

# GENETIC RELATIONSHIPS BETWEEN VARIETIES OF *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) IN THE STATES OF PUEBLA AND OAXACA, MEXICO, BY MEANS OF AFLP MARKERS

## RELACIONES GENÉTICAS ENTRE VARIEDADES DE *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) EN LOS ESTADOS DE PUEBLA Y OAXACA, MÉXICO, CON MARCADORES AFLP

María de L. Yáñez-López\*, Claudia Barbosa-Martínez, Alejandra Serrato-Díaz, Atzin Balderas-Morales, Carolina Campos-Muñiz, Francisco J. Fernández, Miguel A. Armella-Villalpando,

División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México, D.F. Avenida San Rafael Atlixco 186, Colonia Vicentina, Iztapalapa, 09340. (lyanez@xanum.uam.mx).

### ABSTRACT

Pitaya de mayo, *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxbaum (Cactaceae), is a horticultural produce with great importance in the Mixteca region (Southwestern Puebla and Northeastern Oaxaca, México) and is gaining international attention for its sweet and fresh flavor; accordingly, many different cultivars or varieties were developed. In this study we used AFLP molecular markers with the objective of analyzing the genetic relationships between six varieties. *Stenocereus stellatus* (Pfeiffer) Ricobono variety was considered as out-group, and the putative hybrid from these two species, San Gabriel, was grown in 12 plots of clonal reproduced plants at Tehuacán-Cuicatlán Region in Mexico. Results showed many polymorphisms, and similarity indexes fluctuated between 0.24 and 0.60. Samples were grouped according to the collecting site and independent from the studied variety, which might be explained by the traditional handling that growers give to this species in the region.

**Key words:** Columnar cactus, intraspecific variability, pitaya, *Stenocereus stellatus*, traditional handling.

### INTRODUCTION

*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxbaum is a columnar cactus known as pitaya de mayo, mainly located in the semi-arid region of the Tehuacan valley at the Center of Mexico (Bravo-Hollis, 1978; Parra *et al.*, 2012). This species has gone through a domestication process since approximately 8000 years ago (Smith, 1967; Luna-Morales and

\* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: mayo, 2015. Aprobado: enero, 2016.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 50: 595-601. 2016.

### RESUMEN

La pitaya de mayo, *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxbaum (Cactaceae) es un producto hortofrutícola con gran importancia en la región de la Mixteca (suroeste de Puebla y noreste de Oaxaca, México) y ha ganado atención internacional por su sabor dulce y fresco. En consecuencia, numerosos cultivares o variedades se desarrollaron. En este estudio se usaron marcadores moleculares AFLP con el objetivo de analizar las relaciones genéticas entre seis variedades. *Stenocereus stellatus* (Pfeiffer) variedad Ricobono se consideró como grupo externo. El híbrido putativo de estas dos especies San Gabriel, se cultivó en 12 parcelas, con plantas clonales, en la región de Tehuacán-Cuicatlán, México. Los resultados mostraron muchos polimorfismos. Los índices de similitud fluctuaron entre 0.24 y 0.60. Las muestras se agrupan de acuerdo con su lugar de recolección e independiente de la variedad estudiada, lo cual podría explicarse por el manejo tradicional dado por los productores a esta especie en la región.

**Palabras clave:** Cactus columnar, variabilidad intraespecífica, pitaya, *Stenocereus stellatus*, manejo tradicional.

### INTRODUCCION

*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxbaum es un cactus columnar conocido como pitaya de mayo, y distribuido principalmente en la región semiárida del valle de Tehuacán, en el Centro de México (Bravo-Hollis, 1978; Parra *et al.*, 2012). Esta especie ha pasado por un proceso de domesticación desde hace unos 8000 años (Smith, 1967; Luna-Morales y Aguirre, 2001), con base principal en la selección de frutos grandes dulces, con epidermis delgada, pocas espinas y pulpas de color diferente (Luna-Morales

Aguirre, 2001), basically conducted by big sweet fruits, with thin epidermis, few thorns and different colored pulps selection (Luna-Morales and Aguirre, 2001; Rosales-Bustamante *et al.*, 2009; Parra *et al.*, 2012). This process has generated more than 30 varieties with different commercially attractive features (Luna-Morales, 2007; Rosales-Bustamante *et al.*, 2009).

