puede presentar poblaciones trioicas (tres morfos sexuales) y poblaciones ginodioicas, caracterizadas por la exclusiva presencia de individuos femeninos y hermafroditas (Fleming *et al.* 1998, Molina-Freaner *et al.* 2003, Medel-Narváez 2003).



#### ***1.1.4. Las cactáceas columnares***

La familia Cactaceae esta constituida por cuatro subfamilias, que comprenden entre 1,400 a 1,600 especies (Anderson 2001, Nobel 2002). Del total de miembros de la familia, aproximadamente el 11% son consideradas de forma columnar, incluyendo miembros de diferentes tribus, todas ellas de la subfamilia Cactoideae (Anderson 2001). Se ha propuesto que el origen geográfico de las cactáceas columnares se ubica en Sudamérica. En México, la región sur-centro del país se caracteriza por albergar la mayor diversidad en este tipo de cactáceas, específicamente en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Wallace 2002, Mourelle y Ezcurra 1997, Dávila-Aranda *et al.* 2002). El desierto Sonorense, es la segunda región con mayor diversidad de cactáceas columnares en México y esta representado principalmente por *Carnegia gigantea*, *Pachycereus pringlei*, *Stenocereus gummosus*, *S. thurberi*, *Lophocereus schottii s.l.*, *L. gatessi*, y *Myrtillocactus cochal* (Turner *et al.* 1995).

Debido a la importancia ecológica y/o económica que representan algunas cactáceas columnares, algunos estudios multidisciplinarios han evaluado el estado biológico de sus poblaciones (Godínez-Álvarez 2003). Dichos estudios demuestran la significativa asociación entre factores antropocéntricos, climáticos y edáficos que afectan en la dinámica poblacional. Se ha propuesto recientemente que los factores antropocéntricos afectan el reclutamiento poblacional y exponen a las poblaciones a procesos de extinción (Esparza-Olguín *et al.* 2001). Entre las principales amenazas documentadas esta la fragmentación del hábitat, colecta de individuos, tráfico ilegal, sobre colecta de frutos y cambios en el uso del

suelo (Arias 1983, Esparza-Olguín *et al.* 2001). No obstante, dada la diversidad de la subfamilia Cactoideae, y debido a que muchas de las especies no representan un elemento de utilidad económica para el hombre, el estado ecológico de muchas especies es aun desconocido, un ejemplo de ello son algunas cactáceas columnares en el Desierto Sonorense (Bullock *et al.* 2005, Godínez-Álvarez *et al.* 2003, Turner 1990).

Es necesario resaltar la importancia que han representado los asentamientos humanos en la dinámica poblacional de las especies y en particular sobre las cactáceas columnares. Se ha observado una relación positiva entre la diversidad de cactáceas de la región centro sur de México, con la densidad de asentamientos humanos (Dávila-Aranda *et al.* 2002, INEGI 2001). El valle de Tehuacan-Cuicatlán, por ejemplo, sustenta una densidad humana promedio aproximada de 152.2 habitantes/km<sup>2</sup>, mientras que en la región del Desierto Sonorense se estima una densidad promedio de 10.5 habitantes/km<sup>2</sup> (INEGI 2001). Es de suponerse, que la cactáceas columnares del valle de Tehuacan están sujetas a mayor presión, mientras que de manera contraria las cactáceas del Desierto Sonorense, dada la relativa baja presión antropocéntrica a la que están sujetas, se consideran un recurso mundial que desde hoy en día debe ser atendido para evitar su deterioro (Mittermeier *et al.* 2003, Bashan 2000).

*P. pringlei* representa una de las cactáceas de más amplia distribución en el Desierto Sonorense, de la que se cuenta con pobres registros acerca de su estado biológico en toda su distribución. No obstante, se tiene alguna información que comparan en espacio y tiempo la abundancia de individuos en ciertas poblaciones. Por ejemplo, McAuliffe

(1991) y Silva (1996), detectaron diferencias en la estructura de tamaños en dos superficies aluviales de diferente edad en la Península de Baja California, demostrando que los suelos más jóvenes (aluviales) soportan mayor densidad de individuos que paleosuelos expuestos (más compactos). Turner *et al.* (2003), mediante análisis fotográfico, muestran cambios en la abundancia de individuos en poblaciones Sonorenses haciendo notar una disminución en el número de individuos en ciertas poblaciones sonorenses. No obstante, Bullock *et al.* (2005), determinaron con los mismos métodos, que algunas poblaciones de *P. pringlei* en Baja California son numéricamente estables y aun se encuentran en crecimiento. Por otro lado Bashan *et al.* (1995) y Bashan (2000) y Dubrovski y León de la Luz (1996) reportan poblaciones de *P. pringlei* en la región sur de la Península con la presencia de ciertas enfermedades en individuos adultos que eventualmente en un futuro podrían afectar la densidad poblacional respectiva.

### ***1.1.5. Ecología poblacional***

La biología poblacional es una disciplina que explica y documenta los cambios en la frecuencia de genes, número de individuos y caracteres morfológicos que presentan los miembros de una población en un tiempo determinado. Esta especialidad es compleja, se apoya de disciplinas como genética poblacional, fisiología, morfología, ecología poblacional y demografía, disciplinas dirigidas a estudiar el funcionamiento de la selección natural, analizando los mecanismos de adaptación de las poblaciones, e intentando explicar

el origen de las diferentes estructuras que expresa una especie, entre otros. Es decir, mediante el apoyo de varias disciplinas se explica la presencia de las características genotípicas y fenotípicas de acuerdo al conjunto de factores ambientales (Solbrig *et al.* 1979, Silvertown y Charlestworth 2001, Tilman 1988).

Por otra parte, la ecología poblacional se encarga en estudiar las interacciones de las poblaciones con su ambiente. Observa por ejemplo, si el número de individuos en una población cambia o permanece constante, y cuales son los factores ambientales que determinan su estructura. La demografía por su parte, estudia de manera cuantitativa los cambios poblacionales en función de nacimientos, muertes, y migración, y proyecta la edad promedio de los individuos y el número de descendencia entre otros (Silvertown 1987, Silvertown y Charlestworth 2001, Barbour *et al.* 1987).

Una población se define de manera general como una agrupación de individuos de una misma especie que conviven juntos en un área de suficiente tamaño donde ocurren normalmente procesos de reclutamiento y dispersión (Berryman 2002, Silvertown y Charlestworth 2001). La complejidad del estudio de las poblaciones se debe a los diferentes parámetros demográficos que integran este concepto, pero en general se agrupan en cuatro.

a) La estructura genética describe al agrupamiento de frecuencia genéticas y genotipos, b) la estructura espacial describe la variación en densidad dentro de una población, c) la estructura de tallas describe el número relativo de individuos pequeños a grandes, y d) la estructura de edades, describe la proporción relativa de individuos jóvenes y adultos (Silvertown y Charlestworth 2001, Barbour *et al.* 1987). La biología poblacional es la

disciplina que se encarga de estudiar a las poblaciones y trata de explicar el origen y conformación de estructuras de las poblaciones y entender como se relacionan unas a otras (Silvertown y Charlestworth 2001, Tilman 1988). La estructura genética es analizada con el apoyo de técnicas moleculares, y permiten definir el estado biológico de las especies en base a las frecuencias alélicas o genotipos. La estructura espacial, la estructura de tamaños y la estructura de edades conforman de manera global la estructura poblacional, registrándose para ello las tallas y características morfológicas de los individuos en un área determinada.

Los individuos de una especie con amplia distribución estarán sujetos a diferentes presiones ambientales y es posible detectar entre poblaciones diferentes estructuras poblacionales, que se asocian a patrones geográficos (Barbour *et al.* 1987, Stewart *et al.* 1999). Esto sugiere que de alguna forma las poblaciones están bajo la influencia de fuerzas similares en diferentes hábitats. Estas fuerzas pueden estar representadas por factores abióticos, propiedades físicas y químicas del suelo, micro-topografía, microclima, y organismos, que por si solos pueden modificar la heterogeneidad del medio (Stewart 1999, McAuliffe 1988, Tilman 1988). También los disturbios de origen antropocéntrico son considerados un factor que afecta el mantenimiento de la dinámica poblacional, alterando a corto y largo plazo la tasa de reclutamiento (Álvarez *et al.* 2004, Bashan 2000).

### ***1.1.5. Estructura poblacional***

El estudio de la estructura poblacional de tallas y número de individuos, es una forma de estimar el estado biológico actual o a corto plazo de la población, y a diferencia de estudios meramente demográficos solo requiere del registro de datos una sola temporada. Un aspecto de estos estudios es la evaluación del índice de nacimientos y muertes, mismos que están influenciados directamente por la edad, tamaño y número de individuos, en el entendido de que no todos los individuos en una población contribuyen en la misma proporción en el reclutamiento de nuevas generaciones (Silvertown y Charlestworth 2001), sin embargo, los estudios demográficos diluyen su validez cuando consideran como objeto de estudio especies longevas y de lento crecimiento (Harper 1977, Silvertown 1987).

La frecuencia de tallas refleja indirectamente los nacimientos y muertes bajo la influencia del entorno en un determinado tiempo presentados a escala local (Futuyma 1986). Sin embargo, es necesario asociar la estructura con ciertos factores bióticos y abióticos, que permitan suponer sobre la actual estructura y pronosticar la tendencia de la población a corto plazo (Stebbins 1979). La estructura se representa por un histograma de frecuencias de tallas, relacionando el número de individuos en categorías discretas, donde se determina el tipo de estructura.

Se han descrito, de manera particular, dos tipos de estructuras en cactáceas: a) las denominadas monotónicas y b) en pulso. Las estructuras monotónicas se caracterizan por

un decremento en el número de individuos conforme incrementa la clase de tamaños o edades, y está definida por una distribución log-normal. Esta conformación indica un óptimo desarrollo de las etapas tempranas, pero debido a algún factor ambiental o intrínseco el número de individuos, en subsecuentes clases disminuye paulatinamente. Por otro lado, la estructura en pulsos como su nombre lo indica, se caracterizan por altibajos en el número de individuos en las categoría de tallas o tamaños (Godínez *et al.* 2003).

Las cactáceas columnares son especies parcialmente leñosas de lento crecimiento, popularmente se dice que crecen “pocos centímetros por año”. Sus tallos son caracterizados por ser suculentos y relativamente blandos, constituidos en su mayoría por tejido parenquimatoso suave circundado por tejido vascular (cambium) al que se le puede denominar leño. Este tejido esta conformado por fibras de crecimiento horizontal, proporciona soporte a la planta y recubre al xilema y al floema, y debido a la conformación aglomerada de sus fibras, no genera rastros de crecimientos estacionales como en las especies propiamente leñosas (Gibson y Nobel 1986, Terrazas-Salgado y Mauseth 2002, Schweingruber 1988). De esta manera no es posible determinar la edad de las cactáceas mediante análisis de anillos, pero se ha optado por asociar su edad con algunas características morfológicas como la talla, el número de ramificaciones, diámetro de sus tallos, o biomasa. Estos elementos pueden ser registrados para integrar en un determinado tiempo la estructura de edades o tamaños (Parker 1989, Farfán-Hereida, comun. pers.).

### ***1.1.6. Densidad Poblacional***

La densidad poblacional representa el número de individuos en un área determinada y al igual que la estructura de tallas, refleja la interacción de medio (clima, suelo, disponibilidad de agua, polinizadores etc.) con la especie (variabilidad genética, sistemas reproductivos, entre otros). La densidad varía en función de nacimientos, muertes, inmigración y emigración (Silvertown y Charlesworth 2005). No obstante, las poblaciones no pueden crecer indefinidamente, el límite de individuos será delimitado por la disponibilidad de recursos o espacio y cuando una población detiene su crecimiento se dice que su ambiente ha llegado a su “capacidad de carga”, imposibilitando el sostén de individuos adicionales (Futuyma 1986). Existen otros factores que afectan directa o indirectamente la abundancia de los individuos en un área determinada (Stewart *et al.* 1999, Tilman 1988).



## 1.2. JUSTIFICACIÓN

El diagnóstico del estado biológico de cactáceas columnares a través del análisis de la estructura poblacional ha sido de gran interés para los ecólogos y los botánicos. Permite por un lado determinar los factores del medio que inciden directamente en el nacimiento y muerte de los individuos, y otro lado predice el comportamiento de las poblaciones a corto y mediano plazo. La ventaja del estudio de la estructura poblacional sobre análisis demográficos se refleja en la economía del tiempo, además de ser un mejor estimador para especies de larga vida.

En la última década, se ha incrementado notablemente el número de estudios ecológicos en cactáceas, evaluando entre sus objetivos el análisis de la dinámica poblacional y su variabilidad genética. De manera particular, el análisis de la estructura poblacional en *P. pringlei* permitirá determinar los factores del medio que inciden directamente en el nacimiento y muerte de los individuos, y otro lado predice el comportamiento de las poblaciones a corto plazo.

*Pachycereus pringlei* es una especie de gran importancia ecológica en la región desértica del Noroeste de México. En la mitad sur de la Península de Baja California, la biomasa es sin duda relevante sobre toda la comunidad. A través de sus flores y frutos se ofrecen alimento esencial en épocas de sequía, y sus brazos funcionan como refugio para aves, roedores y reptiles, que aunado con su amplia distribución y su relativa alta

abundancia, representa un elemento primordial digno de estudiar y sujeto de estudio en propuestas de conservación.

Dada la escasa información demográfica que se tiene en esta especie, se ofrece la oportunidad de evaluar en toda su distribución los efectos de diferentes presiones ambientales en la conformación morfológica, demográfica y estructural.

### 1.3. HIPOTESIS

En su amplia distribución geográfica, el cardón *Pachycereus pringlei* expresa una estructura poblacional que se puede asociar a características ambientales de cada región.

### 1.4. OBJETIVOS

#### **General**

Caracterizar la estructura morfológica y demográfica de poblaciones silvestres de *Pachycereus pringlei* a lo largo de su distribución en el Desierto Sonorense.

#### **Específicos**

Realizar una serie de muestreos representativos en poblaciones de *Pachycereus pringlei* en toda su distribución que permita:

- Evaluar la abundancia inter-poblacional
- Definir la estructura poblacional de la especie
- Describir el estado actual de las poblaciones.

## 1.5. MATERIALES Y METODOS

### ***1.5.1. Área de estudio***

Para contar con la representación de la especie en toda su área de distribución se seleccionaron 26 sitios de muestreo comprendidos en un amplio rango en el Desierto Sonorense (Figura 2). Catorce poblaciones se encuentran en la Península de Baja California, nueve en las costas de Sonora y tres islas del Golfo de California. Detalles de los sitios se documentan en la Tabla 1. La selección de sitios fue asignada por la accesibilidad y abundancia poblacional, se consideraron solo cardonales por presentar el mayor número de individuos y tener mejor representación del sitio.

### ***1.5.2. Densidad poblacional***

En cada sitio de estudio se seleccionaron por triplicado parcelas de una hectárea (100 x 100 m). En cada muestreo se identificaron todos los individuos de *P. pringlei* a partir de una altura de 5 cm. Debido a la gran abundancia de cardón en el sitio Isla Tío Ramón y su inaccesibilidad, las áreas de muestreo fueron consideradas de solo de 10 x 10 m con sus dos repeticiones.

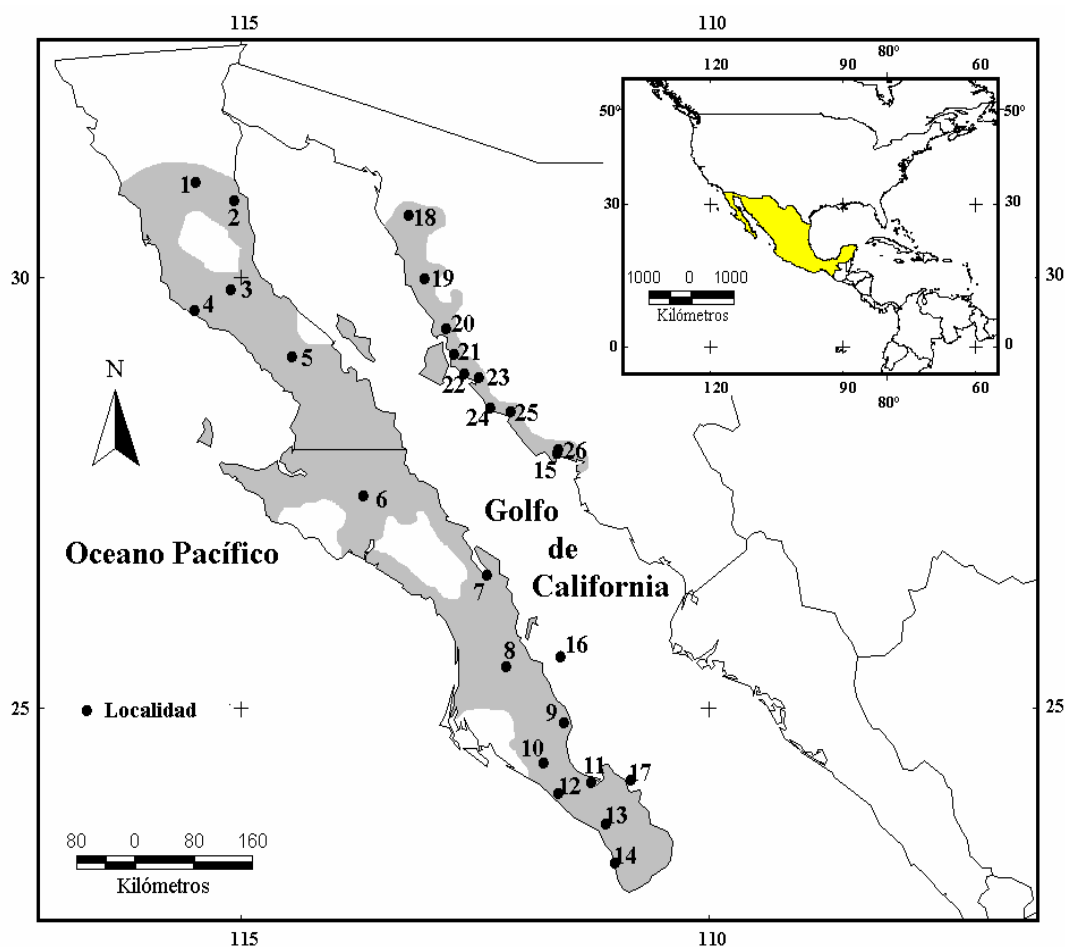


Figura 2. Mapa de distribución del cardón, *Pachycereus pringlei* donde se muestra la localización geográfica de las 26 poblaciones de en el Desierto Sonorense (Modificado de Turner et al. 1995). La localización específica de las localidades se describe en la Tabla 1 (página 25).

### 1.5.3. Estructura poblacional

En cada sitio de muestreo se evaluaron algunas características que definen la estructura morfológica a comparar. Se registró la altura máxima, número de brazos, altura de la base a la primera ramificación (altura del tronco), diámetro del tronco, y el número de brazos con daño aparente. Un brazo fue considerado como el crecimiento vegetativo sobrepasa la

longitud de medio metro. La talla fue obtenida mediante un estadal graduado extensible a 15 m. El diámetro del tronco en individuos ramificados se obtuvo al promediar dos mediciones con un vernier de dimensiones adecuadas, en los individuos sin ramificaciones, cuando la altura excedía 2 metros se considero a la altura del pecho, de lo contrario se considero la mitad de la altura máxima. La altura del tronco se realizó con un flexómetro de 3 m y en algunos casos se utilizó el estadal.

Los individuos fueron agrupados en categorías a intervalos de 1 metro de altura. Se obtuvo el número total y promedio de organismos en cada una, así como el número promedio de ramificaciones y diámetro basal. Los datos fueron representados por histogramas de frecuencias mismas que fueron comparadas con distribuciones log-normal. Los individuos entre 0.05 a 1 m fueron designados plántulas y juveniles, de 1 a 3 se consideraron pre-reproductivos, y mayores de 3 m como individuos adultos. A la par, se promediaron los individuos de las tres parcelas para obtener la densidad promedio. Se hizo la distinción entre individuos con ramificaciones y sin ellas como parte de la caracterización morfológica.

#### ***1.5.4. Índice de regeneración***

El índice de regeneración es considerado la como la proporción de individuos juveniles menores de 1 m, en relación al total de individuos de la población. Se describe como indicador de la tasa de regeneración y estimador de la estructura a corto plazo.

### ***1.5.5. Análisis estadístico***

Se utilizó la prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis para evaluar diferencias morfológicas entre poblaciones de la Península, Islas y Sonora. Se consideró para este análisis la altura de la planta, número de ramificaciones, altura y diámetro del tronco en plantas ramificadas. Las medianas regionales fueron comparadas mediante la prueba Dunn para muestras de diferentes tamaños (Zar 1999). La prueba Dunn es un método de múltiples comparaciones posterior a un análisis de varianza cuando la hipótesis nula se rechaza, es decir, cuando existen diferencias significativas. Mediante un análisis de regresión lineal se comparó la abundancia y los atributos de las plantas con la latitud y algunos elementos climatológicos.

Ciertos elementos del clima suelen tener mas influencia en el ciclo reproductivo de las plantas, tal como la precipitación anual y de la temporada lluviosa, temperatura mínima de invierno, número de días con presencia de heladas y temperaturas máximas de verano (Turner *et al.* 1995). Los datos climatológicos fueron obtenidos de las estaciones climatológicas más cercanas a los sitios de muestreo (distancia menor a 20 km). Se utilizó la base de datos climatológicos Eric II (Quintas 2000), seleccionando la estación adecuada. Este mismo análisis fue utilizado para evaluar el efecto de la densidad en los atributos morfológicos. De la misma manera la abundancia y los diferentes atributos fueron comparados mediante un análisis de regresión lineal.

Los histogramas de frecuencias se basan en el número de individuos pertenecientes en categorías de un metro diferenciando la proporción que presenta brazos. A través de estos histogramas se generó la distribución log-normal usando las tallas de los individuos. Las diferencias entre la distribución observada y esperada fue comparada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Todos los análisis estadísticos desarrollados en este estudio fueron realizados con el programa JMP 6.0. (SAS 2005).



## 1.6. RESULTADOS

### ***1.6.1. Abundancia***

Considerando el rango de distribución propuesto, se obtuvo una abundancia general que varía de 22 a 10,250 individuos por hectárea (Tabla 1). La abundancia promedio de individuos en la Península es de 22 a 554 plantas/ha; en Sonora es de 27 a 88 plantas/ha, y en las islas es de 202 a 10,250 plantas/ha. La prueba Kruskal-Wallis indica diferencias significativas entre poblaciones ( $H=62.04$ ,  $p<0.0001$ ) y entre regiones ( $H=23.46$ ,  $p<0.0001$ ). De manera significativa, las poblaciones insulares son más densas que las poblaciones peninsulares ( $H=10.76$ ,  $p=0.001$ ) y Sonorenses ( $H=17.27$ ,  $p<0.0001$ ). También se observó que las poblaciones peninsulares son más abundantes que las Sonorenses ( $H=9.62$ ,  $p=0.002$ ).

### ***1.6.2. Efecto latitudinal***

Los análisis indican que todo el conjunto de poblaciones no muestra una asociación significativa entre la abundancia y su latitud ( $F=0.0001$ ,  $p=0.96$ ). Sin embargo, solo en la península fue posible observar una asociación negativa entre la densidad poblacional y la latitud ( $F=10.47$ ,  $r^2=0.47$ ,  $p=0.007$ . Figura 3a). El análisis aplicado a la región de Sonora indican que la densidad poblacional de los 9 sitios seleccionados se comporta de manera homogénea entre poblaciones ( $F=0.008$ ,  $r^2=0.001$   $p=0.93$ . Figura 3b).

