



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Ecología

Efecto de la estructura clonal sobre la
dinámica poblacional y la reproducción
de *Opuntia microdasys*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

Israel Gustavo Carrillo Angeles

DIRECTORA DE TESIS: Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez

COMITÉ TUTOR: Dra. María Teresa Valverde Valdés
Dr. Francisco Molina Freaner

MÉXICO, D.F.

DICIEMBRE, 2011



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.

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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 27 de junio de 2011, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de del alumno **CARRILLO ANGELES ISRAEL GUSTAVO** con número de cuenta **503007979** con la tesis titulada: **"EFECTO DE LA ESTRUCTURA CLONAL SOBRE LA DINÁMICA POBLACIONAL Y LA REPRODUCCIÓN DE *OPUNTIA MICRODASYS*"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ:**

Presidente:	DR. JOSÉ ALEJANDRO ZAVALA HURTADO
Vocal:	DRA. ANA ELENA MENDOZA OCHOA
Secretario:	DRA. MARÍA TERESA VALVERDE VALDÉS
Suplente:	DR. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
Suplente	DR. FRANCISCO MOLINA FREANER

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

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 27 de septiembre de 2011.



Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa

c.c.p. Expediente del interesado.

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, por el apoyo académico, económico y de infraestructura.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de posgrado.

A los Proyectos de Investigación PAPIIT-DGAPA-UNAM IN205007 de la Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez, a los apoyos para la estancia sabática en New Mexico State University, otorgada por DGAPA-PASPA- Universidad Nacional Autónoma de México a la Dra. Ma. del Carmen Mandujano y por CONACYT al Dr. Jordan Golubov.

A la Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez por la dirección de esta tesis. El trabajo fue realizado en el laboratorio de Genética y Ecología, Instituto de Ecología, Departamento de Ecología de la biodiversidad, Universidad Nacional Autónoma de México.

A los miembros del comité tutorial, Dra. María Teresa Valverde Valdés y Dr. Francisco Molina Freaner, por sus valiosas aportaciones para la realización del proyecto.

A los miembros del jurado, Dra. Ana Elena Mendoza Ochoa, Dra. María Teresa Valverde Valdés, Dr. José Alejandro Zavala Hurtado, Dr. Francisco Molina Freaner y Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns por sus valiosos comentarios al escrito final de la tesis.

Al Dr. Jordan Golubov y al Dr. Brook G. Milligan por su valiosa colaboración e invaluable aportaciones al trabajo.

A la M. en C. Mariana Rojas Aréchiga y a Johannes A. M. Verhulst por el apoyo en la logística de las salidas de campo.

Al personal del Laboratorio del Desierto (INECOL) en la Reserva de la Biosfera de Mapimí y a la Familia Herrera por el apoyo logístico durante la realización del trabajo de campo.

Al personal de CONANP y a los propietarios de los predios donde se realizó el trabajo de campo por las facilidades otorgadas para trabajar en la zona.

INDICE

1.....	Resumen general
3.....	General abstract
5.....	Introducción general
14.....	Capítulo 1: Patrones de distribución espacial en plantas clonales (artículo en prensa, Boletín de la Sociedad Botánica de México)
33.....	Capítulo 2: Spatial distribution pattern of a clonal species: effects of differential production of clonal and sexual offspring (artículo publicado, Evolutionary Ecology, 2011)
61.....	Capítulo 3: Efecto de la variación en la producción de descendientes de origen clonal y sexual en la diversidad clonal y genética de poblaciones de <i>Opuntia microdasys</i> (Lehm.) Pfeiff. (Cactaceae)
62.....	Resumen
64.....	Introducción
67.....	Materiales y métodos
73.....	Resultados
76.....	Discusión
85.....	Referencias
93.....	Cuadros

97.....Figuras

100.....Apéndices

104.....Capítulo 4: Efecto del vecindario local en la reproducción sexual y clonal de los ramets de *Opuntia microdasys* (Cactaceae).

105.....Resumen

106.....Introducción

110.....Materiales y métodos

114.....Resultados

119.....Discusión

125.....Referencias

130.....Cuadros

133.....Figuras

139.....Apéndices

146.....Capítulo 5: Variación en la producción de descendientes clonales y sexuales en *Opuntia microdasys* (Cactaceae): consecuencias en la dinámica poblacional

147.....Resumen

149.....Introducción

152.....Materiales y métodos

<i>157</i>	Resultados
<i>161</i>	Discusión
<i>168</i>	Referencias
<i>174</i>	Cuadros
<i>176</i>	Figuras
<i>187</i>	Apéndices
<i>189</i>	Discusión General.
<i>194</i>	Referencias de la Introducción General y la Discusión General.

RESUMEN GENERAL

En especies clonales la variación en la producción de descendientes por clonalidad y por reproducción sexual ha sido estudiada con dos enfoques principales: i) determinar las consecuencias de la asignación diferencial de recursos al crecimiento clonal y a la reproducción sexual sobre la adecuación, y ii) evaluar demográficamente cuáles son las contribuciones en la producción de progenie de ambas formas de reproducción al mantenimiento de las poblaciones. Recientemente se ha analizado cuál es la influencia del arreglo espacial de los genets y los ramets sobre los sistemas de cruce y la adecuación de los individuos. El enfoque demográfico y el enfoque del efecto del arreglo espacial de los genets y los ramets sobre los sistemas de cruce se utilizan en este trabajo para determinar la influencia de la frecuencia con que se producen distintos tipos de vástagos (clonales y sexuales) sobre el arreglo espacial de los genets y los ramets, sobre la diversidad genética y genotípica, y sobre la dinámica poblacional.

El estudio está estructurado en cinco capítulos. En el primero se presenta una introducción al tema de la variación en las formas de crecimiento clonal en plantas y sus consecuencias en el arreglo espacial de los genets y los ramets, y cómo estos arreglos espaciales pueden afectar a la reproducción sexual. Utilizando a *O. microdasys* como especie de estudio, en los cuatro capítulos siguientes se analiza el efecto de la variación en la frecuencia con que se producen descendientes de origen sexual y clonal entre tres poblaciones de esta especie, sobre el arreglo espacial de los genets y los ramets (capítulo 2), sobre la diversidad genética y genotípica (capítulo 3), y se exploran los factores que influyen en la producción de los descendientes de origen sexual y clonal en las diferentes poblaciones de *O. microdasys* (capítulo 4). En el capítulo cinco se analiza el efecto que tiene la variación en la producción de descendientes de origen sexual y clonal entre las poblaciones de *O. microdasys*, sobre la dinámica poblacional y los caracteres de historia de vida.

La forma en que son producidos los descendientes clonales en distintas especies de plantas influye en el arreglo espacial de los genets y los ramets. En contraste con la producción de ramets a partir de estructuras de crecimiento como los rizomas y estolones (crecimiento clonal ligado), la producción de ramets mediante diásporas no ligadas a la planta madre como los bulbilos y las semillas producidas por agamosperma (crecimiento clonal no ligado) tienden a entremezclar los genets presentes en una población de forma más efectiva. Aunque es probable que los arreglos espaciales de genets entremezclados favorezcan niveles más altos de entrecruza que los arreglos espaciales donde los genets se encuentran poco entremezclados, la comparación de la diversidad genotípica (utilizada en este estudio para estimar los niveles de entrecruza) no muestra un patrón concluyente al respecto. No obstante, la clonalidad, independientemente de la forma en que son producidos los ramets, generalmente contribuye a la estructuración genética de las poblaciones (capítulo 1).

En *O. microdasys* la variación entre tres de sus poblaciones (BH: bajada, HPH: ladera-pie de monte e IDH: interdunas) en la frecuencia con que se producen distintos tipos de descendientes (clonales: pencas y plantlets, y sexuales: plántulas) se refleja en la distribución de los genets y el nivel de entrecruza de los ramets de distintos genets. En las poblaciones más clonales (BH e IDH) los ramets del mismo genet se encuentran agregados, pero en IDH una menor capacidad de dispersión de los cladodios que de los plantlets origina un arreglo menos entremezclado de los diferentes genets que en BH. Por otro lado, en HPH los genets clonales están poco

representados y estos se encuentran más entremezclados que en BH e IDH. De forma similar a lo que se ha encontrado en otras especies clonales, en *O. microdasys* se presenta autocorrelación espacial a distancias cortas tanto a nivel de ramets como de genets en las tres poblaciones, lo que indica una baja dispersión de todos los tipos de descendientes. Adicionalmente, el parentesco es mayor en BH e IDH, sugiriendo un efecto más importante de la endogamia biparental en la producción de semillas que en HPH (Capítulo 2). En BH e IDH la clonalidad parece haber reducido los niveles de diversidad genética y genotípica en comparación con HPH. Sin embargo, debido a que en estas poblaciones hay una predominancia de genotipos con niveles más altos de homocigosidad que en HPH, es probable que la reproducción clonal, en particular a través de plantlets, haya sido favorecida por una base genética local, inicialmente poco diversa, y así, la clonalidad más que un proceso causal, puede ser un proceso que retroalimenta el mantenimiento de niveles bajos de diversidad genética. Adicionalmente, el limitado flujo génico a través de propágulos vegetativos, semillas y polen, y la adaptación local pueden contribuir a mantener una baja diversidad genética y a originar una estructuración genética de las poblaciones (Capítulo 3). La clonalidad a través de plantlets en *O. microdasys* puede ser un mecanismo que retroalimenta el mantenimiento de bajos niveles de diversidad genética, principalmente en las poblaciones más clonales (BH e IDH), debido a que la producción de este tipo de propágulos es favorecida por las condiciones que pueden incrementar la frecuencia de cruzas incompatibles que experimentan los ramets (e. g., bajos niveles de diversidad genética y genotípica), y a que que en estas poblaciones, a diferencia de lo que ocurre en HPH, la mayoría de los frutos que no forman semillas se convierten en plantlets. En general, la producción de frutos con semillas en las tres poblaciones es favorecida por las condiciones que reducen las probabilidades de que los ramets experimenten deficiencia de polen (e. g., disponibilidad de individuos reproductivos, producción alta de flores) y cruzas incompatibles (e. g., niveles altos de diversidad genética y genotípica) (Capítulo 4). En *O. microdasys* la variación en la producción de descendientes clonales y sexuales tiene poca influencia en la tasa de crecimiento poblacional, sin embargo, esta variación da lugar a la reducción en el tamaño a la primera reproducción e influye en la estructura poblacional y el valor reproductivo. Similar a las especies perennes de vida larga, la supervivencia, el crecimiento y la reducción del tamaño son los procesos demográficos que determinan la dinámica de las poblaciones de esta especie (Capítulo 5).

GENERAL ABSTRACT

In clonal species the variation in the production of sexual and clonal offspring has been studied with two approaches: i) determine the consequences of the variation in the allocation of resources to clonal growth and sexual reproduction on fitness, and ii) evaluate demographically the contributions, in the production of progeny, of both types of reproduction to maintain populations. More recently, the influence of the spatial distribution pattern of genets and ramets on reproduction and to individual fitness has been analyzed. We used both the demographic approach and the effect of spatial distribution pattern of genets and ramets on reproduction to determine the influence of sexual or clonal offspring on spatial distribution patterns, genetic and genotypic diversity and population dynamics.

The study is structured into five chapters. The first provides an introduction to the topic of the influence of the different types of clonality on the spatial arrangement of genets and ramets, and on the effect that these arrangements have on the sexual reproduction. Using *Opuntia microdasys* as study species, in the next four chapters we analyze the effect of variation in the production of clonal and sexual offspring between three populations on the spatial arrangement of genets and ramets (Chapter 2), genetic and genotypic diversity (chapter 3), and we evaluate the factors that influence in the production of sexual and clonal offspring in the populations (Chapter 4). In the fifth chapter, we evaluate the effect of variation in the production of sexual and clonal offspring between *O. microdasys* populations on the population dynamics and the life history characters.

The way in which clonal offsprings are produced in different plant species influences the spatial arrangement of genets and ramets. In contrast to the production of ramets by structures as rhizomes and stolons (linked clonal growth), the production of ramets by diasporas not linked to the mother plant as bulbilos and seeds produced by agamospermy (non-linked clonal growth) tend to intermingle the genets of a population in a more effective way. Although it is likely that the spatial arrangement of intermingled genets encourage higher outcrossing levels than the spatial arrangements where genets are less intermingled, the comparison of genotypic diversity (used in this study to estimate the outcrossing levels) doesn't shows a clear pattern in this sense. However, clonality, regardless of the manner in which the ramets are produced, usually contributes to the genetic structure of populations (Chapter 1).

In *O. microdasys* variation among three populations (BH: bajada, HPH: ladera-pie de monte, and IDH: interdunas) in the production of different types of offspring (clonal: cladodes and plantlets, and sexual: seedlings) is reflected in the distribution of genets and the level of intermingling of ramets of different genets. In clonal populations (BH and IDH) the ramets of the same genet are clumped, but the restricted dispersal capacity of the cladodes causes a lesser intermingled array of different genets in IDH than BH. On the other hand, in HPH clonal genets are underrepresented and these are more intermingled than in BH and IDH. Similar to other clonal species, *O. microdasys* shows spatial autocorrelacion at short distances, both in ramets and genets in the three populations, indicating a low dispersion of all types of offspring. Additionally, the relatedness is greater in BH and IDH, suggesting that effect of biparental inbreeding in seed production is greater than in HPH (Chapter 2). In BH and IDH clonality appears to have reduced levels of genetic and genotypic diversity. However, because in these populations there is a predominance of genotypes with higher levels of homozygosity than in HPH, it is likely that clonal

reproduction, in particular through plantlets, has been favored by a local genetic basis, initially less diverse, and thus the clonality rather than a cause can be a process that feeds the maintenance of low levels of genetic diversity. The limited gene flow by vegetative propagules, seeds and pollen, and the local adaptation can contribute to maintain a low genetic diversity, and to cause genetic structure in populations (Chapter 3). Clonality through plantlets in *O. microdasys* may be a feedback mechanism for maintaining low levels of genetic diversity, mainly in clonal populations (BH and IDH), because the production of this type of propagules is favored by conditions that may increase the frequency of incompatible crosses in the individual ramets (e. g, low levels of genetic and genotypic diversity), since in these populations, unlike what happens in HPH, most of the fruits without seeds they become into plantlets. In general, production of fruits with seeds in the three populations is favored by conditions that reduce the pollen deficiency (e. g., availability of reproductive individuals, high flower production) and the incompatible crosses (e. g, high levels of genetic and genotypic diversity) (Chapter 4). In *O. microdasys* variation in the production of clonal and sexual offspring have little influence on the population growth rate (λ), however, this variation leads to the reduction in the size at first reproduction and influences the population structure and the reproductive value. Similar to other long-lived perennial species, survival, growth and size reduction are the demographic processes that determine the dynamics of populations of this species (Chapter 5).

INTRODUCCIÓN GENERAL

Muchas especies de plantas generan descendientes por crecimiento clonal y por reproducción sexual (Tiffney y Niklas, 1985; Mandujano *et al.*, 1998; Kanno y Seiwa, 2004), lo cual ha originado distintas preguntas sobre las consecuencias ecológicas y evolutivas de la producción de distintos tipos de vástagos en las poblaciones. Los estudios realizados sobre este tema han seguido dos enfoques principales. El primero, analiza las consecuencias de la asignación diferencial de recursos al crecimiento clonal y a la reproducción sexual (Willson, 1983; Eriksson, 1997; Olejniczak, 2003). El segundo, analiza demográficamente cuáles son las contribuciones a la producción de prole de ambas formas de reproducción, y sus consecuencias sobre la dinámica de las poblaciones (e.g., Parker y Hamrick, 1992; Mandujano *et al.*, 1998; Kudoh *et al.*, 1999; Pornon y Escaravage, 1999; Ueno *et al.*, 2000; Warburton *et al.*, 2000; Shimizu *et al.*, 2002; Liston *et al.*, 2003; Kanno y Seiwa, 2004).

Un enfoque más reciente con respecto a este tema es el que analiza la influencia del arreglo espacial de los genets y los ramets sobre los sistemas de cruce (“mating systems” *sensu* Neal y Anderson, 2005) y la adecuación de los individuos (Handel, 1985; Eriksson y Bremer, 1993; Charpentier, 2002). El planteamiento básico de este enfoque es que el crecimiento clonal puede modificar los patrones de distribución espacial de los genotipos presentes en una población, afectando los patrones de transferencia de polen y el éxito reproductivo de los individuos.

Un resultado común en los estudios que analizan esta hipótesis es el incremento en los niveles de geitonogamia asociado con el crecimiento del genet (individuo genético originado de un cigoto) y al incremento en su número de ramets (partes independientes o potencialmente independientes de un genet) que generan parches florales monoclonales (Handel, 1985;

Charpentier *et al.*, 2000; Eckert, 2000; Wolf, 2000; Dorken y Eckert, 2001; Nuortila *et al.*, 2002; Clark-Tapia, 2004), así como la reducción del éxito reproductivo de los genets y los ramets en especies autoincompatibles (Charpentier *et al.*, 2000; Wolf, 2000; Clark-Tapia, 2004) y en especies con depresión endogámica (Eckert, 2000; Dorken y Eckert, 2001; Nuortila *et al.*, 2002). Sin embargo, en algunos casos, un número mayor de flores en las plantas individuales puede incrementar su éxito reproductivo, favoreciendo la atracción de los polinizadores. Por ejemplo, Klinkhamer *et al.* (1989) encuentran que en hábitats sombreados las plantas de *Cynoglossum officinale* con muchas flores son visitadas con más frecuencia por los polinizadores, lo cual incrementa la proporción de óvulos que se desarrollan a semillas, sin embargo, estos autores argumentan que al mismo tiempo puede incrementarse la tasa de autogamia. En otros estudios se ha reportado que el crecimiento clonal puede generar arreglos espaciales donde los ramets de distintos genets se entremezclan, y se ha planteado que este tipo de estructura espacial puede favorecer la entrecruza (Handel, 1985; Parker y Hamrick, 1992).

El crecimiento clonal puede tener otras implicaciones en el ciclo de vida de especies clonales a través de la modificación de los sistemas reproductivos. Se ha argumentado que los factores que limitan la polinización pueden influir en la dinámica de las poblaciones, debido a que afectan la producción de semillas y a que en algunos casos, este aspecto tiene una influencia importante en el crecimiento de las poblaciones (Ashman *et al.*, 2004). La presencia de mecanismos que impiden la formación de semillas por autofecundación (e. g., depresión endogámica o autoincompatibilidad) y los factores ecológicos que influyen en los sistemas reproductivos (e. g., comportamiento de los polinizadores) pueden dar lugar a la producción diferencial de descendientes clonales y sexuales que suelen tener tasas de crecimiento y probabilidades de supervivencia distintas, generando variaciones en la dinámica poblacional.

Opuntia microdasys (Lehm.) Pfeiff. (“nopal cegador”) es una cactácea clonal del Desierto Chihuahuense (Figura 1), sus flores son polinizadas principalmente por abejas solitarias (*Diadasia rinconis*) y se ha reportado como una especie autoincompatible (Piña *et al.*, 2007). La especie florece en el periodo de abril a mediados de mayo y los frutos maduran entre junio y agosto (Bravo-Hollis, 1978; Cornet, 1985). *O. microdasys* puede generar descendencia a partir de semillas producidas por reproducción sexual (Piña *et al.*, 2007), y por propagación clonal a través del desprendimiento de cladodios y frutos inmaduros (plantlets), los cuales pueden enraizar en el sustrato y dar origen a nuevas plantas (Palleiro *et al.*, 2006; Figura 1). En la Reserva de la Biosfera de Mapimí, esta especie presenta una variación en la producción de los distintos tipos de descendientes (Palleiro *et al.*, 2006), entre las poblaciones localizadas en tres hábitats que difieren en sus características bióticas y abióticas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características abióticas y bióticas de los hábitats de *O. microdasys* en la Reserva de la biosfera de Mapimí, México Montaña, 1988, 1990).

Hábitat	Características del suelo	Pendiente promedio	Especies dominantes en la vegetación
Ladera-pie de monte (HPH)	superficiales, pedregosos, sobre roca ignea	22.8°	<i>Fouquieria splendens</i> <i>Larrea tridentata</i> <i>Yucca rígida</i>
Bajada (BH)	profundos, arenosos-pedregosos, sobre material de basalto conglomerado	10°	<i>Fouquieria splendens</i> <i>Larrea tridentata</i>
Interdunas (IDH)	profundos, arenosos, calcáreos	0.7°	<i>Acacia constricta</i> <i>Acacia gregii</i> <i>Larrea tridentata</i> <i>Prosopis glandulosa</i>

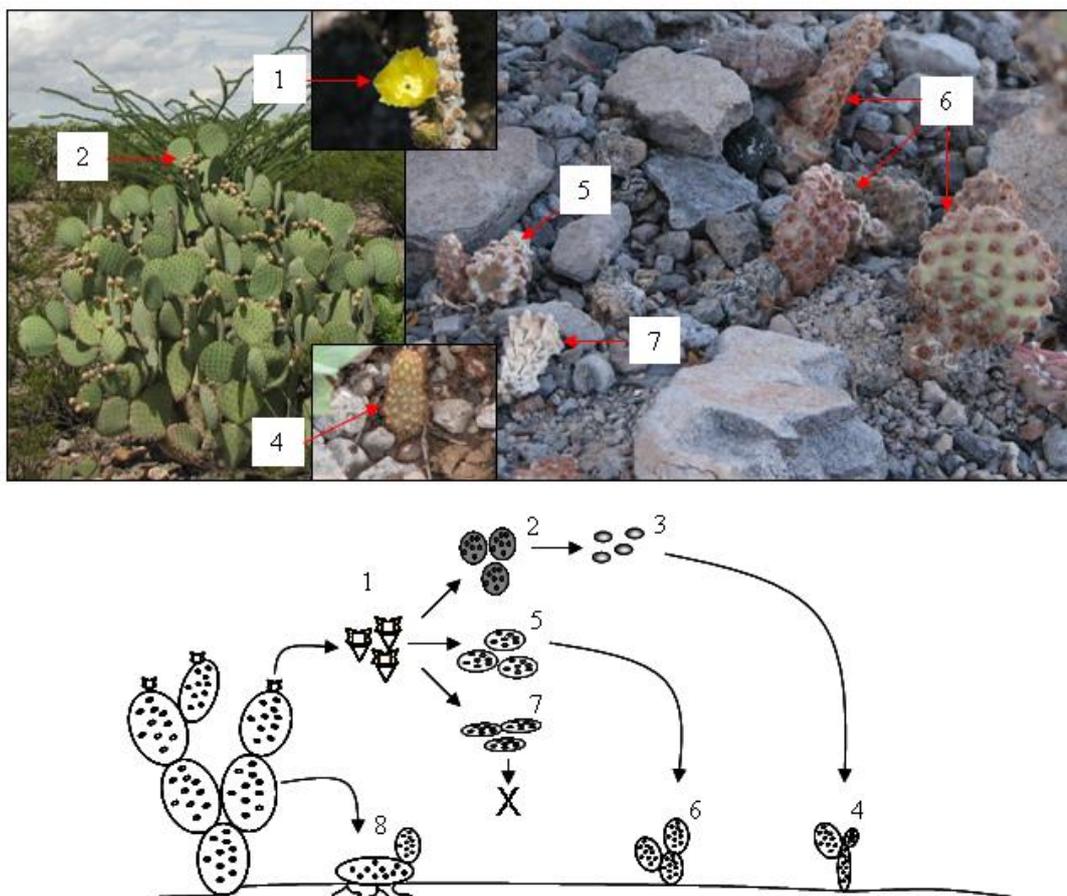


Figura 1. Formas de reproducción de *Opuntia microdasys*. Arriba se muestran las imágenes de: una planta adulta con frutos maduros (izquierda), un acercamiento de la flor (superior central) y de una plántula (inferior central), y un acercamiento de los plantlets (derecha). Los números en los cuadros en blanco corresponden a las estructuras representadas en el esquema inferior. En el esquema, las flechas indican el desarrollo que siguen las diferentes estructuras: 1) Flores, 2) frutos maduros, 3) semillas, 4) plántula, 5) frutos abortados en estado inmaduro que pueden enraizar y producir cladodios (plantlets), 6) plantas pequeñas producidas por plantlets, 7) flores abortadas después de completar la antesis (frutos iniciados que mueren después de ser abortados), 8) plantas pequeñas originadas por el enraizamiento de cladosios desprendidos.

Las poblaciones de la bajada (BH) y de la ladera-pie de monte (HPH) son contiguas y se localizan sobre los abanicos aluviales en ladera oeste del Cerro San Ignacio, mientras que la población de las interdunas (IDH) se localiza en las planicies arenosas entre las dunas localizadas a 10 km al noroeste del Cerro San Ignacio (Figura 2). Considerando las tres poblaciones en

conjunto, el reclutamiento se lleva a cabo principalmente a través de plantlets (94.3% del total de los descendientes), seguido por el reclutamiento a través de cladodios desprendidos (3.1% del total de los descendientes) y por plántulas (2.6% del total de descendientes), pero en cada población la importancia relativa de los tres procesos de reclutamiento es distinta (Cuadro 2; Palleiro *et al.*, 2006).

Cuadro 2. Porcentaje y número de individuos por hectárea en tres poblaciones de *O. microdasys* (tomado de Palleiro *et al.*, 2006).

Hábitat	Tipo de descendientes		
	plántula	plantlet	cladodio
Bajada (BH)	0.4% (6.7 ind/ha)	99.3% (1953.3 ind/ha)	0.3% (6.7 ind/ha)
Ladera-pie de monte (HPH)	19.1% (64.3 ind/ha)	76.6% (257.1 ind/ha)	4.3% (14.3 ind/ha)
Interdunas (IDH)	1% (6.3 ind/ha)	87.8% (537.5 ind/ha)	11.2% (68.8 ind/ha)

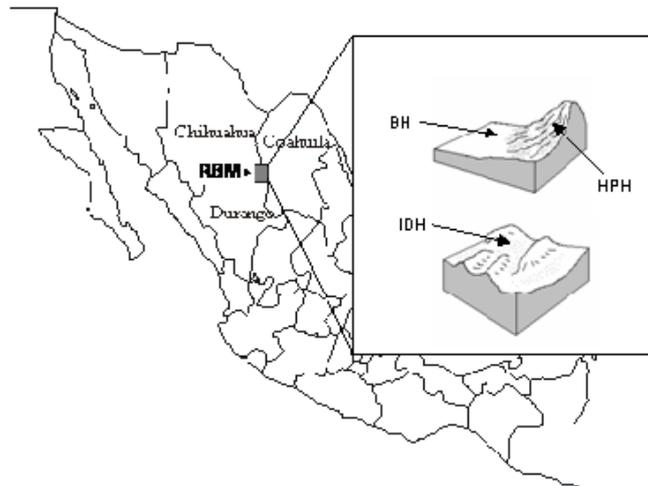


Figura 2. Ubicación de la Reserva de la Biosfera de Mapimí (RBM) y esquema de las formaciones geológicas donde se ubican los tres hábitats de *O. microdasys*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH).

En este trabajo se evalúa cómo la predominancia de alguna de las formas de reclutamiento de *O. microdasys* influye en el arreglo espacial de los genets y los ramets, en los niveles de diversidad genética y genotípica, y en la dinámica poblacional en las poblaciones localizadas en tres hábitats de esta especie (BH, HPH e IDH), y se exploran los factores que influyen en la variación en la producción de descendientes de origen clonal y sexual entre las poblaciones. En particular, se pretende responder las siguientes preguntas: i) ¿Cómo influye un determinado tipo de estrategia de reclutamiento en el arreglo espacial de los genets y los ramets, y en los niveles de diversidad genética y genotípica de las poblaciones?; ii) ¿el éxito reproductivo sexual y clonal de los ramets se ve afectado diferencialmente en las poblaciones por la distribución espacial e identidad genética de los ramets reproductivos vecinos?; y iii) ¿cómo influye la predominancia de un tipo de reclutamiento en la dinámica e historia de vida de las poblaciones?.

Como una introducción al tema del efecto de la distribución espacial de los genets y los ramets sobre la reproducción, en el primer capítulo se presenta una revisión de varios estudios en plantas clonales para indagar sobre la influencia de distintos tipos de clonalidad sobre los arreglos espaciales de genets y ramets, y sobre el efecto que tienen estos arreglos en la reproducción sexual. Los tipos de clonalidad que se consideran en la revisión se refieren a los tipos de crecimiento clonal ligado y no ligado de la clasificación de Tiffney y Niklas (1985). Los planteamientos que se analiza en este capítulo es que las poblaciones de plantas donde los ramets son producidos por crecimiento clonal no ligado (p. ej., a través de bulbilos, plantlets, semillas producidas por agamosperma) los arreglos son más entremezclados que en las poblaciones de especies donde los ramets son producidos por crecimiento clonal ligado (p. ej., rizomas, estolones, vástagos basales), y que los arreglos espaciales más entremezclados promueven la entrecruza, por lo que las poblaciones donde la entrecruza es más frecuente presentarán niveles más altos de diversidad genotípica. Es importante aclarar que varias formas de crecimiento no

ligado mencionadas en el capítulo uno no son propiamente formas de crecimiento clonal sino de reproducción clonal (p. ej., el desprendimiento de tallos y la producción de gemas y bulbilos por estrés ambiental) y de reproducción asexual (producción de semillas por agamospermia), sin embargo, se utiliza el término “crecimiento” para apegarse al esquema propuesto por Tiffney y Niklas (1985) (i.e., crecimiento reproductivo). Este capítulo corresponde a un artículo aceptado para su publicación en el Boletín de la Sociedad Botánica de México (vol. 89, diciembre 2011).

En el segundo capítulo se analiza si la variación en la frecuencia con que se producen distintos tipos de descendientes (clonales: cladodios desprendidos y plantlets, y sexuales: plántulas) en las poblaciones de *O. microdasys*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH) se ve reflejada en los patrones de distribución espacial, en el arreglo espacial y en las relaciones de parentesco de los genets y los ramets. En particular, se espera que en la población donde el reclutamiento por cladodios es más frecuente (IDH), la estructura espacial muestre una tendencia a la agregación de ramets del mismo genet y muestre mayor relación entre grupos de plantas espacialmente cercanas, mientras que en la población donde predomina el reclutamiento por plantlets (BH), se espera una tendencia hacia una distribución entremezclada de ramets de distintos genets y por tanto entremezcla de parientes con autocorrelación espacial a mayor distancia, debido a que estos propágulos vegetativos pueden ser dispersados a mayores distancias. Por último, en la población donde el reclutamiento se lleva a cabo principalmente a través de semillas (HPH), se espera que la agregación de ramets se presente con muy baja frecuencia y predomine una distribución de genets entremezclados que no estén emparentados. Este capítulo corresponde a un artículo publicado en *Evolutionary Ecology* (vol. 25: 1357-1383, 2011).

En el tercer capítulo se evalúa el efecto de la variación en la producción de descendientes de origen clonal y sexual entre las tres poblaciones de *O. microdasys* (BH, HPH e IDH), sobre

sus niveles de diversidad genética y genotípica. Los patrones de diversidad genética y genotípica que se esperan en las poblaciones con relación a la variación de los distintos tipos de descendientes son que la diversidad genética y genotípica tenderá a ser más baja en las poblaciones donde la propagación vegetativa por cladodios y por plantlets es más frecuente (BH e IDH). En particular, se espera que la población en la que la producción de plantlets es más alta (BH) presente una mayor proporción de ramets por genet que las otras dos poblaciones, principalmente en comparación con la población en la que el reclutamiento de plántulas es más frecuente (HPH).

En el cuarto capítulo se exploran los factores que influyen en la variación en la producción de descendientes de origen clonal a través de plantlets y de origen sexual entre las poblaciones de *O. microdasys* (BH, HPH e IDH) mediante una aproximación para evaluar el efecto de las características espaciales (e. g., patrón de distribución espacial y densidad de individuos reproductivos), genéticas (e. g., distancia genética entre individuos y diversidad clonal) y de la abundancia de flores en el vecindario local sobre la producción de frutos con semilla y de plantlets en ramets focales de *O. microdasys*. En este sentido, las predicciones son que si el arreglo espacial de los ramets reproductivos en el vecindario de un ramet focal influye en sus niveles de entrecruza, se espera que las características del vecindario local que pueden favorecer la geitonogamia en una especie autoincompatible (e. g., diversidad clonal baja, patrones de distribución espacial agregados, una baja densidad de flores, etc.) incrementen el aborto de frutos y la producción de plantlets de los ramets focales de *O. microdasys*. Por el contrario, se espera que las características del vecindario local que favorecen la entrecruza (e. g., diversidad clonal alta, patrones de distribución espacial aleatorios, una alta densidad de flores, etc.) incrementen la producción de frutos con semilla en los ramets focales. De este modo, en las poblaciones se espera que la proporción de frutos inmaduros que se desprenden y enraízan

(plantlets) sea mayor en las poblaciones más clonales (BH e IDH), y menor en la población donde el establecimiento por plántulas tiene mayor contribución al reclutamiento (HPH).

Finalmente, en el capítulo cinco se analiza si la variación en la producción de descendientes clonales y sexuales entre las poblaciones de *O. microdasys* afectan la dinámica poblacional y los caracteres de historia de vida. En este sentido, a través de un análisis demográfico en las diferentes poblaciones se espera encontrar diferencias en la tasa de crecimiento poblacional debido a una contribución diferencial de la reproducción sexual y la propagación clonal en las diferentes poblaciones. Asimismo, se espera que el tamaño a la primera reproducción sea menor en las poblaciones con predominancia de vástagos clonales (BH e IDH), ya que se sabe que éstos crecen y maduran reproductivamente más rápido.

CAPÍTULO 1

Patrones de distribución espacial en plantas clonales

Spatial distribution patterns in clonal plants

Boletín de la Sociedad Botánica de México (en prensa)

PATRONES DE DISTRIBUCIÓN ESPACIAL EN PLANTAS CLONALES

CARRILLO-ANGELES ISRAEL GUSTAVO Y MANDUJANO MARÍA DEL CARMEN¹

Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México

¹Autor de correspondencia: mcmandu@ecologia.unam.mx

Resumen: En las especies clonales predomina la distribución agregada de los ramets, pero se plantea que la propagación por diásporas móviles o no ligadas, (por ejemplo, bulbilos y semillas agamospérmicas) forma arreglos espaciales de genets más entremezclados, que la propagación por estructuras ligadas (rizomas y estolones), y se sugiere que los arreglos entremezclados de genets favorecen la entrecruza. En este trabajo se presenta una revisión de 53 estudios en plantas clonales, para investigar la influencia de la producción de propágulos clonales, por diferentes formas de crecimiento clonal, en la formación de arreglos espaciales de genets y ramets. La hipótesis es que los arreglos entremezclados promueven la entrecruza, suponiendo que las poblaciones donde la entrecruza es más frecuente tenderán a presentar niveles más altos de diversidad genotípica. Los estudios revisados muestran un sesgo hacia herbáceas perennes rizomatosas. Predominan los patrones de distribución agregados de parches de ramets de distintos genets no entremezclados. Las poblaciones de especies que tienen ambos tipos de crecimiento de propágulos clonales (ligados y no ligados) y de especies que sólo presentan crecimiento ligado presentan patrones de distribución espacial de genets y ramets más entremezclados que las especies que sólo presentan crecimiento ligado. Encontramos que existe variación intraespecífica tanto en los patrones de distribución espacial como en los patrones reproductivos en las diferentes poblaciones. Sin embargo, utilizando índices de diversidad genotípica como estimadores, solamente se encontró un patrón congruente con el planteamiento sobre el efecto del arreglo espacial de los genets y los ramets en la proporción de genotipos distinguibles. Generalizar las consecuencias reproductivas y genéticas del arreglo espacial de los genets y los ramets continúa siendo complejo, debido a que una reducción del reclutamiento sexual y una dispersión restringida de polen, semillas y propágulos vegetativos pueden generar estructura genética local en las poblaciones. La estructura genética local tanto a nivel de genets (debida a la dispersión restringida de polen, semillas o ambos) como de ramets (indicando dispersión restringida de propágulos vegetativos) fue detectada en 46 poblaciones distribuidas en 16 especies. Estos factores aunados a la variedad de métodos de muestreo empleados en los trabajos publicados para detectar genets y ramets, la falta de estimadores numéricos comparables para describir la distribución espacial y la carencia de estudios en especies que se propagan por diásporas móviles o no ligadas reducen la resolución del efecto que tiene el tipo de crecimiento clonal en la formación de arreglos entremezclados de genets distintos sobre la diversidad genotípica.

Palabras clave: clonalidad, crecimiento, distribución, diversidad, entrecruza

Abstract: Clonal plants are predominantly associated with a clumped distribution of ramets. However, propagation by unlinked means generates a mixed arrangement instead of a clumped one found by linked propagules and intermingled arrangements of genets favor outcrossing. This paper reviews 53 studies on clonal plants to assess the influence of the production of clonal offspring by different means on the spatial arrangement of genets and ramets. We also evaluate the assumption that mixed arrangements promote outcrossing, under the hypothesis that populations where outcrossing is common would have higher levels of genotypic diversity. The studies that were consulted showed a strong bias towards rhizomatous perennial herbs. Clumped distribution patterns predominate in which patches consist of discrete groups of ramets from one or more genets that do not spatially mix. Populations having both types of propagation (linked and unlinked) and species that only have linked propagation have a higher spatially mixed genet and ramet distribution pattern than species that only have unlinked propagation. However, using genotypic diversity indices, we did not find a consistent pattern between the spatial arrangement and outcrossing rates. The reproductive and genetic consequences of the spatial arrangement of genets and ramets continues to be a difficult task, due to a range of factors such as the variety of methods, the lack of good comparative numeric estimations to describe the spatial arrangements and the lack of studies in species that propagate through unlinked propagules.

Key words: clonality, distribution, diversity, growth, outcrossing

La clonalidad da lugar a la producción de ramets, es decir, unidades potencialmente independientes que son genéticamente idénticas a la planta progenitora (Widén *et al.*, 1994; Van Groenendael *et al.*, 1996; de Kroon y Van Groe-

nendael, 1997; Kliměš *et al.*, 1997). En consecuencia, en las poblaciones de organismos clonales el concepto de “individuo” puede definir a los individuos genéticos formados a partir de un cigoto (genets) y a las copias física y fisiológi-

camente independientes de cada genotipo o ramets independientes (Figura 1; Kays y Harper, 1974; Harper, 1985; Jackson *et al.*, 1985). La clonalidad está ampliamente distribuida en plantas, algunas estimaciones para angiospermas varían entre 30% y más del 50% (Tiffney y Niklas, 1985; Kliměš *et al.*, 1997; Aarssen, 2008), entre el 40% y 80% en especies de taiga, tundra y de zonas templadas (van Groenendael y de Kroon, 1990 Kliměš *et al.*, 1997) y el 44% de plantas invasoras en China (Liu *et al.*, 2006), está ampliamente representada en monocotiledóneas y se presenta con baja frecuencia en las gimnospermas (Van Groenendael *et al.*, 1996; Peterson y Jones, 1997). Respecto a las condiciones ambientales, se sugiere que la clonalidad predomina en condiciones estresantes como suelos pobres en nitrógeno, suelos húmedos, cuerpos de agua, hábitats sombreados y ambientes fríos en altitudes y latitudes elevadas (Tiffney y Niklas, 1985; Van Groenendael *et al.*, 1996; Kliměš *et al.*, 1997).

La clonalidad en plantas se ha estudiado con enfoques muy diversos. Por ejemplo, se ha analizado la frecuencia de especies clonales y la variación en las formas de crecimiento clonal en distintos ambientes (p. ej., Tiffney y Niklas, 1985; Van Groenendael *et al.*, 1996; Kliměš *et al.*, 1997), las implicaciones de la integración fisiológica de los ramets y la plasticidad morfológica del crecimiento clonal en ambientes heterogéneos y en condiciones de estrés competitivo (p. ej., Bell, 1984; Hartnett y Bazzaz, 1985; de Kroon y Hutchings, 1995; Price y Marshall, 1999), el efecto de la clonalidad en la demografía (p. ej., Caswell, 1985; McFadden, 1991; Damman y Cain, 1998; Mandujano *et al.*, 2001), la comparación de la diversidad genética entre especies de plantas clonales y no clonales (p. ej., Ellstrand y Roose, 1987; Widen *et al.*, 1994) y las consecuencias reproductivas y evolutivas de la geitonogamia asociada con la clonalidad (p. ej., Handel, 1985; de Jong *et al.*, 1992; Eckert, 2000).

Las implicaciones reproductivas y genéticas de reducir la entrecruza incrementando la geitonogamia han aumentado el interés en el estudio de los patrones de distribución espacial de genets y ramets en poblaciones de plantas clonales. Debido a que los propágulos vegetativos suelen tener una capacidad de dispersión restringida, el reclutamiento clonal frecuente puede reducir la entrecruza e incrementar la autocruza (p. ej., autogamia y geitonogamia), determinando los niveles de variación y la estructuración genética en las poblaciones (Handel, 1985; Eckert, 2002; Ruggiero *et al.*, 2005; Honnay *et al.*, 2006). En especies autocompatibles, los costos reproductivos de la geitonogamia están asociados al incremento de la autogamia materna y a las probabilidades de expresar depresión endogámica, a la vez que disminuye la adecuación paterna reduciendo la cantidad de polen disponible para la entrecruza; mientras que en las especies autoincompatibles, la geitonogamia afecta la producción de semillas, debido a la saturación de los estigmas con polen incompatible y al aborto de óvulos, y puede resultar en el desperdicio de grandes cantidades de polen (de Jong *et al.*,

1992; Charpentier, 2002).

En plantas clonales los patrones de distribución espacial pueden ser afectados por la manera en que se generan los ramets. Las formas de crecimiento clonal son muy diversas, pero existen algunas clasificaciones que facilitan el entendimiento de esta variación. Tiffney y Niklas (1985) propusieron cuatro tipos principales de crecimiento: (1) Crecimiento establecido, dado por el inicio del desarrollo de un organismo individual a partir de un propágulo (puede considerarse como crecimiento clonal si el propágulo es vegetativo, ya que el propágulo también puede ser una semilla producida sexualmente). (2) Crecimiento restaurativo, que se refiere a la reparación de un daño local en el individuo mediante la formación de tejido calloso, pero no hay regeneración de los órganos completos cuando estos se pierden. (3) Crecimiento regenerativo, que se refiere a la reparación y el reemplazo de órganos dañados (p. ej., crecimiento de una rama desprendida). Y (4) Crecimiento reproductivo, dado por la multiplicación del individuo fisiológico (p. ej., clonalidad). Estos autores también ordenan los tipos de crecimiento clonal en ligado y no ligado, considerando las estructuras de conexión (Figura 1). En el crecimiento ligado los propágulos vegetativos pueden desarrollarse hasta formar individuos completos (con raíces, tallos y hojas) manteniéndose unidos a la planta madre y su dispersión depende del crecimiento de ramificaciones de tallos y raíces, mientras que en el no ligado, los propágulos vegetativos se desprenden de la planta madre y se desarrollan hasta individuos completos separados de la planta madre. La dispersión de los propágulos en este caso es más dependiente de factores bióticos (p. ej., animales) o abióticos (p. ej., corrientes de agua, gravedad, viento) que en el crecimiento ligado y permite un mayor desplazamiento de los propágulos. El crecimiento reproductivo o clonalidad, que es la que interesa en esta revisión por su influencia en el arreglo espacial de genets y ramets, puede ser de dos tipos: (i) reiteración traumática, definida como la producción de un nuevo individuo inducida por estrés, ya sea por daño o por condiciones ambientales que limitan la reproducción sexual (por ejemplo, la producción de bulbillos en los agaves por daño al escape floral o por deficiencia de polen) y (ii) la reiteración programada, como la producción de un nuevo individuo por un meristemo como parte normal del desarrollo (Tiffney y Niklas, 1985; Arizaga y Ezcurra, 2002).

La distribución espacial de los individuos en las poblaciones se ha clasificado en tres patrones básicos: aleatorio, uniforme y agregado (Figura 2; Gleason, 1920; Clark y Evans, 1954; Barbour *et al.*, 1987). En poblaciones naturales de plantas, los individuos suelen distribuirse en forma más o menos agregada, debido a la distribución heterogénea de los recursos (Couteron y Kokou, 1997; Chen y Bradshaw, 1999), a la interacción con otras especies (Shreve, 1917; Mandujano *et al.*, 1998) y a la dispersión restringida de semillas y propágulos vegetativos (Gibson y Menges, 1994; Okuda *et al.*, 1997; Clark-Tapia *et al.*, 2005). En plantas

clonales además, el arreglo espacial de los genets y ramets puede ordenarse en dos patrones básicos, uno caracterizado por la agregación de ramets del mismo genet y el otro por una distribución entremezclada de ramets de distintos genets (Figura 2; de Kroon y Hutchings, 1995; Charpentier, 2002; Clark-Tapia *et al.*, 2005). Estos arreglos espaciales de genets y ramets pueden estar asociados a la manera en que se producen los ramets (esto es por crecimiento clonal ligado o no ligado) y se ha propuesto que en las plantas que se propagan mediante crecimiento no ligado forman arreglos

más entremezclados que las especies con crecimiento ligado (Gabrielsen y Brochmann, 1998), pero esto no ha sido demostrado. Por otro lado, debido a que la clonalidad puede incrementar la tasa de geitonogamia entre los ramets del mismo genet, puede esperarse que los arreglos entremezclados reduzcan la geitonogamia y promuevan la entrecruza como resultado del incremento local en el número de genets (Charpentier, 2002).

En algunas revisiones sobre el tema de la clonalidad se han planteado hipótesis sobre las implicaciones reproductivas

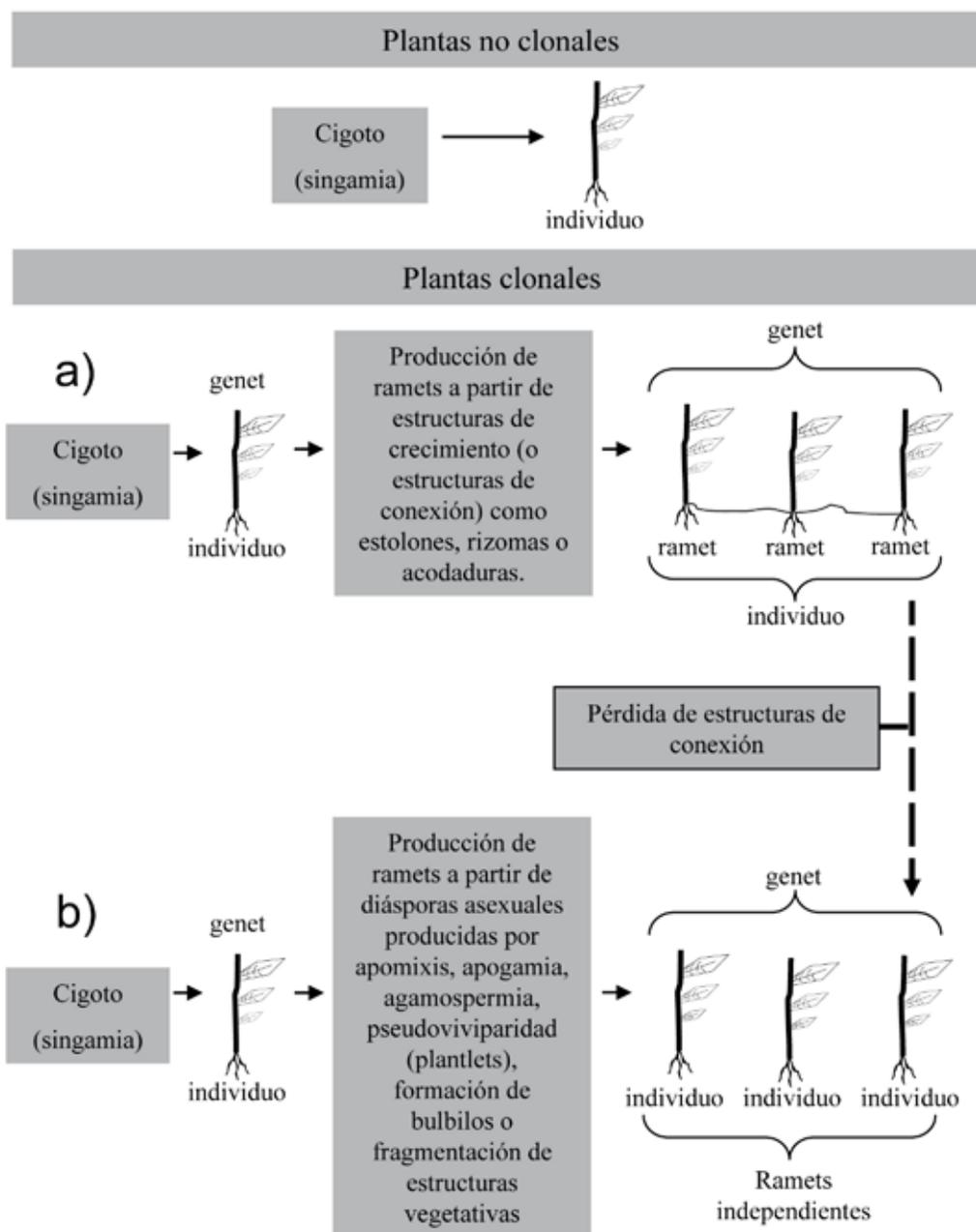


Figura 1. Formación de individuos en plantas no clonales y en plantas clonales. a) crecimiento clonal ligado y b) crecimiento clonal no ligado en la clasificación de Tiffney y Niklas (1985).

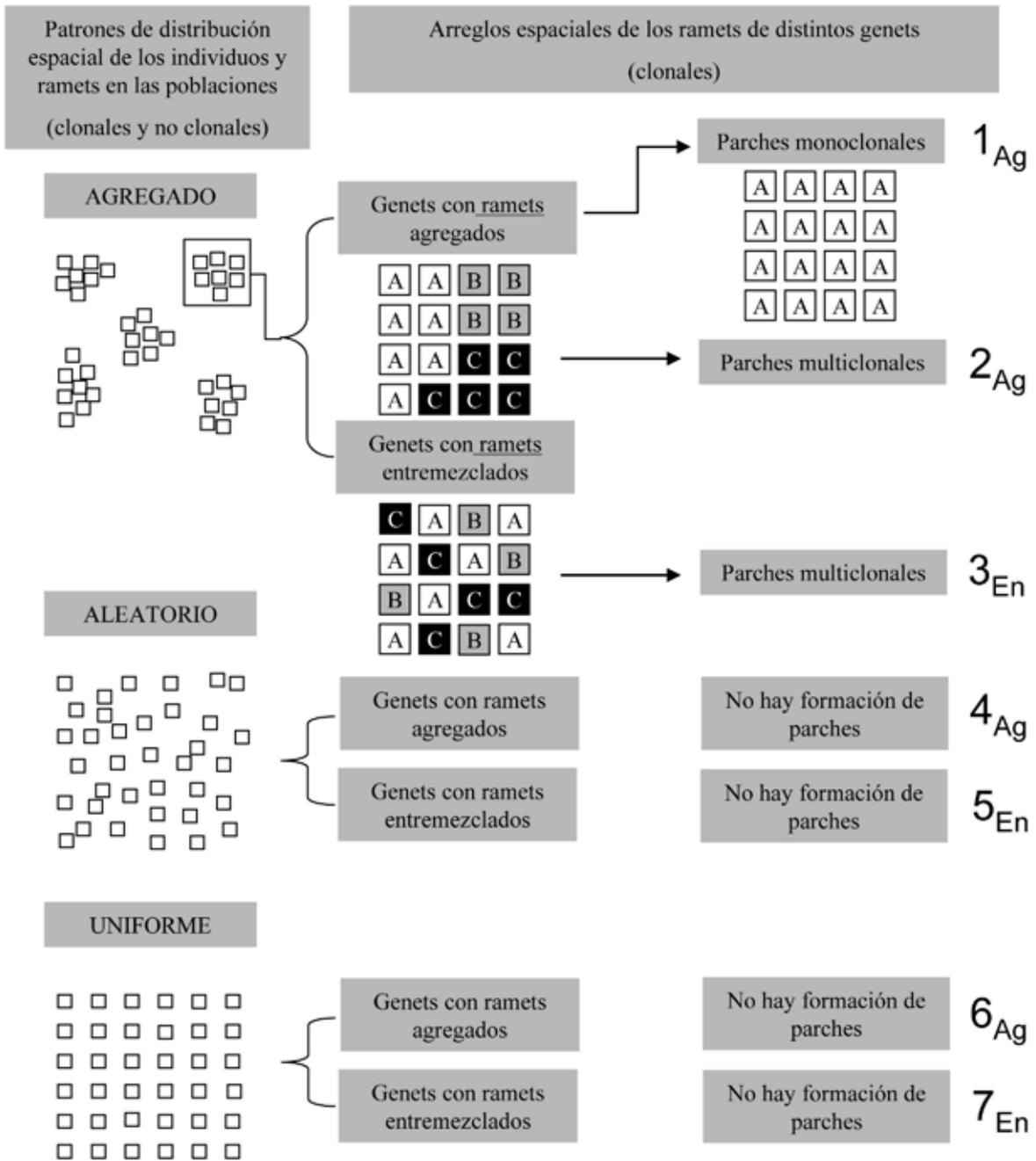


Figura 2. Patrones de distribución espacial de los individuos en las poblaciones de plantas no clonales y de plantas clonales. El número en el extremo derecho representa la clave del patrón de distribución espacial y el arreglo espacial de los ramets de distintos genets (PDE y AER, Apéndice). El subíndice **Ag** indica que los ramets de cada genotipo no se entremezclan con los ramets de genotipos distintos y el subíndice **En** indica que los ramets de diferentes genotipos se entremezclan.

vas y genéticas de los arreglos espaciales de los genets y ramets, asociados con las distintas formas de producir descendientes clonales (Widen *et al.*, 1994; Charpentier, 2002; Mandujano, 2007; Honnay y Jacquemyn, 2008). No obstante, los intentos para probar estas hipótesis son muy escasos y las posibilidades de realizar algún tipo de análisis numérico

son restringidas por la baja disponibilidad de publicaciones (p. ej., Widen *et al.*, 1994), o en los análisis sólo se incluyen especies con crecimiento ligado (p. ej., Honnay y Jacquemyn, 2008). En este trabajo presentamos una revisión de varios estudios que evalúan los patrones de distribución espacial en plantas clonales y a partir de la información proporciona-

da en dichos estudios, analizamos el planteamiento de que en poblaciones de plantas con crecimiento clonal ligado el arreglo espacial de los ramets de distintos genets es agregado, mientras que en poblaciones de plantas con crecimiento clonal no ligado predominan los arreglos espaciales entremezclados. Adicionalmente, intentamos poner a prueba la hipótesis de que los arreglos entremezclados promueven la entrecruza suponiendo que las poblaciones donde la entrecruza es más frecuente tenderán a presentar niveles más altos de diversidad genotípica.

Material y métodos

La revisión de los trabajos publicados sobre la distribución espacial clonal en plantas se llevó a cabo mediante una búsqueda de trabajos en bases de datos especializadas (CSA Cambridge, Ebsco HOST, ISI Web of Knowledge, JSTOR y Scopus) y no especializadas (Google, Google scholar y Yahoo). La búsqueda se hizo empleando los siguientes términos: *clonal structure*, *spatial distribution of genets (and/or ramets)*, *clonal architecture* y *clonal diversity* y abarcó de 1990 a 2011, debido a que la mayoría de los estudios en plantas clonales con este enfoque se han realizado después de 1990.

Los criterios principales para incluir una especie en la revisión fue que se presentara una descripción de la distribución espacial de las plantas individuales (esto es sin importar el genotipo) en las poblaciones naturales y que se evaluara el arreglo espacial de los genets y los ramets (es decir agregado o entremezclado) mediante planos de distribución de los genotipos, análisis de autocorrelación espacial o compatibilidad de las cruces entre ramets contiguos. Para cada especie se obtuvo el tipo de estructuras vegetativas a mediante las cuales se lleva a cabo la propagación clonal a partir de la información proporcionada en los estudios correspondientes o en estudios previos realizados a menudo por los mismos autores. El segundo criterio en orden de importancia fue que se reportaran valores de diversidad genotípica (D = índice de diversidad de Simpson y proporción de genotipos distinguibles G/N) para las poblaciones de las diferentes especies. Otros criterios fueron que se proporcionara información sobre las características reproductivas como la presencia de sistemas de incompatibilidad, la expresión sexual, si se ha observado reclutamiento sexual en las poblaciones y el tipo de polinización. Con base en esta información, se asignó a las especies el tipo de crecimiento clonal (i. e. ligado y no ligado, Figura 1) de acuerdo con la clasificación de Tiffney y Niklas (1985) y el patrón de distribución espacial y el tipo de arreglo espacial de los ramets (agregado o entremezclado) según el esquema presentado en la Figura 2. La información obtenida se presenta en el apéndice.

Para analizar el planteamiento de que en poblaciones de plantas con crecimiento clonal ligado el arreglo espacial de los ramets es agregado, mientras que en poblaciones de

plantas con crecimiento clonal no ligado predomina el arreglo espacial entremezclado se construyó una tabla de contingencia con tres categorías de tipo de crecimiento clonal como columnas (ligado, combinación ligado-no ligado y no ligado) y tres categorías del arreglo espacial de los ramets como renglones (agregado, combinación agregado-entremezclado y entremezclado) y se analizó con una prueba de χ^2 con el paquete estadístico JMP ver. 7.0 (SAS Institute Inc). Para evaluar las celdas que contribuyen significativamente al valor de χ^2 se hizo un análisis de residuales ajustados (Everitt, 1977).

Para probar la hipótesis de que las poblaciones con arreglos entremezclados de ramets presentan niveles más altos de diversidad genotípica, se compararon los valores del índice de diversidad de Simpson (D) y la proporción de genotipos distinguibles (G/N) entre las tres categorías de patrón de distribución clonal y entre las tres categorías de tipo de crecimiento clonal con una prueba de Kruskal-Wallis con el paquete estadístico JMP ver. 7.0 (SAS Institute Inc).

Resultados

En la revisión se incluyeron 53 estudios que comprenden 122 poblaciones distribuidas en 44 especies de plantas clonales y en 27 familias (Apéndice). Las familias mejor representadas son Liliaceae y Rosaceae con cuatro especies cada una; Cactaceae, Cyperaceae, Ericaceae, Poaceae y Salicaceae con tres especies cada una y Zosteraceae con dos especies. El resto de las familias estuvieron representadas por una sola especie. Las especies que predominan son herbáceas perennes (60%), y las plantas con hábito arbustivo y arborescente se encuentran poco representadas (20% en ambos casos).

La mayoría de las especies presentan crecimiento clonal ligado (70%), dominando la propagación a través de rizomas (45% de las especies). Las especies con crecimiento clonal ligado y no ligado representan el 14% propagándose clonalmente por crecimiento ligado a través de rizomas y acodaduras, y por crecimiento no ligado a través de bulbillos, plantlets y desprendimiento de ramas; las especies sólo con crecimiento no ligado representan el 16%, propagándose por bulbillos, semillas producidas por agamosperma, desprendimiento de ramas y gémulas (ver glosario para la definición de las estructuras implicadas en el crecimiento ligado y no ligado, Apéndice). Respecto a la distribución espacial, 50% del total de las especies presentan genets con ramets agregados, 30% presentan una combinación de arreglos agregados-entremezclados y 20% presentan arreglos entremezclados (Apéndice).

Al comparar las poblaciones con diferentes arreglos espaciales de genets y ramets [agregados (Ag), En (entremezclados) y Ag+En (combinados)] encontramos que las poblaciones de especies con crecimiento ligado y no ligado y de especies que sólo presentan crecimiento ligado presentaron

Cuadro 1. Número (observado y esperado) de poblaciones con diferentes tipos de crecimiento clonal de acuerdo con la clasificación de Tiffney y Niklas (1985) (Lg = ligado, Lg+NI = ligado y no ligado, NI = no ligado), que mostraron arreglos espaciales de los ramets de distintos genets: Ag = agregados, Ag+En = combinación de agregados y entremezclados, y En = entremezclados (figura 2). Los valores entre paréntesis indican el número de especies y familias (especies/familias) representadas en cada celda. Los valores de los residuales ajustados en negritas indican las celdas que contribuyen significativamente al valor de χ^2 , el signo indica mayor (sin signo) o menor número (-) de poblaciones de las esperadas por azar.

