



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

**DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE CLONES DE
Ferocactus robustus: CONSECUENCIAS
SOBRE LA REPRODUCCIÓN SEXUAL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

P R E S E N T A

ISRAEL GUSTAVO CARRILLO ANGELES

DIRECTOR DE TESIS: DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ

MÉXICO D.F.

MARZO 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para realizar mi proyecto de tesis de maestría.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT/DGAPA UNAM) por el financiamiento para la realización del proyecto (PAPIIT IN231203 a cargo de la Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez) y por la beca otorgada para concluir mi tesis de maestría.

A la Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez por dirigir este trabajo y por todo el apoyo brindado para el trabajo de campo y laboratorio.

A las Dras. Ana Elena Mendoza Ochoa y Teresa Valverde Valdéz (miembros de mi comité tutorial), a los Dres. Carlos Martorell Delgado, Daniel Ignacio Piñero Dalmau y Francisco Molina Freaner (miembros del jurado), y al Dr. Arturo Flores Martínez por la revisión y las valiosas observaciones hechas al trabajo.

Al Dr. Daniel I. Piñero Dalmau, a María del Rocío Esteban Jiménez (Técnica Académica Asociada "C") y a Oscar Rodríguez Ávila por su asesoría y apoyo en el manejo de las técnicas moleculares.

A mis padres, Georgina Angeles Vera y Daniel Carrillo Hernández, y a mis hermanos Diana, Pablo y Chava por apoyarme de múltiples maneras durante la realización de mi trabajo.

A Erick García Morales, a Gisela Morales Aguilar y a Gabriel Sandoval Beltrán por su apoyo en el trabajo de Campo. A Erick García Morales también por su apoyo en el trabajo de laboratorio.

A todos los compañeros y amigos del Laboratorio de Dinámica Poblacional y Evolución de Historias de Vida, quienes hicieron mi estancia en el laboratorio muy agradable: Marianita, Yup, Lauris, Gis, Lucy, Erick, Cesar, Nico, las Ales y a todos los demás compañeros que se integraron recientemente al laboratorio (Karla, Pao, Viole, Coni, Bel, Habacuc, Hugo y Oscar).

INDICE

• RESUMEN-----	1
• 1 INTRODUCCIÓN-----	2
• 2 OBJETIVOS-----	8
• 3 MATERIALES Y MÉTODOS -----	9
○ 3.1 Especie de estudio -----	9
○ 3.2 Sitio de estudio-----	11
○ 3.3 Plano de distribución espacial-----	12
○ 3.4 Análisis de la distribución espacial en la población-----	13
○ 3.5 Desarrollo de botones florales y remoción de frutos-----	15
○ 3.6 Niveles de reproducción sexual en la población-----	16
○ 3.7 Identidad genética de los individuos-----	16
▪ 3.7.1 Colecta de tejido-----	16
▪ 3.7.2 Extracción y amplificación de ADN-----	16
▪ 3.7.3 Elaboración de matrices de datos moleculares y determinación de genotipos-----	18
○ 3.8 Análisis de la diversidad clonal -----	18
○ 3.9 Distribución espacial clonal – éxito reproductivo-----	21
○ 3.10 Influencia de la distribución espacial clonal en el patrón de distribución espacial de la población-----	22
4 RESULTADOS-----	24
○ 4.1 Patrón de distribución espacial en la población-----	24
○ 4.2 Desarrollo de botones florales y remoción de frutos-----	24
○ 4.3 Niveles de reproducción sexual en la población-----	28
○ 4.4 Diversidad clonal-----	29
○ 4.5 Distribución espacial clonal-éxito reproductivo -----	33
○ 4.6 Influencia de la distribución espacial clonal en el patrón de distribución espacial en la población-----	34
• 5 DISCUSIÓN -----	36

○ 5.1 Patrón de distribución espacial en la población-----	36
○ 5.2 Niveles de reproducción sexual en la población-----	40
○ 5.3 Estructura poblacional -----	41
○ 5.4 Diversidad clonal-----	43
○ 5.5 Efecto de la distribución espacial clonal sobre el éxito reproductivo-----	44
○ 5.6 Consideraciones finales e importancia para la conservación-----	48
● 6 LITERATURA CITADA -----	51
● 7 ANEXOS-----	61
○ Anexo 1 Resultados del ANOVA para establecer categorías de tamaño-----	61
○ Anexo 2 Peso molecular de las bandas empleadas en el análisis-----	62
○ Anexo 3 Selección de variables para el análisis de regresión múltiple-----	63
○ Anexo 4 Interacción entre variables-----	67
○ Anexo 5 Estimación de la edad de <i>Ferocactus robustus</i> -----	70

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

- Figura 1. Ubicación de poblaciones de *Ferocactus robustus* -----7
- Figura 2. Individuos, flor y fruto de *Ferocactus robustus* -----10
- Figura 3. Propagación vegetativa y muerte tisular en *Ferocactus robustus* -----10
- Figura 4. Plano de localización de la zona de estudio-----12
- Figura 5. Relación entre el número de tallos y el diámetro de las plantas-----13
- Figura 6. Plano de distribución espacial de la población de *F. robustus*-----20
- Figura 7. Proporción de botones florales abortados y desarrollados hasta fruto en *Ferocactus robustus* -----25
- Figura 8. Porcentaje de frutos de *Ferocactus robustus* removidos-----25
- Cuadro 1 Valores mensuales de número de botones florales, producción y remoción de frutos ----
-----26
- Figura 9. Porcentaje de individuos reproductivos y no reproductivos en la población.-----27
- Figura 10. Producción mensual de botones y flores -----27
- Figura 11. Porcentaje de individuos reproductivos de *Ferocactus robustus* en cada clase de tamaño. -----28
- Figura 12. Estructura por tamaños en la población-----29
- Figura 13. Relación de la producción de botones florales y frutos con el tamaño de los individuos-
-----29
- Figura 14. Distribución de frecuencias de valores de la proporción de genotipos distinguibles (G/N) -----30
- Figura 15. Área de dispersión de polen con plantas vecinas del mismo genotipo que el de la planta focal -----31
- Figura 16. Área de dispersión de polen con plantas vecinas de distinto genotipo que el de la planta focal -----32
- Cuadro 2 Resultados de análisis de regresión múltiple-----33
- Figura 17. Relación entre la proporción de botones que se desarrollan a frutos en individuos focales y las variables PFGIF y BV/BF.-----33

- Figura 18. Proporción de individuos que comparten genotipo con algún otro individuo en cada categoría de tamaño.-----34
- Cuadro 3. Número de plantas con genotipos idénticos en tres categorías de distancia medida a partir de las plantas focales. -----35
- Cuadro 4. Comportamiento de las variables AseoPBF, BV/BF y PFGIF.-----46

ABSTRACT

Clonal propagation could favour a clumped spatial distribution of individuals when propagules are detached and establish close to the parent plant. Clonal propagation can therefore influence the size and spatial distribution of genotypes and may interfere with patterns of pollen dispersal, thus affect the mating opportunities of individual plants. In self-incompatible species geitonogamy may have a cost in terms of a reduction in fruit and seed set which can lead to the production of few offspring if their reproductive neighbours are ramets from a single genet. I studied a population of *Ferocactus robustus* to analyze if the pattern of spatial distribution of neighbours affected individual reproductive success when they share the same genotype. I hypothesized that individual reproductive success should decrease with an increase in the number of flowers of neighbours that share the same genotype which are located in the area of pollen dispersal. To this end I analyzed i) the spatial distribution pattern in the population and the contribution of clonal spread, ii) fruit development as a function of the number of flowers on neighbours and iii) identification of genotypes. In addition, I studied the sexual reproduction of the population and the relative importance of sexual reproduction was assessed through individual reproductive rate within the population, population size structure and clonal diversity. Genotypes of individuals were determined using RAPD's molecular markers. Results showed that individuals are clumped mainly due to clonal spread. The analysis of fruit development showed that individual reproductive success is affected by i) the number of flowers in reproductive neighbours with the same genotype, ii) the number of flowers in the focal individual and iii) isolation of focal individual with respect to other reproductive individuals. With regard to the relative importance of clonal spread and sexual reproduction, the results suggest that the incorporation of new individuals to the population occurs mainly through clonal spread ($G/N = 0.43$), however genetic diversity was high ($D = 0.98$), probably due to the infrequent incorporation of new genotypes and to the genotype maintenance through clonal spread.

RESUMEN

La propagación clonal puede favorecer una distribución espacial agregada de los individuos cuando los propágulos son dispersados a cortas distancias de la planta madre. En un escenario como éste un individuo puede experimentar altos niveles de geitonogamia y originar pocos descendientes si los vecinos reproductivos comparten el mismo genotipo y la especie presenta limitaciones para formar frutos y semillas por autocruza. En este estudio trabajé con una población de *Ferocactus robustus* (Reserva de la Biosfera de Tehuacán-Cuicatlán) para analizar si el éxito reproductivo de los individuos, en términos de producción de frutos, es afectado por la distribución espacial de vecinos reproductivos con el mismo genotipo. La hipótesis es que el éxito reproductivo de un individuo focal disminuye en función del número de flores en vecinos genéticamente idénticos, localizados dentro de su área de dispersión de polen. Para esto, i) determiné el patrón de distribución espacial de los individuos en la población y evalué la contribución de la propagación clonal a la formación del patrón de distribución espacial, ii) analicé el desarrollo de botones florales a frutos en individuos focales en función del número de flores en los individuos localizados dentro de su área de dispersión de polen y de la identidad genética de los mismos. También estimé el nivel de reproducción sexual en la población, y se evaluó la importancia relativa de la propagación clonal y la reproducción sexual, para lo cual se cuantificó la proporción de individuos reproductivos en la población, se analizó la estructura poblacional y la diversidad clonal. La identidad genética de los individuos la determiné con el empleo de marcadores moleculares RAPD. Los resultados obtenidos indican que los individuos de la población de *F. robustus* se distribuyen de manera agregada, debido en gran parte a la propagación clonal. El análisis de la proporción de botones desarrollados a frutos indica que el éxito reproductivo individual es afectado por i) la presencia de flores en otros individuos reproductivos con el mismo genotipo dentro de su área de dispersión de polen, ii) el número de flores presentes en el individuo focal y iii) el aislamiento del individuo focal respecto a otros individuos reproductivos. Con relación a la importancia relativa de la reproducción sexual y propagación clonal, los resultados sugieren que existe una contribución de ambos procesos. La integración de nuevos individuos a la población se lleva a cabo principalmente por propagación clonal ($G/N = 0.43$), no obstante la diversidad genética en la población fue alta ($D = 0.98$), debido probablemente a la integración poco frecuente de nuevos genotipos y el mantenimiento de genotipos ya existentes por propagación clonal a lo largo del tiempo.

1 INTRODUCCIÓN

La distribución espacial de los individuos de una población se ha clasificado de acuerdo con tres patrones básicos: aleatorio, uniforme y agregado (Barbour, 1987). Muchas especies de plantas suelen presentar patrones de distribución agregados asociados a distintos factores. En algunas especies los individuos se encuentran agregados en sitios donde las características del suelo (Couteron y Kokou, 1997; Rietkerk et al., 2002) y la disponibilidad de luz permiten el establecimiento (Chen y Bradshaw, 1999; Arévalo y Fernández-Palacios, 2003). En otros casos, la agregación de individuos resulta de la creación de condiciones edáficas adecuadas para el establecimiento cuando una planta colonizadora se establece en sitios abiertos (Chen y Bradshaw, 1999; García-Fayos y Gasque, 2002; Schenk et al., 2003). La agregación de individuos también puede resultar del establecimiento y desarrollo de plántulas cerca de individuos adultos de la misma especie cuando existen bajos niveles de depredación de semillas y plántulas (Okuda, 1997) o los frutos son dispersados a distancias cortas de la planta madre (Gibson y Menges, 1994).

En algunas especies clonales la agregación de individuos puede resultar del crecimiento en forma de falange (Auge y Brandl, 1997; Arévalo y Fernández-Palacios, 2003), es decir con propágulos vegetativos distribuidos de manera agregada (*phalanx growth* sensu Lovett Doust, 1981). Aquí es importante aclarar que el término “individuo” puede aplicarse de manera distinta en especies clonales (puede referirse a un genet o un ramet) y no clonales (una sola planta), por lo que en este trabajo el término será empleado para referirse a plantas física y fisiológicamente independientes (sensu Jackson et al., 1985).

Los patrones de distribución agregados se han reportado en varios estudios sobre cactáceas, sin embargo el patrón de distribución espacial a escala poblacional no ha sido evaluado. Los análisis de distribución espacial en cactáceas se han llevado a cabo principalmente en plántulas y en la mayoría de los estudios se ha encontrado que presentan una distribución espacial agregada, la cual está relacionada con las condiciones ambientales generadas por algunos arbustos perennes bajo el dosel que permiten el establecimiento de otras especies (Shreve, 1917). En algunos casos la agregación de individuos debajo del dosel de un arbusto (planta nodriza) está relacionada con la protección contra el exceso de radiación (Valiente-Bannuet et al.,

1991a; Mandujano et al, 1998; Leirana-Alcocer y Parra-Tabla, 1999; Tewksbury y Lloyd, 2001; Mandujano et al., 2002) y el ataque por depredadores (Cody, 1993; Mandujano et al., 1998), retención de humedad en el suelo (Tewksbury y Lloyd, 2001) y acumulación de materia orgánica y nutrientes debajo del dosel formándose islas de fertilidad donde pueden establecerse otras especies (Valiente-Bannuet et al., 1991b; Reyes-Olivas et al., 2002). En otros estudios ha encontrado además que la arquitectura de la planta nodriza es importante al constituir una trampa para capturar semillas (Cody, 1993).

En algunas cactáceas clonales el establecimiento de individuos originados por el desprendimiento de cladodios, frutos inmaduros (plantlets; *Opuntia echios* Hicks y Mauchamp, 2000; *O. microdasys*, Palleiro et al., 2006) y fragmentos de tallos (*Lophocereus schottii*, Parker y Hamrick, 1992; *Stenocereus eruca*, Clark-Tapia et al., 2005a) en las cercanías de la planta madre pueden favorecer patrones de distribución espacial agregados.

La distribución agregada de individuos como resultado de la dispersión de propágulos vegetativos a distancias cortas puede afectar los niveles de autocruza y entrecruza (*mating systems* sensu Neal y Anderson, 2005) en especies clonales facultativas (i. e. mantienen la capacidad de reproducirse sexualmente), debido a la cercanía entre individuos genéticamente idénticos (ramets). En consecuencia las cruza entre flores con el mismo genotipo (geitonogamia) pueden ser más frecuentes que las cruza entre flores genéticamente distintas (entrecruza).

Se ha propuesto que la estructura espacial de los genets (conjunto de individuos genéticamente idénticos o ramets) sufre modificaciones a través del tiempo como resultado de la supervivencia diferencial y cambios en la distribución espacial de los ramets (Angevine y Handel, 1986) modificando el flujo del polen, afectando la producción de semillas y probablemente el reclutamiento de nuevos individuos (Handel, 1985; Ericksson, 1993). Algunos trabajos muestran que la propagación clonal genera en las poblaciones una estructura caracterizada por la cercanía de individuos genéticamente emparentados y que el éxito reproductivo es afectado por la ocurrencia de cruza geitonogámicas cuando existe depresión endogámica (Eckert, 2000; Dorken & Eckert, 2001; Nuortila et al., 2002) o autoincompatibilidad (Charpentier et al., 2000; Wolf et al., 2000; Clarck-Tapia, 2004).

La formación de patrones agregados por propagación clonal ha recibido poca atención debido probablemente a la dificultad para identificar los ramets de un mismo

genet una vez que adquieren independencia física y fisiológica, es decir cuando se pierden las estructuras de conexión tales como estolones y rizomas, o cuando un fragmento de alguna estructura vegetativa se desprende y enraíza sin tener conexión alguna con la planta de origen (Mandujano, aceptado).

Los estudios que analizan la interacción entre la propagación clonal y la reproducción sexual han seguido tres enfoques principales. El primero está relacionado con el principio de asignación de recursos y analiza las consecuencias de la inversión de recursos en el crecimiento clonal sobre la reproducción sexual y viceversa (Harper, 1983; Willson, 1983; Eriksson, 1997; Olejniczak, 2003). El segundo analiza demográficamente las contribuciones relativas (en la producción de progenie) de ambas formas de reproducción (clonal y sexual) al crecimiento de las poblaciones (e. g., Parker & Hamrick, 1992; Mandujano et al., 1998; Ueno et al., 2000; Warburton et al., 2000; Dorken & Eckert, 2001; Shimizu et al. 2002; Liston et al., 2003; Kanno & Seiwa 2004). El tercero analiza el efecto de la distribución espacial de ramets en el éxito reproductivo individual (Handel, 1985; Trame et al. 1995; Mahy y Jacqkemat, 1999; Nuortila et al., 2002; Clarck-Tapia, 2004).

La mayoría de estudios donde se evalúan los efectos de la distribución espacial clonal sobre los niveles de autocruza-entrecruza (*mating systems* sensu Neal y Anderson, 2005) y el éxito reproductivo individual se han hecho con especies perennes de climas templados (*Decodon verticillatus*; Eckert, 2000; Dorken y Eckert, 2001) y especies herbáceas (e. g., *Carex platiphilla*, *Trifolium repens* y *Cucumis sativus*, Handel, 1985; *Scirpus maritimus*, Charpentier et al., 2000; *Calystegia collina*, Wolf, 2000). En especies de vida larga de zonas áridas (e. g., Cactáceas) este aspecto ha sido poco estudiado, a pesar de que la formación de nuevos individuos a través de propagación clonal es un fenómeno frecuente en estos ambientes (Mandujano et al., 1996; Schenk, 1999; Clark-Tapia, 2005b; Reyes-Agüero et al. 2006).

En este trabajo analizamos los efectos de la distribución espacial clonal sobre el éxito reproductivo (evaluado mediante la producción de frutos) a nivel individual. La hipótesis es que el éxito reproductivo de un individuo focal es afectado por la presencia de ramets reproductivos con el mismo genotipo, dentro de su área de dispersión de polen. Así, se espera que el éxito reproductivo de una planta focal disminuya conforme la proporción de vecinos donadores de polen con igual genotipo a la planta focal se incrementa. Para esto, empleamos como sistema de estudio una población de la

cactácea clonal facultativa *Ferocactus robustus*, donde la producción de descendencia por propagación clonal es al parecer el proceso más común por el que se integran nuevos individuos a la población.

En el área ocupada por la población la distribución espacial de los individuos no es regular, ya que éstos se encuentran formando conjuntos de individuos cercanos entre sí. Esta distribución puede ser en gran parte el resultado de la propagación vegetativa de la planta (obs. pers.), la cual se lleva a cabo por la separación de fragmentos conformados por unas cuantos tallos, así como de un proceso de muerte tisular que fracciona a los individuos (ver descripción de la especie), por lo que es probable que los conjuntos estén conformados principalmente por individuos originados a partir de un mismo individuo (ramets). En este contexto, las cruza geitonogámicas entre flores del mismo individuo (intra-ramet) o entre flores de individuos genéticamente idénticos (inter-ramet), aumenta las probabilidades de experimentar depresión endogámica o la expresión de sistemas de autoincompatibilidad. La geitonogamia puede influir en la inversión de recursos hacia la reproducción sexual (e. g., si existe depresión endogámica) y probablemente reducir la diversidad genética de la población (si la especie es autoincompatible).

Los resultados obtenidos por Piña (2000) y Trujillo (2002) en la misma población, sugieren que en *F. robustus* existe algún proceso que restringe la producción de semillas por autogamia y geitonogamia. De acuerdo con Piña (2000) la dispersión del polen es poco eficiente, ya que los granos de polen suelen ser transportados a distancias cortas (15 m). Piña (2000) reporta además una disminución en la cantidad de semillas por fruto, el número de frutos y el peso de los mismos, así como en el porcentaje de germinación cuando hay autocruza en contraste con los valores obtenidos para entrecruza. Por otro lado, el estudio de Trujillo (2002) muestra que el porcentaje de semillas que germinan está relacionado con la cantidad de flores presentes en la población, presentándose los porcentajes más altos cuando el número de flores en la población es mayor. Trujillo plantea que esta tendencia puede deberse a que en épocas de baja floración sólo algunas plantas presentan flores y a que los polinizadores (abejas: *Diadasia* sp., *Perdita azteca*, *Ashmediella* sp., Piña, 2000) tienden a moverse entre flores cercanas promoviendo la autocruza.

En *Ferocactus robustus*, como en otras especies de cactáceas clonales, estudios como el presente proporcionan información necesaria para su manejo y conservación,

ya que el conocimiento de la distribución espacial a diferentes niveles (e. g., en la población y entre individuos con genotipo idéntico) permite evaluar el impacto de actividades humanas en poblaciones naturales (e. g., eliminación de genotipos y efectos en los niveles de cruzas efectivas en especies con mecanismos que impiden la autogamia) de una forma más precisa, particularmente en el caso de aquéllas que presentan una distribución restringida. La información que existe sobre el estado actual de las poblaciones de *F. robustus* (Carrillo-Angeles et al., 2005) sugiere que puede ser necesario implementar programas de conservación para esta especie, debido a que sus poblaciones (al menos algunas de las más importantes por el número de individuos que presentan) se encuentran afectadas por actividades humanas (e. g., apertura de brechas y caminos, cercanía a núcleos de población en crecimiento, etc.) y a que el flujo génico entre las poblaciones puede ser limitado, debido a un restringido movimiento de polen y a que las poblaciones de esta especie se encuentran muy aisladas unas de otras (figura 1). Las poblaciones más cercanas a la población en estudio se encuentran aproximadamente a 14 km al NW (poblado de Los Reyes Mezontla), 9 km al NW (poblado de Zapotitlán Salinas) y 3.7 km al SE (poblado de San Juan Raya).