Tabla 1. Principales atributos botánicos y poblaciones de *Pachycereus pringlei* muestreados en todo el rango de distribución en el Desierto Sonorense

Región	Población	Latitud Norte	Longitud Oeste	Densidad Inds/ha	Índice de Regeneración
PENÍNSULA	1. San Pedro	31° 05' 43"	115° 21' 32"	31.0 (15.6)	28.7
	2. Punta Estrella	30° 52' 38"	115° 52' 48"	22.0 (8.5)	27.2
	3. Cataviña	29° 50' 27"	114° 55' 15"	51.7 (19.7)	13.9
	4. Puerto Canoas	29° 36' 38"	115° 22' 31"	23.5 (12.0)	27.9
	5. Punta Prieta	29° 03' 46"	114° 09' 10"	55.7 (24.5)	20.6
	6. San Francisco	27° 26' 54"	113° 15' 50"	78.7 (41.5)	14.7
	7. Bahía Concepción	26° 32' 36"	111° 42' 43"	79.7 (17.4)	25.0
	8. El Guatamote	25° 28' 55"	111° 28' 55"	129.7 (35.8)	38.0
	9. San Evaristo	24° 49' 01"	110° 46' 12"	554.0 (45.3)	2.2
	10. El Cien	24° 20' 43"	111° 00' 32"	206.3 (33.8)	22.7
	11. El Comitán	24° 07' 30"	110° 25' 30"	288.0 (57.9)	26.9
	12. La Conquista Agraria	24° 00' 00"	110° 49' 50"	126 (11.3)	24.6
	13. La Matanza	23° 38' 50"	110° 15' 16"	220.3 (72.8)	31
	14. Los Cabos	23° 11' 88"	110° 07' 30"	248.3 (45.7)	25.0
ISLAS	15. Tío Ramón	27° 56' 11"	110° 51' 11"	10250.0 (2050.6)	12.1
	16. Catalana	25° 35' 10"	110° 48' 25"	201.7 (56.6)	60.5
	17. Cerralvo	24° 09' 10"	109° 55' 30"	441.7 (54.4)	51.2
SONORA	18. El Alamo	30° 43' 04"	112° 41' 22"	67.0 (4.2)	19.8
	19. Puerto Libertad	29° 58' 24"	112° 29' 35"	55.0 (3.6)	7.8
	20. San Gabriel	29° 23' 08"	112° 13' 10"	88.0 (8.5)	39.4
	21. El Sacrificio	29° 05' 44"	112° 08' 02"	50.5 (14.8)	18.6
	22. Bahía Kino	28° 51' 58"	111° 59' 46"	26.8 (9.1)	14.8
	23. San Nicolas	28° 49' 47"	111° 48' 22"	39.0 (5.4)	23.5
	24. El Cardónal	28° 28' 01"	111° 40' 02"	64.0 (11.3)	7.0
	25. Puerto Arturo	28° 25' 41"	111° 25' 00"	65.5 (7.8)	12.4
	26. El Sahuaral	27° 59' 27"	110° 50' 30"	76.0 (12.7)	26.2

Tabla 1. Continuación

Región	Población	Individuos en general		Individuos ramificados		
		Proporción sin brazos (%)	Proporción con brazos (%)	Número de brazos	Altura promedio (m)	Diámetro basal (m)
PENÍNSULA	1. San Pedro	43.5	56.5	10.7 (3.9)	6.7 (1.4)	0.45 (0.19)
	2. Punta Estrella	36.4	63.6	10.7 (1.5)	9.0 (0.3)	0.53 (0.09)
	3. Cataviña	58.1	41.9	5.7 (2.2)	7.6 (1.0)	0.50 (0.08)
	4. Puerto Canoas	38.3	61.7	6.7 (0.7)	8.3 (0.6)	0.53 (0.13)
	5. Punta Prieta	76.6	23.4	3.0 (0.4)	8.0 (0.5)	0.44 (0.04)
	6. San Francisco	67.8	32.2	4.0 (0.5)	6.1 (0.4)	0.38 (0.02)
	7. Bahía Concepción	56.5	43.5	2.6 (0.5)	6.6 (0.4)	0.30 (0.01)
	8. El Guatamote	70.7	29.3	4.5 (0.9)	6.8 (0.4)	0.3 (0.01)
	9. San Evaristo	62.4	38.1	2.4 (0.1)	3.9 (0.1)	0.3 (0.01)
	10. El Cien	71.2	28.8	4.3 (0.2)	5.5 (0.3)	0.3 (0.02)
	11. El Comitán	60.4	39.6	6.3 (0.7)	5.5 (0.2)	0.3 (0.01)
	12. La Conquista Agraria	73	27	4.7 (0.7)	4.6 (0.1)	0.37 (0.11)
	13. La Matanza	65.5	34.5	6.4 (0.3)	5.3 (0.1)	0.3 (0.09)
	14. Los Cabos	53.4	46.6	6.2 (0.1)	5.1 (0.1)	0.3 (0.02)
ISLAS	15. Tío Ramón	52.2	47.8	4.3 (0.5)	4.1 (0.4)	0.2 (0.01)
	16. Catalana	70.7	29.3	8.5 (0.2)	4.0 (0.6)	0.4 (0.03)
	17. Cerralvo	91.8	8.2	3.5 (0.04)	3.8 (0.3)	0.5 (0.39)
SONORA	18. El Alamo	40.3	59.7	8.9 (1.0)	5.9 (0.01)	0.4 (0.01)
	19. Puerto Libertad	28.5	71.5	7.1 (0.6)	4.9 (0.1)	0.4 (0.01)
	20. San Gabriel	62.5	37.5	7.2 (1.2)	4.0 (2.0)	0.4 (0.01)
	21. El Sacrificio	37.6	62.4	10.7 (0.1)	5.8 (0.3)	0.4 (0.01)
	22. Bahía Kino	34.6	65.4	6.3 (0.9)	4.8 (0.3)	0.4 (0.01)
	23. San Nicolas	34.0	66.0	12.6 (2.4)	6.9 (0.9)	0.5 (0.08)
	24. El Cardónal	25.0	75.0	6.5 (0.6)	4.4 (0.3)	0.3 (0.04)
	25. Puerto Arturo	21.4	78.6	16.2 (0.1)	7.0 (0.3)	0.5 (0.0)
	26. El Sahuaral	25.7	74.3	27 (5.1)	7.7 (0.3)	0.6 (0.04)

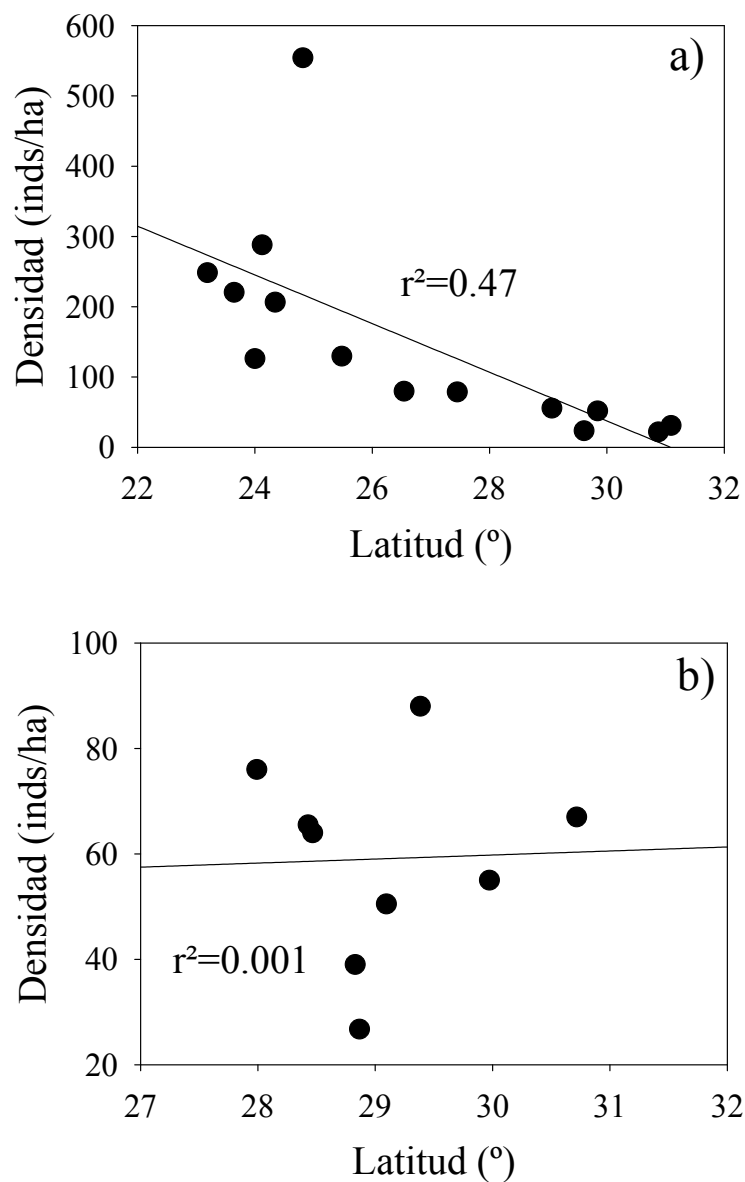


Figura 3. Asociación entre la latitud con la abundancia de *Pachycereus pringlei* en: a) la Península de Baja California Sur y b) Sonora.

El análisis de la abundancia y la asociación con los diferentes atributos morfológicos indica que solo en las poblaciones peninsulares mostraron una asociación negativa entre la abundancia y la altura promedio de los individuos ( $F=5.21$ ,  $r^2=0.30$ ,

$p=0.041$ ). No obstante, gran parte de esa asociación se debe a la altura promedio de los individuos adultos o ramificados ( $F=19.57$ ,  $r^2=0.62$ ,  $p=0.0008$ , Figura 4a). También se observó una asociación regional entre la densidad y el diámetro basal de individuos adultos ( $F=13.13$ ,  $r^2=0.52$ ,  $p=0.0035$ , Figura 4b).

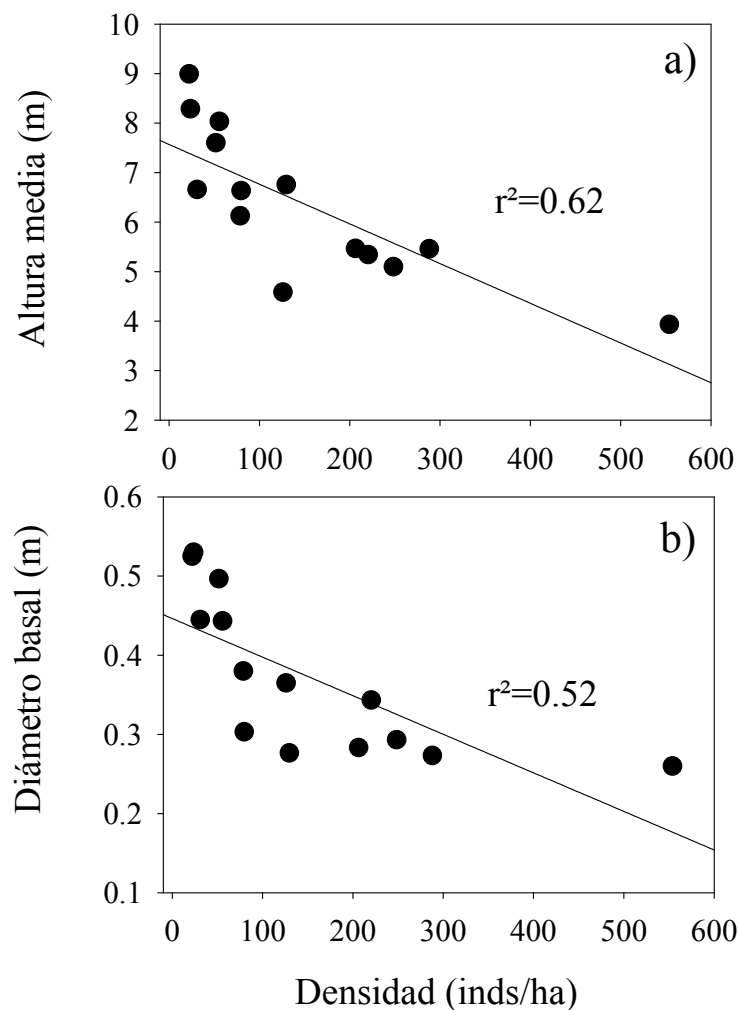


Figura 4. Correspondencia entre la abundancia de *Pachycereus pringlei* en condición Peninsular con: a) la altura media de los individuos adultos, y b) su diámetro basal.

Así mismo, tanto en la Península como en las costas de Sonora, no fue posible observar alguna relación entre la abundancia con el número de ramificaciones ( $F=2.19$ ,  $r^2=0.15$   $p=0.16$  en la Península.  $F=0.65$ ,  $r^2=0.08$ ,  $p=0.45$  en Sonora, Figura 5a) y con la altura del tronco ( $F=0.0003$ ,  $r^2=0.001$ ,  $p=0.98$  en la Península, Figura 5b). Debido a que solo se tiene registros de la altura del tronco en solo dos poblaciones en Sonora, no fue posible aplicar algún tipo de correlación.

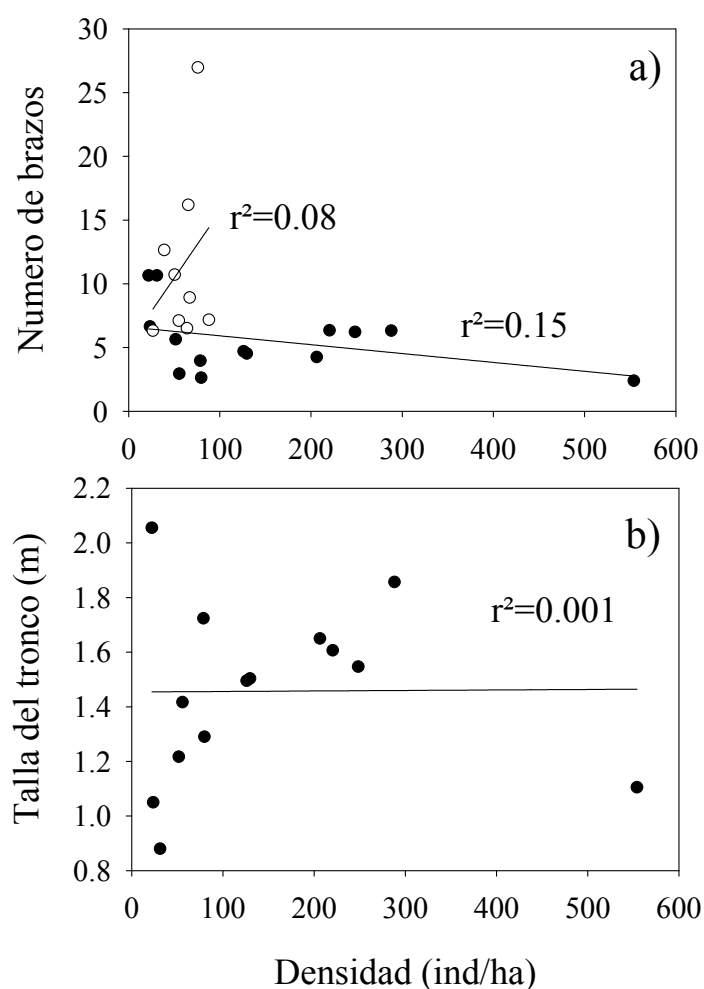


Figura 5. Ausencia de relación entre la abundancia de *Pachycereus pringlei* con: a) el número de ramificaciones en individuos de la Península (círculos en negro) e individuos de Sonora (círculos en blanco), y b) la altura de la base a la primera ramificación en individuos Peninsulares.

### ***1.6.3. Influencia del clima***

De igual manera, solo fue posible observar una asociación significativa entre la abundancia de las poblaciones en la Península de Baja California y ciertos factores del clima, como la precipitación media anual ( $F=36.61$ ,  $r^2=0.75$ ,  $p<0.0001$ , Figura 6b), la precipitación de verano y otoño ( $F=30.75$ ,  $r^2=0.72$ ,  $p=0.0001$ , corresponde a los meses de Julio, Agosto, Septiembre, Octubre y Noviembre, Figura 6a). De manera peculiar, la temperatura mínima de invierno se asoció, aunque de manera marginal (ver  $r^2$ ) a la densidad poblacional de todo el rango de distribución ( $F=5.65$ ,  $r^2=0.21$   $p=0.03$ , Figure 6c), relación que no pudo observarse de manera separada entre regiones ( $F=2.21$ ,  $r^2=0.15$ ,  $p=0.16$  para la Península.  $F=0.04$ ,  $r^2=0.005$ ,  $p=0.85$  para Sonora).

La densidad poblacional no expresó asociación con la precipitación media anual en Sonora ( $F=0.87$ ,  $r^2=0.11$ ,  $p=0.38$ ), ni con la precipitación de Verano-Otoño ( $F=1.25$ ,  $r^2=0.15$ ,  $p=0.30$ ). Los días con heladas en temporada invernal tampoco mostró relación con abundancia descrita para *P. pringlei* considerando su entera distribución ( $F=1.59$ ,  $r^2=0.07$ ,  $p=0.22$ ), como en Sonora ( $F=0.38$ ,  $r^2=0.05$ ,  $p=0.56$ ) y Península ( $F=1.4$ ,  $r^2=0.1$ ,  $p=0.27$ ) de manera particular. De igual manera, la temperatura máxima de verano no se relaciona con la abundancia, en todo el rango ( $F=0.76$ ,  $p=0.40$ ) como en regiones en específico ( $F=0.15$ ,  $p=0.7$ , para la Península,  $F=0.15$ ,  $p=0.15$ , para Sonora).

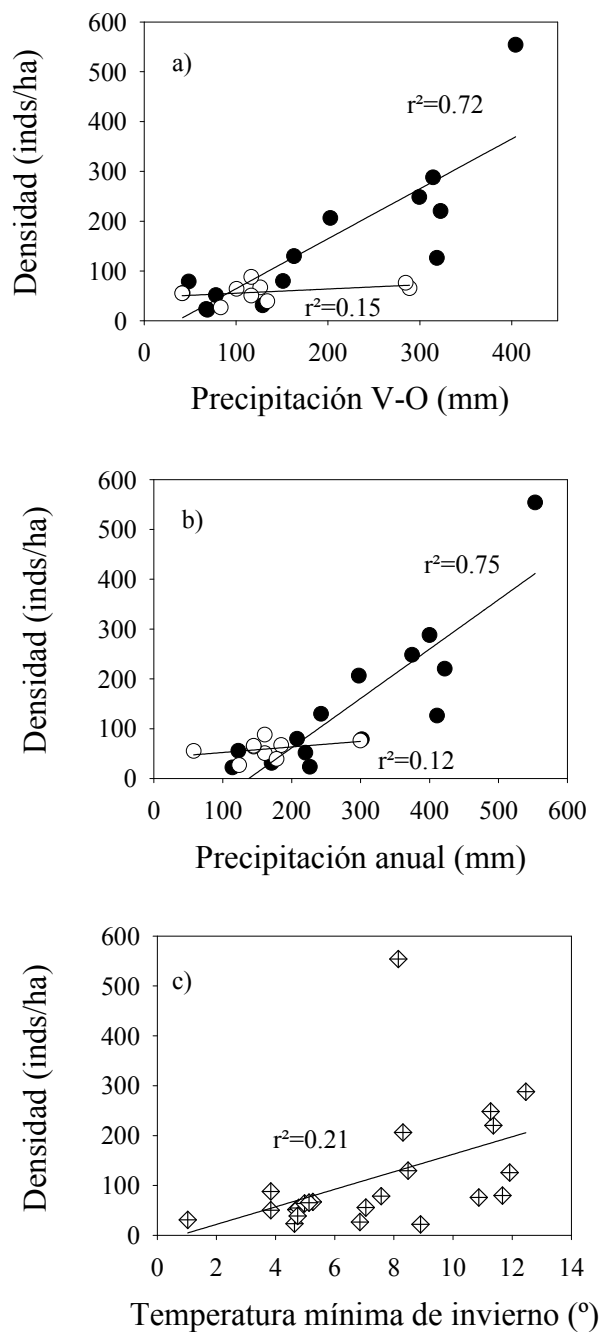


Figura 6. Asociación entre la densidad media con a) la precipitación promedio de verano-otoño b) relación de la densidad por la precipitación promedio anual, y c) relación entre la abundancia media y la temperatura mínima de invierno, que corresponde a los meses de Diciembre, Enero, Febrero y Marzo. Los círculos en blanco corresponde a poblaciones Sonorenses y los círculos en negro corresponden a datos Peninsulares.



Como datos adicionales se observó, solo para poblaciones de la Península, que la altura promedio de los individuos adultos se asocia directamente con el promedio de su diámetro basal ( $F=21.39$ ,  $r^2=0.64$ ,  $p=0.0006$ . Figura 7).

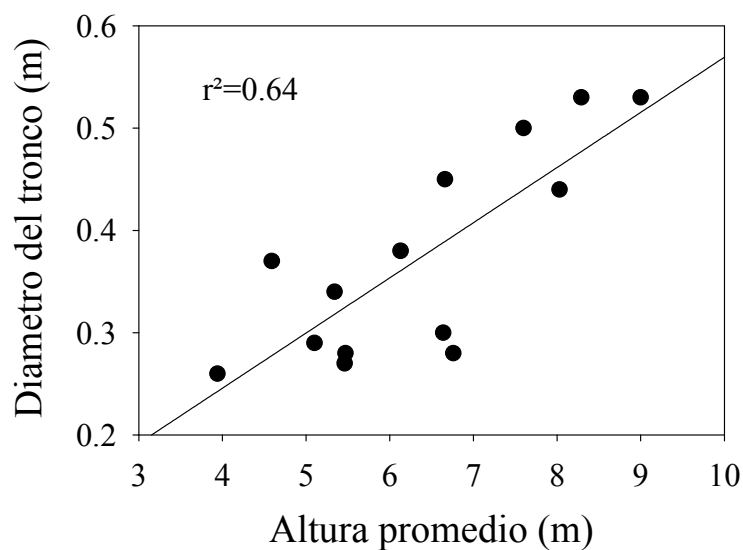


Figura 7. Relación directa entre la altura media de los individuos adultos y su diámetro.

Así mismo, la altura y el diámetro de los individuos adultos presenta una correlación inversa con la densidad promedio de las poblaciones ( $F=19.58$ ,  $r^2=0.62$ ,  $p=0.0008$ ;  $F=13.14$ ,  $r^2=0.52$ ,  $p=0.0035$ , respectivamente. Figura 8).

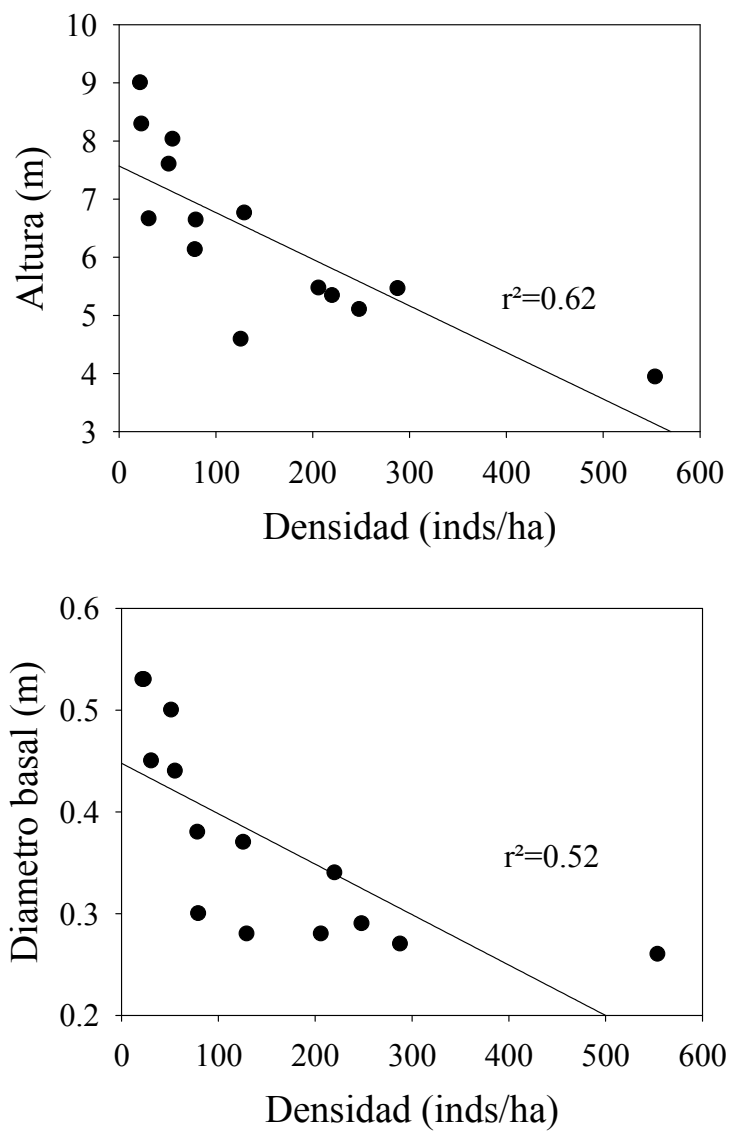


Figura 8. Relación entre la abundancia en poblaciones Peninsulares con a) la altura media de los individuos ramificados, y b) el diámetro promedio de los mismos individuos.

#### ***1.6.4. Regeneración***

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre regiones ( $H=8.91$ ,  $p=0.0116$ ) y poblaciones ( $H=50.02$ ,  $p=0.0014$ ). En las poblaciones Peninsulares el índice vario de 2 a 38%, en las poblaciones sonorenses de 7 a 39%, y en poblaciones insulares de 12 a 61%. El índice de regeneración varió en un rango de 2 a 61 % entre la totalidad de las poblaciones (Tabla 1).