Observados	Ligado	Ligado+No ligado	No ligado
	Agregado	49 (21/13)	7 (2/2)
Agregado+entremezclado	11 (5/5)	25 (5/5)	7 (3/3)
Entremezclado	10 (5/5)	2 (2/1)	7 (2/2)
Esperados	Lg	Lg+NI	NI
	Agregado	34	17
Agregado+entremezclado	25	12	6
Entremezclado	11	5	3
Residuales ajustados	Lg	Lg+NI	NI
	Agregado	5.34	-3.93
Agregado+entremezclado	-5.24	5.50	0.35
Entremezclado	-0.46	-1.83	2.95

arreglos espaciales (AER) más entremezclados que las poblaciones de especies que sólo presentan crecimiento ligado ($\chi^2 = 43.6$, $P < 0.0001$, 4 g.l.; Cuadro 1). Predominan los patrones de distribución (PDE) con ramets distribuidos en parches discretos sobre el área ocupada por la población (patrón de distribución espacial agregado, 46% de las poblaciones); estos parches son multiclonales (con dos o más genets) en la mayoría de los casos y el arreglo espacial de los ramets de distintos genets es agregado (19% de las poblaciones, $PDE_{AER} 2_{Ag}$, Figura 2), presenta una combinación agregado-entremezclado (10% de las poblaciones, combinación $PDE_{AER} 2_{Ag} - 3_{En}$, Figura 2) o es entremezclado solamente (3% de las poblaciones, $PDE_{AER} 3_{En}$, Figura 2). En otras poblaciones donde los ramets se distribuyen formando parches discretos el arreglo espacial de los ramets de distintos genets es agregado, pero los parches son multiclonales y monoclonales (9% de las poblaciones, combinación $PDE_{AER} 1_{Ag} - 2_{Ag}$, Figura 2) o sólo son monoclonales (5% de las poblaciones, $PDE_{AER} 1_{Ag}$, Figura 2).

Los patrones de distribución espacial con ramets distribuidos aleatoriamente sobre el área ocupada por la población (patrón de distribución espacial aleatorio) representaron en el 44% de las poblaciones, predominando el arreglo espacial agregado-entremezclado de los ramets de distintos genets (22% de las poblaciones, combinación de $PDE_{AER} 4_{Ag} - 5_{En}$, Figura 2), el arreglo agregado se presentó en 10% de las poblaciones ($PDE_{AER} 4_{Ag}$, Figura 2) y el arreglo entremezclado en 12% de las poblaciones ($PDE_{AER} 5_{En}$, Figura 2). El resto de las poblaciones (10%) presentaron una com-

binación de patrones de distribución con ramets distribuidos aleatoriamente sobre una parte del área ocupada por la población y en otra formando parches discretos monoclonales o parches multiclonales con arreglos espaciales agregados y entremezclado de los ramets de distintos genets (combinación de $PDE_{AER} 1_{Ag} - 4_{Ag}$, $1_{Ag} - 5_{En}$, $2_{Ag} - 4_{Ag}$, $2_{Ag} - 5_{En}$, Figura 2).

Las poblaciones de especies con una combinación de tipos de crecimiento clonal ligado y no ligado (Lg-NI) presentaron valores más bajos de la proporción de genotipos distinguibles (promedio \pm E.E., $G/N = 0.24 \pm 0.04$; $H = 6.93$, $P = 0.031$, 2 g.l.) que las poblaciones de especies con crecimiento ligado (promedio \pm E.E., $G/N = 0.38 \pm 0.03$) y con crecimiento no ligado (promedio \pm E.E., $G/N = 0.39 \pm 0.06$), pero las diferencias sólo fueron significativas con respecto a las poblaciones de especies con crecimiento ligado (Figura 3a). Respecto al arreglo espacial de los ramets de distintos genets, las poblaciones con una combinación de arreglos agregado y entremezclado (Ag-En) presentaron valores menores del índice de diversidad de Simpson (promedio \pm E.E., $D = 0.57 \pm 0.05$; $H = 13.2$, $P = 0.0014$, 2 g.l.) que las poblaciones con arreglos agregados (promedio \pm E.E., $D = 0.80 \pm 0.04$) y con arreglos entremezclados (promedio \pm E.E., $D = 0.76 \pm 0.06$; Figura 3). Estas diferencias sugieren que el reclutamiento sexual es más bajo en poblaciones de especies que presentan una combinación de formas de crecimiento clonal ligado-no ligado (Lg-NI) y una combinación de arreglos de los ramets de distintos genets agregado-entremezclado (Ag-En), sin embargo estas diferencias pueden estar asociadas con otros factores como el tipo de

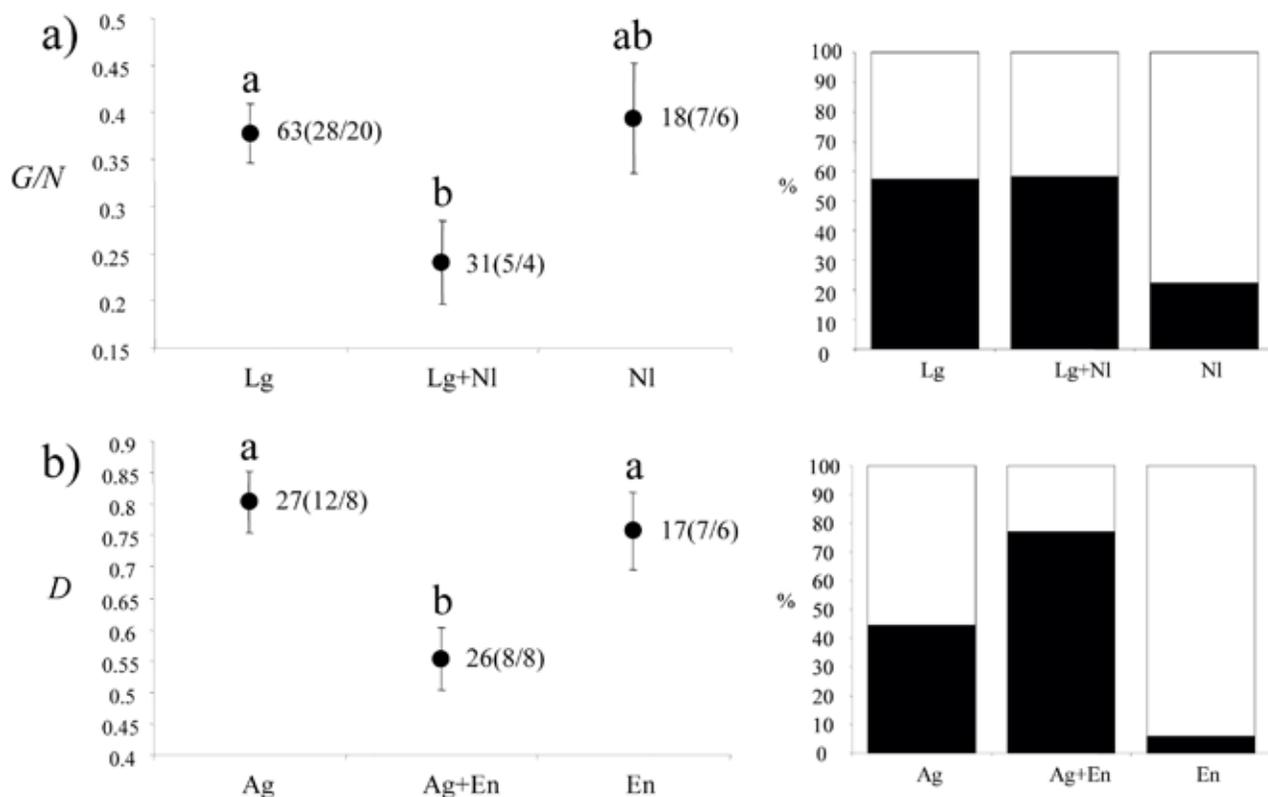


Figura 3. Comparación de la diversidad clonal (promedio \pm EE) entre poblaciones de especies con a) distinto tipo de crecimiento clonal: Lg = ligado, Lg+NI = con ambos tipos de crecimiento y NI = no ligado y b) con distintos arreglos espaciales de los ramets de distintos genets: Ag = agregados, Ag+En = combinación de agregados y entremezclados, y En = entremezclados (figura 2). En cada grupo se indica el número de poblaciones (número de especies / número de familias) y los grupos que difieren significativamente se indican con una letra distinta arriba de la barra del promedio \pm E.E. de cada grupo. Las gráficas de barras del lado derecho muestran el porcentaje de poblaciones con polinización abiótica (en negro) y con polinización biótica (en blanco).

polinización, y no con el tipo de crecimiento y el arreglo espacial de los ramets de distintos genets. La mayoría de las poblaciones con tipo de crecimiento Lg-NI y arreglos de ramets de distintos genets Ag-En corresponden a especies con polinización abiótica (Figura 3).

Discusión

El efecto que tienen los modos de clonalidad en las plantas en la conformación de distintos arreglos espaciales de genets y ramets es un campo relativamente novedoso, que se ha explorado en los últimos 20 años y la mayoría de los estudios que hay sobre el tema se han desarrollado después de 1990. Widen *et al.* (1994) reportan que de 40 estudios que comprenden un total de 45 especies de plantas clonales, menos de la tercera parte proporcionan información sobre el arreglo espacial de los genets en las poblaciones y sólo en 12.5% se construyeron planos de distribución de todos los ramets, dentro de las parcelas o poblaciones, identificando los genotipos multilocus. En esta revisión, en el 98% de los

estudios incluidos se identifican los genotipos multilocus mediante marcadores dominantes, codominantes o ambos siguiendo tres métodos de muestreo: en el 56% de los estudios se utilizan parcelas, en el 24% transectos y en el 18% se muestrean todos o varios individuos de las poblaciones. El 2% restante está representado por un estudio donde el patrón de distribución es descrito y la distribución de los ramets se sugiere por experimentos de cruza compatibles entre ramets cercanos (en *Scirpus maritimus*, Charpentier *et al.*, 2000).

A pesar de que en la actualidad se cuenta con más información sobre los patrones de distribución espacial en poblaciones de especies clonales, hacer comparaciones de dichos patrones considerando especies con distintas formas de crecimiento clonal para analizar las consecuencias reproductivas y genéticas del arreglo espacial de los genets y los ramets continúa siendo un reto. Algunos factores que influyen en este hecho son que la evaluación de la variación en los patrones de distribución espacial en plantas clonales enfrenta la dificultad que implica trabajar con la mayoría

de los individuos en muchas poblaciones, principalmente a nivel molecular. Aunque en la actualidad las herramientas moleculares se han vuelto más accesibles, trabajar con un gran número de ejemplares sigue siendo difícil y costoso. Otros problemas son la falta de estimadores numéricos comparables para describir la distribución espacial en las poblaciones de diferentes especies y la variación en los métodos de muestreo. Por ejemplo, el muestreo mediante transectos colectando muestras de ramets cada determinada distancia (p. ej., Jonsson *et al.*, 1996; Esselman *et al.*, 1999) permite evaluar la capacidad de expansión longitudinal de los genets, pero no permite tener una descripción de la expansión radial y por lo tanto una evaluación más precisa del nivel de entremezcla de los ramets de distintos genets. En contraste, el muestreo de todos o de un gran número de individuos dentro de parcelas o en las áreas ocupadas por las poblaciones es otro método empleado en estudios con especies de plantas clonales (p. ej., Shimizu *et al.*, 2002; Ruggieiro *et al.*, 2005). Este tipo de muestreo puede ser un método más adecuado para analizar y comparar la estructura espacial clonal, por que permite detectar el arreglo radial de distintos genets. Sin embargo, los tamaños de muestra muy grandes pueden limitar la aplicación de este método, ya que en la mayoría de los casos es necesario emplear marcadores moleculares para identificar a los genets.

En particular, además de los problemas mencionados anteriormente es importante considerar las dificultades adicionales que detectamos en este estudio y que pueden afectar los patrones encontrados a través de nuestra aproximación. La mayoría de los estudios que analizan la distribución espacial de genets y ramets parecen estar sesgados hacia especies de herbáceas perennes con crecimiento clonal ligado (45% de las especies), predominando las especies rizomatosas (43% de las especies), mientras que las especies con crecimiento no ligado están poco representadas, impidiendo contar con tamaños de muestra equivalentes para hacer comparaciones más precisas. Por otro lado, la aproximación que decidimos emplear en este trabajo compara a las poblaciones más que a las especies, debido a que hemos detectado que hay una importante variación intraespecífica tanto en los patrones de distribución como en los patrones reproductivos. No obstante, esta variación se omite en algunos estudios o está mejor representada para algunas especies.

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que las especies que se propagan por crecimiento no ligado tienden a formar arreglos espaciales de los ramets de distintos genets más entremezclados como se ha planteado (Gabrielsen y Brochmann, 1998). No obstante, en especies con crecimiento ligado que además se propagan clonalmente por crecimiento no ligado, como el desprendimiento de ramas, el cual consideramos en este estudio como una forma de crecimiento no ligado en los análisis, debido a que los ramets originados por este medio se desarrollan hasta individuos completos separados de la planta madre y a que su dispersión no

depende del crecimiento horizontal de tallos y raíces (p.ej., *Lophocereus schottii*, Parker y Hamrick, 1992; *Pteridium aquilinum*, Parks y Werth, 1993; *Cladium jamaicense*, Ivey y Richards, 2001; *Ferocactus robustus*, Carrillo-Angeles *et al.*, 2011), o que se propagan por la extensión de rizomas en especies con crecimiento en guerrilla (p. ej., *Cymodocea nodosa*, Ruggieiro *et al.*, 2005 e *Ilex leucoclada*, Torimaru y Tomaru, 2005) también forman arreglos de genets entremezclados. Algunos factores externos que pueden influir en el arreglo entremezclado de genets son la dispersión por actividades humanas (Parks y Werth, 1993; Brzosko *et al.*, 2002), el acarreo de propágulos vegetativos por animales y corrientes de agua (Parker y Hamrick, 1992; Brzosko *et al.*, 2002), el reclutamiento de nuevos genets en áreas perturbadas donde permanecen fragmentos de clones que ocuparon grandes extensiones (Parks y Werth, 1993) y la dispersión de semillas producidas por autogamia que presentan genotipos multilocus idénticos (Keane *et al.*, 1999; Brzosko *et al.*, 2002).

Respecto a la hipótesis de que las poblaciones con arreglos espaciales entremezclados de los ramets de distintos genets presentan mayor entrecruza, medido indirectamente mediante la diversidad genotípica, nuestros resultados concuerdan parcialmente con el patrón esperado. El G/N es significativamente mayor en los arreglos de especies con producción de vástagos no ligados, en donde predominan los arreglos de genets entremezclados. Para probar esta hipótesis consideramos que si la entrecruza es más alta en poblaciones con arreglos entremezclados, habría mayores niveles de diversidad genotípica. Sin embargo, esto no se refleja en el caso del índice de Simpson. Las diferencias en los índices de diversidad genotípica entre las poblaciones de especies que combinan el crecimiento clonal ligado-no ligado (Lg-Nl) y el arreglo espacial agregado-entremezclado (Ag-En), respecto de las poblaciones que presentan uno u otro tipo de crecimiento y de arreglo espacial están asociadas con el tipo de polinización (biótica o abiótica), lo cual apoya el planteamiento de que la polinización biótica puede incrementar la eficiencia de la fertilización (Barret *et al.*, 1993; Richards, 1997; Reusch, 2003). Los análisis para probar este planteamiento están fuera del alcance del presente estudio.

Además de los efectos sobre el reclutamiento sexual y la diversidad genotípica, los patrones de distribución espacial en especies clonales pueden afectar la diversidad genética y la estructura genética de las poblaciones. Por ejemplo, la formación de parches monoclonales en especies con entrecruza obligada, aunada al desplazamiento de genets por competencia, puede eliminar la capacidad de una población para reproducirse sexualmente en tiempos relativamente cortos (Honnay y Bossuyt, 2005). Adicionalmente, una reducción del reclutamiento sexual y una dispersión restringida de polen, semillas y propágulos vegetativos pueden generar estructura genética local en las poblaciones. Este segundo aspecto se evalúa en varios de los estudios revisados

(47%). La estructura genética local tanto a nivel de genets (indicando una dispersión restringida de polen, semillas o ambos) como de ramets (indicando dispersión restringida de propágulos vegetativos) se detectó en 46 poblaciones distribuidas en 16 especies; 28 poblaciones corresponden a cinco especies arbóreas que muestran estructura genética local a distancias menores de 50 m (*Sequoia sempervirens*, Douhovnikoff *et al.*, 2004) y a distancias menores de 25 m (*Eurya emarginata*, Chung y Epperson, 2000; *Cryptomeria japonica*, Shimizu *et al.*, 2002; Hirayama y Sakimoto, 2008; *Populus tremula*, Suvanto y Latva-Karjantvaa, 2005); tres poblaciones corresponden a dos especies arbustivas (*Echinosophora koreensis*, Chung *et al.*, 2006; *Stenocereus eruca*, Clark-Tapia *et al.*, 2005) que presentan estructura genética local a distancias menores de 20 m. El resto de las poblaciones corresponden a hierbas perennes que muestran estructura genética local desde distancias menores de 30 m, pero más frecuentemente a distancias menores de 15 m.

En promedio, los valores del índice de diversidad de Simpson (D) y la proporción de genotipos distinguibles (G/N) fueron altos en las poblaciones representadas en los estudios incluidos en la presente revisión y son similares a los reportados para 21 especies de plantas clonales ($D = 0.62$ y $G/N = 0.16$) por Ellstrand y Roose (1987). Se han planteado algunas hipótesis sobre los escenarios que pueden explicar altos niveles de diversidad genotípica: i) las poblaciones pudieron ser fundadas por varios propágulos sexuales que se mantienen por clonalidad, ii) el reclutamiento sexual fue más frecuente en el pasado, aunque en la actualidad la producción de descendientes sexuales no sea evidente (Ellstrand y Roose, 1987; Eriksson, 1989, 1993; Widen *et al.*, 1994); iii) los genotipos heterocigos se ven favorecidos selectivamente, manteniendo altos niveles de diversidad genética (Widen *et al.*, 1994); iv) los riesgos de mortalidad entre los ramets de un genet pueden ser distintos si tienen independencia física y fisiológica (Eriksson 1989, 1993, Pan y Price, 2002), lo cual puede reducir las probabilidades de supervivencia / extinción del genet; v) en especies con ciclos de vida largos los eventos raros de reclutamiento sexual pueden ser suficientes para mantener niveles altos de diversidad genética (Eriksson 1989, 1993, Parker y Hamrick, 1992; Brzosko *et al.*, 2002; Clark-Tapia *et al.*, 2005); vi) los genotipos pueden mantenerse a través de la supervivencia de algunos ramets el tiempo suficiente para que algunos genotipos se integren a la población de manera esporádica; vii) la heterogeneidad ambiental puede generar condiciones de selección diversificante que permiten la coexistencia de varios genotipos (Widen *et al.*, 1994). Otra posibilidad para el mantenimiento de diversidad clonal en poblaciones de plantas, que surge al considerar la variación de la distribución espacial de genets y ramets, es que la clonalidad puede mantener altos niveles de entrecruza e incrementar las probabilidades de reclutamiento sexual si los ramets se dispersan hacia vecindarios genéticamente variables, debido a la distribución en-

tremezclada de genets.

Las explicaciones a los niveles relativamente altos de diversidad genotípica en las poblaciones de las especies incluidas en esta revisión incluyen los eventos esporádicos de reclutamiento sexual y el establecimiento inicial de varios genets. En algunos casos se sugiere un reclutamiento sexual frecuente a partir de los altos niveles de diversidad genotípica detectados con los marcadores moleculares (p. ej., Parks y Werth, 1993; Diggle *et al.*, 1998, Misuki *et al.*, 2010). No obstante, el reclutamiento sexual en poblaciones naturales sólo se reporta en *Prunus ssiiori*, *Rubus saxatilis* (Eriksson y Bremer, 1993), *Cypripedium calceolus* (Brzosko *et al.*, 2002) y *Maianthemum dilatatum* (Wilson *et al.*, 2005b). Otros factores que se proponen para explicar la diversidad genotípica son que la integración fisiológica entre los ramets de un genet puede reducir el riesgo de que un genotipo en particular desaparezca, cuando las condiciones ambientales locales son adversas, contribuyendo a mantener la diversidad genética (Hartnett y Bazzaz, 1985), el incremento en la tasa de entrecruza, debido a la entremezcla de genets en especies con crecimiento en guerrilla (Ruggieiro *et al.*, 2005) y en especies que se propagan clonalmente por desprendimiento de ramas y producción de bulbilos (Parker y Hamrick, 1992; Gabrielsen y Brochmann, 1998).

El estudio de los patrones de distribución espacial en especies clonales es importante para analizar las consecuencias reproductivas y genéticas del arreglo espacial de los genets y los ramets en las poblaciones naturales. Estas consecuencias pueden explorarse de una manera más precisa analizando la variación de la distribución de genets y ramets entre las poblaciones de una misma especie. Sin embargo, la evidencia de estos aspectos en organismos clonales aún es escasa y hace falta realizar estudios considerando diferentes tipos de crecimiento clonal. El análisis de los patrones de distribución espacial pueden ser muy útiles para evaluar otros aspectos del ciclo de vida de las especies clonales como el efecto de una variación persistente en la producción de propágulos clonales y sexuales entre hábitats, que puede afectar diferencialmente la dinámica de las poblaciones. Asimismo, es necesario analizar la dinámica temporal de los arreglos espaciales de los genets y ramets en las poblaciones para hacer inferencias adecuadas sobre las consecuencias ecológicas y evolutivas de la clonalidad.

Agradecimientos

Proyectos: IN IN205007 *Efecto de la estructura clonal sobre la dinámica poblacional y la reproducción de una cactácea con ciclo de vida complejo, Opuntia microdasys.*

Becas: doctorado Conacyt a I. Carrillo-Angeles y estancia sabática en New Mexico State University, otorgada por DGAPA-PASPA- Universidad Nacional Autónoma de México a M. Mandujano. Este trabajo es parte de la tesis de doctorado de Israel Gustavo Carrillo Angeles, Posgrado

en Ciencias Biológicas de la UNAM. Agradecemos la revisión, sugerencias en el trabajo así como el apoyo de los miembros del comité tutorial, Doctores Teresa Valverde y Francisco Molina. Asimismo a la Dra. Ana Mendoza, Dr. Jordan Golubov y dos revisores anónimos por sus sugerencias al artículo.

Literatura citada

- Aarssen L.W. 2008. Death without sex—the ‘problem of the small’ and selection for reproductive economy in flowering plants. *Evolutionary Ecology* **22**:279-298.
- Albert T., Raspé O. y Jacquemart A.-L. 2003. Clonal structure in *Vaccinium myrtillus* L. revealed by RAPD and AFLP markers. *International Journal of Plant Sciences* **164**:649-655.
- Arens P., Grashof-Bokdam C.J., van der Sluis T. y Smulders M.J.M. 2005. Clonal diversity and genetic differentiation of *Maianthemum bifolium* among forest fragments of different age. *Plant Ecology* **179**:169-180.
- Arizaga S. y Ezcurra E. 2002. Propagation mechanisms in *Agave macrovantha* (Agavaceae), a tropical arid land succulent rosette. *American Journal of Botany* **89**:632-641.
- Barbour M.G., Burk J.H. y Pitts W.D. 1987. *Terrestrial Plant Ecology*. The Benjamin-Cummings Publishing Company, Menlo Park.
- Barret S.C.H., Eckert C.G. y Husband B.C. 1993. Evolutionary processes in aquatic plant populations. *Aquatic Botany* **44**:105-145.
- Bell A.D. 1984. Dynamic morphology: A contribution to plant population ecology. En Dirzo R. y Sarukhán J. Eds. *Perspectives on Plant Population Ecology*, pp. 49-65, Sinauer Associates Inc. Publisher, Sunderland.
- Brzosko E., Wróblewska A. y Ratkiewicz M. 2002. Spatial genetic structure and clonal diversity of island populations of lady's slipper (*Cyperidium calceolus*) from the Biebrza National Park (northeast Poland). *Molecular Ecology* **11**:2499-2509.
- Bushakra J.M., Hodges S.A., Cooper J.B. y Kaska D.D. 1999. The extent of clonality and genetic diversity in the Santa Cruz Island ironwood, *Lyonothamnus floribundus*. *Molecular Ecology* **8**:471-475.
- Camacho F.J. y Liston A. 2001. Population structure and genetic diversity of *Botrychium pumicola* (Ophioglossaceae) based on inter-simple sequence repeats (ISSR). *American Journal of Botany* **88**:1065-1070.
- Carrillo-Angeles I.G., Mandujano M.C. y Golubov J. 2011. Influences of the genetic neighborhood on ramet reproductive success in a clonal desert cactus. *Population Ecology* **53**:449-458.
- Caswell H. 1985. The evolutionary demography of clonal reproduction. En Jackson J.B.C., Buss L.W. y Cook R.E. Eds. *Population Biology and Evolution of Clonal Organisms*, pp. 187-224, Yale University Press, New Haven.
- Charpentier A. 2002. Consequences of clonal growth for plant mating. *Evolutionary Ecology* **15**:521-530.
- Charpentier A., Grillas P. y Thompson J.D. 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 Bradshaw G.A. 1999. Forest structure in space: a case study of an old growth spruce-fir forest in Changbaishan National Reserve, PR China. *Forest Ecology and Management* **120**:219-233.
- Chung M.G. y Epperson B.K. 2000. Clonal and spatial genetic structure in *Eurya emarginata* (Theaceae). *Heredity* **84**:170-177.
- Chung J.M., Lee B.C., Kim J.S., Park C., Chung M.Y. y Chung M.G. 2006. Fine-scale genetic structure among genetic individuals of the clone-forming monotypic genus *Echinospora koereensis* (Fabaceae). *Annals of Botany* **98**:165-173.
- Clark P.J. y Evans F.C. 1954. Distance to nearest neighbor as a measure of spatial relationships in populations. *Ecology* **35**:445-453.
- Clark-Tapia R., Alfonso-Corrado C., Eguiarte L.E. y Molina-Freaner F. 2005. 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., Alfonso-Corrado C., Mandujano M.C. y Molina-Freaner F. 2006. Reproductive consequences of clonal growth in *Stenocereus eruca*, a rare clonal cactus of the Sonoran desert. *Evolutionary Ecology* **20**:131-142.
- Couteron P. y Kokou K. 1997. Woody vegetation spatial patterns in a semi-arid savanna of Burkina Faso, West Africa. *Plant Ecology* **132**:211-227.
- Damman H. y Cain M.L. 1998. Population growth and viability analyses of the clonal woodland herb, *Asarum canadense*. *Journal of Ecology* **86**:13-26.
- de Jong T.J., Waser N.M., Price M.V. y Ring R.M. 1992. Plant size, geitonogamy and seed set in *Ipomopsis aggregata*. *Oecologia* **89**:310-315.
- de Kroon H. y van Groenendael J. Eds. 1997. *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*. Backhuys Publishers, Leiden.
- de Kroon H. y Hutchings M.J. 1995. Morphological plasticity in clonal plants: the foraging concept reconsidered. *Journal of Ecology* **83**:143-152.
- Diggle P.K., Lower S. y Ranker T.A. 1998. Clonal diversity in alpine populations of *Polygonum viviparum* (Polygonaceae). *International Journal of Plant Sciences* **159**:606-615.
- Diggle P.K., Meixner M.A., Carroll A.B. y Aschwanden C.F. 2002. Barriers to sexual reproduction in *Polygonum viviparum*: A comparative developmental analysis of *P. viviparum* and *P. bistortoides*. *Annals of Botany* **89**:145-156.
- Douhovnikoff V. y Dodd R.S. 2003. Intra-clonal variation and a similarity threshold for identification of clones: application to *Salix exigua* using AFLP molecular markers. *Theoretical Applied Genetics* **106**:1307-1315.
- Douhovnikoff V., Cheng A.M. y Dodd R.S. 2004. Incidence, size and spatial structure of clones in second-growth stands of coast redwood, *Sequoia sempervirens* (Cupressaceae). *American Journal of Botany* **91**:1140-1146.
- Douhovnikoff V., McBride J.R. y Dodd R.S. 2005. *Salix exigua* clonal growth and population dynamics in relation to disturbance regime variation. *Ecology* **86**:446-452.
- Eckert C.G. 2000. Contributions of autogamy and geitonogamy to self-fertilization in a mass-flowering, clonal plant. *Ecology* **81**:532-542.
- Eckert C.G. 2002. The loss of sex in clonal plants. *Evolutionary Ecology* **15**:501-520.
- Ellstrand N.C. y Roose M.L. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany* **74**:123-131.
- Eriksson O. 1989. Seedling dynamics and life histories in clonal

- plants. *Oikos* **55**:231-238.
- Eriksson O. 1993. Dynamics of genets in clonal plants. *Trends in Ecology & Evolution* **8**:313-316.
- Eriksson O. y Bremer B. 1993. Genet dynamics of the clonal plant *Rubus saxatilis*. *Journal of Ecology* **81**:533-542.
- Esselman E.J., Jianqiang L., Crawford D.J., Winduss J.L. y Wolfe A.D. 1999. Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp *insperata* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and intersimple sequence repeat (ISSR) markers. *Molecular Ecology* **8**:443-451.
- Everitt B.S. 1977. *The Analysis of Contingency Tables*. Chapman & Hall, Bury St Edmunds.
- Gabrielsen T.M. y Brochmann C. 1998. Sex after all: high levels of diversity detected in the arctic clonal plant *Saxifraga cernua* using RAPD markers. *Molecular Ecology* **7**:1701-1708.
- Garnier L.K.M., Durand J. y Dajoz I. 2002. Limited seed dispersal and microspatial population structure of an agamosperous grass of West African savannahs, *Hyparrhenia diplandra* (poaceae). *American Journal of Botany* **89**:1785-1791.
- Gibson D.J. y Menges E.S. 1994. Population structure and spatial pattern in the dioecious shrub *Ceratiola ericoides*. *Journal of Vegetation Sciences* **5**: 337-346.
- Gleason H.A. 1920. Some applications of the quadrat method. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **47**:21-33.
- Hämmerli A. y Reusch T.B.H. 2003a. Flexible mating: cross-pollination affects sex expression in a marine clonal plant. *Journal of Evolutionary Biology* **18**:1096-1105.
- Hämmerli A. y Reusch T.B.H. 2003b. Genetic neighbourhood of clone structures in eelgrass meadows quantified by spatial autocorrelation of microsatellite markers. *Heredity* **91**:448-455.
- Handel S.N. 1985. The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding system. *The American Naturalist* **125**:367-384.
- Harper J. 1985. Modules, branches, and the capture of resources. En: Jackson J.B.C., Buss L.W. y Cook R.E. Eds. *Population Biology and Evolution of Clonal Organisms*, pp. 1-33 Yale University Press, New Haven.
- Hartnett D.C. y Bazzaz F.A. 1985. The integration of neighbourhood effects by clonal genets in *Solidago canadensis*. *The Journal of Ecology* **73**:415-427.
- Hirayama K. y Sakimoto M. 2008. Clonal structure and diversity of *Cryptomeria japonica* along a slope in a cool-temperate, old-growth mixed forest in the snowy region of Japan. *Canadian Journal of Forest Research* **38**:2804-2813.
- Honnay O. y Bossuyt B. 2005. Prolonged clonal growth: escape route or route to extinction? *Oikos* **108**:427-432.
- Honnay O., Jacquemyn H., Roldán-Ruiz I. y Hermy M. 2006. Consequences of prolonged clonal growth on local and regional genetic structure and fruiting success of the forest perennial *Maianthemum bifolium*. *Oikos* **112**:21-30.
- Honnay O. y Jacquemyn H. 2008. A meta-analysis of the relation between mating system, growth form and genotypic diversity in clonal plant species. *Evolutionary Ecology* **22**:299-312.
- Ivey C.T. y Richards J.H. 2001. Genotypic diversity and clonal structure of everglades sawgrass, *Cladium jamaicense* (Cyperaceae). *International Journal of Plant Sciences* **162**:1327-1335.
- Jackson J.B.C., Buss L.W. y Cook R.E. Eds. 1985. *Population Biology and Evolution of Clonal organisms*. Yale University Press, New Haven.
- Jacquemyn H., Brys R., Honnay O., Hermy M. y Roldán-Ruiz I. 2005. Local forest environment largely affects below-ground growth, clonal diversity and fine-scale spatial genetic structure in the temperate deciduous forest herb *Paris quadrifolia*. *Molecular Ecology* **14**:4479-4488.
- Jonsson B.O., Jónsdóttir I.S. y Cronberg N. 1996. Clonal diversity and allozyme variation in populations of the arctic sedge *Carex bigelowii* (Cyperaceae). *Journal of Ecology* **84**:449-459.
- Kays S. y Harper J.L. 1974. The regulation of plant and tiller density in a grass sward. *Journal of Ecology* **62**:97-105.
- Keane B., Pelikan S., Toth G.P., Smith M.K. y Rogstad S.H. 1999. Genetic diversity of *Typha latifolia* (Typhaceae) and the impact of pollutants examined with tandem-repetitive DNA probes. *American Journal of Botany* **86**:1226-1238.
- Kjølnér S., Sæstad S.M. y Brochmann C. 2006. Clonality and recombination in the arctic plant *Saxifraga cernua*. *Botanical Journal of the Linnean Society* **152**:209-217.
- Klimeš L., Klimešová J., Hendriks R.J.J. y van Groenendael J.M. 1997. Clonal plant architecture: a comparative analysis of form and function. En: de Kroon H. y van Groenendael J. Eds. *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*, pp. 1-29, Backhuys Publishers, Leiden.
- Korpelainen H. 1994. Sex ratios and resource allocation among sexually reproducing plants of *Rubus chamaemorus*. *Annals of Botany* **74**:627-632.
- Korpelainen H., Antonious-Klemola K. y Werlemark G. 1999. Clonal structure of *Rubus chamaemorus* populations: comparison of different molecular methods. *Plant Ecology* **143**:123-128.
- Kreher S.A., Foré S.A. y Collins B.S. 2000. Genetic variation within and among patches of the clonal species, *Vaccinium stamineum* L. *Molecular Ecology* **9**:1247-1252.
- Kudoh H., Shibaie H., Takasu H., Whigham D.F. y Kawano S. 1999. Genet structure and determinants of clonal structure in a temperate deciduous woodland herb, *Uvularia perfoliata*. *Journal of Ecology* **87**:244-257.
- Liston A., Wilson B.L., Robinson W.A., Doescher P.S., Harris N.R. y Svejcar T. 2003. The relative importance of sexual reproduction versus clonal spread in an arid bunchgrass. *Oecologia* **137**:216-225.
- Liu J., Dong M., Miao S.L., Li Z.Y., Song M.H. y Wang R.Q. 2006. Invasive alien plants in China: role of clonality and geographical origin. *Biological Invasions* **8**:1461-1470.
- Mandujano M.C., Montaña C., Méndez I. y Golubov J. 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., Montaña C., Franco M., Golubov J. y Flores-Martínez A. 2001. Integration of demographic annual variability in a clonal desert cactus. *Ecology* **82**:344-359.
- Mandujano-Sánchez M.C. 2007. La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones. En: Eguiarte L.E., Souza V. y Aguirre X. Comp. *Ecología Molecular*, pp. 215-250, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales-Instituto Nacional de Ecología-Universidad Nacional Autónoma de México-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, D.F.
- Mayes S.G., McGinley M.A. y Werth C.R. 1998. Clonal population structure and genetic variation in sand-shinnery oak, *Quercus havardii* (Fagaceae). *American Journal of Botany* **85**:1609-1617.
- McFadden C.S. 1991. A comparative demographic analysis of clonal reproduction in a temperate soft coral. *Ecology* **72**:1849-1866.

- Misuki I., Ishida K., Tani N. y Tsumura Y. 2010. Fine-scale spatial structure of genets and sexes in the dioecious plant *Dioscorea japonica*, which disperses by both bulbils and seeds. *Evolutionary Ecology* **24**:1399-1415.
- Mori Y., Nagamitsu T. y Kubo T. 2009. Clonal growth and its effects on male and female reproductive success in *Prunus ssiori* (Rosaceae). *Population Ecology* **51**:175-186.
- Nagamitsu T., Ogawa M., Ishida K. y Tanouchi H. 2004. Clonal diversity, genetic structure, and mode of recruitment in a *Prunus ssiori* population established after volcanic eruptions. *Plant Ecology* **174**:1-10.
- Okuda T., Kachi N., Yap S.K. y Manokaran N. 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.
- Pan J.J. y Price J.S. 2002. Fitness and evolution in clonal plants: the impact of clonal growth. *Evolutionary Ecology* **15**:583-600.
- Parker K.C. y Hamrick J.L. 1992. Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *American Journal of Botany* **79**:86-96.
- Parks C. y Werth C.R. 1993. A study of spatial features of clones in a population of bracken fern, *Pteridium aquilinum* (Dennstaedtiaceae). *American Journal of Botany* **80**:537-544.
- Peterson C.J. y Jones R.H. 1997. Clonality in woody plants: a review and comparison with clonal herbs. En de Kroon H. y van Groenendael J. Eds. *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*, pp. 263-289, Backhuys Publishers, Leiden.
- Pfeiffer T., Klahr A., Heinrich A. y Schnittler M. 2011. Does sex make a difference? Genetic diversity and spatial genetic structure in two co-occurring species of *Gagea* (Liliaceae) with contrasting reproductive strategies. *Plant Systematics and Evolution* **292**:189-201.
- Pornon A. y Escaravage N. 1999. Genotypic structure in clonal *Rhododendron ferrugineum* L. (Ericaceae) populations: origin and maintenance. *Plant Ecology* **141**:145-150.
- Pornon A., Escaravage N., Thomas P. y Taberlet P. 2000. Dynamics of genotypic structure in clonal *Rhododendron ferrugineum* (Ericaceae) populations. *Molecular Ecology* **9**:1099-1111.
- Pornon A., Escaravage N., Till-Bottraud I. y Doche B. 1997. Variation of reproductive traits in *Rhododendron ferrugineum* L. (Ericaceae) populations along a successional gradient. *Plant Ecology* **130**:1-11.
- Price E.A.C. y Marshall C. 1999. Clonal plants and environmental heterogeneity. *Plant Ecology* **141**:3-7.
- Reisch C., Schurm S. y Poschod P. 2007. Spatial genetic structure and clonal diversity in an alpine population of *Salix herbacea* (Salicaceae). *Annals of Botany* **99**:647-651.
- Reusch T.B.H. 2003. Floral neighbourhoods in the sea: how floral density, opportunity for outcrossing and population fragmentation affect seed set in *Zostera marina*. *Journal of Ecology* **91**:610-615.
- Richards A.J. 1997. *Plant Breeding Systems*. Chapman & Hall, Londres.
- Rosseto M., Gross C.L., Jones R. y Hunter J. 2004. The impact of clonality on an endangered tree (*Elaeocarpus williamsonianus*) in a fragment rain forest. *Biological Conservation* **117**:33-39.
- Ruggiero M.V., Capone S., Pirozzi P., Reusch T.B.H. y Procaccini G. 2005. Mating system and clonal architecture: a comparative study in two marine angiosperms. *Evolutionary Ecology* **19**:487-499.
- Shimizu Y., Ando M. y Sakai F. 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.
- Sipes S.D. y Wolf P.G. 1997. Clonal structure and patterns of allozyme diversity in the rare endemic *Cycladenia humilis* var. *jonesii* (Apocynaceae). *American Journal of Botany* **84**:401-409.
- Stehlik I. y Holderegger R. 2000. Spatial genetic structure and clonal diversity of *Anemone nemorosa* in late successional deciduous woodlands of Central Europe. *Journal of Ecology* **88**:424-435.
- Suvanto L.I. y Latva-Karjantvaa T.B. 2005. Clone identification and clonal structure of the European aspen (*Populus tremula*). *Molecular Ecology* **14**:2851-2860.
- Tiffney B.H. y Niklas K.J. 1985. Clonal growth in land plants: a paleobotanical perspective. En: Jackson J.B.C., Buss L.W. y Cook R.E. Eds. *Population Biology and Evolution of Clonal Organisms*, pp. 35-66 Yale University Press, New Haven.
- Tooke F., Ordidge M., Chiurugwi T. y Battey N. 2005. Mechanisms and function of flower and inflorescence reversion. *Journal of Experimental Botany* **56**:2587-2599.
- Torimaru T. y Tomaru N. 2005. Fine-scale clonal structure and diversity within patches of a clone-forming dioecious shrub, *Ilex leucoclada* (Aquifoliaceae). *Annals of Botany* **95**:295-304.
- van Dijk P.J. y Bakx-Schotman J.M.T. 2004. Formation of unreduced megaspores (diplospory) in apomictic dandelions (*Taraxacum officinale*, s.l.) is controlled by a sex-specific dominant locus. *Genetics* **166**:483-492.
- van Groenendael J.M. y de Kroon H. 1990. *Clonal Growth in Plants: Regulation and Function*. SPB Academic Publishing, La Haya.
- van Groenendael J.M., Klimeš L., Klimešová J. y Hendriks R.J.J. 1996. Comparative ecology of clonal plants. *Philosophical Transactions of Royal Society of London* **351**:1331-1339.
- Widén B., Cronberg N. y Widén M. 1994. Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genets in clonal plants, a literature survey. *Folia Geobotanica y Phytotaxonomica* **29**:245-263.
- Wilson A.S.G., van der Kamp B.J. y Ritland C. 2005a. Opportunities for geitonogamy in the clonal herb *Maianthemum dilatatum*. *Canadian Journal of Botany* **83**:1082-1087.
- Wilson A.S.G., van der Kamp B.J. y Ritland C. 2005b. Spatial genetic and clonal structure in *Maianthemum dilatatum* as defined by AFLP markers. *Canadian Journal of Botany* **83**:1126-1132.

Recibido: 15 de julio de 2010

Aceptado: 1 de julio de 2011

Apéndice. Características de las especies y poblaciones: **SCRZ** = sistema de cruce, **POL** = polinización, **PROR** = estructuras o procesos que dan origen a los ramets, **CCT-N** = tipo de crecimiento clonal en la clasificación de Tiffney y Niklas (1985), **POB/HL** = número de población y/o hábitat local, **PDE** = clave del patrón de distribución espacial de acuerdo a la figura 2, **AER** = arreglo espacial de los ramets de distintos genets, **D** = índice de diversidad clonal de Simpson, **G/N** = proporción de genotipos distinguibles, **Métodos** = métodos empleados para la evaluación de los parámetros. El significado de las abreviaturas empleadas en cada columna se muestra al final del cuadro.

Especie (Familia)	Hábito	SCRZ	POL	PROR	CCT-N	POB/ HL	PDE (fig. 2)	AER (fig. 2)	D	G/N	Estructura genética local (EGL)	Métodos PDE, D, G/N y EGL	Referencias
<i>Anemone nemorosa</i> (Ranunculaceae)	Hp	A	Bt	Rzm+ drm	Lg+NI	ppm (20)	(4,5)	Ag+En	n/e	0.95	asp, < 1m (rm)	tra+ISZ+asp	Stehlik y Holderegger 2000*
<i>Botrychium pumicola</i> (Ophioglossaceae)	Hp	A	Ab	gmas	NI	p 1	(2,5)	Ag+En	0.14	0.93	mt: no detectada	prc+ISSR+mt	Camacho y Liston, 2001*
						p 2	(2,5)	Ag+En	0.16	0.9	mt: no detectada		
						p 3	(2,5)	Ag+En	0.1	0.65	mt: no detectada		
<i>Calamagrostis porteri</i> ssp. <i>insperata</i> (Poaceae)	Hp	A	Ab	rzm	Lg	p 1	2	Ag	n/e	0.8	n/e	desc+tra+ ISRR+ RAPD	Esselman <i>et al.</i> , 1999
						p 2	2	Ag	n/e	1	n/e		
						p 3	2	Ag	n/e	0.82	n/e		
						p 4	2	Ag	n/e	0.91	n/e		
<i>Carex bigelowii</i> (Cyperaceae)	Hp	?	Ab	rzm	Lg	p 1	4	Ag	0.98	0.52	n/e	tra+ISZ	Jonsson <i>et al.</i> , 1996*
						p 2	4	Ag	0.98	0.63	n/e		
						p 3	4	Ag	0.98	0.48	n/e		
<i>Cladium jamaicense</i> (Cyperaceae)	Hp	?	Ab	rzm+ pnt	Lg+NI	p 1	(4,5)	Ag+En	0.236	0.044	mpic: no detectada	tra+ISZ+ mpic	Ivey y Richards, 2001*
						p 2	(4,5)	Ag+En	0.269	0.044	mpic: no detectada		
						p 3	(4,5)	Ag+En	0.271	0.125	mpic: no detectada		
						p 4	(4,5)	Ag+En	0.682	0.231	mpic: no detectada		
						p 5	(4,5)	Ag+En	0.159	0.043	mpic: no detectada		
						p 6	1	Ag	0	0.021	n/a		
						p 7	(4,5)	Ag+En	0.538	0.146	mpic: no detectada		
						p 8	(4,5)	Ag+En	0.212	0.068	mpic: no detectada		
						p 9	(4,5)	Ag+En	0.771	0.106	mpic: no detectada		
						p 10	(4,5)	Ag+En	0.698	0.143	mpic: no detectada		
						p 11	(4,5)	Ag+En	0.814	0.261	mpic: no detectada		
						p 12	(4,5)	Ag+En	0.682	0.114	mpic: no detectada		
						p 13	(4,5)	Ag+En	0.673	0.13	mpic: no detectada		
						p 14	(4,5)	Ag+En	0.444	0.043	mpic: no detectada		

Apéndice. Continuación

Especie (Familia)	Hábito	SCRZ	POL	PROR	CCT-N	POB/ HL	PDE (fig. 2)	AER (fig. 2)	D	G/N	Estructura genética local (EGL)	Métodos PDE, D, G/N y EGL	Referencias
						p 15	(4,5)	Ag+En	0.605	0.178	mpic: no detectada		
						p 16	(4,5)	Ag+En	0.719	0.085	mpic: no detectada		
						p 17	(4,5)	Ag+En	0.496	0.043	mpic: no detectada		
						p 18	(4,5)	Ag+En	0.635	0.136	mpic: no detectada		
<i>Cryptomeria japonica</i> (Taxodiaceae)	arb	▲	Ab	acd	Lg	p 1-hl 1	2	Ag	0.9	0.17	asp, < 25m (ge y rm)	prc+RAPD+ ISZ+asp	Shimizu <i>et al.</i> , 2002* Hirayama y Sakimoto, 2008*
						p 2-hl 1	2	Ag	0.94	0.3	asp, < 25m (ge y rm)		
						p 3-hl 1	2	Ag	0.94	0.31	asp, < 25m (ge y rm)		
						p 3-hl 2	(2,4)	Ag	0.91	0.06	asp, < 25m (ge y rm)		
						p 1-hl 3	(2,4)	Ag	0.77	0.07	asp, < 25m (ge y rm)		
						p 2-hl 3	(2,4)	Ag	0.72	0.14	asp, < 25m (ge y rm)		
						p 3-hl 3	(2,4)	Ag	0.75	0.15	asp, < 25m (ge y rm)		
<i>Cycladenia humilis</i> var. <i>jonesii</i> (Apocynaceae)	hp	A	Bt	rzm	Lg	p 1	(2,3)	Ag+En	n/e	0.05	n/e	tra+prc+ISZ	Sipes y Wolf, 1997*
<i>Cymodocea nodosa</i> (Cymodoceae)	hp	E	Ab	rzm?	Lg	p 1	5	En	n/e	0.61	n/e	prc+SSR	Ruggieiro <i>et al.</i> , 2005*
<i>Cypripedium calceolus</i> (Orchidaceae)	hp	? ♣	Bt	Rzm +drm	Lg+NI	p 1	(2,3)	Ag+En	0.94	0.15	n/e	prc+ISZ	Brzosko <i>et al.</i> , 2002*
						p 2	(2,3)	Ag+En	0.98	0.27	n/e		
						p 3	(2,3)	Ag+En	0.97	0.26	n/e		
<i>Dioscorea japonica</i> (Dioscoreaceae)	hp	E	Bt	bul	NI	p 1	(2,3)	Ag+En	0.94	0.28	asp, < 30m (ge y rm)	prc+SSR+asp	Mizuki <i>et al.</i> , 2010*
<i>Echinosophora koreensis</i> (Fabaceae)	abt	A	Bt	rzm	Lg	p 1-hl 1	2	Ag	0.23	0.38	asp, < 15m (rm)	prc+ISSR+asp	Chung <i>et al.</i> , 2006*
						p 2-hl 2	(2,4)	Ag	0.18	0.39	asp, < 15m (rm)		
<i>Elaeocarpus williamsianus</i> (Elaeocarpaceae)	arb	E*	Bt	vb+vr	Lg	p 1	1	Ag	n/e	0.05	n/e	prc+SSR+ RAPD	Rosseto <i>et al.</i> , 2004*
<i>Eurya emarginata</i> (Theaceae)	arb	E	Bt	rzm+vr	Lg	p 1	5	En	0.99	0.62	asp, < 25m (ge y rm)	prc+ISZ	Chung y Epperson, 2000*
<i>Ferocactus robustus</i> (Cactaceae)	abt	E*	Bt	drm+chu	Lg+NI	p 1	3	En	0.98	0.43	n/e	prc+RAPD	Carrillo-Angeles <i>et al.</i> , 2011*
<i>Festuca idahoensis</i> (Poaceae)	hp	?	Ab	chu	Lg	p 1	(1,2)	Ag	0.99	0.64	asp, < 15m (ge y rm)	prc+ISSR+asp	Liston <i>et al.</i> , 2003*

Apéndice. Continuación

Especie (Familia)	Hábito	SCRZ	POL	PROR	CCT-N	POB/ HL	PDE (fig. 2)	AER (fig. 2)	D	G/N	Estructura genética local (EGL)	Métodos PDE, D, G/N y EGL	Referencias
<i>Gagea lutea</i> (Liliaceae)	hg	?	Bt	buls	NI	p 1	(2,3)	Ag+En	n/e	0.51	asp, < 8m, 16 a <24m (rm)	tra+AFLP+asp	Pfeiffer <i>et al.</i> , 2011*
						p 2	(2,3)	Ag+En	n/e	0.57	asp, < 8m, 16 a <24m (rm)		
						p 3	(2,3)	Ag+En	n/e	0.61	asp, < 8m, 16 a <24m (rm)		
<i>Gagea spathacea</i> (Liliaceae)	hg	?	Bt	buls	NI	p 1	1	Ag	n/e	0.001	n/a	tra+AFLP	Pfeiffer <i>et al.</i> , 2011*
						p 2	1	Ag	n/e	0.001	n/a		
						p 3	1	Ag	n/e	0.001	n/a		
<i>Hyparrhenia diplandra</i> (Poaceae)	hp	?	Ab	agp	NI	p 1	5	En	0.85	0.07	asp, < 6m (rm)	prc+ISZ +CLO+asp	Garnier <i>et al.</i> , 2002*
<i>Ilex leucoclada</i> (Aquifoliaceae)	abt	E	Bt	acd▲	Lg	p 1	(2,3)	Ag+En	0.67	0.09	n/e	prc+RAPD	Torimaru y Tomaru, 2005*
<i>Lophocereus schottii</i> (Cactaceae)	arb	A	Bt	drm +acd	Lg+NI	p 1-hl 1	5	En	0.95	0.64	SG: 0-10 <10-50>más de 50m (ge)	prc+ISZ+SG	Parker y Hamrick, 1992*
						p 2-hl 2	2	Ag	0.95	0.52	SG: 0-10 <10-50>más de 50m (ge)		
						p 3-hl 3	2	Ag	0.93	0.65	SG: 0-10 <10-50>más de 50m (ge)		
						p 4-hl 1	(1,2)	Ag	0.94	0.24	SG: 0-10> 10-50>más de 50m (ge)		
						p 5-hl 4	(1,2)	Ag	0.92	0.41	SG: 0-10> 10-50<más de 50m (ge)		
						p 6-hl 4	(1,2)	Ag	0.87	0.45	SG: 0-10> 10-50<más de 50m (ge)		
						p 7-hl 2	(1,2)	Ag	0.8	0.18	SG: 0-10> 10-50>más de 50m (ge)		
						p 8-hl 5	(1,5)	Ag+En	0.59	0.36	SG: 10-50= más de 50m (ge)		
<i>Lyonothamnus floribundus</i> (Rosaceae)	arb	?	Bt	vr	Lg	p 1	(1,2)	Ag	n/e	0.036	n/e	prc+RAPD	Bushakra <i>et al.</i> , 1999*
<i>Maianthemum bifolium</i> (Liliaceae)	hp	E*	Bt	rzm	Lg	p 1	(1,2)	Ag	0.88	0.7	asp, < 50m (ge) #	trans+AFLP +asp	Arens <i>et al.</i> , 2005* Honnay <i>et al.</i> 2006
<i>Maianthemum dilatatum</i> (Convallariaceae)	hp	EA♣	Bt	rzm▲	Lg	p 1	(1,2)	Ag	n/e	0.64	asp, < 45m (ge y rm)	prc+AFLP +asp	Wilson <i>et al.</i> , 2005a* Wilson <i>et al.</i> , 2005b*
<i>Paris quadrifolia</i> (Melanthiaceae)	hp	A	Bt	rzm	Lg	p 1-hl 1	3	En	0.87	0.27	asp, < 5m (ge y rm)	prc+AFLP +asp	Jacquemyn <i>et al.</i> , 2005*

Apéndice. Continuación

Especie (Familia)	Hábito	SCRZ	POL	PROR	CCT-N	POB/ HL	PDE (fig. 2)	AER (fig. 2)	D	G/N	Estructura genética local (EGL)	Métodos PDE, D, G/N y EGL	Referencias
						p 2-hl 1	3	En	0.81	0.26	asp, < 5m (ge y rm)		
						p 3-hl 2	5	En	0.75	0.15	asp, < 1.5m (rm)		
						p 4-hl 2	5	En	0.74	0.13	asp, < 1.5m (rm)		
<i>Polygonum viviparum</i> (Poligonaceae)	hp	?	?	rzm+bul	Lg+NI	p 1	(4,5)	Ag+En	0.3	0.12	n/e	tra+ISZ	Diggle <i>et al.</i> , 1998
						p 2	(2,3)	Ag+En	0.81	0.26	n/e		Diggle <i>et al.</i> , 2002
						p 3	(2,3)	Ag+En	0.89	0.28	n/e		
<i>Populus tremula</i> (Salicaceae)	arb	E	Ab	vr	Lg	p 1	4	Ag	n/e	0.45	asp, < 20m (ge y rm)	prc+SSR +asp	Suvanto y Latva-Karjantva, 2005*
						p 2	4	Ag	n/e	0.43	asp, < 20m (ge y rm)		
						p 3	4	Ag	n/e	0.63	asp, < 20m (ge y rm)		
<i>Prunus ssiori</i> (Rosaceae)	arb	A♣	Bt	vr	Lg	p 1	(1,2)	Ag	0.92	0.23	n/e	prc+SSR	Nagamitsu <i>et al.</i> , 2004* Mori <i>et al.</i> , 2009*
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>latiusculum</i> (Dennstaedtiaceae)	hp	?	Ab	rzm▲	Lg	p 1	3	En	n/e	0.22	n/e	tra+ISZ	Parks y Werth, 1993*
<i>Quercus havardii</i> (Fagaceae)	abt	?	Ab	rzm	Lg	p 1	4	Ag	n/e	0.15	mt: no de- tectada (ge)	tra+ISZ	Mayes <i>et al.</i> 1998*
<i>Rhododendron ferrugineum</i> (Ericaceae)	abt	A	Bt	acd	Lg	hl 1	4	Ag	0.77	0.10	n/e	prc+AFLP	Pornon <i>et al.</i> , 1997
						hl 2	(1,4)	Ag	0.62	0.12	n/e		Pornon y Escaravage, 1999*
						hl 3	(1,2)	Ag	0.90	0.48	n/e		Pornon <i>et al.</i> , 2000*
<i>Rubus chamaemorus</i> (Rosaceae)	hp	E	Bt	rzm	Lg	p 1-hl 1	5	En	0.58	0.11	n/e	prc+RAPD	Korpelainen <i>et al.</i> , 1999*
						p 2-hl 2	5	En	0.31	0.06	n/e		Korpelainen, 1994
						p 3-hl 3	5	En	0.6	0.1	n/e		
<i>Rubus saxatilis</i> (Rosaceae)	hp	E*♣	Bt	rzm +acd	Lg	hl 1	(1,2)	Ag	n/e	0.50	n/e	prc+RAPD	Eriksson y Bremer, 1993*
						hl 2	(2,4)	Ag	n/e	0.33	n/e		
<i>Salix exigua</i> (Salicaceae)	abt	E	Bt	vr	Lg	p 1-hl 1	2	Ag	n/e	0.51	n/e	prc+AFLP	Douhovnikoff y Dodd, 2003*
						p 2-hl 2	(2,4)	Ag	n/e	0.41	n/e		Douhovnikoff <i>et al.</i> , 2005*
<i>Salix herbacea</i> (Salicaceae)	arb	E	Bt	rzm	Lg	p 1	4	Ag	n/e	0.18	asp, < 1.5m (rm)	prc+SSR+asp	Reisch <i>et al.</i> , 2007*

Apéndice. Continuación

Especie (Familia)	Hábito	SCRZ	POL	PROR	CCT-N	POB/ HL	PDE (fig. 2)	AER (fig. 2)	D	G/N	Estructura genética local (EGL)	Métodos PDE, D, G/N y EGL	Referencias
<i>Saxifraga cernua</i> (Saxifragaceae)	hp	E*	Bt	bul	NI	p 1	5	En	0.35	0.13	mt: no detectada	prc+RAPD +mt+asp	Gabrielsen y Brochmann, 1998* Kjølner et al., 2006*
						p 2	5	En	0.68	0.19	mt: no detectada		
						p 3	5	En	0.7	0.25	asp: no detectada		
						p 4	5	En	0.9	0.4	asp: no detectada		
						p 5	5	En	0.93	0.43	asp: no detectada		
						p 6	5	En	0.89	0.34	asp: no detectada		
<i>Scirpus maritimus</i> (Cyperaceae)	hp	E*	Ab	rzm	Lg	p 1	2	Ag	n/e	n/e	n/e	desc	Charpentier et al., 2000
						p 2	4	Ag	n/e	n/e	n/e		
						p 3	4	Ag	n/e	n/e	n/e		
<i>Sequoia sempervirens</i> (Cupressaceae)	arb		Ab	vb	Lg	p 1-hl 1	2	Ag	n/e	0.24	mt: < 40m (rm)	prc+AFLP+mt	Douhovnikoff et al., 2004*
						p 2-hl 1	2	Ag	n/e	0.38	mt: < 40m (rm)		
						p 3-hl 1	2	Ag	n/e	0.5	mt: < 40m (rm)		
						p 4-hl 2	2	Ag	n/e	0.6	mt: < 40m (rm)		
						p 5-hl 2	2	Ag	n/e	0.35	mt: < 40m (rm)		
						p 6-hl 2	2	Ag	n/e	0.6	mt: < 40m (rm)		
						p 7-hl 3	2	Ag	n/e	0.26	mt: < 40m (rm)		
						p 8-hl 3	2	Ag	n/e	0.19	mt: < 40m (rm)		
<i>Stenocereus eruca</i> (Cactaceae)	abt	E*	Bt	drm	NI	p 1	2	Ag	0.99	0.83	asp, < 20m (ge y rm)	prc+ISSR+asp	Clark-Tapia et al., 2005* Clark-Tapia et al., 2006
<i>Typha latifolia</i> (Thyphaceae)	hp	A	Ab	rzm	Lg	p 1	(4,5)	Ag+En	n/e	0.77	n/e	tra+VNTR	Keane et al., 1999*
						p 2	(4,5)	Ag+En	n/e	0.55	n/e		
						p 3	(4,5)	Ag+En	n/e	0.48	n/e		
						p 4	(4,5)	Ag+En	n/e	0.3	n/e		
						p 5	(4,5)	Ag+En	n/e	0.57	n/e		
<i>Uvularia perfoliata</i> (Liliaceae)	hp	?	?	etl	Lg	p 1-hl 1	(4,5)	Ag+En	0.74	0.09	asp, < 3-5m (rm)	prc+ISZ+asp	Kudoh et al., 1999*
						p 1-hl 2	1	Ag	0.59	0.03	n/a		
<i>Vaccinium myrtillus</i> (Ericaceae)	abt	A	Bt	rzm	Lg	p 1	2	Ag	0.94	0.29	asp: no detectada	prc+AFLP+RAPD+asp	Albert et al., 2003*

Apéndice. Continuación

Especie (Familia)	Hábito	SCRZ	POL	PROR	CCT-N	POB/ HL	PDE (fig. 2)	AER (fig. 2)	D	G/N	Estructura genética local (EGL)	Métodos PDE, D, G/N y EGL	Referencias
<i>Vaccinium stamineum</i> (Ericaceae)	abt	E*	Bt	rzm	Lg	p 1	(2,3)	Ag+En	n/e	0.68	n/e	prc+RAPD	Kreher <i>et al.</i> , 2000*
<i>Zostera marina</i> (Zosteraceae)	hp	A	Ab	rzm	Lg	p 1-hl 1	(4,5)	Ag+En			asp, < 6m (ge y rm)	prc+SSR+asp	Hämmerli y Reusch, 2003 a*
						p 2-hl 2	(4,5)	Ag+En	n/e	n/e	asp, < 6m (ge y rm)		Hämmerli y Reusch, 2003 b*
<i>Zostera noltii</i> (Zosteraceae)	hp	A	Ab	rzm	Lg	p 1	4	Ag	n/e	0.12	n/e	prc+SSR	Ruggieiro <i>et al.</i> , 2005*

Hábito: **abt** = arbustos, **arb** = árboles, **hp** = hierbas perennes

SCRZ: **A** = especies con capacidad de reproducirse por autocruza, **E** = especies con entrecruza obligada (p. ej., dioicas), **E*** = especies con sistemas de autoincompatibilidad, **♣** = reclutamiento sexual observado y/o evaluado en condiciones naturales

POL: **Ab** = polinización abiótica, **Bt** = polinización biótica

PROR: **acd** = acodaduras, **agp** = agamospermia, **bul** = bulbilos, **buls** = bulbilos subterráneos, **chu** = coronas huecas, **drm** = desprendimiento de ramas, **etl** = estolones, **gmas** = gemas subterráneas, **pnt** = plantlets, **psb** = pseudobulbos, **rzm** = rizomas, **vb** = vástagos basales, **vr** = vástagos radiculares, **▲** = crecimiento tipo guerrilla

CCT-N: **Lg** = crecimiento clonal ligado, **NI** = crecimiento clonal no ligado

POB/HL: **p** = población, **hl** = hábitat local (p. ej., bosque con dosel abierto vs bosque con dosel cerrado)

PDE: los paréntesis indican que la población presenta una combinación de patrones de distribución de los tipos indicados por los números (ver figura 2).