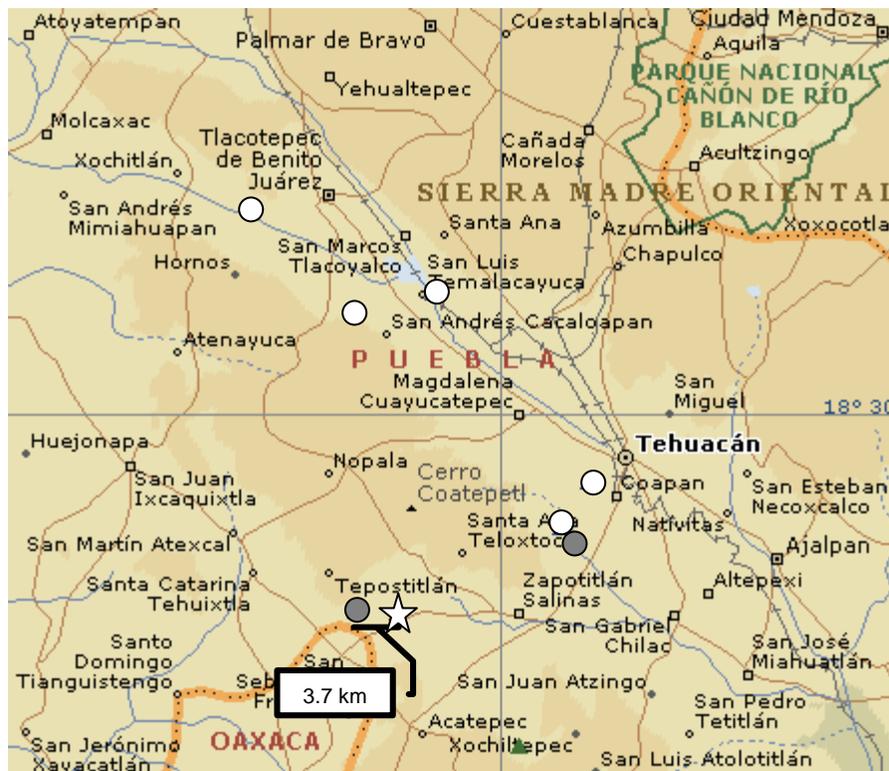


Figura 1. Ubicación de poblaciones de *Ferocactus robustus*. La estrella en blanco representa la población estudiada (Plan de Fierro, Puebla), los círculos claros representan poblaciones de las cuales existen registros en herbario y los círculos sombreados representan poblaciones cuya existencia fue corroborada. La población más cercana a la de Plan de Fierro (indicada con una estrella) es la de San Juan Raya ubicada a 3.7 km.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la distribución espacial clonal en una población de *Ferocactus robustus* sobre el éxito reproductivo individual.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el patrón de distribución espacial que presentan los individuos en la población.
- Determinar la proporción de individuos reproductivos y evaluar la producción de flores y frutos en función del tamaño de los individuos para estimar el nivel de reproducción sexual en la población.
- Determinar la identidad genética mediante el empleo de marcadores genéticos (RAPD's) para analizar si la distribución espacial esta relacionada con la fragmentación de tallos en la especie.
- Estimar la diversidad clonal en la población para analizar la contribución de la reproducción sexual y la propagación clonal a la producción de nuevos individuos.
- Determinar si la producción de frutos es afectada por el tamaño y número de flores de un individuo focal, así como por el número de flores en vecinos reproductivos con el mismo genotipo.

3 MATERIALES Y METODOS

3.1. Especie de estudio. *Ferocactus robustus* (Pfeiff.) Britton & Rose es una especie clonal cespitosa de vida larga que forma montículos constituidos por varios tallos ovoides de aproximadamente 10 cm de diámetro y con 8 ó 9 costillas (figura 2). Cada individuo está representado por un montículo (1.0 a 5.0 m de ancho, figura 2 a). Las flores son infundibuliformes, de color amarillo con una franja media de color rojo; el pericarpelo mide 1.1 cm de largo por 1.6 cm de ancho aproximadamente, los estambres son numerosos y su longitud varía entre 5 y 8 mm y el estilo presenta 10 lóbulos estigmáticos de color amarillo o rojo (figura 2 b). Presenta areolas circulares de color pardo grisáceo, 10 a 14 espinas radiales amarillo grisáceas y 4 a 6 espinas centrales (2.9 a 4.5 cm de largo) de color amarillo, rojo – púrpura o pardo amarillentas (figura 2 b, c). Los frutos son globosos (1.6 a 2.5 cm de largo y 1.3 a 2.0 cm de ancho), de color amarillo (figura 2c) y presentan una pulpa semijugosa casi blanca. Las semillas son reniformes (1.7 a 1.9 mm de longitud), de color negro y su testa es lisa (Arias et al., 1997). Esta especie presenta un sistema reproductivo xenógamo facultativo (Piña, 2000). La propagación vegetativa de la planta se lleva a cabo por la separación de fragmentos conformados por unos cuantos tallos (figura 3 a), que presentan raíces secundarias originándose de los restos de la raíz principal (Carrillo-Angeles et al., 2005) y suelen ser los de menor tamaño (< 50 tallos). Adicionalmente varias plantas de la población presentan un fenómeno de muerte tisular en el que una porción de la planta (generalmente los tallos de la parte central) se marchita y pulveriza, quedando en ocasiones varias porciones de la planta separadas por el espacio que deja el tejido muerto (figura 3 b). Con frecuencia se originan nuevos tallos en la base de los tallos aledaños a la zona de tejido muerto, aunque también se originan en los tallos centrales. *Ferocactus robustus* es una especie endémica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en los estados de Puebla y Oaxaca, México (Bravo-Hollis y Sánchez Mejorada, 1991).

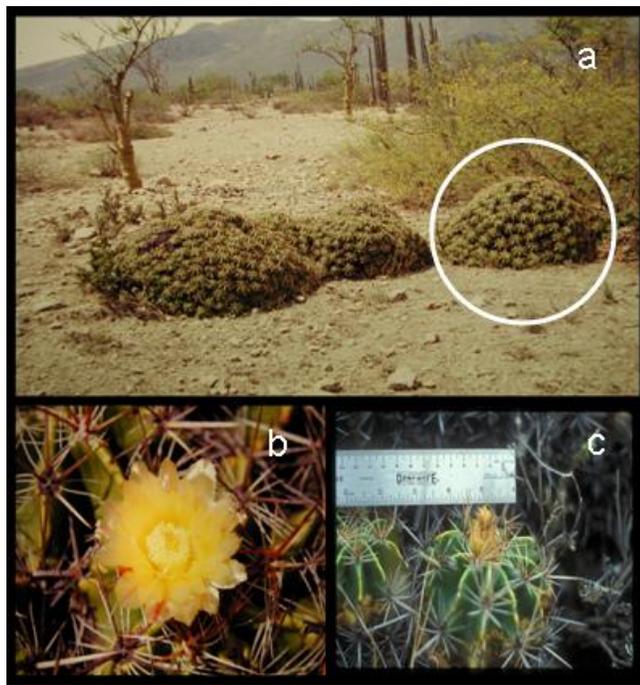


Figura 2. a) Individuos, b) flor y c) fruto de *Ferocactus robustus*. En el círculo se muestra un sólo individuo.

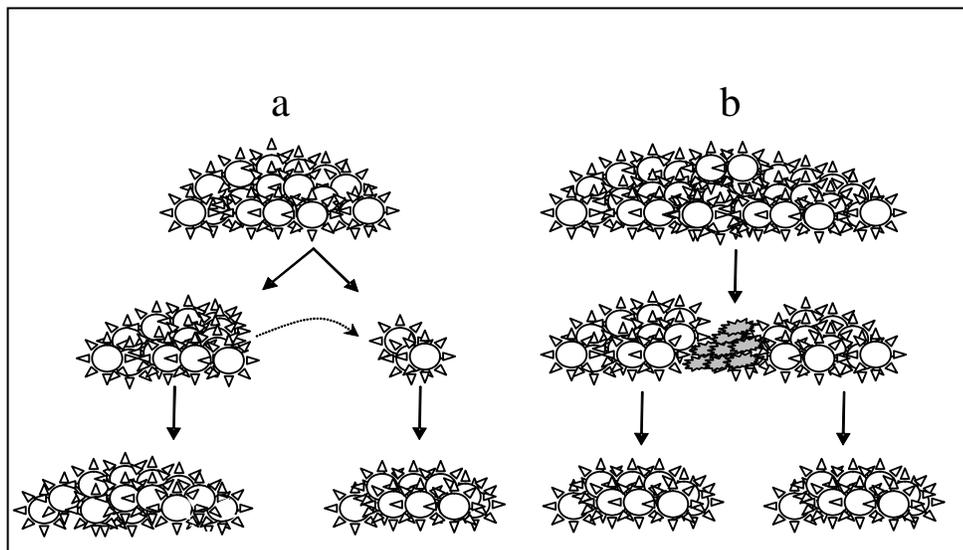


Figura 3. a) Propagación vegetativa por fragmentación y b) muerte tisular en plantas de *F. robustus*

3.2. Sitio de estudio. La zona de estudio se localiza en el valle de Zapotitlán Salinas, en las coordenadas 18° 20' N y 97° 35' W dentro del área de la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán que corresponde al Estado de Puebla, México (figura 4). El valle de Zapotitlán colinda al oriente con las Sierras de Atzingo y Mihuatepec, las cuales forman parte de la Sierra Madre Oriental; al norte colinda con los cerros Chacateca y Pajarito, al poniente con el cerro La Mesa y al sur con el cerro Corral de Piedra (Díaz, 1991). La población de *Ferocactus robustus* estudiada se localiza en los alrededores del poblado Plan de Fierro, ubicado a unos 10 km al suroeste de Zapotitlán Salinas, por el camino que conduce a Santa Ana Teloxtoc, en el entronque a San Juan Raya (figura 4).

El clima de la zona es semiárido, con lluvias en verano y sequía intraestival. La precipitación media y temperatura media anuales son 380 mm y 22°C respectivamente (García, 1981). Los suelos del valle son someros y pedregosos, a veces halomórficos, constituidos principalmente por litosoles calcáreos derivados de rocas metamórficas y sedimentarias (Meyrán, 1973).

El tipo de vegetación predominante en la zona corresponde al matorral xerófilo según Rzedowsky (1994). Algunas de las especies que se presentan son: *Echinocactus platyacanthus*, *Mammillaria carnea*, *Cephalocereus columna-trajani*, *Ferocactus latispinus*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Prosopis laevigata*, *Beaucarnea gracilis*, *Cercidium praecox*, entre otras.

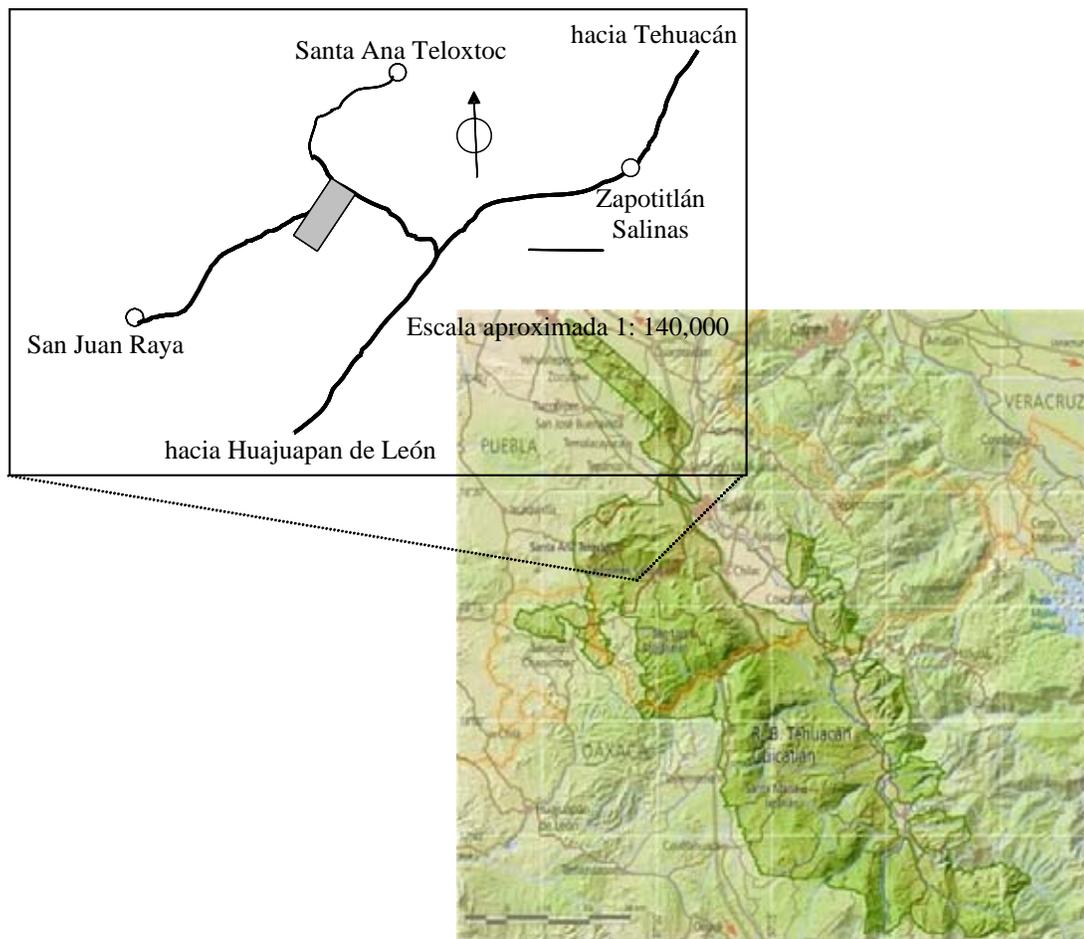


Figura 4. Plano de localización de la zona de estudio. El rectángulo proyectado indica el área donde se ubica la población de *Ferocactus robustus*. En el mapa el polígono verde oscuro indica el área correspondiente a la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán.

3.3 Plano de distribución espacial. Para construir el plano de distribución espacial de los individuos (plantas individuales sin conexión aparente) se hizo un recorrido en la zona de estudio y se establecieron los límites del área ocupada por la población. Posteriormente se eligió un punto de referencia en el borde del camino que conduce al poblado de Santa Ana Teloxtoc. A partir de este punto se midió la distancia y se registró la dirección con una brújula al individuo más cercano y de éste a su vecino más cercano, siguiendo este procedimiento hasta incluir todos los individuos de la población. Los individuos fueron numerados y marcados con una etiqueta metálica y con estos datos se ubicó a cada uno sobre un plano a escala 1:1000. Este plano fue concluido en mayo del 2003.

Se midieron los diámetros mayor y menor de una muestra de 110 plantas (ramets) elegidas aleatoriamente del total de la población (423 plantas) y se registró el número de tallos en cada planta, con estos datos se llevó a cabo un análisis de correlación entre el diámetro promedio $([\text{diámetro mayor} + \text{diámetro menor}]/2)$ y el número de tallos. La función resultante de este análisis (figura 5) se empleó para calcular el diámetro promedio de las plantas (ramets) restantes de la población a partir de su número de tallos. Para visualizar la distribución espacial de ramets de diferente tamaño se obtuvieron las coordenadas para todas las plantas (ramets) del plano escala 1:1000, y se reconstruyó el plano de distribución espacial incluyendo los valores del diámetro promedio para cada individuo, empleando el programa Treedraw ver 1.2 de Forest Graphics (Leersnijder R. P. 1993).

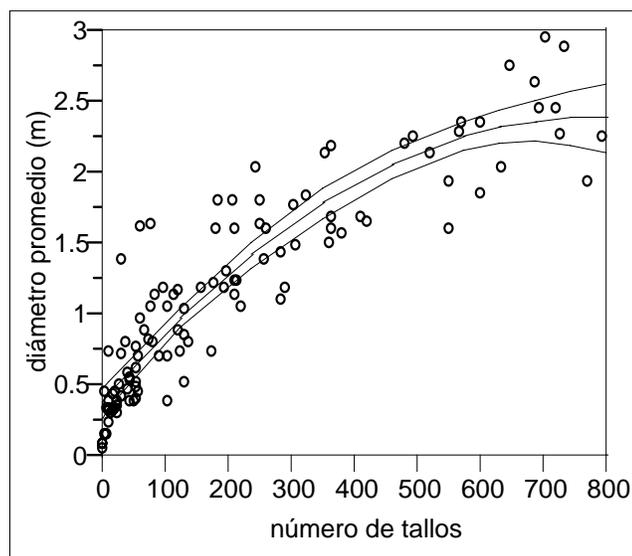


Figura 5. Relación entre el número de tallos y el diámetro promedio de plantas de *Ferocactus robustus* ($Y=0.3717+00052X-3.36^{-6} X^2$; $r^2=0.84$, $F=278.8$, $P<.0001$).

3.4 Análisis de la distribución espacial en la población. En la determinación del patrón de distribución espacial de los individuos (ramets), se emplearon dos métodos de análisis numérico. El primero, método de Clark y Evans (Krebs, 1999) permite determinar el patrón de distribución espacial a partir de planos de área conocida y es un método dependiente del tamaño del área de muestreo, este método emplea medidas de distancia entre un individuo y su vecino más cercano. El segundo método, prueba de Hopkins (Krebs, 1999), no requiere el empleo de áreas de muestreo conocidas y el

patrón de distribución espacial se determina a partir de datos de distancia entre un punto aleatorio y la planta más cercana a este punto. Ambos métodos miden que tanto se desvía el patrón de distribución espacial observado de un patrón aleatorio esperado.

Para determinar el patrón de distribución espacial con el método de Clark y Evans (Krebs, 1999), se midió la distancia entre cada individuo de la población (423 plantas) y su vecino más cercano a partir del plano distribución espacial (ver sección 3.3). Con esta información se calculó un índice de agregación (R) para poder establecer el patrón de distribución:

$$R=r_A/r_E$$

Donde r_A es la distancia media al vecino más cercano, y r_E es la distancia esperada al vecino más cercano:

$$r_E = 1 / 2\sqrt{\rho}$$

Donde ρ es la densidad en el área de estudio. Este índice adquiere un valor de $R = 1$ si el patrón espacial es aleatorio, cuando es agregado R se aproxima a 0 y si es un patrón uniforme R se aproxima a un límite superior de 2.15. En este análisis se emplea una prueba de significancia para la desviación de la aleatoriedad, con base en el planteamiento de que el error estándar de la distancia esperada se conoce exactamente de la geometría del plano (Krebs, 1999). El valor que sirve como criterio de decisión se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$Z = r_A - r_E / S_r$$

Donde Z es la desviación estándar normal, r_A es la distancia media al vecino más cercano, r_E la distancia esperada al vecino más cercano y S_r el error estándar de la distancia esperada al vecino más cercano, calculado como $0.26136 / \sqrt{n\rho}$, donde n = número de individuos en el área de estudio y ρ la densidad de individuos en el área de estudio.

En el segundo método, prueba de Hopkins (Krebs, 1999), se trazaron los límites del área de distribución de la población sobre el plano de distribución espacial y se establecieron las coordenadas correspondientes a sesenta puntos aleatorios dentro de esta área para obtener las distancias de estos puntos al individuo más cercano y de éste al vecino más cercano. Estos datos se emplearon para calcular un índice de patrón de distribución:

$$I_H = h / 1+h$$

Donde h es el estadístico de la prueba de Hopkins para un patrón aleatorio, que se calcula como:

$$h = \Sigma (X_i^2) / \Sigma (r_i^2)$$

Donde X_i es la distancia de un punto aleatorio i al individuo más cercano, y r_i es la distancia entre el individuo más cercano a un punto aleatorio i y su vecino más cercano. Este índice se aproxima a 1 conforme la agregación se incrementa, si la uniformidad es máxima se aproxima a 0 y el índice correspondiente a un patrón aleatorio es $I_H = 0.5$. Para este análisis la prueba de significancia consiste en una prueba de F de dos colas, debido a que los valores del estadístico de Hopkins (h) tienen una distribución de tipo F con $2n$ grados de libertad cuando existe un patrón de distribución aleatorio. La justificación de la prueba de Hopkins es que si los organismos están agregados, las distancias de un punto a un organismo son grandes en comparación con las distancias entre individuos cercanos entre si. Lo contrario ocurre si el patrón espacial es uniforme.

3.5 Desarrollo de botones florales y remoción de frutos. Para evaluar el desarrollo de botones florales a frutos se registró la producción de flores y frutos en una muestra aleatoria de 120 individuos de la población a finales de junio del 2003. En cada uno de estos individuos se registró mensualmente la proporción de flores que se desarrollaron hasta fruto en el periodo que abarcó de julio del 2003 a febrero del 2004, para incluir los meses donde ocurren los picos de floración (julio-septiembre; Piña, 2000) y algunos meses donde hay escasez de flores.

A principio de cada mes se marcaron todas las flores y botones florales próximos a abrir (>0.8 cm de diámetro) de cada uno de los individuos y se registró su desarrollo a fin de mes para cuantificar la producción de frutos y al siguiente mes para cuantificar el número de frutos removidos. Los botones se marcaron en la parte basal con pintura de aceite de color distinto para cada mes. Adicionalmente se hizo un conteo de flores y botones florales de próxima apertura del resto de las plantas de la población (303 individuos).