#### ***1.6.5. Características de individuos ramificados***

Como se ha observado, parte de las diferencias regionales son aportadas por la estructura de las plantas con ramificaciones. Algunas características de estos tipos de individuos se mencionan a continuación.

En la Tabla 1 la alta variación en la proporción de individuos ramificados en toda su distribución, que van desde 8 al 79% entre poblaciones, no muestran un patrón geográfico que señale diferencias entre regiones ( $H=4.98$ ,  $p=0.08$ ). No obstante el número promedio de ramificaciones varia entre regiones ( $H=22.94$ ,  $p<0.0001$ ), donde en las islas se encuentran las poblaciones menos ramificadas ( $Q=1.9$ ,  $p<0.001$ ) en contraste con la Península y la poblaciones Sonorenses, que albergan poblaciones ramificadas en grado no significativo ( $Q=2.7$ ,  $p<0.05$ ,  $Q=4.7$ ,  $p<0.001$ , respectivamente). Cabe destacar que en la

población denominada el Sahuaral (en Sonora) se registró un individuo excepcional con 132 brazos.

De igual manera se observaron diferencias en la altura promedio de individuos ramificados entre regiones ( $H=19.08$ ,  $p<0.0001$ ), donde los individuos de Sonora ( $Q=3.18$ ,  $p<0.002$ ) y de Península ( $Q=4.35$ ,  $p<0.001$ ) son en promedio mas altos que los insulares. La altura media de individuos ramificados esta en el rango de 3.8 a 9.1 m, registrando el individuo mas alto en la población Puerto Canoas (estado de Baja California) con 17.5 m. El tamaño de tronco varia de 0.9 a 2 metros de altura entre poblaciones, siendo las poblaciones Sonorenses las que expresan una talla de tronco mayor que las poblaciones insulares ( $Q=2.76$ ,  $p<0.02$ ). El diámetro basal de los troncos varía de 20 a 61 cm., y son significativamente diferentes entre regiones. El diámetro basal de la Península ( $Q=2.46$ ,  $p<0.05$ ) y Sonora ( $Q=2.69$ ,  $p<0.05$ ), son en promedio mas grande que los individuos insulares, así mismo los individuos Peninsulares y Sonorenses expresan en promedio el mismo diámetro. Solo queda añadir que solo la altura promedio general ( $F=25.95$ ,  $r^2=0.68$ ,  $p=0.0003$ ), la altura promedio de los individuos ramificados ( $F=28.01$ ,  $r^2=0.70$ ,  $p=0.0002$ ) y el diámetro basal ( $F=35.03$ ,  $r^2=0.74$ ,  $p<0.0001$ ) son los únicos atributos asociados a un patrón latitudinal (Figura 9).

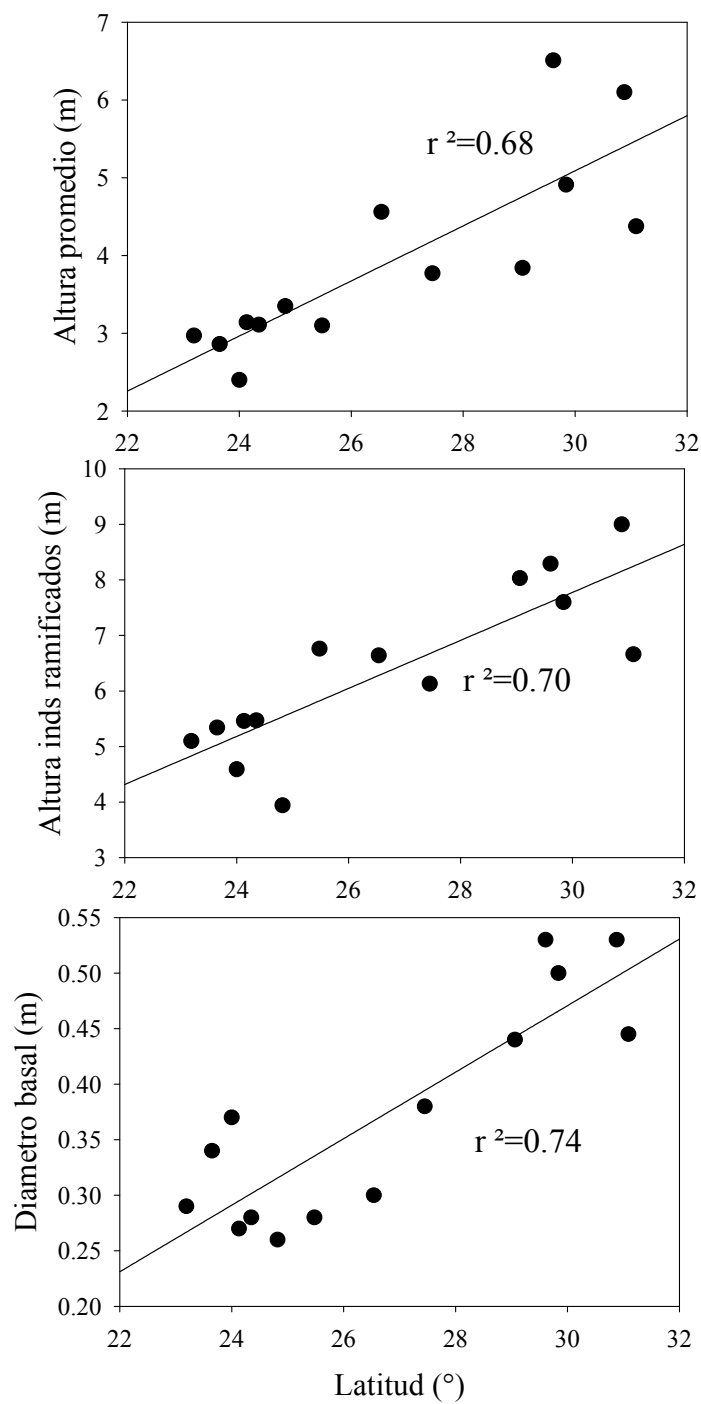


Figura 9. Efecto positivo de la latitud en la Península sobre a) la altura promedio de todos los individuos, b) la altura promedio de solo los individuos ramificados, y c) el diámetro basal de los individuos ramificados.

### ***1.6.6. Estructura poblacional***

De acuerdo al análisis no-paramétrico (Kolmogorov-Smirnov) se observaron diferencias significativas entre la distribución de clases esperada y observada. Por lo tanto, la estructura poblacional de todos los sitios de muestreo no se ajusta a una distribución log-normal. Esto indica que la estructura poblacional de *Pachycereus pringlei* corresponde a poblaciones jóvenes, en constante mortandad y reclutamiento en distintas proporciones ajustándose de mejor manera a poblaciones con regeneración en pulsos (Figura 10).

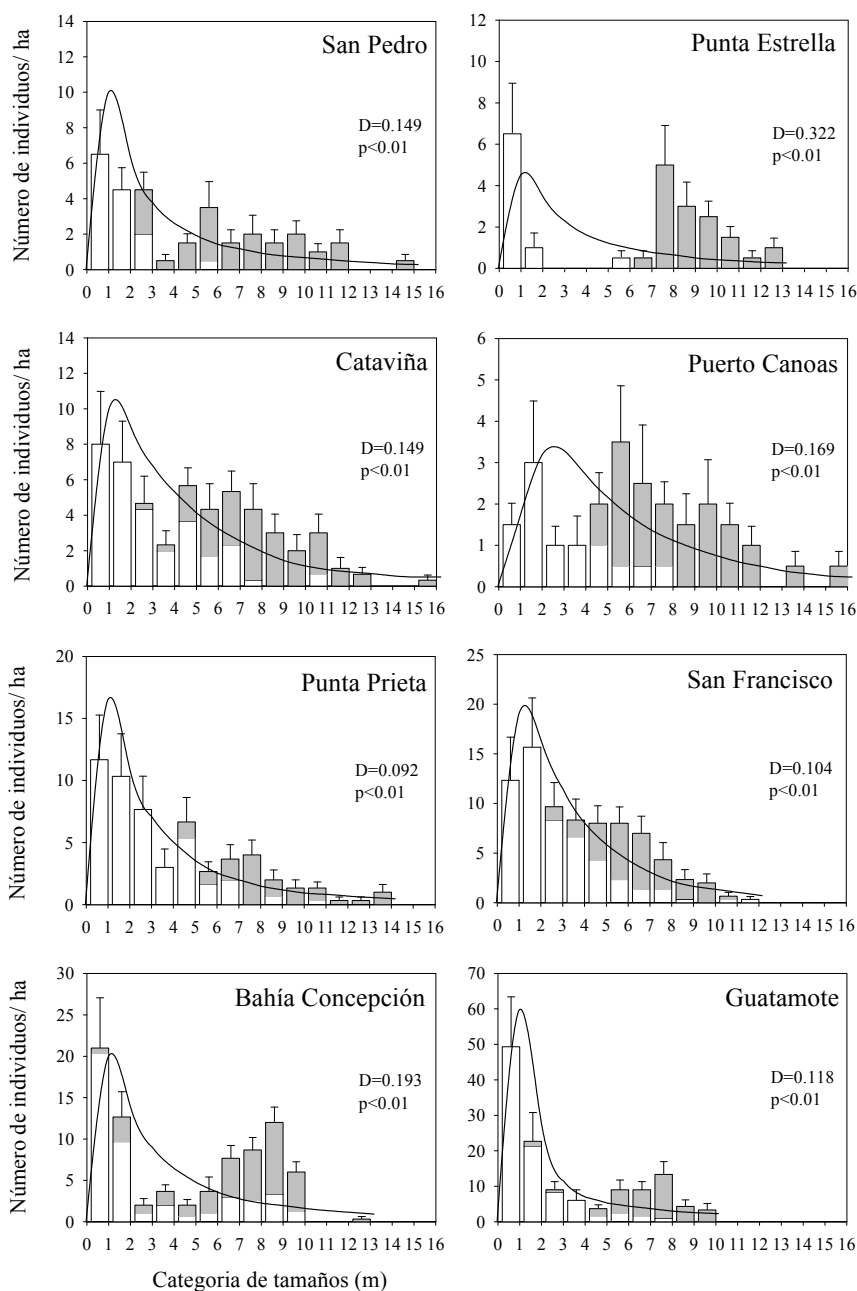


Figura 10. Representación de la estructura poblacional de 26 poblaciones de *Pachycereus pringlei* a lo largo de Desierto Sonorense. Las barras en cada ilustración representa en número de individuos (+ 1 desviación estándar) en clases de altura de 1 m: Las barras en blanco corresponden a los individuos sin ramificaciones y las barras en gris corresponden a los individuos con brazos. El número debajo del nombre de la población corresponde al número total de individuos por hectárea en cada localidad. La escala del eje de las Y no es uniforme en todas las poblaciones, están escaladas de acuerdo a la variación entre sitios.

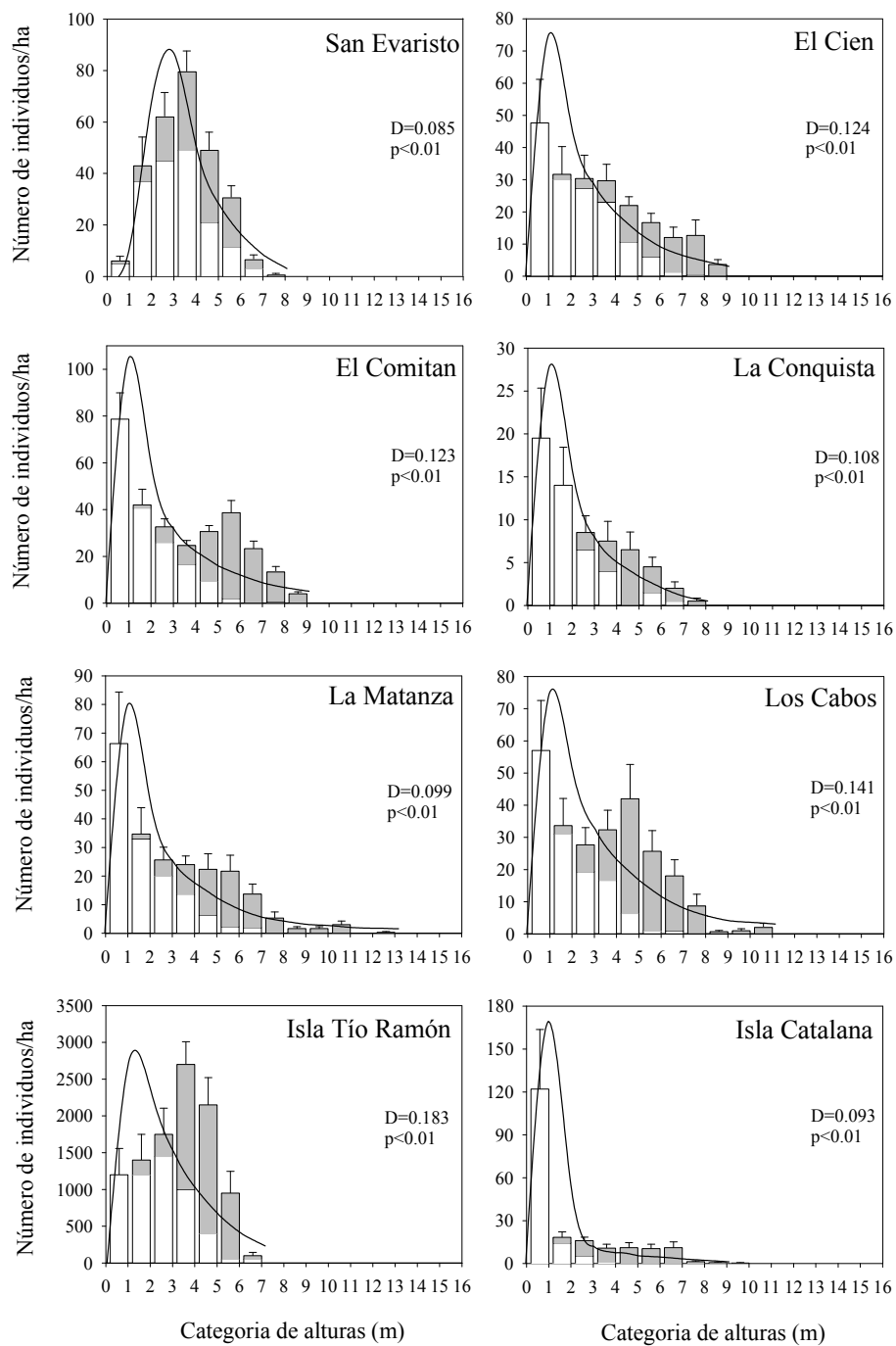


Figura 10. Continuación.



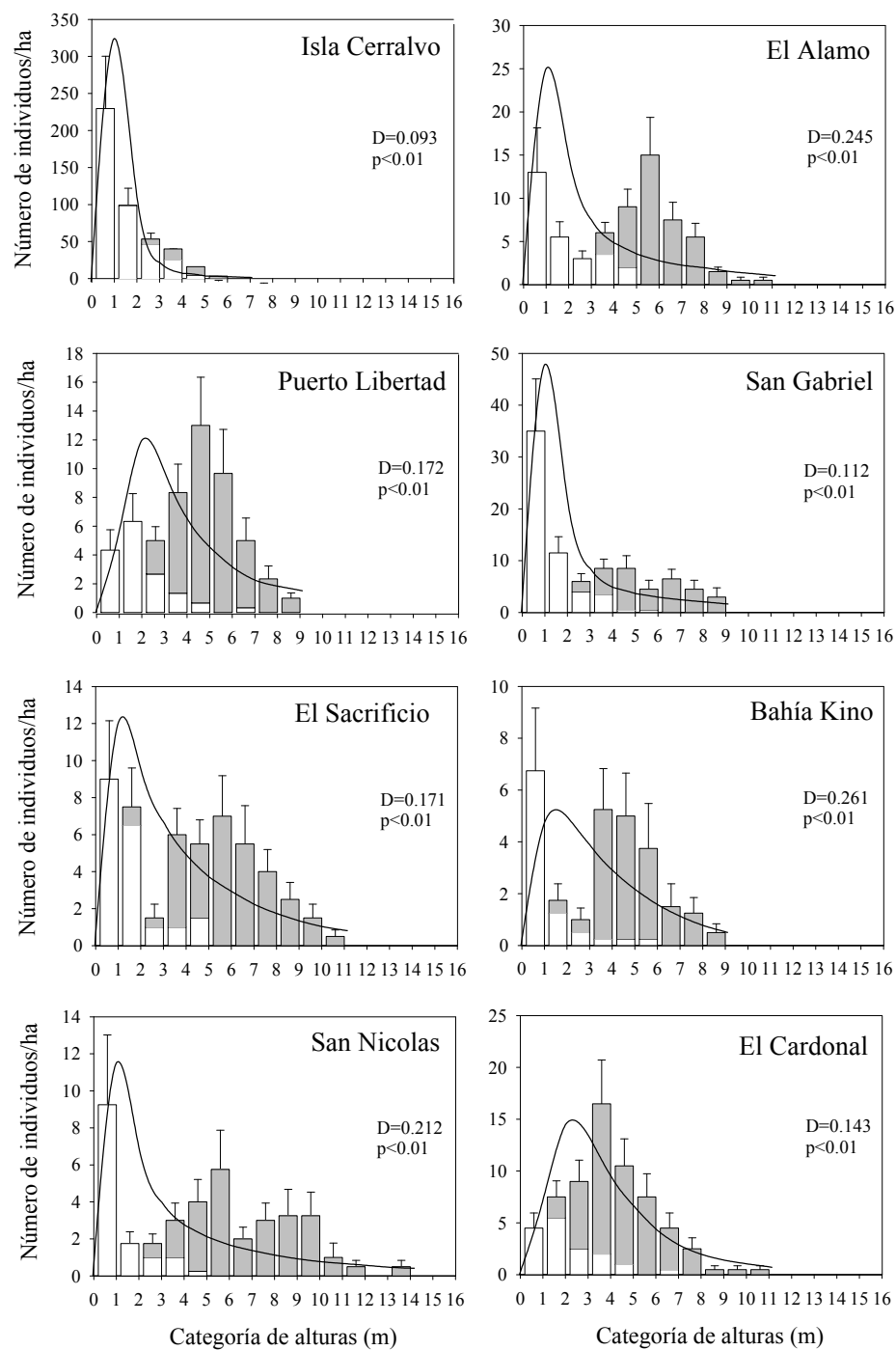


Figura 10. Continuación.

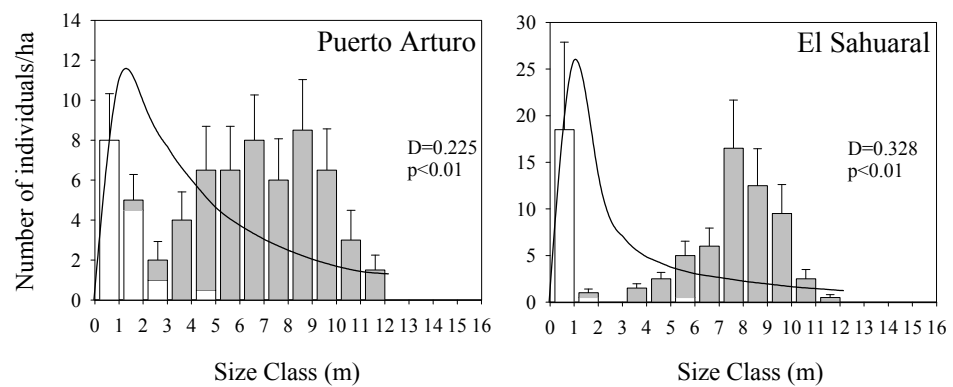


Figura 10. Continuación

## 1.7. DISCUSIÓN

En el centro de México se han canalizado la mayoría de estudios ecológicos tendientes a evaluar el estado biológico de las cactáceas columnares, debido a que la mayor proporción de estas especies se localizan en la zona centro de la republica, pero también se aprovecha la relativa cercanía con los principales instituciones de estudios en ciencias biológicas y ecológicas (Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet 2004, Esparza-Olguín *et al.* 2001, Valiente-Banuet y Ezcurra 1991).

Usualmente especies de amplia distribución como *P. pringlei* desmotivan su estudio por el simple hecho de estar representado en un amplio rango geográfico, lo que hace reconsiderar el esfuerzo económico y logístico necesario para ejecutar cualquier tipo de estudio. *P. pringlei* representa la cactácea columnar con el mayor rango de distribución estudiado entre los miembros de su familia (Niering *et al.* 1963, Steenberg y Lowe 1983, Valiente-Banuet y Ezcurra 1991, Esparza-Olguin *et al.* 2001, Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet 2004), y abordarla represento un reto desde el planteamiento de los métodos a usar.

Hastings y Turner (1965a), y Turner *et al.* (1995, 2003), distinguen por primera vez diferentes abundancias entre una isla y tierra firme en la Cd. de Guaymas, Sonora. Los resultados de esta investigación también describen un comportamiento similar en un sitio relativamente cercano a esa localidad (ver Tabla 1, poblaciones Tío Ramón y El Sahuaral). Turner *et al.* 2003, estimaron un densidad cercana a 8,000 individuos por hectárea en dos

pequeñas islas cercanas a Guaymas, Son. Curiosamente sus resultados indican que la densidad ha aumentado en los últimos años en contraste con la abundancia de poblaciones de tierra firme, condición muy especial observada en esta especie.

Hasta el momento se desconocen los mecanismos responsables de las diferentes abundancias entre las poblaciones isleñas y costeras de Sonora. Se sabe, sin embargo, que por su cercanía ambas regiones geográficas comparten los mismos elementos climáticos (INEGI 1982). Es posible profundizar más aun sobre los procesos ecológicos sucedidos entre las poblaciones contrastantes aquí estudiadas (Isla Tío Ramón y El Sahuaral), a fin de registrar cambios en la tasa de reproducción y muerte. No obstante, nótese que la población El Sahuaral está representada en su mayoría por individuos que sobrepasan los 7 metros, que a diferencia de la Isla Tío Ramón está compuesta mayoritariamente por individuos menores a 6 metros y que tienen menos de una sexta parte de brazos que los de El Sahuaral. Esto hace suponer que el establecimiento de los cardones en las islas cercanas a Guaymas corresponde a un evento relativamente reciente. Por otro lado, se sabe que los roedores y lagomorfos participan activamente en la dinámica del establecimiento de plántulas de cactáceas (Turner *et al.* 1969, Steenbergh y Lowe 1983, Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet 1998), y que las pequeñas Islas del Golfo poseen menor diversidad de roedores y lagomorfos a diferencia de tierra firme (Timothy *et al.* 2002, Lawlor *et al.* 2002). Por otro lado las aves y murciélagos también participan significativamente en la polinización y reclutamiento de las poblaciones de cardón (Fleming *et al.* 1996), aunque este proceso no ha sido descrito para las islas del golfo. Realizando pruebas con diferentes niveles de exclusión de roedores y lagomorfos en temporadas de fructificación podrían definir el

grado de participación en el reclutamiento poblacional. Aunado a esto se hace notar que las poblaciones en El Sahuaral están sujetas a presión antropocéntrica, establecidos en propiedad privada que no restringe el pastoreo de ganado y el paso de automóviles.

Fue común observar, en la mayor parte de los análisis estadísticos, el efecto geográfico de la Península de Baja California sobre la demografía y morfológico de esta especie. De manera particular se hace notar la alta correlación entre la latitud con la precipitación total y de la temporada monzónica. La temporada de lluvias en Verano Otoño y la presencia de huracanes, representan el mayor aporte de humedad a la región sur de la Península (Hastings y Turner 1965b). Turner *et al.* (1995) y Shreve (1911), mencionan la importancia de las lluvias de verano en la dispersión y germinación de semillas de *P. pringlei* y de otras cactáceas columnares del Desierto Sonorense. A nivel regional se observa que las poblaciones australes de la Península soportan un mayor número de individuos en etapas tempranas, a diferencia de las del norte donde la incidencia de huracanes es rara y el patrón de lluvias tipo monzón es débil, así como el invernal. Esto sugiere que la abundancia de *P. pringlei* se presenta con mayor frecuencia en el sur de la península gracias a la precipitación ocurrida en el período verano-otoño.

De manera contraria a la región Peninsular, en la zona costera de Sonora no es posible apreciar algún patrón latitudinal que asocie la incidencia de lluvias a cualquier parámetro poblacional estudiado. La relativa corta extensión territorial de las poblaciones de cardón en Sonora podría no ser suficiente para expresar variación alguna.