AER: **Ag** = los ramets de cada genet no se entremezclan con los ramets de genets distintos, **En** = los ramets de diferentes genets en la población se entremezclan.

EGL: **#** = evaluado en una población distinta de donde se determinó el PDE, **asp** = autocorrelación espacial, **mpic** = método de probabilidad de identidad clonal, **mt** = prueba de Mantel, **SG** = similitud genética vs distancia espacial

Métodos: **AFLP** = marcadores moleculares AFLPs, **CLO** = marcadores moleculares de cloroplasto, **desc** = descripción detallada del PDE, **ISSR** = marcadores moleculares ISSRs, **ISZ** = isoenzimas, **mpic** = método de probabilidad de identidad clonal, **mt** = prueba de Mantel, **pub** = muestra de individuos o todos los individuos de la población, **prc** = parcelas, **RAPD** = marcadores moleculares RAPDs, **SG** = similitud genética vs distancia espacial, **SSR** = marcadores moleculares SSRs (microsatélites),

Referencias: * = estudios donde se presentan planos de la distribución espacial de los genotipos.

Todo el cuadro: **?** = no se proporciona información, **n/e** = no evaluado, **n/a** = no aplica

GLOSARIO (columna PROR):

Acodaduras: formación de ramets a partir de un tallo originalmente erecto que se postra y genera raíces adventicias al entrar en contacto con el sustrato

Agamospermia: Producción asexual de semillas o embriones sin fertilización (diplosporía: el embrión se desarrolla de una célula diploide del saco embrionario, aposporía: el embrión se desarrolla de una célula somática del saco embrionario, embriónia adventicia: el embrión se desarrolla de células del tejido esporofítico como los tegumentos).

Bulbilos: bulbos pequeños que se forman en las axilas foliares o unidos a los bulbos.

Bulbos: tallos cortos modificados para almacenamiento rodeados por hojas carnosas o brácteas.

Coronas huecas: muerte de los tallos centrales en plantas cespitosas resultando en la formación de ramets independientes en la periferia. Descrito en pastos cespitosos.

Estolones: tallo horizontal que se extiende en la superficie del suelo.

Gemas: pequeñas estructuras vegetativas dispersables en briofitas y pteridofitas.

Plantlets: propágulos vegetativos que resultan de la reversión de estructuras reproductivas como flores y frutos a estructuras vegetativas.

Pseudobulbos: modificación del tallo para almacenamiento que se desarrolla entre dos nodos foliares en orquídeas.

Rizomas: tallo horizontal subterráneo.

Vástagos basales y radiculares: formación de tallos en la base de un tallo o a partir de una raíz.

Referencias del glosario: Jackson *et al.*, 1985; de Kroon y Van Groenendael, 1997; Liston *et al.*, 2003; van Dijk y Bakx-Schotman, 2004; Tooke *et al.*, 2005.

CAPÍTULO 2

Spatial distribution pattern of a clonal species: effects of differential production of clonal and sexual offspring

Evolutionary Ecology (publicado)

Spatial distribution pattern of a clonal species: effects of differential production of clonal and sexual offspring

Israel G. Carrillo Angeles · Jordan Golubov · Brook G. Milligan ·
María C. Mandujano

Received: 21 July 2010 / Accepted: 12 March 2011 / Published online: 7 May 2011
© Springer Science+Business Media B.V. 2011

Abstract The spatial distribution patterns of genets and ramets within populations are expected to change as a function of the frequency with which clonal species recruit different types of offspring (sexual and clonal). We used an integrated approach to study the spatial arrangement of clonal plants by combining molecular and ecological data using *Opuntia microdasys* as a study system. The species is able to produce two types of clonal (plantlets and cladodes) and one type of sexual (seeds) offspring. Additionally it is found in three habitats that cause differences in the ability of each type of offspring to establish. In 2007, all individuals in the three habitats (162 in BH = bajada, 264 in IDH = hill-piedmont, and 136 at HPH = interdunes) were tagged and mapped. Amplified inter-simple sequence repeats (ISSR's) were used to determine the multilocus genotype and relatedness of each individual ramet using 120 polymorphic bands (104 in BH, 128 in HPH and 180 in IDH). The spatial distribution pattern of genets and ramets was analyzed with the Hopkins test and spatial autocorrelation analysis. For all habitats we found that *O. microdasys* displayed a spatial distribution characterized by clumps of aggregated ramets, but habitats differed in the number of genets present. As for other clonal species a strong positive spatial autocorrelation exists within 20 m, although all analyses suggest that adjacent ramets are genetically less related to each other or belong to different genets, that is, ramets of different genets are intermingled. The spatial arrangement of genets and ramets in *O. microdasys* between habitats closely matches the frequency of establishment of each type of offspring (e.g. the more clonal areas are clumped groups of related individuals).

I. G. Carrillo Angeles · M. C. Mandujano (✉)
Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM, Circuito Exterior, Ciudad
Universitaria, 04510 México, D.F., Mexico
e-mail: mcmandu@ecologia.unam.mx

J. Golubov · B. G. Milligan · M. C. Mandujano
College of Arts and Sciences, Department of Biology, MSC 3 AF, New Mexico State University,
Las Cruces, NM 88003-8001, USA

J. Golubov
Laboratory of Ecología, Sistemática y Fisiología Vegetal, Depto, Universidad Autónoma
Metropolitana Xochimilco (UAM Xochimilco), El Hombre y Su Ambiente, Calzada del Hueso 1100.
Col. Villa Quietud, 04960 México, D.F., Mexico

These results confirm that in two habitats (BH and IDH) clonal recruitment had been more common than in the other habitat (HPH).

Keywords Cactaceae · Chihuahuan Desert · Clonal genetic structure · Genet · *Opuntia* · Ramet

Introduction

Most plants combine to varying degrees sexual reproduction and clonality but the ecological consequences of the recruitment of ramets or genets remain poorly understood (Eckert and Barret 1993; Dorken and Eckert 2001). Two patterns have been identified in the frequency of sexual recruitment of clonal species: (1) populations with repeated seedling recruitment, with evidence for regular seedling establishment and development into adults and (2) initial seedling recruitment, which include those where no seedlings are observed or only rarely develop into mature plants (Eriksson 1989, 1992). General explanations for an association between a low rate of seedling recruitment and clonality include malfunctions in sexual reproductive success, seed deficiency (e.g., polyploidy), partner limitation in self-incompatible species and a trade-off between clonal and sexual reproductive allocation (Wein and Pickett 1989; Eriksson 1993). Additionally, variation in the frequency with which clonal and sexual descendants are produced can result from changes in environmental conditions restricting one or the other mode of reproduction (Eckert et al. 2003; Honnay and Bossuyt 2005).

The balance between sexual recruitment and clonal offspring production in plants can affect the spatial distribution patterns by how genets colonize space and by the frequency with which they reiterate ramets and recruit new genets. Ramets are produced from a wide range of types of organs (e.g., stem, tillers, gemmae, bulbs, etc. Kays and Harper 1974; Harper 1985; Jackson et al. 1985; Klimes and Klimesova 1999). When new ramets are produced linked to parents the genet occupies new locations as a direct consequence of horizontal growth (Oborny and Kun 2003). In contrast, ramets produced as autonomous units or non-linked are easily detached from the parent and establish independently soon after being dispersed (e.g., as plantlets, bulbils, joints, etc.; Elmqvist and Cox 1996; Klimes and Klimesova 1999; Palleiro et al. 2006), sometimes, further away from their parents, with dispersal distance related to offspring size or interactions with animals or abiotic factors such as water, gravity, and wind, among others (Bobich 2005; Ebert 2006), ecologically behaving as a seed. As a consequence, the mode of clonality influences the ability of descendants to disperse and therefore is a major determinant of the spatial distribution pattern. We would expect that clonal plants that propagate through non-linked vegetative diaspores, such as bulbils, and/or reproduced asexually by agamospermy, have spatially intermingled genets, random spatial distribution patterns and non autocorrelation at short distances because their propagules are able to disperse further away from the parent plant, while linked species that propagate by runners or rhizomes have spatially clumped genets and show positive autocorrelation at short distance (e.g., Gabrielsen and Brochmann 1998; Garnier et al. 2002; Hämmerli and Reusch 2003; Clark-Tapia et al. 2005), and the same can be expected in species where a large number of seeds are dispersed in a single fruit as has been observed in plants where birds move seeds of the same individual plant in groups (Godoy and Jordano 2001; Torimaru et al. 2007). Nevertheless, is important to consider that many seeds can be deposited in compact groups by primary dispersion, but secondary dispersal can change this initial pattern (Kalisz et al. 1999; Wang and Smith 2002).

The influence of clonality and sexual recruitment on the spatial distribution of genets and ramets remains poorly understood and the role of other ecological factors (e.g., size or survival of different types of offspring, location of new recruits and what the contribution of sexual versus clonal recruitment) on the spatial distribution of genets and ramets has rarely been explored. A possible cause is that a more reliable distinction of genets and ramets in many species, requires large sample sizes and, although currently the molecular tools have become more accessible, genotyping large numbers of ramets is still difficult, time consuming and costly. These facts are likely to have contributed to the lack of information on spatial arrangements in clonal plants, and most studies seem skewed towards species with linked growth, involving either rhizomes or stolons (see revision by Widén et al. 1994; Mandujano 2007), making it difficult to determine whether species with non-linked growth are characterized by different spatial patterns. Additionally, studies use different sampling methodologies such as transects, random individuals, samples of ramets at a particular distance (e.g., Jonsson et al. 1996; Esselman et al. 1999; Widén et al. 1994) or the sampling of all or at least a large number of ramets within plots or populations (e.g., Dorken and Eckert 2001; Shimizu et al. 2002; Ruggieiro et al. 2005). We consider the latter type of sampling as more appropriate for comparing patterns of spatial distribution because it allows detection of the radial expansion of different genets and the degree of aggregation, dispersion or colonization, but these methods are only used in 10% of studies (out of 48) in which genotypic diversity of clonal species has been assessed (Widén et al. 1994). Thus, even when the information for quantifying spatial distribution is available, comparison of the level of aggregation among ramets, within and between genets remains difficult. The approach used in this study in which we integrate methods that describe spatial distribution and genetics can be applied to quantify and compare the clonal structure of other species.

In this study we use ISSR markers to (1) identify genotypes and analyze the relationship between spatial distribution and the production of different types of offspring (2) determine their relatedness, (3) consider the effect of the two types of clonal offspring and sexual offspring in the spatial arrangement of individuals and (4) generate an integrated means of assessing spatial arrangement of clonal plants by combining ecological and genetic data. We used *Opuntia microdasys* as a model that allowed us to test how the variation in the spatial array of genets and ramets was associated with the variation in production of different types of offspring (clonal and sexual). Our hypothesis was that the spatial structure of ramets and genets would depend on the frequency of sexual recruitment and the frequency of vegetative propagules. Therefore in habitats where vegetative propagules are frequent we would expect clumps of ramets and in sites with more sexual recruitment a random distribution of genets is expected. In areas where both modes are common, an intermediate distribution of ramets of different genets is predicted.

Materials and methods

Study plant

Opuntia microdasys (Lehmann) Pfeiffer, bunny-ears prickly pear, is a short plant about 60–80 cm tall, with erect to sprawling shrubs, circular to elliptic-obovate, bright green pads without spines, with many reddish brown or yellow or whitish glochids. The flowers have bright yellow perianth segments, about 2.5–3 cm long. The fruits are fleshy, globose to obovate and about 2–2.5 cm long. The flowering period is of April to mid May and fruits

ripen in June to August. *O. microdasys* is usually found in sandy to loamy calcareous soils of desert hills and uplands at 1,700–2,100 m altitude of the Chihuahuan Desert within Mexico (Bravo-Hollis 1978; Cornet 1985). *O. microdasys* displays one sexual and two clonal reproductive modes: genets are produced from seeds (no agamospermy, Piña et al. 2007), while ramets of various sizes are produced from one to several detached cladodes or by plantlets (i.e., fallen unripe fruits by pseudoviviparity; Palleiro et al. 2006). Production of plantlets in *O. microdasys* is possible because the fruits in the Cactaceae are composed of stem tissue (pericarpel) with embedded sexual structures, surrounded by viable areoles which are true lateral meristems of caulinar origin (Bravo-Hollis 1978; Anderson 2001). Nevertheless, this phenomenon has only been observed in some species of the same genus within the family (Anthony 1954; Hicks and Mauchamp 1999). The spread of ramets of a single genet of *O. microdasys* is mainly through dispersal of plantlets, due to the fact that these structures are small and ovoid (1.93 ± 0.6 cm diameter; Palleiro et al. 2006), which facilitates dispersion by streams during the rainy season (June to October) or by animals such as the pack rat *Neotoma albigula* (Serrano 1987).

Study site

The study was conducted in the Mapimi Biosphere Reserve located in the southern Chihuahuan Desert, $26^{\circ}29'$ to $26^{\circ}52'$ N and $103^{\circ}32'$ to $103^{\circ}58'$ W, 1,100 m altitude, 264 mm mean annual rainfall, 80.2% between June and October, 20.8°C mean temperature (Cornet 1985). The observations were made in populations of *O. microdasys* in three habitats (sites) that differ in their biotic and abiotic characteristics (Fig. 1): bajada (BH), hill-piedmont (HPH) and interdune (IDH). HPH and BH are contiguous, located on the west side of Cerro San Ignacio, on slopes of 22.8° and 10° along alluvial fans, respectively. IDH is located in sandy plains between dunes, 10 km northwest of the Cerro San Ignacio with slopes averaging less than 1° . *O. microdasys* displays differences in the relative occurrence of the various modes of recruitment (sexual and clonal) among the studied habitats (Palleiro et al. 2006). Overall, across all three habitats, recruitment depends on the mode of reproduction; plantlet recruitment is the greatest (94.3%), followed by cladodes (3.1%) and seedlings (2.6%). However, habitats differ in the relative importance of the different modes of

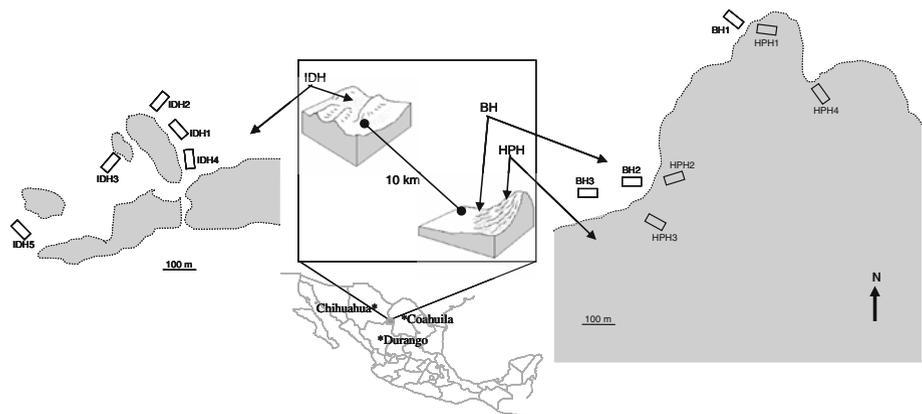


Fig. 1 Study site location and plots distribution within habitats: bajada (BH), hill-piedmont (HPH) and interdune (IDH). Shaded areas indicate the dunes (left panel) and the hill-piedmont (right panel)

recruitment. For example, at HPH mean recruitment from seedlings (19.1%) is more frequent than either BH or IDH, which were 0.4 and 1%, respectively. Establishment by pseudoviviparity is highest for BH (99.3%), followed by IDH and HPH (87.8 and 76.6%, respectively). Clonal reproduction by cladode rooting at IDH represents 11% of the total observed recruitment; in contrast, at BH and HPH represented only 0.3 and 4.3%; respectively (Palleiro et al. 2006).

Study design and spatial distribution pattern

Plots of 20 × 50 m were established in June 2007 in each habitat (4 in HPH, 3 in BH and 5 in IDH). The number of plots varied due to differences in density of reproductive individuals of *O. microdasys* among the habitats and these dimensions of plots were selected to cover the largest number possible of individuals as the species is distributed in dense bands between which individuals are widely dispersed. All plants were tagged with a metal label and mapped using a polar coordinate system (i.e., measures of distance and polar angle or azimuth between an individual and the nearest individual) which was then transformed into rectangular coordinates. Small individuals produced in 2007 (i.e., seedlings, plantlets or young rooted cladodes) were excluded from mapping, due to the fact that survival is very low from 1 year to the next (less of 10% of clonal and sexual descendants) and we were interested more in analyzing the long term genetic structure. In addition individual plant size was determined by enumerating cladodes and fecundity by counting the number of fruits.

Molecular analysis

Approximately 10 g of wet tissue from newly produced cladodes was obtained from all ramets ($n = 162$ in BH, $n = 264$ in IDH and $n = 136$ in HPH). Each sample was placed in a sterile 5 cm polyethylene bag, containing 5 g of silica gel, labeled with the plant number and the habitat. Inter-simple Sequence Repeat (ISSR's) markers were used to genotype each ramet. We used these markers because previous knowledge of target sequences is not necessary as in codominant microsatellite markers (SSR), they are less expensive, quick and easy to handle (in contrast to AFLP dominant markers), are abundant in eukaryotic genomes and evolve rapidly revealing a higher polymorphism per primer than other dominant marker. ISSR's also have high reproducibility (Bornet and Branchard 2001; Galvan et al. 2003; Liu et al. 2009), which makes these markers very useful to distinguish individuals in studies of natural populations of clonal and non clonal species (e.g. Esselman et al. 1999; Li and Ge 2001; Ge et al. 2005; Hassel et al. 2005; Han et al. 2006; Dev et al. 2010). DNA amplifications of 3 polymorphic primers out of 5 that amplified were used with all samples (primers 842, 827 and 817; UBC SSR first 100-9, British Columbia University). DNA extraction was done with FastDNA kit (Q-BIOgene). DNA amplification reactions were in a total volume of 15 μ l reaction mixture consisting of 0.8 μ M primer (for primers 817 and 842) or 0.6 μ M primer (for primer 827), 1× PCR buffer (BIOGENICA), 2.0 mM MgCl₂ (BIOGENICA), 0.2 mM dNTPs (Invitrogen), 1U Taq (Amplificasa-BIOGENICA), 1.3–2 ng/ μ l target DNA and purified water (SIGMA). The amplification reactions were carried out in a PTC-100 thermocycler (MJ Research, Inc.) programmed with a period of 4 min at 94°C followed by 36 cycles: 30 s at 94°C, 45 s at 52°C and 2 min at 72°C; and the last cycle a period of 7 min at 72°C. In each amplification reaction a control was included with all reagents except target DNA. Amplification products were separated on 1.4% agarose gels (0.5× TBE buffer at 120 v for 4 h and 30 min), stained

with ethidium bromide (0.001%) and visualized and photographed under UV light. Digital images of the gels were obtained upon which molecular weight bands for each individual were obtained with Lab Works (100 bp ladder, Invitrogen to flank gels, Media Cybernetics, Inc. UVP, 1998). This program allows a more accurate reading of bands because of the possibility to discriminate real bands from amplification artifacts (non-specific amplification) using a histogram of pixel density. Subsequently, band presence or absence was scored; 1 indicating presence and 0 absence. Data were captured in a matrix in which loci were placed in columns and individuals in rows. The reproducibility of the bands was tested using re-extractions and amplification of 76 randomly selected samples.

Genotype identification

For each ramet the ISSR data revealed genetic profiles consisting of the presence or absence of each of the 120 polymorphic bands. The genetic distance between two individuals was quantified by the number of these bands that were different between the two (Huff et al. 1993):

$$D = n[1 - (2n_{xy}/2n)]$$

where n_{xy} = number of shared character states (bands) and n equals the total number of binary characters (loci).

Because somatic mutations, scoring errors and PCR artifacts may cause small differences in the profiles of individuals of the same clonal lineage (Douhovnikoff and Dood 2003), genetically identical individuals may differ slightly in their genetic profiles allowing to overestimate the number of genotypes. In consequence, following Meirmans and van Tienderen (2004) and Meirmans (2004) a threshold value of D was used to group ramets into genets using the GENOTYPE/GENODIVE programs. This threshold corresponded to the value nearest 0 at which the frequency distribution of D had a minimum; pairs of ramets with D less than this were considered to be the same genet. According to this method, for sexual species with clonal growth the first peak in the histogram (frequency distribution) may represent genetic distances between ramets of the same genet differing due to scoring errors or somatic mutations (Douhovnikoff and Dood 2003; Meirmans and van Tienderen 2004).

In addition, we determined the probability that the genotypes that were detected represented unique genets. Assuming random mating conditions, dominant loci, such as ISSR markers, show genotype frequencies that can only be calculated directly for the recessive (band absence) genotype, because band presence represents both the homozygous and the heterozygous genotypes. In this case the probability of the multilocus genotype is given by the product of the single locus genotype probabilities:

$$P_{dgen} = \prod_i p_i$$

where p_i is the frequency of the band presence or absence observed at each locus in the multilocus genotype. The equation allows calculating the probability of drawing a second copy of a particular genotype given one copy of that particular genotype, for dominant loci (Sydes and Peakall 1998). The probability of drawing $(n-1)$ more copies of a particular genotype, given that one has already been drawn is: P_r (of recovering a particular genotype n times) = $(P_{dgen})^{n-1}$, where n is the number of times the genotype was observed (Sydes and Peakall 1998).

Relatedness

A multilocus similarity measure was used to estimate relatedness between all pairs of individuals. The mean relatedness was estimated across all polymorphic loci. This is quantified as \hat{r}_{ab} from Eq. 18 in Lynch and Milligan (1994). The mean relatedness at the i th polymorphic locus, $\hat{r}_{ab}(i)$, is given by Eq. 17 in Lynch and Milligan (1994). It depends on the similarity, $S_{ab}(i)$, between the two individuals, which is 1 if they are identical at the i th locus (i.e., both share or both lack a band) and 0 otherwise. It also depends on estimates of $\theta(i)$ and its variance, which are given by Eq. 18a and b in Lynch and Milligan (1994); both of those are functions of the frequency of individuals lacking an amplifiable band for the i th locus.

Spatial distribution pattern of genets and ramets

The spatial distribution of individual plants within habitats was determined using the Hopkins test (IH ; Krebs 1999). The test was applied between genets, within genets and at the ramet levels (i.e., all individuals regardless of genotype):

$$IH = h / (1 + h)$$

where h is the statistic for IH for a random pattern calculated as:

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

where X_i is the distance of a random point i to the nearest individual, and r_i is the distance of an individual i to the nearest neighbor. Values of IH ranged from ≈ 1 (strong aggregation) to ≈ 0.5 (random distribution) to ≈ 0 (uniform distribution). The standard model against which a spatial point pattern is compared is complete spatial randomness. Hopkins h statistical values have an F distribution with $2n$ degrees of freedom when there is a random distribution pattern. IH was calculated for each studied plot within habitats and a bootstrap was used to test differences among spatial distribution patterns between habitats using DataPilot 1.03 software (Two Pilots Inc. 2003). IH at the ramet level was estimated using $n = 30$ for X_i and r_i in each plot within each habitat. Within genets, h was obtained for each genet based on $n = 30$ random points to estimate X_i and all distances between ramets of a single genet to estimate r_i . IH between genets was assessed by calculating the centroid of each genet (i.e., averaging physical location of the ramets belonging to a single genet, and comparing the distances between genet centroids). In addition, we estimate the degree of intermingling (IH_{int}) between genets modifying the estimation of h as follows:

$$IH_{int} = h_{int} / (1 + h_{int}),$$

$$h_{int} = \Sigma(R_d^2) / \Sigma(R_i^2)$$

where R_d is the distance between the nearest ramets belonging to different genets, and R_i = distance between a ramet and its closest ramet neighbor with the same genotype.

IH_{int} approaches 1 (strong aggregation) when the ramets of the same genet are closer to each other than to ramets of different genets, otherwise 0.5 (random) if the distance is approximately equal between ramets of the same genet and ramets from a different genet, and approaches 0 for uniform distribution of ramets. In all 3 habitats we estimated R_d and R_i from all ramets that share the genotype with at least one other ramet, ($n = 14$ at HPH, $n = 80$ in BH and $n = 114$ in IDH).

Fig. 2 Spatial distribution of genets and ramets of *O. microdasys* in plots of three habitats in the Chihuahuan desert (BH 1, 2 and 3 = bajada, IDH 1, 2, 3, 4 and 5 = interdune and HPH 1, 2, 3 and 4 = hill piedmont, label below of each map indicates habitat and plot number, in the parentheses R = number of ramets, G = number of genets and R_{sg} = ramets with shared genotype in each plot). Dark spheres represent individuals belonging to genets with two or more ramets (distinguished by the number) and light spheres individuals with unique genotypes (without number). Numbers with straight lines indicate the distribution of small individuals that are under the larger ones or are highly clumped. The asterisk in the number indicates that the genotype is represented on different plots. The size of the spheres corresponds to different plant size categories (seven categories: 1–10, 11–50, 51–100, 101–150, 151–200, 201–400 and >400 cladodes)

Additionally, spatial autocorrelation analysis was made for each of the plots from the 3 different habitats in order to detect spatial genetic structure following the algorithm of average correlation coefficient r_M of Smouse and Peakall (1999), using GenAlix 6.0 (Peakall and Smouse 2006). These analyses were applied separately for ramets and genets to differentiate the effect of clonality on spatial autocorrelation. The analysis compared all pairs of ramets (or genets) within a specified distance (in this case ≤ 50 m) and examined whether the pairs exhibited the same multilocus genotype between pairs of ramets within the established distance. An excess or deficiency of pairs with the same genotype was expressed as a standard normal deviate of the expectation. A Mantel test on ramets and genets was used to analyze the possibility of isolation by distance using Nei's original genetic distance (Nei 1978) pooling plots of the three habitats together, with plots of pairs of habitats and with plots of each habitat using GenAlix ver. 6.0 (Peakall and Smouse 2006).

Results

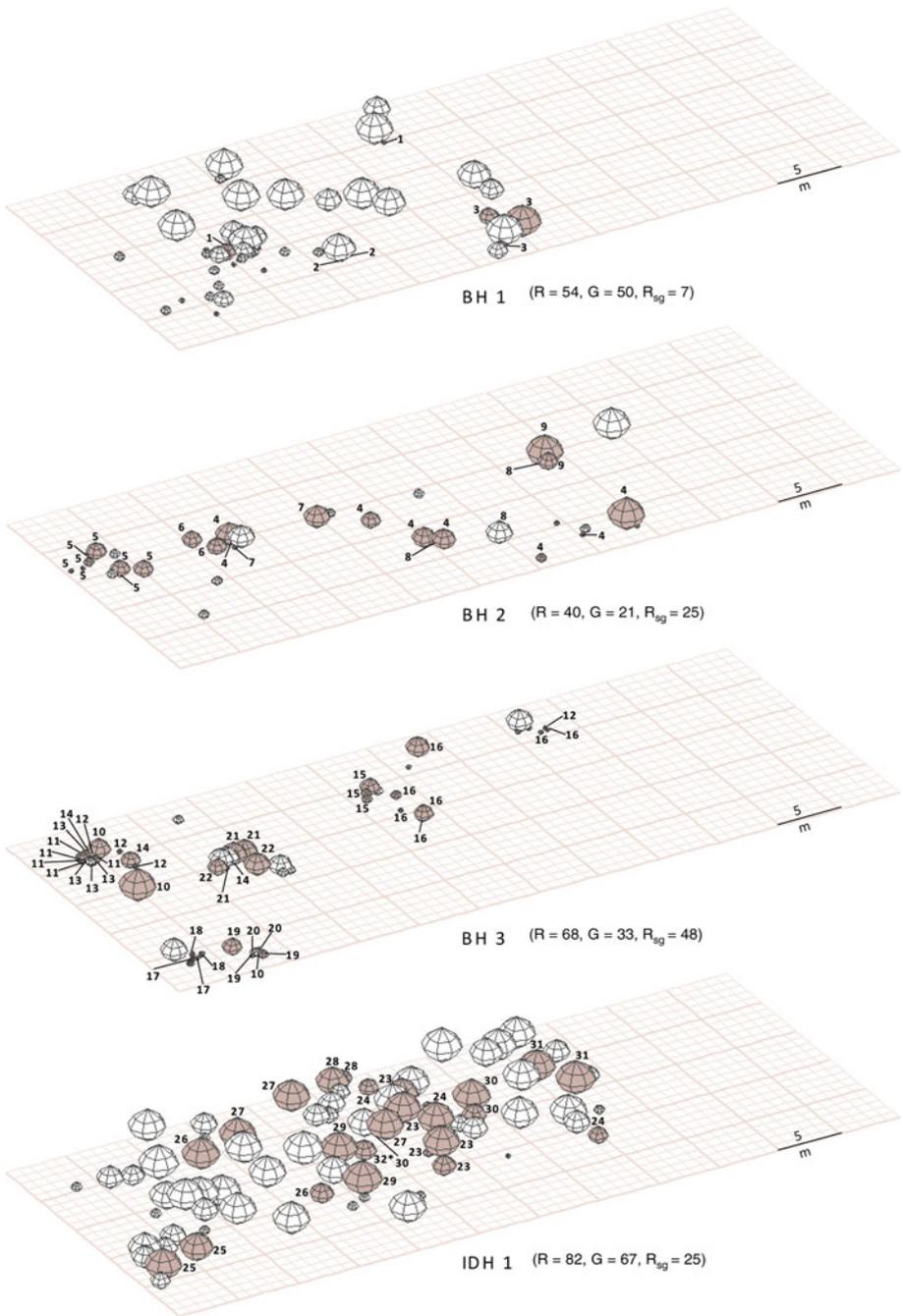
Molecular analysis

The three amplified primers produced 120 reproducible polymorphic bands, of which 2 are unique to BH, 6 to IDH and 5 to HPH. After plotting Huff's genetic distance for binary data (D) for individuals pooled by habitat, the first valley closest to zero was two character states (bands) and this was the maximum distance (number of non-shared character states bands) at which two individuals were considered ramets of the same genet (threshold = 2 in GENOTYPE/GENODIVE). Values of P_{dgen} and $(P_{dgen})^{n-1}$ were very small for all habitats, indicating that the probability of occurrence of identical multilocus genotypes generated by sexual reproduction was very low. In BH P_{dgen} and $(P_{dgen})^{n-1}$ varied between 8.25×10^{-31} – 2.19×10^{-9} and between 7.15×10^{-118} – 2.84×10^{-11} , respectively; in IDH it varied between 8.34×10^{-18} – 1.65×10^{-9} and between 2.71×10^{-215} – 2.42×10^{-10} , respectively, and at HPH these values were from 1.34×10^{-18} – 7.87×10^{-11} and 2.29×10^{-21} – 1.40×10^{-12} , respectively.

The number of multilocus genotypes found was 104 in BH, 128 in HPH and 180 in IDH and only two genets were found in two plots, one in IDH1 and IDH2 and the other in IDH2 and IDH4. The number of ramets in each habitat that share genotype with at least one other ramet was 80 (of a total of 162 sampled ramets) in BH, 114 (out of 264) in IDH, and 14 (out of 136) at HPH (Fig. 2).

Relatedness

We found that the majority of individuals at HPH were not related (Fig. 3a–d); individuals at BH showed some variation among sampled plots, in plot 1 most were not related, ramets for



plot 2 increased relatedness while in plot 3 a clear bimodal distribution was observed (Fig. 3e–g). In general individuals in IDH were not related at plots 1, 2 and 3, a bimodal distribution was observed in plot 5, while in plot 4 the ramets were highly related (Fig. 3h–l).

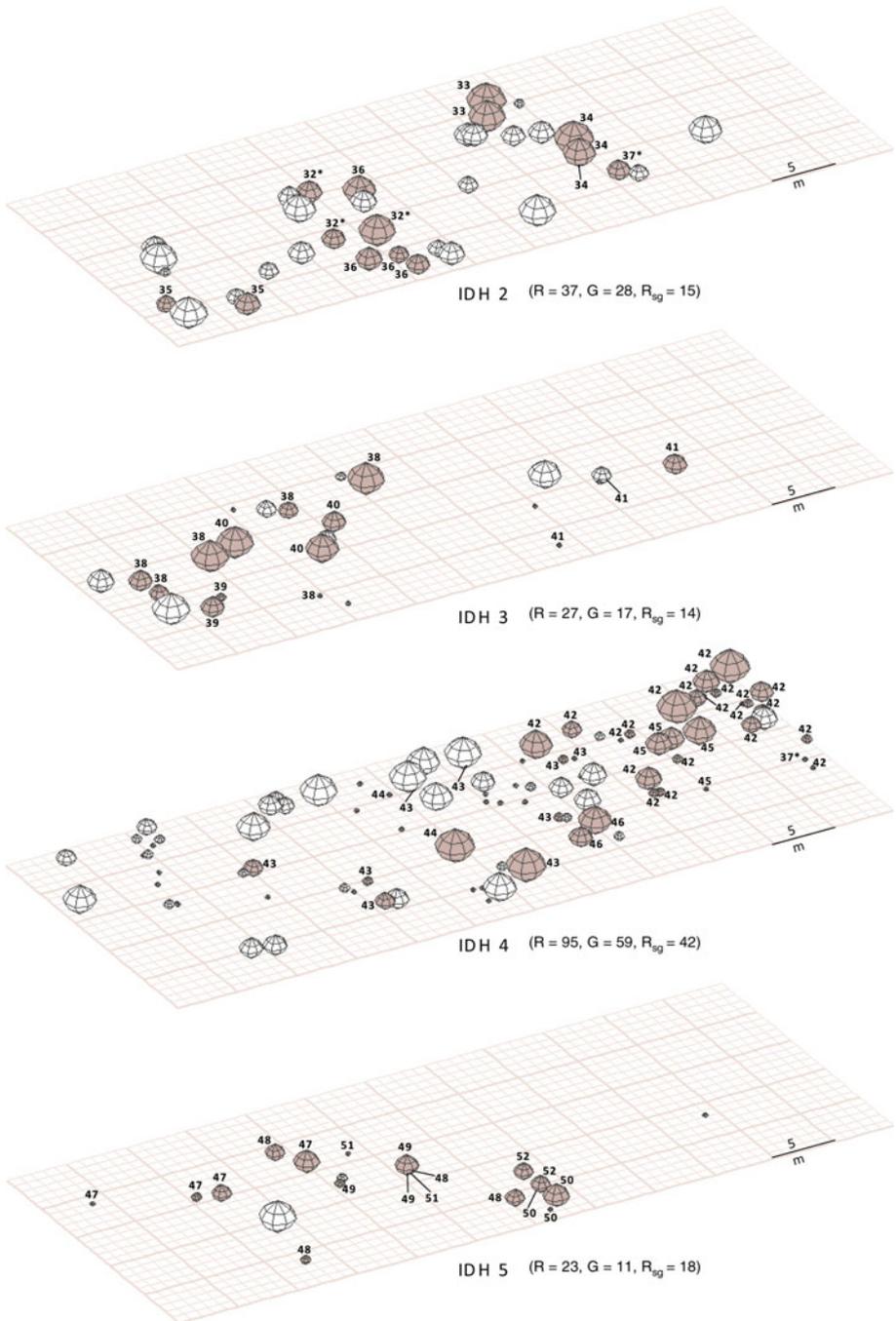


Fig. 2 continued

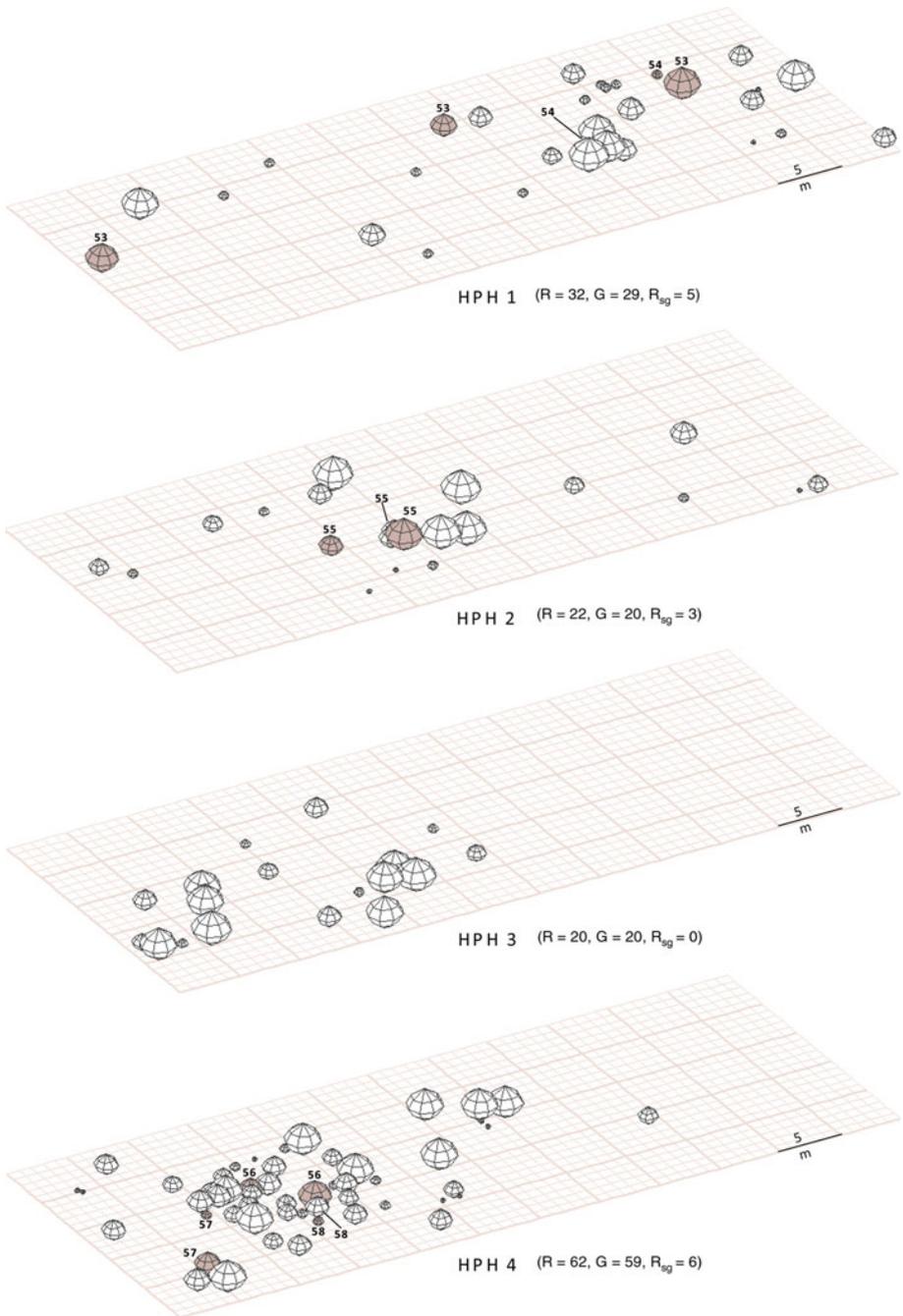


Fig. 2 continued

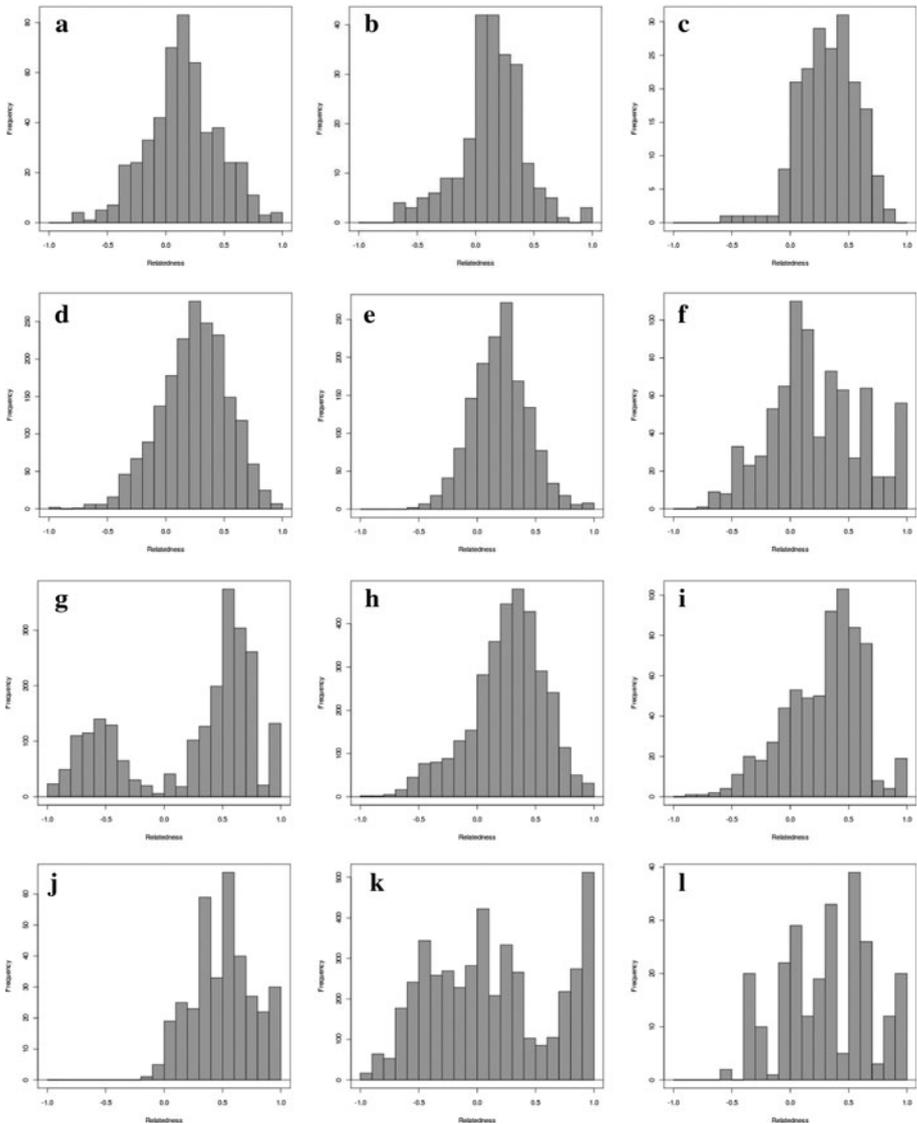


Fig. 3 Distribution of relatedness between pairs of individuals of *Opuntia microdasys* from plots in three habitats of the Chihuahuan Desert. **a–d** HPH, **e–g** BH and **h–l** IDH. Similarity is for pairs of individuals ($N = 562$) using 120 polymorphic loci using ISSRs. HPH = hill piedmont, BH = bajada, IDH = interdune

Spatial distribution pattern of genets and ramets

The density of individuals was 0.18 ind/m^2 (1 ind each 5.7 m^2) in BH, 0.07 ind/m^2 (1 ind every 14 m^2) in IDH and 0.05 ind/m^2 (1 ind each 21.6 m^2) in HPH. Ramets of *O. microdasys* are clustered within habitats, but 2 plots showed a uniform pattern (Table 1); mean *IH* values indicated a higher aggregation in BH (mean among plots $\pm 1 \text{ SD}$, 0.842 ± 0.118) than in either IDH (0.692 ± 0.076) or HPH (0.697 ± 0.148), both having similar levels of

Table 1 Hopkins spatial distribution pattern (*IH*) for *Opuntia microdasys* plots in three habitats of the Chihuahuan Desert (HPH = hill piedmont, BH = bajada and IDH = interdune)

Plot	Between genets distribution												Within-genet distribution								
	Ranets distribution				Genets distribution				Genets distribution				<i>IH</i> (average)								
	Habitat				Habitat				Habitat				<i>IH</i> (average)								
	HPH	h	n	BH	h	n	IDH	h	n	HPH	h	n	BH	h	n	IDH	h	n	HPH	BH	IDH
1	0.701*	2.35	30	0.773*	3.41	30	0.737*	2.80	30	0.750*	3.06	29	0.948*	18.58	30	0.586	1.42	30	0.173	0.642	0.436
2	0.686*	2.18	30	0.774*	3.42	30	0.583	1.40	30	0.610	1.57	20	0.512	1.05	21	0.441	0.79	28	0.935	0.749	0.578
3	0.520	1.08	30	0.978*	43.53	30	0.700*	2.34	30	0.493	0.97	20	0.956*	21.88	30	0.585	1.41	17	–	0.700	0.352
4	0.883*	7.55	30	–	–	–	0.782*	3.58	30	0.813*	4.36	30	–	–	–	0.587	1.43	30	0.803	–	0.324
5	–	–	–	–	–	–	0.658*	1.92	30	–	–	–	–	–	–	0.409	0.69	11	–	–	0.372
							<i>P</i> (left average > top average), bootstrap, 100,000 permutations														
HPH	–	–	–	BH	–	–	IDH	–	–	HPH	–	–	BH	–	–	IDH	–	–	HPH	–	–
BH	0.940	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.977	–	–	0.967	–	–
IDH	0.473	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Values with asterisk have a significant deviation from a random pattern. Deviation towards a clumped distribution is in bold for ramets and between genets. Deviation of randomness was determined comparing *h* values with *F* values at 0.025 and 0.975 levels (*2n* freedom degrees in both numerator and denominator). Data were obtained from 562 multilocus ramets genotyped with 120 polymorphic loci using ISSRs

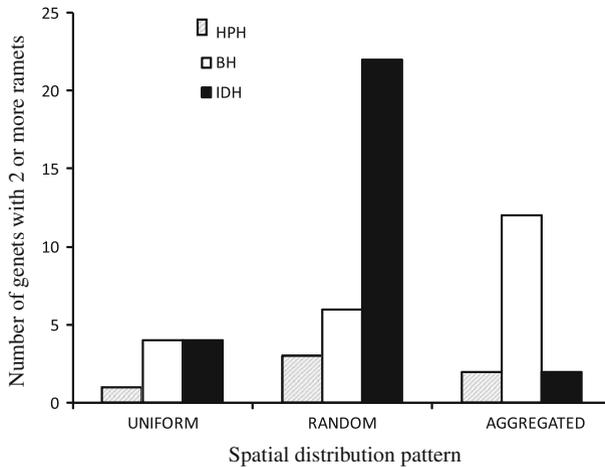


Fig. 4 Spatial distribution patterns within-genets of *Opuntia microdasys* established in three habitats of the Chihuahuan Desert (BH = bajada, IDH = interdune and HPH = hill piedmont). The spatial distribution was determined by the Hopkins test (*IH*, Krebs 1999, see text). Deviation of randomness between ramets of each genet was determined comparing *h* values with *F* values at 0.025 and 0.975 levels with $2n$ degrees of freedom in both numerator and denominator. Number of ramets (*n*) per genet was variable (mean \pm SD, 3.6 ± 3.2). Data were obtained from 199 ramets distributed in 56 genes with two or more ramets. The ramets were genotyped with 120 polymorphic loci using ISSRs

aggregation (Fig. 2). In BH and HPH genes were aggregated (mean \pm 1 SD, $IH = 0.805 \pm 0.254$ and $IH = 0.667 \pm 0.143$, respectively) while it was random at IDH ($IH = 0.522 \pm 0.089$). However, genes were randomly distributed within some plots (i.e., plot 2 BH, plots 2 and 3 HPH Table 1). On average, ramets within genes were also aggregated at BH and HPH ($IH = 0.697 \pm 0.054$ and $IH = 0.637 \pm 0.41$, respectively), but randomly distributed at IDH ($IH = 0.412 \pm 0.101$). The spatial distribution pattern of ramets within genes was variable (Fig. 4). In BH most genes display aggregated patterns, others random and some were uniform. In contrast in IDH and HPH most genes show random patterns and few genes have aggregated (IDH) and some uniform patterns (IDH; Fig. 4; Table 1).

The degree of intermingling between genes using the modified Hopkins test (IH_{int}) showed us that the ramets within a genet are spatially dispersed and distributed uniformly; that is, the closest neighbor to a ramet belongs to a different genet. The degree of spread among ramets within the same genet is greater at HPH ($IH_{int} = 0.057$, $h = 0.060$, $F_{0.01} = 2.602$, $F_{0.99} = 0.384$, with 28 *df* for both numerator and denominator), followed by BH ($IH_{int} = 0.084$, $h = 0.092$, $F_{0.01} = 1.598$, $F_{0.99} = 0.626$, 152 *df*) and finally IDH ($IH_{int} = 0.296$, $h = 0.420$, $F_{0.01} = 1.391$, $F_{0.99} = 0.719$, 218 *df*). The average distance between ramets of the same genet is greater at HPH than both IDH and BH (Table 2), while the distance between pairs of ramets from different genes is less in BH than in other habitats (Table 2).

We found a spatial genetic structure in all habitats (Figs. 5, 6, 7). Spatial autocorrelation generally declines with increasing distance. Positive spatial autocorrelation (PSA) is determined by the spatial distribution of ramets within genes, but also by the degree of relatedness among ramets between genes. For BH and IDH, the distance of ramets within genes in which PSA occurs is less than 20 m, while the distance associated with the

Table 2 Mean spatial distance (± 1 SD) between pairs of ramets of *Opuntia microdasys*

	HPH	BH	IDH
Intra-genet (m)	9.80 \pm 8.43	2.99 \pm 5.57	4.42 \pm 3.3
Inter-genet (m)	2.32 \pm 2.18	1.29 \pm 1.42	2.95 \pm 1.96

Intra-genet = distance between ramets which belong to the same genet. Inter-genet distance = distance between ramets which belong to different genets. Data from three habitat from the Chihuahuan Desert: HPH = hill pie de monte, BH = bajada and IDH = interdune

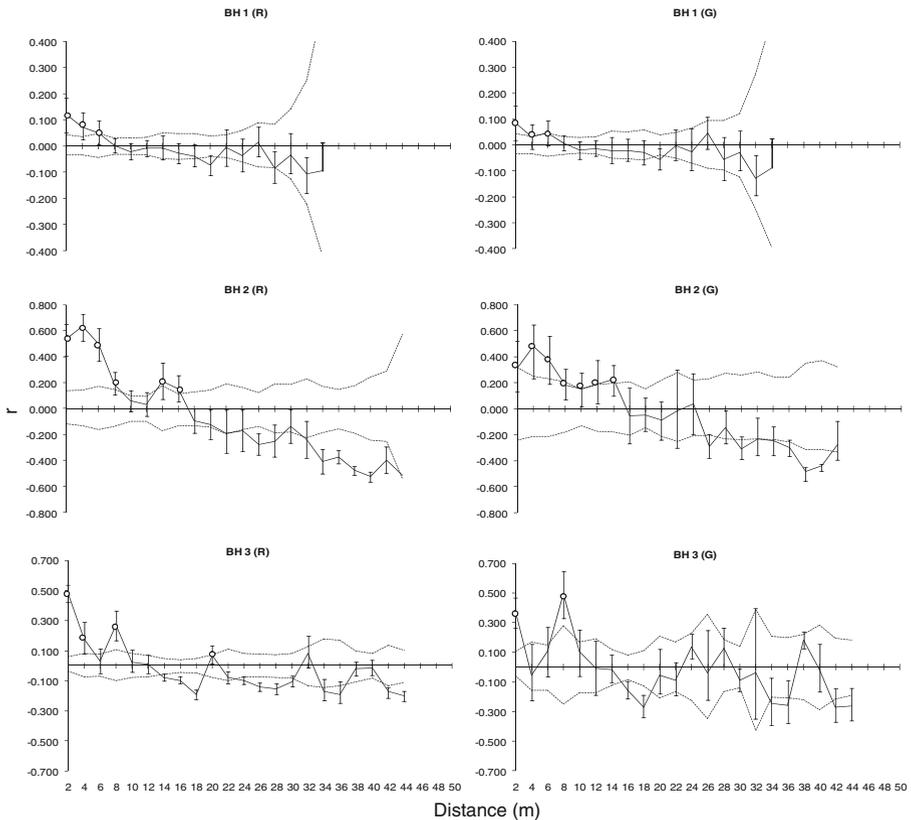


Fig. 5 Correlograms for plots 1, 2 and 3 in BH for (R) ramets and (G) genets. Dotted lines indicate 95% CI and white circles indicate distance with positive and significant autocorrelation ($P < 0.05$). Values were estimated after 1,000 permutations

distribution of related genets is less than 16 m (Figs. 5, 6). Positive spatial autocorrelation in HPH is equally due to both the distribution of ramets from the same genet and the distribution of related individuals. Positive spatial autocorrelation displays a different trend between the more clonal sites (i.e., BH and IDH). Positive spatial autocorrelation at BH shows peaks throughout the range of distance where this was detected; in contrast, the values at IDH show a gradual reduction towards greater distances (Fig. 7).

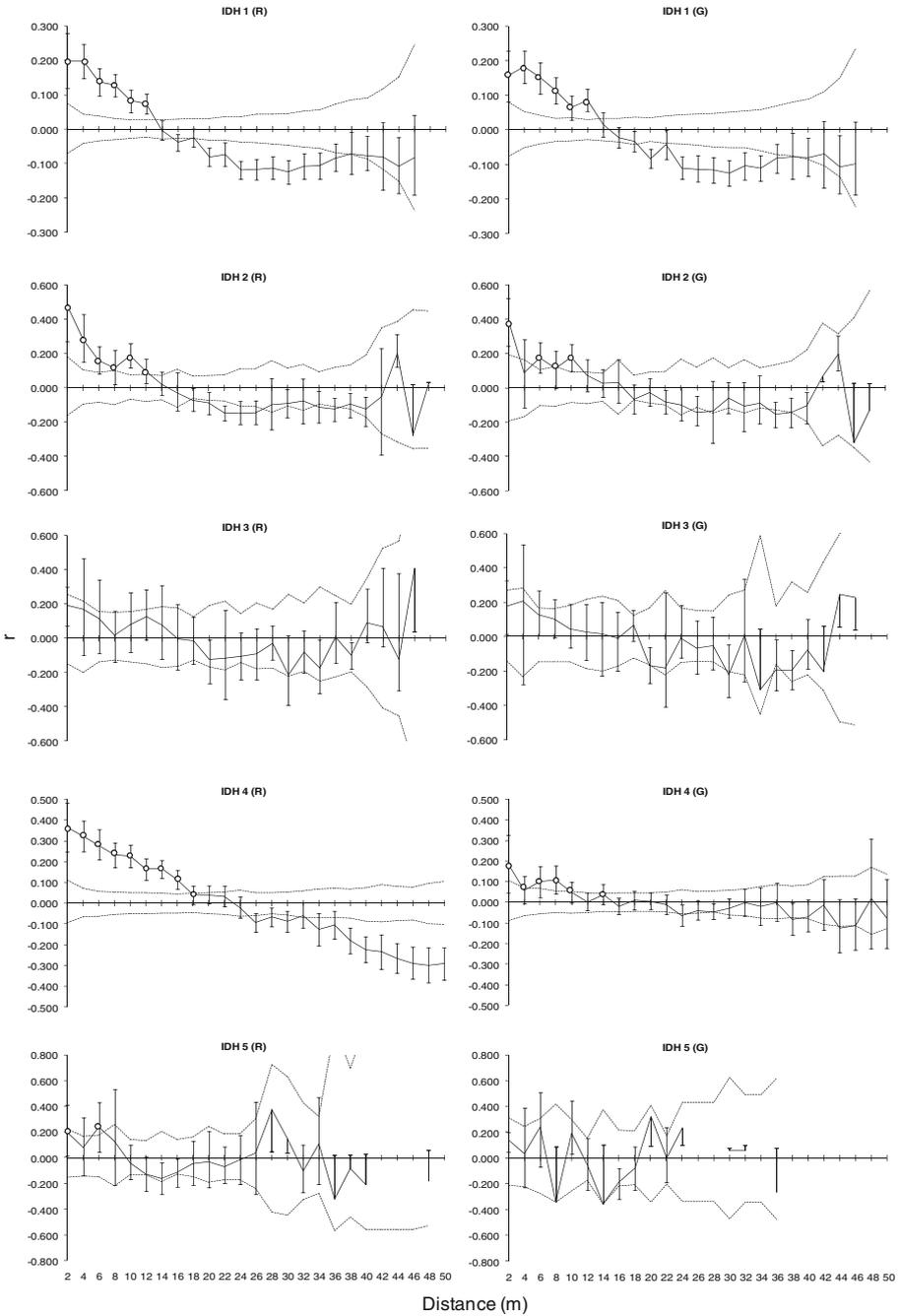


Fig. 6 Correlograms for plots 1, 2, 3, 4 and 5 in IDH for (R) ramets and (G) genets. Dotted lines indicate 95% CI and white circles indicate distance with positive and significant autocorrelation ($P < .05$). Values were estimated after 1,000 permutations

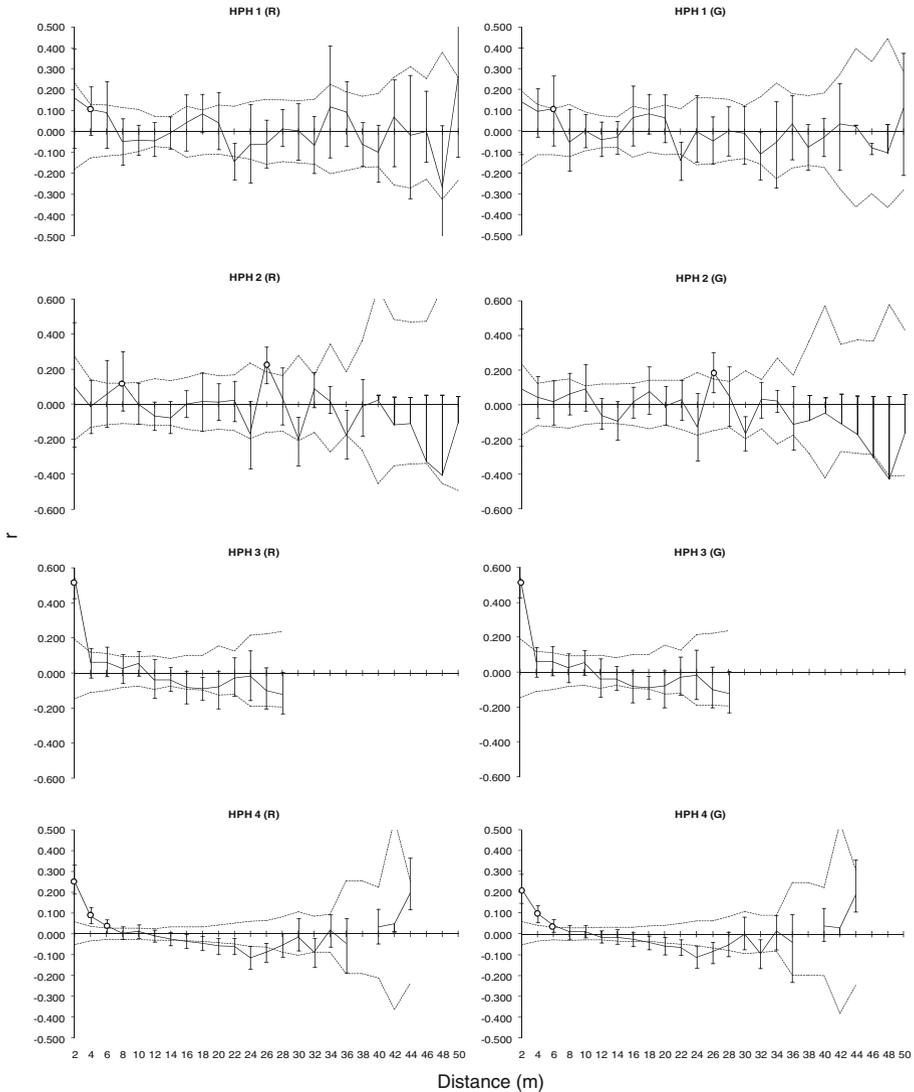


Fig. 7 Correlograms for plots 1, 2, 3 and 4 in HPH for (R) ramets and (G) genets. Dotted lines indicate 95% CI and white circles indicate distance with positive and significant autocorrelation ($P < 0.05$). Values were estimated after 1,000 permutations

Genetic distance is less between contiguous habitats, BH and HPH (0.0124), than between these and the more distant habitat, IDH (0.0169 and 0.0187, respectively), showing isolation by distance when plots of the three habitats are analyzed together ($n = 12, r = 0.31, P = 0.005$). When the analysis was made with plots of pairs of habitats, isolation by distance was detected in the BH-HPH pair ($n = 7, r = 0.39, P = 0.049$) and in the HPH-IDH ($n = 9, r = 0.32, P = 0.031$), but not in pair BH-IDH nor between plots within each habitat ($P > 0.05$). Isolation by distance between pairs of habitats is also non-significant when the effect of clonality is eliminated, but remains significant when all

plots are analyzed together ($n = 12$, $r = 0.24$, $P = 0.027$). In order to explore this pattern Huff's genetic distances between all pairs of clonal genets in the total sample ($n = 57$) and between six samples of the same size of non-clonal genets (taken at random without replacement) were compared with a Kruskal–Wallis test, showing that genetic distance between clonal genets (mean \pm SD = 0.14 ± 0.7) is lower than non-clonal genets (mean \pm SD ranging between 0.20 and 0.22 ± 0.7) in all samples ($H = 1537.6$, $df = 6$, $P < 0.01$).