3.6 Niveles de reproducción sexual en la población. Para estimar el nivel de reproducción sexual en la población clasificamos a todos los individuos de la población (423 individuos) en categorías de número de tallos, para lo cual se contaron los tallos de cada individuo. Los tallos se marcaron con un plumón indeleble para no ser recontados. Inicialmente se establecieron diecisiete clases de tamaño. En la primera clase se incluyeron individuos con 1 a 20 tallos, la segunda clase estuvo conformada por individuos de 21 a 50 tallos y el resto de las clases se establecieron en intervalos de 50 tallos (51-100, 101-150, etc.) para individuos que tuvieron entre 51 y 400 tallos, e intervalos de 100 tallos (401-500, 501-600, etc.) para individuos que tuvieron entre 401 y 1200 tallos. Posteriormente se realizaron comparaciones entre las clases de tamaño 3 a 17 en función de la producción total de botones florales y frutos producidos en cada clase con un ANOVA empleando el programa JMP V.3.2.1 (SAS Institute, Inc. 1989), previa transformación de los datos con la función raíz cuadrada. Con este análisis el número de clases se redujo a siete ($n = 300$, $F = 13.045$, $P < 0.0001$; ver anexo 1). Este análisis se llevó a cabo para establecer categorías de tamaño en función de la contribución promedio que hacen los individuos en un determinado intervalo de talla a los niveles de reproducción sexual en la población, considerando que los botones son estructuras potenciales para la entrecruza y que los frutos son el resultado de la reproducción sexual.

3.7 Identidad genética de los individuos.

3.7.1 Colecta de tejido. En mayo del 2003 se colectó una muestra de tejido (3 - 5 g) de un tallo en cada uno de los individuos de la población (423 en total) con el empleo de sacabocados de golpe. Las muestras fueron colocadas en tubos ependorf etiquetados con el número correspondiente al individuo del que se extrajo el tejido y se sumergieron en nitrógeno líquido para ser transportados al laboratorio donde se almacenaron a -20°C.

3.7.2 Extracción y amplificación de ADN. Para hacer el análisis molecular se hicieron extracciones de ADN (ácido desoxirribonucleico) a partir de muestras de tejido parenquimatoso de 272 individuos de la población. Para extraer el ADN se pesaron 100

mg de tejido de cada muestra y se pulverizaron en un mortero con el empleo de nitrógeno líquido. La extracción se llevó a cabo con el kit AQUAPURE GENOMIC TISSUE (BIO-RAD). La determinación de genotipos se llevó a cabo con el empleo de marcadores moleculares RAPD (random amplified polymorphic markers), debido a que se ha demostrado que son una herramienta muy eficiente en la identificación de clones (Ayres y Ryan, 1997; Shimizu et al., 2002; Torimaru et al., 2003). Las reacciones de amplificación de ADN se llevaron a cabo en un volumen total de 25.3 μ l por muestra y se empleó la concentración de reactivos reportada por De la Cruz et al. (1997). La mezcla de reacción consiste de 15.7 μ l de agua purificada (SIGMA), 0.2 μ M (2 μ l) de primer (Operon Technologies, QUIAGEN), 1.5 U (0.3 μ l) de DNA polimerasa Taq (Amplificasa, Biotecnologías Universitarias), 1X (2.6 μ l) de buffer pcr, 2.0 mM (1.7 μ l) de $MgCl_2$, 0.4 mM (1 μ l) de mezcla de dNTPs (MBI-Fermentas) y 2 μ l de solución de DNA (5-10 ng/ μ l) de *Ferocactus robustus*. Para realizar las reacciones de amplificación se empleó un termocicador PTC-100 (MJ Research, Inc.) programado con un periodo de 5 min a 94 °C seguido por 44 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 38 °C, 30 seg a 54 °C y 2 min a 72 °C y después del último ciclo un periodo de 13 min a 72°C. Los productos de la amplificación fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 1.4%, empleando buffer 0.5 X TBE, a 120 volts durante 3.5 horas. Los geles se tiñeron en bromuro de etidio y se visualizaron bajo luz ultravioleta para registrar la imagen con una cámara digital conectada a una computadora empleando el programa Lab Works (Media Cybernetics, UVP Inc. 1998).

Para seleccionar los primers empleados en el análisis molecular se probaron en total 19 primers de las series A, F y G de Operon Technologies, QUIAGEN (A-2, A-3, A-4, A-9, A-11, A-12, A-13, A-14, A-15, A-16, F-1, F-2, F-4, F-12, F-14 F-19, G-17, G-18 y G-19) en una muestra aleatoria de 50 individuos. Se detectaron tres primers útiles que proporcionaron 37 bandas polimórficas reproducibles en total (A-11 con 12 bandas, F-14 con 11 bandas y G18 con 14 bandas; anexo 2). La reproducibilidad de las bandas se determinó a partir de una muestra aleatoria de 70 individuos haciendo las reacciones de amplificación por duplicado. Adicionalmente, en cada sesión de amplificación de ADN se incluyó una reacción con todos los reactivos excepto ADN como control para detectar contaminación de ADN distinto al de *F. robustus*). Los 2 μ l de ADN se sustituyeron por 2 μ l agua purificada (SIGMA).

3.7.3 Elaboración de matrices de datos moleculares y determinación de genotipos. Para analizar los datos moleculares se construyeron matrices de presencia y ausencia de cada una de las 37 bandas asignando un valor de 1 para presencia y 0 para ausencia. El peso molecular de cada banda (ver anexo 2) se determinó con el empleo de un marcador de pesos moleculares (1kb Plus DNA Ladder, Invitrogen), colocando 8 μ l de éste en los carriles extremos de cada gel. Las imágenes de los gels se obtuvieron con una cámara digital y la asignación del peso molecular de las bandas correspondientes a cada planta se llevó a cabo empleando el programa Lab Works (Media Cybernetics, UVP Inc. 1998). Las matrices de presencia y ausencia se emplearon para determinar el número de genets con el programa GenoType/GenoDive (Meirmans, 2004).

3.8 Análisis de diversidad clonal. A partir de los datos moleculares (ver sección 3.7.3) se hizo una estimación de la diversidad clonal mediante el cálculo de los siguientes parámetros: 1) La proporción de genotipos distinguibles (sensu Ellstrand y Roose, 1987) calculada como:

$$G/N$$

donde G es el número de genotipos multilocus distintos y N es el número de individuos muestreados (ramets). El valor de G/N es de 1 cuando el número de genotipos es igual al número de individuos muestreados y se aproxima a cero cuando todos los individuos comparten el mismo genotipo. 2) El complemento del índice de Diversidad de Simpson (Ayres y Ryan, 1999) calculado como:

$$D = 1 - \sum \{ [r_i (r_i - 1)] / [R(R-1)] \}$$

Donde r_i es el número de ramets del genotipo i y R es el número de ramets muestreados. Este índice adquiere valores entre 0 y 1, siendo 1 el valor máximo de diversidad. 3) La equitatividad genotípica (Fager, 1972) calculada como:

$$E = (D_{obs} - D_{min}) / (D_{max} - D_{min})$$

Donde $D_{min} = \{(G-1)(2N-G)\} / \{(N)(N-1)\}$, y $D_{max} = \{(G-1)(N)\} / \{(G)(N-1)\}$. Aquí, G es el número de genotipos distintos y N es el tamaño de la muestra (ramets). Este índice adquiere valores entre 0 y 1, con 0 para poblaciones dominadas por un solo genotipo, y 1 para poblaciones en las que el número de genotipos es igual al número de individuos muestreados.

El análisis de la diversidad clonal se llevó a cabo en 32 áreas circulares independientes con radio de 15 metros (figura 6). El radio de estas áreas es igual a la distancia máxima de dispersión de polen a partir de un individuo focal reportada por Piña (2000).

En las 32 áreas independientes sólo se utilizó la proporción de genotipos distinguibles (G/M), debido a que este índice proporciona una idea más clara sobre el nivel de dominancia de un genotipo al interior del vecindario de una planta focal determinada (Mandujano, aceptado).

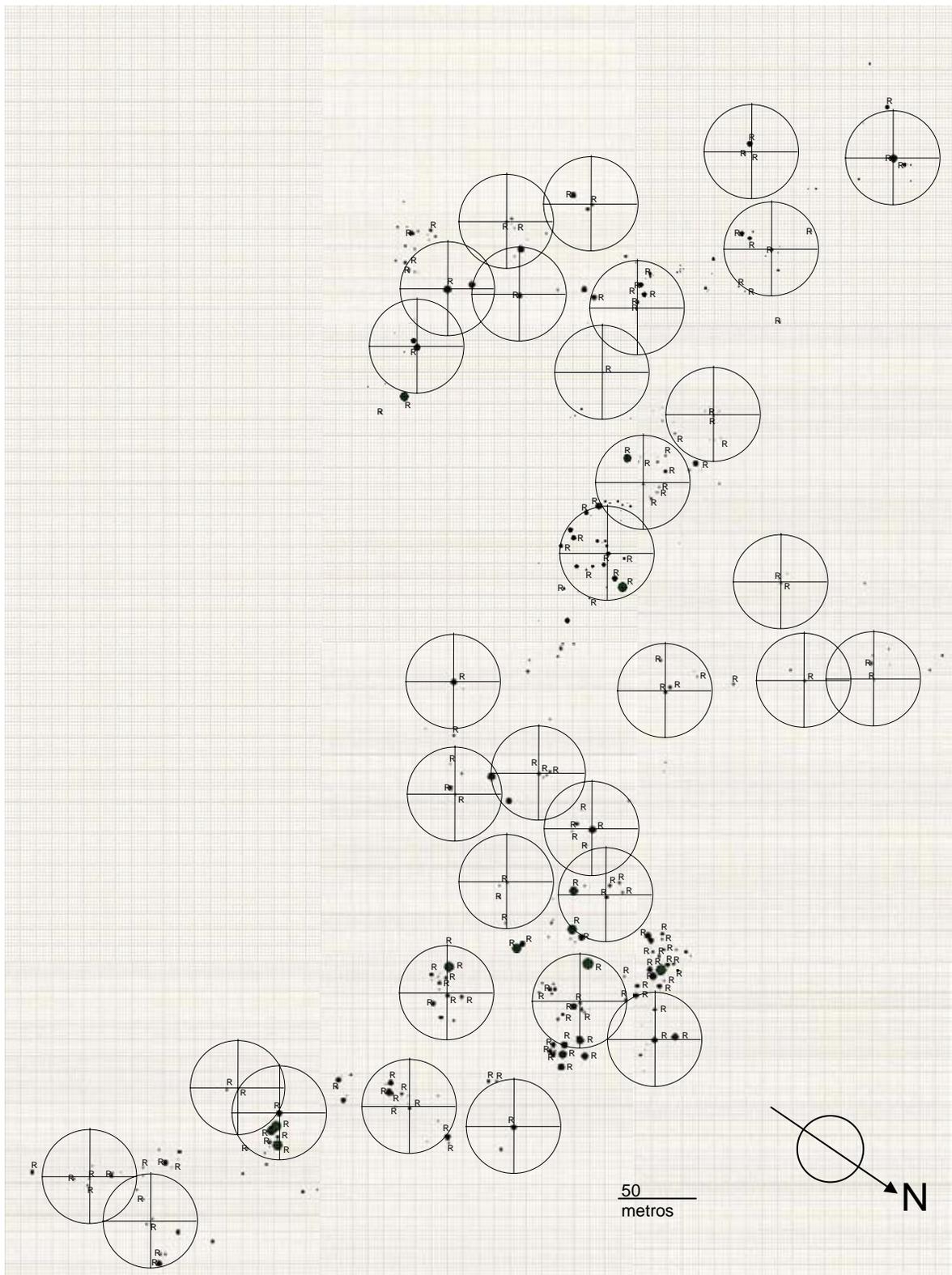


Figura 6. Plano de distribución espacial de la población de *F. robustus*. Los círculos representan las áreas de dispersión de 32 individuos focales (centro en cada área). Las áreas se consideraron como independientes debido a que no comparten individuos reproductivos (marcados con R). Los números con flechas señalan algunos individuos en las categorías 1 y 7.

3.9 Distribución espacial clonal-éxito reproductivo. Para analizar el éxito reproductivo de un individuo en función de la distribución espacial e identidad genética de sus vecinos se determinó el genotipo de los individuos localizados dentro de las 32 áreas independientes mencionadas en la sección anterior (272 individuos). Los individuos focales (ubicados en el centro de cada área, figura 6) forman parte de la muestra de 120 individuos en los que se evaluó el desarrollo de botones a frutos (ver sección 3.5). De cada individuo focal se obtuvo un número promedio (6 meses) de botones y frutos producidos, y se calculó la proporción de frutos formados. Para evaluar si el efecto de la cantidad de flores de individuos vecinos sobre la proporción de frutos que producen los individuos focales es una función de la probabilidad de que ocurran cruza geitonogámicas, se analizaron los datos de la proporción de frutos producidos por los individuos focales en función del número de flores presentes en sus vecinos reproductivos con el mismo genotipo.

Con los valores de la proporción de frutos de cada individuo focal (AsenoPBF) se hizo un análisis de regresión múltiple empleando como variables de predicción el cociente número de botones de los vecinos/botones del individuo focal (BV/BF) y la probabilidad de que una flor (posible donador de polen) dentro del área de dispersión de polen del individuo focal tenga el mismo genotipo que este (PFGIF). Esta probabilidad se estimó en cada área como el cociente número de flores con genotipo idéntico al individuo focal entre el número de flores totales localizadas dentro del área. Las dos variables de respuesta empleadas en el análisis fueron seleccionadas (ver procedimiento en anexo 3) de un conjunto de siete variables. Las variables que no se emplearon son: el tamaño (número de tallos) del individuo focal, número de vecinos reproductivos, número promedio de flores (flores abiertas y botones de próxima apertura) en la planta focal, número promedio de flores en los vecinos y la proporción de genotipos distinguibles (G/N , sensu Ellstrand y Roose, 1987) en el área de dispersión de polen de un individuo focal. El análisis se llevo a cabo con el programa JMP V.5.0.1 (SAS Institute, Inc. 2002). La proporción de frutos (p) se transformó con la función arcoseno \sqrt{p} para cumplir con los supuestos de normalidad.

3.10 Influencia de la distribución espacial clonal en el patrón de distribución espacial de la población. Para evaluar la influencia de la propagación clonal en el patrón de distribución espacial en la población, se analizó la distribución espacial de individuos de tamaño pequeño (considerados como individuos producidos por fragmentación vegetativa y por muerte tisular) respecto a individuos grandes. El criterio para considerar un individuo como pequeño se determinó a partir del número de tallos de 9 individuos originados por fragmentación y de 5 originados por muerte tisular, los cuales pudieron ser observados desde que se separaron de la planta de origen en el periodo del 2000 al 2003. El número de tallos (194 tallos) del individuo más grande originado por alguno de estos dos procesos fue considerado como criterio para asignar a un individuo en la categoría de pequeño y todos los individuos con más de 194 tallos se consideraron grandes. Para hacer el análisis empleamos la prueba de Hopkins (Krebs, 1999) a pequeña escala, obteniendo las distancias de los puntos al individuo más cercano y de éste al vecino más cercano, en 4 cuadros de 50 por 50 metros. La ubicación de los cuadros en el área de distribución de la población se obtuvo dividiendo el plano de distribución espacial en cuadros de 50 por 50 m, los cuales fueron numerados para hacer una selección aleatoria de los cuatro cuadros. Las coordenadas de los puntos aleatorios se determinaron con números entre 0 y 50 obtenidos al azar. La prueba de Hopkins (Krebs, 1999) se utilizó para i) analizar la distribución espacial de individuos pequeños (ramets producidos por fragmentación vegetativa y por muerte tisular) respecto a individuos grandes (plantas de las cuales se originaron los ramets pequeños) y ii) la distribución espacial de individuos grandes. Para evaluar si los individuos pequeños (con 194 tallos o menos) se originaron principalmente por fragmentación vegetativa y muerte tisular, se determinó la proporción de individuos que comparten el genotipo con algún otro individuo en cada una de las siete categorías de número de tallos (ver sección 3.6).

Adicionalmente, se analizó la distribución espacial de los individuos con genotipo idéntico y con genotipo distinto para determinar si los primeros tienden a estar más cercanos que los segundos. Para llevar a cabo este análisis se empleó la información obtenida de las áreas de dispersión de polen de los 32 individuos focales mencionados en la sección 3.9. Para cada área de dispersión se establecieron tres categorías de distancia entre el individuo focal y aquéllos ubicados dentro de su área de dispersión de polen (área de 15 m de radio). Las categorías que se establecieron son: i) hasta 5 m, ii)

entre 5 y 10 m y iii) entre 10 y 15 m. Para cada categoría de distancia se obtuvo el número de individuos con genotipo idéntico (GI) al focal y el número de individuos con genotipo distinto (GD) en cada una de las 32 áreas. Los valores de GI y GD de las 32 áreas se sumaron para cada categoría de distancia y se analizaron con una prueba de χ^2 . La contribución de cada celda al valor de χ^2 se determinó mediante un análisis de residuales ajustados (Everitt, 1977).

4 RESULTADOS

4.1 Patrón de distribución espacial en la población. El patrón de distribución espacial que presentan los individuos de la población de *Ferocactus robustus* es agregado. El índice de agregación del método de Clark y Evans es $R = 0.61$, con $n = 423$, $|Z| = 11.32$ y $P < 0.001$, y el de la prueba de Hopkins es $I_H = 0.91$, con $n = 60$, $h = 11.35$, $F_{0.025} = 0.6093$ y $F_{0.975} = 1.43$ con 120 g.l. en el numerador y 120 g. l. en el denominador.

4.2 Desarrollo de botones florales y remoción de frutos. De los 120 individuos de la muestra sólo 58 resultaron reproductivos al final del periodo de registro (6 meses). El porcentaje de botones florales que se desarrollaron a fruto y de botones que se abortaron fue de 26% y 74% respectivamente (figura 7). El porcentaje de frutos inmaduros removidos fue de 60% (figura 8). Los resultados para cada mes se muestran en el cuadro 1.

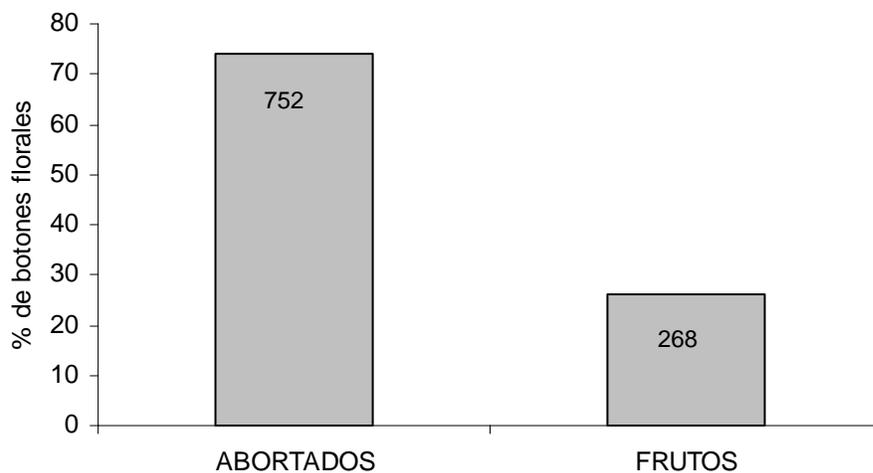


Figura 7. Proporción de botones florales abortados y desarrollados hasta fruto de *Ferocactus robustus*, $n = 58$ individuos. Datos registrados de julio a diciembre del 2003. Los valores en las barras sombreadas indican el número total de estructuras (botones florales abortados y frutos).

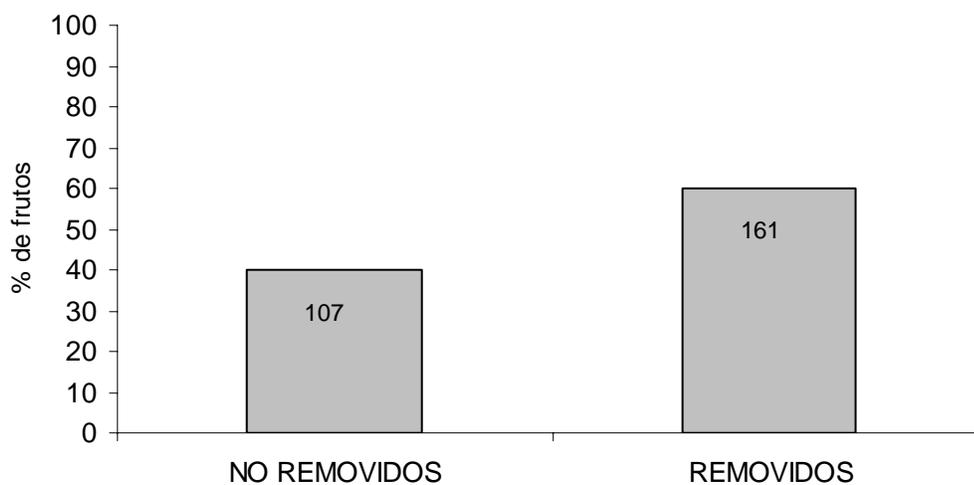


Figura 8. Porcentaje de frutos de *Ferocactus robustus* que permanecieron en los individuos después de un mes de haberse formado y de frutos removidos, $n = 120$ ramets. Los valores en las barras sombreadas indica el número total de frutos (removidos y no removidos).