*Stenocereus pruinosus* is found in wild populations, in agro-forestry systems and grows in orchards (Parra *et al.*, 2010; 2012). Within the orchards the most common pattern to reproduce and increase production is by the cutting method, this produces plant clones with desirable characteristics; therefore plants coming from common original stems may be considered genetic replicates (Rosales-Bustamante *et al.*, 2009; Carrillo-Ángeles and Mandujano, 2011). According to Rozenfeld *et al.* (2007), almost no genetic variation is produced by this method, and each individual becomes a ramet of the original one, which is common in natural cacti populations (Clark-Tapia *et al.*, 2005a; 2005b).

According to Luna-Morales (2004), an evidence of this species' domestication is an inter-specific hybrid, between *S. pruinosus* and *S. stellatus* (Pfeiffer) Ricobono, called San Gabriel by growers in the Mixteca Baja region (Northwestern Oaxaca and Southeastern Puebla). This hybrid was obtained by the Mixtecos by means of its handling and selection from *in situ* grown populations and *ex situ* later in orchards near this region. Besides, this hybrid presents two marked fructification seasons in the year and each one coincides with the parental species' fructification.

The high morphological and genetic variability among wild and cultivated populations is due to the producing species' artificial selection (Parra *et al.*, 2008; 2010; 2012). However, genetic relationships among different clonal orchards within the agricultural production are not studied. For this reason, the objective of this experiment was to analyze *S. pruinosus* genetic diversity and genetic relationships by means of AFLP, in Puebla and Oaxaca, clonal orchards, including in this study *S. stellatus*, a closely related species as outgroup, and their putative hybrid San Gabriel. The hypothesis was that *S. pruinosus* accessions from the same variety are genetically similar, independently from their region of provenance.

y Aguirre, 2001; Rosales-Bustamante *et al.*, 2009; Parra *et al.*, 2012). Este proceso ha generado más de 30 variedades con diferentes características comerciales atractivas (Luna-Morales, 2007; Rosales-Bustamante *et al.*, 2009).

*Stenocereus pruinosus* se encuentra en poblaciones silvestres, sistemas agroforestales y huertos (Parra *et al.*, 2010; 2012). Dentro de los huertos el patrón más común para reproducir y aumentar la producción es mediante el método de corte, que produce plantas clones con características deseables; por lo tanto, plantas procedentes de un tallo común se pueden considerar réplicas genéticas (Rosales-Bustamante *et al.*, 2009; Carrillo-Ángeles y Mandujano, 2011). Según Rozenfeld *et al.* (2007), este método no produce casi ninguna variación genética y cada individuo se convierte en un clon del original, lo cual es común en las poblaciones naturales de cactus (Clark-Tapia *et al.*, 2005a; 2005b).

Según Luna-Morales (2004), una evidencia de la domesticación de especie es un híbrido interespecífico, entre *S. pruinosus* y *S. stellatus* (Pfeiffer) Ricobono, llamado San Gabriel por los cultivadores de la región Mixteca Baja (Noroeste de Oaxaca y sureste de Puebla). Este se obtuvo por los mixtecos mediante la manipulación y selección de las poblaciones crecidas *in situ* y más adelante *ex situ*, en huertos cercanos a esta región. Este híbrido presenta dos estaciones de fructificación marcadas en el año y cada una coincide con la fructificación de las especies parentales.

La variabilidad morfológica y genética altas en las poblaciones silvestres y cultivadas se debe a la selección artificial de las especies producidas (Parra *et al.*, 2008; 2010; 2012). Sin embargo, las relaciones genéticas entre diferentes huertos clonales dentro de la producción agrícola no se han estudiado. Por lo anterior, el objetivo de este experimento fue analizar la diversidad genética y relaciones genéticas de *S. pruinosus* y los huertos clonales de Puebla y Oaxaca, mediante AFLP; además, se incluyó *S. stellatus* como grupo externo de una especie con relación estrecha, y su híbrido putativo San Gabriel. La hipótesis fue que las recolectas de *S. pruinosus* de la misma variedad son genéticamente similares e independiente de su región de procedencia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó con 12 recolectas de *S. pruinosus*, y se usaron tallos individuales de las variedades Ceniza (C), Roja (R),