Discussion

The recruitment of sexual versus clonal offspring within natural populations depends not only on their relative production, but also on the range of ecological conditions under which they are successful and whether the offspring compete for safe sites during establishment (Abrahamson 1980; Eriksson 1997; Eckert et al. 2003; Honnay and Bossuyt 2005). We found that sexual recruitment in *O. microdasys* occurs in all habitats albeit rarely on a yearly basis (Personal observation by authors). Even so, $75.05 \pm 19.40\%$ (mean \pm 1 SD) of ramets have unique genotypes and the level of clonality differs among habitats, from 35.46% of the ramets at the BH being copies, 33.94% at the IDH and 5.83% in the more sexual habitat (HPH). Even though we do not know what environmental factors may be varying between habitats that could affect the establishment and survival of different types of descendants in *O. microdasys*, much of this variation can be associated with slope differences affecting the stability of the substrate. In contrast with BH and IDH, the pronounced slope in HPH results in a shallow and brittle stony soil (Montaña 1988) which probably limits seedlings establishment to those trapped in the scarce soil. Additionally, bias in the production of clonal and sexual progeny between habitats may be the result of selection favoring clonality in BH and IDH (Palleiro et al. 2006), basically due to a high probability of incompatible crosses between neighboring individuals (Piña et al. 2007), and an increase in geitonogamic crosses that increase the production of clonal progeny via plantlets. The ability to generate clonal descendants by plantlets occurs in several species in a number of families (Crassulaceae, Oxalidaceae, Polygonaceae, Saxifragaceae, Agavaceae, Bromeliaceae, Poaceae, Juncaceae, Liliaceae, and Gesneriaceae; Elmquist and Cox 1996). In the Cactaceae it has only been reported in other species of genus *Opuntia* and *Cylindropuntia*: *C. kleiniae*, *O. rufida*, *C. imbricata*, *O. phaeacantha*, *C. leptocaulis*, *O. spinosibacca*, *O. tunicata* (Anthony 1954) and *O. echios* (Hicks and Mauchamp 1999) and has been considered an insurance mechanism against sexual reproductive failure (Arizaga and Ezcurra 1995; Palleiro et al. 2006).

The average percentage of distinguishable genotypes in previous studies have shown that approximately 73% of the sampled ramets are copies (Widén et al. 1994, $n = 48$ species), a common finding in 71% out of 32 species (Mandujano 2007) and in another study 83% out of 27 species (Ellstrand and Roose 1987). These results mean that *O. microdasys* displays limited clonal recruitment because it has ca. 25%. In addition, in all studies in which all ramets were genotyped, clonality decreases to 59.2% ($n = 5$ cases, Widén et al. 1994) which points to the fact that clonality may have been overestimated when studies do not consider all the ramets in the population, thus, genotypic diversity can be higher than has been previously reported. In addition, due to the fact that clonal propagules have higher rates of survival than seedlings, grow faster towards reproductive stages and are adapted to the habitat in which they are produced (Silander 1985; Mandujano et al. 1998, 2001, 2007; Palleiro et al. 2006), even a small contribution of

sustained clonality will lead to overestimates of genetic neighborhood diversity if clonal growth is not considered (Gliddon et al. 1987).

The number of genets found in *O. microdasys* suggests sufficient sexual recruitment over long time periods which allow the maintenance of high levels of genotypic diversity in the populations. Alternative explanations have been proposed for the “apparent” high sexuality in clonal species. These include (1) heterozygous genotypes that are selectively favored, and (2) in species with long life cycles genotypes are maintained by the survival of ramets (reducing the likelihood of genet mortality) with sporadic integration of new genotypes, (Eriksson 1988, 1989, 1993; Widén et al. 1994; Pan and Price 2002). In the case of *Opuntia microdasys*, high seed production allows sporadic sexual recruitment (on a yearly basis, one reproductive individual produces 4 plantlets, 2 cladode offspring and 360 seeds) (Mandujano unpublished).

In general, compared with seeds, clonal propagules are larger, less vulnerable to desiccation, lack dormancy and mechanisms that promote dispersal, and are usually produced in fewer numbers (Silander 1985; Gliddon et al. 1987; Mandujano et al. 2001). Therefore, they may be expected to exhibit relatively limited dispersal compared to seeds, and contribute more towards an aggregated spatial distribution of genets. There may be further examples of clonality leading to random or uniform spatial distributions, including the involvement of long-distance dispersal of floating clonal propagules or the secondary dispersion of clonal offspring (e.g., by animals, Parks and Werth 1993; Brzosko et al. 2002). On the other hand, sexual propagules (i.e., seeds) are capable of long-distance dispersal, several species form seed banks with long-lived seeds having diverse dormancy mechanisms (Eriksson 1992; Mandujano et al. 1996), and seeds are produced in large numbers (Mandujano et al. 2001, 2007), which can contribute to a random distribution of genets and ramets. In *O. microdasys*, differences in the frequency with which the species is able to produce different types of descendants (sexual reproduction-seed induced and clonal by cladodes or plantlets) in HPH, BH, and IDH, and the sustained differential success of clonal and sexual descendants determine genetic spatial structure. In the case of *O. microdasys*, there is clear positive correlation between aggregation and clonality (Table 1; Fig. 2). BH and IDH have more clonal descendants establishing around adult plants (mainly in BH) giving aggregated patterns of ramets within-genets. On the other hand, the ability of different clonal propagules to disperse can determine differences in the intermingling level between genets. Intermingled arrays of ramets of different genets is highest in IDH, the habitat that displays all types of recruitment but where cladode recruitment is most important, followed by BH which has the highest contribution of plantlet production and finally by HPH, where seedling recruitment is dominant (Palleiro et al. 2006). It is interesting to note that even if the shortest distance between pairs of ramets with the same genotype is less at IDH and BH, the causes of the pattern differ. In the former, clonal recruits establish more randomly than in the other two habitats, and although not tested here it is probably due both to the lack of slope and to the abundance of animals (e.g., pack rats, *Neotoma albigula*, Carrillo-Angeles unpublished) that move plantlets and cladodes and probably a more homogeneous distribution of other shrub species. In addition, sexual recruits do not establish around parent plants, which contributes to the random distribution of *O. microdasys* genets at HPH and IDH.

Our data add to the common finding that most clonal species form clumps dominated by one or a few genets. In particular, in species with linked growth such as *Pteridium aquilinum* (Parks and Werth 1993), *Rubus chamaemorus* (Korpelainen et al. 1999), *Cypripedium calceolus* (Brzosko et al. 2002), *Maianthemum bifolium* (Honnay et al. 2006), and *Convallaria keiskei* (Araki et al. 2007), the level of intermingling among genets is related

to the strategy of clonality, and in some cases animals and human activities contribute to the dispersion of ramets up to one hundred meters (Parks and Werth 1993; Brzosko et al. 2002). In contrast, in species with non-linked growth that produce bulbils such as *Saxifraga cernua* (Gabrielsen and Brochmann 1998; Kjølnner et al. 2006) and *Polygonum viviparum* (Diggle et al. 1998), the spatial arrangement of genets is more intermingled. A similar arrangement also found in the agamosperous species *Hyparrhenia diplandra* at a scale of meters, although at the population level ramets of the same genet tend to be clumped due to poor dispersion of seeds (Garnier et al. 2002; Table 3). Other species with non-linked offspring, by detachment of branches as *Lophocereus schottii* (Parker and Hamrick 1992), *Stenocereus eruca* (Clark-Tapia et al. 2005) and *Ferocactus robustus* (Carrillo-Angeles et al. 2005), mainly generate spatial distributions of genets with aggregated ramets, but some are intermingled ramets of different genets on the periphery of the area occupied by each focal genet.

The poor dispersion of sexual and clonal offspring, as well as the short distance dispersal of pollen have been reported as important mechanisms that produce genetic structure at a small-scale (Hämmerli and Reusch 2003; Chung et al. 2006). The positive autocorrelation found for *O. microdasys* for both genets and ramets at relatively short distances (less than 20 m) and the levels of relatedness between pairs of genets within habitats suggests that in addition to a short dispersal distance of clonal propagules shown by distribution of ramets within genets, seeds produced by biparental inbreeding has been frequent, also being dispersed short distances with seedling establishment occurs principally nearby of mother plants. In general, studies that have analyzed spatial autocorrelation in other species report the same pattern found for *O. microdasys* (Table 3), where positive autocorrelation generally occurs at distances less than 20 m when there is a deficient movement of seeds or pollen or high clonality (Garnier et al. 2002; Hämmerli and Reusch 2003; Clark-Tapia et al. 2005; Wilson et al. 2005). However, positive autocorrelation occurs at larger distances because plantlets and agamosperic seeds are more mobile and can disperse further away or to frequent pollen flow between the same distant patches (Torres et al. 2003). Although positive spatial autocorrelation in *O. microdasys* ramets is found at similar distances in BH and IDH there are differences in the pattern, which can be explained by differences in dispersal capacity of plantlets and cladodes and the distribution of large individuals. In contrast with plantlets, the cladodes are less likely to be dispersed over long distances, because they are larger and have a flattened shape which makes them less mobile. The combined effect by the dispersal of two types of clonal propagule may result in the gradual reduction in the density of genetically identical ramets with increasing distance in IDH and less intermingled spatial arrangements. In addition to this, the larger individuals in this habitat show a more homogeneous distribution, which provided buffered micro-environmental conditions creating favorable areas for establishment under their canopy (Palleiro et al. 2006). In contrast, in BH the largest individuals are farther from each other, providing discontinuous patches of buffered micro-environments in which clonal descendants (originated principally of plantlets) are clumped.

Contrary to positive spatial autocorrelation, lack of spatial autocorrelation has been seen to be associated with efficient seed dispersal that generates random distribution patterns of offspring (Albert and Jacquemart 2003), no effect of local genetic drift, balancing selection on a small spatial scale, extensive gene flow through pollen dispersal (Dewey and Heywood 1988; Doligez and Joly 1997), migration via seeds resulting in a random assemblage of genotypes (Knowles et al. 1992) and frequent sexual recruitment in canopy gaps (e.g. Kudoh et al. 1999; Chung et al. 2006). On the other hand, negative autocorrelation in genets has been seen to be associated with founding populations by unrelated genets

Table 3 Literature survey of spatial autocorrelation analysis of clonal species in order to detect spatial genetic structure, following different statistic algorithms

Species	Family	GM	Algorithm	PAC	NAC	Individual	Reference
Clonal species							
<i>Atherosperma moschatum</i>	Monimiaceae	Isozymes	Standard normal deviate (SND)	≈ 10 m	≈ 20 m	Ramets	Shapcott (1995)
<i>Adenophora grandiflora</i>	Campanulaceae	Isozymes	Moran's <i>I</i> statistic	None	≈ 10–30 m	Genets	Chung and Epperson (1999)
<i>Stenocereus eruca</i>	Cactaceae	RAPDs	Tanimoto's genetic distance (D_G)	< 7 m	None	Genets and ramets	Clark-Tapia et al. (2005)
<i>Vaccinium myrtilus</i>	Ericaceae	RAPDs, AFLPs	Moran's <i>I</i> statistic	None	None	Genets	Albert and Jacquemart (2003)
<i>Echinosophora koreensis</i>	Fabaceae	ISSRs	Kinship coefficient (F_{4ij})	< 12 m	> 12 m	Genets and ramets	Chung et al. (2006)
				< 10 m	> 10 m	pop1 Genets and ramets	
						pop2	
<i>Zostera marina</i>	Zosteraceae	Microsatellite markers	Coancestry (f_{ij})	< 6 m	> 8 m	Ramets pop1	Hämmerli y Reusch (2003)
				< 6 m	12 m	Genets pop1	
				< 3 m	None	Genets and ramets	
						pop2	
<i>Uvularia perfoliata</i>	Liliaceae	Isozymes	Moran's <i>I</i> statistic	< 6 m	> 4 m	Ramets of some genets	Kudoh et al. (1999)
<i>Hyparrhenia diplandra</i>	Poaceae	Microsatellite markers	Moran's <i>I</i> statistic	< 6 m	> 6 m	Ramets	Garnier et al. (2002)
<i>Maianthemum dilatatum</i>	Ruscaceae	AFLPs	Average correlation coefficient r_M	< 45 m	> 71 m	Ramets	Wilson et al. (2005)
				< 35 m	> 71 m	Genets	
<i>Opuntia microdasys</i>	Cactaceae	ISSRs	Average correlation coefficient r_M	< 20 m	> 14 m	Ramets _{BH}	This study
				< 14 m	> 14 m	Genets _{BH}	
				< 20 m	> 18 m	Ramets _{IDH}	
				< 16 m	> 18 m	Genets _{IDH}	
				< 8 m	None	Ramets _{IPH}	
				< 8 m, 26 m	24 m	Genets _{IPH}	

Table 3 continued

Species	Family	GM	Algorithm	PAC	NAC	Individual	Reference
Non clonal species							
<i>Psychotria nervosa</i>	Rubiaceae	Isozymes	Moran's I statistic	None	None	Pop1	Dewey and Heywood (1988)
<i>Larix laricina</i>	Pinaceae	Isozymes	Moran's I statistic	<60 m None	>40 m None	Pop1 Pop2	Knowles et al. (1992)
<i>Psychotria officinalis</i>	Rubiaceae	Isozymes	Coancestry (f_{ij})	< 5 m, 90 m	105 m	Pop1	Loiselle et al. (1995)
<i>Carapa procera</i>	Meliaceae	Isozymes	Moran's I statistic	None	None	Pop1	Doligez and Joly (1997)
<i>Trillium grandiflorum</i>	Liliaceae	Isozymes	Coancestry (f_{ij})	<5.5 m	>8 m	Pop1	Kalisz et al. (1999)
<i>Anthriscum microphyllum</i>	Scrophulariaceae	RAPDs	Moran's I statistic and coefficient r_M	15 m, >160 m 15 m	>105 m 150 m	Pop1 Pop2	Torres et al. (2003)
<i>Cephalanthera longibracteata</i>	Orchidaceae	Isozymes	Coancestry (f_{ij})	3 m 6 m	None >30 m	Pop1 Pop2	Chung et al. (2004)
<i>Orechis purpurea</i>	Orchidaceae	AFLPs	Kinship coefficient (F_{dij})	<10 m <18 m	– –	Pop1 Pop2	Jacquemyn et al. (2006)

PAC = distance at which positive spatial autocorrelation is observed, NAC = negative spatial autocorrelation, GM = genetic marker used, HPH = hill piedmont, BH = bajada, IDH = interdune

(Shapcott 1995; Albert and Jacquemart 2003). We found that negative autocorrelation in *O. microdasys* is also produced by the effect of ramets, as this autocorrelation disappears in several plots when only genets are analyzed. Such effect results from reduction in the frequency of genetic and spatial relationships between genets with several ramets distributed in restricted areas within plots.

Consistent with the spatial autocorrelation pattern, we found isolation by distance which suggests that dispersal of clonal propagules at a local scale (within plots) also affect the spatial genetic structure at larger scales. The consequence of this is that habitats and nearby plots (covering dense patches of *O. microdasys*) have similar genotypic compositions. Isolation by distance between plots also reflects the restricted pollen dispersal as has been suggested for this species (Piña et al. 2007).

On the other hand, both lack of isolation by distance in genets when pairs of habitats are compared and spatial autocorrelation at short distances in genets suggest restricted seed and pollen dispersal (Ge et al. 2005; Honnay et al. 2006). Nevertheless, lack of isolation by distance also can result from long distance dispersal (Ren et al. 2005) or strong effect of genetic drift (Fischer et al. 2000; Ge et al. 2005). We don't know the factors implicated in seed dispersal in *O. microdasys*, but due to fruits are fleshy, sweet and reddish, is possible that a proportion of seeds are dispersed to long distance by birds, observed occasionally feeding on fruits in the fruiting period, which coupled with the long life of individuals can reduce the spatial genetic structure to higher scales. Additionally, lack of isolation by distance between plots and genet level may reflect a more random genetic spatial structure when populations were founded.

In summary, variation in the frequency of production of clonal and sexual descendants in *O. microdasys* together with differences in their dispersal ability have an important effect in the spatial genetic structure at finer scales (i.e. within dense patches) and between patches in different habitats occupied by the species. Other studies with clonal and non-clonal species, have also found that seeds, clonal propagules and/or pollen dispersal results in positive spatial autocorrelation over short distances (generally lesser than 20 m) and isolation by distance associated to clonality. Although spatial genetic structure over short distances can be a common result, we found that their patterns are distinct due to variation in production of different types of descendants and their dispersal ability thus affecting the amount of intermingling by genets. This fact may have important evolutionary consequences by affecting the mating system (i.e., crossing and selfing rates), it may influence the reproductive success of individual ramets and genets (Handel 1985; Charpentier 2002), and as a consequence, the genetic and genotypic diversity and the differentiation between populations or subpopulations. Analyzing the ramets as well as the genets provides the opportunity to explore the different factors that can influence the genetic structure in clonal species. For example, a lack of isolation by distance between habitats in genets may reflect a more random distribution of genotypes when habitats were colonized, but also a low proportion of seeds being dispersed a long distance. Physical differences such as the slope between habitats (with corresponding consequences for water retention and stability of soil) as well as bee mediated pollen dispersal and local selection favoring the establishment of clonal and sexual descendants are some factors that determine the variation in the production of different offspring types in *O. microdasys*, but more studies are necessary to have a clear picture.

Quantification of the spatial distribution pattern in clonal species allows analysis of the potential consequences of the spatial arrangement of genets and ramets in the reproduction, sexual and clonal recruitment and genetic diversity in natural populations. It is also possible to evaluate the effect of persistent variation in the production of either clonal or

sexual offspring between habitats on population dynamics, since sexual and clonal propagules tend to develop at different rates towards reproductive stages affecting patterns of survival and fertility of ramets within and among genets.

Acknowledgments The authors are grateful for the logistic support of personnel and INECOL'S Desert Laboratory and Herrera family. This study is part of Israel Carrillo Angeles doctoral research at Posgrado en Ciencias Biológicas, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), under the supervision of MCM. The research was funded by IN205007 PAPIIT-DGAPA-UNAM to MCM. PASPA-DGAPA-UNAM sabbatical leave at NMSU to MCM. CONACyT sabbatical support and grants 83790 and 62390 to JG. The participation of ICA was funded by a CONACyT graduate scholarship. Dr. Teresa Valverde and Dr. Francisco Molina provided helpful comments during the course of the project.

References

- Abrahamson WG (1980) Demography and vegetative reproduction. In: Solbrig OT (ed) Demography and evolution in plant populations. Blackwell Scientific Publications, Oxford
- Albert T, Jacquemart AL (2003) Clonal structure in *Vaccinium myrtillus* L. revealed by RAPD and AFLP markers. *Int J Plant Sci* 164:649–655
- Anderson EF (2001) The cactus family. Timber Press, Portland
- Anonymous (2003) Data Pilot v. 1.03 (developed by Oleg Adibekov). Two Pilots Inc
- Anthony M (1954) Ecology of the Opuntiae in the big bend region of Texas. *Ecology* 35:334–347
- Araki K, Shimatani K, Ohara M (2007) Floral distribution, clonal structure, and their effects on pollination success in a self-incompatible *Convallaria keiskei* population in northern Japan. *Plant Ecol* 189:175–186
- Arizaga S, Ezcurra E (1995) Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macroacantha* flowering stalks. *Oecologia* 101:329–334
- Bobich EC (2005) Vegetative reproduction, population structure, and morphology of *Cylindropuntia fulgida* var. *mamillata* in a desert grassland. *Int J Plant Sci* 166:97–104
- Bornet B, Branchard M (2001) Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Mol Biol Rep* 19:209–215
- Bravo-Hollis H (1978) Las cactáceas de México, vol 1. Universidad Nacional Autónoma de México
- Brzosko E, Bróblewska A, Ratkiewicz M (2002) Spatial genetic structure and clonal diversity of island populations of lady's slipper (*Cyperidium calceolus*) from the Biebrza National Park (northeast Poland). *Mol Ecol* 11:2499–2509
- Carrillo-Angeles IG, Golubov J, Rojas-Aréchiga M, Mandujano MC (2005) Distribución y estatus de conservación en *Ferocactus robustus* (Pfeiff.) Britton & Roose. *Cact Suc Mex* 50:36–55
- Charpentier A (2002) Consequences of clonal growth for plant mating. *Evol Ecol* 15:521–530
- Chung MG, Epperson BK (1999) Spatial genetic structure of clonal and sexual reproduction in populations of *Adenophora grandiflora* (Campanulaceae). *Evolution* 53:1068–1078
- Chung MY, Nason JD, Chung MG (2004) Spatial genetic structure in populations of the terrestrial orchid *Cephalanthera longibracteata* (Orchidaceae). *Am J Bot* 91:52–57
- Chung JM, Lee BC, Kim JS, Park C, Chung MY, Chung MG (2006) Fine-scale genetic structure among genetic individuals of the clone-forming monotypic genus *Echinospora koreensis* (Fabaceae). *Ann Bot* 98:165–173
- Clark-Tapia R, Mandujano MC, Valverde T, Mendoza A, Molina-Freaner F (2005) 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. *Biol Conserv* 124:123–132
- Cornet A (1985) Las Cactáceas de la Reserva de la Biosfera de Mapimí. Instituto de Ecología A.C, Mexico City
- Dev SA, Shenoy M, Borges RM (2010) Genetic and clonal diversity of the endemic ant-plant *Humboldtia brunonis* (Fabaceae) in the Western Ghats of India. *J Biosci* 35:267–279
- Dewey SE, Heywood JS (1988) Spatial Genetic Structure in a Population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of genotypes. *Evolution* 42:834–838
- Diggle PK, Lower S, Ranker TA (1998) Clonal diversity in alpine populations of *Polygonum viviparum* (Polygonaceae). *Int J Plant Sci* 159:606–615
- Doligez A, Joly H (1997) Genetic diversity and spatial structure within a natural stand of a tropical forest tree species, *Carapa procera* (Meliaceae), in French Guiana. *Heredity* 79:72–82

- Dorken E, Eckert CG (2001) Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *J Ecol* 89:339–350
- Douhovnikoff V, Dood RS (2003) Intra-clonal variation and similarity threshold for identification of clones: application to *Salix exigua* using AFLP molecular markers. *Theor Appl Gen* 106:1307–1315
- Ebert TA (2006) Density dependent responses of Cacti, *Cylindropuntia bigelovii* and *C. echinocarpa* (Cactaceae), in the desert of Southern California, USA. *J Arid Environ* 66:609–619
- Eckert CG, Barret SCH (1993) Clonal reproduction and patterns of genotypic diversity in *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Am J Bot* 80:1175–1182
- Eckert CG, Lui K, Bronson K, Corradini P, Bruneau A (2003) Population genetic consequences of extreme variation in sexual and clonal reproduction in an aquatic plant. *Mol Ecol* 12:331–344
- Ellstrand NC, Roose ML (1987) Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Am J Bot* 74:123–131
- Elmqvist T, Cox PA (1996) The evolution of vivipary in flowering plants. *Oikos* 77:3–9
- Eriksson O (1988) Ramet behaviour and population growth in the clonal herb *Potentilla anserina*. *J Ecol* 76:522–536
- Eriksson O (1989) Seedling dynamics and life histories in clonal plants. *Oikos* 55:231–238
- Eriksson O (1992) Evolution of seed dispersal and recruitment in clonal plants. *Oikos* 63:439–448
- Eriksson O (1993) Dynamics of genets in clonal plants. *TREE* 8:313–316
- Eriksson O (1997) Clonal life histories and the evolution of seed recruitment. In: de Kroon H, van Groenendael J (eds) *The ecology and evolution of clonal plants*. Backhuys Publications, Leiden, pp 211–226
- Esselman EJ, Jianqiang L, Crawford DJ, Winduss JL, Wolfe AD (1999) Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp *insperata* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and intersimple sequence repeat (ISSR) markers. *Mol Ecol* 8:443–451
- Fischer M, Husi R, Prati D, Peintinger M, van Kleunen M, Schmid B (2000) RAPD variation among and within small populations of the rare clonal plant *Ranunculus reptans* (Ranunculaceae). *Am J Bot* 87:1128–1137
- Gabrielsen TM, Brochmann C (1998) Sex after all: high levels of diversity detected in the arctic clonal plant *Saxifraga cernua* using RAPD markers. *Mol Ecol* 7:1701–1708
- Galvan MZ, Bornet B, Balatti PA, Branchard M (2003) Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as a tool for the assessment of both genetic diversity and gene pool origin in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 132:297–301
- Garnier LKM, Durand J, Dajoz I (2002) Limited seed dispersal and microspatial population structure of an agamosperous grass of West African savannahs, *Hyparrhenia diplandra* (poaceae). *Am J Bot* 89:1785–1791
- Ge XJ, Yu Y, Yuan YM, Huang HW, Yan C (2005) Genetic diversity and geographic differentiation in endangered *Ammopiptanthus* (Leguminosae) populations in desert regions of Northwest China as revealed by ISSR analysis. *Ann Bot* 95:843–851
- Gliddon C, Belhassen E, Gouyon PH (1987) Genetic neighbourhoods in plants with diverse systems of mating and different patterns of growth. *Heredity* 59:29–32
- Godoy JA, Jordano P (2001) Seed dispersal by animals: exact identification of source trees with endocarp DNA microsatellites. *Mol Ecol* 10:2275–2283
- Hämmerli A, Reusch TBH (2003) Flexible mating: cross-pollination affects sex expression in a marine clonal plant. *J Evol Biol* 18:1096–1105
- Han YC, Teng CZ, Zhong S, Zhou MQ, Hu ZL, Song YC (2006) Genetic variation and clonal diversity in populations of *Nelumbo nucifera* (Nelumbonaceae) in central China detected by ISSR markers. *Aquat Bot* 86:69–75
- Handel SN (1985) The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding system. *Am Nat* 125:367–384
- Harper J (1985) Modules, branches, and the capture of resources. In: Jackson JBC, Buss LW, Cook RE (eds) *Population biology and evolution of clonal organisms*. Yale University Press, New Haven
- Hassel K, Sâstad SM, Gunnarsson U, Söderstrom L (2005) Genetic variation and structure in the expanding moss *Pogonatum dentatum* (Polytrichaceae) in its area of origin and in a recently colonized area. *Am J Bot* 92:1684–1690
- Hicks D, Mauchamp A (1999) Population structure and growth patterns of *Opuntia echios* var. *gigantea* along an elevation gradient in the Gala'pagos Islands. *Biotropica* 32:235–243
- Honnay O, Bossuyt B (2005) Prolonged clonal growth: escape route or route to extinction? *Oikos* 108:427–432

- Honnay O, Jacquemyn H, Roldán-Ruiz I, Hermy M (2006) Consequences of prolonged clonal growth on local and regional genetic structure and fruiting success of the forest perennial *Maianthemum bifolium*. *Oikos* 112:21–30
- Huff DR, Peakall R, Smouse PE (1993) RAPD variation within and among natural populations of out-crossing buffalograss *Buchloe dactyloides* (Nutt) Engelm. *Theor Appl Genet* 86:927–934
- Jackson JBC, Buss LW, Cook RE (1985) Population biology and evolution of clonal organisms. Yale University Press, New Haven
- Jacquemyn H, Brys R, Vandepitte K, Honnay O, Roldán-Ruiz I (2006) Fine-scale genetic structure of life history stages in the food-deceptive orchid *Orchis purpurea*. *Mol Ecol* 15:2801–2808
- Jonsson BO, Jónsdóttir IS, Cronberg N (1996) Clonal diversity and allozyme variation in populations of the arctic sedge *Carex bigelowii* (Cyperaceae). *J Ecol* 84:449–459
- Kalisz S, Hanzawa FM, Tonsor SJ, Thiede DA, Voigt S (1999) Ant-mediated seed dispersal alters pattern of relatedness in a population of *Trillium grandiflorum*. *Ecology* 80:2620–2634
- Kays S, Harper JL (1974) The Regulation of plant and tiller density in a grass sward. *J Ecol* 62:97–105
- Kjølnér S, Sastad SM, Brochmann C (2006) Clonality and recombination in the arctic plant *Saxifraga cernua*. *Bot J Linn Soc* 152:209–217
- Klimes L, Klimesova J (1999) CLO-PLA2—a database of clonal plants in central Europe. *Plant Ecol* 141:9–19
- Knowles P, Perry DJ, Foster HA (1992) Spatial genetic structure in two tamarack [*Larix laricina* (Du ROI) K. Koch] populations with differing establishment histories. *Evolution* 46:572–576
- Korpelainen H, Antonious-Klemola K, Werlemark G (1999) Clonal structure of *Rubus chamaemorus* populations: comparison of different molecular methods. *Plant Ecol* 143:123–128
- Krebs JC (1999) Ecological methodology, 2nd edn. Addison Wesley Longman Inc., USA
- Kudoh H, Shibaike H, Takasu H, Whigham DF, Kawano S (1999) Genet structure and determinants of clonal structure in a temperate deciduous woodland herb, *Uvularia perfoliata*. *J Ecol* 87:244–257
- Li A, Ge S (2001) Genetic variation and clonal diversity of *Psammochoa villosa* (Poaceae) detected by ISSR markers. *Ann Bot* 87:585–590
- Liu WS, Dong M, Song ZP, Wei W (2009) Genetic diversity pattern of *Stipa purpurea* populations in the hinterland of Qinghai–Tibet Plateau. *Ann Appl Biol* 154:57–65
- Loiselle BA, Sork VL, Nason J, Graham C (1995) Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). *Am J Bot* 82:1420–1425
- Lynch M, Milligan BG (1994) Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol Ecol* 2:91–99
- Mandujano MC (2007) La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones. In: Eguiarte LE, Souza V, Aguirre X (eds) *Biología molecular: Perspectivas y aplicaciones*, INE-Semarnat, Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la biodiversidad (Conabio), DF, México, pp 215–250
- Mandujano MC, Montaña C, Eguiarte LE (1996) Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* in Chihuahuan desert: why are sexually derived recruitments so rare. *Am J Bot* 83:63–70
- Mandujano MC, Montaña C, Méndez I, Golubov J (1998) The relative contributions of sexual reproduction and clonal propagation in *Opuntia rastrera* from two habitats in the Chihuahuan desert. *J Ecol* 86:911–921
- Mandujano MC, Montaña C, Franco M, Golubov J, Flores-Martínez A (2001) Integration of demographic annual variability in a clonal desert cactus. *Ecology* 82:344–359
- Mandujano MC, Golubov J, Huenneke L (2007) Effect of reproductive modes and environmental heterogeneity in the population dynamics of a geographically widespread clonal desert cactus. *Popul Ecol* 49:141–153
- Meirmans PG (2004) *GenoType/GenoDive applications for analysis of genetic diversity of asexual organisms, User's manual*
- Meirmans PG, van Tienderen PH (2004) GENOTYPE and GENODIVE: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Mol Ecol Notes* 4:792–794
- Montaña C (1988) Estudio integrado de los recursos vegetación, suelo y agua en la Reserva de la Biosfera de Mapimi'. Instituto de Ecología, A.C. Mexico City
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583–590
- Oborny B, Kun Á (2003) Fragmentation of clones: how does it influence dispersal and competitive ability? *Evol Ecol* 15:319–346
- Palleiro N, Mandujano MC, Golubov J (2006) Aborted fruits of *Opuntia microdasys* (Cactaceae): insurance against reproductive failure. *Am J Bot* 93:505–511

- Pan JJ, Price JS (2002) Fitness and evolution in clonal plants: the impact of clonal growth. *Evol Ecol* 15:583–600
- Parker KC, Hamrick JL (1992) Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *Am J Bot* 79:86–96
- Parks C, Werth CR (1993) A study of spatial features of clones in a population of bracken fern, *Pteridium aquilinum* (Dennstaedtiaceae). *Am J Bot* 80:537–544
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes* 6:288–295
- Piña H, Montaña C, Mandujano MC (2007) Reproductive ecology of *Opuntia microdasys* (Cactaceae) and its relation on abortion in the Chihuahuan Desert: floral biology, pollinators and breeding system. *Am J Bot* 193:305–313
- Ren MX, Zhang QG, Zhang DY (2005) Random amplified polymorphic DNA markers reveal low genetic variation and a single dominant genotype in *Eichhornia crassipes* populations throughout China. *Weed Res* 45:236–244
- Ruggiero MV, Capone S, Pirozzi P, Reusch TBH, Procaccini G (2005) Mating system and clonal architecture: a comparative study in two marine angiosperms. *Evol Ecol* 19:487–499
- Serrano V (1987) Las comunidades de roedores desertícolas del Bolsón de Mapimí, Durango. *Acta Zool Mex* 20:1–22
- Shapcott A (1995) The spatial genetic structure in natural populations of the Australian temperate rainforest tree *Atherosperma moschatum* (Labill.) (Monimiaceae). *Heredity* 74:28–38
- Shimizu Y, Ando M, Sakai F (2002) Clonal structure of natural populations of *Cryptomeria japonica* growing at different positions on slopes, detected using RAPD markers. *Biochem Syst Ecol* 30:733–748
- Silander JA Jr (1985) Microevolution in clonal plants. In: Jackson JBC, Buss LW, Cook RE (eds) *Population biology and evolution of clonal organisms*. Yale University Press, New Haven, pp 107–152
- Smouse PE, Peakall R (1999) Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity* 82:561–573
- Sydes MA, Peakall R (1998) Extensive clonality in the endangered shrub *Haloragodendron lucasii* (Haloragaceae) revealed by allozymes and RAPDs. *Mol Ecol* 7:87–93
- Torimaru T, Tani N, Tsumura Y, Nishimura Y, Tomaru N (2007) Effects of kin-structured seed dispersal on the genetics structure of the clonal dioecious shrub *Ilex leucoclada*. *Evolution* 61–6:1289–1300
- Torres E, Iriando JM, Escudero A, Pérez C (2003) Analysis of within population spatial genetic structure in *Antirrhinum microphyllum* (Scrophulariaceae). *Am J Bot* 90:1688–1695
- Wang BC, Mith TB (2002) Closing the seed dispersal loop. *TREE* 17:379–385
- Wein GR, Pickett STA (1989) Dispersal, establishment and survivorship of a cohort of *Erythronium americanum*. *B Torrey Bot Club* 116:240–246
- Widén B, Cronberg N, Widén M (1994) Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genets in clonal plants, a literature survey. *Folia Geobot Phytotx* 29:245–263
- Wilson ASG, van der Kamp BJ, Ritland C (2005) Spatial genetic and clonal structure in *Maianthemum dilatatum* as defined by AFLP markers. *Can J Bot* 83:1126–1132

CAPÍTULO 3

Efecto de la variación en la producción de descendientes de origen clonal y sexual en la diversidad clonal y genética de poblaciones de *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff. (Cactaceae)

RESUMEN

Los estudios sobre los efectos de la clonalidad en la diversidad genética y genotípica han mostrado que las especies clonales son genéticamente tan diversas como las especies no clonales, pero se han hecho algunas críticas a las aproximaciones utilizadas en estos trabajos debido a que las comparaciones entre especies clonales y no clonales se han hecho sobre los niveles promedio de diversidad y no se ha considerado la amplia variación intraespecífica en la estructura genética. Adicionalmente, las consecuencias genéticas de la variación intraespecífica en la producción de descendientes de origen clonal y sexual, cuando ambas formas de reproducción se presentan en las poblaciones, se ha evaluado en pocos estudios. En este trabajo se compara la diversidad genética y genotípica entre tres poblaciones de un cactus clonal, *Opuntia microdasys*, en las que esta especie muestra una variación en la producción de descendientes de origen sexual y clonal.

En cada población, se establecieron parcelas permanentes en sitios con una densidad alta de ramets de *O. microdasys*. Los ramets fueron genotipados mediante marcadores moleculares ISSR para estimar y comparar la diversidad genética y genotípica. Los valores de distintos índices de diversidad genética y genotípica de las parcelas se utilizaron para hacer las comparaciones entre las poblaciones y para evaluar el efecto de la clonalidad sobre la diversidad genética. Para analizar la estructura genética se hizo un análisis de varianza molecular (AMOVA) y un análisis de agrupamiento Bayesiano con el programa STRUCTURE, y se exploraron los patrones de silamiento por distancia mediante pruebas de Mantel.

O. microdasys presenta niveles altos de diversidad genotípica ($D = 0.997$, $E = 0.995$, $G/N = 0.74$ y $G_c/G = 0.458$), que no obstante, son contrastantes con una baja diversidad genética ($H_e = 0.132$, $\%P = 42.5$, $H = 0.219$). Entre las poblaciones, la diversidad genética y la diversidad genotípica fueron más altas en la población donde el reclutamiento sexual es más frecuente (diversidad clonal: $D = 0.994$, $E = 0.996$, $G/N = 0.942$, $G_c/G = 0.926$; diversidad genética: $H_e = 0.114$, $\%P = 35$ y $H = 0.166$) que en las dos poblaciones donde la clonalidad es relativamente más frecuente (diversidad clonal: $D = 0.963$, $E = 0.950$, $G/N = 0.665$, $G_c/G = 0.667$ y $D = 0.952$, $E = 0.942$, $G/N = 0.661$, $G_c/G = 0.620$, respectivamente; diversidad genética: $H_e = 0.078$, $\%P = 24.3$, $H = 0.121$ y $H_e = 0.106$, $\%P = 34.1$, $H = 0.158$, respectivamente). La contribución de la reproducción sexual y de la clonalidad a la producción de descendientes fue distinta entre las poblaciones (proporción sexual:clonal; 0.9:0.1, 0.54:0.46 y 0.62:0.38), y estas diferencias concuerdan con valores más altos de diversidad genética y genotípica en la población con mayor reclutamiento sexual. El AMOVA indica que la mayor variación se encuentra dentro de los parches (71.8%), seguida por la variación entre los parches (21.5%) y por la variación entre las

poblaciones (6.7%), y se detectaron patrones de aislamiento por distancia entre las parcelas. Entre los índices de diversidad clonal y de diversidad genética se encontró una correlación positiva de la heterocigosis esperada en Hardy-Weinberg con la proporción de genotipos distinguibles, indicando que las parcelas más clonales tienen menor diversidad genética. El nivel de diferenciación en *O. microdasys* fue alto ($\Phi_{PT} = 0.28$), con un bajo número de migrantes por generación entre las poblaciones y entre los parches ($Nm = 0.53$). El análisis Bayesiano sugiere que las poblaciones y las parcelas se encuentran representados de manera desigual en dos grupos genéticos poco mezclados ($\alpha = 0.16$), que difieren en sus niveles de heterocigosidad ($H_e = 0.065$ y 0.191).

Los niveles de diversidad genotípica que muestra *O. microdasys* son congruentes con el reclutamiento sexual observado en una especie autoincompatible. No obstante, dadas estas características, la baja diversidad genética y el nivel de estructuración que muestran sus poblaciones son inesperados. Una posible explicación a estos resultados es que la variabilidad genética involucrada en el proceso reproductivo es relativamente limitada, debido a la predominancia de genotipos con una heterocigosidad reducida en varias de las parcelas de *O. microdasys*, y un flujo génico restringido entre las parcelas y entre las poblaciones, asociado a una dispersión limitada de polen, de propágulos vegetativos y/o a procesos de adaptación local. La relación entre valores bajos de heterocigosis y valores altos de diversidad clonal entre las parcelas sugieren que la clonalidad puede reducir la diversidad genética a una escala local, sin embargo, la predominancia de genotipos poco variables en las poblaciones y en las parcelas más clonales hace posible que la reproducción clonal a través de plantlets en *O. microdasys* haya sido favorecida por una base genética local inicialmente poco diversa, dando lugar a un proceso que retroalimenta el mantenimiento de niveles bajos de diversidad genética.

INTRODUCCIÓN

En las poblaciones de muchas plantas se ha reportado que la regeneración se lleva a cabo principalmente a través de reproducción clonal, mientras que el reclutamiento sexual suele ser muy raro (Aspinwall y Christian, 1992; Eriksson, 1992; Eriksson y Bremer, 1993; Bushakra *et al.*, 1999; Esselman *et al.*, 1999; Tarasjev, 2005; Beatty *et al.*, 2008), lo cual, aunado a la dominancia potencial de algunos genets asociada con su producción diferencial de ramets, ha llevado a sugerir que las poblaciones de especies clonales tienen niveles menores de variabilidad genética y genotípica que las poblaciones de especies no clonales (Harper, 1977; Pornon *et al.*, 2000). En poblaciones clonales, la baja capacidad de dispersión de los ramets puede afectar los sistemas de cruza, incrementando la autofertilización geitonogámica en especies autocompatibles, e incrementando el aborto de óvulos autofertilizados y el desperdicio de polen en especies autoincompatibles (Charpentier, 2002; Eckert, 2002). En consecuencia, estos factores pueden reducir el tamaño efectivo de la población y hacer más importante el efecto de la deriva génica afectando la diversidad genética en las poblaciones (Handel, 1985; Reusch *et al.*, 1999, 2000),

Algunos intentos para explorar los efectos de la clonalidad sobre la diversidad genética y genotípica sugieren que las especies de plantas clonales tienen niveles de variabilidad genética equivalentes a los niveles encontrados en especies de plantas no clonales. Por ejemplo, en la revisión que hicieron Hamrick y Godt (1989) para comparar la diversidad genética entre especies con reproducción sexual y asexual, y especies con reproducción sexual exclusivamente, estos autores encontraron niveles similares de diversidad genética en los dos grupos de especies con distintos estimadores como el porcentaje de loci polimórficos (% P = 43.8 vs 51.6, respectivamente), la diversidad genética total (H_T = 0.305 vs 0.311, respectivamente), la diversidad genética dentro de las poblaciones (H_S = 0.236 vs 0.229,

respectivamente) y la diversidad genética entre las poblaciones ($G_{ST} = 0.213$ vs 0.225 , respectivamente). Adicionalmente, en otras revisiones que compilan varios estudios sobre plantas clonales se han encontrado altos niveles de diversidad genotípica ($D = 0.62$, Ellstrand y Roose, 1987 y $D = 0.75$; Widén *et al.*, 1994), que apoyan el planteamiento de niveles semejantes de diversidad genética y genotípica en especies clonales y sexuales. Sin embargo, se han hecho algunas críticas a las aproximaciones usadas para probar este planteamiento como la falta de correcciones filogenéticas, la amplia variación en la escala y en los métodos de muestreo, y la comparación de los valores promedio de diversidad genética y genotípica que llevan a ignorar la amplia variación en la estructura genética entre las poblaciones de la misma especie (Eckert, 1999; Honnay y Bossuyt, 2005).

Por otro lado, las causas ecológicas y evolutivas de la variación intraespecífica de la diversidad genética han recibido poca atención (Eckert, 1999). Por ejemplo, aunque en algunos casos se ha observado una variación marcada en las tasa de reproducción clonal y sexual entre las poblaciones de una misma especie, en pocos estudios se han evaluado las consecuencias genéticas de ambos tipos de reproducción (Eckert y Barrett, 1993; Dorken y Eckert, 2001; Pollux *et al.*, 2007). Algunas aproximaciones empleadas en estos estudios implican la comparación del éxito reproductivo entre poblaciones que difieren en el número de genets, mostrando un decremento en el éxito reproductivo en las poblaciones que son genética y genotípicamente menos diversas (Dorken y Eckert, 2001), o la falta de una relación entre la diversidad genotípica y el éxito reproductivo (Aspinwall y Christian, 1992). En otros casos se comparan los niveles de diversidad genética y genotípica entre poblaciones que se reproducen sexualmente y poblaciones donde la reproducción sexual no se presenta o es muy rara (Hughes y Richards, 1988; Brzosko *et al.*, 2002; Pollux *et al.*, 2007), y se ha encontrado que los niveles de diversidad genética y genotípica son considerablemente más altos en las poblaciones con reproducción sexual. Por ejemplo, en *Cypripedium calceolus*, Brzosko *et al.*

(2002) encontraron que la propagación vegetativa frecuente en una de las poblaciones de esta especie se refleja en una menor diversidad genética y genotípica (heterocigosis observada, $H_o = 0.111$; diversidad genotípica, $D = 0.94$ y proporción de genotipos distinguibles, $G/N = 0.15$), que en otras dos poblaciones donde la propagación vegetativa es menos frecuente ($H_o = 0.178$ y 0.166 , $D = 0.98$ y 0.97 y $G/N = 0.27$ y 0.26). Como otro ejemplo, en *Sparganium emersum*, Pollux *et al.* (2007) encuentran que la diversidad genotípica en las poblaciones predominantemente clonales de esta especie es mucho más baja ($D = 0.20$ y $G/N = 0.11$) que la diversidad genotípica de las poblaciones que presentan reproducción sexual ($D = 0.87$ y $G/N = 0.70$). Sin embargo, también se han reportado casos en donde no se han encontrado diferencias en la diversidad genética y genotípica entre las poblaciones con reproducción sexual y poblaciones predominantemente asexuales. Por ejemplo, en *Botumus umbellatus* a pesar de que las poblaciones triploides son estériles y no se producen semillas y en las poblaciones diploides se producen grandes cantidades de semillas, Eckert *et al.* (2003) no detectan diferencias en la proporción de loci polimórficos ni en la diversidad genotípica.

No obstante, el efecto de la variación en la frecuencia con que se reclutan descendientes de origen sexual y clonal sobre la diversidad genética y genotípica entre poblaciones que mantienen ambas formas de reproducción en una frecuencia relativamente alta sólo se ha evaluado en pocos estudios (*e. g.*, Piquot *et al.*, 1996; Auge *et al.*, 2001; Ceplitis, 2001). En este trabajo se compara la diversidad genética y genotípica de la cactácea clonal, *Opuntia microdays* (nopal cegador), en tres hábitats donde la especie muestra una variación en la frecuencia con que produce descendientes clonales de dos tipos y descendientes sexuales (Palleiro *et al.*, 2006). La hipótesis que se pretende probar es que si los patrones de reclutamiento clonal y sexual han sido consistentes a través del tiempo, los diferentes estimadores reflejarán una diversidad genética y genotípica más baja en los hábitats donde la producción de descendientes clonales es más frecuente. En esta especie los genets

son producidos por semillas (Piña *et al.*, 2007), mientras que los ramets de distintos tamaños pueden originarse a partir de cladodios desprendidos o por plantlets producidos por pseudoviviparidad (esto es, mediante frutos que se desprenden de la planta madre en estado inmaduro; Palleiro *et al.*, 2006).

Debido a que los propágulos vegetativos originados por pseudoviviparidad provienen de estructuras sexuales (flores, inflorescencias o frutos) que no contribuyen a la reproducción sexual, es más probable que la reducción de la diversidad genotípica y genética asociada a la clonalidad, sea detectada en las especies que se reproducen clonalmente por este mecanismo. El fenómeno de pseudoviviparidad ha sido reportado en otras especies del género *Opuntia* (Anthony, 1954; Hicks y Mauchamp, 1999; Vázquez-Delfín *et al.*, 2005) y en especies de otras familias (Arizaga y Ezcurra, 1995; Elmqvist y Cox, 1996; Tooke *et al.*, 2005). En Cactaceae la producción de ramets a partir de frutos inmaduros es posible, debido a que en esta familia los frutos están constituidos por tejido del tallo (pericarpelo) en el que están embebidas las estructuras sexuales, este tejido presenta múltiples areaolas viables que son meristemas laterales de origen caulinar (Bravo-Hollis, 1978; Anderson, 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS

Especie y sitio de estudio

O. microdasys (“nopal cegador”) es una cactácea clonal del Desierto Chihuahuense. Durante la floración (Abril a mediados de Mayo) produce varias flores con los segmentos del perianto de color amarillo brillante (2.5 a 3 cm de longitud) que son polinizadas por abejas, principalmente del género *Diadasia*. Los frutos son carnosos, globosos a ovoides (2 a 2.5 cm de longitud) y están maduros entre los meses de Junio y Agosto. Esta especie

generalmente se encuentra en suelos calcáreos arcillosos en las laderas de los montes entre los 1700 y 2100 msnm (Bravo-Hollis, 1978; Cornet, 1985; Piña *et al.*, 2007).

El estudio se llevó a cabo en tres poblaciones de *O. microdasys* dentro de la Reserva de la Biosfera de Mapimí (26° 29' a 26° 52' N y 103° 32' a 103° 58' W, a 1100 m de altitud, con 264 mm de precipitación media anual y una temperatura media de 20.8°C; Cornet, 1988). Las poblaciones están en tres hábitats que difieren en sus características bióticas y abióticas (Montaña, 1988), denominados: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH). Las poblaciones en BH y HPH son contiguas y se localizan en la ladera oeste del Cerro San Ignacio, sobre abanicos aluviales con pendientes promedio de 10° y 22.8°, respectivamente. IDH se localiza en las planicies arenosas entre las dunas localizadas a 10 km al noroeste de los otros hábitats.

Muestreo

En Junio del 2007 se colectaron 10 g de tejido fresco de un cladodio recién producido de cada uno de los ramets localizados dentro de parcelas de 20 × 50 m en cada hábitat ($n = 162$ en BH, $n = 136$ en HPH y $n = 264$ en IDH). El número de parcelas en los hábitats fue distinto (3 en BH, 4 en HPH y 5 en IDH), debido a las diferencias en la densidad de individuos reproductivos de *O. microdasys* (0.18 ind/m² en BH, 0.05 ind/m² en HPH y 0.07 ind/m² en IDH). Las muestras de tejido se colocaron en bolsas estériles de polietileno de 5 cm conteniendo 5 g de silica gel, etiquetadas con el número de la planta y el hábitat para hacer los análisis moleculares.

Análisis molecular

Para determinar el genotipo de cada ramet se utilizaron marcadores moleculares ISSR (Inter-simple Sequence Repeat). Para amplificar el ADN se utilizaron tres primers polimórficos de cinco que amplificaron (primers 842, 827 y 817; UBC SSR first 100-9, British Columbia University). La extracción del ADN se hizo con el kit de extracción FastDNA kit (Q-BIOgene) y cada reacción de amplificación se llevó a cabo en un volumen total de 15 µl de la mezcla de reacción conteniendo: buffer PCR 1 x (BIOGENICA), MgCl₂ 2.0 mM (BIOGENICA), dNTPs 0.2 mM (Invitrogen), 1U Taq (Amplificasa-BIOGENICA), 1.3-2 ng/µl de DNA de *O. microdasys* y agua purificada (SIGMA). Para las reacciones de amplificación se utilizó un termociclador PTC-100 (MJ Research, Inc.), programado con un periodo de 4 min at 94° C, seguido por 36 ciclos: 30 seg a 94° C, 45 seg a 52° C, y 2 min a 72° C; y el último ciclo con un periodo de 7 min a 72° C.

Los productos de la amplificación se separaron sobre geles de agarosa al 1.4% (buffer TBE 0.5x, 4 horas y 30 minutos), teñidos con bromuro de etidio (0.001%) y visualizados con luz UV. En los extremos de cada gel se colocó un marcador de pesos moleculares de 100 pares de bases (100 bp ladder, Invitrogen) para determinar el peso molecular de las bandas. De cada uno de los geles se obtuvieron imágenes digitales y a partir de éstas se obtuvo el peso molecular de las bandas correspondientes a cada uno de los ramets usando el programa Lab Works (Media Cybernetics, Inc. UVP, 1998). Con la información obtenida se construyó una matriz de presencia / ausencia (1 indicando presencia y 0 indicando ausencia de una banda en particular) con los loci en las columnas y los ramets en los renglones. La reproducibilidad de las bandas se probó mediante la reestracción y amplificación de las muestras de 76 ramets seleccionados aleatoriamente (93% de 129 bandas seleccionadas originalmente fueron reproducibles).

Reclutamiento sexual y clonal

Debido a que más del 90% de los descendientes clonales y sexuales que se producen en un año mueren al siguiente año (generalmente con tamaños de 1 a 2 cladodios), se hizo una estimación de la variación en la frecuencia de reclutamiento histórico clonal y sexual entre las poblaciones de *O. microdasys* (BH, HPH e IDH), utilizando una parte del total de los ramets muestreados, la cual consistió en todos los ramets con tamaños entre tres y cincuenta cladodios (“ramets pequeños”). Este intervalo de tamaño se seleccionó considerando que los descendientes establecidos de origen clonal y sexual, producidos a lo largo de varios años previos a este estudio, se encuentran en este intervalo. Con esta submuestra, se determinó el número de ramets pequeños que comparten el genotipo con al menos otro ramet (considerados como descendientes clonales), y el número de ramets pequeños con genotipos únicos (considerados como descendientes de origen sexual) en cada población. El número de ramets pequeños con genotipos compartidos y con genotipos únicos, se comparó entre las poblaciones con una prueba de Ji cuadrada y un análisis de residuales ajustados (Everitt, 1977).

Diversidad clonal y genética

Para determinar el genotipo de los ramets individuales se utilizó el programa Genotype / Genodive (Meirmans y Van Tienderen, 2004). La diversidad clonal se estimó calculando el índice de diversidad de Simpson corregido para un tamaño finito de muestra: $D = 1 - \sum \{[r_i (r_i - 1)] / [R(R-1)]\}$, donde r_i es el número de ramets del genotipo i , y R es el número de ramets muestreados (Pielou, 1969; Ayres y Ryan, 1999); la equitatividad genotípica: $E = (D_{obs} - D_{min}) / (D_{max} - D_{min})$, donde $D_{min} = \{(G-1) 2(N-G)\} / \{(N)(N-1)\}$, $D_{max} = \{(G-1)(N)\} / \{(G)(N-1)\}$, G es

el número de genets y N es el tamaño de la muestra (Fager, 1972); la proporción de genotipos distinguibles: G/N (Ellstrand y Roose, 1987), donde G es el número de genets y N el número total de ramets individuales muestreados; y el número efectivo de genotipos calculado como $G_e = 1 / \sum_{i=1}^s p_i^2$, donde s es el número de genotipos y p_i es la frecuencia del genotipo i en la muestra (Balloux *et al.*, 2003).

La diversidad genética se estimó calculando la heterocigosis esperada en el equilibrio de Hardy-Weinberg (H_e) de acuerdo a Lynch y Milligan (1994); el porcentaje de loci polimórficos con el criterio del 95% ($\%P$) utilizando el programa TFPGA (Miller, 1997); y también se calculó el índice de Shannon como $H = [- \sum_{i=1}^n p_i \cdot \log_2 p_i] / n$, donde p_i es la frecuencia de una banda determinada y n es el número de loci (Lewontin, 1972).

Los índices de diversidad clonal y de diversidad genética se calcularon para la muestra total para cada hábitat y para cada una de las parcelas de los hábitats. Los valores de las parcelas se utilizaron para hacer comparaciones entre los hábitats mediante bootstrap con el programa Data Pilot 1.03 (Adibekov, 2003; Two Pilot Inc.), y para explorar la relación entre la clonalidad y los niveles de diversidad genética mediante análisis de correlación (Rho de Spearman, ρ) con el programa JMP 7.0 (SAS Institute Inc.).

Estructura genética

Para evaluar la estructura genética se hizo un análisis de varianza molecular (AMOVA) con la varianza dividida entre hábitats, entre las parcelas en los hábitats y dentro de las parcelas con el programa GenAlex ver. 6.0 (Peakall y Smouse, 2006). El valor del estadístico Φ_{PT} (análogo a F_{st} ; Excoffier *et al.*, 1992; Peakall *et al.*, 1995) que se obtuvo con el AMOVA se utilizó

para estimar el número de migrantes por generación (Nm), siguiendo el procedimiento reportado en Crow y Aoki (1984) como:

$$Nm = \frac{(\frac{1}{\phi_{PT}} - 1)}{4\alpha}, \text{ donde } \alpha = (\frac{n}{n-1})^2 \text{ y } n \text{ es el número total de poblaciones.}$$

Para evaluar si existen patrones de aislamiento por distancia se hicieron pruebas de Mantel usando la distancia genética de Nei (1972) entre las parcelas de los tres hábitats, entre las parcelas de pares de hábitats y con las parcelas de cada hábitat. Estos análisis se hicieron con el programa GenAlex ver. 6.0 (Peakall and Smouse, 2006). Las distancias genéticas entre las parcelas se graficaron usando el método UPGMA, haciendo 5000 permutaciones de bootstrap para validar las ramas con el programa TFPGA 1.3 (Miller, 1997).

Adicionalmente, se hizo utilizó el programa STRUCTURE 2.3.1 (Pritchard *et al.*, 2000) para analizar cómo se ordenan los individuos entre las parcelas de los diferentes hábitats y entre los hábitats. Los modelos implementados en el programa STRUCTURE se basan en un método de agrupación Bayesiano. El modelo que se utilizó para hacer estos análisis fue el de grupos genéticos mezclados (admixture model; Pritchard *et al.*, 2000) con frecuencias alélicas correlacionadas (Falush *et al.*, 2003). El modelo de grupos mezclados supone que cada individuo ha heredado una fracción de su genoma de cada uno de los K grupos genéticos, mientras que la opción de frecuencias alélicas correlacionadas supone que cada uno de los K grupos genéticos representados en una muestra se derivaron de manera independiente de las frecuencias alélicas de una población ancestral hipotética, a una tasa que es definida por los valores de Fst correspondientes a cada grupo genético. Este modelo se empleó con las características predefinidas en el programa, permitiendo que el valor del parámetro de Dirichlet (α) fuera inferido de los datos. El valor de α permite evaluar el nivel de mezcla de las grupos genéticos, indicando que muchos individuos de la muestra pertenecen a

un grupo o a otro cuando $\alpha < 1$, o que muchos individuos están mezclados cuando $\alpha > 1$ (Pritchard *et al.*, 2000).

Para determinar el valor de K más probable se utilizó el método de Evanno *et al.* (2005), para lo cual se hicieron 20 simulaciones de cada valor de K , en un intervalo de $K = 1$ hasta $K = 13$, y en cada simulación se hicieron 30000 iteraciones en la fase de quemado (burnin) y 30000 iteraciones en la fase posterior al quemado (post-burnin). El número de iteraciones se seleccionó con un análisis inicial probando 30000, 50000 y 100000 iteraciones para cada fase (quemado y posterior al quemado), con dos simulaciones para cada valor de K en un intervalo de $K = 1$ a $K = 13$. La selección se basó en la observación de la estabilización del valor de los parámetros: 1) α o parámetro de Dirichlet, 2) la probabilidad posterior de estructuración (F_{st}), 3) el logaritmo natural de la verosimilitud y 4) el valor del logaritmo natural de la probabilidad posterior de K ($\ln P(D)$) (Apéndice B). Para describir la organización de los individuos entre las poblaciones de *O. microdasys* y entre sus parcelas, se seleccionó la simulación con el valor más alto de $\ln P(D)$, de las 20 simulaciones correspondientes al valor de K más probable.

RESULTADOS

Reclutamiento sexual y clonal

Los ramets pequeños (con tamaños entre 3 y 50 cladodios) representan aproximadamente el 45% del total de los ramets muestreados y tienen un tamaño promedio (\pm D.E.) de 15 ± 13 cladodios. El tamaño promedio (\pm D.E.) de los ramets con más de cincuenta cladodios fue 217 ± 151 cladodios. En la población de la ladera-pie de monte (HPH) el 90% de los ramets pequeños tuvieron genotipos únicos, indicando que la mayoría de los descendientes que se

han establecido en este hábitat son de origen sexual. En contraste, en las poblaciones de la bajada (BH) y de las interdunas (IDH) el porcentaje de ramets pequeños con genotipos únicos fue del 54% y 62%, respectivamente, indicando que hay una contribución de la reproducción sexual y clonal al reclutamiento observado (Cuadro 1).

Diversidad clonal y genética

O. microdasys presenta niveles altos de diversidad clonal (valores para la muestra completa: $D = 0.997$, $E = 0.995$, $G/N = 0.74$ y $G_e/G = 0.458$), y niveles intermedios a bajos de diversidad genética ($H_e = 0.132$, $\%P = 42.5$, $H = 0.219$). La población donde el reclutamiento sexual es más frecuente (HPH) presentó la diversidad clonal más alta (Cuadro 2), con la mayoría de los genets representados por una sola copia (media \pm DE de parcelas: $D = 0.994 \pm .006$, $E = 0.996 \pm 0.005$, $G/N = 0.942 \pm 0.044$, $G_e/G = 0.926 \pm 0.064$). En contraste, en las poblaciones donde el establecimiento de descendientes clonales es relativamente más importante (BH e IDH), la diversidad clonal es menor ($D = 0.963 \pm 0.039$, $E = 0.950 \pm 0.058$, $G/N = 0.665 \pm 0.226$, $G_e/G = 0.667 \pm 0.226$ y $D = 0.952 \pm 0.032$, $E = 0.942 \pm 0.047$, $G/N = 0.661 \pm 0.132$, $G_e/G = 0.620 \pm 0.240$; respectivamente).