Las islas son las regiones donde se puede encontrar la mayor cantidad de individuos por unidad de área. Dada la cercanía con tierra firme, hacen suponer que se encuentran bajo la misma influencia ambiental. Es necesario, contar con adicionales datos del ambiente para poder ofrecer una respuesta satisfactoria sobre el factor que marca diferencia en la abundancia del cardón en Islas del Golfo y en la tierra peninsular y continental adyacente. Las tres regiones geográficas están sujetas a diferentes presiones climáticas que promueven condiciones ambientales específicas, por consecuencia las poblaciones Peninsulares, Sonorenses e insulares están sujetas a una grande variación ambiental mostrando clara diferencia en la abundancia poblacional. Adicionalmente, después de la precipitación, la temperatura mínima de invierno indica tener una asociación positiva con la densidad promedio de *P. pringlei*. Esto indica que en los sitios donde se observan temperaturas invernales relativamente bajas, la densidad del cardón disminuye.

La densidad promedio de las poblaciones Peninsulares presenta una relación inversa con el diámetro basal de los individuos ramificados y su respectiva altura máxima; esta relación no fue observada para poblaciones Sonorenses. Dado que la precipitación se asocia la latitud y la densidad a la precipitación, hace suponer que el diámetro del tronco y la talla e los individuos se asocian a la disponibilidad de agua. Esta relación podría relacionarse al proceso llamado denso-dependencia, que limita el crecimiento de las poblaciones de acuerdo a la disponibilidad de recursos (en este caso agua, y por consecuencia de nutrientes). Es sabido que la disponibilidad de agua en las zonas desérticas es el mayor limitante de vida para las especies vegetales, y algunas características poblacionales se ven modificadas de acuerdo a los recursos que ofrece el ambiente (Miller y Huenneke 2000).

Los resultados indican que los individuos adultos con mayor talla se localizan en Sonora y en la parte norte de la Península. Se sabe también que el cardón expresa un sistema radicular extenso, capacitándolo para utilizar en mayor medida el agua y nutrientes disponible en la rizósfera (Nobel 2002). Asociado a estas cualidades, un buen sistema radicular es necesario para anclar a los individuos ante la presencia de fuerte vientos, y en presencia de grandes individuos se espera que el sistema radicular sea relativamente más extenso. Un sistema radicular extenso en poblaciones densas propicia competencia inter-específica, reduciendo la asimilación y almacenamiento de agua, así como el crecimiento radicular y en cierta medida la capacidad reproductiva, tal como McAuliffe y Janzen 1986, determinaron para *Carnegiea gigantea*, el equivalente ecológico de *P. pringlei* en la parte norte del desierto Sonorense. Es necesario demostrar en futuros estudio que la baja densidad poblacional en la parte norte de la Península y sonora, obedecen a una respuesta denso-dependiente (estrategas k).

La mayor parte de las poblaciones muestran un relativo alto número de individuos juveniles o menores de 1 metro. Esto indica que el reclutamiento es incesante, por lo que las condiciones para el establecimiento no están severamente restringidas. De acuerdo a los análisis, la estructura poblacional de *P. pringlei* no se ajusta a una distribución log-normal, que caracteriza a las poblaciones en crecimiento y óptimo reclutamiento, más bien expresa un desarrollo resultado de reclutamientos en pulsos o bien alta mortalidad en clases intermedias a consecuencia de enfermedades poco conocidas y documentadas. Este mismo patrón ha sido observado en algunas cactáceas columnares de la región de Tehuacán (Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet 2004) y del Desierto Sonorense (Steenbergh y Lowe

1983). Los altibajos observados son el reflejo de su historia evolutiva a corto plazo (periodos secos o de intensas lluvias), y su análisis permitirá pronosticar futuros eventos. No obstante, factores denso-dependientes como el llamado exceso de reproducción, promoverá un mayor o menor número de individuos en ciertas etapas. El incremento de individuos promueve que los recursos del medio se agoten y afecte un óptimo reclutamiento en futuras generaciones. Aparentemente la estructura de las islas es monotónica, observando alta presencia de individuos juveniles e inmaduros. No obstante, los análisis estadísticos mostraron que el alto número de juveniles no parece ser suficiente para designarlas como estables o con adecuado nivel de reclutamiento.

Una de las poblaciones de este estudio (Bahía Concepción) presentó el síndrome de daño por aplanamiento (*Flat Top Decay*), descrito por Bashan *et al.* (1995), el cual promueve que el 32.2% de los individuos de esa población expresen el daño característico del aplanamiento. Nuestro estudio indica que solo en Bahía Concepción la presencia de esta afectación fue significativa, encontrando que el 33.7 % de los individuos adultos presentan esta característica. También se detectó que una muy baja proporción (0.05%) de individuos juveniles e inmaduros con esta afectación, suponiendo que el daño se restringe solo a individuos adultos. Bahía Concepción es caracterizada por un índice de regeneración superior a la media Penínsular (25 vs. 23.5), lo cual indica que es una de las poblaciones con mayor número de reclutamientos *per cápita* en la Península. Considerando que la densidad poblacional en esa región es de 79.7 individuos por hectárea, de los que 43.5% de ellos se considera adulto, el total de la población con el daño apical es muy bajo. La relativa



alta proporción de individuos jóvenes, indica que el reclutamiento en esa población no ha cesado y la población se considera relativamente estable.

Es posible afirmar que las poblaciones de *Pachycereus pringlei* no presentan problemas de regeneración en su toda distribución. La presencia de reclutamiento en pulsos provee de un número suficiente de individuos juveniles para un mantenimiento óptimo. No obstante, existen poblaciones cercanas a asentamientos humanos que pueden estar sujetas a cambios negativos en escala de largo tiempo provocando cambios en su reclutamiento. Es necesario implementar estudios que analicen la influencia de la presión antropocéntrica en algunas poblaciones, con el fin de evaluar su efecto y proponer medidas de protección (Heywood e Iriondo 2003).

La abundancia y estructura de las poblaciones insulares hacen suponer que es necesario estudiar a profundidad considerando un mayor número de poblaciones en esta situación geográfica. Dadas las hipótesis planteadas se demostró que la abundancia depende significativamente de la situación geográfica y los efectos del medio de cada región. El cardón no presenta una estructura ajustada a la distribución log-normal, no obstante las poblaciones se consideran estables con una relativa alta proporción de reclutantes. Así mismo, se pudo comprobar que el efecto insular a través de las condiciones climáticas y efecto latitudinal, influye significativamente en la distribución y conformación de las poblaciones.

## 1.8. LITERATURA CITADA

- Álvarez R. H. Godínez-Álvarez, H., U. Guzmán y P. Dávila. 2004. Aspectos ecológicos de dos cactáceas mexicanas amenazadas: Implicaciones para su conservación. *Boletín de la Sociedad Botánica Mexicana*. 75:7-16
- Arias, S. M. 1993. Cactáceas: conservación y diversidad en México. *Rev. Soc. Hist. Nat. Vol. Esp.* 44:109-115.
- Barbour, M. G., J. H. Burk, y W. D. Pitts. 1987. *Terrestrial Plan Ecology*. The Benjamin/Cumming Publishing Company, Inc. 2da edición. pp 52 .
- Bashan, Y., G. Toledo, y G. Holguín. 1995. Flat top decay syndrome of the giant cardón cactus (*Pachycereus pringlei*): description and distribution in Baja California Sur, México. *Canadian Journal of Botany*. 73:683692.
- Bashan, Y. 2000. A proposal for conservation of exemplary stands of the giant cardón cactus (*Pachycereus pringlei*) in Baja California Sur, México. *Natural Areas Journal*. 20:197-200.
- Berryman, A. A. 2002. Population: a central concept for ecology? *Oikos* 97: 439442.
- Bullock, S. H., N. E. Martijena, R. H. Webb, y R. M. Turner. 2005. Twentieth century demographic changes in cirio and cardón in Baja California, México. *Journal of Biogeography*. 32:127143.
- Clark-Tapia, R., F. Molina-Freaner. 2004. Reproductive ecology of the rare clonal cactus *Stenocereus eruca* in the Sonoran desert. *Plant Systematics and Evolution*. 247:155-164
- Dávila-Aranda, P., S. Arias-Montes, R. Lira-Saade, J. L. Villaseñor, y A. ValienteBanuet. 2002. Phytogeography of the Columnar Cacti (Tribu Pachycereeae) in México: a cladistic approach. *In: Fleming, T. H. and ValienteBanuet, A. (eds.), Columnar cacti and their mutualists: evolution, ecology, and conservation*. University of Arizona Press. pp. 2541.
- Esparza-Olguín, L., T. Valverde y E. Vilchis-Anaya. 2001. Demographic analysis of a rare columnar cactus (*Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacán Valley, México. *Biological Conservation*. 103:349-359.
- Gibson, A. C. y P. S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press. EE. UU. pp 286.
- Godínez-Álvarez, H. y A. Valiente-Banuet. 1998. Germination and early seedling growth of Tehuacán Valley cacti species: The role of soils and seed ingestion by dispersers on seedling growth. *Journal of Arid Environments*. 39:21-31.
- Godínez-Álvarez, H., T. Valverde, y P. Ortega-Baez. 2003. Demographic trends in the Cactaceae. *Botanical Review*. 69:173-203.
- Godínez-Álvarez, H., y A. Valiente-Banuet. 2004. Demography of columnar cactus *Neobuxbaumia macrocephala*: a comparative approach using population projections matrices. *Plant Ecology*. 174:109-118.
- Harper, J. L. 1977. *Population biology of plants*. Academic Press, London. pp 892.
- Hastings, J. R., y R. M. Turner. 1965a. The changing mile: An ecological study of vegetation change with time in the lower mile of an arid and semiarid region. University of Arizona Press. Tucson.
- Hastings, J. R., y R. M. Turner. 1965b. Seasonal precipitation regimes in Baja California, México. *Geografiska Annaler*. 47: 204-233.
- Heywood, V. H., y J. M. Iriondo. 2003. Plant conservation: old problems, new perspectives. *Biological Conservation*. 113:321-335.
- INEGI. 1982. Carta geológica, 1:250 000. G122. INEGI. Aguascalientes, México.

- INEGI. 2001. XII Censo General de Población y Vivienda, 2000. Tabulados Básicos. INEGI. Aguascalientes, México.
- McAuliffe, J. R. 1991. Demographic shifts and plant succession along late Holocene soil chronosequence in the Sonoran Desert of Baja California. *Journal of Arid Environment*. 20:165-178.
- McAuliffe, J. R. y Janzen, F. J. 1986. Effects of intraspecific crowding on water uptake, water storage, apical growth, and reproductive potential in the sahuaro cactus, *Carnegiea gigantea*. *Botanical Gazette*. 147: 334-341.
- McAuliffe, J. R. and Van Devender, T. R. 1998. A 22,000-year record of vegetation change in the north-central Sonoran Desert. *Palaeogeography and Palaeoclimatology* 141:253-275.
- Miller, R. E., y L. F. Huenneke. 2000. The relationship between density and demographic variation within a population of *Larrea tridentata*. *Southwestern Naturalist*. 45:313-321.
- Mittermeier, R. A., C. G. Mittermeier, T. M. Brooks, J. D. Pilgrim, W. R. Konstant, G. A. da Fonseca, y C. Kormos. 2003. Wilderness and biodiversity conservation. *PNAS*. 100:10309-10313.
- Niering W. A., R. H. Whittaker, y C. H. Lowe. 1963. The saguaro: a population in relation to Environment. *Science*. 142:1523.
- Niklas, K.J., F. Molina-Freaner, C. Tinoco-Ojanguren, y D. J. Paolillo, Jr. 2002. The biomechanics of *Pachycereus pringlei* root system. *American Journal of Botany*. 89:1221.
- Nobel, P. S. 2002. *Cacti, biology and uses*. University of California Press. pp 280.
- Parker, K. C. 1989. Height structure and reproductive characteristics of senita *Lophocereus schottii* (Cactaceae) in Southern Arizona. *The Southwestern Naturalist*. 34:392-401.
- Quintas, I. 2000. Eric II. Documentación de la base de datos climatológica y del programa extractor. Instituto Mexicano del Agua (IMTA). México, D. F.
- Salak, M. 2000. In search of the tallest cactus. *Cactus and Succulent Journal* 72 (3).
- SAS. 2005. JMP Release 6. SAS Institute. EE.UU. pp 485
- Schweingruber, F. H. 1988. *Tree rings: Basics and applications of dendrochronology*. D. Reidel Publishing Company. Holanda. pp 276.
- Shreve, F., y I. L. Wiggins. 1964. *Vegetation and flora of the Sonoran Desert*. Vol. I. Stanford University Press.
- Shreve, F., 1911. The influence of low temperature on the distribution of giant cactus. *Plant World* 14:136-146.
- Silva, P. C. 1996. Demografía comparativa de *Pachycereus pringlei* en dos unidades geomórficas contrastantes del paisaje en Baja California Sur, México. Tesis de Maestría, UNAM. México.
- Silvertown J. W. y D. Charlesthworth. 2001. *Introduction to Plant Population Biology*. 4ta edición. Blackwell Science. 347 pp.
- Stebbins, G. L. 1979. Fifty years of plant evolution. *In: Solbrig O. T., S. Jain, G. B. Johnson, y P. H. Raven*. 1979. *Topics in Plant Population Biology*. Columbia University Press. pp 1841
- Steenbergh W. F., C. H. Lowe. 1976. Ecology of the Saguaro I. The role of the freezing weather in a warmdesert plant population, p. 49-92. *In: Research in the Parks*. Symposium Series 1, U.S. National Park Service, Washington, DC.
- Steenbergh W. F. y C. H. Lowe 1983 *Ecology of the saguaro III: growth and demography*. National Park Service Scientific Monograph Series No. 17. National Park Service, Washington, D.C., USA
- Stewart, A. J. A., E. A. John y M. J. Hutchings. 1999. The word is heterogeneous: ecological consequences of living in a patchy environment. *In: The ecological consequences of environmental heterogeneity*. Hutchings, M, J., E. A. John y A. J. A. Stewart. Blackwell Science. pp 434.

- Solbrig O. T., y G. L. Stebbins. 1979. Topics in Plant Population Biology. Columbia University Press. pp 589.
- Terrazas-Salgado, T. y J. D. Mauseth. 2002. Shoot anatomy and morphology. *In: Cacti, Biology and uses*. P. S. Nobel (ed). University of California Press. pp 23-40.
- Tilman, David. 1988. Plant strategies and the Dynamics and Structure of Plant Communities. Princeton University Press. pp 376.
- Timothy E. L., D. J. Hafner, P. T. Stapp, Brett R. Riddle, y S. T. Álvarez-Castañeda. 2002. Mammals. *In: Case, T. J., M. L. Cody, y E. Ezcurra (eds.)*, A new island biogeography of the Sea of Cortés. Oxford University Press. pp 326-361.
- Turner, R.M. 1990. Longterm vegetation change at a fully protected Sonoran Desert site. *Ecology* 71:464-477.
- Turner, R. M., S. M. Alcorn, y G. Olin. 1969. Mortality of transplanted saguaro seedlings. *Ecology*. 50:835-844.
- Turner, R. M., J. E. Bowers, y T. L. Burges. 1995. Sonoran Desert plants, an ecological atlas. The University Arizona Press. pp 504.
- Turner, R. M., R. H. Webb, J. E. Bowers, y J. R. Hastings. 2003. The changing mile revisited: an ecological study of vegetation change with time in the lower mile of an arid and semiarid region. University of Arizona Press. pp 332
- Valiente-Banuet, A. y E. Ezcurra. 1991. Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse plant *Mimosa luisana* in the Tehuacán Valley, Mexico. *Journal of Ecology* 79:961-71.
- Valiente-Banuet A., P. Dávila, R. J. Ortega, M. C. Arizmendi, J. L. León de la Luz, A. Breceda y J. Cancino. 1995. Influencia de la evolución de una pendiente piedemonte en una vegetación de cardónal de *Pachycereus pringlei* en Baja California Sur, México. *Investigaciones Geográficas*. UNAM. 3:101-113.
- Wallace, R. S. 2002. The phylogeny and systematic of Columnar Cacti: An overview. *In: Columnar Cacti and their mutualist*. T. H. Fleming y A. ValienteBanuet. Eds. The University of Arizona Press. pp 4265
- Zar, J. H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice Hall. pp 929.

CAPITULO II.- Sistemas reproductivos y variabilidad genética de  
*Pachycereus pringlei*.

## 2.1.- ANTECEDENTES

### ***2.1.1.- Sistemas reproductivos***

La evolución del sexo en plantas ha sido un tema de gran interés en estudios de biología contemporánea (Heslop-Harrison Jr. 1982, Lovett-Doust y Lovett-Doust 1988). Su estudio ha permitido comprender la evolución de los sistemas reproductivos como medidas adaptativas a economizar recursos y no necesariamente como adaptación a un entorno cambiante (Eguiarte *et al.* 1999). La parte teórica de estos estudios proponen modelos que describen diversas rutas evolutivas para sistemas reproductivos. La variedad de rutas descritas para vegetales, se rigen por las características botánicas, fisiológicas y ecológicas, de manera que se pueden observar gran diversidad de sistemas de acuerdo a la especie, y la gran variedad de factores del medio que interactúan con ella (Futuyma 1998, Heslop-Harrison Jr. 1982).

Los vegetales de zonas áridas han desarrollado una amplia gama de mecanismos para sobrevivir ante limitaciones y eventualidades a través de estrategias reproductivas traducidas en adaptaciones morfológicas y fisiológicas. Entre la gran variedad de estrategias reproductivas de los vegetales se pueden encontrar aquellas que expresan cambios estructurales, funcionales y fenológicos. Por eso, se ha optado por diferenciar las estrategias en sistemas reproductivos, clasificándose primeramente en reproducción vegetativa, asexual y sexual.

La propagación es el mecanismo más básico para incrementar el número de individuos de una población, este es un tipo de reproducción asexual que solo promueve la continuidad del mismo genoma, es una de las formas más económicas de enriquecer de número de individuos en una población. El bajo costo energético (no invierte recursos en la producción de estructuras florales) por "desendiente" producido permite un ahorro que puede ser administrado para sobrellevar, por ejemplo, el déficit o exceso de energía solar, temperatura, nutrientes, agua, dispersores o suministro de polen. Algunas cactáceas del Desierto Sonorense tienen la capacidad de propagarse mediante "brazos", como es el caso de *Stenocereus eruca* (Clark *et al.* 2005) y *Stenocereus gummosus* (obs. en campo). No obstante su principal desventaja es la de exponer a mayor número de individuos a eventualidades ambientales, como plagas y variaciones letales en los factores climáticos (Eguiarte *et al.* 1999).

La reproducción sexual, corresponde a la generación de nuevos individuos  $2n$  a través de la unión del gametofito masculino y el femenino, suceso que ocurre dentro del ovario de la flor y que previamente requiere del desarrollo de las flores y del proceso de la polinización cruzada, el resultado es la producción potencial de individuos con información en cierto grado distinta a la de sus progenitores. La alogamia se caracteriza por el entrecruzamiento, y es sin duda el mejor proceso en los vegetales superiores para promover la heterozigosis y la variabilidad genética. Las especies que experimentan reproducción sexual evitan la auto-fecundación a través de varios mecanismos como la separación espacial de estructuras sexuales o la separación temporal las funciones reproductivas. Otro

mecanismo para evitar la auto-fecundación es la incompatibilidad gamética o la inducción a la aborción de frutos auto-fecundados (Dellaporta y Calderón-Urrea 1993, Ainsworth 2000, Charlestworth y Charlestworth 1978, Eguiarte *et al.* 1999).

De los diferentes mecanismos para promover la polinización o fecundación cruzada, la separación espacial de los órganos reproductivos es considerada como uno de los mecanismos más extremos y costosos en términos energéticos para evadir los problemas que causa la auto-polinización (Ainsworth 2000, Dellaporta y Calderón-Urrea 1993). De manera ejemplar se menciona a continuación las diferentes formas de reproducción o sistemas reproductivos que las poblaciones experimentan como mecanismos optimizadores de recursos: dicha variedad es el resultado de recombinaciones genéticas originadas por diferentes procesos evolutivos.

- Hermafroditas.- Poblaciones con plantas hermafroditas
- Monoicas.- Poblaciones con flores masculinas y femeninas en una misma planta
- Dioicas.- Poblaciones con plantas masculinas y plantas femeninas
- Ginodioicas.- Poblaciones con plantas hermafroditas y femeninas
- Androdioicas.- Poblaciones con plantas hermafroditas y masculinas
- Trioicas.- Poblaciones con plantas hermafroditas, masculinas y femeninas

El cardón expresa trimorfismo sexual, refiriéndose la presencia en una misma población de individuos hermafroditas y unisexuales (masculinos y femeninos). La unisexualidad en las plantas es considerada parte culminante de un proceso evolutivo donde de manera gradual se va perdiendo una u otra expresión sexual (Hoffman 1992, Charlesworth



y Charlesworth 1999). En el caso de *Pachycereus pringlei*, es posible observar poblaciones donde co-existen las tres expresiones sexuales (poblaciones trioicas) y donde solo se presentan individuos femeninos y hermafroditas (Fleming *et al.* 1998).

La pérdida gradual la funcionalidad sexual en plantas se debe básicamente a dos tipos de mutaciones. La esterilidad femenina esta asociada a mutaciones en el genoma nuclear, donde se ha visto por ejemplo el efecto de la inserción de trasposones en regiones codificantes asociadas a la funcionalidad sexual femenina transmitiendo ala siguiente generación una mal funcionalidad del gen (Pereira *et al.* 1997). Dado que se ha observado diferente grado de esterilidad femenina en algunas plantas (Medel-Narváez 2003), se hace suponer que la funcionalidad femenina esta asociada a diferentes tipos de mutaciones nucleares.

La esterilidad masculina es causada por una mutación en el genoma de la mitocondria que afecta el desarrollo del polen, su herencia es usualmente materna en la mayoría de las angiospermas (Boutin *et al.* 1987, Saumitou-Laprade *et al.* 1994).La esterilidad masculina ha sido ampliamente estudiada y se ha denominado como el factor Esterilidad Masculina Citoplasmática (CMS por sus siglas en ingles) a una serie de mutaciones llevadas acabo en el genoma de la mitocondria (McCauley 1998, Schultz 1994, Delph *et al.* 2007). Algunos estudios moleculares en poblaciones ginodioicas la presencia de diferentes citotipos, mismos que han sido asociados con diferentes factores CMS (McCauley y Olson 2003, Dufay *et al.* 2007). Algunos autores han propuesto en base a análisis moleculares, que la esterilidad masculina esta asociada cambios estructurales en la

región del Citocromo Oxidasa I (*COI*) del genoma mitocondrial. No obstante se ha documentado la asociación entre CMS y genes nucleares restauradores (Boutin *et al.* 1987), esto significa que la presencia de mutaciones en la mitocondria son reparados por genes específicos del genoma nuclear.

McCauley y Olson (2003), observaron que el cpADN y el mtADN se encuentran ligados con la esterilidad masculina en *Silene vulgaris* e hipotetizaron que ambos genomas se encuentran en desequilibrio gamético. De igual manera Forcioli *et al.* (1998) encontraron en *Beta vulgaris* una asociación entre haplotipos del cpADN y varios factores CMS. De esta manera ha surgido la idea de que el cpADN y el mtADN están íntimamente ligados, debido a que ambos genomas evolucionan conjuntamente (Forcioli *et al.* 1998, McCauley y Olson 2003, Petit *et al.* 2005, Olson y McCauley 2002). Algunos autores han propuesto que ambos genomas pueden ser evaluados para determinar variaciones citoplasmáticas en plantas (Petit *et al.* 2005). Sin embargo el número especies ginodioicas que han sido evaluadas es hasta el momento limitada para dar una idea clara sobre la variación de cpADN y su asociación con la variación citoplasmática en especies ginodioicas.

Debido a que la esterilidad masculina es provocada por cambios mutacionales en el mtADN, que variación en el genoma mitocondrial se asocia a una variación citoplasmática, es de esperarse que la variabilidad genética del genoma mitocondrial incremente en la evolución de sistemas hermafroditas a ginodioicos (Fénart *et al.* 2006, Laporte *et al.* 2001).

Aunque existen estudios que avalan esta propuesta en especies que presenta amplia distribución y sean caracterizados por ser longevos.

De acuerdo con un modelo teórico de evolución sexual (Figura 11), las poblaciones pueden presentar uno o los dos tipos de mutaciones al mismo tiempo (pero no en un mismo individuo, de ser así se inducirá a la generación de individuos neutros y sin función sexual, Medel-Narváez 2003). Si en una población hermafrodita se presentaran las dos tipos de mutaciones, aparte de los individuos hermafroditas, se integrarían individuos masculinos y femeninos de manera eventual, resultando un sistema trioico. En caso que solo se presente la esterilidad masculina, se observarían individuos hermafroditas y femeninos, denominando a la población Ginodioica, por otro lado, cuando prevalecen solamente individuos masculinos y hermafroditas la población se denomina Androdioica. El Androdioicismo y el Ginodioicismo son considerados dos estados evolutivos que comúnmente anteceden al Trioicismo, y este último es considerado la antesala del Dioicismo.