## MATERIALS AND METHODS

This study was carried out with 12 accessions of *S. pruinosus* using individual stems of the varieties Ceniza (C), Roja (R), Amarilla (A), Burra (B), Espina Negra (EN) and Jarro (J); the hybrid San Gabriel (SG) and *S. stellatus* (X), as out-group, collected from clonal orchards of Oaxaca and Puebla (Table 1). DNA extraction was made from 20 mg of stem chlorophyllous parenchyma (the amount of used DNA avoids kit membrane saturation with the cactus mucilage), using the DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen). AFLP technique (Vos *et al.*, 1995) was out with the AFLP® Plant Mapping Kit (Applied Biosystems), according to its protocol and testing 32 combinations of primers. DNA fragments were detected by means of an automatic ABI PRISM® 3130XL Genetic Analyzer sequencer.

Electropherograms were analyzed through the Gene Marker® V.2 (The Biological Friendly Software SoftGenetics) program. Similarity coefficients were estimated from the generated binary matrix by means of the Nei and Li index (1979) with the Free Tree v 0.9.1.50 program (Pavliček *et al.*, 1999). A 1000 repetition re-sampling (bootstrap) was carried and a consensus tree was obtained (Hampl *et al.*, 2001). Besides data were grouped by the Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average (UPGMA) and a dendrogram was built by using the Tree View v.1.6.6 program (Page, 1996).

## RESULTS AND DISCUSSION

From the 32 tested AFLP primer combinations, we chose those eight combinations that amplified the largest number of fragments. A total of 538 bands was obtained by using those markers (Table 2). The number of polymorphisms from each of the primer combinations was very high in relation to the figures reported for other Cactaceae, as *Opuntia pilifera* and *Cereus* spp. (Nilsen *et al.*, 2005; Faria-Tavares

Amarilla (A), Burra (B), Espina Negra (ES) y Jarro (J); además se incluyó el híbrido San Gabriel (SG) y *S. stellatus* (X), como grupo externo, y se recolectaron en huertos clonales de Oaxaca y Puebla (Cuadro 1). La extracción de ADN se hizo de 20 mg de parénquima clorofílico del tallo (la cantidad de ADN usada evita la saturación de la membrana del kit con el mucílago del cactus), y se usó el Kit DNeasy® Plant Mini (Qiagen). La técnica de AFLP (Vos *et al.*, 1995) se realizó con un AFLP® Plant Mapping Kit (Applied Biosystems), de acuerdo con su protocolo y 32 combinaciones de iniciadores. Los fragmentos de ADN se detectaron por medio de un secuenciador automático ABI PRISM® 3130xl Genetic Analyzer.

Los electroferogramas se analizaron con el programa Gen Marker® V.2 (The Biological Friendly Software SoftGenetics). Los coeficientes de similitud se estimaron desde una matriz binaria por medio del índice de Nei y Li (1979) con el programa Free Tree v 0.9.1.50 (Pavliček *et al.*, 1999). Un remuestreo (Bootstrap) de 1000 repeticiones se realizó y se obtuvo un árbol consenso (Hampl *et al.*, 2001). Además, los datos se agruparon con el método de agrupamiento de pares no ponderado con media aritmética (UPGMA) y un dendrograma se construyó con el programa Tree View v.1.6.6 (Page, 1996).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Ocho combinaciones se escogieron de los 32 iniciadores de AFLP probados, que amplificaron el número mayor de fragmentos. Un total de 538 bandas se obtuvo con esos marcadores (Cuadro 2). El número de polimorfismos de cada una de las combinaciones de iniciadores fue muy alto en relación con las cifras reportadas para otras cactáceas, como *Opuntia pilifera* y *Cereus* spp. (Nilsen *et al.*, 2005; Faria-Tavares *et al.*, 2013), y otras especies, como *Passiflora edulis* (Ponciano-Samayoa y Lacan-de León, 2012).