La comparación de la diversidad genética entre las poblaciones de los tres hábitats muestra un patrón similar al de la diversidad clonal (Cuadro 2), siendo más altos los valores de los diferentes índices en HPH (media \pm DE de parcelas: $H_e = 0.114 \pm 0.005$; $\%P = 35 \pm 6.3$, $H = 0.166 \pm 0.012$) que en IDH ($H_e = 0.078 \pm 0.037$; $\%P = 24.3 \pm 13.51$, $H = 0.121 \pm 0.059$) y BH ($H_e = 0.106 \pm 0.043$, $\%P = 34.1 \pm 9.5$, $H = 0.158 \pm 0.052$), sin embargo, las diferencias entre los índices de diversidad genética en HPH e IDH no fueron significativas. Cuando se remueve el efecto de la clonalidad (estimaciones de los índices de diversidad

clonal y genética incluyendo los genotipos únicos y sólo una copia de los genets clonales) no se detectan diferencias entre las tres poblaciones.

En general, los índices de diversidad clonal (D , E , G/N y G_e/G) se correlacionaron positivamente entre sí ($n = 12$, valores de $\rho > 0.853$, valores de $P < 0.0004$), del mismo modo que los índices de diversidad genética (H_e , $\%P$ y H ; $n = 12$, valores de $\rho > 0.798$, valores de $P < 0.0019$). No obstante, entre los dos grupos de índices sólo se detectó una correlación positiva entre G/N y H_e ($n = 12$, $\rho = 0.629$, $P = 0.0283$; Apéndice A).

Estructura genética

El análisis de varianza molecular indica que el porcentaje de diferenciación explicado por el nivel población (BH, HPH e IDH) es bajo, con la mayor parte de la variación dentro de las parcelas, seguida por la variación entre las parcelas (Cuadro 3). El análisis con pares de poblaciones muestra que la diferenciación es menor entre las poblaciones contiguas (BH y HPH), seguida por la diferenciación entre las poblaciones BH e IDH y por la diferenciación entre las poblaciones HPH e IDH. Dentro de cada población, la diferenciación entre las parcelas es menor en HPH que en IDH y BH (Cuadro 3).

La distancia genética es menor entre las poblaciones contiguas (BH y HPH) que entre estas y la población más distante (IDH, Figura 1A). Sin embargo, cuando se hace el análisis con las parcelas se observan dos grupos principales de parcelas que pertenecen a poblaciones distintas, uno conformado principalmente por las parcelas de IDH y de BH, y otro conformado principalmente por las parcelas de HPH (Figura 1B). Las parcelas de las tres poblaciones en conjunto muestran un patrón de aislamiento por distancia ($n = 12$, $r = 0.31$, $P = 0.005$), del mismo modo que las parcelas de los pares de poblaciones BH-HPH ($n = 7$, $r =$

0.39, $P = 0.049$) y HPH-IDH ($n = 9$, $r = 0.32$, $P = 0.031$). Las parcelas del par de poblaciones BH-IDH y las parcelas dentro de cada población no presentaron aislamiento por distancia.

El análisis con el método de Evanno *et al.* (2005) sugiere que la muestra total de ramets de *O. microdasys* se agrupa con mayor probabilidad en dos grupos genéticos (Apéndice B) que están poco mezclados ($\alpha = 0.16$). Considerando los supuestos del modelo de grupos mezclados con frecuencias alélicas correlacionadas, la diferenciación del grupo genético 1 respecto a la población ancestral hipotética es mayor ($F_{st1} = 0.55$) que la diferenciación entre el grupo genético 2 y la población ancestral hipotética ($F_{st2} = 0.12$). La heterocigosis esperada de los dos grupos genéticos, estimada con el método bayesiano fue de 0.065 para el grupo 1 y de 0.191 para el grupo 2. Las poblaciones de *O. microdasys*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH), así como las parcelas dentro de cada una de estas poblaciones, están representadas de manera desigual en los dos grupos genéticos. Las poblaciones BH e IDH muestran una proporción de pertenencia (promedio de la proporción del genotipo de un individuo que corresponde a cada uno de los K grupos genéticos) más alta al grupo genético 1, mientras que HPH presenta una mayor proporción de pertenencia al grupo genético 2. Sin embargo, el patrón que muestra la proporción de pertenencia en las tres poblaciones no es constante en sus respectivas parcelas (Figura 2, cuadro 4), distinguiéndose dos grupos principales que son coincidentes con los grupos mostrados por el análisis UPGMA hecho con las parcelas.

DISCUSIÓN

En plantas clonales hay varios factores que pueden contribuir a mantener altos niveles de diversidad clonal y genética, aún cuando el reclutamiento sexual es poco frecuente. Algunas propuestas son que las poblaciones fueron fundadas por varios propágulos sexuales o que el

reclutamiento sexual fue más frecuente en el pasado (Ellstrand y Roose, 1987; Widen *et al.*, 1994), los genotipos heterocigos son favorecidos selectivamente (Widen *et al.*, 1994), los riesgos de mortalidad del genet pueden reducirse con la independencia física y fisiológica de sus ramets (Pan and Price, 2002), la persistencia de los genotipos a través de la supervivencia de algunos ramets y la integración esporádica de algunos genotipos en especies muy longevas, una selección diversificante generada por la heterogeneidad ambiental (Widen *et al.*, 1994) y el mantenimiento de altos niveles de entrecruza si los ramets son dispersados hacia vecindarios genéticamente variables (Charpentier, 2002).

Por otro lado, la clonalidad puede reducir la diversidad genética de las poblaciones si la variación intrapoblacional en la producción de descendientes sexuales y clonales lleva al predominio reproductivo de sólo algunos genets, o si los genets son desplazados competitivamente por otros genets, debido a una tasa diferencial en la producción de ramets (Caswell, 1985; Pornon *et al.*, 2000; Ceplitis, 2001). La predominancia reproductiva de algunos genotipos más abundantes puede modificar las frecuencias alélicas, incrementar la endogamia, reducir el tamaño efectivo de la población (N_e) e incrementar el efecto de la deriva génica (Chung *et al.*, 2004; Campbell y Husband, 2005). Adicionalmente, la clonalidad puede reducir las tasas de entrecruza y limitar la dispersión del polen si los ramets del mismo genet son dispersados a poca distancia (Handel, 1985; Gabrielsen y Brochmann, 1998; Charpentier, 2002), y con la reducción de las tasas de entrecruza y de la dispersión de polen puede generarse diferenciación genética entre sitios dentro de las poblaciones (Eguiarte *et al.*, 1993).

En *O. microdasys* la diversidad clonal es alta ($D = 0.997$, $G/N = 0.74$ y $E = 0.995$) comparada con los valores promedio de diversidad clonal reportados por Ellstrand y Roose (1987) para 21 especies clonales ($D = 0.62$, $G/N = 0.16$ y $E = 0.68$), por Widén *et al.* (1994) para 45 especies clonales ($D = 0.62$, $G/N = 0.27$) y por Mandujano (2007) para 32 especies

clonales ($G/N = 0.29$), y similares a los valores reportados en otras especies de cactáceas clonales como *Lophocereus schottii* ($D = 0.87$, $G/N = 0.43$; Parker y Hamrick, 1992), *Stenocereus eruca* ($D = 0.99$, $G/N = 0.83$ y $E = 0.78$; Clark-Tapia *et al.*, 2005), *Opuntia rastrera* ($D = 0.97$, $G/N = 0.98$ y $E = 1.00$; Plasencia-López, 2008) y *Ferocactus robustus* ($D = 0.98$, $G/N = 0.43$ y $E = 0.95$; Carrillo-Angeles *et al.*, 2011a). Considerando a las poblaciones de *O. microdasys* por separado, sus niveles de diversidad clonal también son altos en comparación con los valores reportados para las poblaciones de 44 especies clonales (Carrillo-Angeles y Mandujano, 2011). En *O. microdasys* los niveles altos de diversidad clonal pueden ser explicados por un sistema de entrecruza obligada, asociado a la presencia de sistemas de autoincompatibilidad (Piña *et al.*, 2007), y a una contribución importante del reclutamiento sexual, como lo sugiere el hecho de que más del 50% de los ramets pequeños en las tres poblaciones (BH, HPH e IDH) tengan genotipos únicos.

En contraste con los niveles de diversidad clonal, la diversidad genética en *O. microdasys* es baja ($H_e = 0.132$, $\%P = 42.5$ y $H = 0.219$), respecto a los niveles reportados en otras especies clonales en las que se ha evaluado la diversidad genética con marcadores moleculares dominantes como *Vaccinium vitis-idaea* ($H = 0.548$; Persson y Gustavsson, 2001), *Geum reptans* ($H_e = 0.22$, $\%P = 71.33$ y $H = 0.33$; Pluess y Stöcklin, 2004), *Paris quadrifolia* ($H_e = 0.41$ y $H = 0.59$; Jogaité *et al.*, 2006) y *Stipa purpurea* ($H_e = 0.22$, $\%P = 96.7$ y $H = 0.35$; Liu *et al.*, 2009). La diversidad genética de *O. microdasys* también es menor que la diversidad genética promedio reportada en Nybom (2004) para varios estudios en plantas donde se utilizan marcadores dominantes, y estimadores como la heterocigosis esperada en Hardy-Weimberg (H_e) o la diversidad genética de Nei (h), agrupados en el parámetro H_{pop} por estos autores: RAPD ($H_{pop} = 0.22$), AFLP ($H_{pop} = 0.23$) e ISSR ($H_{pop} = 0.22$), y menor que la diversidad genética promedio estimada a partir de isoenzimas reportada por Hamrick y Godt (1989) para las especies con reproducción sexual y asexual (H_T

= 0.305 y % P = 43.8). Por otro lado, algunos estudios donde se emplean marcadores dominantes han revelado niveles de diversidad genética similares a los encontrados en *O. microdasys* en especies clonales autoincompatibles como *Humboldtia brunonis* ($h = 0.119$, % $P = 52.63$ y $H = 0.189$), que tiene una dispersión limitada de polen, semillas y propágulos vegetativos (Dev *et al.*, 2010).

Los niveles bajos de diversidad genética encontrados en *O. microdasys* son inesperados, considerando que la especie es autoincompatible y que parece tener un reclutamiento sexual importante. Una explicación posible que se deriva del análisis Bayesiano, es que aún cuando los descendientes de origen sexual son producidos por xenogamia obligada, la variabilidad genética involucrada en el proceso reproductivo puede ser limitada, debido a la predominancia de genotipos con heterocigosidad reducida (genotipos en el grupo genético 1) y a la presencia de individuos emparentados (Carrillo-Angeles *et al.* 2011b) en varios de los parches de *O. microdasys* (parcelas), principalmente en las poblaciones de la bajada (BH) y de las interdunas (IDH). Las cruas entre individuos emparentados en esta especie pueden ser muy frecuentes, debido al comportamiento de forrajeo de los polinizadores (abejas del género *Diadasia*) que tienden a mover grandes cantidades de polen a distancias menores de 30 metros (Piña *et al.*, 2007; Cabrera-Manrique, datos no publicados), y al establecimiento frecuente de los descendientes de origen clonal y sexual cerca de las plantas madre (Palleiro *et al.*, 2006; Carrillo-Angeles *et al.* 2011b).

El balance entre la reproducción sexual y la reproducción clonal puede afectar la diversidad genética y genotípica de las poblaciones (Dorken y Eckert, 2001), y este balance puede cambiar en respuesta a la variación de las condiciones ambientales (Eckert *et al.*, 2003; Honnay y Bossuyt, 2005). Por ejemplo, en *Uvularia perfoliata* la producción de semillas y el reclutamiento de los genets sólo se lleva a cabo en áreas donde hay suficiente luz disponible cuando se abren huecos en el dosel, mientras que en las áreas sombreadas debajo del dosel, la

especie se mantiene por reproducción clonal, por lo que los parches en condiciones sombreadas presentan bajos niveles de diversidad genotípica (Kudoh *et al.*, 1999). En *Decodon verticillatus* la diversidad genética y genotípica de algunas poblaciones es baja, debido a que la fertilidad y la capacidad para propagarse clonalmente son afectadas por la variación latitudinal de la temperatura y por factores genéticos como la depresión endogámica (Dorken y Eckert, 2001). Como otro ejemplo, en *Sparganium emersum* la reproducción sexual es impedida por corrientes fuertes en los ríos donde habita la especie, por lo que en las áreas con estas condiciones la especie se mantiene principalmente por propagación clonal, mostrando niveles bajos de diversidad genotípica (Pollux *et al.*, 2007). El efecto de la variación en las condiciones ambientales sobre la producción de descendientes de origen clonal y sexual también se ha reportado en el género *Opuntia*. En *O. rastrera* la protección que reciben las plántulas contra la radiación y la depredación en un pastizal, y la supervivencia alta de los cladodios desprendidos en un hábitat contiguo sin cobertura de pastos, son responsables de las diferencias en la producción de los distintos tipos de descendientes (Mandujano *et al.*, 1998), lo cual se ve reflejado en una menor diversidad clonal en el hábitat sin cobertura de pastos que en el pastizal (Plasencia-López, 2008).

En *O. microdasys* los factores ambientales que influyen en la variación con que se reclutan descendientes de origen clonal y sexual en las poblaciones de la bajada (BH), la ladera-pie de monte (HPH) y de las interdunas (IDH) pueden estar asociados con las diferencias en la pendiente, que influyen en la estabilidad del sustrato y en las probabilidades de establecimiento de los distintos tipos de descendientes (Carrillo-Angeles *et al.*, 2011b). No obstante, la distribución que muestra la variación genética entre las poblaciones y entre las parcelas, hace posible que la producción de descendientes clonales a través de plantlets (frutos abortados) se vea favorecida sobre la producción de descendientes de origen sexual,

probablemente como consecuencia de la endogamia biparental y de una frecuencia más alta de cruzas incompatibles.

El argumento anterior tiene implicaciones importantes en el planteamiento principal que se hace en este estudio acerca de que la clonalidad puede reducir la diversidad genética en las poblaciones. La relación que muestra la proporción de genotipos distinguibles con la heterocigosis esperada en Hardy-Weinberg sugiere que el incremento en la clonalidad en los parches de *O. microdasys* (parcelas) promueve la disminución de la diversidad genética en los mismos. Sin embargo, la distribución de la variación genética en las parcelas y en las poblaciones da lugar a diferentes explicaciones para esta relación. Una posibilidad es que la clonalidad a través de plantlets ha sido favorecida por una base genética local inicialmente poco diversa, y que la producción de plantlets ha sido un mecanismo que retroalimenta el mantenimiento de niveles bajos de diversidad genética, promoviendo las cruzas entre genotipos poco variables y entre ramets del mismo genet. Otra posibilidad es que la base genética local era inicialmente más diversa, y que los genets menos heterócigos se han mantenido a través del tiempo mediante el reemplazo de sus ramets, predominando en varios de los parches de *O. microdasys* (parcelas). Es importante resaltar que en las dos explicaciones anteriores sobre la relación que muestra la clonalidad y la diversidad genética, se le confiere una condición adaptativa a la clonalidad a través de plantlets, asociada con los genotipos menos heterócigos. Esta posibilidad se origina de la evidencia presentada en un estudio previo (Palleiro *et al.*, 2006) en el que se muestra que la capacidad de los plantlets para dar origen a descendientes clonales es fuertemente influenciado por la planta madre, y que hay un efecto selectivo hacia el tamaño de los plantlets, así como por la relación que se encontró en el presente estudio entre la proporción de genotipos distinguibles y la proporción de pertenencia al grupo genético con la heterocigosis más baja (Figura 3).

En plantas, la dispersión del polen y de las semillas son determinantes en el flujo génico entre las poblaciones y pueden generar una estructura genética considerable si el intercambio de polen es reducido, si la polinización es localizada y/o si la dispersión de semillas es restringida. (Ayres y Ryan, 1999; Heuertz *et al.*, 2003). La variación en la producción de descendientes de origen clonal y sexual, como una consecuencia del efecto de los factores genéticos y ecológicos que limita alguna de las forma de reproducción, también pueden originar estructura genética (Hamrick y Godt, 1990, Hu y Ennos, 1999, Eckert *et al.*, 2003), aún cuando la dispersión de polen no sea restringida. En *O. microdasys*, el porcentaje bajo de la variación que se presenta entre las poblaciones, en comparación con la variación al interior de las poblaciones, puede ser explicado por la distribución de los genotipos representados en los dos grupos genéticos. Sin embargo, los factores que han influido en esta distribución se desconocen, y sólo es posible hacer algunas especulaciones que es necesario poner a prueba. Considerando los supuestos del modelo de poblaciones mezcladas con frecuencias alélicas correlacionadas, en promedio, el 60% del genotipo de los individuos de HPH corresponde al grupo genético que tiene la heterocigosis más alta, el cual a su vez muestra un valor de diferenciación más bajo respecto a la población ancestral hipotética. En contraste, los genotipos de los individuos de las poblaciones BH e IDH tienen en promedio, una pertenencia mayor al 60% al grupo más diferenciado respecto a la población ancestral hipotética (grupo genético 1), el cual a su vez representa una submuestra de la variación representada en el grupo genético 2. Una posibilidad sugerida por estos resultados es que las poblaciones de la bajada (BH) y de las interdunas (IDH) se fundaron a partir de los genotipos de la población de la ladera-pie de monte HPH. Otra posibilidad es que IDH, que es la población más alejada y que presenta la menor proporción de pertenencia al grupo genético 2, se haya originado por la contribución de HPH y BH. En cualquiera de los dos casos, la distribución de *O. microdasys* en parches discretos, probablemente determinada por la

heterogeneidad ambiental, y una dispersión limitada de polen y de propágulos vegetativos pudieron generar la estructura observada entre los parches. Respecto al flujo génico a través de semillas, se desconoce la dinámica de la dispersión, pero debido a que los frutos son carnosos y son ricos en azúcares (Pimienta-Barrios, 1994) es probable que las semillas sean dispersadas a largas distancias, al menos ocasionalmente, por distintos animales, principalmente mamíferos y aves, como se ha observado en otras especies de *Opuntia* en la zona de estudio (Mandujano *et al.*, 1997; Montiel y Montaña, 2000)

Por otro lado, la alta diferenciación entre las parcelas puede ser explicada por el efecto de las tasas diferenciales de establecimiento de los descendientes que se originan en una parcela determinada y de los descendientes que provienen de las parcelas cercanas, llevando a un intercambio reducido de individuos entre las mismas, esto último, probablemente influenciado también por procesos de adaptación local. Adicionalmente, debido a que la dispersión de grandes cantidades de polen parece estar restringida al interior de las parcelas, el polen puede contribuir de manera importante a la estructuración genética, favoreciendo las cruces entre individuos cercanos e incrementando la endogamia biparental.

La predominancia de alguno de los dos grupos genéticos en las parcelas, el bajo intercambio de individuos entre distintas parcelas y la dispersión limitada de polen pueden explicar el nivel de diferenciación considerablemente alto ($\Phi_{PT} = 0.28$) que se encontró en *O. microdays*, considerando que la distancia máxima entre las poblaciones y entre las parcelas es de aproximadamente 10 km. De acuerdo con Domínguez *et al.* (2005) este nivel de diferenciación es el que se esperaría a una distancia geográfica de aproximadamente 2000 km para poblaciones naturales de plantas con niveles reducidos de disturbio, en las que se ha evaluado la estructura genética utilizando marcadores dominantes RAPD, y es ligeramente menor que los valores promedio de diferenciación reportados por Nybom *et al.* (2004) para varios estudios donde se utilizan marcadores dominantes RAPD (promedio \pm DE; $\Phi_{ST} = 0.34$

± 0.24 y distancia geográfica = 956 ± 1880), AFLP ($\Phi_{ST} = 0.35 \pm 0.18$ y distancia geográfica = 1547 ± 2664) e ISSR ($\Phi_{ST} = 0.35 \pm 0.25$ y distancia geográfica = 1315 ± 2335). El nivel de diferenciación encontrado en *O. microdasys* también es mayor que el reportado para otras especies clonales autoincompatibles analizadas con marcadores dominantes como *Geum reptans* ($G_{ST} = 0.11$ y distancia geográfica entre 2.8 y 50 km; Pluess y Stöcklin, 2004), y similar al reportado en otras especies autoincompatibles que tienen una dispersión limitada de polen y de semillas, en las que sus poblaciones estudiadas se encuentran en un intervalo de distancia relativamente pequeño, por ejemplo, *Wyethia reticulata* ($F_{ST} = 0.21$ a 0.36 y distancia geográfica entre 0.5 y 14 km; Ayres y Ryan, 1999), *Stenocereus eruca* ($\Phi_{ST} = 0.337$ y distancia geográfica entre 30 y 140 km; Clark-Tapia *et al.*, 2005) y *Erythroxylum havanense* ($F_{ST} = 0.09$, $\Phi_{ST} = 0.008$ a 0.38 y distancia geográfica entre 1.5 y 19.7 km; Domínguez *et al.*, 2005).

El patrón de diferenciación caracterizado por una variación alta dentro de las poblaciones y una menor variación entre las poblaciones es común en especies no clonales de estadios sucesionales tardíos, con ciclos de vida largos, con sistemas de apareamiento mixtos y de entrecruza, o con una capacidad de dispersión de semillas alta (Hamrick y Godt, 1996; Nybom, 2004), pero también se ha encontrado en varias especies clonales como *Ranunculus reptans* (Fischer *et al.*, 2000), *Thalassia testudinum* (Waycott y Barnes, 2001), *Pogonatum dentatum* (Hassel *et al.*, 2005), *Eichhornia crassipes* (Ren *et al.*, 2005) and *Leymus chinensis* (Wang *et al.*, 2005). Algunas explicaciones alternativas a los niveles bajos de diferenciación entre las poblaciones que en la actualidad presentan un flujo génico reducido, son que las tasas de migración fueron altas en el pasado, que el tiempo generacional (tiempo en que se lleva a cabo la selección aleatoria de los gametos o de los propágulos) es extremadamente largo y que el tamaño efectivo de la población es muy grande (Stenøien y Sástad, 1999, Hassel *et al.*, 2005).

En resumen, los niveles de diversidad genotípica que muestra *O. microdasys* son congruentes con el reclutamiento sexual observado en una especie autoincompatible. No obstante, dadas estas características, la baja diversidad genética y el nivel de estructuración que muestran sus poblaciones son inesperados, lo cual probablemente se debe a que la variabilidad genética involucrada en el proceso reproductivo es relativamente limitada, debido a la predominancia de genotipos con una heterocigosidad reducida en varias de las parcelas. Adicionalmente, un flujo génico restringido entre las parcelas y entre las poblaciones, asociado a una dispersión limitada de polen, de propágulos vegetativos y/o a procesos de adaptación local pueden contribuir a mantener bajos niveles de diversidad genética y una estructuración genética considerable. En *O. microdasys* la clonalidad parece reducir la diversidad genética a una escala local, sin embargo, la predominancia de genotipos poco variables en las poblaciones y en las parcelas más clonales hace posible que la reproducción clonal a través de plantlets en *O. microdasys* haya sido favorecida por una base genética local inicialmente poco diversa, y así, la clonalidad, más que un proceso causal, puede ser un proceso que retroalimenta el mantenimiento de niveles bajos de diversidad genética.

REFERENCIAS

- Anderson, E. F. (2001) The cactus family. Timber Press. Portland, Oregon. 776 pp.
- Anthony, M. (1954) Ecology of the Opuntiae in the big bend region of Texas. *Ecology*, 35, 334–347.
- Arizaga, S. y Ezcurra E. (1995) Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macroacantha* flowering stalks. *Oecologia*, 101, 329-334.
- Aspinwall, N. y Christian, T. (1992) Clonal structure, genotypic diversity, and seed production in populations of *Filipendula rubra* (Rosaceae) from the northcentral United States. *American Journal of Botany*, 79, 294-299.

- Ayres, D. R. y Ryan F. J. (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.
- Balloux, F., Lehmann L. y de Meeûs T. (2003) The population genetics of clonal and partially clonal diploids. *Genetics*, 164, 1635-1644.
- Beatty, G. E., McEvoy P. M., Sweeney O. y Provan J. (2008) Range-edge effects promote clonal growth in peripheral populations of the one-side wintergreen *Orthilia secunda*. *Diversity and Distributions*, 3, 546-555.
- Bravo-Hollis, H. (1978) Las cactáceas de México. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Brzosko, E., Bróblewska A. y Ratkiewicz M. (2002) Spatial genetic structure and clonal diversity of island populations of lady's slipper (*Cyperidium calceolus*) from the Biebrza National Park (northeast Poland). *Molecular Ecology*, 11, 2499-2509.
- Bushakra, J. M., Hodges S. A., Cooper J. B. y Kaska. D. D. (1999) The extent of clonality and genetic diversity in the Santa Cruz Island ironwood, *Lyonothamnus floribundus*. *Molecular Ecology*, 8, 471-475.
- Campbell, L. G. y Husband B. C. (2005) Impact of clonal growth on effective population size in *Hymenoxys herbacea* (Asteraceae). *Heredity*, 94, 526-532.
- Carrillo-Angeles, I. G., Mandujano M. C. y Golubov J. (2011a). Influences of the genetic neighborhood on ramet reproductive success in a clonal desert cactus. *Population Ecology*, 53, 449-458.
- Carrillo-Angeles, I.G., Golubov J., Milligan B. G. y Mandujano M. C. (2011b) Spatial distribution pattern of a clonal species: effects of differential production of clonal and sexual offspring. *Evolutionary Ecology*, 25, 1357-1383.
- Carrillo-Angeles, I. G. y Mandujano M. C. (2011) Patrones de distribución espacial en plantas clonales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 89, 1-18.
- Caswell, H. (1985) The evolutionary demography of clonal reproduction. In Jackson, J. B. C., L. W. Buss y R. E. Cook (Eds.), *Population Biology and Evolution of Clonal Organisms*. Yale University Press. New Haven and London
- Ceplitis, A. (2001) The importance of sexual and asexual reproduction in the recent evolution of *Allium vineale*. *Evolution*, 55, 1581-1591.
- Charpentier, A. (2002) Consequences of clonal growth for plant mating. *Evolutionary Ecology*, 15, 521-530.

- Chung, M. Y., Nason J. D. y Chung M. G. (2004) Implications of clonal structure effective population size and genetic drift in a rare terrestrial orchid, *Cremastra appendiculata*. *Conservation Biology*, 18, 1515-1524.
- Clark-Tapia, R., Alfonso-Corrado C., Eguiarte L. E. y Molina-Freaner F. (2005) Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca*, a narrow endemic cactus of the Sonoran Desert. *American Journal of Botany*, 92, 272-278.
- Cornet, A. (1988) Principales características climáticas. In C. Montaña (ed.), Estudio integrado de los recursos, vegetación, suelo y agua en la Reserva de la Biosfera de Mapimí. I. Ambiente natural y humano, 45-76. Instituto de Ecología A. C., Xalapa Veracruz, México.
- Crow, F. J. y Aoki K. (1984) Group selection for a polygenic behavioral trait: Estimating the degree of population subdivision. *PNAS*, 81, 6073-6077.
- Dev, S. A., Shenoy M. y Borges R. M. (2010) Genetic and clonal diversity of the endemic ant-plant *Humboldtia brunonis* (Fabaceae) in the Western Ghats of India. *Journal of Biosciences*, 35, 267-279.
- Domínguez, C. A., Abarca C. A., Eguiarte L. E. y Molina-Freaner F. (2005) Local genetic differentiation among populations of the mass-flowering tropical shrub *Erythroxylum havanense* (Erythroxylaceae). *New Phytologist*, 166, 663-672.
- Dorken, E. y Eckert, C. G. (2001) Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Journal of Ecology*, 89, 339-350.
- Eckert, C. G. y Barret S. C. H. (1993) Clonal reproduction and patterns of genotypic diversity in *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *American Journal of Botany*, 80, 1175-1182.
- Eckert, C. G. (1999) Clonal plant research: proliferation, integration, but not much evolution. *American Journal of Botany*, 86, 1649-1654.
- Eckert, C. G. (2002) The loss of sex in clonal plants. *Evolutionary Ecology*, 15, 501-520.
- Eckert, C. G., Lui K., Bronson K., Corradini P. y Bruneau A. (2003) Population genetic consequences of extreme variation in sexual and clonal reproduction in an aquatic plant. *Molecular Ecology*, 12, 331-344.
- Eguiarte, L. E., Búrquez A., Rodríguez J., Martínez-Ramos M., Sarukhán J. y Piñero D. (1993) Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution*, 47, 75-87.
- Ellstrand, N. C. y Roose M. L. (1987) Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany*, 74, 123-131.

- Elmqvist, T. y Cox PA (1996) The evolution of vivipary in flowering plants. *Oikos*, 77, 3-9.
- Eriksson, O. (1992) Evolution of seed dispersal and recruitment in clonal plants. *Oikos*, 63, 439-448.
- Eriksson, O. y Bremer.B. (1993) Genet dynamics of the clonal plant *Rubus saxatilis*. *Journal of Ecology*, 81, 533-542.
- Esselman, E. J., Jianqiang, L., Crawford, D. J., Winduss, J. L. y Wolfe, A. D. (1999) Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp *insperata* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and intersimple sequence repeat (ISSR) markers. *Molecular Ecology*, 8, 443-451.
- Evanno, G., Regnaut S. y Goudet J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611-2620.
- Everitt, B. S. (1977) The analysis of contingency tables. Chapman & Hall, London.
- Excoffier, L., Smouse P. E. y Quattro J. M. (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479-491.
- Fager, E. W. (1972) Diversity: a sampling study. *American Naturalist*, 106, 293-310.
- Falush, D., Stephens M. y Pritchard J. K. (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164, 1567-1587.
- Fischer, M, Husi R., Prati D., Peintinger M., van Kleunen M. y Schmid B. (2000) RAPD variation among and within small and large populations of the rare clonal plant *Ranunculus reptans* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany*, 87, 1128-1137.
- Gabrielsen, T. M. y Brochmann C. (1998) Sex after all: high levels of diversity detected in the arctic clonal plant *Saxifraga cernua* usin RAPD markers. *Molecular Ecology*, 7, 1701-1708.
- Hamrick, J.L. y Godt M. J. (1989) Allozyme diversity in plant species. En A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler and B.S. Weir (eds) *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*. Sinauer, Sunderland, MA, USA.
- Hamrick, J. L. y Godt M. J. W. (1996) Effects of life history traits on the genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B*, 351, 1291–1298.
- Handel, S. N. (1985) The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding system. *The American Naturalist*, 125, 367-384.

- Hassel, K, Såstad S. M., Gunnarsson U. y Söderström L. (2005) Genetic variation and structure in the expanding moss *Pogonatum dentatum* (Polytrichaceae) in its area of origin and in a recently colonized area. *American Journal of Botany*, 92, 1684-1690.
- Harper, J. L. (1977) *Population Biology of Plants*. Academic Press.London.
- Heuertz, M, Vekemans X., Hausman J.-F., Paladas M. y Hardy J. (2003) Estimating seed vs. pollen dispersal from spatial genetic structure in the common ash. *Molecular Ecology*, 12, 2483-2495.
- Hicks, D. y Mauchamp A (1999) Population structure and growth patterns of *Opuntia echios* var. *gigantea* along an elevation gradient in the Galápagos Islands. *Biotropica* 32: 235–243
- Honnay, O. y Bossuyt B. (2005) Prolonged clonal growth: escape route or route to extinction?. *OIKOS*, 108, 427-432.
- Hu, X.-S. y Ennos R. A. (1999) Impacts of seed and pollen flow on population genetic structure for plant genomes with three contrasting modes of inheritance. *Genetics*, 152, 441-450.
- Hughes, J. y Richards A. J. (1988) The genetic structure of populations of sexual and asexual *Taraxacum* (dandelions). *Heredity*, 60, 161-171.
- Jogaitė, V., Lazutka J. R., Stapulionytė A., Naujalis J. R., Odland A. y Bjerketvedt D. K. (2006) Analysis of DNA polymorphism in wild populations of herb-Paris (*Paris quadrifolia* L., Trilliaceae) from Lithuania and Norway. *BIOLOGIJA*, 1, 18-23.
- Kudoh, H., Shibaike H., Takasu H., Whigham D. F. y Kawano S. (1999) Genet structure and determinants of clonal structure in a temperate deciduous woodland herb, *Uvularia perfoliata*. *Journal of Ecology*, 87, 244-257.
- Lewontin, R. (1972) The apportionment of human diversity. *Evolutionary Biology*, 6, 381-398.
- Liu, W. S., Ding M., Song Z. P. y Wei W. (2009) Genetic diversity pattern of *Stipa purpurea* populations in the hinterland of Qinghai-Tibet Plateau. *Annals of Applied Biology*, 154, 57-65.
- Lynch, M. y Milligan, B. G. (1994) Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 2, 91-99.
- Mandujano, M.C., Golubov J. y Montaña C. (1997) Dormancy and endozoochorous dispersal of *Opuntia rastrera* seeds in the southern Chihuahuan Desert. *Journal of Arid Environments*, 36, 259-266.

- Mandujano, M. C., Montaña C., Méndez I. y Golubov J. (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. (2007) La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones. En: *Biología Molecular: Perspectivas y aplicaciones*. Editores. Eguiarte, L. & V. Souza. UNAM. INE-UNAM, México.
- Meirmans, P. G. y van Tienderen P. H. (2004) GENOTYPE and GENODIVE: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, 4, 792-794.
- Miller, M.P. (1997) Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3. A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by author.
- Montaña, C. (1988) Estudio integrado de los recursos vegetación, suelo y agua en la Reserva de la Biosfera de Mapimí. Instituto de Ecología, A.C. Mexico City, Mexico.
- Montiel, S. y Montaña C. (2000) Vertebrate frugivory and seed dispersal of a Chihuahuan Desert cactus. *Plant Ecology*, 146, 221-229.
- Nybom, H. (2004) Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology*, 13, 1143-1155.
- Palleiro, N., Mandujano M. C. y Golubov J. (2006) Aborted fruits of *Opuntia microdasys* (Cactaceae): insurance against reproductive failure. *American Journal of Botany*, 93, 505-511.
- Pan, J. J. y Price J. S. (2002) Fitness and evolution in clonal plants: the impact of clonal growth. *Evolutionary Ecology*, 15, 583-600.
- Parker, K. C. y Hamrick J. L. (1992) Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *American Journal of Botany*, 79, 86-96.
- Peakall, R., Smouse P. E. y Huff D. R. (1995) Evolutionary implications of allozyme and RAPD variation in diploid populations of dioecious buffalograss *Buchloë dactyloides*. *Molecular Ecology* 4:135-147.
- Peakall, R. y Smouse P.E. (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Persson, H. A. y Gustavsson B. A. (2001) The extent of clonality and genetic diversity in lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) revealed by RAPDs and leaf-shape analysis. *Molecular Ecology*, 10, 1385-1397.

- Pielou, E. C. (1969) An introduction to mathematical ecology. Wiley Interscience, New York, USA.
- Pimienta-Barrios, E. (1994) Prickly Pear (*Opuntia* spp.): A valuable fruit crop for the semi-arid crop lands of México. *Journal of Arid Environments*, 28, 1-11.
- Piña, H., Montaña C. y Mandujano M. C. (2007). Fruit abortion in the Chihuahuan-Desert endemic cactus *Opuntia microdasys*. *Plant Ecology*, 193, :305–313.
- Piquot, Y., Saumitou-Laprade P., Petit D., Vernet P. y Epplen J. T. (1996) Genotypic diversity revealed by allozymes and oligonucleotide DNA fingerprinting in French populations of the aquatic macrophyte *Sparganium erectum*. *Molecular Ecology*, 5, 251-258.
- Plasencia-López, L. M. (2008) Diversidad clonal y cruces óptimas en *Opuntia rastrera* Weber (CACTACEAE). Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, UNAM. México D. F.
- Pluess, A. R. y Stöcklin J. (2004) population genetic diversity of the clonal plant *Geum reptans* (Rosaceae) in the Swiss Alps. *American Journal of Botany*, 91, 2013-2021.
- Pollux, B. J. A., De Jong M., Steegh A., Verbruggen E., Van Groenendael J. M. y Ouborg N. J. (2007) Reproductive strategy, clonal structure and genetic diversity in populations of the aquatic macrophyte *Sparganium emersum* in river systems. *Molecular Ecology*, 16, 313-325.
- Pornon, A., Escaravage N., Thomas P. y Taberlet P. (2000) Dynamics of genotypic structure in clonal *Rhododendron ferrugineum* (Ericaceae) populations. *Molecular Ecology*, 9, 1099-1111.
- Pritchard, J. K., Stephens M. y Donnelly P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959.
- Ren, M-X, Zhang Q-G y Zhang D-Y (2005) Random amplified polymorphic DNA markers reveal low genetic variation and a single dominant genotype in *Eichhornia crassipes* populations throughout China. *Weed Research*, 45, 236-244.
- Reusch, T. B. H., Stam W. T. y Olsen J. L. (1999) Size and estimated age of genets in eelgrass *Zostera marina* L. assessed with microsatellite markers. *Marine Biology*, 133, 519–525.
- Reusch, T. B. H., Stam W. T. y Olsen J. L. (2000). A microsatellite-based estimation of clonal diversity and population subdivision in *Zostera marina*, a marine flowering plant. *Molecular Ecology*, 9, 127-140.
- Stenøien, H. K. y Sæstad S. M. (1999) Genetic structure in three haploid peat mosses (*Sphagnum*). *Heredity*, 82, 391-400.

- 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.
- Tooke, F., Ordidge M., Chiurugwi T. y Battey N. (2005) Mechanisms and function of flower and inflorescence reversion. *Journal of Experimental Botany*, 56, 2587-2599.
- Vázquez-Delfín, E. F. Sánchez-Serrano S. L. y Martorell C. (2005) La producción de frutos prolíficos en *Opuntia leptocaulis* (Cactaceae) como una alternativa ante el fracaso de la reproducción sexual. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 76, 79-81.
- Wang, Y.-S., Zhao L.-M., Wang H., Wang J., Huang D.-M., Hong R.-M., Teng X.-H. y Miki N. (2005) Molecular genetic variation in a clonal plant population of *Leymus chinensis* (Trin.) Tzvel. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47, 1055-1064.
- Waycott, M. y Barnes P. A. G. (2001) AFLP diversity within and between populations of the Caribbean seagrass *Thalassia testudinum* (Hydrocharitaceae). *Marine Biology*, 139, 1021-1028.
- Widén, B., Cronberg N. y Widén M. (1994) Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genets in clonal plants, a literature survey. *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica*, 29, 245-263.

Cuadro 1. Número de ramets pequeños (con tamaños entre 3 y 50 cladodios) en tres poblaciones de *O. microdasys*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH). Los valores con diferencias significativas se muestran en negritas, los signos + y – indican las desviaciones positivas y negativas de los valores esperados.

	Observados		
	BH	HPH	IDH
Ramets con genotipos únicos	56	45	60
Ramets con genotipos compartidos	48	5	37
	Esperados		
	BH	HPH	IDH
Ramets con genotipos únicos	67	32	62
Ramets con genotipos compartidos	37	18	35
	Residuales ajustados		
	BH	HPH	IDH
Ramets con genotipos únicos	-2.86	4.26	-0.60
Ramets con genotipos compartidos	2.86	-4.26	0.60

Cuadro 2. Diversidad clonal y genética en cada una de las parcelas de tres poblaciones de *O. microdays*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH). Índices de diversidad clonal: D = índice de diversidad de Simpson, E = equitatividad genotípica, G/N = proporción de genotipos distinguibles y G_e/G = número efectivo de genotipos / número de genets. Índices de diversidad genética: H_e = heterocigosis esperada en Hardy - Weinberg, $\%P$ = porcentaje de loci polimórficos y H = índice de Shanon. Los valores de P en la parte inferior del cuadro indican la probabilidad de las diferencias entre los valores promedio de los diferentes índices calculados para cada población, a partir de los valores de las parcelas.

Parcela	D			E			G/N			G_e/G			H_e			$\%P$			H		
	BH	HPH	IDH	BH	HPH	IDH	BH	HPH	IDH	BH	HPH	IDH									
1	0.997	0.992	0.993	0.998	0.994	0.994	0.926	0.906	0.817	0.911	0.883	0.772	0.151	0.112	0.101	38.3	30.8	30.0	0.203	0.155	0.155
2	0.921	0.987	0.979	0.885	0.990	0.981	0.525	0.909	0.757	0.465	0.864	0.752	0.066	0.119	0.076	23.3	30.8	23.3	0.101	0.161	0.116
3	0.971	1.000	0.937	0.967	1.000	0.923	0.544	1.000	0.630	0.625	1.000	0.604	0.100	0.117	0.041	40.8	44.2	10.8	0.168	0.183	0.061
4		0.998	0.928		0.999	0.876		0.952	0.621		0.958	0.208		0.108	0.127		34.2	44.2		0.167	0.202
5			0.921			0.938				0.478					0.046			13.3			0.073
Muestra total por hábitat	0.990	0.999	0.988	0.987	0.999	0.982	0.667	0.941	0.682	0.568	0.927	0.361	0.127	0.127	0.123	45.0	40.0	40.0	0.208	0.195	0.196
P values, bootstrap with 1000 permutations																					
	BH	HPH	IDH	BH	HPH	IDH	BH	HPH	IDH	BH	HPH	IDH									
BH		
HPH	0.045		0.044		0.022		0.027		0.370		0.430		0.380	
IDH	0.320	0.004	0.410	0.004	0.500	0.004	0.390	0.004	0.148	0.011	0.094	0.046	0.155	0.036

Cuadro 3. Análisis de varianza molecular (AMOVA) con una muestra de 562 ramets en tres hábitats de *O. microdasys*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH). La significancia de los componentes de la varianza y del estadístico Φ_{PT} (P) se estimó con 1000 permutaciones.

Componentes de la varianza	No. parcelas	Varianza	%	Φ_{PT}	P	Nm	Hábitat(s)
TRES POBLACIONES							
Entre poblaciones		0.79	6.71	0.282	<.001	0.535	BH, HPH, IDH
Entre parcelas / poblaciones	12	2.53	21.47		<.001		
Dentro de las parcelas		8.46	71.82		<.001		
DOS POBLACIONES							
Entre poblaciones		0.35	3.03	0.244	<.001	0.569	BH vs HPH
Entre parcelas / poblaciones	7	2.50	21.39		<.001		
Dentro de las parcelas		8.83	75.57		<.001		
Entre poblaciones		0.72	6.03	0.301	<.001	0.444	BH vs IDH
Entre parcelas / poblaciones	8	2.85	24.05		<.001		
Dentro de las parcelas		8.29	69.90		<.001		
Entre poblaciones		1.13	9.62	0.285	<.001	0.496	HPH vs IDH
Entre parcelas / poblaciones	9	2.21	18.90		<.001		
Dentro de las parcelas		8.36	71.47		<.001		
PARCELAS EN CADA POBLACIÓN							
Entre parcelas	3	3.40	28.09	0.281	<.001	0.284	BH
Dentro de las parcelas		8.70	71.90				
Entre parcelas	4	1.48	14.16	0.142	<.001	0.850	HPH
Dentro de las parcelas		8.98	85.83				
Entre parcelas	5	2.56	24.13	0.241	<.001	0.504	HPH
Dentro de las parcelas		8.05	75.86				

Cuadro 4. Proporción de pertenencia (promedio de la proporción del genotipo de un individuo que corresponde a cada uno de los K grupos genéticos) de las poblaciones de *O. microdasys*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH), y de sus respectivas parcelas, a los dos grupos genéticos inferidos con el método de Evanno *et al.* (2005). Los resultados corresponden a la simulación con el valor más alto de Ln P(D) de 20 simulaciones que se realizaron considerando un valor de $K = 2$. En la parte inferior del cuadro se muestran los valores de los diferentes parámetros calculados con el programa STRUCTURE para esta simulación.

Parámetros de la simulación	Proporción de pertenencia a cada grupo genético					
	Población	Grupo 1	Grupo 2	Parcela	Grupo 1	Grupo 2
BH		0.61	0.39	BH1	0.17	0.83
				BH2	0.88	0.12
				BH3	0.79	0.21
IDH		0.70	0.30	IDH1	0.67	0.33
				IDH2	0.89	0.11
				IDH3	0.98	0.02
				IDH4	0.50	0.50
				IDH5	0.96	0.04
HPH		0.42	0.58	HPH1	0.37	0.63
				HPH2	0.40	0.60
				HPH3	0.58	0.42
				HPH4	0.41	0.59
α	0.166			
Fst	0.5491	0.1262			
Ln verosimilitud	-22512			
Ln P(D)	-23179			

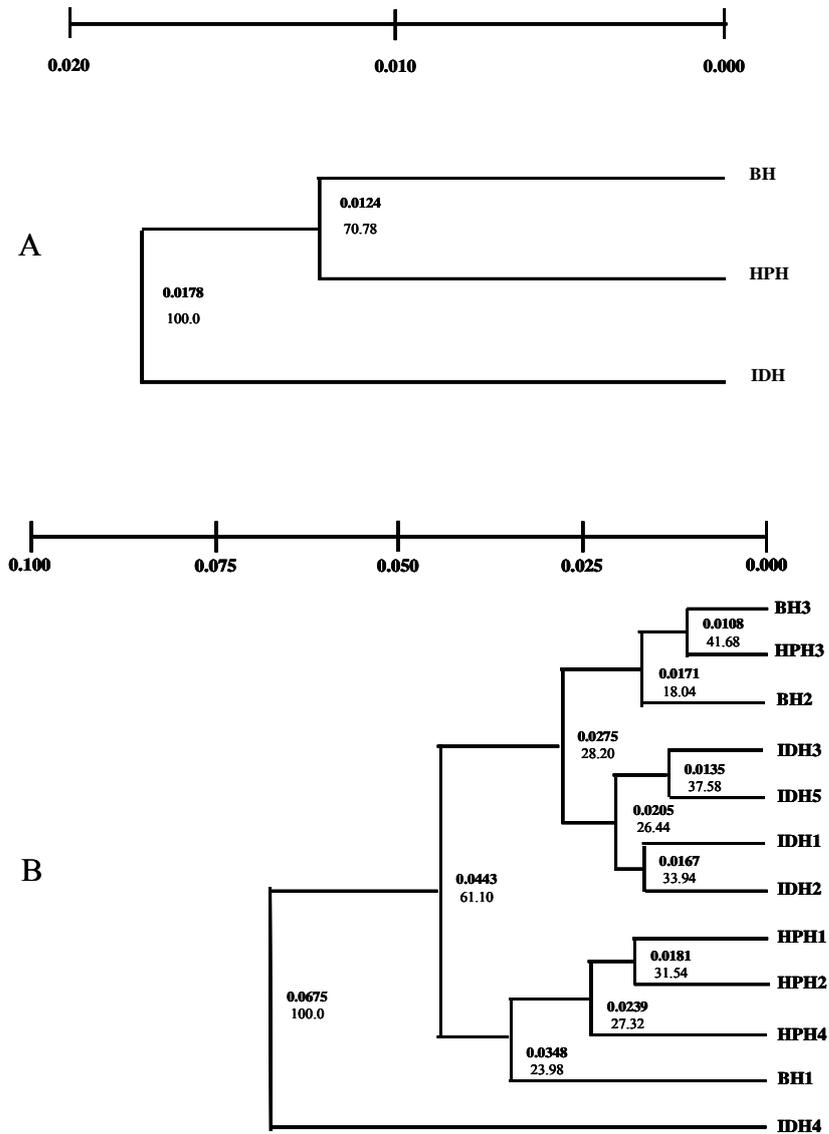


Figura 1. Dendogramas construidos con el algoritmo UPGMA utilizando la distancia genética de Nei (1972). A) Dendograma de las tres poblaciones de *O. microdasys*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH). B) Dendograma de las parcelas de las tres poblaciones. Los valores en negritas indican la distancia genética, y los valores debajo de las distancias genéticas indican el porcentaje de réplicas similares calculadas con 5000 permutaciones de bootstrap.

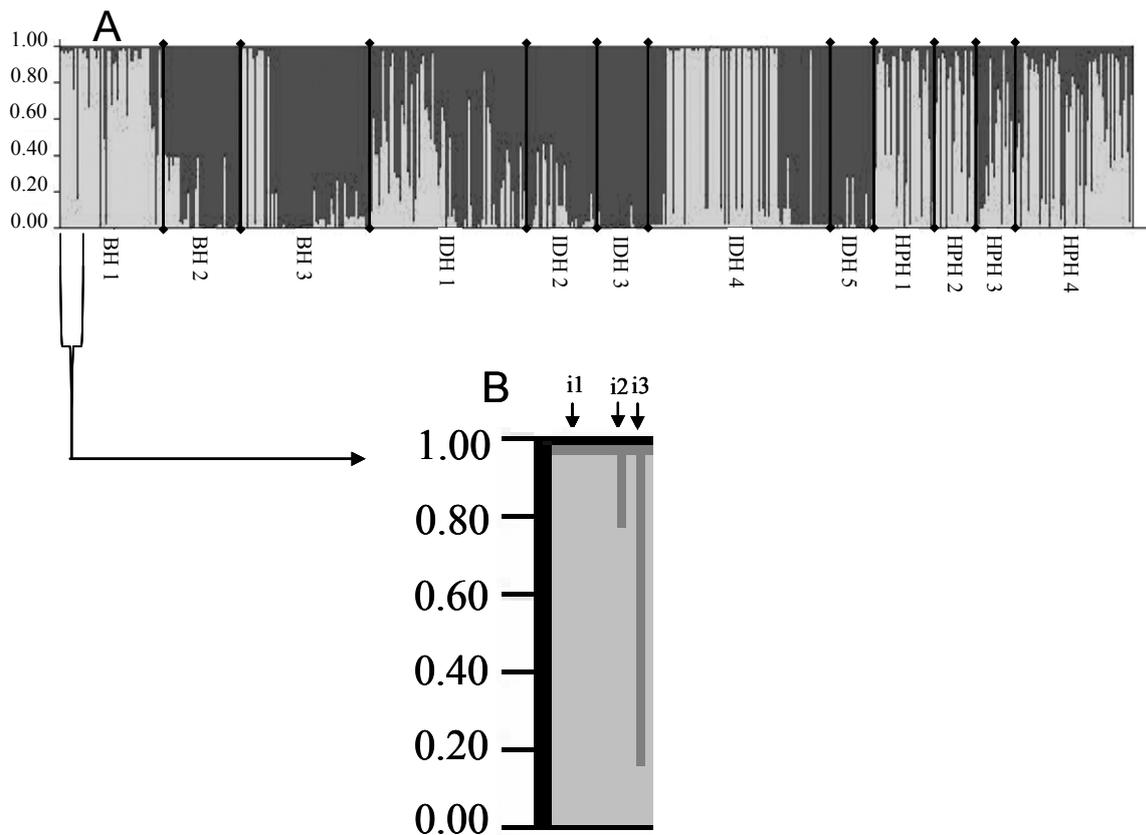


Figura 2. A) Proporción del genotipo de cada individuo que corresponde a las dos poblaciones genéticas ($K = 2$; población 1 en gris oscuro y población 2 en gris claro). Las líneas verticales en negro separan los individuos de cada una de las parcelas de las tres poblaciones predefinidas de *O. microdasys* (BH, HPH e IDH) y cada individuo está representado por una línea vertical que puede estar dividida en 2 segmentos de diferente color, los cuales representan la proporción del genotipo que corresponde a cada población genética. B) Ampliación de un segmento correspondiente a la parcela BH1. La flecha etiquetada como i1 indica uno de siete individuos en el que el 4% de su genotipo corresponde a la población genética 1 y 96% corresponde a la población genética 2, las flechas etiquetadas como i2 e i3 indican dos individuos con 24% y 84% de su genotipo correspondiente a la población genética 1 y el 76% y 16% correspondiente a la población genética 2.

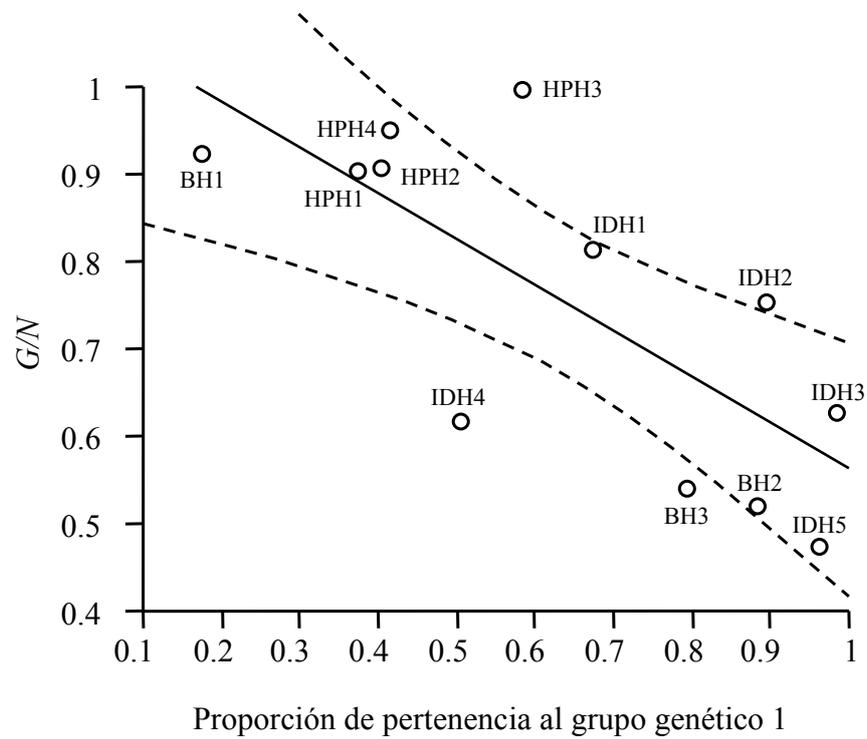
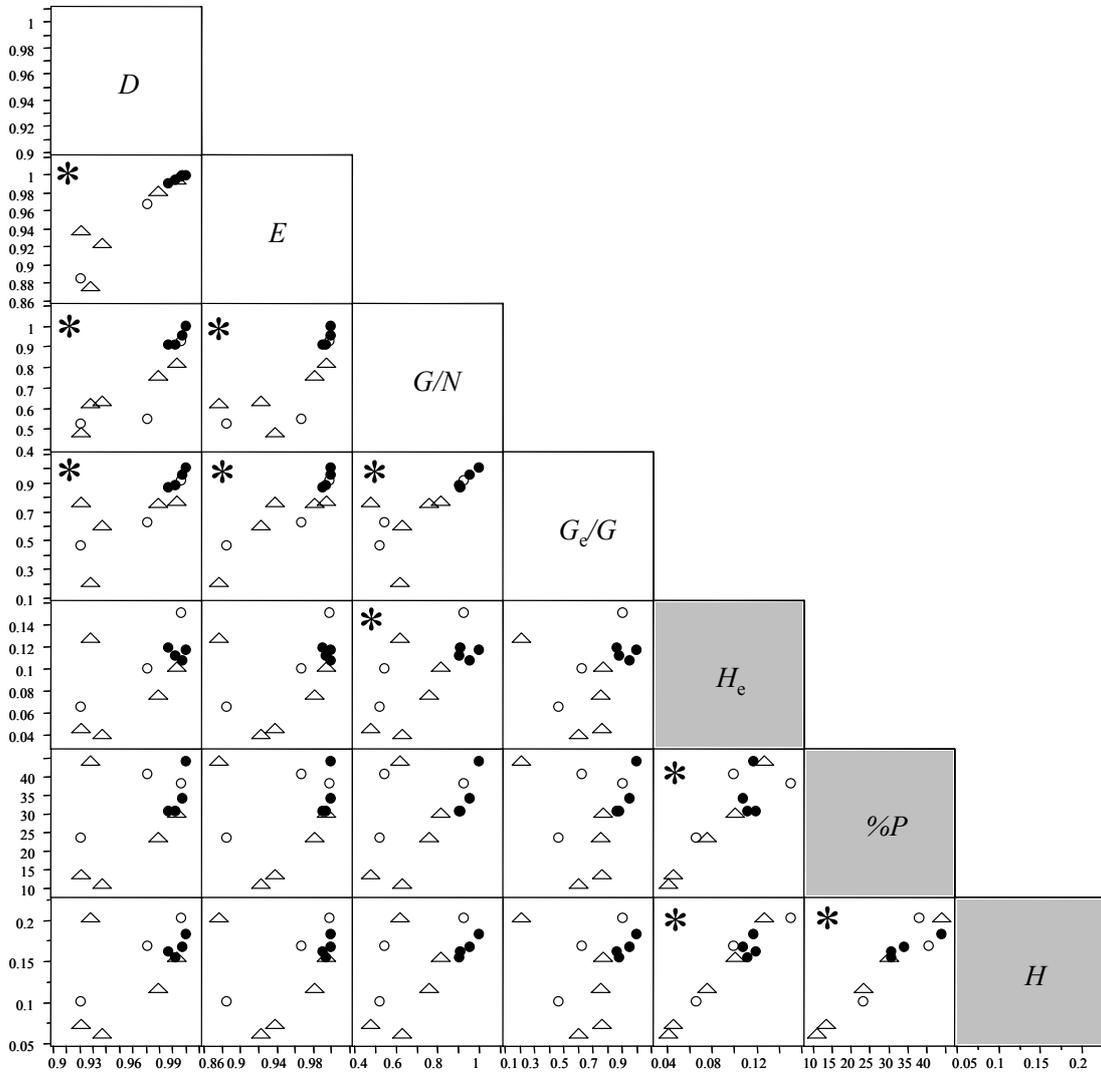


Figura 3. Relación entre la proporción de genotipos distinguibles (G/N) y la proporción de pertenencia al grupo genético 1 ($r^2 = 0.56$, $n = 12$, $P = 0.0048$). Los puntos representan 12 parches de *O. microdasys* (parcelas) distribuidos en tres poblaciones: bajada (BH), ladera pie de monte (HPH) e interdunas (IDH). Las líneas punteadas representan los intervalos de confianza del 95%.

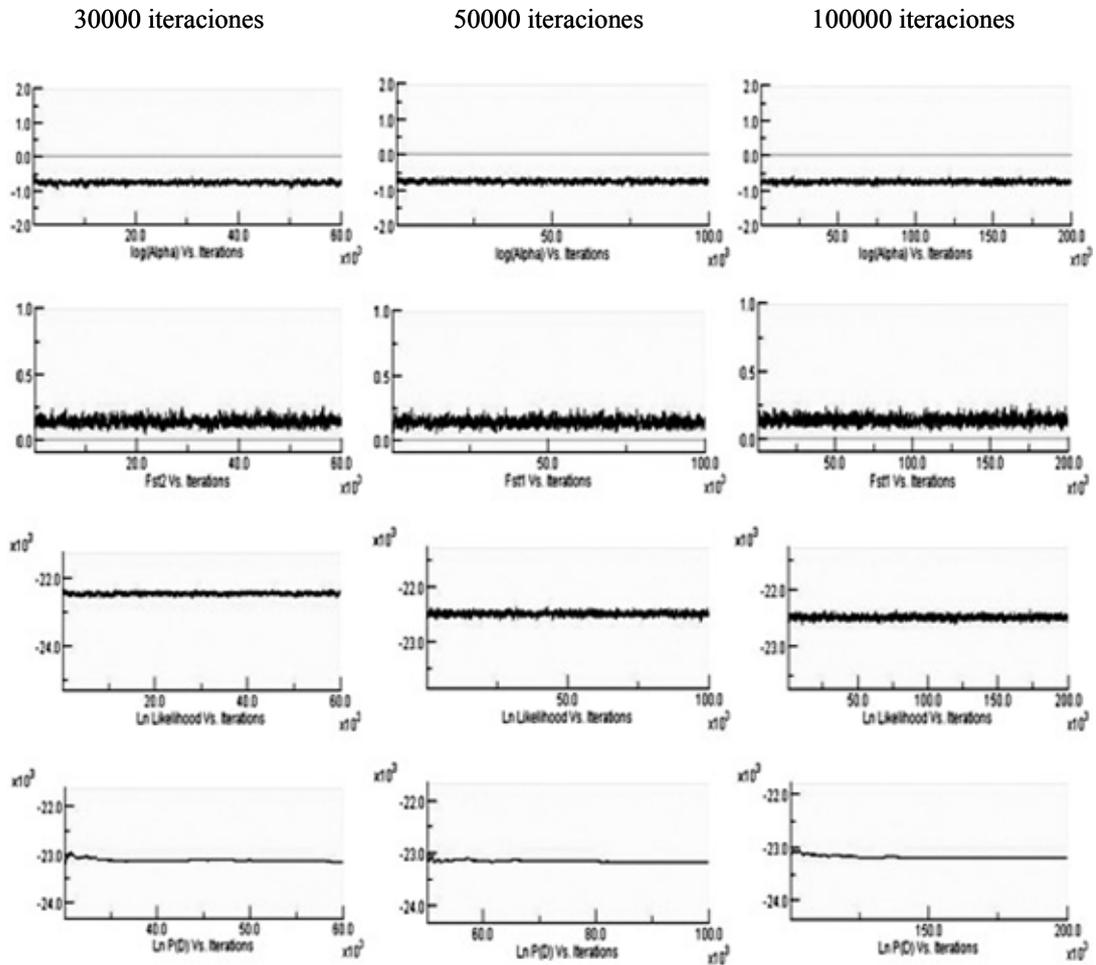
Apéndice A

Correlación entre los índices de diversidad clonal (en blanco) y genética (en gris) calculados para las parcelas de tres poblaciones de *O. microdasys*: bajada (BH); ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH). D = índice de diversidad de Simpson, E = equitatividad genotípica, G/N = proporción de genotipos distinguibles, G_e/G = número efectivo de genotipos / número de genets, H_e = heterocigosis esperada en Hardy - Weinberg, $\%P$ = porcentaje de loci polimórficos y H = índice de Shannon. \circ = parcelas de BH ($n = 3$), \bullet = parcelas de HPH ($n = 4$) y Δ = parcelas de IDH ($n = 5$). El asterisco indica las correlaciones significativas entre los índices ($P < 0.05$).