Cuadro 1. Valores mensuales de número de botones florales, producción y remoción de frutos ($n = 120$ plantas). NBT: número total de botones de próxima apertura, PA: Proporción de botones abortados PF: Proporción de botones que se desarrollaron a fruto, PFR: Proporción de frutos que fueron removidos $\bar{x} + 1$ representa el valor promedio más una desviación estándar (números entre corchetes).

MES	NBT	PA	PF	PFR
julio				
Total	450	0.740	0.260	
$\bar{x} + 1$	9.184	0.766	0.234	0.703
	[9.9]	[0.252]	[0.252]	[0.396]
agosto				
Total	56	0.840	0.160	
$\bar{x} + 1$	2.435	0.830	0.170	0.857
	[1.903]	[0.318]	[0.318]	[0.244]
septiembre				
Total	135	0.960	0.040	
$\bar{x} + 1$	4.500	0.922	0.077	0.666
	[4.289]	[0.208]	[0.208]	[0.516]
octubre				
Total	352	0.650	0.350	
$\bar{x} + 1$	7.333	0.590	0.409	0.532
	[10.44]	[0.345]	[0.345]	[0.41]
noviembre				
Total	25	0.400	0.600	
$\bar{x} + 1$	1.785	0.458	0.541	0.562
	[1.47]	[0.451]	[0.451]	[0.467]
diciembre				
Total	0	0.000	0.000	

La proporción de individuos de la población que produjeron estructuras reproductivas fue baja, sólo 46% de todos los individuos de la población (423) produjeron estructuras reproductivas (botones florales, flores y frutos) durante el periodo de registro (figura 9). La mayor producción de botones florales (botones florales de próxima apertura + flores) se presentó en los meses de julio, septiembre y octubre (figura 10).

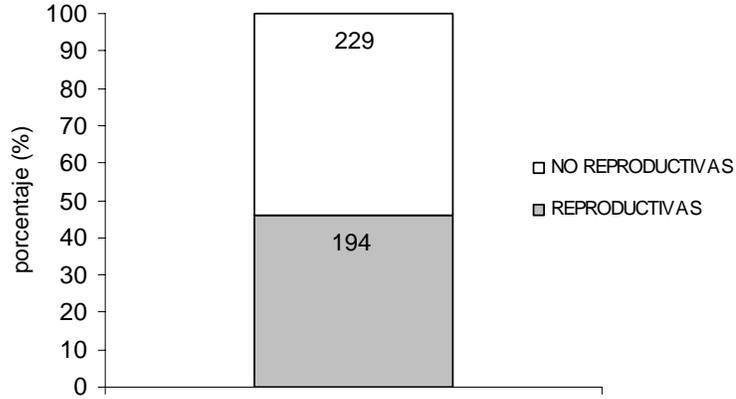


Figura 9. Porcentaje de individuos reproductivos y no reproductivos en la población de *Ferocactus robustus* estudiada. Datos correspondientes al periodo de julio a diciembre de 2003. Los valores en las áreas sombreadas indican el número de individuos del total de la población (423 individuos).

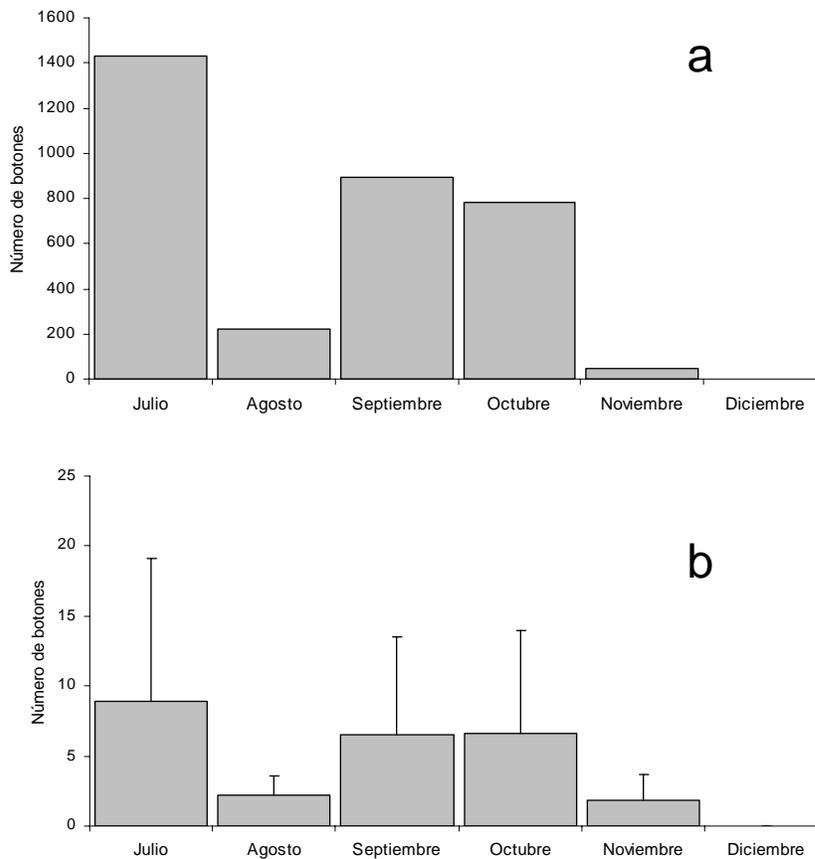


Figura 10. Producción mensual de botones florales de próxima apertura y flores abiertas de *Ferocactus robustus*: a) total por mes ($n = 423$ individuos), b) Producción media por individuo + 1 desviación estándar. Datos registrados de julio a diciembre del 2003.

4.3 Niveles de reproducción sexual en la población. Durante el periodo de estudio (julio del 2003 a febrero del 2004) los individuos de la primera clase de tamaño (1 a 20 tallos) no produjeron botones florales ni frutos. La reproducción se inicia a partir de la clase dos (21 a 50 tallos) en la que sólo el 6% de los individuos produjeron botones florales, flores o frutos. En el resto de las clases el porcentaje de individuos que son reproductivos se incrementa hacia las clases 6 y 7 en las que todos son reproductivos (figura 11).

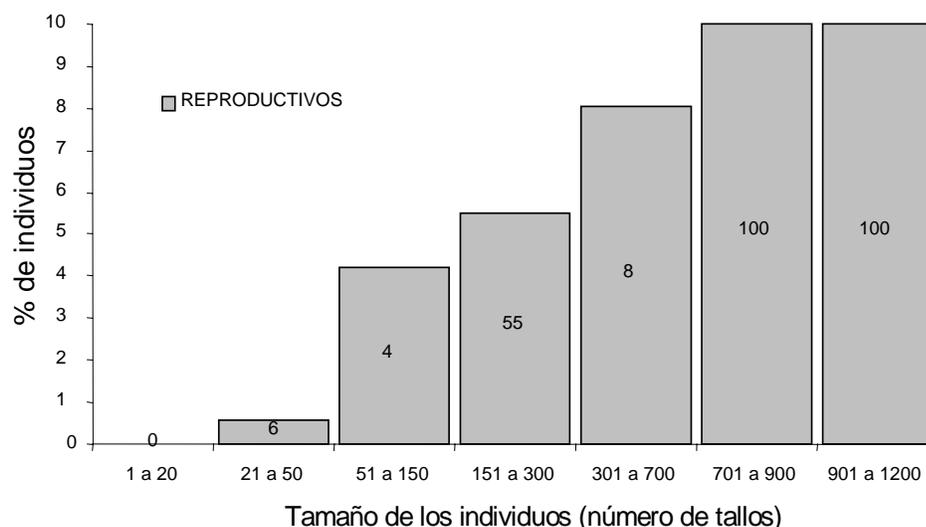


Figura 11. Porcentaje de individuos reproductivos de *Ferocactus robustus* en cada clase de tamaño.

La estructura por tamaño muestra que la mayoría de los individuos se concentran en las clases 3, 4 y 5, con 24% del total de individuos de la población en la primera y 21% en cada una de las dos clases siguientes. El 12% y 16% de los individuos se concentran en las clases 1 y 2, respectivamente y sólo el 6 % está representado por las clases 6 y 7 (figura 12).

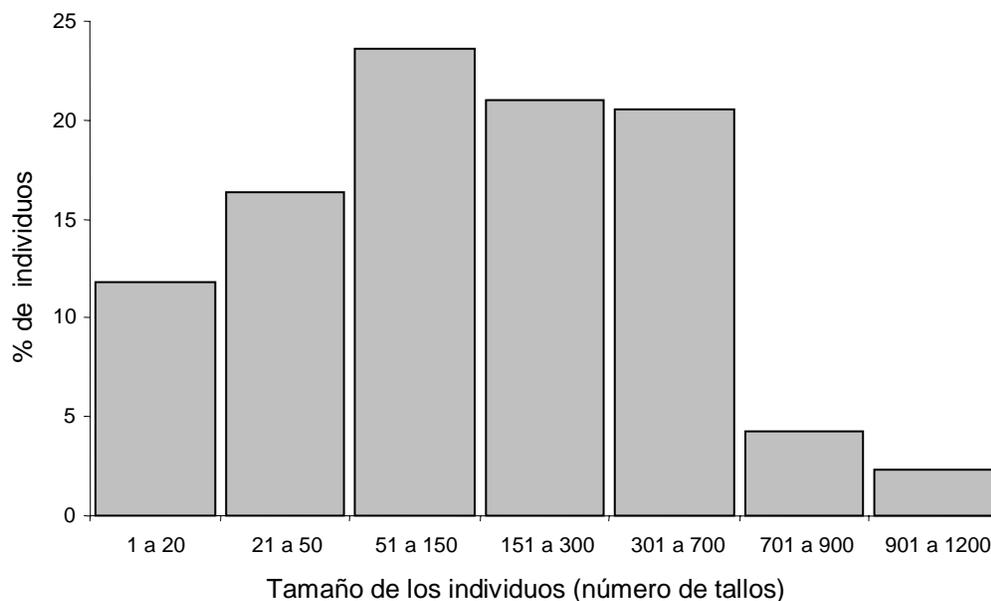


Figura 12. Estructura de la población estudiada de *Ferocactus robustus* ($n=423$ individuos).

La producción de botones y frutos aumenta con el tamaño de los ramets, $n=58$ ramets; $r^2=0.26$, $F=19.7$, $P<.0001$ y $r^2=0.23$, $F=17.2$, $P<.0001$, respectivamente (figura 13), pero la proporción de botones que se desarrollaron a fruto no ($P=0.303$).

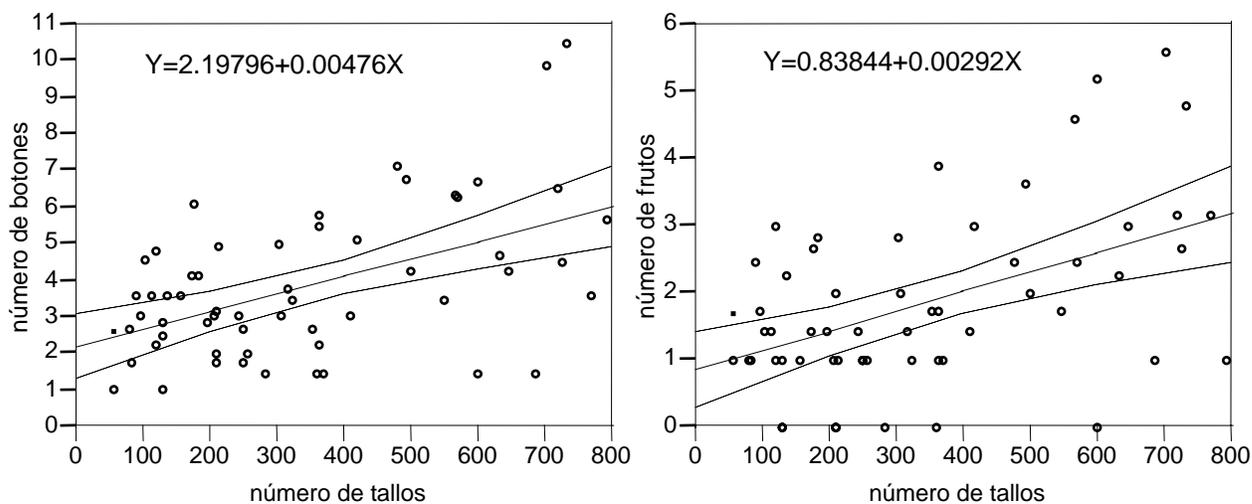


Figura 13. Relación de la producción de (a) botones florales y (b) frutos con el tamaño de los individuos.

4.4 Diversidad clonal. El número estimado de genotipos en la población estudiada fue de 116 en una muestra de 272 individuos. La proporción de genotipos distinguibles ($G/N=0.43$) indica que varios genotipos están representados por más de un individuo (aproximadamente dos por genotipo). Los índices de diversidad clonal indican que

existe una alta diversidad genética (índice de diversidad de Simpson, $D = 0.98$) y que los genotipos están aproximadamente igual representados (el número de individuos en cada genotipo es aproximadamente igual; equitatividad genotípica, $E = 0.95$).

A nivel de las áreas de dispersión de polen de los 32 individuos focales el valor de la proporción de genotipos distinguibles (G/N) varió entre 0.06 y 1, presentándose la mayor frecuencia de observaciones en el intervalo medio de valores de G/N (figura 14).

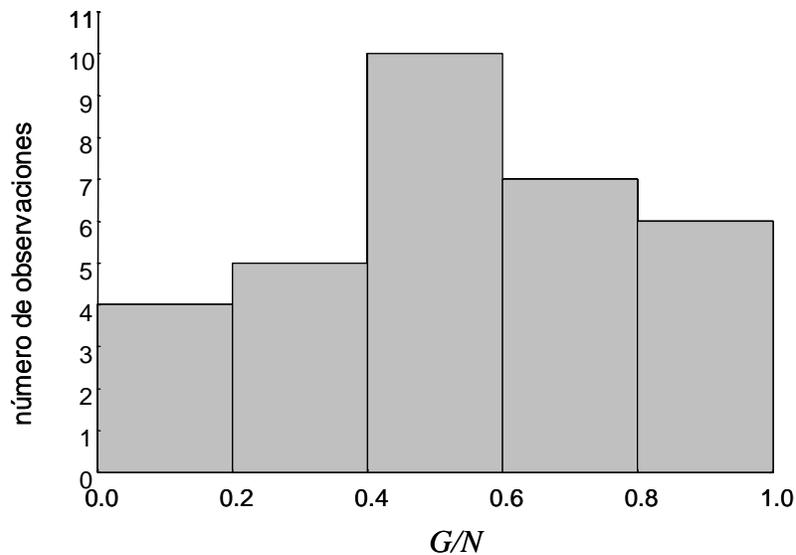


Figura 14. Distribución de frecuencias de la proporción de genotipos distinguibles (G/N), para las áreas de dispersión de polen de 32 individuos focales de *Ferocactus robustus* (ver sección 5.5).

Los valores cercanos a 0 se obtuvieron en áreas donde todos los individuos o la mayoría de ellos comparten el mismo genotipo (figura 15) y próximos a 1 en áreas donde la mayoría de individuos tienen genotipos distintos (figura 16).

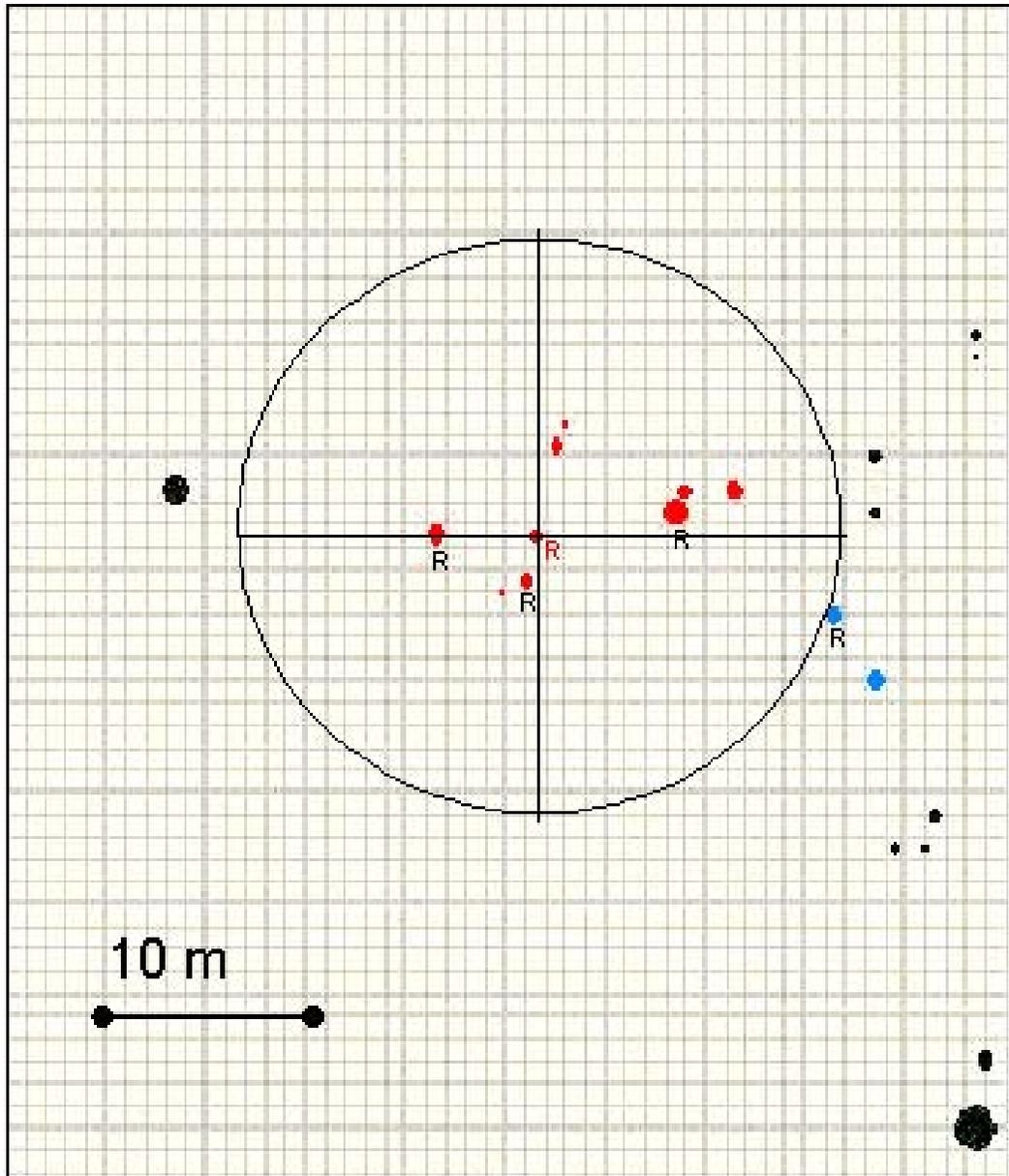


Figura 15. Área de dispersión de polen en la que los vecinos tienen el mismo genotipo que el individuo focal ($G/N = 0.11$). La letra *R* indica que el individuo es reproductivo y cada color indica un genotipo distinto.

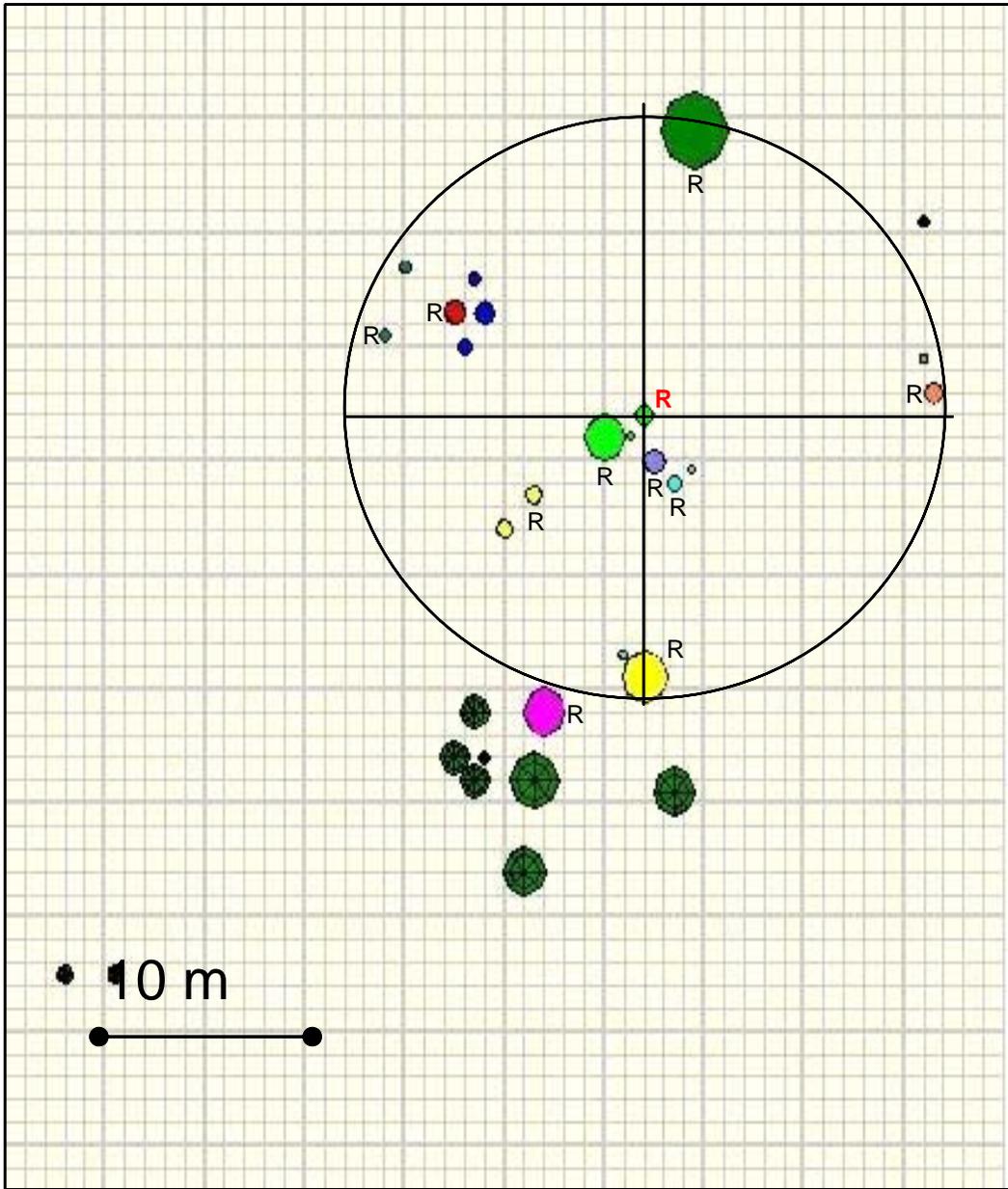


Figura 16. Área de dispersión de polen en la que los vecinos tienen distinto genotipo que el individuo focal ($G/N = 0.60$). La letra *R* indica que el individuo focal es reproductivo y cada color indica un genotipo distinto.