**Table 1. Varieties used to represent each of the 14 accessions in the AFLP analysis.**  
**Cuadro 1. Variedades usadas para representar cada una de las 14 recolectas en el análisis AFLP.**

Locality	Species	Accession	Geographical coordinates
Otlaltepec Atexcal, Puebla	<i>S. pruinosus</i>	EN, J(1)	18° 17' 49.58" N 97° 46' 30.11" O
San Juan Joluxtla, Oaxaca	<i>S. pruinosus</i>	R(1), J(2), C, A, B, R(2), J(3), J(4), R(3), J(5),	18° 09' 48.88" N 97° 44' 45.02" O
San Juan Joluxtla, Oaxaca	<i>S. stellatus</i>	X	18° 09' 25.79" N 97° 45' 07.15" O
San Juan Joluxtla, Oaxaca	Hybrid <i>S. pruinosus</i> × <i>S. stellatus</i>	SG	18° 09' 25.79" N 97° 45' 07.15" O

**Table 2. Primers combinations tested with *EcoRI* and *MseI*, and number of polymorphic bands obtained for each combination.****Cuadro 2. Combinaciones de iniciadores probadas con *EcoRI* y *MseI*, y número de bandas polimórficas obtenidas para cada combinación.**

Restriction enzymes-Primers combination	Number of polymorphic bands
<i>EcoRI</i> -ACG/ <i>MseI</i> -CAT	92
<i>EcoRI</i> -ACT/ <i>MseI</i> -CAT	88
<i>EcoRI</i> -AAC/ <i>MseI</i> -CAT	89
<i>EcoRI</i> -AAC/ <i>MseI</i> -CAG	52
<i>EcoRI</i> -AGG/ <i>MseI</i> -CAG	43
<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CAG	82
<i>EcoRI</i> -AGG/ <i>MseI</i> -CAC	53
<i>EcoRI</i> -ACG/ <i>MseI</i> -CAG	39
Total	538

*et al.*, 2013), and other species, as *Passiflora edulis* (Ponciano-Samayoá and Lacán-de León, 2012).

All the *S. pruinosa* varieties were grouped with a similarity index from 0.24 to 0.60 in the UPGMA dendrogram (Figure 1). The *S. pruinosa* accessions were separated into two sub-groups; the first one belongs to samples from Oaxaca and the second one to samples from Puebla. Besides, very few bands amplified in the case of *S. stellatus* from the eight used AFLP combinations. This provided a similarity index of 0.01 with respect to the *S. pruinosa* accessions, even though they are closely related species, whereas the San Gabriel hybrid showed a similarity index of 0.11 in relation to the pitaya group (Figure 1).

The similarity values show that all the studied accessions are genetically different, including those belonging to the same variety, such as pitaya Roja and Jarro, which suggests that all the analyzed clonal orchards (irrespective of the variety) have diverse origins. This result coincides with that of Parra *et al.* (2010), who reported that there is a high genetic variability in *S. pruinosa* populations, particularly in those handled by artificial selection (Casas and Parra, 2007; Parra *et al.*, 2008 and 2012). However, our result opposes to other reported species of the same genus, such as *S. stellatus* (Casas *et al.*, 2006), *S. gummosus*, *S. eruca* and *S. thurberi* (Hamrick *et al.*, 2002; Clark-Tapia and Molina-Freaner, 2003; Clark-Tapia *et al.*, 2005a; Lozano *et al.*, 2015).

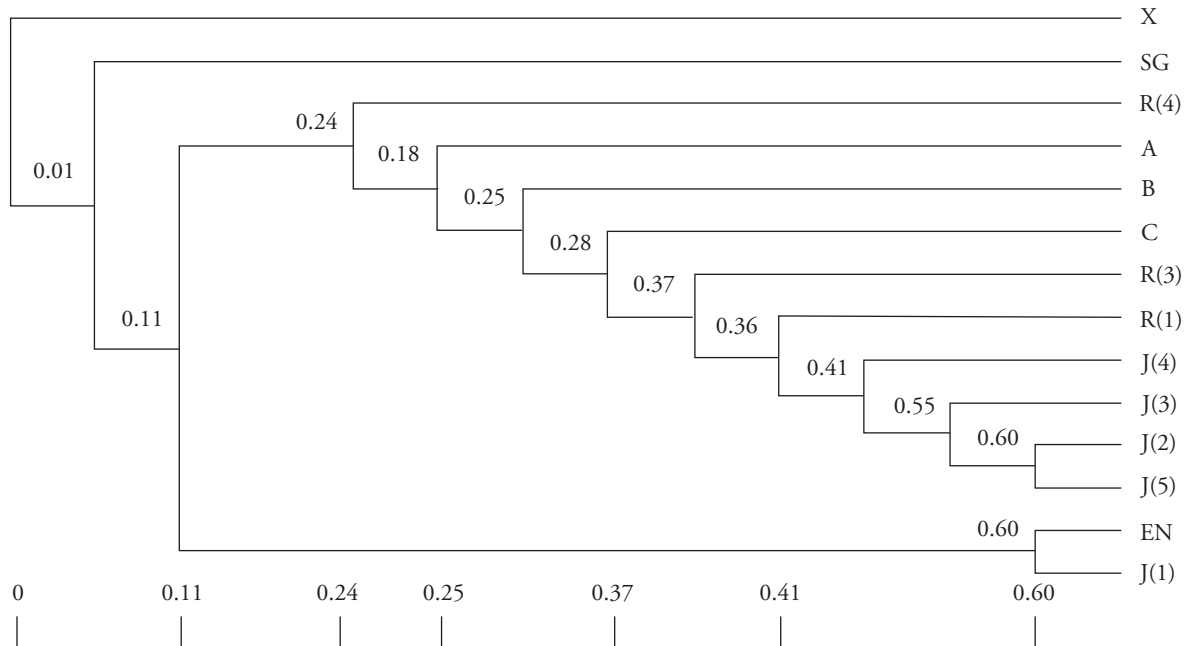
Orchards in Puebla and Oaxaca, where individuals were collected, presented different biotic and abiotic