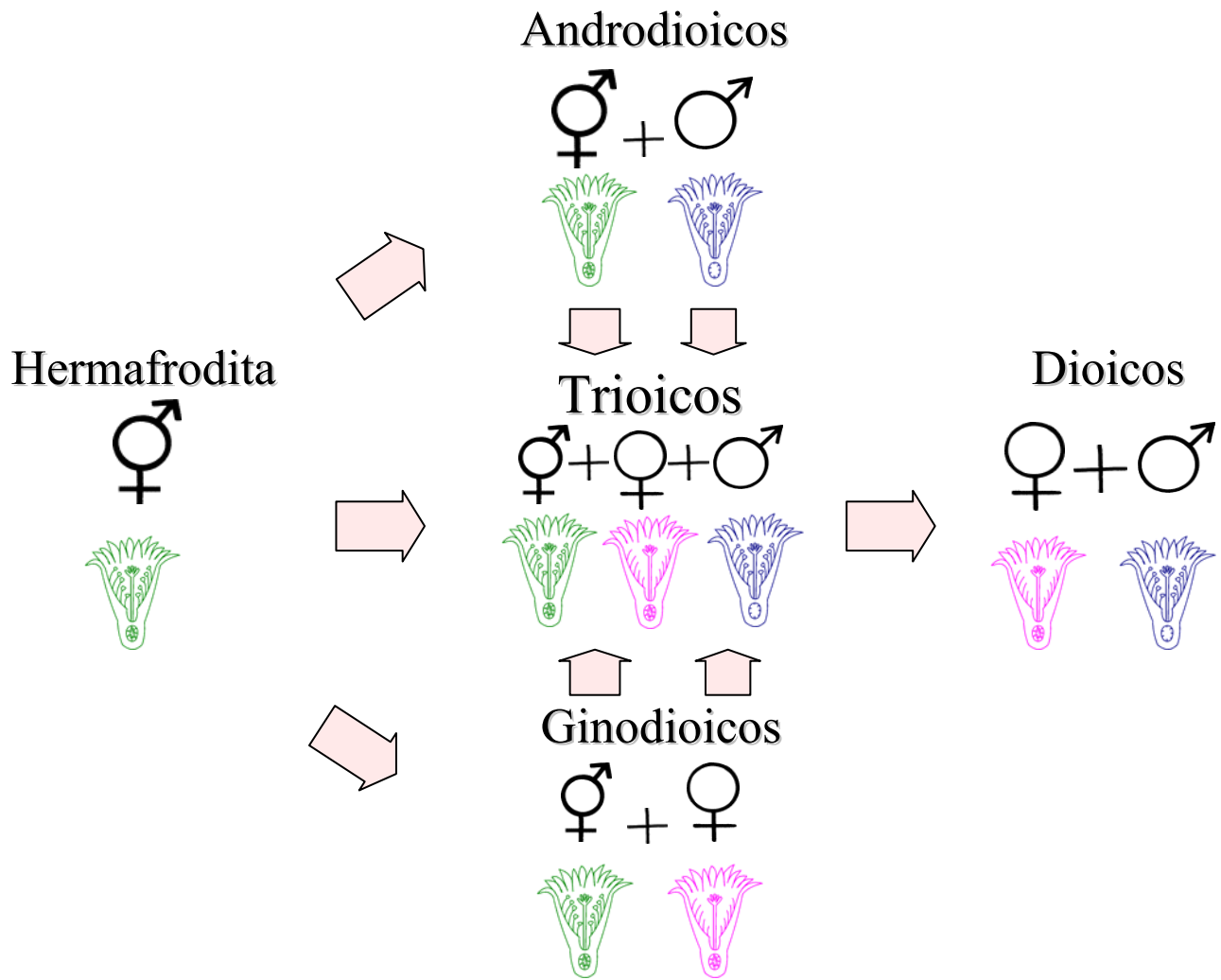


Figura 11. Representación esquemática de la ruta evolutiva de sistemas sexuales dioicos.

La aparición de individuos unisexuales en poblaciones hermafroditas es gradual y esto permite observar poblaciones que expresan diferente proporción de expresiones sexuales. Por ejemplo, se ha observado en poblaciones trioicas de *P. pringlei*, diferente proporción de individuos masculinos, femeninos y hermafroditas, de tal forma que puede observarse en el plano geográfico el cambio de proporciones de acuerdo en principio a un patrón latitudinal (Murawski *et al.* 1994, Fleming *et al.* 1994, Molina-Freaner *et al.* 2003).

De acuerdo al modelo evolutivo antes revisado, la hipótesis que manejan algunos autores es: poblaciones con baja proporción de individuos hermafroditas se encuentran en un nivel avanzado hacia el establecimiento de poblaciones dioicas (Charlestworth y Charlestworth 1978, Richards 1986).

El patrón geográfico de los sistemas reproductivos en el cardón en toda su distribución esta documentada de la siguiente manera: en la región sonoreense las poblaciones norteñas presentan sistemas trioicos dominados los individuos hermafroditas, y hacia el sur se localizan sistemas exclusivamente ginodioicos, donde predominan los individuos hermafroditas. Contrariamente, al sur de en la Península se presentan los sistemas trioicos, donde la proporción hermafrodita esta relativamente reducida. Al norte de la Península se encuentran poblaciones ginodioicas con una muy reducida o nula proporción de individuos masculinos (Molina-Freaner *et al.* 2003, Fleming *et al.* 1994).

En el cardón se detectó la presencia de individuos hermafroditas con esterilidad parcial masculina (HEPM) y hermafroditas con esterilidad parcial femenina (HEPF) en poblaciones trioicas (Medel-Narváez 2003). Esta denotación, se refiere a individuos que no son considerados estrictamente masculinos, femeninos o hermafroditas por compartir características de cada expresión sexual. Por ejemplo, mediante cortes histológicos, los individuos HEPF (individuos que en un primer análisis fueron considerados masculinos) exhiben baja cantidad de óvulos funcionales, óvulos deformes o funículos atrofiados, demostrando remanentes de la funcionalidad femenina. De igual manera, existen individuos

hermafroditas que contienen óvulos robustos, íntegros y funículos funcionales, pero no pueden desarrollar suficientes granos de polen, o bien presentan malformaciones.

### **2.1.3.- Variabilidad genética**

Se denomina fenotipo a la expresión del genotipo de los organismos en un determinado ambiente, por lo tanto, el fenotipo es cualquier característica detectable de un organismo (bioquímica, fisiológica, conductual, la expresión sexual, las variaciones morfológicas: volumen, número de brazos, etc.) determinada por una interacción entre su genotipo y su medio. La condición genética de los individuos estará representada por un conjunto organizado de genomas, que es compartido entre individuos, suficiente proporción para diferenciar individuos o grupos de individuos. La estructura genética de cada población estará definida por la composición alélica expresada en su momento. Las diferencias alélicas definen el grado de semejanza genética entre poblaciones y es determinada comparando secuencias ADN. Mediante variados marcadores moleculares.

En la última década se ha promovido extensivamente la utilización de técnicas moleculares como estimadores de variación de secuencias de ADN o sus productos (Avisé 1994, Sunnucks *et al.* 2000). Actualmente se tienen estandarizadas técnicas de extracción y análisis de ADN lo que permite obtener resultados de manera casi inmediata y con múltiples aplicaciones (Ainswoth 2000, Hamrick 2002, Cota y Wallace 1997, Pradeep *et al.* 2002).

## 2.2.- JUSTIFICACIÓN

La reconocida amplia distribución y la condición trimórfica, ofrecen la oportunidad de evaluar la variación genética inter e intra-poblacional en varios ambientes desérticos. El análisis genético de la variación geográfica de las frecuencias sexuales ofrece otro objeto de estudio que ayudaría a entender los modelos teóricos sobre la evolución del sexo en plantas. No obstante, su lento reclutamiento y crecimiento, aunado con el deterioro de su ambiente, han propiciado que ciertas poblaciones presenten un proceso de extinción local, reduciendo su representatividad en el escenario desértico.

El uso de marcadores genéticos en cactáceas es aun incipiente, por lo que este estudio permitirá estandarizar las técnicas moleculares necesarias para futuras investigaciones que profundicen sobre el análisis genético de esta especie. Cabe recordar que hasta la fecha no existe ningún estudio que evalúe la variabilidad genética de *P. pringlei* que contemple todo su rango de distribución.

Hasta el momento no se ha dado una respuesta satisfactoria que aclare la variabilidad geográfica de los sistemas reproductivos en esta especie, por lo que se ha sugerido la necesidad de analizar genéticamente la variabilidad de ADN extra-geonómico entre poblaciones.

En los últimos años los avances científicos en temas ecológicos y genéticos, y el desarrollo tecnológico ha permitido implementar técnicas y métodos que analizan la variación ecológica de una manera integral. El análisis multidisciplinario en *P. pringlei* ofrecen la oportunidad de entender más sobre los procesos de la evolución del sexo, su asociación con su estructura poblacional y su estado biológico. Finalmente, se ha documentado que la extracción de ADN en cactáceas representa una etapa crucial en la obtención de material genético de buena calidad para un adecuado análisis. Se propone una técnica de extracción que permita obtener ADN de excelente calidad de manera que los polifenoles y carbohidratos no interfieran en la resolución de los resultados

Para entender los procesos evolutivos en las especies se requiere la integración de análisis genéticos y ecológicos. La genética poblacional es una disciplina que se ha aplicado intensamente en la última década para dar respuesta a procesos evolutivos que estudios puramente ecológicos no podían resolver. El estudio de la variabilidad genética de las poblaciones ha permitido entender procesos de adaptación y especiación en muchas especies. La separación de sexos y la generación de nuevos sistemas reproductivos es un ejemplo claro de dicha adaptación al medio. Las poblaciones de *P. pringlei* representan un modelo de estudio donde se puede analizar la variabilidad genética a nivel geográfico de los sistemas reproductivos. Se ha propuesto que los sistemas ginodioicos son un paso intermedio en la evolución de sistemas trioicos a dioicos. A lo largo de su distribución, el cardón presenta tanto poblaciones ginodioicas como trioicas, lo que sugiere que en el proceso de colonización en el Desierto Sonorense a través del tiempo se ha dado esa transición. A través del análisis genético se puede determinar el linaje poblacional del



cardón haciendo énfasis en el actual patrón geográfico de los sistemas reproductivos. El análisis genético poblacional mediante SSCP, ofrece muchas ventajas entre otros marcadores moleculares, ya que es un marcador sensible ante variaciones genómicas y tiene un costo relativamente más bajo que otros marcadores. El estudio de la variabilidad genética de *P. pringlei*, permitirá conocer más acerca de la especie, sobre sus procesos de adaptación y evolución, indispensables para futuras prácticas de manejo y conservación.

### 2.3.- HIPÓTESIS

- Los sistemas trioicos y ginodioicos que expresa *Pachycereus pringlei* se asocian a un patrón geográfico.
- Los sistemas ginodioicos expresan diferentes citotipos que pueden ser diferenciados mediante el análisis genético del cloroplasto

### 2.4.- OBJETIVOS

#### **General**

Evaluar la variación geográfica y genética de los sistemas reproductivos en poblaciones silvestres de *Pachycereus pringlei* en su distribución en el Deserto Sonorense

#### **Específicos**

- Evaluar la expresión sexual de cada individuo registrado.
- Desarrollar un protocolo adecuado y repetible para la extracción y amplificación de ADN.
- Evaluar diferentes marcadores moleculares que permitan observar variación genética en *P. pringlei*.
- Asociar la variabilidad genética con la variación geográfica de los sistemas reproductivos.

## 2.5.- MATERIALES Y METODOS

### **2.5.1.- Área de estudio**

Se seleccionaron 15 poblaciones de *Pachycereus pringlei* a lo largo de su distribución en el Desierto Sonorense. Diez poblaciones son de la Península de Baja California, dos de Islas del Golfo y tres del estado de Sonora (Figura 12). En cada población se seleccionaron 100 individuos adultos al azar. Con la ayuda de un estadal se colectaron dos botones florales, dos flores o dos frutos por cada planta. Las estructuras colectadas se conservaron en el campo en hielo seco o nitrógeno líquido para su traslado a un ultra-congelador en las instalaciones del CIBNOR

### **2.5.2.- Sistemas reproductivos.**

Con el fin de conocer la frecuencia relativa de sexos de cada población, se procedió a determinar la expresión sexual de los individuos. De la totalidad de flores, botones o frutos colectados, la mitad de ellas fueron seleccionadas para determinar la expresión sexual, el otro 50% fueron destinadas para el aislamiento de ADN y su crio-conservación. Para ambos procedimientos se tuvo en promedio 90 muestras por población.

La expresión sexual de cada individuo se obtuvo mediante observación directa de la cavidad ovárica y receptáculo floral. Con la ayuda de un microscopio estereoscopio y un bisturí, se diseccionó longitudinalmente cada flor para observar óvulos y polen en la cámara ovárica y receptáculo floral. Cada individuos fue denominado hermafrodita si las flores mostraron óvulos y polen, masculina si solo se observaron granos de polen, y femenina cuando solo se detecto solamente óvulos. La frecuencia relativa de sexos se obtuvo dividiendo el número de flores de cada expresión sexual entre el total colectado en cada población.

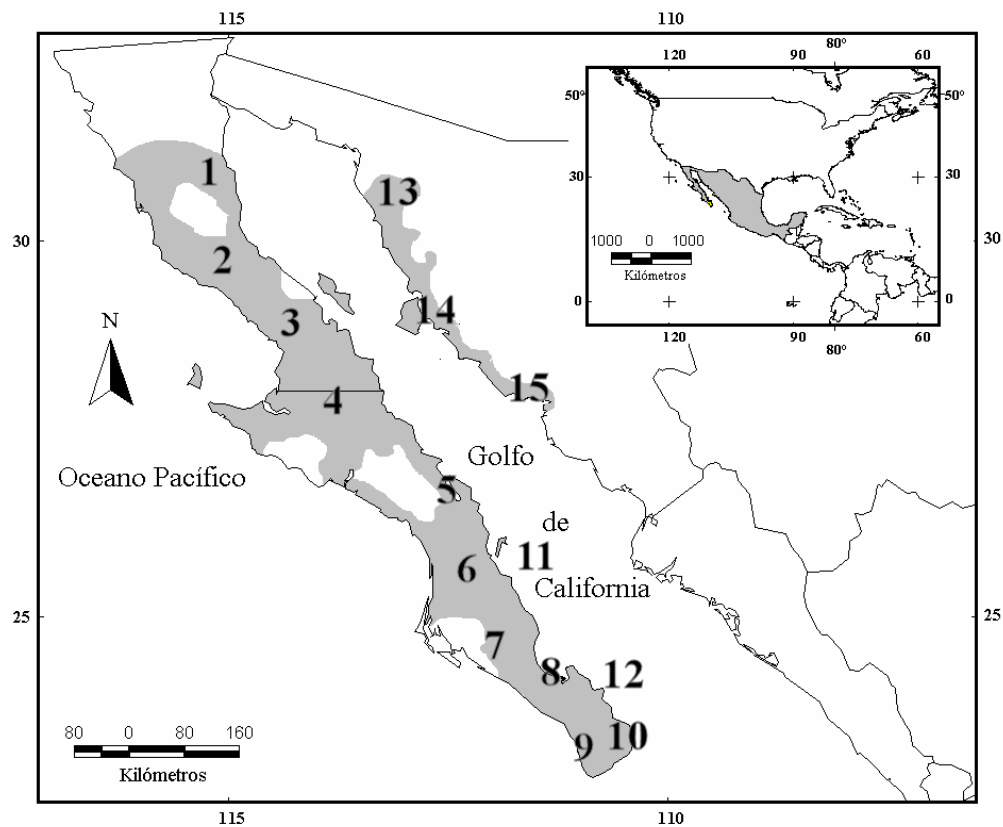


Figura 12. Mapa mostrando la distribución geográfica del *Pachycereus pringlei* en el Desierto Sonorense. Los números indican la localización de las 15 poblaciones consideradas para el análisis de los sistemas reproductivos. (Ver tabla 7 para detalles de las poblaciones)

### 2.5.3.- Extracción de ADN

El aislamiento de ADN se llevo a cabo en 12 poblaciones con 10 repeticiones, obteniendo un número total de 120 muestras a analizar. El tejido para la extracción de ADN proviene de una pequeña muestra de clorénquima obtenido de la zona pericarpelar del ovario. El tejido se colocó directamente en tubos eppendorf y preservado a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Aproximadamente de 10 a 15 gr de tejido fue almacenado procurando no exponerlo a descongelación o exposición al aire. Se observó que en presencia de oxígeno e incremento de temperatura, el tejido experimenta una coloración roja, resultado de la oxidación (de la Cruz *et al.* 1997). La técnica de extracción de ADN fue una modificación propuesta por de la Cruz *et al.* (1997, 1998) donde se retoman los siguientes reactivos:

- |   |   |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Buffer de extracción CTAB:             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tris-HCl 100 mM pH 8,</li> <li>○ EDTA 20 mM pH 8,</li> <li>○ 4% CTAB,</li> <li>○ NaCl 1.5 M,</li> <li>○ 4% PVP-40,</li> <li>○ 2-Mercaptoetanol 10 mM,</li> <li>○ 500 mg de Acido ascórbico y</li> <li>○ 500 mg de DIECA en 100 m).</li> </ul> </li> <li>• Buffer de extracción STE:             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tris-HCl 100 mM pH 8,</li> <li>○ EDTA 50 mM pH 8,</li> <li>○ NaCl 100 mM y</li> <li>○ 2-Mercaptoetanol 10 mM</li> </ul> </li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 30% SDS</li> <li>• Acetato de potasio (KAc) 5 M.</li> <li>• Acetato de sodio (NaAc) 3 M.</li> <li>• Buffer TE             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tris 10 mM, y</li> <li>○ EDTA 1 mM.</li> </ul> </li> <li>• Isopropanol grado biología molecular</li> <li>• ARNasa</li> <li>• Cloroformo grado biología molecular</li> </ul> |
|---|---|

Se utilizaron dos técnicas de aislamiento de ADN. La primera se refiere propiamente a la estandarización de la técnica y se describe a continuación. La estandarización se realizó en las instalaciones del laboratorio de Biología Molecular del CIBNOR dirigido por la Dra. Norma Y. Hernández, La segunda técnica presenta algunas

modificaciones no sustanciales, por ejemplo, el proceso de la trituración fue realizado en un homogeneizador (Bio101/Savat FastPrep FP), lo que facilitó la labor del laboratorio de manera sustancial y reduciendo el tiempo y esfuerzo de molienda. Otra variante a la primera técnica fue la utilización del tejido inmerso en alcohol 75%. La comparación entre las dos variantes no mostró diferencias notables en la calidad de ADN obtenido. El uso del homogeneizador para triturar el tejido fue innovado en el laboratorio de genética forestal de la USDA (Corvallis, OR) dirigido por el Dr. Richard Cronn. El protocolo practicado es el siguiente:

- Triturar 0.1 gr. de tejido en un tubo eppendorf conteniendo 180 µl del buffer de extracción CTAB.
- Se agrega a la mezcla 675 µl del buffer de extracción STE. Se continúa con la trituración.
- Agregar 30 µl del buffer de SDS 30%. Se agita por 5 minutos.
- Incubar a 65° C por 60 minutos.
- Agregar 5 ml de KAc frío.
- Incubar a 0° C por 60 min.
- Centrifugar a 10,000 rpm. a 4°C por 20 min
- Remover el sobrenadante a un tubo nuevo
- Agregar 400 µl de Isopropanol frío.
- Mezclar gentilmente e incubar a -20° C por 20 min
- Centrifugar a 10,000 rpm. a 4°C por 10 min.
- Eliminar el sobrenadante, dejar secar el pellet y resuspender en 200 µl de buffer TE
- Centrifugar a 12,000 RPM durante 15 min a 10°C.
- Transferir el sobrenadante a un tubo nuevo y agregar 60 µl de Acetato de sodio 3 M.
- Agregar 500 µl de Isopropanol frío y agitar gentilmente
- Incubar a -20°C por 20 min.
- Centrifugar a 10,000 rpm. a 4°C por 1 min.
- Eliminar el sobrenadante y lavar el pellet en etanol 75%.
- Secar perfectamente el pellet y resuspender en 100 µl de TE.
- Agregar 1 µl de ARNasa y 49 µl de H<sub>2</sub>O destilada estéril.
- Incubar a 25° C por 60 min.
- Agregar 100 µl de cloroformo, agitar gentilmente
- Centrifugar a 12,000 rpm a 25°C por 15 min
- Retirar sobrenadante a un tubo nuevo y agregar 500 µl de Isopropanol frío.
- Agitar gentilmente e incubar a -20°C por 20 min
- Centrifugar a 12,000 rpm a 4°C por 5 min.
- Secar el pellet y lavar con etanol al 75%
- Resuspender el pellet en 100 µl de TE y almacenar en congelación.

#### 2.5.4.- Amplificación de ADN

El protocolo para la amplificación del ADN resultante se resume en el siguiente programa (de la Cruz *et al.* 1997):

- Desnaturalización inicial a 95°C por 60 segundos
  - Desnaturalización a 94°C por 60 segundos
  - Alineamiento a 45°C por 60 segundos
  - Extensión a 72°C por 2.5 minutos
  - Extensión final a 72°C por 5 minutos
- } 34 ciclos

Los productos fueron conservados a -20°C, de los cuales solo se tomó una alícuota para los siguientes análisis. La concentración de ADN fue obtenido mediante un espectrofotómetro.

#### 2.5.4.- PCR-SSCP

La técnica de análisis del polimorfismo de la conformación de hebras sencillas se retoma del protocolo propuesto por Sunnucks *et al.* (2000). El análisis PCR-SSCP fue llevado a cabo en 12 poblaciones distribuidas uniformemente en su distribución, excepto en las poblaciones 7 (El Cien) y 9 (La Matanza) en la Península, debido a la relativa cercanía con otras poblaciones, considerando innecesario su análisis. Para este análisis se seleccionaron cinco individuos de cada población, considerando tener representación de las expresiones sexuales que caracterizan a la población.

Se elaboraron tres pares de primers (<http://frodo.wi.mit.edu/>), que codifican dentro del espacio intergénico trnL<sub>UAA</sub> – trnF<sub>GAA</sub> del cloroplasto: Pp01, Pp02, Pp03. Los primers amplifican para diferentes sitios dentro del espacio intergénico. La selección de estos sitios fue en base a las secuencias consenso de cactáceas columnares del GenBank (Arias *et al.* 2003).

La técnica consiste en dar las condiciones adecuadas para que el ADN se desnaturalize y sus hebras puedan ser separadas en un gel de poliacrilamida de acuerdo a su conformación tridimensional. Para ello, es necesario utilizar productos previamente amplificados a una concentración final de 2 µg/µl. Los productos de PCR se mezclan con 10 µl de formamida (concentración 95%) como cargador:

- 20mM EDTA pH 8,
- 0.05% azul de bromofenol,
- 0.05% xylencianol y
- 95% formamida.

Las muestras se calientan a 90°C por 3 minutos para que la formamida ayude a mantener las hebras del ADN separadas después de la desnaturalización por calentamiento. Inmediatamente los productos calentados son colocados en hielo para ayudar a evitar la re-naturalización del AND. Los productos, mantenidos en frío se aplican a un gel de poliacrilamida 7% con las siguientes características:



- 7% Acrylamide,
- 5% glycerol,
- 0.5X TBE,
- 2  $\mu$ L TEMED, y
- 2  $\mu$ L 25 % w/v persulfato de amonio por cada mililitro del gel.

El gel se sumerge en un buffer (20 mM EDTA pH. 8) al que se le aplica una carga de 15 W por 18 horas a 4 °C. Los geles fueron teñidos durante 60 minutos en una solución conteniendo 5 ml SYBR Gold más 50 ml 1x TBE por 60 mins. Los geles fueron observados en un fotodocumentador.

#### **2.5.4.- cpSSR**

Se utilizaron 10 individuos de cada población (120 en total) para evaluar la variabilidad genética mediante microsatélites en el cloroplasto (chloroplast Simple Sequence Repeat). Como un primer acercamiento se evaluaron cuatro poblaciones distantes (dos individuos por población) y regiones microsatelitales utilizando primers específicos para cada uno. Esto tiene la finalidad de seleccionar aquellos microsatélites que generen productos amplificados con el fin de aplicarlos al resto de las poblaciones. Los cpSSR fueron los siguientes (Tabla 2): ccmp1, ccmp2, ccmp3, ccmp4, ccmp5, ccmp6, ccmp7, ccmp8, ccmp9, y ccmp10 (Weising y Garner 1999) y el espacio intergénico trnH<sub>GUG</sub>-psbA (Hamilton 1999).

Tabla 2.- Lista de los microsatélites seleccionados para la evaluación de polimorfismo en poblaciones de *Pachycereus pringlei*. ir = Región Intergénica.