4.5 Distribución espacial clonal - éxito reproductivo. La proporción de botones que se desarrollan a fruto (AsenoPBF) disminuye hacia los valores más altos de las variables: i) cociente número de flores en vecinos / número de flores en el individuo focal (BV/BF, figura 17a) y ii) probabilidad de que una flor dentro del área de dispersión de polen de un individuo focal tenga el mismo genotipo que este (PFGIF, figura 17b). Los resultados del análisis de regresión múltiple se presentan en el cuadro 2.

Cuadro 2. Resultados del análisis de regresión múltiple entre la variable AsenoPBF y las variables BV/BF y PFGIF. La contribución relativa se estimó como el cuadrado de los coeficientes β estándar (ver Kachigan, 1986). Los números entre corchetes indican la cantidad de varianza explicada por cada factor respecto a otros factores que tienen menor contribución relativa.

R^2	n	P	factor	P	coeficiente β estándar	contribución relativa a R^2
0.552	32	<0.0001	intersección	<.0001	0,000	
			BV/BF	0,0002	-0,565	0,32 {4,1}
			PFGIF	<.0001	-0,625	0,39 {5,0} {1,2}
			PFGIF x BV/BF	0,0425	0,280	0,08

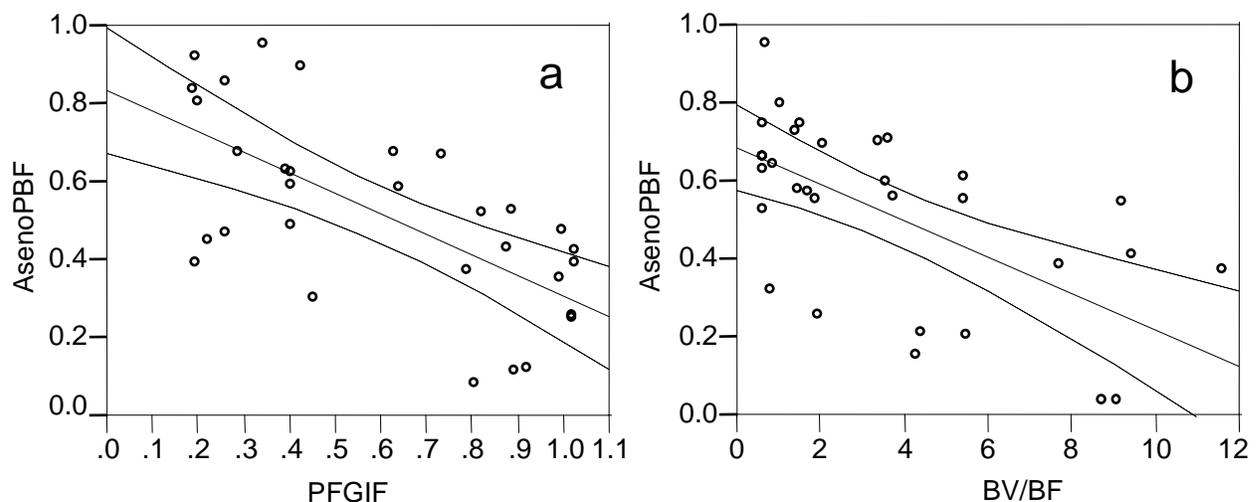


Figura 17. Relación entre la proporción de botones que se desarrollan a frutos en individuos focales y las variables: a) probabilidad de que una flor dentro del área de dispersión de polen de un individuo focal tenga el mismo genotipo que este (PFGIF) y b) cociente número de flores en vecinos / número de flores en el individuo focal (BV/BF).

4.6 Influencia de la distribución espacial clonal en el patrón de distribución espacial de la población. El análisis de la distribución espacial de individuos de distinto tamaño indica que los individuos con ≤ 194 tallos y con más de 194 tallos se distribuyen en forma agregada. El índice de agregación calculado mediante la prueba de Hopkins (Krebs, 1999) para el primer caso es: $I_H = 0.92$, $n = 80$, $h = 11.5$, $F_{0.01} = 0.56$ y $F_{0.99} = 1.78$ con 160, 160 g. l. En el segundo caso el índice es $I_H = 0.85$, $n = 80$, $h = 5.8$, $F_{0.01} = 0.6$ y $F_{0.99} = 1.43$ con 160, 160 g. l.

La proporción de individuos que comparten genotipo con al menos otro individuo en cada categoría de tamaño fue mayor a 0.5 en todos los casos, con las proporciones más altas en las dos primeras categorías y las proporciones más bajas en las categorías 6 y 7 (figura 18).

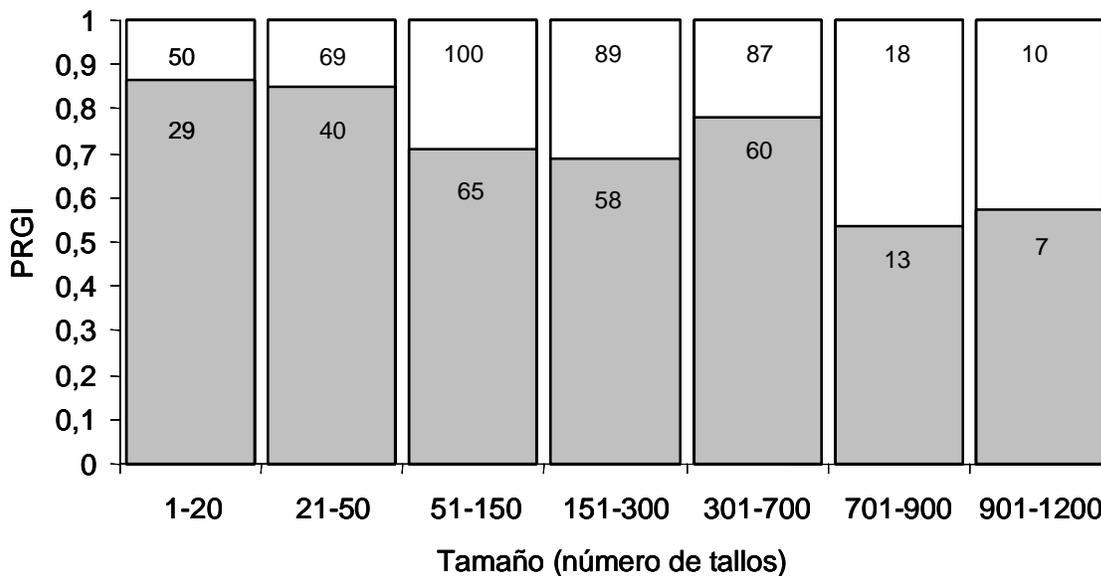


Figura 18. Proporción de individuos que comparten genotipo con algún otro individuo (PRGI) en cada categoría de tamaño. Los números en las áreas claras indican el número de individuos de toda la población (423 individuos) en cada categoría y los números en las áreas sombreadas indican el número de individuos de una muestra de 272 individuos con genotipo conocido (ver sección 4.4).

El análisis de la distribución espacial de individuos con genotipos idénticos y con genotipos distintos indica que los individuos con el mismo genotipo se encuentran más cercanos entre sí que aquellos con genotipos distintos ($X^2 = 27.56$, 2 g. l., $P = 0.005$). A una distancia de 5 metros de una planta focal se encuentran más individuos con genotipo idéntico y menos individuos con genotipo distinto que las esperadas por azar,

mientras que entre 10 y 15 m de distancia al individuo focal ocurre lo contrario. Entre 5 y 10 m no hay diferencias significativas (cuadro 3).

Cuadro 3. Número de individuos con genotipos idénticos (GI) y con genotipos distintos (GD) en cada categoría de distancia medida a partir de las plantas focales (DPO). Los números en cursivas son los valores esperados y los números en paréntesis corresponden a los valores de los residuales ajustados. Los valores significativos se muestran en negritas ($P < 0.05$).

DPO	GI	GD
hasta 5 m	35 <i>20.9</i> [10.41]	40 <i>54.1</i> [-4.01]
5-10 m	24 <i>23.4</i> [0.37]	60 <i>60.6</i> [-0.14]
10-15 m	6 <i>20.6</i> [-10.98]	68 <i>53.4</i> [4.23]

5 DISCUSION

5.1 Patrón de distribución espacial en la población. La propagación clonal y la muerte tisular en *Ferocactus robustus* influyen de manera importante en el patrón de distribución agregado que presentan los individuos de la población, pero probablemente no son los únicos factores determinantes del patrón de distribución espacial encontrado. Los valores de G/N a pequeña escala sugieren que los individuos agregados no siempre tienen el mismo genotipo aunque éstos suelen estar más cercanos entre sí que los individuos genéticamente distintos. Así, la estructura espacial agregada que resulta de la propagación clonal (agregación de individuos con el mismo genotipo) parece estar mezclada con una estructura espacial caracterizada por la agregación de individuos genéticamente distintos, la cual pudo resultar de factores distintos a la fragmentación vegetativa o la muerte tisular que presenta la especie.

Otro factor que puede ser importante en la conformación del patrón de distribución agregado en la población de *F. robustus* es el requerimiento de arbustos nodriza para el establecimiento de plántulas, fenómeno que ha sido ampliamente reportado en otras especies de cactáceas (Yeaton, 1978; McAuliffe, 1984; Valiente-Bannuet et al., 1991a; Valiente-Bannuet et al., 1991b; Cody, 1993; Mandujano et al., 1998; Mandujano et al., 2002; Reyes-Olivas et al., 2002). Trujillo (2002) encontró que la supervivencia de plántulas de *F. robustus* en campo es mayor cuando se encuentran debajo del dosel de los arbustos y están protegidas contra herbívoros, sugiriendo que esta especie requiere de especies nodriza para el reclutamiento por semilla, el cual probablemente ocurre en periodos poco frecuentes (pulsos ambientales) donde la disponibilidad del recurso hídrico permite el establecimiento y la supervivencia de las plántulas (Jelinski y Cheliak, 1992; Mandujano et al. 1996; Piña, 2000; Mandujano et al. 2002).

La hipótesis de nodricismo implicaría que algunos individuos (de los más pequeños al menos) se encontraran debajo del dosel de arbustos que además de sombra ofrecen protección contra la herbivoría. No obstante, aunque se observó que algunos individuos se llegan a encontrar debajo de arbustos como *Mimosa luisiana* o individuos pequeños de *Prosopis laevigata* muchos de los individuos de *F. robustus* se encontraron en forma agregada en sitios abiertos o en sitios sombreados por individuos arbóreos de *Bursera* sp., *Ceiba parvifolia*, *Yucca periculosa* y *Prosopis laevigata* (obs.

pers.), sugiriendo por un lado, que puede haber otros factores implicados en la determinación del patrón de distribución espacial agregado (e. g., distribución heterogénea de recursos en el suelo), y por otro, la posibilidad de que la agregación de individuos con genotipos distintos sea el resultado de la distribución que presentaban los arbustos que funcionaron como nodrizas, muchos de los cuales ya no se encuentran actualmente (la edad estimada del individuo más grande en la población es mayor a 3000 años, ver anexo 5). No obstante, es necesario hacer una evaluación de la asociación de individuos de *F. robustus* con especies arbustivas para corroborar estas observaciones, asimismo, es necesario hacer estudios comparativos de la efectividad de diferentes especies arbustivas como nodrizas y estudios sobre los requerimientos específicos para el establecimiento y supervivencia de plántulas de esta especie.

La influencia de la propagación clonal en la formación de patrones de distribución espacial agregados ha sido reportada en otras especies de cactáceas. En *Lophocereus schottii* (Parker y Hamrick, 1992), *Opuntia microdasys* (Palleiro, 2001), *O. echios* (Hicks y Mauchamp, 1999) y *Stenocereus eruca* (Clark-Tapia et al., 2005b) la distribución agregada de individuos genéticamente idénticos es el resultado del establecimiento de individuos originados a partir de fragmentos de tallo y frutos inmaduros (plantlets en *O. microdasys*; Palleiro et al., 2006) cerca de la planta de la cual se originaron. Una posible explicación a la agregación de individuos genéticamente idénticos tanto en *Ferocactus robustus* como en las otras especies de cactáceas mencionadas, es que los propágulos vegetativos suelen ser pesados, lo cual dificulta su dispersión a grandes distancias (Mandujano, aceptado). En otras especies clonales (no cactáceas) que se propagan vegetativamente mediante estructuras tales como rizomas o estolones también se ha reportado la formación de patrones de distribución agregados por propagación clonal (Auge y Brandl, 1997; Burke et al., 2000; Arévalo y Fernández-Palacios, 2003).

La propagación clonal no necesariamente resulta en la agregación de individuos genéticamente idénticos. En varias especies clonales se han reportado estructuras espaciales donde los ramets de un mismo genet se encuentran dispersos (Navas y Garnier, 1990; Hicks y Mauchamp, 1999; Valverde y Pisanti, 1999; Burke et al. 2000; Cheplick y Gutierrez, 2000; Rebele, 2000; Palleiro, 2001; Brzosko et al., 2002; Hangelbroek et al., 2002; Clark-Tapia et al., 2005b). La dispersión de fragmentos vegetativos a grandes distancias puede estar asociada a diferentes factores. En algunas especies la dispersión de individuos genéticamente idénticos está asociada al

crecimiento en forma de guerrilla (Valverde y Pisanti, 1999; Cheplick y Gutierrez, 2000; Rebele, 2000), el cual puede ser favorecido por el agotamiento de recursos en micrositios donde la competencia entre individuos es alta (Valverde y Pisanti, 1999). En otros casos la dispersión de fragmentos vegetativos a grandes distancias está relacionada con el acarreo por animales (Brzosko et al., 2002; Hangelbroek et al., 2002), procesos naturales de disturbio como inundaciones (Burke et al. 2000), la formación de semillas por autogamia (Brzosko et al., 2002) y con las características del propágulo que le confieren mayor movilidad, como en el caso de los frutos inmaduros de *Opuntia echios* (Hicks y Mauchamp, 1999) y *O. microdasys* (Palleiro, 2001) que pueden ser dispersados por arrastre a mayores distancias durante eventos esporádicos de lluvias torrenciales o simplemente por gravedad debido a su forma ovoide, comparados con los fragmentos de tallo conformados por un número variable de cladodios.

Por otro lado, los patrones de distribución agregados se pueden presentar en poblaciones de especies de otras familias botánicas y en poblaciones de especies no clonales. Por ejemplo, Martínez (2003) encontró distribuciones agregadas en dos especies de pastos (*Trachypogon plumosus* y *Schizachyrium scoparium*) como resultado de procesos de facilitación por el arbusto *Chamaecrista chamaecristoides*. En una población de *Camellia japonica* donde el reclutamiento se lleva a cabo sólo por semilla (la especie presenta propagación clonal en otras poblaciones) la distribución espacial agregada de los individuos parece estar determinada por la baja capacidad de dispersión de las semillas (por gravedad) y por la formación de huecos en el dosel que permiten la germinación y desarrollo de varias plantas en un sitio localizado (Ueno et al., 2000). En algunas especies de cactáceas los individuos se encuentran agregados debajo del dosel de arbustos (plantas nodriza) que brindan protección contra el exceso de radiación (De Viana et al., 1990; Valiente-Bannuet et al., 1991a; Mandujano et al., 1998; Leirana-Alcocer y Parra-Tabla, 1999; Rodríguez-Ortega y Ezcurra, 2000; Mandujano et al., 2002; Zuñiga et al., 2005) y el ataque de herbívoros (Cody, 1993; Mandujano et al., 1998). En otros casos los arbustos nodriza favorecen la acumulación de materia orgánica y nutrientes debajo de su dosel, originando islas de fertilidad donde pueden establecerse otras especies (Valiente-Bannuet et al., 1991b; Martínez et al., 2001; Reyes-Olivas et al., 2002), o funcionan como trampas para los frutos y después como nodrizas (Cody, 1993). También se ha reportado la influencia de condiciones

microambientales no asociadas a plantas nodrizas (Flores-Martínez et al., 2002; Hernández-Oria et al., 2003), la dispersión restringida de semillas (Martínez et al., 1993; Martínez et al., 1994) y la distribución no aleatoria de semillas bajo diferentes especies de nodrizas (De Viana et al., 2001) en la formación de patrones de distribución agregados.

Respecto a las causas de la fragmentación y muerte tisular observados en *F. robustus*, es necesario hacer estudios para identificar los factores que determinan estos procesos. Una posibilidad para abordar este problema puede ser el análisis de la anatomía, estructura vascular de la especie y los patrones de flujo de recursos entre tallos o conjuntos de tallos al interior de un individuo. En algunas especies clonales (e. g., *Glechoma hederacea*, *Trifolium repens*) se ha observado que los cambios en la estructura vascular durante el crecimiento de un individuo pueden afectar la integración fisiológica de los módulos o conjuntos de éstos al interior de un individuo debido a que los haces vasculares pierden conexión, lo cual puede resultar en una independencia fisiológica entre sectores al interior de un individuo (Marshall y Price, 1997). En *F. robustus* un fenómeno de este tipo podría estar relacionado con la muerte tisular de conjuntos de tallos dentro de un individuo, probablemente asociado a una baja disponibilidad de recursos (e. g., recurso hídrico). Por otro lado, el estudio anatómico puede dar alguna idea sobre la fragmentación, ya que en varias especies de arbustos clonales (e. g., *Artemisia tridentata*, *Atriplex confertifolia*, *Ambrosia dumosa*) de zonas áridas se han observado patrones de fragmentación vegetativa asociados a la suberización de vasos del xilema y a la formación de estrías y nódulos en la madera como resultado de la actividad diferencial en el cambium (Schenk, 1999). Finalmente es importante considerar el posible efecto de las zonas de agotamiento de recursos (*resource depletion zone*; Harper, 1985) generada por el sistema radicular de cada módulo (cada tallo en el caso de *F. robustus*). Debido a que los ramets en *F. robustus* forman una masa compacta de tallos de forma más o menos elíptica, Las zonas de agotamiento de recursos (e. g., agua y nutrientes) de los tallos ubicados en la zona central pueden estar más sobrepuestas que los ubicados hacia la periferia del ramet, lo cual podría dificultar el mantenimiento de los módulos centrales de un ramet al incrementarse su tamaño.

5.2 Niveles de reproducción sexual en la población. En este estudio se encontró que una alta proporción de individuos de la población (54%) no produjeron botones, flores o frutos durante el periodo de estudio (julio del 2003 a febrero del 2004), y que en un alto porcentaje de botones (74%) se interrumpe el desarrollo a fruto sugiriendo que la población experimenta bajos niveles de reproducción sexual, al menos en algunos años. La información presentada aquí corresponde al análisis de datos recavados en un periodo de 8 meses, por lo que se desconoce si el comportamiento reproductivo observado en la población experimenta variaciones considerables en otros años.

Se ha observado que la disponibilidad del recurso hídrico favorece la producción de flores y el desarrollo de frutos de *F. robustus* (Piña, 2000), por lo que puede esperarse que la reproducción sexual se incremente en años con mayor precipitación (la precipitación promedio en la zona es 380 mm), aunque es probable que el incremento en la proporción de botones que se desarrollan a frutos maduros esté relacionado además con la distribución temporal de los eventos de lluvia. Debido a que en *F. robustus* el desarrollo de los botones hasta frutos maduros puede tardar más de dos meses (Piña, 2000), el mantenimiento del desarrollo de un mayor número de botones es más factible si el recurso hídrico está disponible durante todo el periodo de desarrollo como ha sido observado en otras especies (*Acacia* spp., Mangadas y Fox, 2002; *Erodium moschatum*, Olivares et al., 2004).