Apéndice B

Las figuras de abajo muestran la variación de los parámetros clave utilizados para seleccionar el número e iteraciones (α , F_{st} , Ln de la verosimilitud y Ln $P(D)$), de tres simulaciones para un valor de $K = 2$ con 30000, 50000 y 100000 iteraciones en la fase de quemado y en la fase posterior al quemado.



Apéndice B (continuación)

En el cuadro siguiente se muestran los valores de Ln P(D) para 20 simulaciones realizadas con valores de K (grupos genéticos) de 1 a 13.

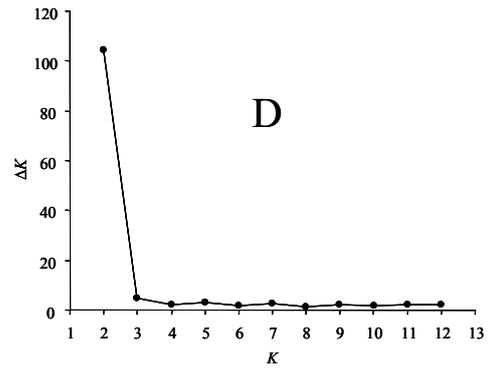
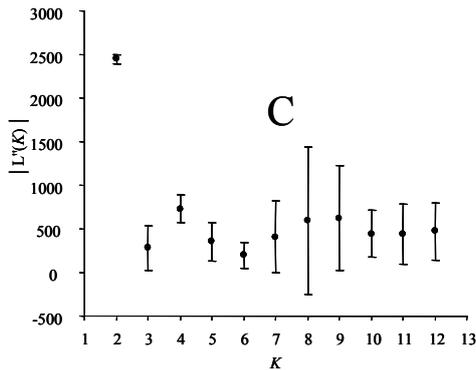
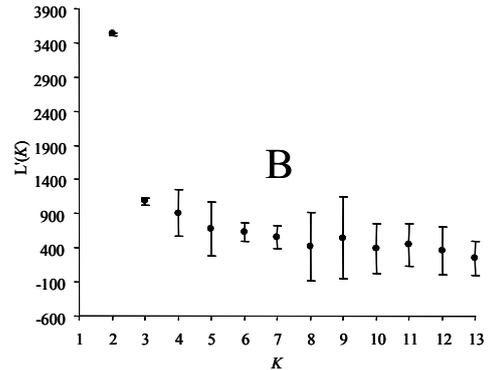
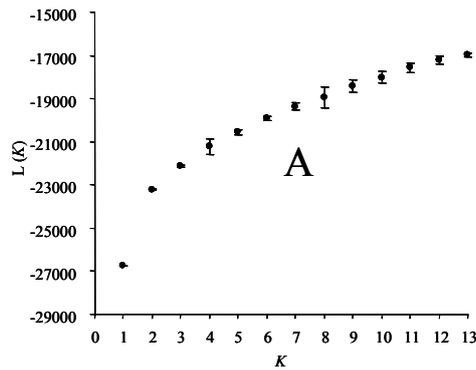
Simulación	$K=1$	$K=2$	$K=3$	$K=4$	$K=5$	$K=6$	$K=7$	$K=8$	$K=9$	$K=10$	$K=11$	$K=12$	$K=13$
1	-26749.6	-23213.2	-22053.1	-20987.4	-20562.6	-20060.0	-19435.0	-18822.5	-18128.8	-18033.8	-17666.7	-17053.5	-17086.8
2	-26750.3	-23179.8	-22056.8	-21585.1	-20701.0	-19922.9	-19373.2	-20767.3	-18098.8	-18122.6	-17714.1	-17161.2	-17080.5
3	-26747.5	-23198.2	-22218.2	-21721.9	-20341.4	-19809.0	-19150.9	-19089.0	-18854.4	-18368.3	-17349.6	-17034.2	-17004.3
4	-26749.4	-23200.2	-22092.5	-21679.0	-20371.9	-19850.5	-19270.2	-19055.4	-18267.3	-18434.8	-17669.7	-17078.3	-16991.1
5	-26747.2	-23268.9	-22145.1	-20944.8	-20484.0	-20068.0	-19555.3	-18660.0	-18221.5	-17742.2	-17458.0	-17223.4	-16945.8
6	-26746.3	-23207.0	-22158.7	-21027.9	-20826.4	-20055.4	-19387.5	-18882.2	-18892.1	-18404.9	-17656.3	-16970.8	-16923.5
7	-26747.7	-23216.5	-22141.5	-20989.6	-20641.1	-19915.0	-19163.6	-18675.6	-18758.1	-18066.5	-17458.4	-17449.3	-16899.7
8	-26748.2	-23233.3	-22032.3	-21013.4	-20329.9	-20068.3	-19376.3	-18622.7	-18193.2	-17845.6	-17870.2	-17101.6	-16897.6
9	-26748.5	-23178.5	-22059.6	-20955.7	-20430.2	-19800.1	-19049.0	-18884.5	-18298.5	-17819.2	-17711.6	-16991.8	-16882.3
10	-26747.8	-23262.1	-22233.4	-21766.9	-20491.2	-19747.0	-19449.7	-18692.3	-18499.9	-17782.9	-17509.1	-17238.7	-16870.9
11	-26749.2	-23243.4	-22170.1	-20974.4	-20564.4	-19880.9	-19234.9	-19189.7	-18467.0	-17940.8	-17548.6	-17322.9	-17008.8
12	-26748.4	-23218.9	-22147.9	-20936.2	-20650.2	-19952.4	-19255.0	-19159.6	-18266.1	-17826.6	-17326.6	-17032.3	-16857.8
13	-26748.9	-23208.5	-22111.4	-21651.2	-20526.5	-19794.0	-19429.0	-18944.1	-18381.3	-17639.5	-17312.6	-17441.7	-16867.2
14	-26747.9	-23201.0	-22136.8	-20981.7	-20551.1	-19843.3	-19511.7	-19040.0	-18190.9	-18285.1	-17562.1	-17295.4	-16820.6
15	-26750.1	-23212.7	-22137.7	-21662.3	-20614.7	-19857.7	-19364.0	-18715.0	-18213.7	-17969.5	-17344.1	-17806.6	-17029.6
16	-26748.2	-23206.9	-22129.9	-21693.2	-20538.7	-19885.3	-19466.4	-18762.0	-18326.8	-18384.1	-17471.0	-17099.4	-16976.9
17	-26748.0	-23204.8	-22109.4	-20991.5	-20608.7	-20004.3	-19675.0	-18901.9	-18141.7	-17819.0	-18059.3	-17092.8	-17130.0
18	-26747.5	-23217.9	-22141.7	-21000.3	-20670.1	-20045.8	-19415.9	-18713.1	-18817.1	-17851.2	-17266.4	-17448.0	-16974.2
19	-26748.6	-23240.0	-22244.3	-20946.1	-20581.3	-20013.0	-19189.4	-18762.0	-18932.4	-17793.4	-17544.6	-17058.0	-17259.3
20	-26748.4	-23218.7	-22142.2	-20995.1	-20579.0	-19837.0	-19523.7	-18664.9	-18166.7	-18234.1	-17916.8	-17350.9	-16854.6

En el siguiente cuadro se muestran los valores de los parámetros α y Fst de las simulación con el valor más alto de Ln P(D), de las 20 simulaciones hechas con valores de K de 1 a 13.

K	Ln P(D)	Var[LnP(D)]	α	Fst 1	Fst 2	Fst 3	Fst 4	Fst 5	Fst 6	Fst 7	Fst 8	Fst 9	Fst 10	Fst 11	Fst 12	Fst 13
1	-26746	315.8	0.395
2	-23179	1332.7	0.17	0.549	0.126
3	-22142	1857.1	0.11	0.592	0.635	0.115
4	-20936	1693.3	0.06	0.637	0.313	0.142	0.599
5	-20330	1886.2	0.05	0.618	0.856	0.143	0.559	0.278
6	-19747	1898.5	0.04	0.843	0.756	0.142	0.511	0.481	0.264
7	-19049	2066.5	0.04	0.519	0.189	0.779	0.304	0.3	0.85	0.506
8	-18623	2119.7	0.04	0.481	0.889	0.197	0.513	0.629	0.799	0.316	0.247
9	-18099	2278.1	0.03	0.648	0.336	0.274	0.254	0.342	0.498	0.807	0.523	0.881
10	-17640	2377.6	0.03	0.786	0.621	0.33	0.878	0.65	0.286	0.339	0.506	0.803	0.2626
11	-17266	2458.1	0.03	0.36	0.355	0.289	0.889	0.269	0.802	0.522	0.607	0.627	0.8062	0.6487
12	-16971	2421.1	0.03	0.789	0.883	0.684	0.784	0.353	0.355	0.641	0.273	0.286	0.5052	0.7208	0.6073
13	-16821	2498.2	0.03	0.796	0.68	0.283	0.725	0.613	0.641	0.823	0.36	0.874	0.5117	0.3482	0.8548	0.2813

Apéndice B (continuación)

El método de Evanno *et al.* (2005) consiste en calcular una medida *ad hoc* basada en la tasa de cambio de segundo orden de la función de probabilidad asociada a K (ΔK), la cual puede tener un valor relativamente alto (pico) que corresponde al valor más probable de K . Para obtener los valores de ΔK se calculó el promedio de los valores de $L(K)$ (valores de $\ln P(D)$) obtenidos con el programa STRUCTURE) de las 20 simulaciones con cada valor de K ($K = 1$ a $K = 13$; Figura A). A continuación, se calculó el promedio de la tasa de cambio de la función de probabilidad asociada a K (Figura B), calculada como $L'(K) = L(K) - L(K-1)$. Como tercer paso se calculó el promedio de la tasa de cambio de segundo orden de la función de probabilidad asociada a K (Figura C) como $|L''(K)| = |L'(K+1) - L'(K)|$. Finalmente, se calcularon los valores de ΔK (Figura D) dividiendo los valores promedio de $|L''(K)|$ entre la desviación estándar de los valores de $L(K)$.



CAPÍTULO 4

Efecto del vecindario local en la reproducción sexual y clonal de los ramets de *Opuntia microdasys* (Cactaceae).

RESUMEN

En plantas clonales autoincompatibles la identidad genética, el número de flores y la distribución espacial de los ramets pueden afectar la frecuencia con que la que un ramet produce frutos con semillas y/o propágulos clonales (a partir del aborto de estructuras sexuales i.e., plantlets). En este trabajo estudiamos estos aspectos en tres poblaciones de la cactácea *Opuntia microdasys*, entre las cuales se observa una variación en la producción de descendientes de origen sexual y clonal. En cada hábitat se establecieron 10 vecindarios locales, para ello se eligieron 10 ramets reproductivos, como el centro de parcelas circulares de 18 m de radio; en las parcelas se localizó la posición de cada ramet en un mapa y los ramets se genotiparon usando marcadores moleculares ISSR. Durante el periodo de floración se marcaron diariamente las flores del ramet focal y se contaron las flores presentes en los vecinos. La proporción de flores que formaron frutos maduros ($Fset$) y plantlets ($Pset$) se utilizaron como variables dependientes en modelos de regresión múltiple, con variables independientes que describen la relación entre el número de flores en el ramet focal y los vecinos, la densidad y distribución de ramets reproductivos en las parcelas, la diversidad clonal y la distancia genética entre el ramet focal y los vecinos. El $Fset$ mostró una relación positiva con la distancia genética y la diversidad clonal en la población con mayor densidad de flores, mientras que el $Pset$ mostró una relación inversa con las mismas variables en esta población. En las poblaciones con baja densidad de flores, tanto el $Fset$ como el $Pset$ se relacionan positivamente con la proporción de flores en el ramet focal, con la densidad de individuos reproductivos, y negativamente con el patrón de distribución espacial. Además, en las poblaciones con baja densidad floral el $Pset$ también se relaciona positivamente con la distancia genética y la diversidad clonal. Así, los resultados sugieren que la producción de frutos con semillas en los ramets de *O. microdasys* es favorecida por los factores que incrementan la disponibilidad de polen (en cantidad y en calidad) para la fertilización de los óvulos, mientras que la producción de plantlets depende principalmente de la calidad del polen cuando la deficiencia de polen no es una limitante, y de la calidad y la cantidad de polen cuando las probabilidades de que los ramets experimenten deficiencia de polen son altas. Además, también se discute que la producción de frutos con semillas y la producción de plantlets en *O. microdasys* pueden estar afectadas por los niveles de depresión endogámica en las poblaciones y la disponibilidad de recursos.

INTRODUCCIÓN

En muchas especies de plantas las cruza entre individuos y la dispersión de los descendientes se llevan a cabo en áreas relativamente pequeñas, por lo que en estos casos el éxito reproductivo de un individuo en particular puede ser afectado por las características de su vecindario local (Wilson y Harder, 2003; Jones y Comita, 2008). En plantas que son polinizadas por animales, los factores tales como la densidad, la distribución espacial y la cantidad de flores de los individuos reproductivos influyen en los patrones de forrajeo de los polinizadores, lo cual a su vez puede afectar los sistemas de cruza y las probabilidades de que los individuos produzcan semillas por entrecruza (Creswell, 1997; Kunin, 1997; Groom, 1998; Bosch y Waser, 1999; Karron *et al.*, 2004). Por ejemplo, en plantas de *Brassica kaber* se ha observado que la producción de frutos y semillas es afectada por el incremento en la distancia entre los vecinos conoespecíficos y por la reducción en la densidad local de individuos reproductivos y en el número de flores de los individuos focales, debido al decremento en la abundancia y en la tasa de visita de los polinizadores (abejas y sírfidos) (Kunin, 1993, 1997). Como otro ejemplo, en *Mimulus ringens* el número de flores abiertas en los individuos se relaciona positivamente con la frecuencia de visitas intraplanta que hacen los polinizadores (abejorros), lo cual lleva a un incremento de la tasa de geitonogamia y en la producción de descendientes con baja adecuación (Karron *et al.*, 2004). Adicionalmente, el éxito reproductivo de los individuos puede ser afectado por la identidad genética de sus vecinos reproductivos cuando los individuos espacialmente cercanos están relacionados genéticamente, debido al incremento de las cruza incompatibles y de las probabilidades de que se produzcan descendientes con baja adecuación por el efecto de la depresión endogámica (Souto *et al.*, 2002; Jones y Comita, 2008; de Cauwer *et al.* 2010). Por ejemplo, en *Alstroemeria aurea* las semillas son dispersadas por balística a pocos metros de la

planta madre llevando a los individuos vecinos a presentar mayor similitud genética, lo cual resulta en una proporción de óvulos que forman semillas menor al 50% en condiciones naturales, y en un número bajo de tubos polínicos que alcanzan el ovario cuando las plantas reciben polen de individuos localizados a menos de 10 m en experimentos de cruzas controladas (Aizen y Basilio, 1995; Souto et al., 2002). De manera similar, en *Delphinium nelsonii* la dispersión de semillas a distancias cortas determina que los individuos vecinos estén relacionados genéticamente, lo cual se ve reflejado en un bajo número de tubos polínicos que alcanzan el ovario y una baja producción de semillas en la polinización natural y en las cruzas controladas entre individuos separados por menos de 1 m, que en las cruzas con individuos localizados a 10 m (Waser y Price, 1991). Por otro lado, la reproducción frecuente entre individuos espacialmente cercanos favorece la fijación de alelos en áreas relativamente pequeñas, generando estructuración genética en las poblaciones (Calahan y Glidon 1985, Campbell y Dooley, 1992).

La clonalidad en plantas puede reducir las cruzas exitosas en el vecindario local de los individuos, debido a que los propágulos vegetativos suelen tener una capacidad de dispersión restringida (Eckert, 2002; Fischer y van Kleunen, 2002). Si los ramets producidos por un individuo en particular tienden a establecerse en el área circundante, el vecindario de un ramet particular puede estar dominado por las copias de uno o pocos genotipos, afectándose así la dispersión del polen, la producción de semillas y el reclutamiento de descendientes de origen sexual (Handel, 1985; Eriksson, 1993; Clark-Tapia *et al.*, 2006; Palleiro *et al.*, 2006). Los costos reproductivos del crecimiento y la propagación clonal en plantas están asociados con los incrementos de los niveles de geitonogamia, sin embargo, el efecto de la geitonogamia en la reproducción puede ser distinto en especies autocompatibles y autoincompatibles. En especies autocompatibles, la geitonogamia incrementa la autogamia y las probabilidades de expresar depresión endogámica, a la vez que disminuye la adecuación paterna reduciendo la cantidad de

polen disponible para la entrecruza (Charpentier, 2002). Por ejemplo, en *Decodon verticillatus* se ha estimado que la contribución de la geitonogamia a la autofertilización es del 81%, del cual el 31% corresponde a la geitonogamia entre ramets del mismo genet (Eckert, 2000). Aunque en *D. verticillatus* la geitonogamia no es una limitante para la reproducción sexual puede ser desventajosa, ya que los descendientes que se producen por autofertilización (33% de los descendientes) tienen tasas más bajas de crecimiento y supervivencia, y una probabilidad menor de reproducirse que los descendientes producidos por entrecruza (Eckert y Barrett, 1994). Por otro lado, en las especies autoincompatibles la geitonogamia afecta la producción de semillas, debido a la saturación de los estigmas con polen incompatible y al aborto de óvulos, y puede dar lugar a un desperdicio de grandes cantidades de polen (Charpentier, 2002), por lo que la clonalidad en estas especies puede reducir drásticamente la fecundidad, particularmente si la diversidad clonal local es baja. Por ejemplo, en especies como *Scirpus maritimus* (Charpentier *et al.*, 2000) y *Santalum lanceolatum* (Warburton *et al.*, 2000) la producción de frutos y semillas que se producen por la cruce entre individuos del mismo parche en condiciones naturales son extremadamente bajas aún cuando los estigmas reciben suficiente polen, debido a que los parches de individuos generalmente están dominados por los ramets de uno o de pocos genets.

En especies clonales que forman ramets por pseudoviviparidad (a través de plantlets), en donde al fallar la reproducción sexual puede producirse un vástago clonal (Youngner, 1960; Arizaga y Ezcurra, 1995; Elmqvist y Cox, 1996; Palleiro *et al.*, 2006), se espera que aumente la propagación clonal a medida que se reduce la reproducción sexual (Arizaga y Ezcurra, 1995, 2002; Palleiro *et al.*, 2006). Sin embargo, esta relación puede ser más importante en aquellas especies en las que el fenómeno de pseudoviviparidad se presenta después de que se ha completado la antesis, en estos casos puede esperarse que la probabilidad de generar descendientes vegetativos por pseudoviviparidad se asocie más directamente con la variación en

los sistemas de cruce, debido a que este tipo de propágulos se originan de frutos iniciados. La pseudoviviparidad es un fenómeno común en algunas familias tales como Crassulaceae, Oxalidaceae, Polygonaceae, Saxifragaceae, Agavaceae, Bromeliaceae, Poaceae, Juncaceae, Liliaceae y Gesneriaceae (Youngner, 1960; Gentry, 1998; Arizaga y Ezcurra, 1995; Elmqvist y Cox, 1996) y también se ha reportado en algunas especies en la familia Cactaceae, entre las cuales se encuentran *Opuntia kleiniae*, *O. rufida*, *O. imbricata*, *O. phaeacantha*, *O. leptocaulis*, *O. spinosibacca*, *O. tunicata* (Anthony, 1954), *O. echios* (Hicks y Mauchamp, 1999), *O. microdasys* (Palleiro *et al.*, 2006). Sin embargo, más allá de la descripción de la presencia de pseudoviviparidad en estos grupos, se sabe poco de sus consecuencias ecológicas y evolutivas. A diferencia del resto de las angiospermas, en las cuales las estructuras sexuales surgen a partir de modificaciones de las hojas, en las cactáceas surgen a partir de modificaciones del tallo, encontrándose la cámara del ovario y el soporte de la estructura floral envueltas por un tallo modificado con areolas (i.e., pericarpelo), las cuales son meristemas laterales de origen caulinar que son capaces de dar origen a raíces, flores o cladodios (Buxbaum, 1959; Bravo-Hollis, 1978).

La cactácea *Opuntia microdasys* es un sistema apropiado para investigar el efecto de la variación en las características espaciales y genéticas del vecindario local, sobre la reproducción sexual y la reproducción clonal por pseudoviviparidad, pues presenta una variación entre sus poblaciones en la frecuencia con que producen descendientes de origen sexual y descendientes clonales a partir de plantlets y cladodios desprendidos (Palleiro *et al.*, 2006; Carrillo-Angeles *et al.*, 2011). En esta especie, los plantlets se originan a partir de frutos que son abortados en estado inmaduro, los cuales son capaces de enraizar y producir cladodios cuando caen al suelo. Algunos de los factores que influyen en el aborto de frutos en la especie son la depredación de botones florales por una larva de lepidóptero (*Olycella* aff. *junctolinella*; 25% de los botones florales abortan por esta causa) y la limitación de recursos (Piña *et al.*, 2007; 2010). Esto último se debe a

que se observa un incremento del 11% en la producción de flores y frutos en los individuos cuando se les agrega fertilizante (Piña *et al.*, 2007). No obstante, la proporción de frutos maduros y de frutos abortados que son capaces de dar origen a descendientes clonales (plantlets) pueden ser una respuesta a las características espaciales y genéticas del vecindario local, debido a que la distribución espacial de los genets y los ramets reproductivos es distinta entre las poblaciones (Carrillo-Angeles *et al.*, 2011). Además, la especie es autoincompatible y es polinizada principalmente por abejas solitarias que tienden a visitar varias flores en una misma planta (52% de las visitas del polinizador principal, que son abejas del género *Diadasia*; Piña *et al.*, 2007; 2010).

MATERIALES Y METODOS

Sistema de estudio

Este trabajo se llevó a cabo en tres poblaciones de *O. microdasys* en la Reserva de la Biosfera de Mapimí, en el norte de México (26° 29' a 26° 52' N y 103° 32' a 103° 58' W, 1100 m s.n.m., 264 mm de precipitación promedio y temperatura media de 20.8 °C; Cornet, 1988). Las poblaciones se localizan en tres hábitats denominados: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH), los cuales difieren en sus características bióticas y abióticas. BH y HPH son contiguos y se localizan sobre los abanicos aluviales en la ladera oeste de un cerro (Cerro San Ignacio), en pendientes promedio de 22.8° y 10°, respectivamente; por otro lado, IDH se localiza en las planicies arenosas entre las dunas que se localizan a 10 km al noroeste del Cerro San Ignacio sobre pendientes promedio menores a 1° (Figura 1; Montaña, 1988). En las tres poblaciones la contribución de la reproducción sexual y de la propagación clonal en la producción de

descendientes es distinta: en HPH la contribución del reclutamiento sexual es más importante, mientras que en BH e IDH la producción de descendientes clonales es más frecuente (Palleiro *et al.* 2006; capítulo 3). Adicionalmente, la distribución espacial de los genets y los ramets muestra una variación en las diferentes poblaciones, en BH los ramets presentan una distribución más agregada que en HPH e IDH, y hay una frecuencia mayor de genets con ramets agregados. En contraste con BH y HPH, donde los genets también se distribuyen de manera agregada, en IDH la distribución de los genets es aleatoria (Carrillo-Angeles *et al.* 2011).

Unidades de muestreo e identificación de genets y ramets

En cada una de las poblaciones durante junio de 2007 se establecieron 10 parcelas circulares de 18 metros de radio (área de 1017.9 m²), cuyo centro fue una planta reproductiva. Las dimensiones de estas parcelas fueron seleccionadas de tal manera que se abarcara el mayor número posible de individuos de *O. microdasys*, los cuales se distribuyen formando franjas densas de aproximadamente 30 m por 50 a 70 m, entre las que se presentan individuos dispersos. La distancia entre los bordes de las parcelas circulares en cada población varió de 20 a 100 m. A cada una de las plantas reproductivas dentro de cada parcela se le asignó un número, se marcó con una etiqueta metálica y se graficó en un plano de distribución espacial empleando un sistema de coordenadas polares (medidas de la distancia y el azimut entre la planta focal y las plantas dentro del área).

Para determinar el genotipo multilocus de los individuos se colectó una muestra de tejido fresco (10 g aproximadamente) de un cladodio recién producido de cada una de las plantas dentro de las parcelas (bajada $n = 127$, dunas $n = 155$ y ladera-pie de monte $n = 150$). Las muestras se colocaron en bolsas estériles de polietileno de 5 cm de longitud, con 5 g de sílica gel, y se

etiquetaron con el número de planta, el número de parcela y el hábitat, para posteriormente hacer los análisis moleculares.

El kit de extracción FastDNA kit (Q-BIOgene) se empleó para extraer el ADN de las muestras. Posteriormente se emplearon marcadores moleculares ISSR (Inter.-Simple Sequence Repeats) en la amplificación del ADN. Los primers utilizados fueron el 842, 827 y 817. Las reacciones de amplificación de ADN se realizaron en un volumen total de mezcla de reacción de 15 µl conteniendo buffer PCR 1 x (BIOGENICA), MgCl₂ 2.0 mM (BIOGENICA), dNTPs 0.2 mM (Invitrogen), 1U Taq (Amplificasa-BIOGENICA), 1.3-2 ng/µl de DNA de *O. microdasys* y agua purificada (SIGMA). Se utilizó un termociclador PTC-100 (MJ Research, Inc.) programado con un periodo de 4 min a 94 °C seguido por 36 ciclos con 30 s a 94 °C, 45 s a 52° y 2 min a 72 °C; y un periodo final de 7 min a 72 °C. Los productos de la amplificación se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.4% en buffer TBE 0.5X, a 120V durante 4 horas y 30 minutos, y teñidos en una solución de bromuro de etidio al 0.001% para visualizar las bandas bajo una lámpara de luz UV. Se obtuvieron imágenes digitales de los geles a partir de las cuales, se generaron las matrices con los pesos moleculares de las bandas para cada individuo (1 presencia, 0 ausencia) empleando el programa Lab Works (Media Cybernetics, UVP Inc. 1998). La reproducibilidad de las bandas se probó empleando la reextracción y amplificación de 76 muestras seleccionadas aleatoriamente (93% de 129 bandas seleccionadas originalmente fueron reproducibles).

Producción de frutos con semilla y plantlets en los individuos focales

Todas las flores que abrieron por día (la antesis floral dura un día) durante el mes de abril, en el periodo de floración de 2009 se marcaron con una etiqueta metálica de 1 × 0.5 cm, para evaluar

la producción de frutos con semillas y de plantlets producidos en las plantas focales en cada vecindario local (parcela circular). En la etiqueta se registró el hábitat, el número de parcela, el número de la planta focal, el día en que abrió la flor y el número de flor. Debido a que es común que la larva de *Olycella* aff. *junctolineella* ataque los botones de *O. microdasys*, se les aplicó diariamente un insecticida para evitar el daño de las flores. No obstante, a pesar de esta medida varios botones fueron dañados por la larva, por lo que las flores correspondientes se excluyeron en el cálculo de las variables dependientes (ver texto abajo). Se siguió el desarrollo de las flores marcadas hasta mediados del mes de mayo y se colectaron diariamente los frutos que se abortaron durante el periodo de seguimiento. Al final del periodo de evaluación se colectaron todos los frutos que todavía permanecían en las plantas focales. Aunque estos frutos aún estaban inmaduros, ya contenían semillas, por lo que se colectaron para evitar que se perdieran, ya que las semillas terminan de madurar en el periodo de junio a agosto y muchos de los frutos son consumidos por animales a lo largo del periodo de floración-fructificación.

Para evaluar la producción de plantlets en un ambiente controlado, en mayo de 2009 se colocó una capa de sustrato de aproximadamente 1.5 cm de profundidad, el cual fue tomado del área de estudio, cubriendo toda la superficie de una mesa de 0.8 × 2.5 m. Todos los frutos abortados (provenientes de botones no atacados por larvas de *Olycella* aff. *junctolineella*) de las plantas focales se distribuyeron de manera equidistante (~ 10 cm entre uno y otro) sobre la capa de sustrato sin riego en un invernadero (UAM-Xochimilco). La ubicación de los frutos de las diferentes plantas focales se asignó de manera aleatoria sobre el área cubierta por el sustrato, y la mesa que contenía el sustrato fue cubierta con una capa de malla de sombra (~ 40 % de extinción de RFA) colocada a 30 cm aproximadamente sobre la superficie de la mesa, para simular las condiciones de sombra que proporcionan los individuos adultos a los plantlets en condiciones naturales. A mediados de julio de 2009 se registró el número de frutos abortados que enraizaron.

El número de frutos con semilla y de frutos abortados que enraizaron (plantlets) se emplearon para calcular la proporción de flores (no atacadas por larva) que producen frutos maduros (F_{set}) y la proporción de flores que producen plantlets (P_{set}) a partir de cada uno de los ramets focales, y estas variables de respuesta se compararon entre los hábitats mediante bootstrap con el programa DataPilot 1.03 (Two Pilots Inc. 2003)

Variación de las características del vecindario local entre las poblaciones

Para caracterizar el vecindario de cada ramet focal se utilizaron 18 variables que fueron clasificadas como sigue: 1) características genéticas del vecindario, 2) características espaciales del vecindario, 3) descriptores de la densidad floral y 4) tamaño de la planta focal (Cuadro 1). En el cálculo de las variables abreviadas como G/N_F , PPG_f , F_f , F_T , PF_f y F_v/F_f en el Cuadro 1, sí se consideraron las flores del ramet focal provenientes de botones dañados por *Olycella aff. junctolineella*, debido a que estas flores pueden contribuir como donadores de polen y a que pueden tener un efecto sobre la atracción y el movimiento de los polinizadores, y se excluyeron las flores de los ramets vecinos correspondientes a los días en que los ramets focales no produjeron flores.

Para analizar si los vecindarios difieren entre las poblaciones, los valores de las diferentes variables que se calcularon para las parcelas se compararon mediante un bootstrap con el programa DataPilot 1.03 (Two Pilots Inc. 2003). Posteriormente, se hizo un análisis discriminante con el programa JMP 7.0 (SAS Institute Inc.) para identificar las variables que determinan las diferencias entre los vecindarios de las tres poblaciones (BH, HPH e IDH). Para seleccionar las variables que se utilizaron en el análisis discriminante se hicieron análisis de correlación entre las variables de cada grupo (es decir, características genéticas del vecindario,

características espaciales del vecindario y descriptores de la densidad floral) utilizando el coeficiente de correlación Rho de Spearman, debido a que muchas de las variables independientes no pudieron normalizarse (Kachigan, 1986). El poder explicativo de cada una de las variables correlacionadas se evaluó incluyendo una a la vez en el modelo discriminante y observando la significancia estadística del mismo (Kachigan, 1986; Quinn y Keough, 2003). De este modo, el análisis final se hizo con las variables no correlacionadas que dieron como resultado el modelo significativo que maximizó las diferencias entre las poblaciones (Apéndice A).

Efecto de las características del vecindario en la reproducción sexual y clonal de los ramets

Para evaluar las características del vecindario local que influyen en la producción de frutos con semillas y de los plantlets en los ramets de *O. microdasys*, los valores de *Fset* y *Pset* (transformadas con la función arco seno para normalizar los datos) se emplearon como variables dependientes en modelos de regresión múltiple, utilizando como variables independientes las características del vecindario local (descritas en el Cuadro 1). Para seleccionar las variables usadas en los modelos de regresión múltiple se hicieron análisis de correlación con las variables independientes (correlación Rho de Spearman), y los modelos se construyeron utilizando el procedimiento de eliminación regresiva (Kachigan, 1986) para evaluar el efecto de cada variable sobre el coeficiente de correlación múltiple. La relación de *Fset* y *Pset* con las características del vecindario local se analizaron de manera separada. La correlación de las variables empleadas en los análisis de regresión múltiple se muestra en el Apéndice B.

RESULTADOS

Producción de frutos con semilla y plantlets en los individuos focales

La producción de frutos (P_{set}) fue significativamente más alta en IDH que en BH y HPH (Figura 2a). De las flores que no fueron atacadas por las larvas la proporción que se aborta y muere (no forma plantlets) fue de 0.16 ± 0.05 (promedio \pm E. E.) en BH, 0.28 ± 0.11 en HPH y de 0.12 ± 0.04 en IDH, pero las diferencias no fueron significativas entre las poblaciones ($P > 0.05$). La proporción de flores que se abortaron debido al daño ocasionado por las larvas de *Olycella aff. junctolineella* fue de 0.23 ± 0.05 (promedio \pm E. E.) en BH, 0.30 ± 0.045 en HPH y de 0.06 ± 0.02 en IDH, y las diferencias sólo fueron significativas entre IDH y las otras dos poblaciones ($P = 0.0003$). Todas las flores de uno de los individuos de HPH se abortaron por el daño causado por las larvas, por lo que no se consideraron en los análisis posteriores. La producción de frutos con semillas (F_{set}) fue más alta en IDH que en BH y HPH (Figura 2a), y el patrón contrario se observó para la producción de plantlets (P_{set}) (Figura 2b).

Variación de las características de los vecindarios locales entre poblaciones

Los vecindarios locales de los ramets focales mostraron diferencias entre las poblaciones en algunas de las medidas correspondientes a cada grupo de variables (i. e. genéticas, espaciales y descriptores de la densidad floral). En HPH la distancia genética promedio entre los vecinos y la planta focal fue menor que en BH e IDH cuando se consideraron sólo a los individuos reproductivos (GD_{IR} , Figura 3a, Cuadro 2), cuando se consideraron a todos los individuos (i.e. reproductivos y no reproductivos) (GD_{IT} , Cuadro 2) y sólo a los individuos reproductivos con su

número de flores (GD_F , Cuadro 2). Por otro lado, la proporción de genotipos distinguibles fue menor en IDH que en las otras dos poblaciones cuando se consideraron los individuos reproductivos (G/N_{IR}) y a los individuos reproductivos con su número de flores (G/N_F , figura 3b y 3c, Cuadro 2), indicando que los vecindarios genéticos en este hábitat son más clonales. La proporción de genotipos distinguibles incluyendo los individuos reproductivos y no reproductivos (G/N_T , Cuadro 2) y la proporción de flores con el mismo genotipo que la planta focal (PF_{G_F} , Cuadro 2) no fueron distintas entre las poblaciones ($P > 0.05$, Cuadro 2). Respecto a las características espaciales, la distribución espacial de los individuos dentro del vecindario (PDE) es agregada en BH, mientras que en HPH e IDH los individuos presentan una distribución aleatoria (Figura 3d, Cuadro 2), el resto de las variables que definen las características espaciales del vecindario genético no presentaron diferencias significativas entre los hábitats ($P > 0.05$, Cuadro 2). En general, la cantidad de flores en los vecindarios locales de los ramets focales de IDH fue más alta que en las otras dos poblaciones (F_f , Figura 3e; F_v , $P < 0.003$ y F_T , $P < 0.0007$, Cuadro 2) encontrándose un mayor número de flores donadoras de polen por cada flor del ramet focal (F_v/F_f , figura 3f, Cuadro 2), La proporción de flores del ramet focal (PF_f) no fue distinta entre las poblaciones ($P > 0.05$, Cuadro 2). Los valores de las 18 variables para cada vecindario se muestran en el Apéndice C.

Con excepción de seis, la mayoría de las parcelas circulares (vecindarios locales) se agruparon en el análisis discriminante con otras de la misma población (Figura 4). La primera función discriminante explicó el 83.9% de la variación y separa a la población IDH de las poblaciones BH y HPH (prueba de Kruskal-Wallis: $H = 16.12$, $P = 0.0003$, 2 g. l.; Figura 5a), mientras que la segunda función discriminante explicó el 16.1% restante de la variación, separando a la población HPH de las población BH ($H = 7.80$, $P = 0.0202$, 2 g. l.; Figura 5b). Las variables con mayor contribución en la primera función discriminante fueron la proporción de

genotipos distinguibles calculada a partir del número de flores de cada genotipo (G/N_F), el número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal (F_v/F_f) y el número de flores en la planta focal (F_f) (Figura 4). Por otro lado, las variables con mayor contribución en la segunda función discriminante fueron el índice del patrón de distribución espacial del vecindario (PDE), la distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario (GD_{IR}) y la proporción de genotipos distinguibles calculada a partir del número de flores de cada genotipo (G/N_F) (Figura 4).

Efecto de las características del vecindario en la reproducción sexual y clonal de los ramets

Las características del vecindario genético que más influyen en la producción de frutos con semillas y plantlets son distintas entre las poblaciones. En las poblaciones BH y HPH, las cuales presentaron una densidad de flores más baja (promedio \pm E. E. de flores en el área del vecindario: 174 ± 49 y 124 ± 41 , respectivamente), la proporción de flores que se desarrollan en frutos con semillas (F_{set}) en el ramet focal es más alta cuando sus flores representan una proporción mayor del total de flores en el vecindario local (variable PF_f), y cuando la agregación y / o la densidad de los individuos reproductivos en el vecindario son más altas (variables PDE , DIR y SD_{IR}) (Cuadro 3). Por otro lado, el P_{set} de los ramets focales en la población BH es más alto en los vecindarios donde la densidad y la proporción de genotipos distinguibles de los ramets reproductivos tienen valores más altos, mientras que en la población HPH el P_{set} tiende a ser más alto cuando la distancia genética entre el ramet focal y sus vecinos es mayor (GD_{IR}), y los vecinos reproductivos están más cercanos y distribuidos aleatoriamente (Cuadro 3).

En la población IDH, la cual tuvo la densidad más alta de flores (promedio \pm E. E. de flores en el área del vecindario: 471 ± 112), el F_{set} es más alto en los vecindarios que tuvieron

valores más altos de la distancia genética entre los vecinos reproductivos y el ramet focal (GD_{IR}) y de la proporción de genotipos distinguibles calculada a partir del número de flores (G/N_F) de cada genotipo, mientras que el $Pset$ presenta una relación contraria con las variables anteriores (Cuadro 3).

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio sugieren que la producción de frutos con semillas y la producción de plantlets en los ramets de *O. microdasys* son dependientes de los factores que influyen en los sistemas de cruce en el vecindario local (i. e. en áreas relativamente pequeñas dentro de una población), pero la importancia de los diferentes factores, dependen fuertemente de la abundancia de las flores y de los individuos reproductivos en las poblaciones. En *O. microdasys* encontramos que estas dos variables separan claramente los vecindarios reproductivos locales entre los hábitats. Este resultado es congruente con los valores más bajos de distancia genética entre todos los pares de ramets reproductivos en HPH, en contraste con BH e IDH (capítulo 3). En HPH los valores relativamente bajos de distancia genética entre los ramets pueden ser el resultado de niveles más altos de reclutamiento de los descendientes de origen sexual (90% de los descendientes, capítulo 3), los cuales se establecen distribuyéndose en forma aleatoria dentro de los parches con una densidad alta de individuos de *O. microdasys* (Carrillo-Angeles *et al.*, 2011), así como de un mayor número de migrantes por generación entre los parches en esta población (capítulo 3).

En plantas polinizadas por animales el éxito reproductivo de los individuos es afectado por las características de su vecindario local, debido a que los animales tienden a forrajear maximizando la eficiencia en la adquisición de recursos (Pyke, 1981; Creswell, 1997; Bosch y

Waser, 1999). La densidad y la distribución espacial de los individuos reproductivos y de las flores pueden afectar los patrones de forrajeo de los polinizadores, y en consecuencia pueden influir en el número de plantas reproductivas y en el número de flores por planta que visitan, en la cantidad de polen que reciben los estigmas y en la producción de semillas (Bosch y Waser, 2001; Wilcock y Neiland, 2002; Ghazoul y Shankeer, 2004; Field *et al.* 2005). En *O. microdasys* la relación que se observa en las poblaciones de la bajada (BH) y de la ladera-pie de monte (HPH) entre la producción de frutos con semilla en los ramets focales y las características espaciales de sus vecindarios, son el resultado de la influencia de los factores tales como la densidad y la distribución espacial de los individuos reproductivos sobre el comportamiento de sus polinizadores (abejas del género *Diadasia*, Piña *et al.*, 2007). En estas poblaciones, un mayor número de flores en los ramets focales y la agregación de individuos reproductivos cuando la densidad de flores es baja en los vecindarios pueden incrementar la atracción de los polinizadores y con ello las probabilidades de recibir mayor cantidad de polen. Al mismo tiempo, una densidad más alta de vecinos reproductivos en el vecindario hace posible que los ramets focales reciban una proporción más alta de polen compatible. Una baja densidad de flores en el vecindario local o en las poblaciones de plantas polinizadas por abejas reduce la abundancia de los polinizadores y éstos tienden a visitar un menor número de plantas reproductivas y un mayor número de flores por planta; lo cual genera condiciones de deficiencia de polen (i. e. la deposición de una baja cantidad de polen en los estigmas; Wilcock y Neiland, 2002), incrementa la carga de polen por autocruza y reduce la producción de semillas (Schaal, 1978; Bosch y Waser, 1999; Field *et al.*, 2005).

Contrario a lo esperado, la relación del *Pset* con las características espaciales y genéticas del vecindario en las poblaciones BH y HPH, sugiere que la producción de plantlets en los ramets focales, de manera similar que la producción de frutos con semillas, es favorecida por los factores

que incrementan las probabilidades de que el ramet focal reciba una mayor cantidad de polen y una proporción más alta de polen compatible. Una posible explicación para este resultado es que la formación de plantlets requiere la acumulación de una cantidad mínima de recursos en los frutos abortados, lo cual les permite formar raíces y cladodios cuando éstos caen al suelo. Un análisis de selección mostró que hay un claro patrón de generar plantlets cuando éstos tienen un tamaño promedio de *ca.* 2 cm (Palleiro *et al.*, 2006). Durante el desarrollo de los frutos es más probable que se aborten aquéllos que provienen de flores que no reciben polen o que reciben bajas cantidades de polen para la fertilización de los óvulos, y que en consecuencia tienen un número bajo de semillas en desarrollo (Winsor *et al.*, 1987; Niessenbaum, 1999; Wilcock y Neiland, 2002). Así, la relación positiva que muestra el *Pset* con factores como la densidad de individuos reproductivos, la proporción de genotipos distinguibles y la distancia genética entre el ramet focal y los ramets vecinos, probablemente sea el resultado de la acumulación de recursos cuando las flores reciben una cantidad mínima de polen compatible que permite iniciar el desarrollo de algunas semillas antes de que el fruto se aborte, posiblemente por aborto selectivo por parte de la planta focal, ya que en esta especie se ha demostrado la influencia de la limitación por recursos en la producción de frutos (Piña *et al.*, 2007).

La diversidad genética y la diversidad genotípica representadas localmente pueden influir en la frecuencia con que se llevan a cabo cruza exitosas (i. e. que producen semillas viables) y en la probabilidad de dejar descendencia por reproducción sexual. En muchas especies de plantas clonales y no clonales, una gran cantidad de semillas, al igual que los propágulos vegetativos, son dispersados a corta distancia de la planta madre, por lo que es común que los individuos vecinos tengan una relación genética más estrecha (Campbell y Dooley, 1992; Chung y Epperson, 1999; Jacquemyn *et al.*, 2005; Olson *et al.*, 2006). En estos casos, las cruza entre individuos espacialmente cercanos pueden llevar a la expresión de alelos deletéreos a la reducción de la

riqueza alélica de los alelos de incompatibilidad, al desperdicio de grandes cantidades de polen y a la producción de progenie con baja adecuación (Handel, 1985; Waser y Price, 1991; Eckert, 2000; Hoebee y Young 2001, Charpentier 2002; Aizen y Harder; 2007). En *O. microdasys*, a diferencia de lo que ocurre en las poblaciones BH y HPH, en la población IDH las características genéticas del vecindario local, en particular la proporción de genotipos distinguibles calculada a partir del número de flores de cada genotipo y la distancia genética entre los vecinos reproductivos y el ramet focal, tienen más influencia en la producción de frutos con semillas y de plantlets que las características espaciales del vecindario (p. ej., la densidad de individuos reproductivos, la distribución espacial de los mismos y la proporción de flores del ramet focal). Este resultado puede deberse a que en la población IDH una densidad más alta de flores e individuos reproductivos pudo haber favorecido una abundancia más alta de polinizadores y reducir el efecto de la deficiencia de polen, lo cual pudo incrementar la respuesta del *Fset* y el *Pset* al balance entre la proporción de polen compatible e incompatible que recibe el ramet focal, por efecto de la geitonogamia intraramet e interramets, y posiblemente también al efecto de la depresión endogámica por la cruce entre individuos emparentados (Carrillo-Angeles *et al.*, 2011).

En resumen, la producción de frutos con semillas en los ramets de *O. microdasys* está favorecida por los factores que incrementan la disponibilidad de polen (en cantidad y en calidad) para la fertilización de los óvulos, mientras que la producción de plantlets depende principalmente de la calidad del polen, cuando la deficiencia de polen no es una limitante, y de la calidad y la cantidad de polen cuando las probabilidades de que los ramets experimenten deficiencia de polen son altas. No obstante, es importante considerar que en condiciones similares de densidad floral en las tres poblaciones, la respuesta del *Fset* y el *Pset* a las variables empleadas en este estudio para describir el vecindario local de los ramets puede ser distinta. Aunque en el periodo de floración (2009) en el que se hizo este estudio la producción de flores fue

considerablemente más baja en BH y HPH que en IDH, estas condiciones no son constantes en todos los periodos reproductivos (obs. pers.). Así, es probable que en las poblaciones BH y HPH, la producción de frutos con semillas y la producción de plantlets muestren una relación más estrecha con las características genéticas del vecindario en los periodos reproductivos con mayor abundancia de flores, similar a lo que se encontró en la población IDH. Así, esperaríamos que la respuesta del *Fset* y el *Pset* de los ramets a las características de sus vecindarios locales sea distinta, aún cuando la abundancia de flores sea similar en las tres poblaciones, debido a que las poblaciones tienen diferencias marcadas en la diversidad genética y genotípica, en el grado de parentesco entre los individuos y en la distribución espacial de los genotipos (capítulo 3; Carrillo-Angeles *et al.*, 2011), Por otro lado, la predominancia de genotipos más heterocigos en la población HPH y de genotipos más homocigos en las poblaciones BH e IDH (capítulo 3) abre la posibilidad a la influencia de otros factores como el nivel de depresión endogámica sobre la producción de frutos con semillas y de plantlets, aunado a la disponibilidad de recursos, lo cual se ha visto que tiene un efecto en el aborto de los frutos de *O. microdasys* (Piña *et al.*, 2007).

Desafortunadamente, se desconocen los niveles de depresión endogámica en las tres poblaciones que permitan hacer inferencias sobre su efecto en la reproducción sexual y clonal a través de plantlets en esta especie. Experimentos realizados en estudios previos en la población BH (Piña, 2006; Piña *et al.*, 2007) sugieren que la depresión endogámica influye de manera importante, ya que se ha encontrado que la producción de frutos y de semillas por fruto producto de la polinización natural son más bajos que los que se obtienen cuando las flores son polinizadas con una mezcla de polen de individuos localizados a distancias mayores de 40 m (37.2 ± 3.3 vs 44.9 ± 2.9 semillas por fruto y $47\% \pm 0.02$ vs $58.0\% \pm 0.02$ frutos/flores, respectivamente; Piña *et al.*, 2007). Asimismo, en experimentos de cruza con individuos localizados a distintos intervalos de distancia se ha encontrado que las cruza con individuos localizados a distancias de 10 m o

menores, tienden a producir menor cantidad de frutos con semillas y menor número de semillas que las cruzas con individuos localizados a más de 80 m (Piña, 2006). Adicionalmente, un resultado del presente estudio, es que en las poblaciones BH e IDH, la mayoría de los frutos que no forman semillas se convierten en plantlets (correlación entre F_{set} y P_{set} : $r^2 = 0.74$, $P = 0.0014$ y $r^2 = 0.85$, $P = 0.0001$, respectivamente), mientras que en la población HPH una gran cantidad de los frutos que no forman semillas mueren (correlación entre F_{set} y P_{set} : $r^2 = 0.099$, $P = 0.409$). Una posible explicación para este resultado y que es necesario poner a prueba, es que la capacidad de los frutos abortados de formar plantlets esté asociada a niveles más bajos de depresión endogámica biparental, lo cual puede favorecer que la mayoría de frutos que se abortan sirvan como plantlets. Debido a que en las poblaciones BH e IDH los genotipos son más homocigos y en HPH son más heterocigos (capítulo 3), es posible que las poblaciones BH e IDH experimenten niveles más bajos de depresión endogámica (debido a una purga más eficiente de alelos deletéreos; Charlesworth y Charlesworth, 1987; Hartl y Clark, 1989; Byers y Waller, 1999) que la población HPH.

En conjunto, los resultados de este estudio sugieren que la producción de frutos con semillas y la producción de plantlets en los ramets de *O. microdasys* dependen en gran medida de los factores que influyen en los sistemas de cruce en áreas relativamente pequeñas (el vecindario local), sin embargo, la variación en la producción de flores en las diferentes poblaciones dificulta el análisis del efecto directo de los factores que difieren entre las poblaciones (e. g., la distribución espacial de los individuos, el arreglo espacial de los genotipos, el parentesco entre los individuos, la diversidad clonal, etc.) sobre la reproducción sexual y clonal a través de plantlets. No obstante, debido a que la densidad de flores puede ser distinta en las tres poblaciones en diferentes periodos reproductivos, puede ser útil repetir las evaluaciones en distintos periodos de floración para afinar las diferencias que encontramos entre las poblaciones.

REFERENCIAS

- Aizen, M. A. y Basilio A. (1995) Within and among flower sex-phase distribution in *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *Canadian Journal of Botany*, 73, 1986-1994.
- Aizen, M. A. y Harder L. D. (2007) Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology*, 88, 271-281.
- Anthony, M. (1954) Ecology of the Opuntiae in the big bend region of Texas. *Ecology*, 35, 334-347.
- Arizaga, S. y Ezcurra E. (1995) Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macroacantha* flowering stalks. *Oecologia*, 101, 329-334.
- Arizaga, S. y Ezcurra E. (2002) Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid-land succulent rosette. *American Journal of Botany*, 89, 632-641.
- Byers, D. L. y Waller D. M. (1999) Do plant populations purge their genetic load? Effects of population size and mating history on inbreeding depression. *Annual Review in Ecology and Systematics*, 30, 479-513.
- Bosch, M. y Waser N. M. (1999) Effects of local density on pollination and reproduction in *Delphinium nuttallianum* and *Aconitum columbianum* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany*, 86, 871-879.
- Bosch, M. y Waser N. M. (2001) Experimental manipulation of plant density and its effect on pollination. *Oecologia*, 126, 76-83.
- and reproduction of two confamilial montane herbs
- Bravo-Hollis, H. (1978) Las cactáceas de México. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Buxbaum, F. (1950) Morphology of Cacti. Section III. Morphology of Fruits and Seeds. Abbey Garden Press, Pasadena, California, USA.
- Cahalan, C. M. y Glidon C. (1985) Genetic neighbourhood sizes in *Primula vulgaris*. *Heredity*, 54, 65-70.
- Campbell, D. R. y Dooley J. L. (1992) The spatial scale of genetic differentiation in a hummingbird-pollinated plant: comparison with models of isolation by distance. *The American Naturalist*, 139, 735-748.

- Carrillo-Angeles, I. G., Golubov J., Milligan B. G. y Mandujano M. C. 2011. Spatial distribution pattern of a clonal species: effects of differential production of clonal and sexual offspring. *Evolutionary Ecology*, DOI 10.1007/s10682-011-9472-z.
- Charlesworth, D y Charlesworth B. (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 237-268.
- Charpentier, A. (2002) Consequences of clonal growth for plant mating. *Evolutionary Ecology*, 15, 521-530.
- Charpentier, A., Grillas P. y Thompson J. D. (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.
- Chung, M. Y. y B. Epperson. 1999. Spatial genetic structure of clonal and sexual reproduction in populations of *Adenophora grandiflora* (Campanulaceae). *Evolution* 53: 1068-1078.
- Clark-Tapia, R., C. Alfonso-Corrado, M. C. Mandujano y Molina-Freaner F. (2006) Reproductive consequences of clonal growth in *Stenocereus eruca*, a rare clonal cactus of the Sonoran desert. *Evolutionary Ecology*, 20, 131-142.
- Cornet, A. (1988) Principales características climáticas. en C. Montaña (ed.), Estudio integrado de los recursos, vegetación, suelo y agua en la Reserva de la Biosfera de Mapimí. I. Ambiente natural y humano, 45-76. Instituto de Ecología A. C., Xalapa Veracruz, México.
- Creswell, J. E. (1997) Spatial heterogeneity, pollinator behavior and pollinator-mediated gene flow: bumblebee movements in variously aggregated rows of oil-seed rape. *Oikos*, 78, 546-556.
- de Cauwer, I., M. Dufay, J. Fuguen y J. Arnaud. (2010) Effects of fine-scale genetic structure on male mating success in gynodioecious *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. *Molecular Ecology*, 19, 1540-1558.
- Eckert, C. G. (2000) Contribution of autogamy and geitonogamy to self-fertilization in a mass flowering, clonal plant. *Ecology*, 81, 532-542.
- Eckert, C. G. (2002) The loss of sex in clonal plants. *Evolutionary Ecology*, 15, 501-520.
- Eckert, C. G. y Barrett S. C. H. (1994) Inbreeding depression in partially self-fertilizing *Decodon verticillatus* (Lythraceae): population-genetic and experimental analyses. *Evolution*, 48, 952-964.

- Ellstrand, N.C. y Roose M. L. (1987) Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany*, 74,123-131.
- Elmqvist, T. y Cox P. A. (1996) The evolution of vivipary in flowering plants. *Oikos*, 77, 3-9.
- Eriksson, O. (1993) Dynamics of genets in clonal plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 8, 313–316.
- Field, D. L., Ayre D. J. y Whelan R. J. (2005) The effect of local plant density on pollinator behavior and the breeding system of *Persoonia bargoensis* (Proteaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 166, 969-977.
- Fischer, M. y van Kleunen M. (2002) On the evolution of clonal plant histories. *Evolutionary Ecology*, 15, 565-582.
- Ghazoul, J. y Shankeer R. U. (2004) Sex in space: pollination among spatially isolated plants. *Biotropica*, 36, 128-130.
- Gentry, H. S. (1998) *Agaves of continental North America*. The University of Arizona press. USA.
- Groom, M. J. (1998) Allee Effects Limit population viability of an annual plant. *The American Naturalist*, 151, 487-496.
- Handel, S. N. (1985) The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding system. *The American Naturalist*, 125, 367-384.
- Hartl, D. L. y Clark A. G. (1989) *Principles of Population Genetics*. 2nd edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Hicks, D. y Mauchamp A. (1999) Population structure and growth patterns of *Opuntia echios* var. *gigantea* along an elevation gradient in the Galápagos Islands. *Biotropica*, 32, 235-243.
- Hoebee, S. E. y Young A. G. (2001) Low neighbourhood size and high interpopulation differentiation in the endangered shrub *Grevillea iaspicula* McGill (Proteaceae). *Heredity*, 86, 489-496.
- Huff, D. R., Peakall R. y Smouse P. E. (1993) RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss *Buchloe dactyloides* (Nutt) Engelm. *Theoretical and Applied Genetics*, 86, 927-934.
- Jacquemyn, H., Brys R., Honnay O., Hermy M. y Roldán-Ruiz I. (2005) Local forest environment largely affects below-ground growth, clonal diversity and fine-scale spatial

- genetic structure in the temperate deciduous forest herb *Paris quadrifolia*. *Molecular Ecology*, 14, 4479-4488.
- Jones, F. A. y L. S. Comita. (2008) Neighbourhood density and genetic relatedness interact to determine fruit set and abortion rates in a continuous tropical tree population. *Proceedings of the Royal Society B*, 275, 2579-2767.
- Kachigan, S. K. (1986) *Statistical analysis: an interdisciplinary introduction to univariate and multivariate methods*. Radius Press, N.Y. USA.
- Karron, J. D., R. J. Mitchell, K. G. Holmquist, J. M. Bell y B. Funk. (2004) The influence of floral display size on selfing rates in *Mimulus ringens*. *Heredity*, 92, 242-248.
- Krebs, J. C. (1999) *Ecological Methodology*, 2nd edn. Addison Wesley Longman, Inc. U.S.A.
- Kunin, W. E. (1993) Sex and the single mustard: population density and pollinator behavior effects on seed-set. *Ecology*, 74, 2145-2160.
- Kunin, W. E. (1997) Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*. *The Journal of Ecology*, 85, 225-234.
- Montaña, C. (1988) *Estudio integrado de los recursos vegetación, suelo y agua en la Reserva de la Biosfera de Mapimí*. Instituto de Ecología, A.C. Mexico City, Mexico.
- Niesenbaum, R. A. (1999) The effects of pollen load size and donor diversity on pollen performance, selective abortion, and progeny vigor in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). *American Journal of Botany*, 96, 261-268.
- Olson, M. S., Graf A. V. y Niles K. R. (2006) Fine scale spatial structuring of sex and mitochondria in *Silene vulgaris*. *Journal of Evolutionary Biology*, 19, 1190-1201.
- Palleiro, N., M. C. Mandujano y Golubov J. (2006) Aborted fruits of *Opuntia microdasys* (Cactaceae): insurance against reproductive failure. *American Journal of Botany*, 93, 505-511.
- Piña, H. (2006) *Biología reproductiva de Opuntia microdasys (Lehm.) Pfeiffer en el Desierto Chihuahuense*. Tesis de Doctorado. Instituto de Ecología A. C.
- Piña, H., Montaña C. y Mandujano M. C. (2007). Fruit abortion in the Chihuahuan-Desert endemic cactus *Opuntia microdasys*. *Plant Ecology*, 193, 305–313.

- Piña, H., Montaña C. y Mandujano M. C. (2010). *Olycella* aff. *junctolineella* (Lepidoptera: Pyralidae) florivory on *Opuntia microdasys*, a Chihuahuan Desert endemic cactus. *Journal of Arid Environments*, 74, 918–923.
- Pyke, G. H. (1981) Optimal foraging in hummingbirds: rule of movements between inflorescences. *Animal Behaviour*, 29, 889-896.
- Quinn, G. P. y Keough M. J. (2003) *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Schaal, B. A. (1978) Density dependent foraging on *Liatris Pycnostachya*. *Evolution*, 32, 452-454.
- Souto, C. P., Aizen M. A. y Premoli A. C. (2002) Effects of crossing distance and genetic relatedness on pollen performance in *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *American Journal of Botany*, 89, 427-432.
- Youngner, V. B. (1960) Environmental control of initiation of the inflorescence, reproductive structures, and proliferations in *Poa bulbosa*. *American Journal of Botany*, 47, 753-757.
- Warburton, C. L., James E. A., Fripp Y. J., Trueman S. J. y Eallace H. M. (2000) Clonality and sexual reproductive failure in remnant populations of *Santalum lanceolatum* (Santalaceae). *Biological Conservation*, 96, 45-54.
- Waser, N. M. y Price M. V. (1991) Outcrossing distance effects in *Delphinium nelsonii*: pollen loads, pollen tubes, and seed set. *Ecology*, 72, 171-179.
- Wilcock, C. y Neiland R. (2002) Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science*, 7, 270-277.
- Wilson, W. G. y Harder L. D. (2003) Reproductive uncertainty and the relative competitiveness of simultaneous hermaphroditism versus dioecy. *The American Naturalist*, 162, 220-241.
- Winsor, J. A., Davis L. E. y Stephenson A. G. (1987) The relationship between pollen load and fruit maturation and the effect of pollen load on offspring vigor in *Cucurbita pepo*. *The American Naturalists*, 129, 643-656.

Cuadro 1. Variables empleadas para describir el vecindario genético de *O. microdasys*. G/N es la proporción de genotipos distinguibles (Ellstrand y Roose, 1987). La distancia genética para datos binarios se calculó con el método de Huff *et al.* (1993) y el índice del patrón de distribución espacial con el método de Clark y Evans (1954) modificado por Donnelly (Krebs, 1999).