Nombre	Localización	Repetición
ccmp1	trnK intron	(T)10
ccmp2	5' a trnS	(A)11
ccmp3	trnG intron	(T)11
ccmp4	atpF intron	(T)13
ccmp5	3' a rps2	(C)7(T)10 (T)5C(A)11
ccmp6	ir ORF77-82	(T)5C(T)17
ccmp7	ir atpB-rbcL	(A)13
ccmp8	ir rpl20-rps12	(T)6C(T)14
ccmp9	ORF74b-psbB	(T)11
ccmp10	ir rp12-rps19	(T)14

El equipo utilizado para la amplificación de los microsatélites fue un termociclador programable (PTC-100 Programmable Thermal Controller, MJ Research, Inc.) para 96 muestras. La presencia de productos fue evaluada mediante geles de agarosa 3%. Los componentes para la PCR fue la que a continuación se menciona:

Tabla 3.- Fórmula utilizada para amplificar microsatélites como primer acercamientos a obtener productos.

Reactivo	$\mu\text{l}$	Concentración
ADN	1	1:10
Primer F y R	0.5	10 pmol/ $\mu\text{l}$
dNTPs	0.8	2.5 mM stock
MgOAc Taq buffer 10X	1	15 mM
MgOAc	0.2	25 mM
Taq polymerase	0.08	5 U/ $\mu\text{l}$ stock
Agua deionizada	6.42	

El programa de amplificación fue el siguiente:

- Desnaturalización inicial a 94 °C por 3 mins
  - Desnaturalización a 94 °C por 15 segundos
  - Alineamiento a 60 °C por 15 segundos
  - Extensión a 72 °C por 60 segundos
  - Extensión final a 72°C por 5 mins.
- } 30 ciclos

Los resultados previos indicaron que solo siete regiones microsatelitales fueron posible detectar: ccmp1, ccmp2, ccmp3, ccmp4, ccmp6, ccmp10, y trnH-psbA. El siguiente paso fue seleccionar cuatro muestras de ADN de cada población (48 muestras en total) en los para llevar a cabo la amplificación. El protocolo para la amplificación fue el mismo descrito anteriormente y los productos fueron observados en geles de agarosa 3%.

Una vez confirmada la presencia de productos microstelitales, los amplificados fueron preparadas usando un kit de secuenciación “ABI PRISM® Big Dye™ terminator cycle sequencing” (v. 3.1, Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.). La secuenciación se realizó en un secuenciador automático de capilares (ABI 3100) en el Centro de Investigación Genómica y Biocómputo de la Universidad Estatal de Oregon (OSU-CGRB, Corvallis, Ore., <http://www.cgrb.orst.edu>). La fórmula de amplificación con primers fluorescentes se describe en la Tabla 4.

Tabla 4.- Fórmula para la amplificación de ADN doble hebra utilizando (\*) primers etiquetados con fluorescencia para su posterior secuenciación.

Reactivo	$\mu\text{l}$	Concentración
ADN	1	50 ng
Primer1 F ( $^{32}\text{P}$ )*	0.25	5 pmol/ $\mu\text{l}$
Primer1 R	0.25	5 pmol/ $\mu\text{l}$
Primer2 F ( $^{32}\text{P}$ )*	0.25	5 pmol/ $\mu\text{l}$
Primer2 R	0.25	5 pmol/ $\mu\text{l}$
dNTPs	0.8	2.5 mM stock
Mg-free Taq buffer 10X	10	15 mM
MgCl <sub>2</sub>	1	25 mM stock
Taq polymerase	0.08	5 U/ $\mu\text{l}$ stock
Agua deionizada	5.12	

### 2.5.5.- PCR-RFLP

El estudio de los RFLPs (Polimorfismo de la Longitud de Fragmentos de Restricción –por sus siglas en ingles), analizan el tamaño de los fragmentos resultantes de una digestión enzimática (PCR). Se ha considerado que entre más diversidad de productos amplificados se analicen y entre mas enzimas de restricción se usen, mayor podrá ser el polimorfismo observado.

La siguiente prueba fue dirigida a evaluar el polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción ocho regiones no codificantes relativamente grandes del cloroplasto (Horning y Cronn 2006). Se seleccionaron 10 individuos de cada una de las 12 poblaciones. Debido a pruebas preliminares se propuso el uso de Albumina Sérica para dale un tratamiento de purificación al ADN a amplificar. La fórmula de reacción para la amplificación se enlista en la Tabla 5, las reacciones fueron observadas en geles de agarosa 3%. Las regiones del cloroplasto exploradas son las siguientes:

- Región intergénica K<sub>1</sub>K<sub>2</sub> (intron trnK(f) + trnK(r) más gen matK)
- Espacio intergénico trnT<sub>UGU</sub> - trnL<sub>UAA</sub>
- Región intergénica trnT<sub>UGU</sub> - trnF<sub>GAA</sub>

- Región intergénica trnD<sub>GUC</sub> - trnT<sub>GGU</sub>
- Región intergénica trnT<sub>UGU</sub> - trnS
- Espacio intergénica 5'rpS12 - rpl20
- Intron rpl16(f) – rpl16(r)
- Espacio intergénico accD - psaI-75R

Tabla 5.- Fórmula para amplificar fragmentos relativamente grandes destinados para el análisis PCR-RFLP

Componente	μL	Concentración
ADN	10	1:10 y 1:100
Primer F y R	1	25 pmol/μl
dNTPs	0.5	2.5 mM stock
Taq buffer 10X	2.5	15 mM
MgCl <sub>2</sub>	2	25 mM
BSA (Bovine Seric Albumin)	1.5	10 000 U
Taq polymerasa	0.2	5 U/μL stock
Agua deionizada	7.3	

Resultados previos en geles de agarosa al 3% mostraron la formación de productos solo en cuatro regiones:

- Espacio intergénico trnT<sub>UGU</sub> - trnL<sub>UAA</sub>
- Espacio intergénico 5'rpS12 - rpl20
- Intron rpl16(f) – rpl16(r)
- Espacio intergénico accD - psaI-75R

Estos productos fueron digeridos con las enzimas DdeI, DraI, y TaqI, usando un kit maestro de restricción de enzimas bajo la fórmula descrita en la Tabla 6.

Tabla 6.- Mezcla maestra de enzimas de para PCR-RFLP dirigida a 4 regiones no codificantes del cloroplasto en *P. pringlei*.

Componente de reacción	Concentración	Cantidad requerida
Agua		10.4 $\mu$ l
Taq buffer	10X	1.5 $\mu$ l
Enzima de restricción (DdeI, DraI, y TaqI)	20-50U/ $\mu$ l	0.1 $\mu$ l

Se tomó 3  $\mu$ l de cada producto de PCR más 12  $\mu$ l de la mezcla maestra de digestión. Cada producto fue encubado por 60 minutos usando 37°C para las enzimas DdeI y DraI, y 65°C para la enzima TaqI. Después de la incubación, las reacciones con las enzimas DdeI y DraI fueron calentadas a 65°C por 20 minutos y la reacción con la enzima TaqI fue calentada a 75°C para detener el proceso de incubación y desnaturalizar las enzimas. Los fragmentos de AND obtenidos fueron observados en geles de agarosa 3% teñidos con bromuro de etidio y visualizados bajo luz UV.

### 2.5.6.- *Secuenciación.*

Para este análisis fueron seleccionaron individuos de diferente sexo de las 12 poblaciones estudiadas. Los productos amplificados obtenidos de las pruebas de cpSSR y PCR-RFLPs (la región evaluada con PCR-SSCP esta incluida en los fragmentos analizados con PCR-RFLP), fueron secuenciados directamente en la universidad de Washington (Washington University Genome Sequencing Center –GSC, <http://genome.wustl.edu>). Los productos enviados corresponden a las siguientes regiones: ccmp2, ccmp3, ccmp4, ccmp6, ccmp10 y trnT<sub>UGU</sub> - trnL<sub>UAA</sub>, trnT<sub>UGU</sub> - trnF<sub>GAA</sub>, 5'rpS12 - rpl20, rpl16(f) – rpl16(r), accD - psaI-75R

y atpB-rbcL. Por disponibilidad de primers, no se secuenció el cpSSR ccmp1, se incluye atpB-rbcL no explorado anteriormente.

### **2.5.6.- Análisis de datos.**

Los sistemas reproductivos fueron caracterizados de acuerdo al a frecuencia relative de sexos en cada población. Los sistemas reproductivos ginodioicos fueron denominados cuando están presentes morfos hermafroditas y femeninos. Los sistemas reproductivos trioicos fueron denominados cuando se presentan coexistiendo individuos. Se realizaron graficas esquemáticas que describen la frecuencia relativa de cada morfo sexual para representar la estructura de los sistemas reproductivos en *P. pringlei* en toda su distribución.

La presencia de productos amplificados fue observada en geles de agarosa 3%, los cuales fueron teñidos con bromuro de etidio y observados a través de luz ultravioleta. Las imágenes resultantes se registraron en formato digital, y editados por cuestión de espacio. Las secuencias obtenidas de los fragmentos cpSSR y PCR-RFLPs fueron limpiadas usando el programa DNAMAN v.4. (Lynnon Corp ®. <http://www.lynnon.com>). La alineación de los fragmentos “limpios” se basó en el algoritmo ClustalW usando el programa BioEdit v. 7.0.0 (Hall 1999). Se utilizaron los programas Mega 3 (Kumar *et al.* 2001) y DnaSP v. 4.10.9 para calcular la posición de las posibles variaciones entre secuencias, así mismo se determine la diversidad de haplotipos ( $H_D$ ) y el número de mutaciones. Estadística

parsimoniosa fue usada para reconstruir las relaciones filogenéticas entre haplotipos (red de haplotipos) combinando las secuencias usadas en microsatélites y PCR-RFLPs (TCS, v.1.21, Clement *et al.* 2000). Mediante la prueba  $\chi^2$  se evaluó la asociación entre el haplotipo y la expresión sexual entre individuos (Zar 1999).



## 2.6.- RESULTADOS

### **2.6.1.- *Sistemas reproductivos***

*P. pringlei* expresa a lo largo de su distribución expresa tres diferentes sistemas reproductivos: el 13% de las poblaciones expresan sistemas Ginodioicos, el 73% Trioicos y el 13% Hermafroditas. Los sistemas hermafroditas se encuentran exclusivamente en la Isla Cerralvo y en la Isla Santa Catalina. Los sistemas ginodioicos se distribuyen, uno en el extremo norte de la península y el otro en el extremo sur de su distribución en Sonora. Los sistemas trioicos son más numerosos, predominando en casi toda la península y centro-norte de su distribución en Sonora (Figura 13). En la Tabla 7, se detalla la localización y las frecuencias relativas que conforman a los sistemas. Es posible observar que en las poblaciones trioicas de la Península, que los individuos masculinos predominan en la región sur. Se observa un patrón contrastante con la proporción de individuos hermafroditas, que aumenta su número conforme aumenta la latitud.

Tabla 7.- Localización de los sitios de muestreo para el análisis de los sistemas reproductivos de *Pachycereus pringlei*. También se muestra la proporción de individuos de diferente expresión sexual que define a cada sistema. La cifra en paréntesis indica el número de individuos contabilizados.

<i>Población</i>	<i>Latitud Norte</i>	<i>Longitud Oeste</i>	<i>Hermafroditas %</i>	<i>Masculinas %</i>	<i>Femeninas %</i>	<i>Sistema Reproductivo</i>
1. San Pedro	31° 05' 43"	115° 21' 32"	75 (9)	0 (0)	25(3)	Ginodioico
2. Cataviña	29° 50' 27"	114° 55' 15"	52 (50)	1 (1)	47 (45)	Trioico
3. Punta Prieta	29° 03' 46"	114° 09' 10"	38 (36)	16 (15)	46 (43)	Trioico
4. San Francisco	27° 26' 54"	113° 15' 50"	23 (22)	32 (30)	45 (43)	Trioico
5. Bahía Concepción	26° 32' 36"	111° 42' 43"	63 (60)	15(14)	32 (30)	Trioico
6. El Guatamote	25° 28' 55"	111° 28' 55"	49 (44)	2 (2)	49 (44)	Trioico
7. El Cien	24° 20' 43"	111° 00' 32"	9 (9)	36 (35)	55 (54)	Trioico
8. El Comitán	24° 07' 30"	110° 25' 30"	11 (11)	58 (56)	31 (30)	Trioico
9. La Matanza	23° 38' 50"	110° 15' 16"	13 (11)	56 (48)	31 (26)	Trioico
10. La Rivera	23° 11' 88"	110° 07' 30"	15 (14)	46 (42)	38 (35)	Trioico
11. Isla Catalana	25° 35' 10"	110° 48' 25"	100 (91)	0 (0)	0 (0)	Hermafrodita
12. Isla Cerralvo	24° 09' 10"	109° 55' 30"	100 (93)	0 (0)	0 (0)	Hermafrodita
13. El Alamo	30° 43' 04"	112° 41' 22"	36 (36)	32 (32)	31 (31)	Trioico
14. Bahía Kino	28° 51' 58"	111° 59' 46"	48 (49)	20 (20)	32 (33)	Trioico
15. El Sahuaral	27° 59' 27"	110° 50' 30"	73 (70)	0 (0)	27 (26)	Ginodioico

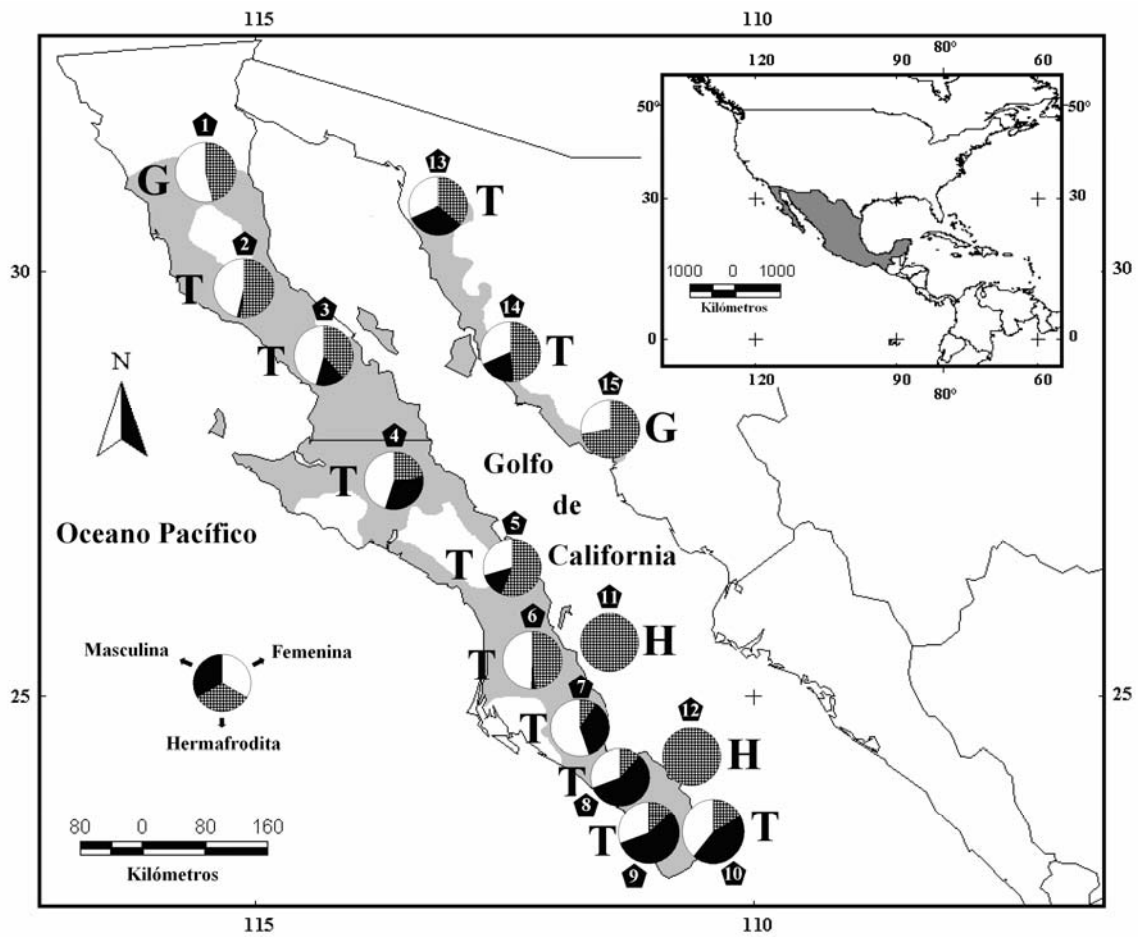


Figura 13.- Distribución geográfica de los sistemas reproductivos de 15 poblaciones de *Pachycereus pringlei* en el Desierto Sonorense. Las graficas tipo pastel en el mapa indican la frecuencia relativa de sexos: la porción región blanca corresponde al a proporción de individuos femeninos, la región gris corresponde a la proporción hermafrodita y la región negra corresponde a la proporción de individuos masculinos.

### 2.6.2.- Extracción y amplificación de ADN

Mediante la modificación del a técnica de de la Cruz *et al.* (1997), se obtuvo una concentración promedio 894.5  $\mu\text{g/ml}$  de ADN de *Pachycereus pringlei*, notablemente

superior a la documentada en estudios previos para la misma especie (210  $\mu\text{g/ml}$ . de la Cruz *et al.* 1997). Cabe destacar que en la técnica que se propone en esta tesis se considera tejido de estructuras florales evitando así el maltrato de la planta, ya que generalmente se obtiene el tejido del clorénquima de los tallos (Tel-Zur *et al.* 1999, de la Cruz *et al.* 1997). De igual manera la concentración promedio de ADN de los productos amplificados obtenidos con el par de primers  $\text{trnL}_{\text{UAA}} - \text{trnF}_{\text{GAA}}$  fue de 1122.1  $\mu\text{g/ml}$ .

### **2.6.3.- PCR-SSCP**

La técnica de PCR propuesta en este estudio ofreció resultados satisfactorios que permiten observar productos amplificados en geles de agarosa 3%. No obstante, los tres fragmentos amplificados (Pp01, Pp02 y Pp03), para todos los individuos seleccionados para esta prueba (5 individuos por cada una de las poblaciones, 60 en total) mostraron el mismo patrón de bandeo, indicando que no hay diferencias genéticas dentro y entre poblaciones. En la Figura 14, se muestra solamente el patrón de bandeo en 6 poblaciones, para cada uno de los tres primers de la región  $\text{trnL-trnF}$  amplificados. La representación en los geles indica el avance de las hebras de acuerdo al arreglo tridimensional que adquieren al desnaturalizarse, por lo tanto su tamaño no puede ser determinado con el uso de un marcador de carga debido a que no representa proporcionalmente el tamaño del fragmento. Pruebas preliminares en geles de agarosa 3% indican que los fragmentos presentan una longitud aproximada de:

Pp01 ~ 350 a 370 pb

Pp02 ~ 250 a 260 pb

Pp03 ~ 140 a 150 pb

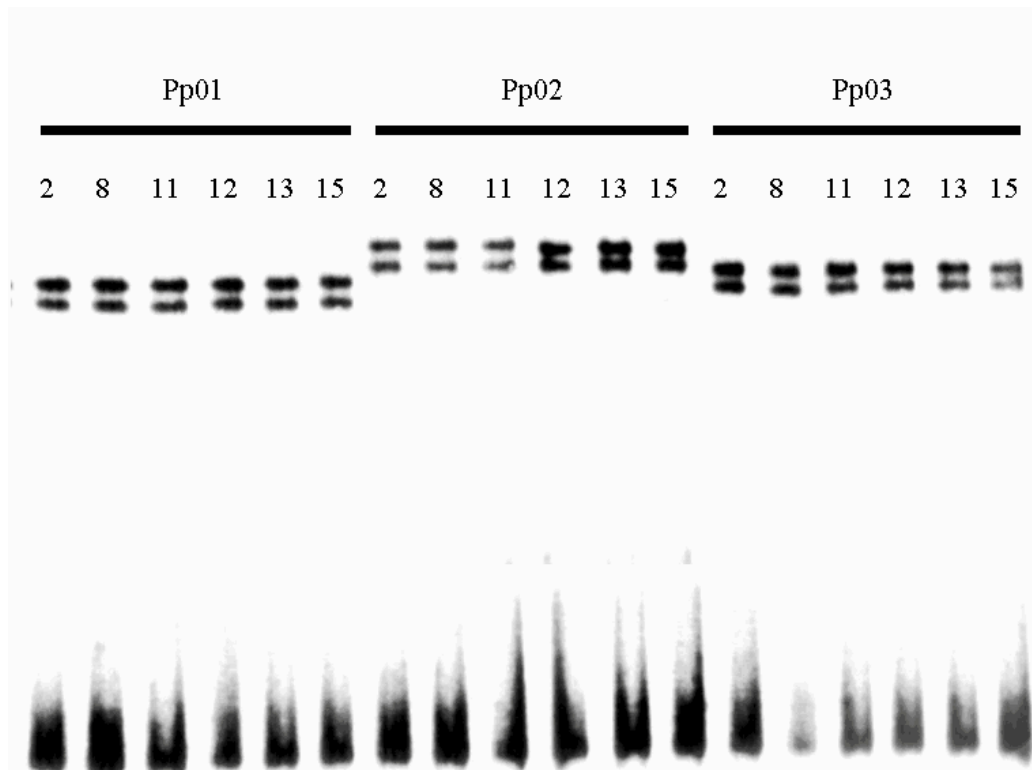


Figura 14. Gel de poliacrilamida 7% que muestra un patrón de bandeo homogéneo obtenido mediante protocolos de análisis PCR-SSCP. Pp01, Pp02, y Pp03, los números representan a la población analizada

**2.6.4.- PCR-cpSSR**

Las pruebas preliminares en la estandarización de la técnica de análisis con microsatélites indicaron que de los once microsatélites propuestos, solo siete de ellos ofrecieron productos consistentes (Figura 15), dirigiendo los esfuerzos posteriores solo a estos.

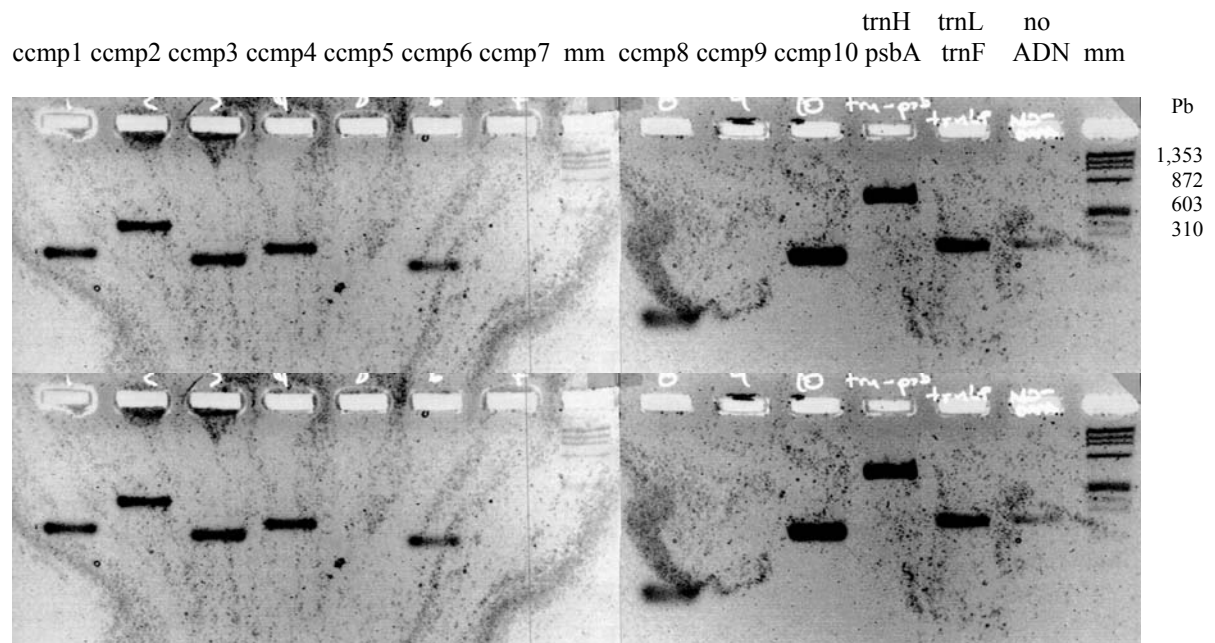


Figura 15.- Evidencia que muestra la amplificación consistente en 7 microsatelites (ccmp1, ccmp2, ccmp3, ccmp4, ccmp6, ccmp10 y trnH-psbA). La última columna corresponde al marcador ΦX-174/HaeIII

Los resultados de las amplificaciones con los 7 microsatelites seleccionados se muestran en la Figura 16. Se puede apreciar de manera ejemplar la comparación de las bandas en dos poblaciones distantes, confirmando la ausencia de polimorfismo inter e intra-poblacional. Debido a la falta de primers que amplifica al microsatélite ccmp1, se omite del

análisis, no obstante se espera que su comportamiento sea similar de acuerdo a la prueba exploratorio para identificar la presencia de productos en la especie de estudio.