Todas las variedades de *S. pruinosa* se agruparon con un índice de similitud de 0.24 a 0.60 en el dendrograma UPGMA (Figura 1). Las recolectas de *S. pruinosa* se separaron en dos subgrupos: el primero, pertenece a las muestras de Oaxaca y el segundo a las muestras de Puebla. Además, en el caso de *S. stellatus* pocas bandas amplificaron de las ocho combinaciones de AFLP usadas. Esto originó un índice de similitud de 0.01 respecto a las recolectas de *S. pruinosa*, aunque son especies de relación estrecha. El híbrido San Gabriel mostró un índice de similitud de 0.11 respecto del grupo de las pitayas (Figura 1).

Los valores de similitud muestran que todas las recolectas estudiadas son genéticamente diferentes, incluyendo las de la misma variedad, como la pitaya Roja y Jarro. Esto sugiere que todos los huertos clonales analizados (independiente de la variedad) tienen orígenes diversos. Este resultado coincide con el de Parra *et al.* (2010), quienes observaron que existe variabilidad genética alta en las poblaciones de *S. pruinosa*, en particular en las manejadas por selección artificial (Casas y Parra, 2007; Parra *et al.*, 2008 y 2012). Sin embargo, nuestro resultado se opone a otros reportados en especies del mismo género, como *S. stellatus* (Casas *et al.*, 2006), *S. gummosus*, *S. eruca* y *S. thurberi* (Hamrick *et al.*, 2002; Clark-Tapia y Molina-Freaner, 2003; Clark-Tapia *et al.*, 2005a; Lozano *et al.*, 2015).

Los huertos en Puebla y Oaxaca, donde se recolectaron los individuos, presentaron diferentes factores bióticos y abióticos, lo cual sugiere que la variabilidad genética resulta de la adaptación a las diferencias ambientales en los sitios de recolección (Morales-Nieto *et al.*, 2006) y al manejo vegetativo de los productores, para determinar el origen de los brotes, lo cual contribuye a mantener o aumentar la diversidad en los huertos (Casas *et al.*, 1999; Casas y Parra, 2007; Parra *et al.*, 2012). En contraste, Clark-Tapia *et al.* (2005a; 2005b) indicaron que no hay variación dentro de las poblaciones en la especie estrechamente relacionada *Stenocereus eruca*.

Los valores grandes de la distancia genética obtenidos entre las recolectas de pitaya de los huertos clonales es probable que se deban al manejo tradicional realizado a través del tiempo y a las características ambientales de los alrededores. Por último, las combinaciones exitosas de los iniciadores usadas en este estudio, y la técnica AFLP por sí, podrían ayudar a realizar estudios de diversidad genética en *S. pruinosa* y especies estrecha con relación.



**Figure 1.** A UPGMA dendrogram representing the relationships between 12 *S. pruinosus* accessions, *S. stellatus* and the San Gabriel hybrid. The genetic similarity among individuals is defined by the horizontal branches' length. The numbers at the bifurcation points indicate the similarity between accessions, based on Nei-Li similarity coefficient calculated from AFLP profiles derived from eight primer combinations.