Los niveles de aborto y remoción de frutos inmaduros observados en este trabajo (74% y 60%, respectivamente) son similares a los reportados por Piña (2000) para la misma población (61% y 62% para aborto y remoción, respectivamente). Aunque estas cifras parecen elevadas, en la población pueden generarse grandes cantidades de semillas en temporadas donde la producción de frutos maduros es baja, debido a que los frutos contienen un número elevado de semillas (323 por fruto en promedio, Piña, 2000). Más aún, en comparación con los valores reportados en poblaciones de especies de angiospermas distintas a Cactaceae, la proporción de flores que se desarrollan a fruto (*fruit set*) es similar (26%) a los valores reportados ($\bar{x} \pm D. E. = 16.5 \pm 21.2$ %; Stephenson, 1981; Irwin y Broody, 1999; Golubov et al., 1999; Dorken y Eckert, 2001, Severns, 2003, Tarasjev, 2005), y de los valores más bajos reportados en cactáceas ($\bar{x} \pm D. E. = 57.6 \pm 33$ %; Mandujano et al., 1996; Sahley, 1996; Bowers, 1997a; Martínez-González., 2001; Navarro-Carbajal y Flores-Martínez, 2002; Valiente-

Banuet., 2002; Clarck-Tapia et al., 2004; Nassar y Ramírez, 2004; Dar et al., 2006; Oaxaca-Villa et al., 2006; Palleiro et al., 2006). En *F. robustus* por otro lado, es probable que una proporción importante de las semillas que se producen no tengan la capacidad de germinar, ya que se ha observado que los frutos maduros en *F. robustus* pueden contener un gran número de semillas vanas (Rojas-Aréchiga com. pers.) y se han detectado bajos porcentajes de germinación en la especie (Rojas-Aréchiga, 1995; Piña 2000).

5.3 Estructura poblacional. La estructura de tamaños o edades en las poblaciones es el resultado de la interacción de factores como la producción de semillas, las tasas de germinación, la formación de bancos de semillas, la supervivencia y la propagación clonal (Mandujano et al. 2001, Godínez-Álvarez et al., 2003). Así, la variación en la importancia y las interacciones de estos factores resultan en estructuras poblacionales muy distintas entre poblaciones de diferentes especies (Mandujano et al., 2001; Godínez-Álvarez et al., 2003). La estructura de tamaños encontrada en la población de *F. robustus* muestra que la mayor proporción de individuos se concentra en las clases de tamaño intermedias, una proporción intermedia en las primeras clases de tamaño y una proporción muy baja en las clases de mayor tamaño. Estructuras similares han sido reportadas en otras poblaciones de organismos clonales que comparten algunas características con *F. robustus*. Por ejemplo, *Alcyonium* sp. (una especie de coral) presenta bajos niveles de reclutamiento vía sexual y la formación de nuevas colonias ocurre principalmente por fisión (McFadden, 1991). En *Opuntia rastrera* (Mandujano et al., 2001) la estructura de tamaños en uno (nopalera) de dos ambientes comparados (nopalera vs. pastizal) muestra pocos individuos en las clases de menor y mayor tamaño, como resultado de bajos niveles de reclutamiento vía sexual, una rápida transición de las primeras clases de tamaño a etapas posteriores y la regresión de individuos de gran tamaño a clases de tamaño menores por propagación clonal. En *Hidranea paniculada* (Hara et al., 2004) una estructura similar a la encontrada en este estudio es explicada por la elevada mortalidad de plántulas e individuos pequeños originados a partir de tallos que se desprenden y caen al suelo, en comparación con los de mayor tamaño que se originan por la fragmentación de un anillo radicular que puede unir varios tallos. Este tipo de estructura no obstante, también ha sido reportada en especies no clonales. Por ejemplo en *Echinocereus pulchellus* la concentración de

individuos en las categorías intermedias al parecer resulta de un lento crecimiento de los individuos y una baja probabilidad de reclutamiento de plántulas (Navarro-Carbajal y Flores Martínez, 2002).

En *F. robusuts* dos factores que pueden ser muy importantes en la estructura de tamaños observada (ver figura 11) son la formación de individuos de distinto tamaño por propagación clonal y bajos niveles de reclutamiento vía sexual. La propagación clonal puede contribuir principalmente al incremento en el número de individuos en las clases de menor tamaño (clases 1 y 2, figura 11) y de tamaños intermedios (clases 3 a 5, figura 11). Así, es probable que la baja proporción de individuos de la población que presentan tamaños muy grandes (clases 6 y 7) resulte principalmente de la fragmentación de individuos grandes (e. g., con 700 a 1200 tallos). La proporción de individuos que comparten el genotipo con algún otro en cada categoría de tamaño (ver sección 4.7) sugiere que la fragmentación ocurre frecuentemente ya que una parte importante de individuos en cada categoría comparten el genotipo con al menos otro individuo cercano. No obstante es necesario evaluar la frecuencia con que ocurren el desprendimiento de fragmentos y la muerte tisular, así como el efecto de ambos procesos en el tamaño de los individuos. Asimismo, la baja proporción de individuos en las clases 1 y 2 puede ser el resultado de la supervivencia diferencial entre los que se originan por desprendimiento de fragmentos y los originados por muerte tisular, asociada a un aparentemente bajo reclutamiento vía sexual. En este trabajo sólo fueron encontrados 2 ramets constituidos por un tallo, ambos con formación de raíces adventicias indicando que se desprendieron de ramets más grandes, y no se encontraron plántulas ni individuos jóvenes.

5.4 Diversidad clonal. La evidencia obtenida en este estudio sugiere que la integración de nuevos individuos a la población mediante desprendimiento de fragmentos y muerte tisular es muy frecuente. No obstante, contrario a lo esperado, la alta diversidad genética encontrada sugiere que el reclutamiento vía sexual ha tenido una contribución importante en la regeneración, lo cual llama la atención ya que en este estudio no se encontraron plántulas o individuos jóvenes que indicaran reclutamiento sexual reciente.

En especies clonales con ciclo de vida largo como *F. robustus* puede esperarse que los niveles de diversidad genética sean elevados debido a que la propagación clonal favorece el mantenimiento de varias copias del mismo genotipo (ramets del mismo genet) a lo largo del tiempo, disminuyendo la probabilidad de que un genotipo desaparezca de la población. En este contexto, considerando que el reclutamiento ocurre en periodos poco frecuentes en la población de *F. robustus* es probable que la integración de un solo genotipo en algunos de estos periodos sea suficiente para mantener altos niveles de diversidad genética (índice de diversidad de Simpson, $D = 0.98$). En otras cactáceas clonales en las que el reclutamiento por semilla es esporádico o no ha sido observado también se han reportado altos niveles diversidad genética ($D = 0.870$, *Lophocereus schottii*, Parker y Hamrick, 1992; $D = 0.987$, *Stenocereus eruca*, Clarck-Tapia, 2005b). En estas especies los niveles de diversidad genética son explicados por el reclutamiento esporádico a partir de semilla (Parker y Hamrick, 1992; Clarck-Tapia, 2005b), el flujo de polen entre poblaciones y la dispersión ocasional de fragmentos del tallo por arrastre de corrientes de agua (Parker y Hamrick, 1992). Los niveles de diversidad genética en estas especies son mayores que el nivel promedio en poblaciones multiclonales ($D = 0.62$, Ellstrand y Roose, 1987) y similares a los reportados en especies clonales que presentan reclutamiento frecuente por semilla (e. g., *Cryptomeria japonica*, Shimizu et al., 2002). En *F. robustus*, es probable que el flujo de polen contribuya poco a la diversidad genética a nivel de la población, debido a que la dispersión de polen parece estar restringida a unos cuantos metros (15 metros) alrededor de los individuos (Piña, 2000), lo cual restringe la mezcla de genotipos en la población, más aún si la dispersión de polen generalmente es limitada, el flujo génico entre poblaciones puede ser nulo, ya que las poblaciones de *F. robustus* están muy alejadas entre si (figura 1).

La proporción de genotipos distinguibles (G/M) y la equitatividad genotípica (E) sugieren que la fragmentación y la muerte tisular son mecanismos frecuentes por los

que se integran nuevos individuos a la población y que los ramets formados por alguno de estos procesos provienen de varios genotipos distintos (i. e. los genotipos están igualmente representados, $E = 0.95$). Este planteamiento apoya la idea de que la diversidad genética en la población puede ser el resultado del mantenimiento de muchos genotipos a lo largo del tiempo mediante propagación clonal (fragmentación y muerte tisular). El valor de G/N de la población de *F. robustus* indica que es bastante clonal, no obstante es necesario evaluar la diversidad clonal en otras poblaciones. Comparado con otras dos especies el valor de G/N en la población de *F. robustus* (0.43) es menor que el valor promedio (0.83) para cuatro poblaciones de *Stenocereus eruca* (Clark-Tapia, 2005b) e igual que el valor promedio (0.43) para ocho poblaciones de *Lophocereus schottii* (Parker y Hamrick, 1992).

5.5 Efecto de la distribución espacial clonal sobre el éxito reproductivo. La proporción de botones que se desarrollan a frutos en un individuo focal puede disminuir como resultado del incremento en la frecuencia de cruza geitonogámicas (intra-ramet o Inter-ramet) al menos en algunos periodos de tiempo. Este tipo de cruza son particularmente importantes cuando existe algún proceso que restringe la formación de semillas viables por autocruza como es el caso de *F. robustus*, que parece tener algún sistema de autoincompatibilidad (Piña, 2000) y experimenta depresión endogámica (Piña, 2000; Trujillo, 2002). Los niveles de geitonogamia que puede experimentar un individuo parecen estar determinados por la influencia de factores como el comportamiento de los polinizadores y la distribución espacial de individuos que comparten el mismo genotipo.

La influencia del comportamiento de los polinizadores se infiere de evidencia presentada en estudios previos. Piña (2000) encontró que los polinizadores de *F. robustus*, (abejas: *Diadasia* sp., *Ashmeadiella* sp. y *Perdita azteca*) tienden a mover el polen a distancias cortas (15 metros) y presentan patrones de visitas recurrentes (visitan una flor más de una vez). Trujillo (2002) por otra parte, sugiere que en *F. robustus* la presencia de varias flores en un mismo individuo puede incrementar sus niveles de autocruza, debido a que las abejas polinizadoras tienden a moverse entre flores cercanas, comportamiento que ha sido observado anteriormente en diferentes especies de abejas (Handel, 1985; Richards, 1997; Nuortila et al., 2002).

Adicionalmente, los resultados encontrados en este trabajo sugieren que la

proporción de botones que culminan su desarrollo a frutos en un individuo determinado, disminuye al incrementarse el número de flores en las plantas vecinas y la proporción de flores con el mismo genotipo. Esta tendencia puede esperarse para ambas variables de predicción si el incremento en el número de flores con el mismo genotipo que la planta focal corresponde (está correlacionada) a un incremento en el número de flores en los vecinos. No obstante, estas variables no estuvieron correlacionadas y entre las dos explican una parte importante de la varianza en la proporción de botones que se desarrollan a fruto en un individuo focal, más aún la interacción entre el número de flores con el mismo genotipo que la planta focal y el número de flores en los vecinos fue significativa indicando que el comportamiento de una sola variable se modifica cuando se consideran las dos variables en conjunto. Así, un incremento en el número de flores en los vecinos no necesariamente implica una mayor proporción de flores del mismo genotipo que la planta focal ni una disminución en la proporción de botones que se desarrollan a fruto en el individuo focal.

Estos resultados pueden entenderse con más claridad analizando el comportamiento de las tres variables empleadas en el análisis (AsenoPBF, BV/BF y PFGIF), el cual puede resumirse en 8 categorías (cuadro 4, ver anexo 4).

Cuadro 4 Comportamiento de la proporción de botones que se desarrollan a frutos en el individuo focal (AsenoPBF), número de flores en los vecinos por flor del individuo focal (BV/BF) y probabilidad de que una flor dentro del área de dispersión de polen de un individuo focal tenga el mismo genotipo que este (PFGIF). Valores altos (\uparrow) y bajos (\downarrow) de las variables respecto al valor promedio de la mismas para 32 individuos focales. \approx representa valores muy próximos al promedio.

cat	número de observaciones	AsenoPBF	BV/BF	PFGIF
1	8	\uparrow	\downarrow	\approx
2	2	\uparrow	\uparrow	\downarrow
3	2	\uparrow	\approx	\approx
4	3	\uparrow	\downarrow	\uparrow
5	1	\approx	\downarrow	\downarrow
6	7	\downarrow	\downarrow	\uparrow
7	4	\downarrow	\uparrow	\downarrow
8	5	\downarrow	\uparrow	\uparrow

La tendencia general es que los valores de la proporción de botones que se desarrollan a frutos en un individuo focal disminuyen hacia valores altos del número de flores en los vecinos por flor del individuo focal y de la probabilidad de que una flor dentro del área de dispersión de polen de un individuo focal tenga el mismo genotipo que este. Esta tendencia puede ser explicada por la frecuencia de observaciones en cada categoría de comportamiento de las variables (cuadro 4). El comportamiento de las variables en seis de las ocho categorías (categorías 2 a 4, 6 a 8) concuerdan con la tendencia esperada de mayores niveles de aborto de frutos en individuos que tienen mayores probabilidades de experimentar cruza geitonogámicas. Los diferentes escenarios pueden resumirse así: i) Cuando las flores de los vecinos son abundantes y tienen genotipo distinto un mayor número de flores se transforman a fruto (categoría 2), ii) Una disminución en la cantidad de flores vecinas con distinto genotipo incrementa los niveles de geitonogamia, ya sea por que el individuo focal tiene varias flores o por que algunos vecinos reproductivos son genéticamente idénticos (categorías 3, 4 y 7), iii) Los niveles de geitonogamia pueden ser muy altos cuando los vecinos reproductivos genéticamente idénticos presentan muchas flores (categoría 8). Así, estos tres escenarios en conjunto pueden explicar la tendencia general que muestra la producción de frutos de los individuos focales. No obstante, dos casos que llaman la atención por la frecuencia de observaciones que incluyen son las categorías 1 y 7 (cuadro 4). El

comportamiento de las variables en estos casos pueden explicarse en parte por la ubicación y número de flores de los individuos focales. Los individuos en ambas categorías tienden a estar alejados de otros individuos reproductivos (ver figura 2 del anexo 4), pero los de la categoría 1 presentan mayor número de flores en promedio ($\bar{x} = 3.9$, D.E. = 3.6) que los de la categoría 7 ($\bar{x} = 1.3$, D.E. = 0.6). En estas condiciones un individuo aislado que presenta varias flores es más probable que atraiga polinizadores y pueda experimentar algún tipo de cruce que uno con pocas flores. El estar alejado de otros vecinos reproductivos también aumenta las probabilidades de que el polen que le llega sea de individuos genéticamente distintos, lo cual puede favorecer la entrecruza y el desarrollo de más frutos. Estos resultados sugieren también que el polen puede ser dispersado más allá de 15 metros.

El efecto observado a nivel del desarrollo de botones a frutos probablemente se deba en unos casos a que las flores pueden ser saturadas con polen incompatible y no iniciar siquiera el desarrollo a frutos, no obstante en otros casos la proporción de polen compatible e incompatible que recibe una flor puede ser variable y así el desarrollo del fruto estaría determinado por la cantidad de óvulos fecundados. Se ha reportado que los frutos con pocos óvulos fecundados son más susceptibles de ser abortados (Stephenson, 1981; Lee, 1988; Richards, 1997), debido a que su desarrollo puede ser inhibido por el consumo de recursos para la producción de sustancias de crecimiento en frutos que contienen más semillas (Lee, 1988). El incremento en los niveles de geitonogamia provocado por la cercanía de individuos reproductivos genéticamente idénticos ha sido reportado en varias especies clonales (Handel, 1985; Trame et al. 1995; Mahy y Jacqkemat, 1999; Nuortila et al., 2002; Clarck-Tapia, 2004) y en algunos de estos casos también se ha reportado que las cruces geitonogámicas afectan la producción de frutos y semillas debido a la presencia de sistemas de autoincompatibilidad o a la expresión de alelos deletéreos durante el desarrollo de las semillas (Trame et al., 1995; Mandujano et al., 1996; Mahy y Jacqkemat, 1999; Nuortila et al., 2002; Plasencia, 2003; Clarck-Tapia, 2004; Tarasjev, 2005). Finalmente es importante considerar el aspecto del largo periodo de desarrollo y la disponibilidad del recurso hídrico en la respuesta de la proporción de botones que se desarrollan a fruto como fue mencionado anteriormente (ver sección 5.2).

Es importante considerar que los patrones de movimiento de los polinizadores en

las flores así como el comportamiento reproductivo de los individuos puede variar a lo largo del tiempo, debido al cambio de condiciones ambientales (e. g., años con mayor precipitación y lluvias distribuidas a lo largo del periodo de desarrollo de los frutos) que pueden favorecer la producción de más flores y frutos, por lo que es necesario hacer estudios de largo plazo (incluyendo distintos años) que permitan analizar la variación temporal. Adicionalmente, es necesario hacer una evaluación precisa del efecto de la cantidad de flores abiertas sobre los patrones de cruce y el éxito reproductivo a nivel individual considerando la identidad genética de los individuos focales y de sus vecinos reproductivos, asimismo es necesario hacer experimentos de cruces controladas entre individuos genéticamente idénticos y genéticamente distintos que permitan evidenciar la presencia de sistemas de autoincompatibilidad o evaluar el desempeño de descendientes producidos por autocruza y entrecruza para detectar el efecto de la depresión endogámica.

5.6 Consideraciones finales e importancia para la conservación. La información en conjunto generada en este estudio sugiere que la propagación clonal a través del desprendimiento de fragmentos y la muerte de grupos de tallos en un individuo (muerte tisular) influyen de manera importante en el patrón de distribución espacial agregado que presentan los individuos de *F. robustus* en la población (Plan de Fierro, Puebla). No obstante la agregación de individuos al parecer es influida por otros factores, probablemente la distribución de arbustos que funcionaron como nodrizas, muchos de los cuales no se encuentran actualmente. Los factores que determinan los procesos de fragmentación y muerte tisular por propagación clonal en *F. robustus* se desconocen, pero probablemente el análisis de la anatomía, estructura vascular de la especie y los patrones de flujo de recursos entre tallos o conjuntos de tallos al interior de un individuo, permita entender estos procesos.

La integración de nuevos individuos a la población se lleva a cabo principalmente de forma vegetativa. Sin embargo contrario a lo esperado, la diversidad genética en la población fue alta, debido probablemente a la integración poco frecuente (pero suficiente) de nuevos genotipos y el mantenimiento de genotipos ya existentes por propagación clonal a lo largo del tiempo. En contraste con la ventaja que puede representar el mantener varios genotipos de manera indefinida (i. e., originar descendencia genéticamente variable con la posibilidad de establecerse y sobrevivir en

condiciones impredecibles) la propagación clonal en *F. robustus* puede afectar el éxito reproductivo individual al favorecer la distribución agregada de individuos reproductivos genéticamente idénticos y las cruzas entre los mismos (cruzas geitonogámicas intra-ramet e inter-ramet). En *F. robustus* muchos frutos pueden ser abortados cuando las flores presentan una alta proporción de polen proveniente de flores vecinas con el mismo genotipo, ya que la especie presenta algún mecanismo que restringe la formación de semillas por autofecundación (Piña, 2000; Trujillo, 2002). Este escenario lleva a pensar en las consecuencias de la propagación clonal en la producción de descendencia vía sexual y en las implicaciones de esto en la persistencia de poblaciones de especies clonales de vida larga. No obstante, para explorar estos cuestionamientos se requieren hacer evaluaciones a largo plazo, particularmente en el caso de cactáceas de zonas áridas en las que el reclutamiento vía sexual suele ocurrir durante pulsos ambientales en los que se incrementa la disponibilidad del recurso hídrico (Jelinski y Cheliak, 1992; Mandujano et al. 1996; Piña, 2000; Mandujano et al. 2002).

En un principio (sección 1) se mencionó que este tipo de estudios proporcionaban información de gran importancia en aspectos de conservación de cactáceas clonales como *F. robustus*, debido a que el conocimiento de la distribución espacial a diferentes escalas (i. e., a nivel de la población y entre individuos con igual o distinto genotipo) permite evaluar con más precisión el impacto de actividades humanas (e. g., apertura de brechas y caminos, cercanía a núcleos de población en crecimiento, etc.) en poblaciones de estas especies. Desde luego que la importancia de este tipo de estudios en términos de conservación puede extenderse a cualquier especie clonal, sin embargo se hace hincapié en las cactáceas por ser especies muy longevas y a menudo de distribución restringida a una región geográfica relativamente pequeña (e. g., *F. robustus* es una especie endémica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán). Las cactáceas son además un grupo de plantas cuyas poblaciones han sido afectadas por la extracción ilegal de individuos (por su valor ornamental en muchos casos) y por actividades asociadas al crecimiento de núcleos de población humana. En particular la población estudiada fue afectada por la apertura de tres brechas en el periodo entre enero y agosto del 2004. Las brechas tienen aproximadamente 10 metros de ancho y se estima que cerca de 130 individuos de la población fueron removidos (Carrillo-Angeles et al. 2005). Una estimación de λ ($= N_{t+1}/N_t$) para el periodo de estudio indica

que la población se redujo en 30 % en menos de un año, tendencia que puede continuar debido al crecimiento de un núcleo de población humana (Plan de Fierro, Puebla) colindante con la población de *F. robustus*. Cabe mencionar que el estudio demográfico en esta población no pudo llevarse a cabo, debido a que la población fue afectada con esta construcción.