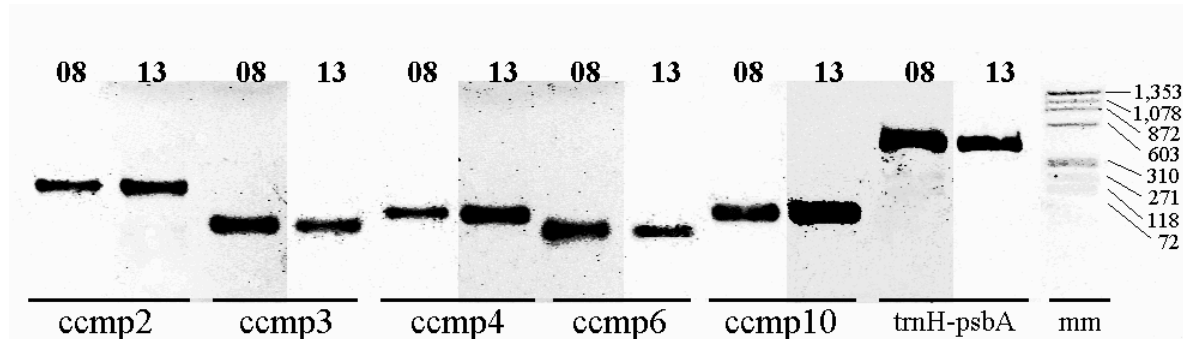


Figura 16.- Representación de la ausencia de polimorfismo entre dos poblaciones distantes geográficamente de *Pachycereus pringlei* analizada con microsatélites. La última columna corresponde al marcador  $\Phi$ X-174/HaeIII

Debido a la ausencia de polimorfismo entre poblaciones se procedió a secuenciar los productos PCR-cpSSR en un secuenciador automático por capilaridad (ABI 3100) utilizando el kit “ABI PRISM® Big Dye™ terminator cycle sequencing” (Tabla 8). La falta de primers para la región microsatelital ccmp1 solo fue posible secuenciar 6 regiones.

Tabla 8. Longitud de fragmentos (pb) correspondientes a seis cpSSR de *Pachycereus pringlei*. En la tercera columna se muestra la longitud de los fragmentos en *Nicotiana tabacum* como comparación. -) Indica la ausencia de la región microsatelital en *Pachycereus pringlei*. \*) Corresponde al microsatélite no secuenciado pero presente en el cloroplasto de la especie.

Nombre	<i>Pachycereus pringlei</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>
ccmp1	*	139
ccmp2	223	189
ccmp3	118	112
ccmp4	145	126
ccmp5	-	121
ccmp6	103	103
ccmp7	-	133
ccmp8	-	77
ccmp9	-	98
ccmp10	135	103
trnH-psbA	442	440

### **2.6.5.- PCR-RFLP**

Pruebas preliminares sugirieron el uso de cuatro regiones del cloroplasto no codificantes para el análisis PCR-RFLP. Se dada la variada disponibilidad de primers en regiones no codificantes del cloroplasto, se había optado por evaluar ocho grandes regiones. No obstante solo se pudo obtener productos de PCR en solo cuatro regiones (Figura 17). La calidad del ADN es la principal razón por la cual no se pudo obtener productos de gran tamaño, aunque es suficiente la cantidad del ADN obtenido, la mayor parte se observo degradado, predominando fragmentos relativamente cortos, insuficientes para obtener resultados resolutivos. Las regiones utilizadas en el análisis PCR-RFLP fueron las siguientes:

- Espacio intergénico trnT<sub>UGU</sub> - trnL<sub>UAA</sub>
- Espacio intergénico accD - psaI-75R
- Espacio intergénico 5'rpS12 - rpl20
- Intron rpl16(f) – rpl16(r)



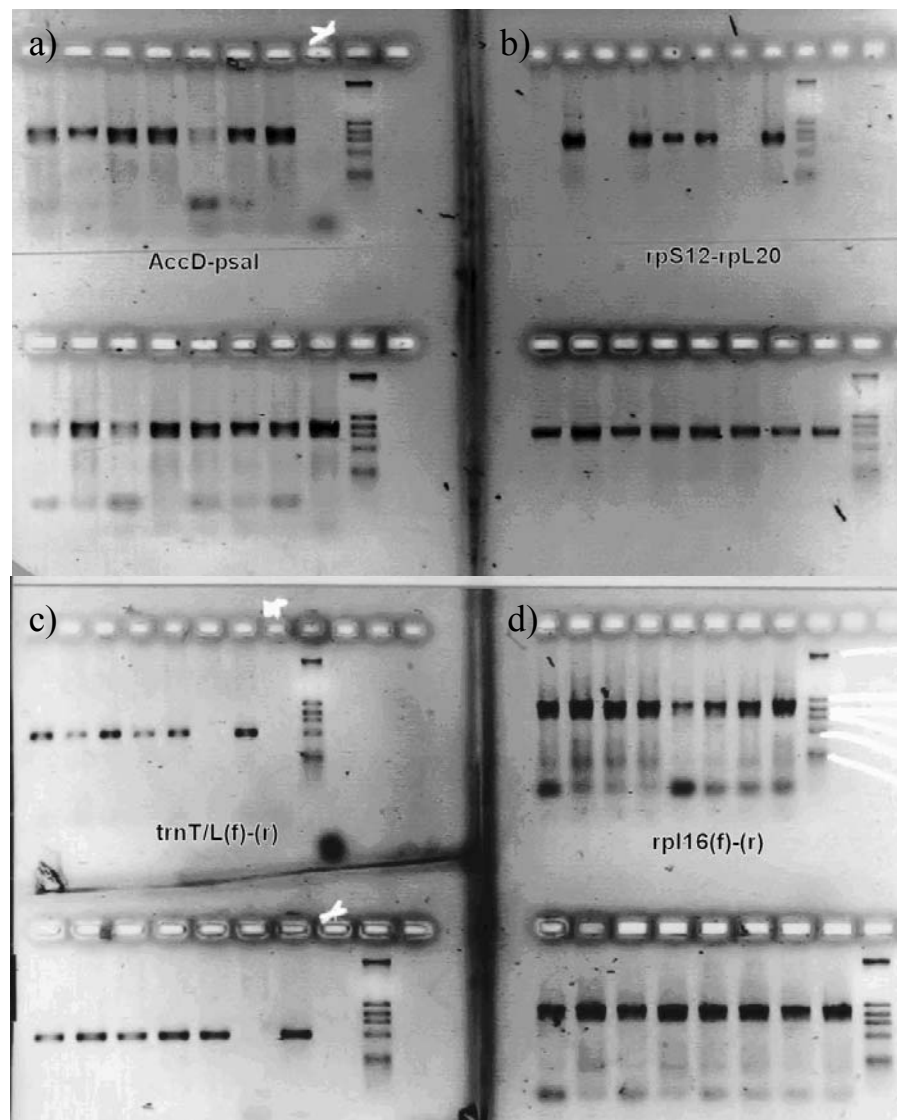


Figura 17.- Presencia de productos resultado de la amplificación de cuatro regiones no codificantes del cloroplasto: a) *accD-psaI-75R* , b) *5'rpS12-rpL20*, c) *trnT<sub>UGU</sub>-trnL<sub>UAA</sub>* y d) *Intron rpl16(f)-rpl16(r)*

Los productos resultantes fueron digeridos con tres enzimas de restricción (*DdeI*, *DraI* y *TaqI*). La digestión de productos fue observada en geles de agarosa 3% teñidos con bromuro de etidio a través de luz UV (Figura 18). De manera ejemplar se muestra la homogeneidad encontrada entre poblaciones (se omiten el resto de las poblaciones debido a la presencia del mismo patrón de bandeos). Las poblaciones mostradas en la figura 18

corresponden a las poblaciones 1 (San Pedro, en Baja California) y 10 (La Rivera), dos poblaciones localizadas e los extremos latitudinales de la distribución del cardón..

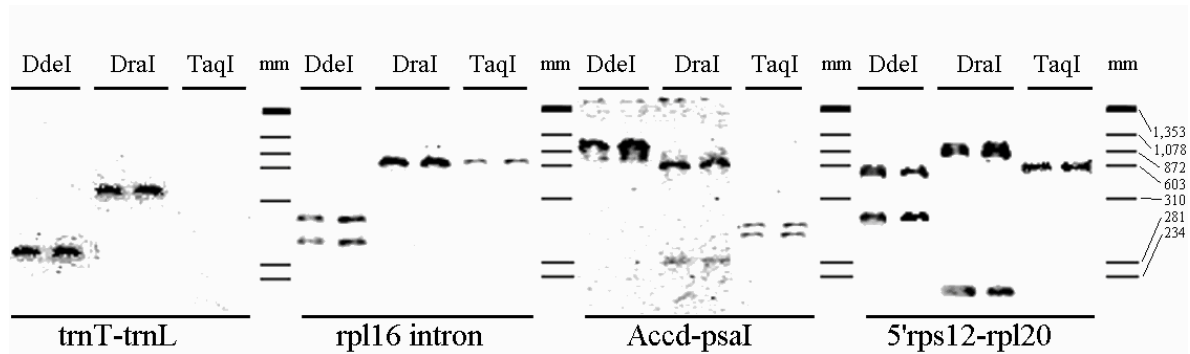


Figura 18.- Patrón de bandeo observado en dos poblaciones distantes de *Pachycereus pringlei*. La digestión de 3 enzimas fue dirigida a productos de cuatro espacios intergénicos. La última columna corresponde al marcador Lambda HindIII -  $\Phi$ X-174/HaeIII (pb)

## 2.6.6.- Secuenciación

### 2.6.6.1.- Polimorfismo

Las secuencias de los diferentes fragmentos analizados previamente fueron limpiadas y unidas para formar una sola secuencia de 4091 pb y así facilitar el análisis. El alineamiento de secuencias entre miembros de diferente población, detectó un in-del (una Inserción – Delección) en la región correspondiente al espacio rbcL-atpB. También se detectó InDel y una sustitución o la región flanqueada por rpl20-5'rps12. En la Tabla 9 se muestran algunos datos obtenidos a través del programa TCS v.1.21 (Clement *et al.* 2000).

Tabla 9. Resumen del polimorfismo detectado en 12 poblaciones de *Pachycereus pringlei*.

Diversidad (genética) de haplotipos	$H_D$	0.167
Diversidad nucleotídica	$\pi$	0.00004
Número relativo de mutaciones por secuencia	$\Theta\eta$	0.00008

### 2.6.6.2.- Asociación del sexo y haplotipos

La red de haplotipos descrita para el polimorfismo genético de *Pachycereus pringlei*, esta esquematizado en la Figura 19a. Se observa de manera esquemática la diferenciación genotípica de la especie en base a regiones no codificantes del cloroplasto. Los siguientes haplotipos están compuestos por las siguientes poblaciones:

Haplotipo 1: 6, 8, 10, 11, y 14.

Haplotipo 2: 1, 3, 12, 13, y 15

Haplotipo 3: 4

Haplotipo 4: 5

De acuerdo ala distribución geográfica de los haplotipos (Figura 19b), se observa que no se ajusta al menos al patrón geográfico descrito por los sistemas reproductivos. De igual manera, se determinó que la expresan sexual de los individuos no se asocia con el haplotipo que representa ( $X^2=15.2$ ,  $df=6$ ,  $p=0.05$ ). Los bajos niveles de variación genética

detectada en la especie, sugieren que la estructura de los sistemas reproductivos no se ve afectada por la variación del cpADN de *Pachycereus pringlei*.

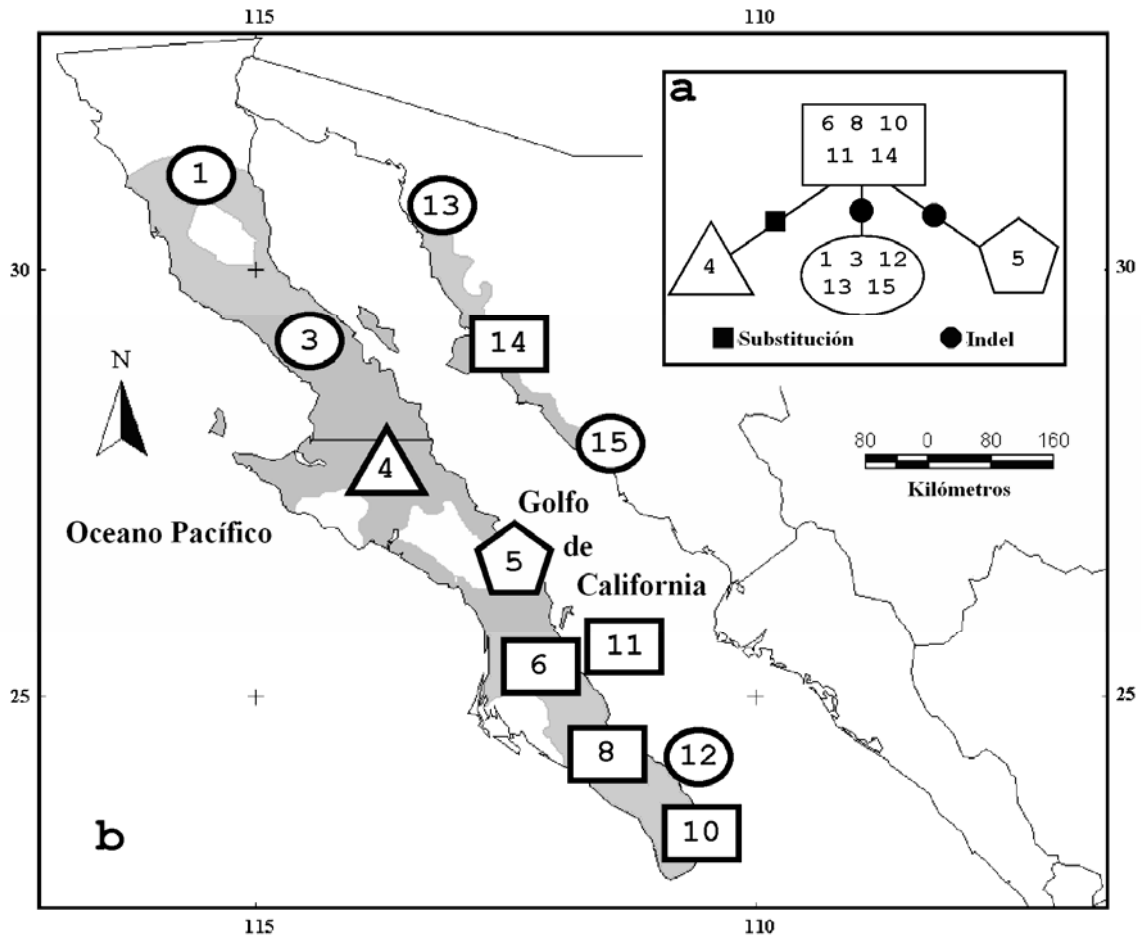


Figura 19.- Red de haplotipos por alineamiento de nucleótidos mostrando sustituciones (■) e indels (●) dada por cuatro haplotipos (a). Distribución geográfica de los haplotipos observados en *Pachycereus pringlei* (b)

## 2.7.- DISCUSIÓN

Esta investigación documenta la estructura de los sistemas reproductivos de *Pachycereus pringlei* en el rango de distribución natural de la especie. El cardón representa una de las pocas especies documentadas hasta el momento que expresa un cambio evolutivo que va del sistema hermafrodita al trioico a través del ginodioicismo (Charlestworth 1999, Richards 1986). Los sistemas unisexuales (o sistema dioico, compuestas por individuos que expresan un solo sexo en sus flores) se consideran la culminación de dicho proceso evolutivo. En la Figura 13 se muestra que en las poblaciones de la región sur de la Península la proporción de poblaciones hermafroditas está pobremente representada y sugiere que de continuar esta tendencia se reducirá aun más, posiblemente hasta su desaparición.

La teoría indica que en el proceso de evolución de sistemas hermafroditas a trioicos y luego a dioicos, la proporción procedente de padres con auto-fecundación en flores hermafroditas se ve numéricamente reducida por la desventaja que representan las generaciones con endogamia; en contraste, el desarrollo de generaciones resultantes de fecundación cruzada proveniente de la proporción de individuos mono-sexuales generalmente presentan mejores condiciones de sobrevivencia, de tal manera que en un periodo de tiempo relativo la abundancia de estos últimos individuos supera y desplaza a la proporción de los primeros.

De acuerdo a la frecuencia sexual detectada en las poblaciones peninsulares (Figura 13), en la península se observa una relación inversa entre la latitud y la proporción de individuos masculinos, al grado que estos desaparecen en la región extremo norte; en contraste, se observa que la presencia de individuos hermafroditas se ve notablemente incrementada conforme se aumenta la latitud. Teóricamente, los sistemas trioicos representan un proceso evolutivo mas avanzado que los sistemas ginodioicos (Figura 11), por lo que se puede suponer que las poblaciones con baja o nula presencia de individuos masculinos iniciaron tempranamente el proceso.

En Sonora se observa un patrón de distribución inverso al de la península. En la región norte y centro, las poblaciones están conformados por sistemas trioicos y al sur por el sistema ginodioico. Cabe destacar que la población ginodioica de esta región, presenta la mayor proporción de individuos hermafroditas que femeninos en todos los muestreos (exceptuando las poblaciones insulares, donde todos los individuos son hermafroditas), haciendo suponer que representa poblaciones con el menor grado de desarrollo en el sistema reproductivo registrado para la especie.

Como se mencionó, la condición hermafrodita de las poblaciones isleñas representa una condición antes no descrita y que no se adecua al patrón latitudinal de la península y de Sonora. La isla Catalana se localiza en el rango latitudinal de la población El Guatamote BCS (población 6, Figura 13), donde se observa un sistema trioico con muy baja proporción de individuos masculinos, lo cual sugiere cierto grado de comunicación. De manera opuesta, la isla Cerralvo corresponde latitudinalmente en tierra peninsular al

complejo de sistemas trioicos de la región del cabo, en donde se sugiere un efectivo aislamiento entre estas regiones. Esto parece indicar que los sistemas hermafroditas han evolucionado independientemente en la condición peninsular, presumiéndose que las condiciones ambientales locales son las que determinan este tipo de sistemas.

El aislamiento y las condiciones ambientales en las islas del Golfo de California pueden forzar al establecimiento de un grupo de organismos con características demográficas distintas que aquellas en tierra firme; ejemplo esto son las poblaciones de *P. pringlei*, las cuales muestra altas densidades en ciertas islas que en la Península de Baja California y Sonora (Medel-Narváez *et al.* 2006). Estas características distintivas se asocian a una supuesta baja presencia de depredadores y polinizadores. Dado que el modelo de evolución sexual señalado en la Figura 11, obedece mas a la necesidad de economizar recursos hace suponer que los sistemas hermafroditas de las islas no se encuentran bajo la misma presión que en continente, por lo que han derivado en un sistema de fecundación que no requiere necesariamente el concurso de polinizadores.

Se proponen que la conformación geográfica actual de los sistemas reproductivos en el cardón obedece al efecto latitudinal.

Primeramente, las poblaciones trioicas con baja proporción de hermafroditas expresan un desarrollo relativamente mas avanzado que aquellas trioicas con alta proporción de hermafroditas y ginodioicas, y estas mas que las puramente hermafroditas (ver Figura 11). La congruencia de este modelo ubica entonces a las poblaciones insulares

como las que mas recientemente han colonizado esos sitios, y adicionalmente se mantienen en tal condición debido a la relativa carencia de polinizadores. Las norteñas poblaciones de la península, con una franca tendencia a la condición ginodioica, representan el paso subsiguiente en el modelo de desarrollo ya que estas han colonizado en los últimos miles de años esa región geográfica ante la implantación de las condiciones cálidas del actual período interglacial. Mientras que las poblaciones del sur de la península parecen haber permanecido mucho mas tiempo en esa misma zona y presentan el desarrollo mas avanzado (antes del dioicismo) caracterizado por el trioicismo franco, y reflejan en cierto modo el denominado “efecto peninsular” (Taylor y Regal 1978; Brown 1987)

La estructura geográfica de los sistemas en Sonora es descrita por sistemas trioicos al norte y centro de la región y ginodioicos solamente en la porción sur. Es conveniente señalar que las poblaciones Sonorenses de cardón, como otras varias especies vegetales, como el cirio *Fouquieria columnaris*, son de claro origen peninsular que recientemente han colonizado tierra continental. Por esta razón es difícil considerar un desarrollo milenario de los sistemas reproductivos en esas poblaciones, y posiblemente estas representen algún otro patrón como se ha sugerido en relación con la actividad de polinizadores (Citas de Fleming y Molina).

Paralelamente es necesario considerar algunos hechos geo-climáticos registrados en la región de Norteamérica y su influencia en la conformación florística del Desierto Sonorense. En los últimos 40,000 años, gran parte del hemisferio norte estuvo sujeto a periodos de cambio climático global denominados períodos glaciares, en donde por lapsos



del orden de miles de años se presentó un descenso significativo de la temperatura, alternándose con periodos inter-glaciales de naturaleza cálida y seca. La glaciación de Wisconsin fue el último gran período glaciario en Norteamérica que en términos generales corresponde desde hace 90,000 años hasta hace 10,000 años, en el cual se advierten hasta tres eras de hielo alternadas por periodos inter-glaciales cálidos. La última era de ellas, denominada episodio Tioga fue caracterizada por ser un periodo severo (por duración y presencia de temperaturas extremas), iniciando hace unos 20,000 años y culminando hace 10,000 años.

Los periodos o eras glaciales fueron caracterizados por un cambio significativo en la composición de la biota en todo el hemisferio norte, donde por ejemplo, basado en muestras fósiles de polen recolectados en lagos y pantanos, la región peninsular la vegetación estaba compuesta por vegetación de tipo sabanoide (Ray y Adams 2001). Posterior al periodo glacial, la cobertura de las temperaturas frías se contrajo hacia el norte, siendo sustituidas por condiciones cálido-secas que promovieron cambios en toda la biota, conllevando al desarrollo y expansión hacia el norte de los desiertos Sonorense y Chihuahuense, tal y como se perciben (Ray y Adams 2001).

Se ha documentado que al concluir las eras o periodos glaciales, se presenta un periodo de cambio de temperaturas frías a calidas. De esta manera después de la era de hielo Tioga, se ha estimado la presencia de tres periodos fríos de corta duración seguidos de tres periodos calidos, el último de los cuales impera en la actualidad. El penúltimo periodo inter-glacial (de naturaleza calido-seca) es documentado uno de los más cálidos y

prolongados, iniciando hace aproximadamente 8500 años, con una duración aproximada de 5000 años (Heine 1973, Toledo 1976). Se presume que durante ese tiempo la biota del Desierto Sonorense se expandió a lo que es actualmente su distribución. *P. pringlei*, como parte de esa vegetación, debió experimentar una expansión amplia.

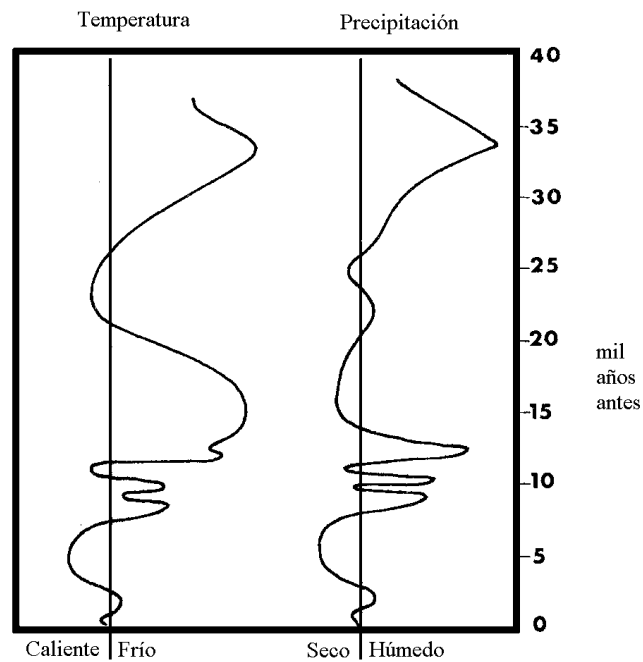


Figura 20. Representación de las condiciones climáticas prevalecientes en los últimos 40,000 años (retomado de Heine 1973 y Toledo 1976)

No obstante, se registra un posterior periodo frío de una duración aproximada de 1,000 años que limitó la expansión de la vegetación desértica, confinando nuevamente su distribución hasta ocupar la superficie de hoy en día. Es de suponer que el cardón ya se encontraba en la tierra peninsular al término desde al menos el final del episodio Tioga, y

que sus poblaciones se han expandido y contraído geográficamente de acuerdo a los episodios fríos y cálidos que alternadamente han aparecido desde entonces.