Variable	Descripción	Cálculo de las variables de cada vecindario
Características genéticas del vecindario		
GD_{IR}	Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario.	$GD_{IR} = \bar{D} = \Sigma D/N$ D = distancia genética entre el ramet focal y un ramet reproductivo vecino, y N = número de vecinos reproductivos.
GD_{IT}	Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas).	$GD_{IT} = \bar{D} = \Sigma D/N$ D = distancia genética entre el ramet focal y un ramet vecino, y N = número total de vecinos
GD_F	Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas.	$GD_F = \bar{D} = \Sigma (DF)/N$ D = distancia genética entre el ramet focal y un ramet reproductivo vecino, F = número de flores en el ramet vecino, y N = total de flores en los ramets vecinos
G/N_{IR}	Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas.	G/N_{IR} = número de genotipos en la muestra de ramets reproductivos / número de ramets reproductivos en el vecindario
G/N_{IT}	Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario (plantas reproductivas y no reproductivas).	G/N_{IT} = número de genotipos en la muestra de ramets / número de ramets en el vecindario
G/N_F	Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo.	G/N_F = número de genotipos en la muestra de ramets reproductivos / número de flores en el vecindario
PF_{GF}	Proporción de flores con el mismo genotipo que la planta focal en el vecindario.	PF_{GF} = número de flores del genet al que pertenece el ramet focal / número total de flores en el vecindario
Características espaciales del vecindario		
SD_{IR}	Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario.	$SD_{IR} = \bar{d} = \Sigma d/N$ d = distancia espacial (m) entre el ramet focal y un ramet reproductivo vecino, y N = número de vecinos reproductivos.
SD_{IT}	Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas).	$SD_{IT} = \bar{d} = \Sigma d/N$ d = distancia espacial (m) entre el ramet focal y un ramet vecino, y N = número total de vecinos
SD_F	Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas.	$SD_F = \bar{d} = \Sigma (dF)/N$ d = distancia espacial (m) entre el ramet focal y un ramet reproductivo vecino, F = número de flores en el ramet vecino y N = total de flores en los ramets vecinos
PDE	Patrón de distribución espacial de los ramets reproductivos.	Índice R de Clark y Evans. El valor de R se aproxima a 0 cuando el patrón es agregado, a 1 cuando es aleatorio y a 2.15 cuando es uniforme
DIR	Densidad de individuos reproductivos en el vecindario.	Número de individuos reproductivos en el área del vecindario (1017.9 m ²)
Descriptores de la densidad floral en el vecindario		
F_f	Número de flores en la planta focal.
F_v	Número de flores en las plantas vecinas.
F_T	Número de flores en el vecindario.
PF_f	Proporción de flores del vecindario que son de la planta focal.	PF_f = Número de flores del ramet focal / número total de flores en el vecindario
F_v/F_f	Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal.	F_v/F_f = Número de flores en los ramets vecinos / número de flores del ramet focal
Tamaño de la planta focal		
C_f	Número de cladodios de la planta focal.

Cuadro 2. Valores promedio (\pm E. E.) de las variables utilizadas para describir los vecindarios locales de los ramets de *O. Microdasys* en tres poblaciones: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH).

Variable	Descripción	Población		
		BH	HPH	IDH
Características genéticas del vecindario				
<i>GD_{IR}</i>	Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario.	0.16 \pm 0.02	0.12 \pm 0.01	0.17 \pm 0.03
<i>GD_{IT}</i>	Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas).	0.16 \pm 0.02	0.13 \pm 0.01	0.17 \pm 0.02
<i>GD_F</i>	Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas.	0.16 \pm 0.02	0.12 \pm 0.01	0.17 \pm 0.03
<i>G/N_{IR}</i>	Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas.	0.97 \pm 0.01	0.95 \pm 0.04	0.90 \pm 0.04
<i>G/N_{IT}</i>	Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario (plantas reproductivas y no reproductivas).	0.95 \pm 0.03	0.95 \pm 0.03	0.90 \pm 0.03
<i>G/N_F</i>	Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo.	0.13 \pm 0.03	0.14 \pm 0.03	0.03 \pm 0.01
<i>PFG_F</i>	Proporción de flores con el mismo genotipo que la planta focal en el vecindario.	0.22 \pm 0.07	0.34 \pm 0.07	0.20 \pm 0.07
Características espaciales del vecindario				
<i>SD_{IR}</i>	Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario.	8.56 \pm 0.76	9.18 \pm 0.80	9.28 \pm 0.76
<i>SD_{IT}</i>	Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas).	9.58 \pm 0.49	9.40 \pm 0.52	9.24 \pm 0.49
<i>SD_F</i>	Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas.	9.93 \pm 0.56	9.27 \pm 0.59	9.70 \pm 0.56
<i>PDE</i>	Patrón de distribución espacial de los ramets reproductivos.	0.68 \pm 0.04	0.82 \pm 0.04	0.77 \pm 0.04
<i>DIR</i>	Densidad de individuos reproductivos en el vecindario.	11.60 \pm 2.42	12.44 \pm 2.55	14.60 \pm 2.42
Descriptores de la densidad floral en el vecindario				
<i>F_f</i>	Número de flores en la planta focal.	30.50 \pm 12.79	24.67 \pm 13.50	68.30 \pm 12.79
<i>F_v</i>	Número de flores en las plantas vecinas.	143.90 \pm 76.24	111.44 \pm 80.36	402.40 \pm 76.23
<i>F_T</i>	Número de flores en el vecindario.	174.40 \pm 75.33	133.11 \pm 79.40	470.70 \pm 75.33
<i>PF_f</i>	Proporción de flores del vecindario que son de la planta focal.	0.23 \pm 0.07	0.33 \pm 0.08	0.20 \pm 0.07
<i>F_v/F_f</i>	Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal.	4.54 \pm 2.65	6.50 \pm 2.80	13.60 \pm 2.65
Tamaño de la planta focal				
<i>C_f</i>	Número de cladodios de la planta focal.	198.20 \pm 19.98	241.89 \pm 21.06	199.70 \pm 19.98

Cuadro 3. Relación entre la proporción de flores que se desarrollan para producir frutos con semilla (Asen F_{set}) y plantlets (Asen P_{set}) y las características del vecindario genético en cada población. BH: bajada ($n = 10$), HPH: ladera-pie de monte ($n = 9$) e IDH: interdunas ($n = 10$). Los valores de P significativos de las variables incluidas en los modelos ($P < 0.05$) se muestran en negritas. Los valores de β indican la importancia relativa de cada variable independiente en el modelo y el signo (-) indica que la relación de la variable dependiente con la variable independiente es negativa.. **Características genéticas del vecindario:** GD_{IR} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; G/N_F = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo. **Características espaciales del vecindario:** SD_{IR} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; SD_F = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; PDE = Índice del patrón de distribución espacial del vecindario; DIR = Densidad de individuos reproductivos en el vecindario. **Descriptores de la densidad floral en el vecindario:** PF_f = Proporción de flores del vecindario que son de la planta focal.

Hábitat	Variable dependiente	Variáveis independientes	R^2	P_{modelo}	P	β
BH	Asen F_{set}	PF_f	0.65	0.024	0.0116	0.881
		PDE			0.0250	-0.737
BH	Asen P_{set}	G/N_{IR}	0.72	0.011	0.009	0.71
		DIR			0.055	0.45
HPH	Asen F_{set}	PF_f	0.93	0.017	0.003	1.11
		DIR			0.008	0.84
		$PDE * DIR$			0.035	0.48
		PDE			0.17	0.27
HPH	Asen P_{set}	GD_{IR}	0.89	0.028	0.006	1.57
		SD_{IR}			0.02	-0.87
		$PDE * SD_{IR}$			0.023	-0.65
		PDE			0.35	0.21
IDH	Asen F_{set}	SD_F	0.91	0.008	0.011	0.71
		GD_{IR}			0.006	0.69
		G/N_F			0.008	0.60
		$G/N_F * SD_F$			0.03	0.54
IDH	Asen P_{set}	GD_{IR}	0.84	0.0016	0.001	-0.87
		G/N_F			0.003	-0.70

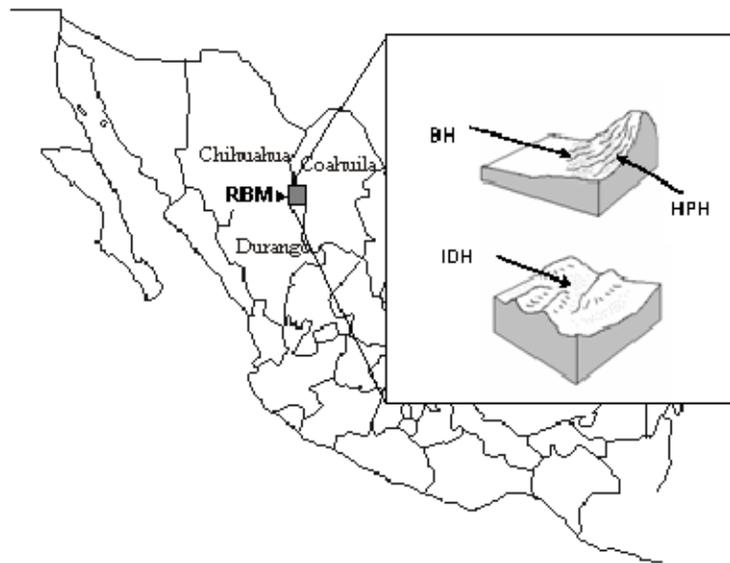


Figura 1. Localización del área de estudio en el norte de México, y esquema de las geoformas características en los tres hábitats que ocupa *Opuntia microdasys*: bajada (BH) ladera-pie de monte, (HPH) e interdunas (IDH) en la Reserva de la Biosfera de Mapimí, Durango, México.

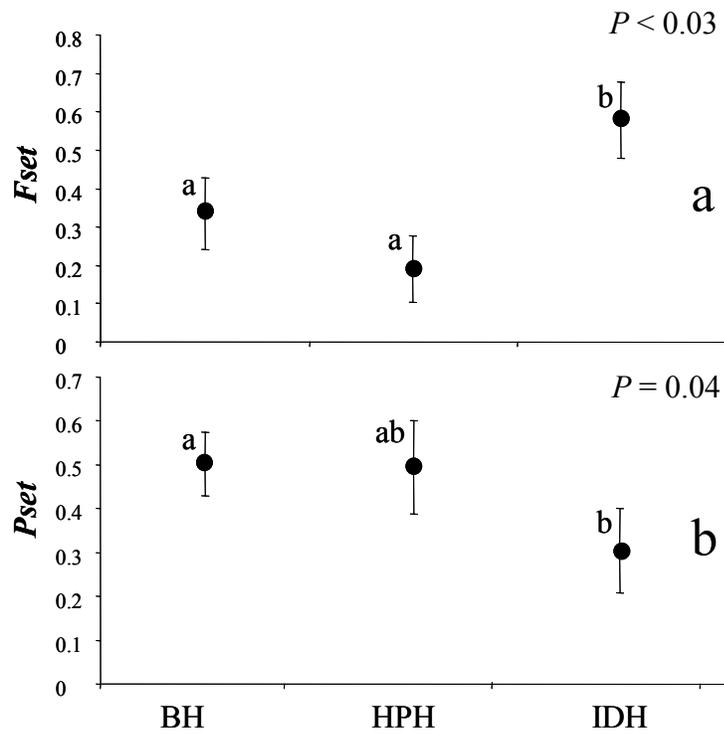


Figura 2. (a) Proporción de flores que se desarrollan produciendo frutos con semillas (F_{set}) y (b) proporción de flores que se desarrollan produciendo plantlets (P_{set}) en tres poblaciones de *O. microdasys*: bajada (BH, $n = 10$), ladera-pie de monte (HPH, $n = 9$) e interdunas (IDH, $n = 10$). Las letras distintas junto a las barras del promedio \pm E. E. indican diferencias significativas entre las poblaciones ($P < 0.05$). Las flores dañadas por la larva de *Olycella* aff. *junctolineella* no están incluidas en esta estimación.

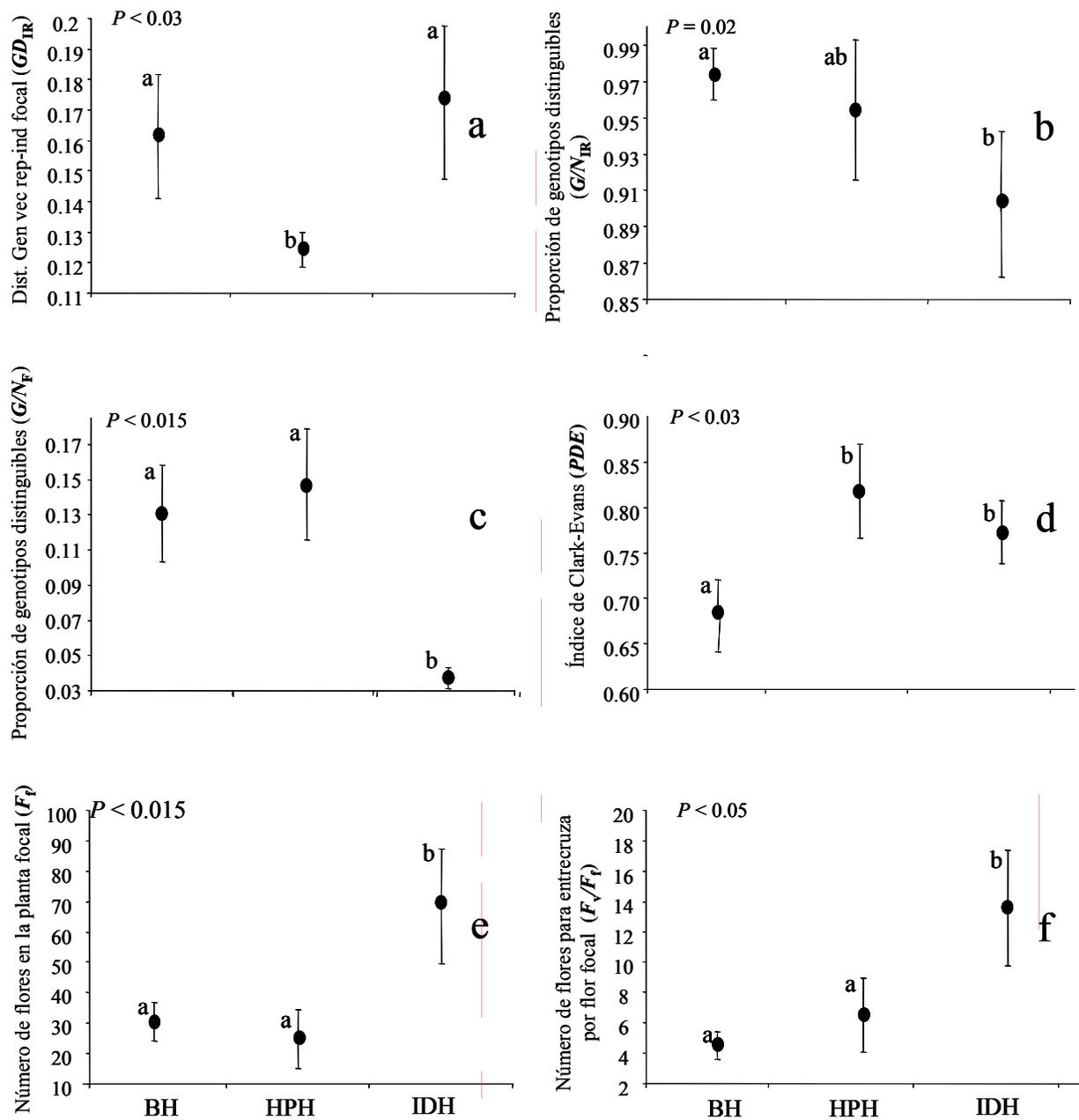
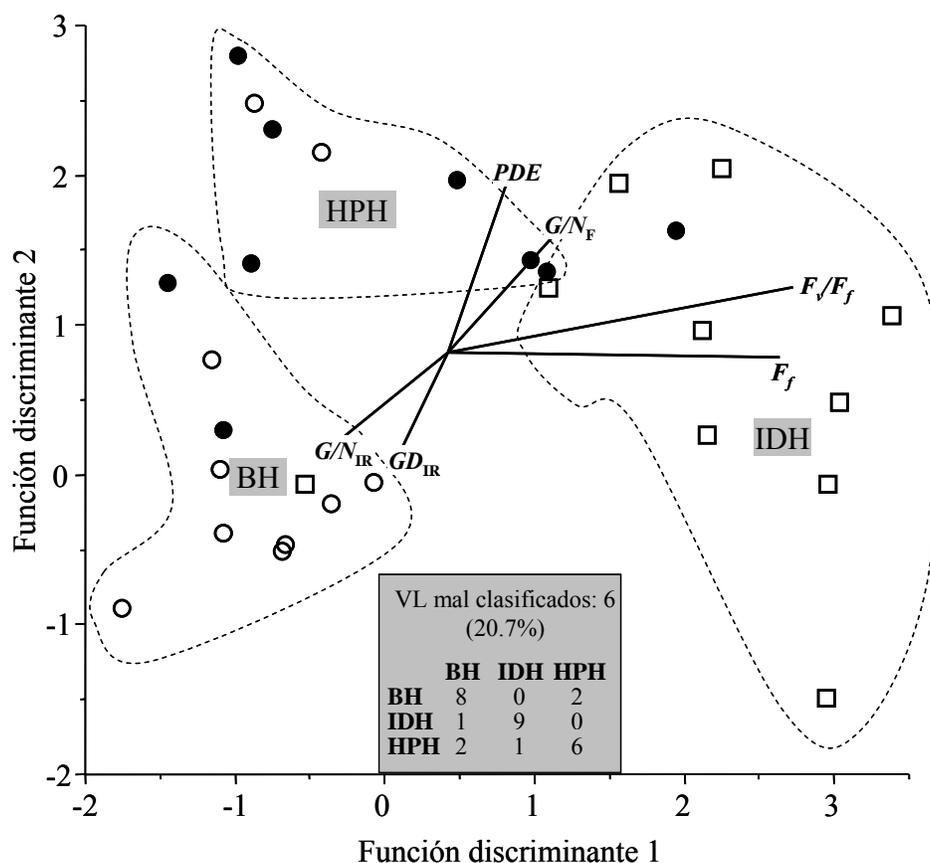


Figura 3. Comparación de las características del vecindario genético entre tres poblaciones de *O. microdasys*: bajada (BH, $n = 10$), ladera-pie de monte (HPH, $n = 9$) e interdunas (IDH, $n = 10$). Las letras distintas junto a las barras del promedio \pm E. E. indican diferencias significativas entre las poblaciones ($P < 0.05$).



CONTRIBUCIÓN DE LAS VARIABLES						
	<i>GD_{IR}</i>	<i>G/N_{IR}</i>	<i>G/N_F</i>	<i>PDE</i>	<i>F_f</i>	<i>F_v/F_f</i>
Función discriminante 1	0.1986	-0.3813*	-0.6617**	0.2378	0.5307**	0.5567**
Función discriminante 2	-0.5845**	-0.0104	0.4274*	0.7414**	-0.3215	-0.0348

Figura 4. Agrupación de los vecindarios locales de 29 ramets focales de *O. microdasys* distribuidos en tres poblaciones: bajada (BH = \circ , $n = 10$), ladera-pie de monte (HPH = \bullet , $n = 9$) e interdunas (IDH = \square , $n = 10$). VL = vecindarios locales. Las parcelas agrupadas en cada población se muestran dentro de los contornos punteados. La contribución o carga de las variables en las dos funciones discriminantes principales se muestran en el cuadro debajo de la figura. Las variables que tienen mayor contribución en cada función discriminante se muestran en negritas. (*) = $P < 0.05$, (**) = $P < 0.005$. **Características genéticas del vecindario:** GD_{IR} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; G/N_{IR} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas; G/N_F = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo. **Características espaciales del vecindario:** PDE = Índice del patrón de distribución espacial del vecindario. **Descriptor de la densidad floral en el vecindario:** F_f = Número de flores en la planta focal; F_v/F_f = Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal.

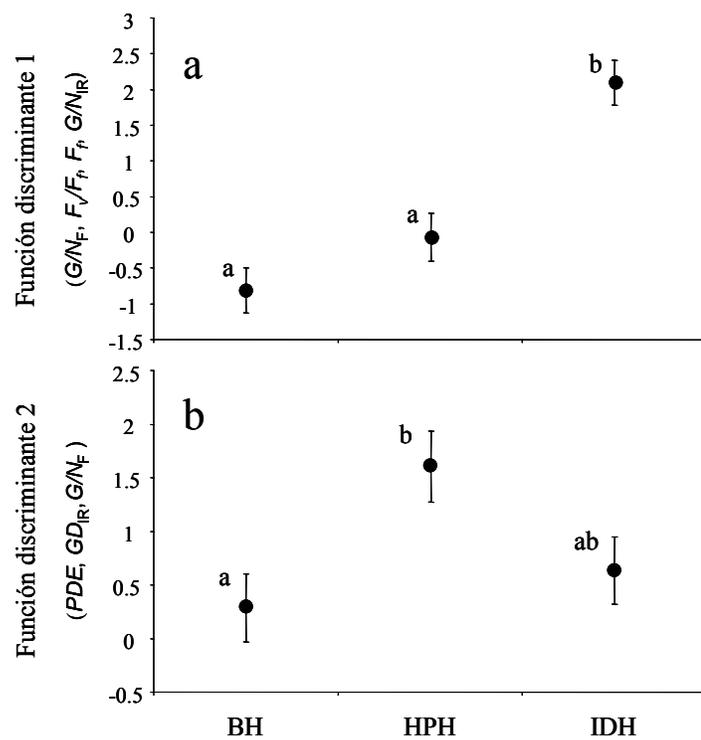


Figura 5. Comparación de los valores de las dos funciones discriminantes principales entre las poblaciones de *O. microdasys*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH). Las letras distintas junto a las barras del promedio $\pm E$. E . indican diferencias significativas entre las poblaciones ($P < 0.05$). Las variables con mayor contribución a las dos funciones discriminantes se muestran entre paréntesis en el eje Y, ordenadas por su importancia.

Apéndice A

Correlación entre las variables incluidas en cada uno de los grupos de características de los vecindarios locales de 29 ramets focales de *O. microdasys*. **Características genéticas del vecindario:** GD_{IR} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; GD_{IT} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); GD_F = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; G/N_{IR} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas; G/N_{IT} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario (plantas reproductivas y no reproductivas); G/N_F = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo; PGF_F = Proporción de flores con el mismo genotipo que la planta focal en el vecindario. **Características espaciales del vecindario:** SD_{IR} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; SD_{IT} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); SD_F = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; PDE = Índice del patrón de distribución espacial del vecindario; DIR = Densidad de individuos reproductivos en el vecindario. **Descriptores de la densidad floral en el vecindario:** F_f = Número de flores en la planta focal; F_v = Número de flores en las plantas vecinas; F_T = Número de flores en el vecindario; PF_f = Proporción de flores del vecindario que son de la planta focal; F_v/F_f = Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal. **Tamaño de la planta focal:** C_f = Número de cladodios de la planta focal.

Características genéticas				Características espaciales				Descriptores de la densidad floral			
variable 1	variable 2	ρ	P	variable 1	variable 2	ρ	P	variable 1	variable 2	ρ	P
GD_{IR}	GD_{IT}	0.968	<.0001	SD_{IR}	SD_{IT}	0.960	<.0001	F_f	F_v	0.3979	0.0326
GD_{IR}	GD_F	0.941	<.0001	SD_{IR}	SD_F	0.790	<.0001	F_f	F_T	0.5603	0.0016
GD_{IR}	G/N_{IR}	-0.225	0.2406	SD_{IR}	PDE	0.315	0.0963	F_f	PF_f	0.2442	0.2017
GD_{IR}	G/N_{IT}	-0.132	0.4951	SD_{IR}	DIR	-0.067	0.7291	F_f	F_v/F_f	-0.2415	0.2069
GD_{IR}	G/N_F	-0.273	0.1519	SD_{IT}	SD_F	0.710	<.0001	F_v	F_T	0.9748	<.0001
GD_{IR}	PGF_F	-0.207	0.2803	SD_{IT}	PDE	0.287	0.1306	F_v	PF_f	-0.742	<.0001
GD_{IT}	GD_F	0.885	<.0001	SD_{IT}	DIR	-0.176	0.362	F_v	F_v/F_f	0.7476	<.0001
GD_{IT}	G/N_{IR}	-0.242	0.207	SD_F	PDE	0.075	0.699	F_T	PF_f	-0.6	0.0006
GD_{IT}	G/N_{IT}	-0.079	0.6855	SD_F	DIR	-0.187	0.3313	F_T	F_v/F_f	0.6064	0.0005
GD_{IT}	G/N_F	-0.305	0.1073	PDE	DIR	0.000	1.0000	PF_f	F_v/F_f	-0.9985	<.0001
GD_{IT}	PGF_F	-0.300	0.114								
GD_F	G/N_{IR}	-0.274	0.1502								
GD_F	G/N_{IT}	-0.248	0.1939								
GD_F	G/N_F	-0.287	0.131								
GD_F	PGF_F	-0.194	0.3144								
G/N_{IR}	G/N_{IT}	0.862	<.0001								
G/N_{IR}	G/N_F	0.203	0.2901								
G/N_{IR}	PGF_F	0.151	0.4336								
G/N_{IT}	G/N_F	0.125	0.5183								
G/N_{IT}	PGF_F	0.113	0.5603								
G/N_F	PGF_F	0.238	0.2142								

Apéndice A (Continuación)

Análisis discriminante

Los resultados de las pruebas estadísticas del modelo discriminante (lambda de Wilks, señal de Pillai, señal de Hotelling-Lawley y raíz máxima de Roy) se muestran en el siguiente cuadro.

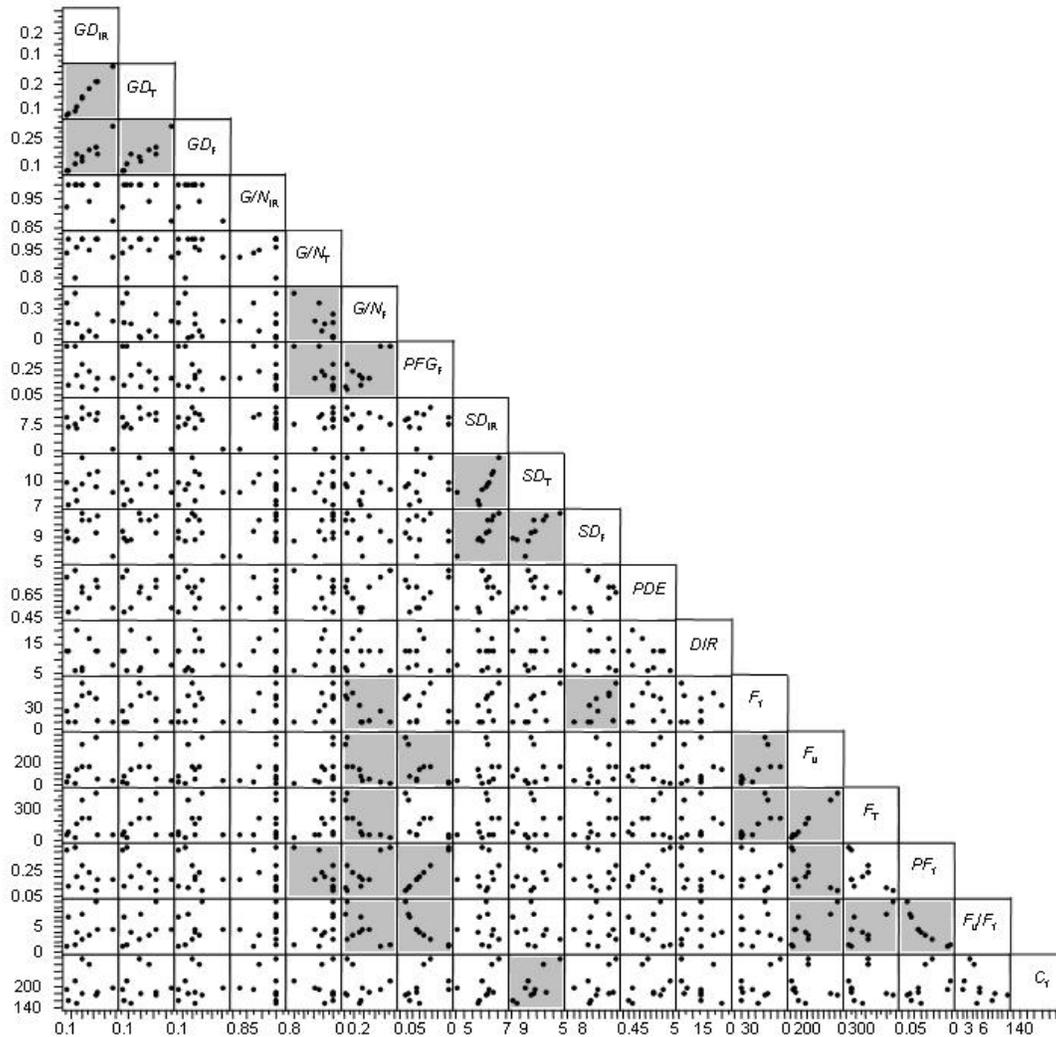
	Variación explicada (%)	Prueba	Valor	F aproximada	gl.	P
Función discriminante 1	83.9	Lambda de Wilk	0.27	3.19	12	0.0026
Función discriminante 2	16.1	Señal de Pillai	0.89	2.91	12	0.0048
		Señal de Hotelling-Lawley	2.07	3.45	12	0.0015
		Raíz máxima de Roy	1.74	6.37	6	0.0005

La contribución o carga de las variables en las dos funciones discriminantes principales se indican con los valores de las correlaciones entre las funciones discriminantes y cada una de las variables incluidas en el modelo (Quinn y Keough, 2003) en el siguiente cuadro. Los valores de las correlaciones con las variables que tienen mayor contribución en cada función discriminante se muestran en negritas. (*) = $P < 0.05$, (**) = $P < 0.005$. **Características genéticas del vecindario:** GD_{IR} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario. G/N_{IR} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas. G/N_F = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo. **Características espaciales del vecindario:** PDE = Índice del patrón de distribución espacial del vecindario. **Descriptor de la densidad floral en el vecindario:** F_f = Número de flores en la planta focal. F_v/F_f = Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal.

CONTRIBUCIÓN DE LAS VARIABLES						
	GD_{IR}	G/N_{IR}	G/N_F	PDE	F_f	F_v/F_f
Función discriminante 1	0.1986	-0.3813*	-0.6617**	0.2378	0.5307**	0.5567**
Función discriminante 2	-0.5845**	-0.0104	0.4274*	0.7414**	-0.3215	-0.0348

Apéndice B

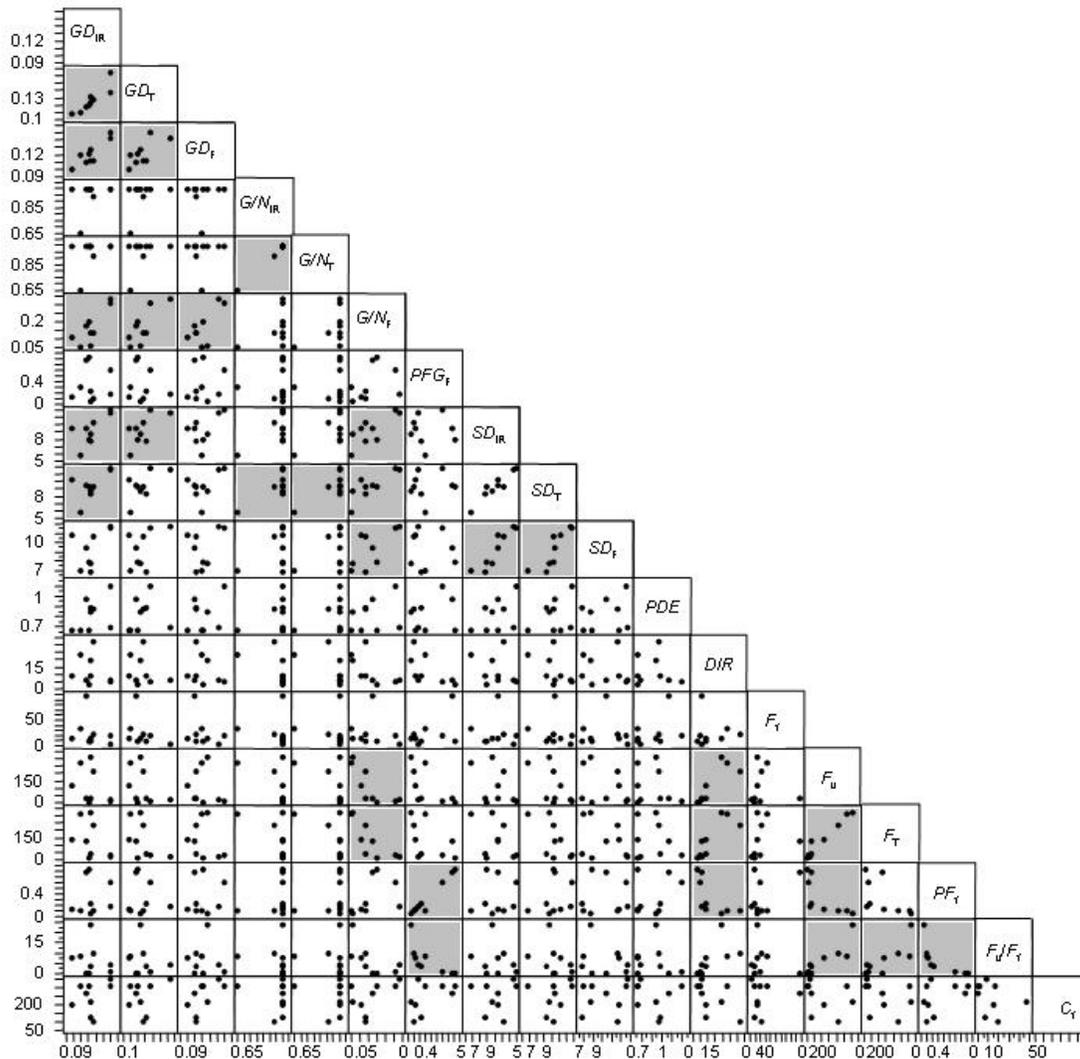
Correlación entre las variables que caracterizan el vecindario local de los ramets en la población de la bajada (BH). Las variables significativamente correlacionadas ($P < 0.05$) se muestran en sombreado. **Características genéticas del vecindario:** GD_{IR} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; GD_{IT} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); GD_F = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; G/N_{IR} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas; G/N_{IT} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario (plantas reproductivas y no reproductivas); G/N_F = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo; PF_G = Proporción de flores con el mismo genotipo que la planta focal en el vecindario. **Características espaciales del vecindario:** SD_{IR} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; SD_{IT} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); SD_F = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; PDE = Índice del patrón de distribución espacial del vecindario; DIR = Densidad de individuos reproductivos en el vecindario. **Descriptor de la densidad floral en el vecindario:** F_f = Número de flores en la planta focal; F_v = Número de flores en las plantas vecinas; F_T = Número de flores en el vecindario; PF_f = Proporción de flores del vecindario que son de la planta focal; F_v/F_f = Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal. **Tamaño de la planta focal:** C_f = Número de cladodios de la planta focal.



Apéndice B (continuación)

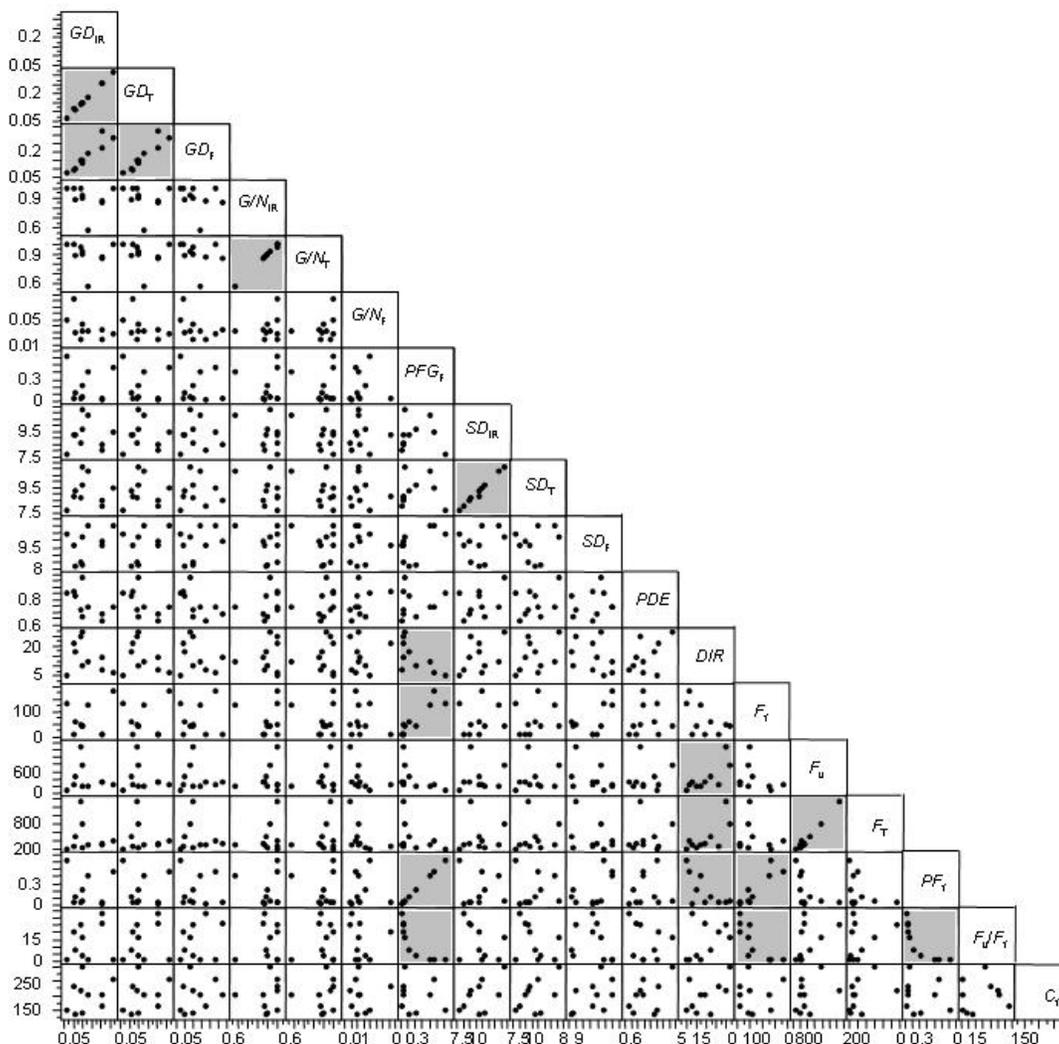
Correlación entre las variables que caracterizan el vecindario local de los ramets en la población de la ladera-pie de monte (HPH). Las variables significativamente correlacionadas ($P < 0.05$) se muestran en sombreado.

Características genéticas del vecindario: GD_{IR} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; GD_{IT} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); GD_F = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; G/N_{IR} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas; G/N_{IT} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario (plantas reproductivas y no reproductivas); G/N_F = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo; PGF_F = Proporción de flores con el mismo genotipo que la planta focal en el vecindario. **Características espaciales del vecindario:** SD_{IR} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; SD_{IT} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas).; SD_F = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; PDE = Índice del patrón de distribución espacial del vecindario; DIR = Densidad de individuos reproductivos en el vecindario. **Descriptor de la densidad floral en el vecindario:** F_f = Número de flores en la planta focal; F_v = Número de flores en las plantas vecinas; F_T = Número de flores en el vecindario; PF_f = Proporción de flores del vecindario que son de la planta focal; F_v/F_f = Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal. **Tamaño de la planta focal:** C_f = Número de cladodios de la planta focal.



Apéndice B (continuación)

Correlación entre las variables que caracterizan el vecindario local de los ramets en la población de las interdunas (IDH). Las variables significativamente correlacionadas ($P < 0.05$) se muestran en sombreado. **Características genéticas del vecindario:** GD_{IR} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; GD_{IT} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); GD_F = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; G/N_{IR} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas; G/N_{IT} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario (plantas reproductivas y no reproductivas); G/N_F = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo; PPG_F = Proporción de flores con el mismo genotipo que la planta focal en el vecindario. **Características espaciales del vecindario:** SD_{IR} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; SD_{IT} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas).; SD_F = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; PDE = Índice del patrón de distribución espacial del vecindario; DIR = Densidad de individuos reproductivos en el vecindario. **Descriptor de la densidad floral en el vecindario:** F_f = Número de flores en la planta focal; F_v = Número de flores en las plantas vecinas; F_T = Número de flores en el vecindario; PF_f = Proporción de flores del vecindario que son de la planta focal; F_v/F_f = Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal. **Tamaño de la planta focal:** C_f = Número de cladodios de la planta focal.



Apéndice C

Valores de las 18 variables que caracterizan el vecindario local de los ramets de *O. microdasys* en la población de la bajada (BH). **Características genéticas del vecindario:** GD_{IR} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; GD_{IT} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); GD_F = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; G/N_{IR} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas; G/N_{IT} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario (plantas reproductivas y no reproductivas); G/N_F = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo; PGF_F = Proporción de flores con el mismo genotipo que la planta focal en el vecindario. **Características espaciales del vecindario:** SD_{IR} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; SD_{IT} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); SD_F = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; PDE = Índice del patrón de distribución espacial del vecindario; DIR = Densidad de individuos reproductivos en el vecindario. **Descriptores de la densidad floral en el vecindario:** F_f = Número de flores en la planta focal; F_v = Número de flores en las plantas vecinas; F_T = Número de flores en el vecindario; PF_f = Proporción de flores del vecindario que son de la planta focal; F_v/F_f = Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal. **Tamaño de la planta focal:** C_f = Número de cladodios de la planta focal.

Vecindario	Características genéticas							Características espaciales					Descriptores de la densidad floral					
	GD_{IR}	GD_{IT}	GD_F	G/N_{IR}	G/N_{IT}	G/N_F	PGF_F	SD_{IR}	SD_{IT}	SD_F	PDE	DIR	F_f	F_v	F_T	PF_f	F_v/F_f	C_f
BH 1	0.21	0.21	0.20	1.00	1.00	0.028	0.09	9.25	9.25	9.60	0.79	13	43	427	470	0.09	9.93	175
BH 2	0.18	0.18	0.19	0.94	0.94	0.074	0.24	10.77	10.77	11.59	0.63	17	51	166	217	0.24	3.26	262
BH 3	0.12	0.10	0.12	1.00	0.80	0.261	0.44	7.72	8.92	8.28	0.87	6	10	13	23	0.44	1.30	214
BH 4	0.08	0.08	0.08	0.92	0.93	0.194	0.44	9.84	9.84	9.82	0.81	13	26	26	52	0.42	1.00	191
BH 5	0.13	0.12	0.17	1.00	0.96	0.126	0.20	6.85	7.59	8.61	0.54	20	34	133	167	0.20	3.91	151
BH 6	0.29	0.27	0.30	0.88	0.91	0.143	0.18	0.25	8.68	6.00	0.54	8	9	40	49	0.18	4.44	193
BH 7	0.22	0.21	0.17	1.00	1.00	0.217	0.18	11.23	11.10	12.31	0.73	13	11	49	60	0.18	4.46	183
BH 8	0.09	0.09	0.08	1.00	1.00	0.163	0.13	7.14	7.14	8.78	0.50	13	10	70	80	0.13	7.00	160
BH 9	0.15	0.15	0.13	1.00	1.00	0.017	0.12	9.73	9.73	11.65	0.72	7	47	358	405	0.12	7.62	178
BH 10	0.15	0.15	0.15	1.00	1.00	0.027	0.29	12.84	12.84	12.74	0.68	6	64	157	221	0.29	2.45	275

Apéndice C (Continuación)

Valores de las 18 variables que caracterizan el vecindario local de los ramets de *O. microdasys* en la población de la ladera-pie de monte (HPH). **Características genéticas del vecindario:** GD_{IR} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; GD_{IT} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); GD_F = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; G/N_{IR} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas; G/N_{IT} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario (plantas reproductivas y no reproductivas); G/N_F = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo; PFG_F = Proporción de flores con el mismo genotipo que la planta focal en el vecindario. **Características espaciales del vecindario:** SD_{IR} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; SD_{IT} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); SD_F = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; PDE = Índice del patrón de distribución espacial del vecindario; DIR = Densidad de individuos reproductivos en el vecindario. **Descriptores de la densidad floral en el vecindario:** F_f = Número de flores en la planta focal; F_v = Número de flores en las plantas vecinas; F_T = Número de flores en el vecindario; PF_f = Proporción de flores del vecindario que son de la planta focal; F_v/F_f = Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal. **Tamaño de la planta focal:** C_f = Número de cladodios de la planta focal.

Vecindario	Características genéticas							Características espaciales					Descriptores de la densidad floral					
	GD_{IR}	GD_{IT}	GD_F	G/N_{IR}	G/N_{IT}	G/N_F	PFG_F	SD_{IR}	SD_{IT}	SD_F	PDE	DIR	F_f	F_v	F_T	PF_f	F_v/F_f	C_f
HPH 1	0.12	0.12	0.13	1.00	1.00	0.059	0.04	8.72	8.72	7.71	0.85	19	13	307	320	0.04	23.62	218
HPH 2	0.15	0.16	0.14	1.00	1.00	0.273	0.18	11.62	11.63	11.62	0.69	6	4	18	22	0.18	4.50	348
HPH 3	0.12	0.12	0.11	1.00	1.00	0.047	0.77	9.39	9.39	9.43	0.97	6	98	29	127	0.77	0.30	270
HPH 4	0.11	0.11	0.12	0.65	0.65	0.049	0.30	5.73	5.73	6.91	0.67	23	33	275	308	0.11	8.33	308
HPH 5	0.12	0.13	0.11	1.00	1.00	0.225	0.23	7.64	8.34	6.84	0.88	9	9	31	40	0.23	3.44	123
HPH 6	0.15	0.14	0.15	1.00	1.00	0.156	0.59	11.90	11.78	11.52	1.10	5	19	13	32	0.59	0.68	310
HPH 7	0.12	0.12	0.12	1.00	1.00	0.273	0.82	7.93	9.27	7.93	0.66	3	9	2	11	0.82	0.22	305
HPH 8	0.10	0.11	0.10	1.00	1.00	0.068	0.11	9.45	9.45	10.78	0.67	9	15	117	132	0.11	7.80	198
HPH 9	0.13	0.13	0.11	0.94	0.91	0.129	0.09	10.20	10.35	10.64	0.87	32	22	211	233	0.09	9.59	97

Apéndice C (Continuación)

Valores de las 18 variables que caracterizan el vecindario local de los ramets de *O. microdasys* en la población de las interdunas (IDH). **Características genéticas del vecindario:** GD_{IR} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; GD_{IT} = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); GD_F = Distancia genética promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; G/N_{IR} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario considerando sólo plantas reproductivas; G/N_{IT} = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario (plantas reproductivas y no reproductivas); G/N_F = Proporción de genotipos distinguibles en el vecindario calculado a partir del número de flores de cada genotipo; PGF_F = Proporción de flores con el mismo genotipo que la planta focal en el vecindario. **Características espaciales del vecindario:** SD_{IR} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario; SD_{IT} = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas en el vecindario (reproductivas y no reproductivas); SD_F = Distancia espacial promedio entre la planta focal y las plantas reproductivas en el vecindario considerando el número de flores en las plantas vecinas; PDE = Índice del patrón de distribución espacial del vecindario; DIR = Densidad de individuos reproductivos en el vecindario. **Descriptores de la densidad floral en el vecindario:** F_f = Número de flores en la planta focal; F_v = Número de flores en las plantas vecinas; F_T = Número de flores en el vecindario; PF_f = Proporción de flores del vecindario que son de la planta focal; F_v/F_f = Número de flores vecinas donadoras de polen por flor de la planta focal. **Tamaño de la planta focal:** C_f = Número de cladodios de la planta focal.

Vecindario	Características genéticas							Características espaciales					Descriptores de la densidad floral					
	GD_{IR}	GD_{IT}	GD_F	G/N_{IR}	G/N_{IT}	G/N_F	PGF_F	SD_{IR}	SD_{IT}	SD_F	PDE	DIR	F_f	F_v	F_T	PF_f	F_v/F_f	C_f
IDH 1	0.15	0.15	0.13	0.93	0.93	0.031	0.06	11.28	11.17	10.20	0.98	27	45	764	809	0.06	16.98	299
IDH 2	0.14	0.15	0.15	1.00	0.96	0.019	0.04	8.64	8.73	8.48	0.72	25	52	1295	1347	0.04	24.90	217
IDH 3	0.26	0.26	0.22	0.88	0.88	0.023	0.03	8.11	8.11	9.66	0.63	8	9	297	306	0.03	33.00	162
IDH 4	0.11	0.11	0.10	0.88	0.88	0.029	0.12	9.32	9.32	8.20	0.83	17	61	450	511	0.12	7.38	136
IDH 5	0.31	0.31	0.29	1.00	1.00	0.018	0.46	9.49	9.49	11.03	0.74	7	183	214	397	0.46	1.17	256
IDH 6	0.25	0.25	0.32	0.86	0.86	0.037	0.04	8.52	8.52	9.98	0.69	14	12	315	327	0.04	26.25	205
IDH 7	0.18	0.18	0.19	0.58	0.58	0.022	0.41	10.85	10.85	11.04	0.74	12	129	185	314	0.41	1.43	204
IDH 8	0.10	0.12	0.09	1.00	1.00	0.083	0.05	9.30	8.87	9.68	0.87	21	12	242	254	0.05	20.17	230
IDH 9	0.07	0.07	0.07	1.00	1.00	0.023	0.62	7.67	7.67	10.40	0.86	5	133	80	213	0.62	0.60	148
IDH 10	0.15	0.15	0.15	0.90	0.90	0.039	0.21	9.67	9.67	8.29	0.67	10	47	182	229	0.21	3.87	140

CAPÍTULO 5

Variación en la producción de descendientes clonales y sexuales en *Opuntia microdasys* (Cactaceae): consecuencias en la dinámica poblacional

RESUMEN

La variación en la producción de descendientes de origen clonal y sexual en poblaciones de plantas clonales, aunada a las diferencias en la tasa de supervivencia, crecimiento y maduración de los distintos tipos de descendientes, pueden afectar diversos aspectos de la historia de vida de los organismos de una población, tales como la talla a la primera y última reproducción, la longevidad, la supervivencia y el crecimiento de las poblaciones. Para analizar este planteamiento, en este trabajo se utilizan modelos matriciales usando como sistema de estudio tres poblaciones de una cactácea clonal del desierto Chihuahuense (*Opuntia microdasys*). Esta especie presenta poblaciones que difieren en la frecuencia con que se producen descendientes de origen sexual y clonal. En 2007 se establecieron parcelas rectangulares en tres hábitats de *Opuntia microdasys*: bajada (BH), ladera (HPH) e interdunas (IDH), donde se marcaron todos los individuos de *O. microdasys* y fueron censados en la primavera, durante tres años consecutivos (2007-2009). Para cada uno de los hábitats se construyeron dos matrices anuales de proyección poblacional (2007-2008 y 2008-2009) y una matriz promedio de ambas matrices anuales. Las poblaciones se estructuraron por tamaño (número de cladodios) y estado de desarrollo de los vástagos (semillas, plantlets o de cladodios). La dinámica poblacional a largo plazo fue proyectada a partir de las matrices anuales, promedio, y empleando modelos periódicos y estocásticos para evaluar el efecto potencial de la variación ambiental. Para analizar la contribución relativa de los diferentes procesos demográficos y de las categorías de tamaño se hicieron análisis de sensibilidad y elasticidad, y se estimó el impacto del año y el hábitat sobre la tasa de crecimiento utilizando experimentos de respuesta de tabla de vida (LTREs). La estructura poblacional observada difirió entre los hábitats, en BH la mayoría de los individuos se concentraron en las dos primeras categorías de tamaño y el porcentaje de individuos fue menor en las categorías de mayor tamaño, mientras que en HPH e IDH se presentó una distribución bimodal. La estructura estable de tamaños proyectada con los diferentes modelos fue muy parecida, pero difirió marcadamente de la estructura observada en dos de los tres hábitats (BH y HPH). Los distintos modelos matriciales utilizados para proyectar la dinámica poblacional sugieren que las poblaciones se encuentran relativamente estables numéricamente ($\lambda \approx 1$). Los procesos demográficos con mayor contribución relativa fueron la permanencia, el crecimiento y las reducciones de tamaño. En general, las contribuciones mayores a λ correspondieron a la permanencia y al crecimiento, siendo negativas las del crecimiento en los tres hábitats para la transición 2007-2008. La alta supervivencia de los individuos en las categorías de tamaño intermedio y en las de mayor tamaño, en conjunto con una dinámica de reducción de tamaño y crecimiento entre estas categorías puede mantener a las poblaciones numéricamente

estables. Aunque la variación en la producción de descendientes clonales y sexuales tienen bajas elasticidades, difieren entre los sitios de estudio, reflejando una mayor contribución de la clonalidad a través de plantlets y cladodios enraizados en BH que en los otros dos hábitats, y de la reproducción sexual en HPH. Las diferencias observadas en la predominancia de un tipo de reproducción dan lugar a reducciones en el tamaño a la primera reproducción e influyen en la estructura poblacional y el valor reproductivo.

INTRODUCCIÓN

Las especies de plantas que producen descendientes por propagación clonal, también pueden reclutar individuos por reproducción sexual (Fryxell, 1957; Loehle, 1987; Mandujano *et al.*, 1998, 2001, 2007; Kanno y Seiwa, 2004). No obstante, en muchos casos el reclutamiento sexual ocurre esporádicamente y se observa en raras ocasiones en condiciones naturales, por lo que la clonalidad representa el principal medio de regeneración de las poblaciones de estas especies (Eriksson y Bremer, 1993; Pornon *et al.*, 1997; Dorken y Eckert, 2001; Mandujano *et al.*, 2001; Clark-Tapia *et al.* 2005a; Douhovnikoff *et al.*, 2005). Algunos factores que pueden hacer de la clonalidad un medio de regeneración eficiente en muchas poblaciones de plantas son las altas tasas de supervivencia, crecimiento y maduración de los descendientes clonales, en comparación con los de origen sexual (Caswell, 1985; Mandujano *et al.* 2007; Clark-Tapia *et al.* 2005a), y que a través de la clonalidad pueden mantenerse varios genotipos que están mejor adaptados a un ambiente particular (Cook, 1985; Callaghan *et al.*, 1992; Mandujano *et al.*, 1998).

En contraste con las ventajas que representa la clonalidad para el mantenimiento de las poblaciones, la predominancia de la clonalidad sobre el reclutamiento sexual puede incrementar la contribución reproductiva de algunos genets (Caswell, 1985), modificar las frecuencias alélicas, incrementar la tasa de endogamia, restringir la dispersión de polen y reducir el tamaño efectivo de las poblaciones (Handel, 1985; Chung *et al.*, 2004; Campbell y Husband, 2005), incrementando el efecto de la deriva génica y originando estructuración genética en las poblaciones (Eguiarte *et al.*, 1993; Chung *et al.*, 2004; Campbell y Husband, 2005). Pero las desventajas genéticas de la clonalidad parecen tener un efecto considerable en las poblaciones sólo cuando el reclutamiento sexual está prácticamente ausente de manera permanente. Esto se concluye a partir de los altos niveles de diversidad genética y genotípica

que se han encontrado en poblaciones de plantas clonales en las que el reclutamiento sexual ocurre con poca frecuencia (p. ej., Parker y Hamrick, 1992; Pornon y Escaravage, 1999; Stehlik y Holderegger, 2000; Clark-Tapia *et al.* 2005b) y por la similitud en los niveles de diversidad genética y genotípica entre especies clonales y no clonales (Ellstrand y Roose, 1987; Widen *et al.*, 1994).

La heterogeneidad ambiental espacial y temporal, así como los factores bióticos y abióticos que restringen la reproducción sexual (p. ej., deficiencia de polinizadores, incremento de cruzas incompatibles, o la escasez de sitios adecuados para la germinación y el establecimiento) pueden generar diferencias en las tasas de reclutamiento sexual y clonal en las poblaciones (Barret, 1980; Dorken y Eckert, 2001; Clark-Tapia *et al.* 2005a). La variación intraespecífica en la frecuencia con que ocurre el reclutamiento sexual y clonal, así como las tasas diferenciales de supervivencia, crecimiento y maduración de los distintos tipos de vástagos (clonales y sexuales), puede influir de manera distinta en la dinámica de las poblaciones afectando su tasa de crecimiento poblacional en el tiempo ecológico y sus caracteres de historia de vida en el tiempo evolutivo (Caswell, 1985; Dorken y Eckert, 2001). Por ejemplo, Bierzychudek (1982) muestra que la contribución diferencial del reclutamiento sexual y de la propagación clonal en dos poblaciones de *Arisaema triphyllum* (Brooktondale y Fall Creek) afectan de manera distinta la tasa de crecimiento poblacional (λ). Al eliminarse el efecto de la clonalidad en las matrices de transición de dos sitios de estudio (i.e., Brooktondale y Fall Creek), λ se reduce en 2.2% y 24%, respectivamente, mientras que la remoción del efecto del reclutamiento sexual produce una reducción en λ del 4.4% y 1.6%, respectivamente. En otro estudio, Mandujano *et al.* (2007) mostraron que no hubo un efecto considerable en λ como resultado de la variación en la producción de descendientes clonales y sexuales entre dos poblaciones de *O. macrocentra*. Sin embargo, estos autores encuentran que la mayor frecuencia de propagación clonal en una de las poblaciones se traduce en la

reducción del tamaño a la primera reproducción y que hay un número mayor de rutas en el ciclo de vida en la población más clonal, como producto de los diferentes tipos de recién nacidos (i.e, vástagos clonales de diferentes tamaños).

La dinámica poblacional de especies en las que la reproducción, el crecimiento y la supervivencia no están relacionadas directamente con la edad sino con el tamaño o el estadio de desarrollo de los organismos, y de las que generan descendencia por distintos medios (por reproducción sexual y clonalmente) se puede analizar de forma adecuada mediante modelos matriciales de proyección poblacional de tipo Lefkovitch (Lefkovitch, 1965; Caswell, 1985; Cochran y Ellner, 1992; Silvertown *et al.*, 1993; Caswell, 2001). Éstos permiten evaluar el efecto de los distintos patrones de crecimiento, fecundidad y mortalidad observados sobre la adecuación promedio de la población, i. e. la tasa de crecimiento poblacional. Además, permiten analizar el efecto de los cambios en los parámetros de historia de vida sobre la dinámica poblacional (de Kroon *et al.*, 1986; Silvertown *et al.*, 1993; Caswell y Trevisan, 1994) y proporciona un método comparable entre especies con distintas historias de vida (Bierzychudek, 1982; Caswell, 2001). Adicionalmente, con base en los modelos matriciales pueden llevarse a cabo experimentos de respuesta de tablas de vida (LTREs por sus siglas en inglés) para evaluar el efecto observado de la variación temporal y/o espacial de las condiciones ambientales sobre la dinámica poblacional (Caswell, 1996, 2001).

En este estudio se evalúa el efecto de la producción diferencial de distintos tipos de vástagos (de origen clonal y de origen sexual) sobre la dinámica de tres poblaciones de una cactácea clonal del desierto Chihuahuense (*Opuntia microdasys*) utilizando modelos matriciales. Las tres poblaciones estudiadas presentan variación en la frecuencia con que se producen distintos tipos de vástagos, los cuales pueden originarse a partir de semillas generadas por reproducción sexual y mediante el establecimiento de propágulos vegetativos

de dos tipos: los formados a partir de cladodios desprendidos y los que se derivan de frutos inmaduros que caen al suelo y enraizan (plantlets; Palleiro *et al.*, 2006).

MATERIALES Y METODOS

Sistema de estudio

El sistema de estudio está representado por tres hábitats en los que habita *O. microdasys* en la Reserva de la Biosfera de Mapimí, Durango, México (Figura 1). Esta especie presenta diferencias en la importancia relativa de sus distintos medios de reclutamiento (sexual y clonal) entre los tres hábitats (Cuadro 1). Dos de los hábitats son contiguos: uno se ubica en la ladera oeste del Cerro San Ignacio (ladera-pie de monte, HPH), sobre pendientes de 22.8° en promedio, y el otro se localiza sobre los abanicos aluviales al oeste del mismo cerro (bajada, BH), en pendientes de 10° en promedio. El tercer hábitat son las planicies arenosas que se ubican entre las dunas, a 10 km al noroeste del Cerro San Ignacio (interdunas, IDH). En este sitio la pendiente promedio es de 0.7°.

Unidades de muestreo y análisis demográfico

En junio de 2007 se establecieron varias parcelas rectangulares en cada uno los hábitats. Las parcelas rectangulares fueron de 20 × 50 m debido a que *O. microdasys* se distribuye formando franjas que varían entre los 20 m y los 30 m de ancho y entre 50 a 70 m de longitud (obs. pers.), principalmente en los hábitats BH y HPH. El número de parcelas rectangulares fue variable en los diferentes hábitats (4 en ladera, 3 en bajada y 5 en las dunas) debido a las

diferencias de la densidad de individuos de *O. microdasys*. Se asignó un número a las plantas de cada parcela y se marcaron con una etiqueta metálica.