La información disponible hasta el momento sugiere que *F. robustus* puede ser una especie particularmente vulnerable al impacto de actividades humanas que modifiquen la distribución de los individuos, debido a que puede tener consecuencias importantes sobre los niveles de entrecruza en la población (debido a una dispersión limitada de polen) y así probablemente limitar las posibilidades de generar descendencia por reproducción sexual. Por otro lado, las poblaciones conocidas de *F. robustus* en general muestran impacto por actividades humanas tales como apertura de caminos, carreteras, desmonte para sembradíos y crecimiento de núcleos de población, en este contexto, es probable que varios genotipos sean eliminados si la propagación clonal es el principal medio para generar descendientes en las poblaciones, ya que al favorecer la agregación de individuos genéticamente idénticos las probabilidades de que un genotipo permanezca en la población al ser eliminada una parte de la vegetación es baja. Por último es importante mencionar que a diferencia de otras especies de cactáceas en la región esta especie no se encuentra en ninguna categoría de protección dentro de la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-Semarnat-2001) y es probable que algunas de sus poblaciones estén excluidas de la normatividad que protege a las especies dentro de la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán (Carrillo-Angeles et al., 2005). Finalmente es importante mencionar que como producto de esta especie se hizo una propuesta para incluir a la especie en la categoría de peligro de extinción; lo anterior se fundamentó con la aplicación del MER (Método de Evaluación de Riesgo, NOM-059-Semarnat-2001). La propuesta se presentó durante la convocatoria del 2005 de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) para modificar la Norma Oficial Mexicana.

6. LITERATURA CITADA

- Angevine, M. W. y S. N. Handel. 1986. Invasion of forest floor space, clonal architecture, and population growth in the perennial herb *Clintonia borealis*. *Journal of Ecology* **74**: 547- 560.
- Arévalo, J. R. y J. M. Fernández-Palacios. 2003. Spatial patterns of trees and juveniles in a laurel forest of Tenerife, Canary Islands. *Plant Ecology* **165**: 1-10.
- Arias, M. S., S. López y L. U. Guzmán. 1997. Flora del Valle de Tehuacán – Cuicatlán, fascículo 14. Instituto de Biología, UNAM. 146 p.
- Ayres, D. R. y F. J. Ryan. 1999. Genetic diversity and structure of the narrow endemic *Wyethia reticulata* and its congener *W. bolanderi* (Asteraceae) using RAPD and allozyme techniques. *American Journal of Botany* **86**: 344-353.
- Barbour, M. G., J. H. Burk y W. D. Pitts. 1987. Terrestrial Plant Ecology, 2nd. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. U.S.A. 634 p.
- Bowers, J. E. 1997a. The effect of drought on engelmann prickly pear (Cactaceae: *Opuntia engelmannii*) fruit and seed production. *The Southwestern Naturalist* **42**: 240-242.
- Bravo-Hollis, H. y Sánchez-Mejorada, H. 1991. Las Cactáceas de México Vol. II. UNAM, México, D. F., 404 pp.
- Brzosko, E., A. Wroblewska y M. Ratkiewicz. 2002. Spatial genetic structure and clonal diversity of island populations of lady's slipper (*Cypripedium calceolus*) from the Biebrza National Park (northeast Poland). *Molecular Ecology* **11**: 2499-2509.
- Burke, J. M., M. R. Bulger, R. A. Wesselingh y M. L. Arnold. 2000. Frequency and spatial patterning of clonal reproduction in Louisiana iris hybrid populations. *Evolution* **54**: 137-144.
- Carrillo-Angeles, I. G., J. Golubov, M. Rojas-Aréchiga y Mandujano M. C. 2005. Distribución y estatus de conservación en *Ferocactus robustus* (Pfeiff.) Britton & Roose. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **50**: 36-55.
- Charpentier, A., P. Grillas y J. D. Thompson. 2000. The effects of population size limitation on fecundity in mosaic populations of the clonal macrophyte *Scirpus maritimus* (Cyperaceae). *American Journal of Botany*. **87**: 502-507.

- Chen, J. y A. Bradshaw. 1999. Forest structure in space: a case study of an old growth spruce-fir forest in Changbaishan Natural Reserve, PR China. *Forest Ecology and Management* **120**: 219-233.
- Cheplick, G. P. y C. M. Gutierrez. 2000. Clonal growth and storage in relation to competition in genets of the rhizomatous perennial *Anphibromus scabrivalvis*. *Canadian Journal of Botany* **78**: 537-546.
- Clark-Tapia, R. 2004. Estructura clonal, demografía y biología reproductiva de *Stenocereus eruca* (Cactaceae) en las planicies de Magdalena, B. C. S. Tesis de Doctorado. Instituto de Ecología, UNAM. México D. F.
- Clark-Tapia, R., C. Alfonso-Corrado, L. E. Eguiarte y F. Molina-Freaner. 2005b. Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca* (CACTACEAE), a narrow endemic cactus of the Sonoran Desert. *American Journal of Botany* **92**: 272-278.
- Clark-Tapia, R., M. C. Mandujano, T. Valverde, A. Mendoza y F. Molina. 2005a. How important is clonal recruitment for population maintenance in rare plant species?: the case of the narrow endemic cactus, *Stenocereus eruca*, in Baja California Sur, México. *Biological Conservation* **124**: 123-132.
- Cody, L. M. 1993. Do cholla cacti (*Opuntia* spp., Subgenus *Cylindropuntia*) use or need nurse plants in the Mojave Desert. *Journal of Arid Environment* **24**: 139-154.
- Coutron, P. y K. Kokou. 1997. Woody vegetation spatial patterns in a semi-arid savanna of Burkina Faso, West Africa. *Plant Ecology* **132**: 211–227.
- Dar, S., M. Coro y A. Valiente-Banuet. 2006. Diurnal and Nocturnal Pollination of *Marginatocereus marginatus* (Pachycereeae: Cactaceae) in Central Mexico. *Annals of Botany* **97**: 423–427.
- De la Cruz, M., F. Ramírez y H. Hernández. 1997. DNA isolation and amplification from cacti. *Plant Molecular Biology Reporter* **15**: 319-325.
- De Viana, M. L., N. Acreche, R. Acosta y L. Moraña. 1990. Población y asociaciones de *Trichocereus pasacana* (Cactaceae) en Los Cardones, Argentina. *Revista Biología Tropical* **38**: 383–386.
- De Viana, M. L., S. Sührling y B.F.J. Manly. 2001. Application of randomization methods to study the association of *Trichocereus pasacana* (Cactaceae) with potential nurse plants. *Plant Ecology* **156**: 193-197.

- Diaz, M.P.G. 1991. Efectos dependientes de la densidad en una cactácea columnar (*Neobuxbaumia tetetzo*) del Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Dorken, E. y C. G. Eckert. 2001. Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Journal of Ecology* **89**: 339-350.
- Eckert, C. G. 2000. Contributions of autogamy and geitonogamy to self-fertilization in a mass-flowering, clonal plant. *Ecology* **81**: 532-542.
- Ellstrand, N. C. y M. L. Roose. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany* **74**: 123-131.
- Eriksson, O. 1993. Dynamics of genets in clonal plants. *Trends in Ecology and Evolution* **8**: 313 – 316.
- Eriksson, O. 1997. Clonal life histories and the evolution of seed recruitment. In: H. de Kroon and J. van Groenendael (eds.). *The ecology and evolution of clonal plants*. Backhuys Publishers; pp. 211-226.
- Eriksson, O. y B. Bremer. 1993. Genet dynamics of the clonal plant *Rubus saxatilis*. *Journal of Ecology* **81**: 533-542.
- Everitt, B. S. 1977. *The analysis of contingency tables*. Chapman & Hall, Great Britain.
- Fager, E. W. 1972. Diversity: a sampling study. *American Naturalist* **106**: 293-310.
- Flores-Martínez, A., G. I. Manzanero, G. C. Martínez y G. S. Pacheco. 2002. Aspectos sobre la ecología y reproducción de *Mammillaria kraehenbuehlii* (Kraenz) Kraenz en la mixteca de Oaxaca, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **47**: 57-68.
- García, E. 1981. Modificaciones al sistema climático de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM, México, 239 p.
- García-Fayos, P. y M. Gasque. 2002. Consequences of a severe drought on spatial patterns of woody plants in a two-phase mosaic steppe of *Stipa tenacissima* L. *Journal of Arid Environments* **52**: 199–208.
- Gibson, D. J. y E. S. Menges. 1994. Population structure and spatial pattern in the dioecious shrub *Ceratiola ericoides*. *Journal of Vegetation Science* **5**: 337-346.
- Godínez-Álvarez, H., T. Valverde y P. Ortega-Baes. 2003. Demographic Trends in the Cactaceae. *The Botanical Review* **69**: 173–203.

- Golubov, J., L. E. Eguiarte, M. C. Mandujano, J. López-Portillo y C. Montaña. 1999. Why be a honeyless honey mesquite? Reproduction and mating system of nectarful and nectarless individuals. *American Journal of Botany* **86**: 955-963.
- Handel, S. N. 1985. The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding system. *The American Naturalist* **125**: 367-384.
- Hangelbroek, H. H., N. J. Ouborg, L. Santamaria y K. Schwenk. 2002. Clonal diversity and structure within a population of the pondweed *Potamogeton pectinatus* foraged by Bewick's swans. *Molecular Ecology* **11**: 2137-2150.
- Hara, M., H. Kanno, Y. Hirabuki y A. Takehara. 2004. Population dynamics of four understorey shrub species in beech forest. *Journal of Vegetation Science* **15**: 475-484.
- Harper, J. L. 1983. Population Biology of Plants. Academic Press. Great Britain. 892 p.
- Harper, J. L. 1985. Modules, branches, and the capture resources; pp 1-33. En Jackson, J. B. C., L. W. Buss y R. E. Cook. Population biology and evolution of clonal organisms. Yale University Press. New Haven and London.
- Hernández-Oria, J. G., R. Chávez, G. Galindo, M. M. Hernández, G. Lagunas, R. Martínez, T. Mendoza, J. L. Sánchez y E. Sánchez. 2003. Evaluación de aspectos ecológicos de una nueva población de *Mammillaria mathildae* Kraehenbuehl & Krainz en Querétaro. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **48**: 100-110.
- Hicks, D. J. y A. Mauchamp. 2000. Population structure and growth patterns in *Opuntia echios* var. *gigantea* along an elevational gradient in the Galápagos islands. *BIOTROPICA* **32**:235-243.
- Irwin, R. E. y A. K. Brody. 1999. Nectar-robbing bumble bees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). *Ecology* **80**: 1703-1712.
- Jackson, J. B. C., L. W. Buss y R. E. Cook. 1985. Population biology and evolution of clonal organisms. Yale University Press. New Haven and London; 511 p.
- Jelinsky, D. E. y W. M. Cheliak. 1992. Genetic diversity and spatial subdivision of *Populus tremuloides* (Salicaceae) in a heterogeneous land-scape. *American Journal of Botany* **79**: 728-736.
- Kachigan, S. K. 1986. Statistical Analysis: An Interdisciplinary Introduction to Univariate & Multivariate Methods. Radius Press. N.Y. U.S.A; 589 p.

- Kanno, H. y K. Seiwa. 2004. Sexual vs. vegetative reproduction in relation to forest dynamics in the understory shrub, *Hydrangea paniculata* (Saxifragaceae). *Plant Ecology* **170**: 43-53.
- Krebs J. C. 1999. *Ecological Methodology*, 2nd. Addison Wesley Longman, Inc. U.S.A. 620 p.
- Lee, T. D. 1988. Patterns of fruit and seed production; pp 179-202. En Lovett-Doust J. and Lovett-Doust L. *Plant reproductive ecology, patterns and strategies*. Oxford University Press.
- Leirana-Alcocer, J. y V. Parra-Tabla. 1999. factors affecting the distribution, abundance and seedling survival of *Mamillaria gaumeri*, an endemic cactus of coastal Yucatan, México. *Journal of Arid Environments* **41**: 421-428.
- Liston, A., B. L. Wilson, W. A. Robinson, P. S. Doescher, N. R. Harris y T. Svejcar. 2003. The relative importance of sexual reproduction versus clonal spread in aridland bunchgrass. *Oecologia* **137**: 216-225.
- Lovett Doust, L. 1981. Population dynamics and local specialization in a clonal perennial (*Ranunculus repens* L.). The dynamics of ramets in contrasting habitats. *Journal of Ecology* **69**, 743-755.
- Mahy, G. y A. Jacquemart. 1999. Early inbreeding depression and pollen competition in *Calluna vulgaris* (L.) Hull. *Annals of Botany* **83**: 697-704.
- Mandujano, M. C. La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones. En: *Biología Molecular: Perspectivas y aplicaciones*. Editores. Eguiarte, L. & V. Souza. UNAM. Aceptado.
- Mandujano, M. C., A. Flores-Martínez, J. Golubov y E. Ezcurra. 2002. Spatial distribution of three globose cacti in relation to different nurse-plant canopies and bare areas. *The Southwestern Naturalist* **47**: 162-168.
- Mandujano, M. C., C. Montaña y L. E. Eguiarte. 1996. Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (CACTACEAE) in the Chihuahuan desert: Why are sexually derived recruitments so rare?. *American Journal of Botany* **83**: 63 – 70.

- Mandujano, M. C., C. Montaña, I. Méndez y J. Golubov. 1998. The relative contributions of sexual reproduction and clonal propagation in *Opuntia rastrera* from two habitats in the Chihuahuan desert. *Journal of Ecology* **86**: 911-921.
- Mandujano, M. C., C. Montaña, M. Franco, J. Golubov y A. Flores-Martínez. 2001. Integration of demographic annual variability in a clonal desert cactus. *Ecology* **82**: 344-359.
- Mangadas, L. G. y J. E. D. Fox. 2002. Reproductive potential of *Acacia* species in the central wheatbelt: variation between years. *Conservation Science W. Aust.* **4**: 147–157.
- Marshall, C. y E. A. C. Price. 1997. Sectoriality and its implications for physiological integration; pp 79-107. En H. de Kroon y J. van Goenendael. The ecology and evolution of clonal plants. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.
- Martínez, D., A. Flores-Martínez y G. Manzanero. 2001. Aspectos ecológicos de *Mammillaria oteroi* Glass & R. Foster en la región Mixteca de Oaxaca, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **46**: 32-39.
- Martínez, J. G., H. Suzán y C. A. Salazar. 1993. Aspectos ecológicos y demográficos de *Ariocarpus trigonus* (Weber) Schumann. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **38**: 30–38.
- Martínez, J. G., H. Suzán y C. A. Salazar. 1994. Aspectos ecológicos y demográficos de *Neolloydia pseudopectinata* (Backeberg) E. F. Anderson. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **39**: 27–33.
- Martínez, M. L. 2003. Facilitation of seedling establishment by an endemic shrub in tropical coastal sand dunes. *Plant Ecology* **168**: 333–345.
- Martínez-González, J. C., A. López-Jiménez, J. P. Cruz-Hernández y A. Delgado-Alvarado. 2001. Poda y época de despunte en cladodios de nopal tunero. *Agrociencia* **35**: 159-167.
- Mc. Aulife, J. R. 1984. Sahuaro-nurse associations in the Sonoran Desert: competitive effects of sahuaros. *Oecologia* **64**: 319-321.
- Meyrán, G.J. 1973. Guía botánica de cactáceas y otras suculentas del Valle de Tehuacan. Sociedad Mexicana de Cactología, A. C., México.

- Nassar, J. M. y N. Ramírez. 2004. Reproductive biology of the melon cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution* **248**: 31-44.
- Navarro-Carbajal, M. C. y A. Flores-Martínez. 2002. Aspectos demográficos de *Echinocereus pulchellus* var. *pulchellus* en el Municipio de Chignahuapan Puebla. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **47**: 24-32.
- Navas, M. L. y E. Garnier. 1990. Demography and growth forms of the clonal perennial *Rubia peregrina* in mediterranean vineyard and unmanaged habitats. *Journal of Ecology* **78**: 691-712.
- Neal, P. R. y G. J. Anderson. 2005. Are 'mating systems' 'breeding systems' of inconsistent and confusing terminology in plant reproductive biology? or is it the other way around? *Plant Systematics and Evolution*. **250**: 173–185.
- Nuortila C., J. Tuomi y K. Laine. 2002. Inter-parent distance affects reproductive success in two clonal dwarf shrubs, *Vaccinium myrtillus* and *Vaccinium vitis-idaea* (Ericaceae). *Canadian Journal of Botany* **80**: 875-884.
- Oaxaca-Villa, B., A. Casas y A. Valiente-Banuet. 2006. Reproductive biology in wild and silvicultural managed populations of *Escontria chiotilla* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* **53**: 277–287.
- Okuda, T., N. Kachi, S. K. Yap y N. Manokaran. 1997. Tree distribution pattern and fate of juveniles in a lowland tropical rain forest – implications for regeneration and maintenance of species diversity. *Plant Ecology* **131**: 155–171.
- Olejniczak, P. 2003. Optimal allocation to vegetative and sexual reproduction in plants: the effect of ramet density. *Evolutionary Ecology* **17**: 265-275.
- Olivares, A., M. Johnston y E. Salas. 2004. Distribución de la precipitación y producción de semillas de alfilerillo, *Erodium moschatum* (L.) L' Hér. *Agricultura Técnica (CHILE)* **64**:251-263.
- Palleiro, N. 2001. Propagación vegetativa a través de frutos abortados de *Opuntia microdasys* (Lehmann) Pfeiffer, en el Desierto Chihuahuense. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México D. F.

- Palleiro, N., M. C. Mandujano y J. Golubov. 2006. Aborted fruits of *Opuntia microdasys* (CACTACEAE): insurance against reproductive failure. *American Journal of Botany* **93**: en prensa.
- Parker, K. C. y J. L. Hamrick. 1992. Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *American Journal of Botany* **79**: 86-96.
- Piña, H. H. 2000. Ecología reproductiva de *Ferocactus robustus* en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas - IPN. México D. F.
- Plasencia, L. M. T. 2003. Biología reproductiva de *Opuntia bradtiana* (Cactaceae) en Cuatro Ciénegas, Coahuila. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México D. F.
- Rebele, F. 2000. Competition and coexistence of rhizomatous perennial plants along a nutrient gradient. *Plant Ecology* **147**: 77–94.
- Reyes-Agüero, J. A., J. R. Aguirre y Valiente-Banuet A. 2006. Reproductive biology of *Opuntia*: A review. *Journal of Arid Environments* **64**: 549–585.
- Reyes-Olivas, A., E. G. Moya y L. Lopez-Mata. 2002. Cacti-shrub interactions in the coastal desert of northern Sinaloa, México. *Journal of arid Environments* **52**: 431-445.
- Richards, A. J. 1997. Plant Breeding Systems. 2nd edition. Chapman & Hall, Great Britain. 529 p.
- Rietkerk, M., T. Ouedraogo, L. Kumar, S. Sanou, F. Van Langevelde, A. Kiema, J. Van de Koppel, J. Van Andel, J. Hearne, A. K. Skidmore, N. De Ridder, L. Stroosnijder y H. H. T. Prins. 2002. Fine-scale spatial distribution of plants and resources on a sandy soil in the Sahel. *Plant and Soil* **239**: 69–77.
- Rodríguez-Ortega, C. y E. Ezcurra. 2000. Distribución espacial en *Mammillaria pectinifera* y *M. carnea* en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, México. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* **45**: 4-14.
- Rzedowski, J. 1994. Vegetación de México. Editorial Limusa. México. 432 p.
- Sahley, C. T. 1996. Bat and hummingbird pollination of an autotetraploid columnar cactus, *Weberbauerocereus weberbaueri* (Cactaceae). *American Journal of Botany* **83**: 1329-1336.

- Schenk, H. J. 1999. Clonal splitting in desert shrubs. *Plant Ecology* **141**:41-52.
- Schenk, H. J., Holzapfel C., Hamilton J. G. y B. Mahall. 2003. Spatial ecology of a small desert shrub on adjacent geological substrates. *Journal of Ecology* **91**: 383–395.
- Severns, P. 2003. Inbreeding and small population size reduce seed set in a threatened and fragmented plant species, *Lupinus sulphureus* (Fabaceae). *Biological Conservation* **110**: 221-229.
- Shimizu, Y, M. Ando y F. Sakai. 2002. Clonal structure of natural populations of *Cryptomeria japonica* growing at different positions on slopes, detected using RAPD markers. *Biochemical Systematics and Ecology* **30**: 733-748.
- Shreve, F. 1917. The establishment of desert perennials. *Journal of Ecology* **5**: 210-216.
- Stephenson, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximates causes and ultimate function. *Annual Review of Ecology and Systematics* **12**: 253-281.
- Tarasjev, A. 2005. Impact of genet size and flowering stage on fruit set in *Iris pumila* L. clones in wild. *Acta Oecologica* **27**: 93-98.
- Tewskbury, J. J. y J. D. Lloyd. 2001. Positive interactions under nurse-plants: spatial scale, stress gradients and benefactor size. *Oecologia* **127**:425-434.
- Torimaru, T., N. Tomaru, N. Nishimura y S. Yamamoto. 2003. Clonal diversity and genetic differentiation in *Ilex leucoclada* M. patches in a old-growth beech forest. *Molecular Ecology* **12**: 809-818.
- Trame, A. M., A. J. Coddington y K. N. Palge. 1995. Field and genetic studies testing optimal outcrossing in *Agave schottii*, a long-lived clonal plant. *Oecologia* **104**: 93-100.
- Trujillo, A. T. 2002. Germinación y establecimiento de *Ferocactus robustus*. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas - IPN.
- Ueno, S., N. Tomaru, H. Yoshimaru, T. Manabe y S. Yamamoto. 2000. Genetic structure of *Camellia japonica* L. in an old-growth evergreen forest, Tsushima, Japan. *Molecular Ecology* **9**: 647-656.
- Valiente-Banuet A., F. Vite y J. Zavala-Hurtado. 1991a. Interaction between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse shrub *Mimosa lusiana*. *Journal of Vegetation Science* **2**: 11-14.