Lo anterior hace suponer que esta cactácea ha estado sujeta a cuellos de botella como resultado a la contracción y expansión de sus poblaciones provocada por la incidencia de episodios glaciares intensos. Los cuellos de botella son eventos evolutivos en los que de manera significativa se reduce el tamaño de las poblaciones o el número de las poblaciones. La reducción en el número de individuos de una especie promueve la deriva génica o deriva alélica, que es la pérdida de diversidad genética de una generación a otra reduciendo la probabilidad de adaptarse a nuevos ambientes o condiciones ambientales cambiantes. La endogamia es otro fenómeno resultado del bajo número de individuos en una población, esto promueve la generación de genotipos “mal adaptativos” (*maladaptatives*) que son eliminados por medio de la selección.

Es posible que durante los periodos glaciales e inter-glaciales, la variabilidad genética de la especie se viera reducida de manera que lo que se observa actualmente como resultado del análisis de esta investigación es el resultado de la expansión de un grupo de individuos con baja variabilidad genética a partir de un período climático favorable hace pocos miles de años. Razón por la cual no ha habido aún el tiempo suficiente para expresar variabilidad genética con los marcadores y técnicas que se manejan en la actualidad.

Si se considera que hace proximadamente 3,000 años terminó el último periodo frío e inició el presente periodo calido, es posible que hasta el momento se hallan expresado

unas 20-30 generaciones de *P. pringlei*, considerando que cada 100 años (aprox.) se lleva a cabo el reclutamiento de una nueva generación. Esta idea debe ser congruente considerando que esta especie se expande dramáticamente a partir de un relativo bajo número de individuos, en una región geográfica localizada posiblemente en el sur de la península, y que gracias a la disponibilidad de nichos alcanza en “pocas” generaciones la amplia región que hoy ocupa.

Debe considerarse también que el cloroplasto es un genoma con una tasa evolutiva muy baja, que aunado al lento reclutamiento generacional son elementos suficientes para proponer que en su distribución no halla variabilidad genética en el cloroplasto.

El estudio del cloroplasto, por su relativa corta longitud y herencia uni-parental en casi todas las angiospermas, permite indagar sobre procesos evolutivos de una manera mas accesible que el ADN nuclear (Provan *et al.* 2001, Taberlet *et al.* 1991, Eguiarte *et al.* 2003). Dado el pequeño tamaño del genoma cloroplástico se ha podido detectar un número limitado de *primers*-consenso que detecta variación genética inter-específica en poblaciones de angiospermas. Los intrones y espacios intergénicos exhiben los mas altos niveles de polimorfismo intra-especifico por que su selección esta menos limitada por selección que los genes que mantiene alguna función (Hamilton 1999). Las regiones no codificantes del genoma cloroplástico evaluadas en esta investigación han sido ampliamente utilizadas para analizar la variabilidad genética entre poblaciones vegetales (Horning y Cronn, 2006, Weising y Gardner 1999, Hamilton 1999, Taberlet *et al.* 1991). Aunque el genoma cloroplástico evoluciona lentamente, a través de ciertos marcadores

moleculares como RFLP y microsatélites se ha podido detectar variación a nivel inter-específico (Taberlet *et al.* 1991, Provan *et al.* 2001). No obstante, *primers* que amplifican largas regiones de cpADN usualmente no detectan sustituciones nucleotídicas o eventos de inserción-delección (indeles), es por ello que se recomienda utilizar un variado juego de enzimas de restricción en análisis PCR-RFLP.

Hasta el momento no se tienen documentados estudios que evalúen la variabilidad genética de cpADN en otras cactáceas, siendo el ADN nuclear el genoma mas explorado y en el que se han evaluado relaciones filogenéticas y variabilidad intra-poblacional (Arias *et al.* 2003, Otero-Arnaiz *et al.* 2003, Nassar *et al.* 2001). Los resultados descritos en este estudio indican una baja variabilidad genética entre las diferentes poblaciones de *P. pringlei* basándose en la secuenciación de 4.1 kb localizando solo una sustitución y dos inserción-delección en regiones no codificantes del cpADN. La distribución geográfica de las poblaciones evaluadas supera una distribución geográfica de 1,000 kilómetros. La baja variación haplotípica detectada para *P. pringlei* solo es comparada con la baja variación genética demostrada para varias especies de pinos y abetos (Provan *et al.* 1999, Fu-Lung *et al.* 2007, Ledig y Conkle 1983, Stehlik 2002). La baja variación genética detectada en *P. pringlei*, al igual que varias especies de pinos, contrasta los altos niveles de polimorfismo detectados en muchas especies de porte arbustivo en el reino vegetal (Hamrick *et al.* 1979). Teóricamente se asume que los cuellos de botella a los que estuvieron expuestos los individuos de *P. pringlei* en su historia evolutiva en el territorio peninsular, promovieron la existencia de muy escasos e incluso un solo genotipo maternal que en el transcurso de

aproximadamente 25-30 generaciones se ha expandido a la actual distribución en el Desierto Sonorense.

La baja tasa de sustituciones en el cpADN en comparación con el ADN nuclear ofrece ciertas ventajas en la evaluación de la variabilidad genética intra-específica. No obstante en especies como *P. pringlei* en el que se detectaron pocos haplotipos en regiones no codificantes, necesitan ser exploradas mediante marcadores nucleares, que permitan reconocer el grado de variación entre poblaciones y permitan realizar suposiciones más certeras acerca de la relación existente con su patrón geográfico.

Por otro lado, dada la nula asociación encontrada entre la variación de los sistemas reproductivos de *P. pringlei* con la variabilidad genética del cpADN, sugiere que la esterilidad masculina no se asocia con la estructura no codificante del cloroplasto. Esto permite concluir que a diferencia de otras especies no hay asociación entre el cpADN, mtADN y citotipos en poblaciones ginodioicas. En este aspecto se recomienda enfocarse exclusivamente al análisis mitocondrial a fin de evaluar los elementos que determinan la variación citoplasmática y su asociación con la esterilidad masculina, permitiendo proponer un patrón geográfico en base a frecuencias alélicas mitocondriales con la variación geográfica de los sistemas reproductivos.

## 2.8.- LITERATURA CITADA

- Ainsworth, Ch. 2000. Boys and girls come out to play: The molecular biology of dioecious plants. *Annals of Botany*. 86:211-221.
- Arias, S., T. Terrazas, y K. Cameron. 2003. Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany*. 28: 547-557.
- Avise, J. L. 1994. *Molecular markers. Natural history and evolution*. Chapman and Hall. New York. 511pp.
- Brown, J.W. 1987. The peninsular effect in Baja California: an entomological assessment. *Journal of Biogeography* 14: 359-365
- Charlestworth, B. 1991. The evolution of sex chromosomes. *Science*. 251:1030-1033.
- Charlestworth, D. 1999. Theories of the evolution of dioecy. *In: Gender and sexual dimorphism in flowering*. M. A. Geber, T. E. Dawson y L. F. Delph. eds. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg.
- Charlestworth, B. y D. Charlestworth. 1978. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *The American Naturalist*. 112:975-997
- Clark-Tapia, R., C. Alfonso-Corrado, L. E. Eguiarte, y F. Molina-Freaner. 2005. Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca* (Cactaceae), a narrow endemic cactus of the Sonoran Desert. *American Journal of Botany*. 92:272-278.
- Cota, J. H., y C. T. Philbrick. 1994. Chromosome number variation and polyploidy in the genus *Echinocereus* (Cactaceae). *American Journal of Botany*. 81:1054-1062.
- Cronquist A. 1988. *The evolution and classification of flowering plants*. 2da ed. New York Botanical Garden. 555 pp.
- de la Cruz, M., F. Ramírez, y H. Hernández. 1997. DNA isolation and amplification from cacti. *Plant Molecular Biology Report*. 15:319-325.
- de la Cruz, M., F. Ramírez, y H. Hernández. 1998. Erratum: DNA isolation and amplification from cacti. *Plant Molecular Biology Report*. 16:123.
- del Castillo, R. F. 1986. *La selección Natural de los Sistemas de cruzamiento en Opuntia robusta*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Edwards, S. V., y P. Beerli. 2000. Gene divergence, population divergence, and the variance in coalescent time in phylogeographic studies. *Evolution*. 54:1839-1854.
- Eguiarte, L. E. y D. Piñero. 1999. Genética de la conservación: leones vemos, genes no sabemos. *In: Evolución biológica*. J. Núñez-Farfán, y L. E. Eguiarte, eds. Revista Ciencias. UNAM.
- Eguiarte, L. E., J. Núñez-Farfán, C. Domínguez, y C. Cordero. 1999. Biología evolutiva de la reproducción de las plantas. *In: Evolución biológica*. J. Núñez-Farfán, y L. E. Eguiarte, Comps. Ciencias. UNAM. 457 pp.
- Eguiarte, L. E., A. Castillo y V. Souza. 2003. Evolución molecular y genómica en angiospermas. *Interciencia*. 28:141-147.
- Farfán-Hereida B. S/F. Evaluación del efecto del manejo silvícola sobre la dinámica poblacional de *Polaskia chichi* Glossein Backeberg en el Valle de Tehuacan-Cuicatlán. Congreso mexicano de Botánica.
- Fleming, T. H., S. Maurice, S. L. Buchman, y M. D. Tuttle. 1994. Reproductive biology and relative male and female fitness in a trioecious cactus *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *American Journal of Botany*. 81: 858-867.

- Fleming, T. H., S. Maurice, S. L. Buchman, y M. D. Tuttle. 1994. Reproductive biology and relative male and female fitness in a trioecious cactus *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *American Journal of Botany*. 81: 858-867.
- Fleming, T. H., S. Maurice, y J. L. Hamrick. 1998. Geographic variation in the breeding system and the evolutionary stability of trioecy in *Pachycereus pringlei*. *Evolutionary Ecology*. 12:279-289.
- Fu-Lung, S., H. Shih-Ying, C. Yu-Pin, L. Pei-Fen, y L. Tsan-Piao. 2007. Uniform genetic diversity, low differentiation, and Neutral evolution characterize contemporary refuge Populations of taiwan fir (*Abies kawakamii*, pinaceae). *American Journal of Botany*. 94:194-202.
- Fuji, N. 2007. Chloroplast DNA phylogeography of *Pedicularis* ser. *Gloriosae* (Orobanchaceae) in Japan. *Journal of Plant Resources*. 120:491-500.
- Futuyma, D. J. 1998. *Evolutionary Biology*. Sinauer Associates Publishers. Sunderland, Mass.
- Hamrick, J. L. 1989. Analysis of genetic structure in plants populations. In: Soltis D. E. y P. S. Soltis (eds). *Isozymes in plant biology*. Discorides Press. Portland. p 87-105.
- Hamrick, J. L., J. D. Nason, T. H. Fleming, y J. M. Nassar. 2002. Genetic diversity in Columnar cacti. In: *Columnar cacti and their mutualist. Evolution, ecology, and conservation*. T. H. Fleming y A. Valiente-Banuet (eds). The University of Arizona Press.
- Hamrick, J. L., Y. B. Linhart, y J. B. Mitton, 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable variation in plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*10: 173-200.
- Heine, K. 1973. Variaciones mas importantes del clima durante los utlimos 40,000 años en México. *Comunicaciones*. 7:51-58.
- Heslop-Harrison, J. 1982. The reproductive versatility of flowering plants an overview. In: *Strategies of Plant reproduction*. W. J. Meudt. Allenheld, Osmun Publisheres. pp 3-20
- Hoffman, M. T. 1992. Functional Dioecy in *Echinocereus coccineus* (Cactaceae): Breeding Systems, Sex Ratios, and Geographic Range of Floral Dimorphism. *American Journal of Botany*. 79:1382-1388.
- Horning, M. E. y R. C. Cronn. 2006. Length polymorphism scanning is an efficient approach for revealing chloroplast DNA variation. *Genome*. 49:132-142.
- Jackson, R. C. 1976. Evolution and systematic significance of polyploidy. *Annual Review in Ecology Systematic*. 7:209-234.
- Strittmatter, L. I., V. Negrón-Ortiz y R. J. Hickey 2002. Subdioecy in *Consolea spinosissima* (Cactaceae): breeding system and embryological studies. *American Journal of Botany*. 89:1373-1387.
- Leding F. T., y M. T. Conkle, 1983 Gene diversity and genetic structure in a narrow endemic Torrey pine (*Pinus torreyana* Parry ex Carr). *Evolution* 37: 79-85.
- Lovett-Doust. J. y L. Lovett-Doust. 1988. Sociobiology in plants: An emerging synthesis. In: *Plant Reproductive Ecology*. Lovett, D. J. y L. Lovett D. Edits. Oxford University Press. pp 5-29.
- Lynch, M. y J. S. Conery. 2000. The evolutionary fate and consequences of duplicate gene. *Science*. 290:1151-1155.
- McCauley, D. E. y D. R. Taylor. 1997. Local population structure and the sex ratio: evolution in gynodioecious plants. *American Naturalist* 150: 406-419.
- Meagher, T. R. 1988. Sex determination in plants. In: *Plant reproductive ecology, patterns and strategies*. J. Lovett Doust y L. Lovett Doust (eds). Oxford University Press. pp 125-139.
- Masterson, J. (1994) Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms, *Science* 264:421-423



- Medel-Narváez, A. 2003. Biología floral y estructura poblacional del cardón [*Pachycereus pringlei* (S. Wats.) Britton and Rose (Cactaceae)] en El Comitán, Baja California Sur. Tesis de Maestría. La Paz, B.C.S. México.
- Miller, J. S. y D. L. Venable. 2000. Polyploidy and the evolution of gender dimorphism in plants. *Science*. 289:2335-2338.
- Molina-Freaner, F., M. Cervantes-Salas, D. Morales-Romero, S. Buchmann y T. H. Fleming. 2003. Does the pollinator abundance hypothesis explain geographic variation in the breeding system of *Pachycereus pringlei*? *International Journal of Plant Sciences*. 164: 383-393.
- Murawski, D. A., T. H. Fleming, K. Ritland y J. L. Hamrick. 1994. Mating system of *Pachycereus pringlei*: an autotetraploid cactus. *Heredity*. 71:86-94.
- Nassar, J. M., J. L. Hamrick, y T. H. Fleming. 2001. Genetic variation and population structure of the mixed-mating cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Heredity* 87:69-79.
- Otero-Araiz, A., A. Casas, C. Bartolo, E. Pérez-Negro, y A. Valiente-Banuet. Evolution of *Polaskia chichipe* (cactaceae) under Domestication in the Tehuacán valley, central Mexico: reproductive biology. *American Journal of Botany*. 90:593-602.
- Pereira, T. N. S., N. R. Lersten, y R. G. Palmer. 1997. Genetic and cytological analyses of a partial-female-sterile mutant (PS-1) in soybean (*Glycine max*; Leguminosae). *American Journal of Botany*. 84 781-791.
- Perret, M., A. Chautems, R. Spinchiger, G. Kite, y V. Savolainen. 2003. Systematic and evolution of tribe Sinningieae (Gesneriaceae): evidence from phylogenetic analyses of six plastid DNA regions and nuclear ncpGS. *American Journal of Botany*. 90:445-460.
- Petit, S. 1997. The diet and reproductive schedules of *Leptoncyteris curasoeae curasoeae* and *Glossophaga longirostris elongata* (Chiroptera: Glossophaginae) on Curaçao. *Biotropica* 29: 214-223.
- Provan, J., N. Soranzo, N. J. Wilson, D. B. Goldstein, y W. Powel. 1999. A low mutation rate for chloroplast microsatellites. *Genetics*. 153:943-947.
- Pinkava, D. J., L. A. McGill, T. Reeves y M. G. McLeod. 1977. Chromosome numbers in some cacti of western North America - III. *Bull. Torrey Bot. Club* 104: 105-110.
- Pinkava, D. J., M. A. Baker, B. D. Paffit, M. W. Mohlenbrock y R. D. Worthington. 1985. Chromosome numbers in some Cacti of Western North America-V. *Systematic Botany*. 10:471-483.
- Pinkava, D. J., B. D. Parfitt, M. A. Baker and R. D. Worthington. 1992. Chromosome numbers in some cacti of North America - VI, with nomenclatural changes. *Madroño*. 39: 98-113.
- Ray, N. y J. M. Adams. 2001. A GIS-based Vegetation Map of the World at the Last Glacial Maximum (25,000-15,000 BP). *Internet Archaeology* 11:1-44.
- Richards, A. L. 1986. *Plant breeding Systems*. George Allen and Unwin. London.
- Schlotterer, C. 2004. The evolution of molecular markers, just a matter of fashion?. *Nature Review*. 5:63-69.
- Serrato-Cruz, M. A., M. Hernández-Rodríguez, Y. Savidan, y N. M. Barcenas-Ortega. 2000. Determinación de la ploidía en progenies de *Tapetes* spp. Mediante citómetro de flujo. *Agrociencias*. 34:735-740.
- Shreve, F. y I. L. Wiggins. 1964. *Vegetation and flora of the Sonoran Desert*. Vol. I y II. Stanford University Press.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematic*. 16:393-430.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*. 236:787-792.
- Soltis, D. E. y P. S. Soltis. 1999. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends in Ecology and Evolution*. 14:348-352.

- Soltis, P. S. y D. E. Soltis. 2000. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *PNAS*. 97:7051-7057.
- Sunnucks, P., A. C. C. Wilson, L. B. Beheregaray, y K. Zenger. 2000. SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Molecular Ecology*. 9:1699-1710.
- Stehlik, I. 2002. Glacial history of the alpine herb *Rumex nivalis* (polygonaceae): a comparison of common Phylogeographic methods with Nested clade analysis. *American Journal of Botany*. 89:2007–2016
- Szmidt, A. E., X.-R. Wang, y S. Changtragoon. 1996. Contrasting patterns of genetic diversity in two tropical pines: *Pinus kesiya* (Royle ex Gordon) and *P. merkusii* (Jungh et De Vriese). *Theoretical and Applied Genetics*. 92:436-441.
- Taylor, R.J., y P. J. Regal. 1978. The peninsular effect on species diversity and the biogeography of Baja California. *American Naturalist* 112:583-593.
- Templeton, A. R. 1981. Mechanisms of speciation, a population genetic approach. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 12:23-48.
- Toledo, V. M. 1976. Los cambios climaticos del pleistoceno y sus efectos sobre la vegetacion tropical calida y humeda de Mexico. Tesis de Maestria. UNAM.
- Van Devender T. R. 2002. Environmental history of the Sonoran Desert. *In: Columnar cacti and their mutualist. Evolution, ecology, and conservation*. T. H. Fleming y A. Valiente-Banuet (eds). The University of Arizona Press.
- Weedin, J. F., y M. Powell. 1978. Chromosome numbers in Chihuahuan Desert Cactaceae. *Trans-Pecos Texas. American Journal of Botany*. 65:531-537.
- Zhi-Yong, Z., Ch. Yong-Yan, y L. De-Zhu. 2005. Detection of Low Genetic Variation in a Critically Endangered Chinese Pine, *Pinus squamata*, Using RAPD and ISSR Markers. *Biochemical Genetics*. 43:239-249.

## 2.8.- CONCLUSIONES

En la amplia distribución del cardón fue posible caracterizar en base a características morfológicas y demográficas 3 grandes regiones de establecimiento: Península de Baja California, Islas del Golfo y Región costera de Sonora.

Solo en la península de Baja California fue posible apreciar el efecto latitudinal en la conformación morfológica y abundancia inter-poblacional: al norte se pueden localizar las poblaciones menos densas, los individuos mas altos, con una talla de tronco basal mayor y un diámetro basal promedio mayor. De manera contraria, al sur de la península se caracteriza por albergar individuos de porte bajo, con un diámetro basal promedio menor el cual que se presume se asocia con el tamaño de sus individuos y poblaciones mas abundantes (en tierra firme). Todas estas características se asocian con el efecto de la precipitación, y la temperatura mínima de invierno.

Las Islas se caracterizan por albergar la mayor cantidad de individuos por área en toda su distribución donde predominan los individuos menores de un metro, por lo que presentan índices de regeneración mayores que el resto de las poblaciones. Debido a la baja muestra representativa de islas consideradas, no fue posible comparar el efecto latitudinal en sus características morfológicas ni observar su asociación con características climáticas.

Es posible que la relativa corta distribución de *P. pringlei* en la región costera de Sonora no permita observar el efecto latitudinal en la abundancia y características morfológicas. No obstante, los individuos sonorenses presentan mayores semejanzas con los individuos del norte de la península que los del sur de la península e islas.

De igual manera se observó que las temperaturas mínimas de invierno se asocian a la densidad poblacional, donde inviernos menos fríos se asocian a una mayor abundancia.

Nuestras expectativas, basadas en observaciones en campo, sugerían que la estructura poblacional de las islas fuera monotonía, donde el número de individuos en primeras etapas eran sustancialmente superior a etapas de crecimiento posteriores, tal como lo expresan poblaciones en crecimiento constante. Sin embargo, análisis estadísticos demostraron que la estructura poblacional presenta un desarrollo en pulsos, supuestamente asociada a la presencia de condiciones en el rango de decenas de años que promueven un reclutamiento sustancial en pulsos.

Aunque la abundancia de *P. pringlei* es menor en la franja costera de Sonora que en el sur de la península e islas, no se consideran que estén en peligro de desaparecer, debido a que se observa un significativo índice de regeneración. No obstante es necesario resaltar que las poblaciones con más baja densidad (norte de la península y costa de Sonora), se asocian a la presencia de asentamientos humanos, y aunque la presencia de individuos menores de un metro son relativamente abundantes, estos se encuentran en el rango mayor a 50 cm. (datos no mostrados). Esto quiere decir que no se observa un reciente

establecimiento de individuos en el rango de 30-40 años, que se estima tengan los individuos cercanos a los 50 cm. de altura. Este dato puede ser comprobado con estudios demográficos e históricos que muestren la relación de este supuesto.

De igual manera se propone un estudio detallado a fin de determinar las causas que promueven una significativa alta presencia de individuos en las islas de golfo, tanto en condición Sonorense como Peninsular. Se propone por un lado evaluar los elementos que promueven la depredación de semillas y por otro lado evaluar la presencia y abundancia de polinizadores y dispersores de semillas.

En el presente estudio se describen de manera detallada la variación geográfica de los sistemas reproductivos en el cardón. Ello incluye haber considerado áreas representativas en todo su rango de distribución, y haber considerado un relativo alto número de organismos en cada sitio de muestreo.

Se documenta por primera vez la presencia de sistemas hermafroditas para *P. pringlei*, presentándose exclusivamente en las islas Santa Catalina y Cerralvo, cercanas a la península de Baja California. De esta manera el cardón experimenta un proceso evolutivo que va de los sistemas hermafroditas a trioicos, con la presencia de sistemas ginodioicos. De acuerdo a la frecuencia relativa de sexos presentes en las poblaciones trioicas hacen suponer que eventualmente se pueden presentar poblaciones dioicas originadas de aquellas con baja frecuencias de individuos hermafroditas.

Más del 70% de los sistemas son trioicos, y el resto ginodioicos y hermafroditas. La representatividad de poblaciones en condición peninsular y sonoreense se considera adecuada, no obstante es necesario explorar un mayor número de islas del golfo para corroborar de manera significativa el efecto latitudinal y de aislamiento espacial y la conformación de sistemas reproductivos, abundancia y estructura poblacional.

La notablemente baja variación genética del cloroplasto podría ser consecuencia de la expansión de individuos provenientes de un solo linaje maternal provocado por el efecto de cuellos de botella asociados a las eras glaciales y xerotérmicas. Esto hace suponer que por contracción y expansión del Desierto Sonorense la actual distribución en la península es el resultado de un proceso de colonización donde las poblaciones progenie se localizan en la región del cabo. Así mismo en su proceso de colonización hacia las partes más norteñas de la península, el cardón se expandió hacia el estado de Sonora mediante la dispersión de semillas a larga distancia promovidos por ejemplo, por el murciélago nectarívoro (*Leptonycteris curasoae*).

*P. pringlei*, al igual que algunas gimnospermas estuvieron sujetas a procesos de expansión y contracción, y por consiguiente a varios cuellos de botella que promovieron una reducción en su variabilidad genética, misma que se reflejan actualmente. Paralelamente el cpADN tiene una tasa de mutación mucho menor que el ADN nuclear, esto apoya la idea de la homogeneidad genética en regiones no codificantes del cloroplasto.

Se recomienda evaluar ADN nuclear que permita reforzar los resultados de este estudio o bien. Así mismo se recomienda evaluar la variabilidad genética de los sistemas reproductivos mediante el análisis de mtADN, principalmente en la región COI (*cytochrome oxidase I*), región asociada a la esterilidad masculina en *Silene vulgaris*.