**Figura 1.** Dendrograma UPGMA que representa las relaciones entre las 12 recolectas de *S. pruinosus*, *S. stellatus* y el híbrido San Gabriel. La similitud genética entre individuos está definida por la longitud horizontal de las ramas. Los números en los puntos de bifurcación indican la similitud entre las recolectas, basados en el coeficiente de similitud de Nei-Li, calculado de los perfiles de AFLP derivados de ocho combinaciones de iniciadores.

factors, which suggests that genetic variability is a result of both adaptation to environmental differences in the collecting sites (Morales-Nieto *et al.*, 2006), and the vegetative handling by growers to determine the origin of the sprouts, which contributes to maintain or to increase the diversity in orchards (Casas *et al.*, 1999; Casas y Parra, 2007; Parra *et al.*, 2012). Nevertheless, Clark-Tapia *et al.*, (2005a; 2005b) report that no intra-population variation is present in the closely related species *Stenocereus eruca*.

The large genetic distance value found between different pitaya accessions from the clonal orchards is probably due to the traditional handling performed through time and to the surrounding environmental characteristics. Finally, the successful primers combinations used in our study, and the AFLP technique itself, might help to perform studies of genetic diversity on *S. pruinosus* and closely related species.

## CONCLUSIONES

Una gran diversidad genética se encontró entre cultivares de *S. pruinosus*. Al contrario de lo esperado, las recolectas de *S. pruinosus* de la misma variedad mostraron gran distancia genética, a pesar de su propagación vegetativa. Ellas se agruparon de acuerdo a su región de procedencia, independiente de la variedad a la cual pertenecen.

—Fin de la versión en Español—

---\*---

## CONCLUSIONS

A large genetic diversity was found between *Stenocereus pruinosus* cultivars. Opposite to what



was expected, *S. pruinosus* accessions from the same variety showed large genetic distance, despite their vegetative propagation. They were grouped according to the region of provenance, regardless of the variety to which they belong.

#### ACKNOWLEDGMENTS

Authors want to thank Castro and Amador families for allowing us to work in their crop fields. This project was supported in part by a grant from SINAREFI to L. Yáñez. Authors thank the anonymous reviewer for his/her valuable comments.