- Valiente-Banuet, A. 2002. Vulnerabilidad de los sistemas de polinización de cactáceas columnares de México. *Revista Chilena de Historia Natural* **75**: 99-104.
- Valiente-Banuet, A., A. Bolongaro-Crevenna, O. Briones, E. Ezcurra, M. Rosas, H. Nuñez, G. Barnard y E. Vázquez. 1991b. Spatial relationships between cacti and nurse shrubs in a semiarid environment in central México. *Journal of Vegetation Science* **2**: 15-20.
- Valverde, T y I. Pisanty. 1999. Growth and vegetative spread of *Schizachyrium scoparium* var. *littoralis* (Poaceae) in sand dune microhabitats along a successional gradient. *Canadian Journal of Botany* **77**: 219-229.
- Warburton, C. L., E. A. James, Y. J. Fripp, S. J. Trueman y H. M. Wallace. 2000. Clonality and sexual reproductive failure in remnant populations of *Santalum lanceolatum* (Santalaceae). *Biological Conservation* **96**: 45-54.
- Willson M. F. 1983. Plant Reproductive Ecology. John Wiley & Sons. U.S.A. 282 p.
- Wolf, A. T., S.P. Harrison y J. L. Hamrick. 2000. Influence of habitat patchiness on genetic diversity and spatial structure of a serpentine endemic plant. *Conservation Biology* **14**: 454-463.
- Yeaton, R. I. 1978. A cyclical relationship between *Larrea tridentata* and *Opuntia leptocaulis* in the Northern Chihuahuan Desert. *Journal of Ecology* **66**: 651-656.
- Zúñiga, B., G. Malda y H. Suzán. 2005. Interacciones Planta-Nodriza en *Lophophora diffusa* (Cactaceae) en un Desierto Subtropical de México. *BIOTROPICA* **37**: 351–356.

7. ANEXOS

ANEXO 1

Resultados del ANOVA para establecer las categorías de tamaño en función de la producción de estructuras reproductivas (flores y frutos).

Fuente	g. l.	SC	CM	F	P
Modelo	14	703.93	50.28	13.045	< 0.0001
Residual	285	1098.50	3.85		
Total	299	1802.44			

Comparaciones entre clases de tamaño

clases	<i>t</i>	<i>P</i>
3 vs 4	-1.561	0.110
(3 y 4) vs 5	-2.553	0.010
5 vs 6	0.481	0.630
(5 y 6) vs 7	0.373	0.700
(5 a 7) vs 8	-2.731	0.006
8 vs 9	-1.604	0.108
(8 y 9) vs 10	-1.175	0.240
(8 a 10) vs 11	0.694	0.487
(8 a 11) vs 12	1.000	0.318
(8 a 12) vs 13	-5.825	< 0.0001
13 vs 14	-0.913	0.362
(13 y 14) vs 15	2.518	0.012
15 vs 16	-0.277	0.782
(15 y 16) vs 17	-0.378	0.705

Los valores significativos de *P* se muestran en negritas

clase	número de tallos	clase	número de tallos
3	51-100	11	501-600
4	101-150	12	601-700
5	151-200	13	701-800
6	201-250	14	801-900
7	251-300	15	901-1000
8	301-350	16	1001-1100
9	351-400	17	1101-1200
10	401-500		

ANEXO 2

Peso molecular de las bandas polimórficas empleadas en el análisis.

PRIMER	PESO MOLECULAR DE LAS BANDAS (pb)
A11	350, 438, 650, 730, 870, 1000, 1490, 1530, 1589, 1638, 2395, 2680
F14	793, 947, 1018, 1135, 1241, 1408, 1622, 1722, 1879, 2036, 2167
G18	490, 510, 575, 692, 863, 1057, 1322, 1397, 1480, 1547, 1720, 1949, 2165, 2540

ANEXO 3

SELECCIÓN DE VARIABLES DE RESPUESTA PARA EL ANÁLISIS DE REGRESIÓN MÚLTIPLE

Para seleccionar las variables de respuesta se determinó la correlación entre pares de variables (7 variables, ver sección 3.9). Para cada par de variables se calculó el Coeficiente de Correlación Rho de Spearman (debido a que las variables de respuesta no tienen distribución normal), el cual emplea la fórmula del coeficiente de Pearson Producto-Momento: $r = \{\Sigma(x - \bar{x})(y-\bar{y})\} / \{\sqrt{(x - \bar{x})^2} \sqrt{(y-\bar{y})^2}\}$, pero utiliza los valores categorizados de las variables (ver en JMP V.5.0.1, SAS Institute, Inc. 2002). Los resultados del análisis de correlación se muestran en el cuadro 1 de este anexo.

Siglas empleadas para cada variable en el análisis

Variable de respuesta

Aseno \sqrt proporción de frutos que produjo cada individuo focal (AsenoPBF)

Variables de predicción:

Cociente número de flores de los vecinos/flores de la planta focal (BV/BF)

Probabilidad de que una flor dentro del área de dispersión de polen del individuo focal tenga el mismo genotipo que este (PFGIF)

Tamaño (número de tallos) del individuo focal (NTF)

Número de vecinos reproductivos (NVR)

Número promedio de flores en la planta focal (NFF)

Número promedio de flores en los vecinos (NFV)

Proporción de genotipos distinguibles (G/N)

Cuadro 1. Valores del Coeficiente de Correlación Rho de Spearman entre pares de variables. Aseno $\sqrt{\text{proporción de frutos que produjo cada individuo focal (AsenoPBF)}}$, cociente número de flores de los vecinos/flores de la planta focal (BV/BF), probabilidad de que una flor dentro del área de dispersión de polen del individuo focal tenga el mismo genotipo que este (PFGIF), tamaño (número de tallos) del individuo focal (NTF), número de vecinos reproductivos (NVR), número promedio de flores en la planta focal (NFF), número promedio de flores en los vecinos (NFV), proporción de genotipos distinguibles (G/N).

Variable 1	Variable 2	Coeficiente de correlación de Spearman (ρ)	P	Valores significativos (S)
G/N	BV/BF	-0,054	0,7687	
PFGIF	BV/BF	-0,324	0,0707	
PFGIF	G/N	-0,569	0,0007	S
NFF	BV/BF	-0,259	0,1396	
NFF	G/N	-0,062	0,7356	
NFF	PFGIF	-0,104	0,5711	
NTF	BV/BF	0,036	0,8388	
NTF	G/N	0,188	0,3038	
NTF	PFGIF	-0,253	0,1616	
NTF	NFF	0,367	0,0329	S
NFV	BV/BF	0,637	<.0001	S
NFV	G/N	-0,174	0,3402	
NFV	PFGIF	-0,360	0,0429	S
NFV	NFF	0,513	0,0019	S
NFV	NTF	0,190	0,2811	
NVR	BV/BF	0,523	0,0015	S
NVR	G/N	-0,299	0,0964	
NVR	PFGIF	-0,278	0,1236	
NVR	NFF	0,165	0,3500	
NVR	NTF	0,146	0,4092	
NVR	NFV	0,597	0,0002	S

Para hacer la selección las variables se utilizó un procedimiento de eliminación regresiva (*backward elimination*) de variables para evaluar el efecto de cada variable eliminada sobre el coeficiente de regresión múltiple, R^2 (ver Kachigan, 1986). En el cuadro 2 de este anexo se muestran los resultados del proceso de selección de variables de respuesta. Los valores del coeficiente β en la última columna sirven para evaluar la importancia relativa de cada variable de predicción. Elevando al cuadrado estos valores se obtiene un valor comparable entre variables que indica la contribución de una variable de predicción respecto a las otras (Kachigan, 1986).

Cuadro 2. Selección de variables de respuesta. R^2 es el coeficiente de regresión múltiple, n es el número de datos para cada variable, p son valores de probabilidad. Los coeficientes β estándar representan los valores de los coeficientes de regresión parcial en forma estandarizada (ver Kachigan, 1986).

	variables excluidas	R^2	n	p	factor	P	coeficiente β estandar
PASO 1	NTF, NFV, PFGIF	0.440	32	0.0027	intersección	0,0833	0,000
					BV/BF	0,0036	-0,527
					G/N	0,0037	0,487
					NFF	0,7103	0,059
					NVR	0,0403	0,351
PASO 2	NTF, NFV, G/N	0.489	32	0.0009	intersección	<.0001	0,000
					BV/BF	0,0011	-0,580
					NFF	0,9068	-0,018
					NVR	0,4946	0,106
					PFGIF	0,0010	-0,527
PASO 3	PFGIF,NFF, NVR BV/BF	0,257	32	0,0374	intersección	0,1466	0,000
					G/N	0,3697	0,355
					NTF	0,0003	0,282
					NFV	0,0038	0,121
PASO 4	NFV, PFGIF, NVR	0,410	32	0,0053	intersección	0,0317	0,000
					BV/BF	0,0197	-0,389
					G/N	0,0384	0,338
					NFF	0,7342	0,056
					NTF	0,0935	0,267
PASO 5	NFV, G/N, BV/BF	0,283	32	0,0537	intersección	0,0010	0,000
					PFGIF	0,0324	-0,399
					NFF	0,4117	0,139
					NTF	0,1970	0,231
					NVR	0,7029	-0,066
PASO 6	NFV,G/N, NVR	0,513	32	0,0005	intersección	<.0001	0,000
					BV/BF	0,0013	-0,522
					NFF	0,8632	-0,025
					NTF	0,1824	0,195
					PFGIF	0,0022	-0,486

A partir del paso tres la variable NFV fue excluida definitivamente en lugar de la variable PFGIF, en el paso cinco se excluye la variable G/N en lugar de PFGIF y finalmente se excluye a la variable NVR en lugar de BV/BF. Debido a que las variables NFF y NTF no fueron significativas al final (paso 6) también fueron excluidas del análisis. El análisis se llevó a cabo con el programa estadístico JMP V.5.0.1, SAS Institute, Inc. 2002.

ANEXO 4

INTERACCIÓN ENTRE VARIABLES

Para analizar las interacciones se ordenaron los valores AsenoPBF, BV/BF, PFGIF de los 32 individuos focales, de acuerdo a la magnitud del valor de cada variable (alto, bajo o intermedio). El criterio para considerar un valor como alto bajo o intermedio se estableció obteniendo el valor medio de cada variable y los valores mayores y menores a la media por más de un orden de magnitud (i. e., $\bar{x} \pm 1$ para BV/BF y $\bar{x} \pm 0.1$ para AsenoPBF y PFGIF) fueron considerados altos y bajos respectivamente. Ordenando los datos de este modo se formaron 8 categorías de comportamiento de las variables (figura 1 de este anexo) con diferente número de observaciones en cada una (una observación está representada por la combinación de valores de las tres variables para un individuo focal) .

CATEGORÍAS 1 y 7

Los individuos en las categorías 1 y 7 se encuentran aislados de otros individuos reproductivos. En la figura 2 de este anexo se muestran tres ejemplos de cada categoría.

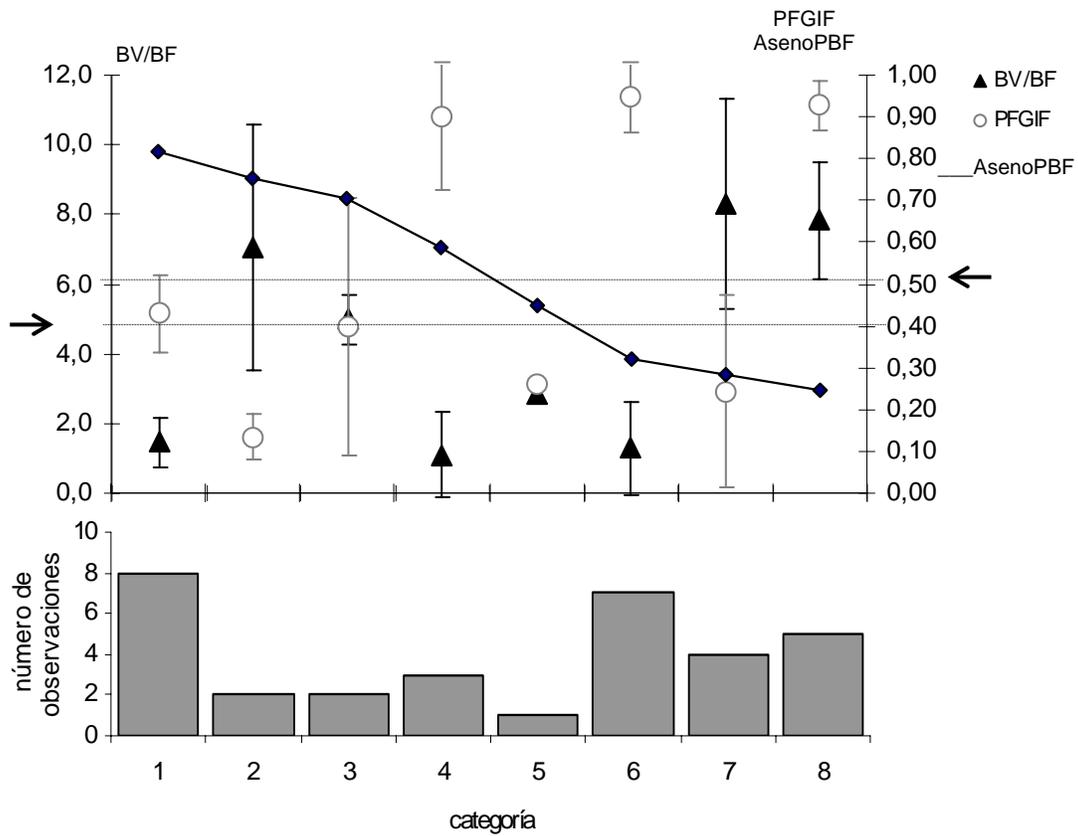


Figura 1. Categorías de comportamiento de la variables Aseno $\sqrt{\text{proporción de frutos que produjo cada individuo focal (AsenoPBF)}}$, cociente número de flores de los vecinos/flores de la planta focal (BV/BF) y probabilidad de que una flor tenga el mismo genotipo que la planta focal (PFGIF). La flechas en los extremos con las líneas punteadas indican el valor medio para BV/BF (lado izquierdo), AsenoPBF y PFGIF (lado derecho).

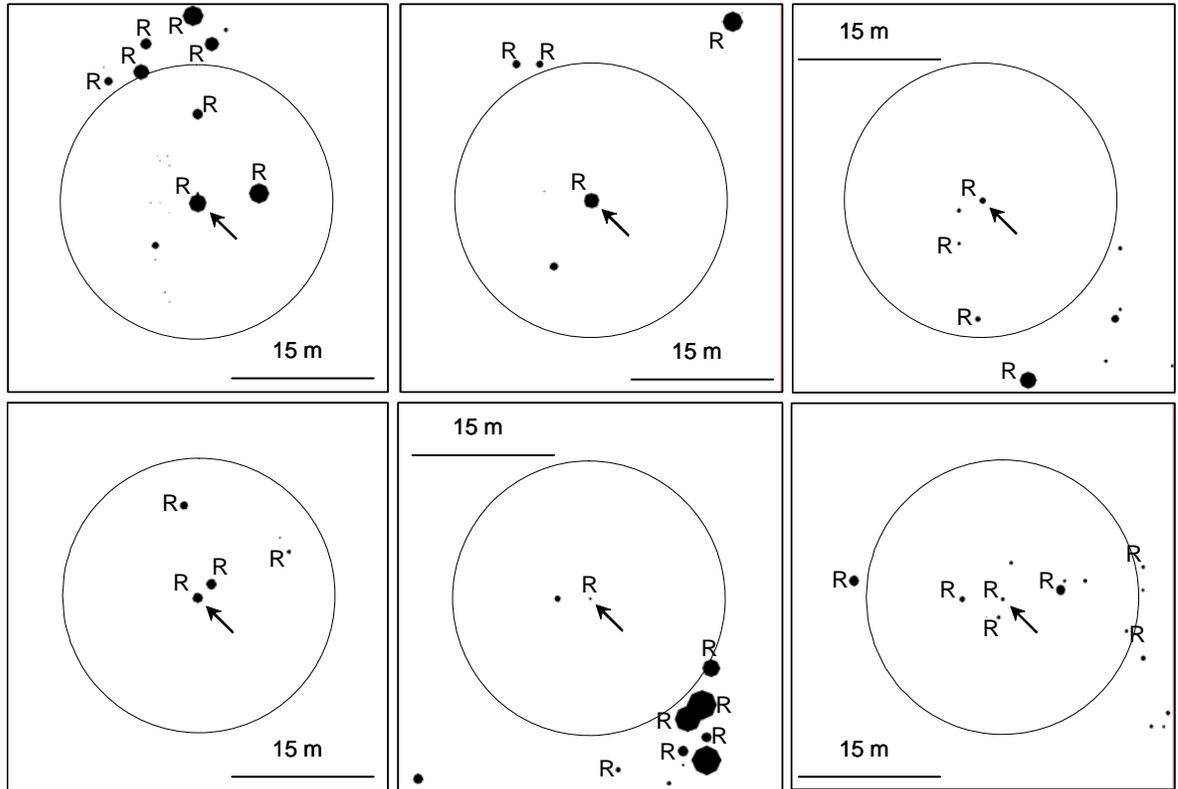


Figura 2. Distribución de individuos focales en las categorías 1 (cuadros superiores) y 7 (cuadros inferiores). Los círculos representan las áreas de dispersión de polen de los individuos focales (señalados con flechas). La R indica que los individuos son reproductivos.

ANEXO 5

ESTIMACIÓN DE LA EDAD DE *Ferocactus robustus*

Para estimar la edad de las plantas de *F. robustus* se estimó el volumen de plántulas, plantas de 1.5 años y plantas de 3.5 años de edad. El volumen de los tallos fue calculado como cuerpos cilíndricos. Así, para una plántula con un diámetro promedio de 0.2 cm y altura de 0.3 cm con un volumen de 0.01 cm³. A mediados del 2002 se midió el diámetro y altura de plantas de 1.5 años (datos no registrados), las cuales presentaban un diámetro aproximado de 1 cm y 1.5 cm de altura con un volumen de 1.18 cm³. A finales del 2005 fue posible obtener trece plantas de las que fueron medidas en el 2002, proporcionadas por el Laboratorio de Ecología Vegetal de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (IPN), en las cuales se registró el diámetro y la altura de las plántulas. El volumen promedio (\pm D.E.) de las mismas fue 9.07 ± 4.24 cm³.

Los datos de volumen y edad de plántulas y plantas de 1.5 y 3.5 años fueron graficados y se ajustó un modelo potencial (figura 1 de este anexo).

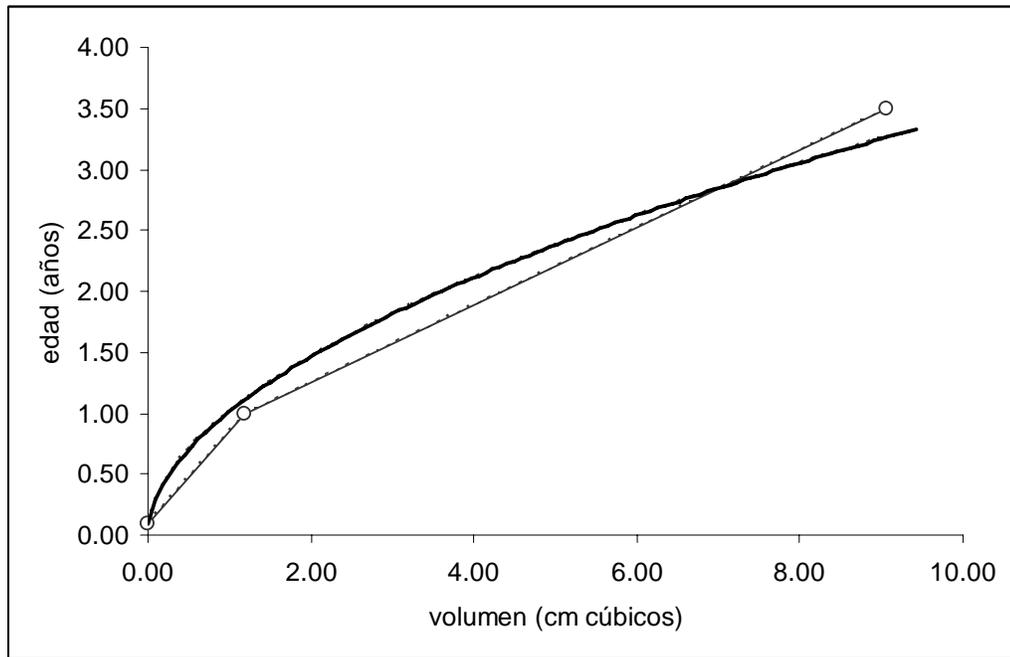


Figura 1. Relación entre el volumen (cm³) y edad (años) de *Ferocactus robustus*. La línea de tendencia se presenta engrosada y está descrita por la ecuación $y = 1.0125x^{0.5308}$.

Con base en este modelo la edad estimada del individuo más grande de la población, con 1154 tallos, es de 3468 años. El volumen total en este caso se calculó multiplicando el número de tallos por el volumen de un tallo adulto, considerando que el diámetro promedio en éste es de 10 cm y 15 cm de altura.