#### LITERATURE CITED

- Bravo-Hollis, H. 1978. Las Cactáceas de México. Vol. I. 2a. ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 743 p.
- Carrillo-Ángeles, I. G., y M. del C. Mandujano. 2011. Patrones de distribución espacial en plantas clonales. Bol. Soc. Bot. México 89: 1-18.
- Casas, A., J. Caballero, A. Valiente-Banuet, J. A. Soriano, and P. Dávila. 1999. Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central Mexico. Am. J. Bot. 86: 522-533.
- Casas, A. J. Cruse, E. Morales, A. Otero-Arnaiz, and A. Valiente-Banuet. 2006. Maintenance of phenotypic and genotypic diversity of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) by indigenous peoples in Central Mexico. Biodivers. Conserv. 15: 879-898.
- Casas, A., y F. Parra. 2007. Agrobiodiversidad, parientes silvestres y cultura. LEISA Rev. Agroecología 23: 5-8.
- Clark-Tapia R. and F. Molina-Freaner. 2003. The genetic structure of a columnar cactus with a disjunct distribution: *Stenocereus gummosus* in the Sonoran desert. Heredity 90: 443-450.
- Clark-Tapia, R., C. Alfonso-Corrado, L. E. Eguiarte, and F. Molina-Freaner. 2005a. Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca* (Cactaceae), a narrow endemic cactus of the Sonoran Desert. Am. J. Bot. 92: 272-278.
- Clark-Tapia, R., M. C. Mandujano, T. Valverde, A. Mendoza, and F. Molina-Freaner. 2005b. How important is clonal recruitment for population maintenance in rare plant species? The case of the narrow endemic cactus, *Stenocereus eruca*, in Baja California, Mexico. Biological Conservation 124: 123-132.
- Faria-Tavares, J. S., P. Garcia M., C. A. Mangolin, S. A. de Oliveira-Collet, and M. F. P. S. Machado. 2013. Genetic relationships among accessions of mandacaru (*Cereus* spp.: Cactaceae) using amplified fragment length polymorphism (AFLP). Biochem. Syst. Ecol. 48: 12-19.
- Hampel, V., A. Pavlíček, and J. Flegr. 2001. Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program Free Tree: application to trichomonad parasites. Int. J. Syst. Evol. Micr. 5: 731-735.
- Hamrick, J. L., J. D. Nason, T. H. Fleming and J. M. Nassar. 2002. Genetic diversity in columnar cacti. In: Fleming, T. H. and A. Valiente-Banuet (eds). Columnar Cacti and their Mutualists. Evolution, Ecology and Conservation, The University of Arizona Press, Tucson, AZ, USA. pp: 122-133.
- Lozano G., O. A., J. L. León L., S. Favela L., and F. J. García L. 2015. New interpretations about clonal architecture for the sour pitaya (*Stenocereus gummosus*, Cactaceae), arising from microsatellite markers of *de novo* isolation and characterization. Open J. Gen. 5: 1-11.
- Luna-Morales, C. C. 2004. Recolección, cultivo y domesticación de cactáceas columnares en la Mixteca Baja, México. Rev. Chapingo, Ser. Hort. 10: 95-102.
- Luna-Morales, C. 2007. Ordenación y clasificación morfológica del fruto de cultivares mixtecos de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) en México. Agrociencia XI: 10-16.
- Luna-Morales, C. C. y J. R. Aguirre R. 2001. Variación morfológica del fruto y domesticación de *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb. y *S. stellatus* (Pfeiff.) Riccob. (Cactaceae) en la Mixteca Baja, México. Rev. Fitotec. Mex. 24: 213-221.
- Morales-Nieto, C., A. Quero-Carrillo, O. Le-Blanc, A. Hernández-Garay, J. Pérez-Pérez, y S. González-Muñoz. 2006. Caracterización de la diversidad del pasto nativo *Bouteloua curtipendula* Michx. Torr. mediante marcadores de AFLP. Agrociencia 40: 711-720.
- Nei, M., and W.-H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 5269-5273.
- Nilsen, L. B., S. S. Dhillon, S. L. Camargo-Ricalde, B. Rendón-Aguilar, and M. Heum. 2005. Traditional knowledge and genetic diversity of *Opuntia pilifera* (Cactaceae) in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. Econ. Bot. 59: 366-376.
- Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers. Comput. Appl. Biosci. 12: 357-358.
- Parra, F., N. Pérez-Nasser, R. Lira, D. Pérez-Salicip, and A. Casas. 2008. Population genetics and process of domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in the Tehuacan Valley, México. J. Arid Envir. 72: 1997-2010.
- Parra, F., A. Casas, J. M. Peñaloza-Ramírez, A. C. Cortés-Palomec, V. Rocha-Ramírez, and A. González-Rodríguez. 2010. Evolution under domestication: ongoing artificial selection and divergence of wild and managed *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) populations in the Tehuacán Valley, Mexico. Ann. Bot. 106: 483-496.
- Parra, F., J. J. Blancas, and A. Casas. 2012. Landscape management and domestication of *Stenocereus pruinosus* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley: human guided selection and gene flow. J. Ethnobiol. Ethnomedicine 8: 32.
- Pavlíček, A., Š. Hrdá, and J. Flegr. 1999. Free Tree - Freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of the genus *Frenkelia*. Folia Biologica (Praha) 45: 97-99.
- Ponciano-Samayoa, K. M., y J. P. Lacan-de León. 2012. Diversidad genética de maracuyá en Guatemala revelada por marcadores AFLP. Agron. Mesoam. 23: 73-80.
- Rosales-Bustamante, E. P., C. C. Luna-Morales, y A. Cruz-León. 2009. Clasificación y selección tradicional de pitaya (*Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb.) en Tianguistengo, Oaxaca y variación morfológica de cultivares. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 15: 75-82.

- Rozenfeld, A. E., S. Arnaud-Haond, E. Hernández-García, V. M. Eguiluz, M. A. Matías, E. Serrão, and C. M. Duarte. 2007. Spectrum of genetic diversity and networks of clonal organisms. *J. Roy. Soc. Interface* 4: 1093-1102.
- Smith, C. E. Jr. 1967. Plant remains. *In*: Byers, D. S. (ed). *The Prehistory of the Tehuacan Valley*. Vol. 1. Environment and Subsistence. University of Texas Press, Austin, Tx. pp: 220-225.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407-4414.