A principio de la primavera de 2007, 2008 y 2009 se registró de cada individuo: número de cladodios producidos en años anteriores, número de cladodios producidos en el año en que se hizo el registro (se desarrollan en la parte terminal de las ramas, son más delgados que los cladodios producidos en años anteriores y presentan un color verde azulado), número de frutos en pie (frutos en cladodios), número total de frutos abortados que se encontraron en el suelo (debajo de cada individuo) y el número de frutos abortados y enraizados en el suelo (plantlets debajo de cada individuo). Los frutos abortados no enraizados y los plantlets se asignaron al individuo debajo del cual fueron encontrados, debido a que la gran mayoría de estas estructuras caen abajo de la planta madre (Palleiro, 2001; obs. pers.). También se registró el número de plántulas (originadas de semilla) y los cladodios enraizados debajo de cada individuo, y los individuos que murieron de un año al siguiente. Con esta información se definieron nueve categorías de tamaño (1, 2-5, 6-10, 11-20, 21-50, 51-100, 101-160, 161-380 y > 380 cladodios; Apéndice A) y una categoría de estado (semillas). En la categoría de tamaño 1 y 2 -5 cladodios se encuentran también los plantlets. Usando estas categorías se construyeron dos matrices de transición de tipo Lefkovitch (2007-2008 y 2008-2009) para cada hábitat.

En el modelo se incluyó la categoría de semillas debido a que las semillas de esta especie no germinan en el año que se producen. Sin embargo, la proporción de semillas de *O. microdasys* que permanecen en el banco de semillas se desconoce, por lo que se utilizó el valor reportado en Mandujano *et al.* (2001) para *O. rastrera* (0.1 de probabilidad de supervivencia anual en el banco de semillas), el cual se estimó a partir de la tasa de consumo de los frutos maduros en condiciones naturales para esta especie (90%; Montiel y Montaña, 2000). En *O. microdasys* la tasa de consumo de los frutos maduros pueden ser similares a los

de *O. rastrera*, debido a que ambas especies suelen encontrarse en áreas cercanas o en la misma área, a que sus periodos de fructificación se sobrelapan (Junio-Agosto; Montiel y Montaña, 2000; Palleiro *et al.*, 2006) y a que los frutos de ambas especies son carnosos y ricos en azúcares. Sin embargo, debido a que la supervivencia en el banco de semillas puede ser distinta aún cuando la tasa de consumo de frutos sea similar, se hicieron simulaciones con las matrices anuales de cada hábitat, modificando la probabilidad de supervivencia en el banco de semillas para evaluar su efecto sobre la tasa de crecimiento poblacional (λ , Apéndice B)

Para llevar a cabo los análisis se partió de tres tipos de matrices de proyección poblacional que incluyen las nueve categorías de tamaño y la categoría de semillas (diez categorías en total): 1) matrices anuales, con los datos de cada periodo de crecimiento (2007-2008 y 2008-2009) para cada población (bajada, BH; ladera-pie de monte HPH e interdunas, IDH); 2) matrices promedio para cada población, obtenidas al promediar cada una de las entradas de las matrices anuales de los dos periodos de crecimiento; y 3) matrices periódicas, obtenidas al multiplicar las matrices anuales de manera secuencial para cada hábitat. La ecuación general o modelo básico en la que se basa la demografía matricial es la siguiente:

$\mathbf{A} n_t = n_{t+1}$ o bien $n_{t+1} = \mathbf{A} n_t$, donde \mathbf{A} es la matriz de proyección poblacional y n es un vector que contiene la abundancia de los individuos de cada categoría al tiempo t y al tiempo $t+1$ y que representa la estructura de la población (Caswell y Werner, 1978). Por otro lado, en el modelo periódico la dinámica poblacional para un ciclo que contiene varias fases (en este caso dos fases representadas por los dos periodos de crecimiento 2007-2008 y 2008-2009) es descrita por la matriz periódica producto (Caswell y Trevisan, 1994): $\mathbf{n}_{(t+m)} = [\mathbf{B}^{(m)}\mathbf{B}^{(m-1)} \dots \mathbf{B}^{(1)}]\mathbf{n}_{(t)}$ o $\mathbf{n}_{(t+m)} = \mathbf{A}^{(1)}\mathbf{n}_{(t)}$, donde cada matriz \mathbf{B} corresponde a una fase del ciclo conformado por m fases, y $\mathbf{A}^{(h)}$ es la matriz producto que proyecta la dinámica poblacional de todo el ciclo iniciando la proyección en la fase h ($h = 1, 2, \dots, m$).

Los análisis matriciales se realizaron con el programa MATLAB para estimar la tasa finita de crecimiento (λ , eigenvalor dominante de la matriz), la estructura estable de tallas (\mathbf{w} , eigenvector derecho), y el valor reproductivo (\mathbf{v} , vector izquierdo). La estructura poblacional observada y las estructuras proyectadas a partir de las matrices promedio y periódicas se compararon mediante una prueba de G (Sokal y Rohlf, 1995) y el intervalo de confianza al 95 % de λ , en el caso de las matrices anuales y promedio se estimó con el método propuesto por Álvarez-Buylla y Slatkin (1993,1994).

Posteriormente se construyeron matrices de sensibilidad (Caswell, 2001) y elasticidad (de Kroon *et al.*, 1986; Silvertown *et al.*, 1993; Caswell, 2001) para analizar la contribución absoluta y relativa, respectivamente, de los diferentes procesos demográficos (p. ej., permanencia en la misma categoría, reproducción sexual, propagación clonal, etc.) y de las categorías de tamaño a la tasa de crecimiento poblacional. Las matrices anuales se utilizaron para analizar la dinámica poblacional de un año con producción de semillas y otro en el que no se produjeron, y para estimar la tasa de crecimiento poblacional considerando la estocasticidad ambiental con el paquete POPBIO en R (Stubben y Milligan, 2007). En este procedimiento una de las dos matrices anuales de cada hábitat se selecciona aleatoriamente y se multiplica por el vector poblacional más reciente, para calcular una tasa de crecimiento poblacional estocástica (λ_s). El intervalo de confianza al 95% de λ se estimó a partir de realizar este procedimiento 100,000 veces.

Para estimar el impacto del año y el hábitat sobre la tasa de crecimiento poblacional se hicieron experimentos de respuesta de tabla de vida (LTREs) para factores fijos (Caswell, 1996, 2001). El diseño fue factorial con efectos simples y el análisis comprendió la comparación de las entradas de las matrices de transición respecto a la desviación de una matriz promedio o de referencia.

El modelo se expresa como (Caswell, 2001):

$\lambda^{(ij)} = \lambda^{(\cdot)} + \alpha^{(i)} + \beta^{(j)} + (\alpha\beta)^{(ij)}$ donde $\lambda^{(\cdot)}$ es el eigenvalor de la matriz promedio o de referencia, $\alpha^{(i)}$ y $\beta^{(j)}$ representan los efectos principales del i ésimo nivel del tratamiento 1 y el j ésimo nivel del tratamiento 2 o los eigenvalores de las matrices correspondientes a las poblaciones sometidas a los tratamientos principales (hábitats y años) y $(\alpha\beta)^{(ij)}$ es el efecto de la interacción o la tasa de crecimiento poblacional de una población bajo el efecto de la interacción de ambos tratamientos. Las estimaciones del efecto por tratamiento se calculan como: $\hat{\alpha}^{(i)} = \lambda^{(i)} - \lambda^{(\cdot)}$, $\hat{\beta}^{(j)} = \lambda^{(j)} - \lambda^{(\cdot)}$ y $(\alpha\beta)^{(ij)} = \lambda^{(ij)} - \hat{\alpha}^{(i)} - \hat{\beta}^{(j)} - \lambda^{(\cdot)}$. El efecto de cada tratamiento se descompone en las contribuciones que hace cada entrada de la matriz poblacional (a_{kl}) bajo el distinto tratamiento específico respecto de una condición control, la cual está representada por la matriz promedio:

$$\tilde{\alpha}^{(i)} = \sum_{k,l} (a_{kl}^{(i)} - a_{kl}^{(\cdot)}) \frac{\partial \lambda}{\partial a_{kl}} \Big|_{\frac{1}{2}(A^{(i)} + A^{(\cdot)})}$$

$$\tilde{\beta}^{(j)} = \sum_{k,l} (a_{kl}^{(j)} - a_{kl}^{(\cdot)}) \frac{\partial \lambda}{\partial a_{kl}} \Big|_{\frac{1}{2}(A^{(j)} + A^{(\cdot)})}$$

$$(\alpha\beta)^{(ij)} = \sum_{k,l} (a_{kl}^{(ij)} - a_{kl}^{(\cdot)}) \frac{\partial \lambda}{\partial a_{kl}} \Big|_{\frac{1}{2}(A^{(ij)} + A^{(\cdot)})}$$

donde $[a_{kl}^{(ij)} - a_{kl}^{(\cdot)}]$ es la contribución de cada entrada de la matriz, y $\frac{\partial \lambda}{\partial a_{kl}} \Big|_{\frac{1}{2}(A^{(ij)} + A^{(\cdot)})}$ es la sensibilidad de λ al elemento a_{kl} con base en la matriz promedio.

RESULTADOS

La densidad de individuos fue distinta entre los hábitats. En BH la densidad de individuos fue de 3907 ind/ha, en HPH fue de 784 ind/ha y en IDH 1008 ind/ha. Aunque la fecundidad fue alta en los tres hábitats, la probabilidad de transición de semilla a plantas con un cladodio es extremadamente baja, principalmente en BH y HPH, y en BH la reproducción comienza en los individuos de menor tamaño, a partir de la categoría de 2-5 cladodios (Figura 2). En los tres hábitats las probabilidades más altas corresponden a la permanencia y en BH además, a la contribución clonal a través de plantlets (Figura 2). En HPH e IDH se presentan reducciones de tamaño hacia categorías inferiores no inmediatas y en BH e IDH hay crecimiento hacia categorías superiores no inmediatas (Figura 2). Los patrones de mortalidad también son distintos entre los hábitats, en BH y HPH la mortalidad es relativamente baja, presentándose en las tres primeras categorías de tamaño en BH (mortalidad de individuos con un cladodio = 10%, con 2 a 5 cladodios = 5% y con 6 a 10 cladodios = 1 %) y sólo en las primeras dos categorías en HPH (mortalidad de individuos con un cladodio = 16% y con 2 a 5 cladodios = 7%). En contraste, en IDH la mortalidad es más alta y se presenta en un mayor número de categorías (mortalidad de individuos con un cladodio = 41%, con 2 a 5 cladodios = 12%, con 6 a 10 cladodios = 2 %, con 11 a 20 cladodios y con 21 a 50 cladodios = 6%, y con 51 a 100 cladodios = 2%). El porcentaje de descendientes por hectárea, estimado a partir del número de descendientes totales (sexuales y clonales) encontrados en las parcelas de cada hábitat en el periodo de estudio (2007-2009) fue de 2290 en BH, de 378 en HPH y de 530 en IDH (Cuadro 2).

La tasa de crecimiento proyectada a partir de las matrices anuales y a partir de los modelos promedio, periódico y estocástico sugiere que las poblaciones de *O. microdays* en los tres hábitats se encuentran estables (Cuadro 3). En el hábitat de la bajada (BH) la

población está conformada principalmente por plantas pequeñas (82% de los individuos se concentran en las dos primeras categorías de tamaño), mientras que en los hábitats de la ladera (HPH) y de las interdunas (IDH) los individuos de las dos primeras categorías representan el 50% y 46%, respectivamente (Figura 3). En BH se presenta una reducción del porcentaje de individuos hacia las categorías de mayor tamaño, mientras que HPH e IDH muestran una distribución bimodal, con un segundo pico en las categorías 51-100, 101-160 y 161-380 cladodios.

En los tres hábitats las estructuras estables proyectadas a partir de las matrices promedio y periódicas no fueron distintas ($G < 7.08$, $P > 0.50$, 8 gl). La estructura observada fue distinta de las estructuras proyectadas a partir de las matrices promedio y periódicas en BH y HPH ($G > 174.9$, $P < 0.0001$, 8 gl y $G > 938.9$, $P < 0.0001$, 8 gl; respectivamente), encontrándose un mayor número de categorías que difieren en la proporción de individuos en HPH (Figura 3). En contraste, la estructura observada en IDH no fue distinta de las estructuras proyectadas ($G < 11.5$, $P < 0.17$, 8 gl; Figura 3).

Los valores reproductivos proyectados a partir de las matrices promedio y periódicas muestran diferencias entre los hábitats. En BH y HPH el incremento de los valores reproductivos es notable desde las primeras categorías de tamaño y tiende a reducirse entre las categorías de mayor tamaño, principalmente en HPH. Por otro lado, en IDH los valores reproductivos comienzan a incrementarse de manera evidente a partir de la categoría 11-20 cladodios, y son mayores en la proyección periódica 2008-2009 cuando se considera un valor reproductivo de uno para las semillas, y mayores en la proyección periódica 2007-2008 cuando se considera un valor reproductivo de uno para los individuos con un cladodio. En BH y HPH se presenta esta misma tendencia, pero los valores reproductivos en las dos proyecciones periódicas es similar (Figura 4). En los tres hábitats los valores reproductivos fueron de cinco a seis ordenes de magnitud más altos cuando se consideró un valor

reproductivo de uno para las semillas que cuando se consideró un valor reproductivo de uno para los individuos con un cladodio, y para ambos casos, los valores reproductivos fueron de uno a dos ordenes de magnitud más altos en IDH que en BH y HPH (Figura 4).

Los valores más altos de sensibilidad correspondieron a la transición de semilla a plántula en los tres hábitats, sugiriendo que en general el reclutamiento sexual es un proceso fuertemente afectado por presiones selectivas. No obstante, el patrón que muestra la sensibilidad en el resto de las categorías fue distinto entre los hábitats, sugiriendo que hay una presión selectiva importante sobre el crecimiento en los individuos de la categoría de 2-5 cladodios en BH, y sobre el crecimiento y la supervivencia de los individuos de 21-50 cladodios en HPH y de los individuos con más de 100 cladodios en IDH (Figura 5).

En los tres hábitats, el proceso demográfico con mayor contribución relativa a los cambios en λ fue la supervivencia (permanencia en la misma categoría de tamaño). En BH y HPH el siguiente proceso en orden de importancia fue el crecimiento, seguido por las reducciones de tamaño y la clonalidad (en conjunto), y en IDH el patrón que muestran estos dos últimos procesos se invierte (Figura 6). En general, las proyecciones a partir de los distintos modelos en cada hábitat resultan en patrones similares de elasticidad por proceso demográfico. La excepción se presentó en la proyección anual 2007-2008 en IDH, donde la supervivencia presenta el valor más alto de elasticidad (Figura 6). Las contribuciones de la producción de vástagos (clonales y sexuales en conjunto) son bajas (elasticidad obtenida a partir de las matrices promedio: BH = 0.57%, HPH = 0.29% e IDH = 0.02%). No obstante, estas contribuciones son distintas entre los hábitats, mostrando que la clonalidad vía plantlets y por cladodios enraizados son más importantes en BH, mientras que la contribución de la reproducción sexual es más importante en HPH (Figura 7). Respecto a la contribución por categoría de tamaño, en BH y HPH los valores más altos de elasticidad corresponden a las categorías 11-20, 21-50 y 51-100 cladodios, mientras que en IDH corresponden a las

categorías 161-300 y >300 cladodios. En HPH e IDH el patrón de la elasticidad correspondiente a los diferentes modelos es semejante, pero en BH los valores de elasticidad calculados a partir de la proyección anual 2008-2009 se diferenciaron del patrón mostrado por los otros modelos (Figura 8).

La contribución de las transiciones y los hábitats a la tasa de crecimiento fue positiva, principalmente. Ambos periodos (2007-2008 y 2008-2009) tuvieron una contribución positiva en BH y HPH, siendo más alta en el periodo 2008-2009 en BH, seguida por las contribuciones de los periodos 2008-2009 y 2007-2008 en HPH (Figura 9). La siguiente contribución positiva en orden de importancia correspondió al periodo 2008-2009 en IDH, y la combinación de periodo \times hábitat con la contribución positiva más baja fue el periodo 2007-2008 en BH (Figura 9). De las contribuciones de las distintas combinaciones de periodo \times hábitat, la segunda contribución en orden de importancia fue negativa y corresponde a IDH en el periodo 2007-2008 (Figura 9).

La contribución de las distintas categorías de tamaño fue muy variable entre las transiciones y entre los hábitats. Las contribuciones más altas corresponden a las categorías de tamaño 11-20 y 21-50 cladodios en HPH e IDH, de las cuales, las contribuciones más importantes fueron negativas y corresponden al periodo 2007-2008 en IDH, seguidas por las contribuciones positivas en HPH en ambos periodos (Figura 10). Respecto a los procesos demográficos, la permanencia en la misma categoría de tamaño tuvo una contribución positiva alta en los tres hábitats, en HPH e IDH en el periodo 2007-2008, y en BH en el periodo 2008-2009. Otras contribuciones importantes corresponden al crecimiento, las cuales fueron negativas en su mayoría (excepto en el periodo 2008-2009 en BH), y a la reducción de tamaño en el periodo 2008-2009 en BH que también tuvo una contribución negativa (Figura 11).

DISCUSIÓN

La tasa finita de crecimiento poblacional (λ) puede ser interpretada como una medida del éxito demográfico de una población (Stearns, 1992; Caswell, 2001). Sin embargo, la confiabilidad de esta interpretación depende de la representatividad de la variación demográfica asociada a la variación ambiental (Svensson *et al.*, 1993; Caswell, 2001; Mandujano *et al.*, 2001). En general la tasa de crecimiento poblacional proyectada a partir de las matrices anuales (2007-2008 y 2008-2009), al igual que con las matrices promedio, y con el modelo estocástico sugieren que las poblaciones de *O. microdasys* se encuentran estables, pero es importante considerar que las predicciones hechas a partir de una o pocas transiciones pueden cambiar cuando la variación ambiental es amplia (Watkinson y Powell, 1997; Mandujano *et al.*, 2001). En este estudio se utilizan dos periodos anuales consecutivos para estimar λ , los cuales se caracterizaron por una producción muy baja de frutos y un reclutamiento escaso de los diferentes tipos de descendientes (clonales y sexuales) de *O. microdasys*, pero estas condiciones no son necesariamente las predominantes en el tiempo, como lo indica el número de descendientes clonales y sexuales que se reclutaron en 2007 (> 80% de los descendientes producidos entre 2007 y 2009, cuadro 1), y los reportados en un estudio previo (Palleiro *et al.*, 2006).

No obstante, debido a que el estudio se inició en un año (2007) en el que fue alta la producción de semillas (>2 x 10⁶ semillas) y descendientes en los tres hábitats (608 en BH, 138 en HPH y 246 en IDH), y que en los dos años de evaluación subsecuentes hubo menor producción de semillas, frutos y descendientes en los tres hábitats, las proyecciones hechas a partir de los modelos promedio, periódico y estocástico pueden considerarse como una manera más adecuada de aproximar la dinámica de las poblaciones a largo plazo, ya que las transiciones involucran variaciones importantes en la producción y supervivencia de los

descendientes de origen clonal y sexual, y en la tasa de crecimiento de los individuos adultos. La influencia de la heterogeneidad ambiental sobre la producción de descendientes de distinto tipo (sexuales y clonales) puede generar variaciones intraespecíficas en la dinámica poblacional (Caswell, 1985; Dorken y Eckert, 2001). En particular, para *O. microdays* en el periodo de 2008 no se produjeron semillas y los descendientes totales que se produjeron en ese año representan apenas el 2% del número de descendientes totales producidos en 2007, mientras que en 2009 se produjeron en promedio 3×10^5 semillas y el número de descendientes producidos representan en promedio para los tres hábitats, el 7% del los producidos en 2007. Por otro lado, en el periodo 2007-2008 la tasa de crecimiento en las diferentes categorías fue menor que en la transición 2008-2009 (en 78% de las categorías en BH, 44% de las categorías en HPH y 100% de las categorías en IDH).

En poblaciones de plantas clonales, frecuentemente se reporta que el reclutamiento sexual es raro (p. ej., Parker y Hamrick, 1992; Eriksson y Bremer, 1993; Pornon *et al.*, 1997; Rosseto *et al.*, 2004; Stehlik y Holderegger, 2000) y que la clonalidad es el medio principal de regeneración de las poblaciones (Eriksson y Bremer, 1993; Pornon *et al.*, 1997; Dorken y Eckert, 2001; Mandujano *et al.*, 2001). En contraste con la producción de descendientes clonales, en muchas poblaciones el reclutamiento sexual puede ser observado con muy baja frecuencia en tiempos relativamente cortos, debido a que implica una serie de eventos que incluyen el desarrollo de las flores, la polinización, el desarrollo de las semillas, la germinación de estas y el establecimiento de las plántulas resultantes (Eriksson y Ehrlén, 1992; Dorken y Eckert, 2001), cada uno de los cuales puede ser afectado de manera distinta por la variación ambiental espacial y temporal. Adicionalmente, los descendientes clonales suelen tener tasas de crecimiento más altas y en muchos casos una cantidad mayor de recursos que les confieren mayores probabilidades de supervivencia ante factores de estrés biótico y

abiótico como la depredación y las condiciones ambientales extremas, y pueden contribuir a la reproducción en tiempos más cortos (Loehle, 1987; Mandujano *et al.*, 1998).

En *O. microdasys* la variación en la producción de descendientes de distinto tipo entre los hábitats parece contribuir poco a la dinámica poblacional (i.e., elasticidades muy bajas en estos procesos demográficos), este patrón de elasticidades es el común y observado en las especies perennes de vida larga (Silvertown *et al.*, 1993; Rosas-Barrera y Mandujano, 2002; Godínez-Álvarez *et al.*, 2003). Sin embargo, en este trabajo se demuestra que estas contribuciones difieren entre los hábitats, reflejando una mayor importancia de la clonalidad en BH que en los otros dos hábitats, y del reclutamiento sexual en HPH que en los otros hábitats. Adicionalmente, el hecho de que los individuos en BH, que es el hábitat donde la contribución clonal a través de plantlets es más importante, comiencen a reproducirse desde la segunda categoría indica que los descendientes clonales pueden alcanzar el estado reproductivo a tallas más pequeñas. Por otro lado, de manera similar a lo que se ha encontrado en varias especies con hábito arbóreo y arbustivo (Silvertown *et al.*, 1993; Mandujano *et al.*, 2001; Clark-Tapia *et al.*, 2005a; Mandujano *et al.*, 2007), los resultados sugieren que la modificación de las tasas de supervivencia, crecimiento y la reducción del tamaño son los procesos demográficos que determinan la dinámica de las poblaciones de *O. microdasys*, particularmente la supervivencia. No obstante, la contribución de estos procesos en la dinámica poblacional puede modificarse con la variación de las condiciones ambientales que influyen en las probabilidades de transición entre las categorías de tamaño. Asimismo, el tipo de hijo que se recluta predominantemente en cada hábitat imprime características a la estructura estable, al valor reproductivo, al patrón de supervivencia y a los atributos de historia de vida como la talla a la primera reproducción y el número de vástagos.

En *O. microdasys* la dinámica poblacional está regida principalmente por las transiciones que se llevan a cabo entre las categorías incluidas en el intervalo de tamaño de 11

a 160 cladodios en BH, de 11 a 100 cladodios en HPH y de 51 a >380 cladodios en IDH, por lo que puede esperarse un efecto importante sobre la dinámica poblacional con la modificación de las probabilidades de transición en estas categorías. La variación en la contribución (evaluada con los LTREs) de los procesos demográficos y de las distintas categorías de tamaño apoya este planteamiento. De manera opuesta a lo que ocurre en periodo 2008-2009 en los tres hábitats, el crecimiento tiene una contribución negativa en el periodo 2007-2008. Este patrón puede ser el resultado de la combinación de tasas de crecimiento y de reducción de tamaño extremadamente bajas en categorías pequeñas o intermedias (p. ej., categoría 6-10 cladodios en BH, 11-20 cladodios en HPH e IDH) y de tasas de crecimiento muy bajas con tasas de reducción de tamaño altas en las categorías posteriores. La proyección de la dinámica poblacional a partir del periodo 2007-2008 resulta en la reducción drástica de la mayoría de las categorías de mayor tamaño y en el incremento en la proporción de individuos de las categorías con probabilidades de permanencia más altas (21-50 cladodios en BH y HPH, y 161-380 cladodios en IDH), sugiriendo que si estas condiciones de estrés ambiental predominan a través del tiempo, el mantenimiento de las poblaciones puede ser altamente dependiente de los cambios en la supervivencia en estas categorías, y en menor grado, de los cambios en la contribución de individuos hacia categorías inferiores mediante la reducción en tamaño. Los valores altos de elasticidad en la supervivencia de los adultos en tallas intermedias y grandes es un patrón común para especies de vida larga que habitan en ambientes estresantes (Silvertown *et al.*, 1993; Mandujano *et al.*, 2001; Clark-Tapia *et al.*, 2005a; Mandujano *et al.*, 2007). Las asignaciones que cambian entre categorías y entre procesos se han descrito para especies invasoras o con alto potencial de reclutamiento y resistencia a la sequía (Silvertown *et al.*, 1993; Mandujano *et al.*, 2001; Clark-Tapia *et al.*, 2005a; Mandujano *et al.*, 2007). Por ejemplo, en contraste con el periodo 2007-2008, el patrón que sigue la tasa de crecimiento y la reducción de tamaño en el periodo 2008-2009 se

invierte, lo cual aunado al cambio en las probabilidades de permanencia en algunas categorías da un panorama distinto. En BH e IDH, la supervivencia se incrementa en la última categoría, sin embargo, la transición hacia la categoría anterior no se presenta en BH, y se reduce drásticamente en IDH, por lo que la proporción de individuos en esta categoría se incrementa cuando se proyecta la dinámica poblacional. No obstante, en IDH la probabilidad de reducción de tamaño hacia las tres categorías inferiores, aunque es menor, resulta en una proporción de individuos relativamente alta en estas categorías, mientras que en BH las mismas categorías presentan una reducción drástica, lo cual puede explicar la fuerte contribución negativa de la reducción de tamaño en BH en el periodo 2008-2009. En HPH el patrón que presentan las probabilidades de transición en el periodo 2008-2009 son similares a los del periodo 2007-2008, pero la supervivencia en la categoría de 51-100 cladodios se reduce en 0.19, lo cual coincide con la reducción drástica en su valor de elasticidad.

El patrón que presenta la estructura de una población es el resultado de la variación a largo plazo en las tasas vitales (Bierzychudek, 1982; Silvertown, 1987; Nault y Gagnon, 1993; Eriksson, 1993; Mandujano *et al.*, 2001; Godínez-Álvarez *et al.*, 2003). Por otro lado, la estructura estable proyectada equivale a la estructura que puede alcanzar la población si la distribución de individuos entre las diferentes categorías se modifica por el conjunto de probabilidades de transición por un tiempo indefinido (Bierzychudek, 1982). Las transiciones empleadas en este estudio al parecer describen mejor la dinámica poblacional a largo plazo en BH e IDH. En estos hábitats la estructura observada es similar a las estructuras estables obtenidas a partir de las proyecciones promedio y periódica, mientras que en HPH, la estructura proyectada es muy distinta de la estructura observada. Con base en las probabilidades de transición actuales, la estructura poblacional en BH puede ser el resultado de una muy baja mortalidad, lento crecimiento, probabilidades altas de reducción de tamaño y una contribución clonal considerable a través de los plantlets a las categorías de menor

tamaño, en los individuos más grandes de la población. En IDH, por otro lado, la estructura observada puede ser mantenida por las probabilidades altas de supervivencia y de reducción de tamaños entre categorías contiguas en los individuos más grandes, aunadas a las probabilidades de cambiar de categoría por crecimiento, reducciones de tamaño y una ligera mortalidad en las categorías intermedias, y por la alta mortalidad en las categorías más pequeñas. La estructura observada en HPH presenta un patrón similar al de IDH, sugiriendo que los procesos demográficos que influyen más en la estructura poblacional en IDH también están implicados en la estructura observada en HPH, y que las probabilidades de algunas transiciones observadas en el segundo fueron altas en el periodo evaluado. En particular, aunque las categorías de mayor tamaño en HPH tienen probabilidades altas de supervivencia y de reducción de tamaños entre categorías contiguas como los de IDH, las reducciones de tamaño hacia categorías intermedias son más altas que las de crecimiento, a diferencia de lo que se observa en IDH, lo cual puede generar las desviaciones observadas en el patrón proyectado. Las estructuras observadas en los tres hábitats son similares a las reportadas en otras especies clonales que tienen tasas de mortalidad cercanas a cero (en escalas anuales) y probabilidades relativamente altas de reducción de tamaño en los individuos más grandes y que producen descendientes (clonales y/o sexuales) con frecuencia (Bierzychudek, 1982; de Steven, 1989; Nault y Gagnon, 1993; Mandujano *et al.*, 2001, 2007).

De manera semejante a como se ha observado en varias especies (Eriksson, 1988; de Steven, 1989; Horvitz y Schemske, 1995; Mandujano *et al.*, 2005, 2007), el valor reproductivo en *O. microdasys* se incrementa con el tamaño de los individuos, pero el patrón que sigue en los tres hábitats es distinto y responden a las tasa de mortalidad que se presentan en las categorías de tamaño intermedio y pequeño, y a las probabilidades de crecimiento y de reducción de tamaño en las categorías de mayor tamaño. En IDH, la mortalidad alta en las categorías más pequeñas y una mortalidad relativamente baja en las categorías intermedias

(en comparación con BH y HPH) puede estar asociada a la abundancia del roedor *Neotoma albigula*, debido a que construye sus nidos en la base de las plantas adultas, causando la muerte de los individuos pequeños que generalmente se establecen debajo de las plantas adultas (observaciones personales).

En concordancia con lo planteado por varios autores (Svensson *et al.*, 1993; Horvitz y Schemske, 1995; Lesica y Shelly, 1995; Mandujano *et al.*, 2001), la variación que se presenta entre las transiciones utilizadas en este estudio, así como las diferencias entre las estructuras poblacionales proyectadas y observadas (principalmente en HPH) indican que es necesario incluir más años para hacer predicciones más afinar nuestra aproximación a la dinámica poblacional a largo plazo. No obstante, debido a que en las transiciones utilizadas se incluyen dos periodos de crecimiento y reproducción muy contrastantes, una parte importante de la variación ambiental puede estar incluida en las proyecciones de la dinámica poblacional, mostrando algunas tendencias importantes. Por ejemplo, resulta interesante el hecho de que en el periodo 2007-2008, la tasa de crecimiento en las diferentes categorías fue menor que en el periodo 2008-2009, lo cual sugiere que el incremento en el esfuerzo reproductivo en un año (en este caso 2007) tiene costos para el crecimiento en el siguiente año. De este modo, al parecer las plantas de *O microdasys* invierten recursos en el crecimiento después de un periodo de bajo esfuerzo reproductivo como en el periodo de 2008 a 2009. Por otro lado, la poca variación que presenta λ , con valores cercanos a la unidad cuando la dinámica es proyectada partiendo de los distintos escenarios mostrados por los dos periodos, sugieren que las poblaciones pueden permanecer estables siguiendo distintas estrategias de asignación de recursos a las tasas vitales en respuesta a la variación ambiental.

REFERENCIAS

- Álvarez-Buylla, R. E. y Slatkin M. (1993) Finding confidence limits on population growth rates: Monte Carlo test of a simple analytic method. *Oikos*, 68, 273-282.
- Álvarez-Buylla, R. E. y Slatkin M. (1994) Finding confidence limits on population growth rates: three real examples revised. *Ecology*, 75, 255-260.
- Barret, S. C. H. (1980) Sexual reproduction in *Eichhornia crassipes* (water hyacinth). II. Seed production in natural populations. *Journal of Applied Ecology*, 17, 113-124.
- Bierzychudek, P. (1982) The Demography of Jack-in-the-Pulpit, a forest perennial that changes sex. *Ecological Monographs*, 52, 335-351.
- Callaghan, T.V., Carlsson B. A., Jónsdóttir I. S., Svensson B. M. y Jonasson S. (1992) Clonal plants and environmental change: introduction to the proceedings and summary. *Oikos*, 63, 341-347.
- Campbell, L. G. y Husband B. C. 2005. Impact of clonal growth on effective population size in *Hymenoxys herbacea* (Asteraceae). *Heredity*, 94, 526-532.
- Caswell, H. y Werner P. A. (1978) Transient behavior and life history analysis of teasel (*Dipsacus sylvestris*). *Ecology*, 59, 53-66
- Caswell, H. (1985) The evolutionary demography of clonal reproduction. En Jackson, J. B. C., L. W. Buss y R. E. Cook (Eds.), *Population biology and evolution of clonal organisms*. Yale University Press. New Haven and London.
- Caswell, H. (1996) Analysis of life table response experiments II. Alternative parameterizations for size- and stage-structured models. *Ecological Modelling*, 88, 73-82.
- Caswell, H. (2001) *Matrix population models: construction, analysis and interpretation*. Sinauer Asoc. Inc PublSunderland, Massachussetts.

- Caswell, H. y Trevisan M. C. (1994) Sensivity analisis of periodic matrix models. *Ecology*, 75, 1299-1303.
- Clark-Tapia, R., Mandujano M. C., Valverde T., Mendoza A. y Molina-Freaner F. (2005a) How important is clonal recruitment for population maintenance in rare plant species?: the case of the narrow endemic cactus, *Stenocereus eruca*, a narrow endemic cactus of the Sonoran Desert. *American Journal of Botany*, 92, 272-278.
- Clark-Tapia, Alfonso-Corrado C., Eguiarte L. E. y Molina-Freaner F. (2005b) Clonal diversity and distribution in *Stenocereus eruca* (Cactaceae), in Baja California Sur, México. *Biological Conservation*, 124,123-132.
- Cochran, M. E. y Ellner S. (1992) Simple methods for calculating age-based life history parameters for stage-structured populations. *Ecological Monographs*, 62, 245-364.
- Chung, M. Y., Nason J. D. y Chung M. G. (2004) Implications of clonal structure effective population size and genetic drift in a rare terrestrial orchid, *Cremastra appendiculata*. *Conservation Biology*, 18, 1515-1524.
- de Kroon, H. A., Plaiser A., van Groenendael J. M. y Caswell H. (1986) Elasticity: the relative contribution of demographic parameters to population growth rate. *Ecology*, 67, 1427-1431.
- de Steven, D. (1989) Genet and ramet demography of *Oenocarpus mapora* ssp. *Mapora*, a clonal palm of Panamanian tropical moist forest. *Journal of Ecology*, 77, 579-596.
- Dorken, E. y Eckert C. G. (2001) Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Journal of Ecology*, 89, 339-350.
- Douhovnikoff, V., McBride J. R. y Dodd R. S. (2005) *Salix exigua* clonal growth and population dynamics in relation to disturbance regime variation. *Ecology*, 86, 446-452.

- Eguiarte, L. E., Búrquez A., Rodríguez J., Martínez-Ramos M., Sarukhán J. y Piñero D. (1993) Direct and indirect estimates of neighbourhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution*, 47, 75-87.
- Ellstrand, N. C. y Roose M. L. (1987) Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany*, 74, 123-131.
- Eriksson, O. (1988) Ramet behaviour and population growth in the clonal herb *Potentilla anserina*. *Journal of Ecology*, 76, 522–536.
- Eriksson, O. y Ehrlén J. (1992) Seed and microsite limitation of recruitment in plant populations. *Oecologia*, 91, 360-364.
- Eriksson, O. y Bremer B. (1993) Genet dynamics of the clonal plant *Rubus saxatilis*. *Journal of Ecology*, 81, 533-542.
- Fryxell, P. A. (1957) Mode of reproduction in higher plants. *Botanical Review*, 23, 135-233.
- Godínez-Álvarez, H., Valverde T. y Ortega-Baes P. (2003) Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*, 69, 173-203.
- Handel, S. N. (1985) The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding system. *The American Naturalist*, 125, 367-384.
- Horvitz, C. C. y Schemske D. W. (1995) Spatiotemporal variation in demographic transitions of a tropical understory herb projection matrix analysis. *Ecological Monographs*, 65, 155–192.
- Kanno, H. y Seiwa K. (2004) Sexual vs. vegetative reproduction in relation to forest dynamics in the understorey shrub, *Hydrangea paniculata* (Saxifragaceae). *Plant Ecology*, 170, 43-53.
- Lefkovich, L. P. (1965) The study of population growth in organisms grouped by stages. *Biometrics*, 21, 1-18.

- Lesica, P. y Shelly S. (1995) Effects of reproductive mode on demography and life history in *Arabis fecunda* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 82, 752–762.
- Loehle, C. (1987) Partitioning of reproductive effort in clonal plants: a benefit-cost model. *Oikos*, 49, 199-208.
- Mandujano, M. C., Montaña C., Méndez I. y Golubov J. (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., Montaña C., Franco M., Flores A. y Golubov J. (2001) Integration of demographic annual variability in a clonal desert cactus. *Ecology*, 82, 344-359.
- Mandujano, M. C. (2007) La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones. En: *Biología Molecular: Perspectivas y aplicaciones*. Editores. Eguiarte, L. & V. Souza. UNAM. INE-UNAM, México.
- Mandujano, M.C., Golubov J. y Huenneke L. F. (2007) Effect of reproductive modes and environmental heterogeneity in the population dynamics of a geographically widespread clonal desert cactus. *Population Ecology*, 49, 141-153.
- Montiel, S. y Montaña C. (2000) Vertebrate frugivory and seed dispersal of a Chihuahuan Desert cactus. *Plant Ecology*, 146, 221-229.
- Nault, A. y Gagnon D. (1993) Ramet demography of *Allium tricoccum*, a spring ephemeral, perennial forest herb. *Journal of Ecology*, 81, 101-119.
- 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., Mandujano M. C. y Golubov J. (2006) Aborted fruits of *Opuntia microdasys* (Cactaceae): insurance against reproductive failure. *American Journal of Botany*, 93, 505-511.

- Parker, K. C. y Hamrick J. L. (1992) Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *American Journal of Botany*, 79, 86-96.
- Pornon, A., Escaravage N., Till-Bottraud I. y Doche B. (1997) Variation of reproductive traits in *Rhododendron ferrugineum* L. (Ericaceae) populations along a successional gradient. *Plant Ecology*, 130, 1-9.
- Pornon, A. y Scaravage N. (1999) Genotypic structure in clonal *Rhododendron ferrugineum* L. (Ericaceae) populations: Origin and maintenance. *Plant Ecology*, 141, 145-151.
- Rosas-Barrera, M. D. y Mandujano, M. C. (2002). La diversidad de historias de vida de cactáceas, aproximación por el triángulo demográfico. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. 47 (2):33-41.
- Rosseto, M., Gross C. L., Jones R. y Hunter J. (2004) The impact of clonality on an endangered tree (*Elaeocarpus williamsianus*) in a fragment rain forest. *Biological Conservation*, 117, 33-39.
- Silvertown, J. W. (1987) *Introduction to plant population ecology*. 2nd edition Longman Scientific & Technical, Essex, England.
- Silvertown, J., Franco M., Pisanty I. y Mendoza A. (1993) Comparative plant demography- relative importance of life-cycle components to the finite rate of increase in woody and herbaceous perennials. *Journal of Ecology*, 81, 465-476.
- Sokal, R. R. y Rohlf F. J. (1995) *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. W. H. Freeman and Company, New York.
- Stearns, S. C. (1992) *The evolution of life histories*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Stehlik, I. y Holderegger R. (2000) Spatial genetic structure and clonal diversity of *Anemone nemorosa* in late successional deciduous woodlands of Central Europe. *Journal of Ecology*, 88, 424-435.
- Stubben, C. y Milligan B. (2007) Estimating and analyzing demographic models using the popbio package in R. *Journal of Statistical Software*, 22,1-23.

- Svensson, B. M., Carlsson B. A., Karlsson P. S. y Nordell K. O. (1993) Comparative long term demography of three species of *Pinguicula*. *Journal of Ecology*, 81, 635–645.
- Watkinson, A. R. y Powell J. C. (1997) The life history and population structure of *Cycas armstrongii* in monsoonal northern Australia. *Oecologia*, 111, 341–349.
- Widén, B., Cronberg N. y Widén M. (1994) Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genets in clonal plants, a literature survey. *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica*, 29, 245-263.

Cuadro 1. Porcentaje y número de individuos por hectárea en tres poblaciones de *Opuntia microdasys* (tomado de Palleiro *et al.* (2006): bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH).

Hábitat	Plantlets (reproducción clonal)	Cladodios enraizados (reproducción clonal)	Plántulas (reproducción sexual)
BH	99.3% (1953.3 ind/ha)	0.3% (6.7 ind/ha)	0.4% (6.7 ind/ha)
HPH	76.6% (257.1 ind/ha)	4.3% (14.3 ind/ha)	19.1% (64.3 ind/ha)
IDH	87.8% (537.5 ind/ha)	11.2% (68.8 ind/ha)	1% (6.3 ind/ha)

Cuadro 2. Porcentaje de descendientes de *Opuntia microdasys* en tres poblaciones: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH).

Hábitat	Plantlets (reproducción clonal)	Cladodios enraizados (reproducción clonal)	Plántulas (reproducción sexual)
BH	97% (2227 ind/ha)	2.5% (53 ind/ha)	0.5% (10 ind/ha)
HPH	91% (343 ind/ha)	1% (3 ind/ha)	9% (33 ind/ha)
IDH	24% (126 ind/ha)	20% (106 ind/ha)	56% (298 ind/ha)

Cuadro 3. Valores de la tasa finita de crecimiento poblacional (λ) para *Opuntia microdasys* en tres hábitats: bajada (BH), ladera (HPH) e interdunas (IDH). En el modelo estocástico el intervalo de confianza se muestra entre paréntesis.

	BH	HPH	IDH
λ anual (07-08)	0.993 (0.911-1.075)	1.000 (0.924-1.076)	0.968 (0.927-1.009)
sin clonalidad	0.991 (0.905-1.077)	1.000 (0.923-1.077)	0.968 (0.927-1.009)
λ anual (08-09)	1.006 (0.982-1.030)	1.004 (0.881-1.127)	0.994 (0.920-1.068)
sin clonalidad	1.000 (0.99996-1.00004)	1.000 (0.875-1.125)	0.994 (0.927-1.068)
λ promedio	0.997 (0.930-1.064)	1.000 (0.912-1.088)	0.987 (0.924-1.050)
sin clonalidad	0.990 (0.909-1.071)	0.998 (0.910-1.086)	0.987 (0.923-1.051)
λ periódico (07-08)	0.994	1.000	0.973
sin clonalidad	0.980	0.994	0.973
λ periódico (08-09)	0.994	1.000	0.973
sin clonalidad	0.980	0.994	0.973
λ estocástico	0.997 (0.981-1.014)	1.000 (0.984-1.017)	0.987 (0.970-1.005)

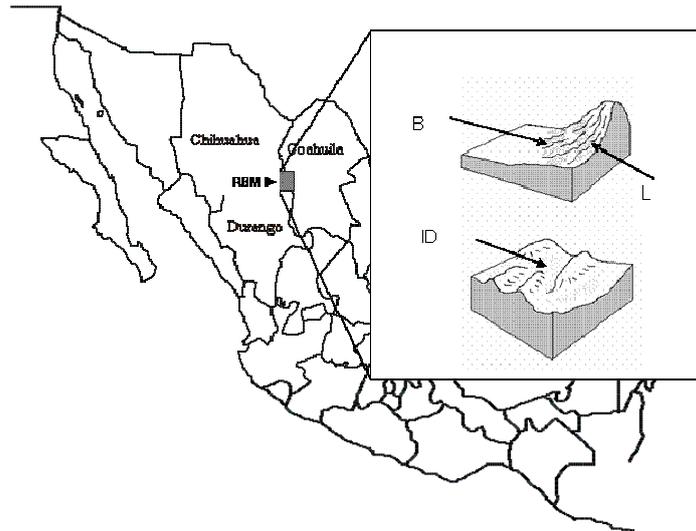


Figura 1. Localización de la Reserva de la Biosfera de Mapimí (RBM) y esquema de los hábitats de *Opuntia microdasys*: bajada (BH) ladera (HPH) e interdunas (IDH).

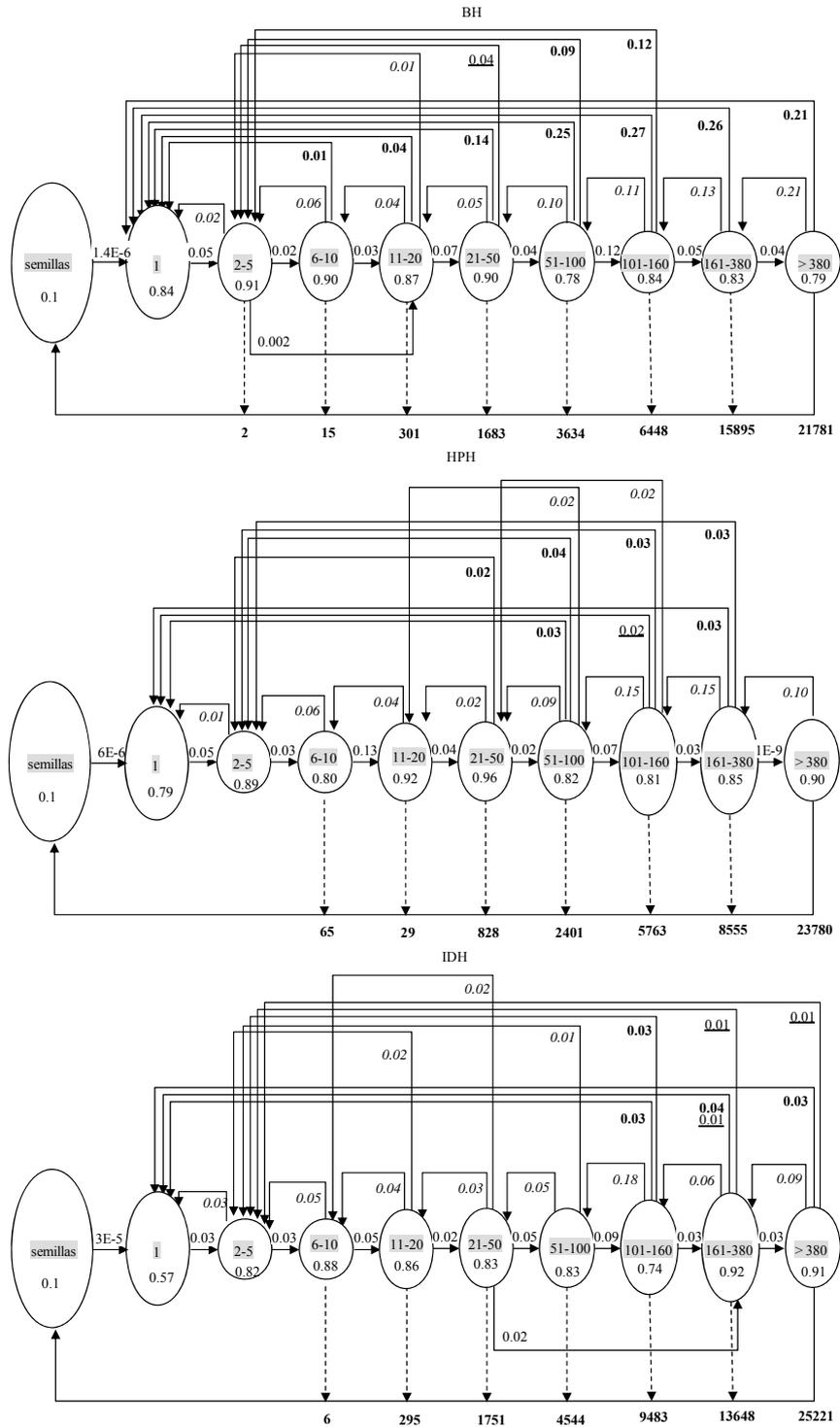


Figura 2. Diagramas de ciclo de vida de *Opuntia microdasys* en tres hábitats: bajada (BH), ladera (HPH) e interdunas (IDH). Los valores corresponden a la matriz promedio (2007-2008 y 2008-2009). Los óvalos representan las categorías de tamaño, en sombreado se muestra el número de cladodios y debajo de este la probabilidad de la permanencia. En la flecha inferior (conectada a los óvalos por flechas punteadas) se presentan los valores de la fecundidad (en negritas). Los valores sobre las flechas horizontales entre los óvalos representan las probabilidades de crecimiento de una categoría a la superior inmediata y las flechas inferiores que conectan los óvalos representan las probabilidades de crecimiento hacia categorías superiores no consecutivas. Las flechas superiores representan las reducciones de tamaño (en *italicas*) y la contribución clonal a través de plantlets (negritas) y desprendimiento de cladodios (subrayado).

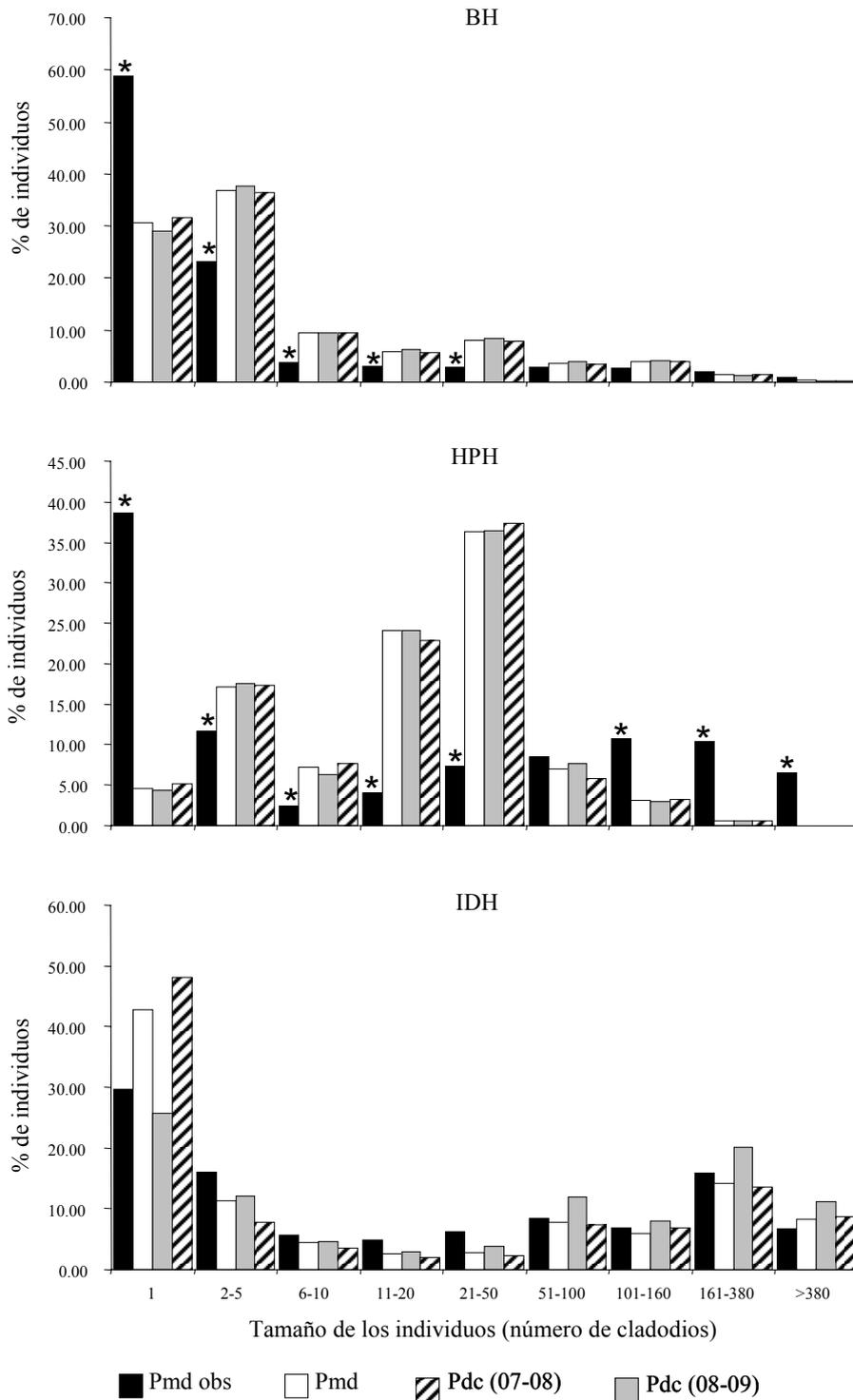


Figura 3. Estructura poblacional de *Opuntia microdasys* en tres hábitats: bajada (BH), ladera (HPH) e interdunas (IDH). Pmd obs = estructura observada (matriz promedio), Pmd = estructura estable (matriz promedio), Pdc (07-09) = estructura estable (matriz periódica [07-08] × [08-09]), Pdc (09-07) = estructura estable (matriz periódica [08-09] × [07-08]). * = categorías de tamaño de la estructura observada que difieren significativamente de la estructura proyectada.

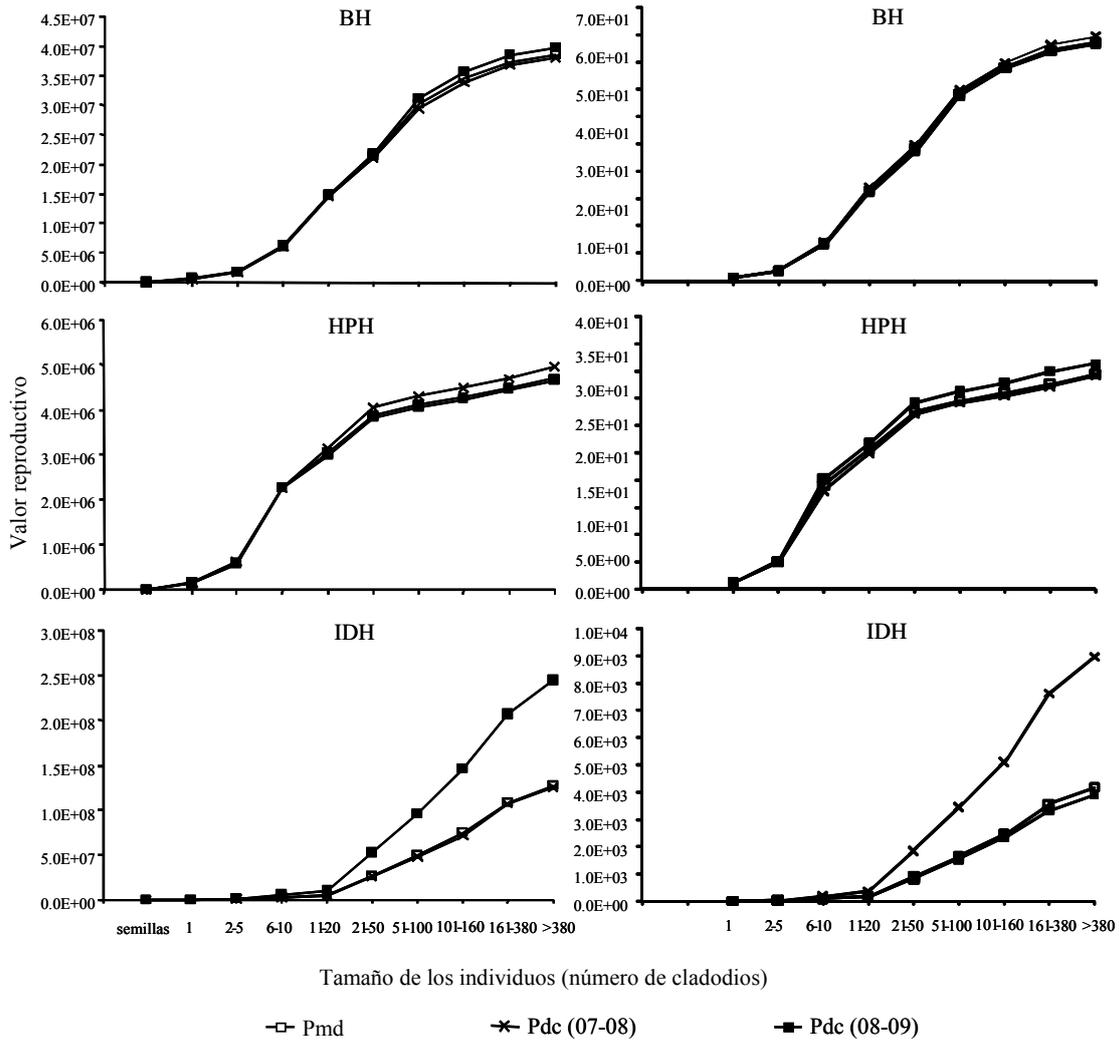


Figura 4. Valor reproductivo proyectado a partir de las matrices promedio (Pmd) y periódicas (Pdc) en tres hábitats de *Opuntia microdasys*: bajada (BH), ladera (HPH) e interdunas (IDH), considerando $V_{semillas} = 1$ (lado izquierdo) y $V_{cladodio} = 1$ (lado derecho).

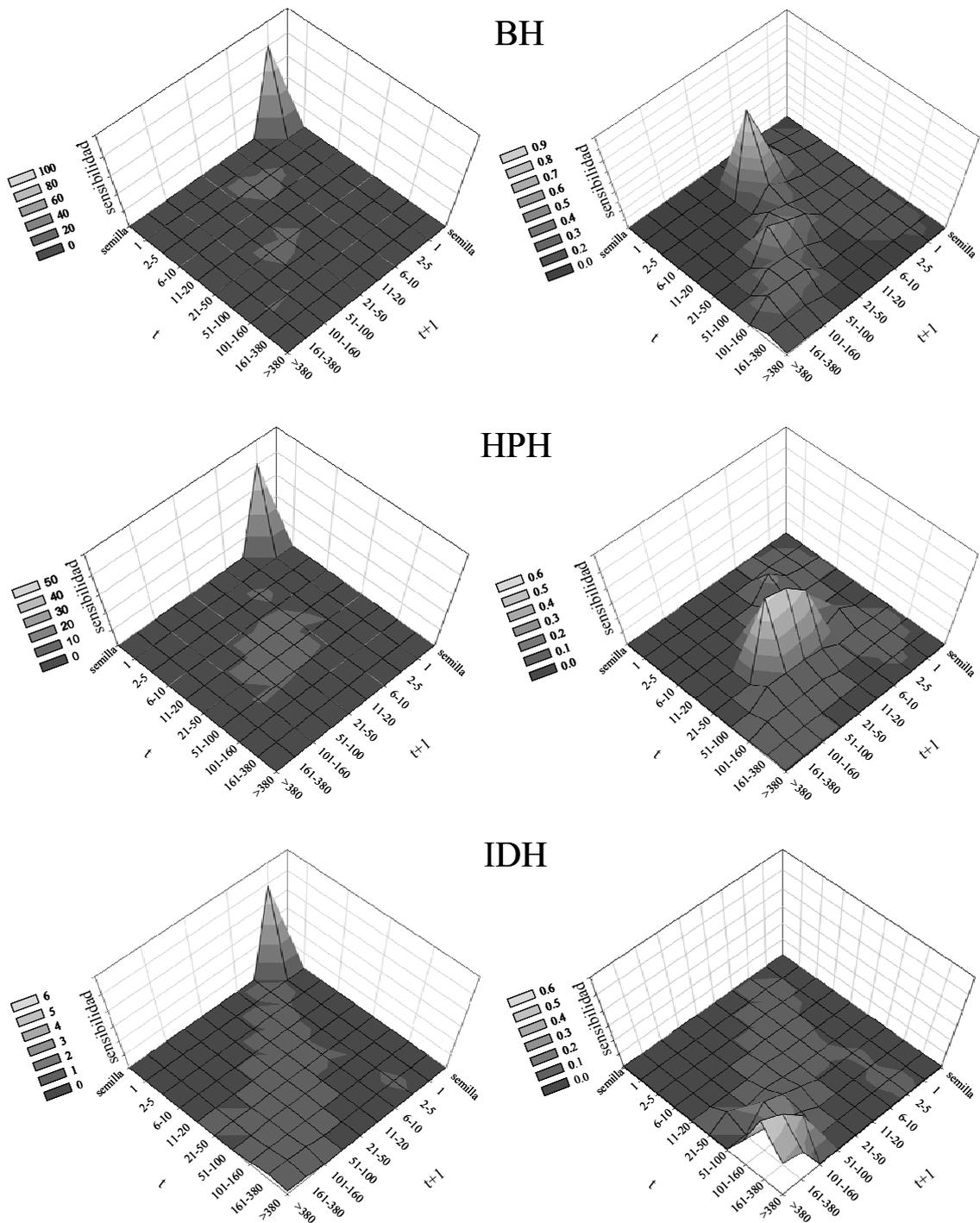


Figura 5. Sensibilidad de las matrices promedio en tres hábitats de *Opuntia microdasys*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH). En las figuras del lado derecho el valor de sensibilidad de la transición de semilla a la categoría de 1 cladodio se omitió para visualizar el patrón que presentan los valores de sensibilidad en los diferentes hábitats.

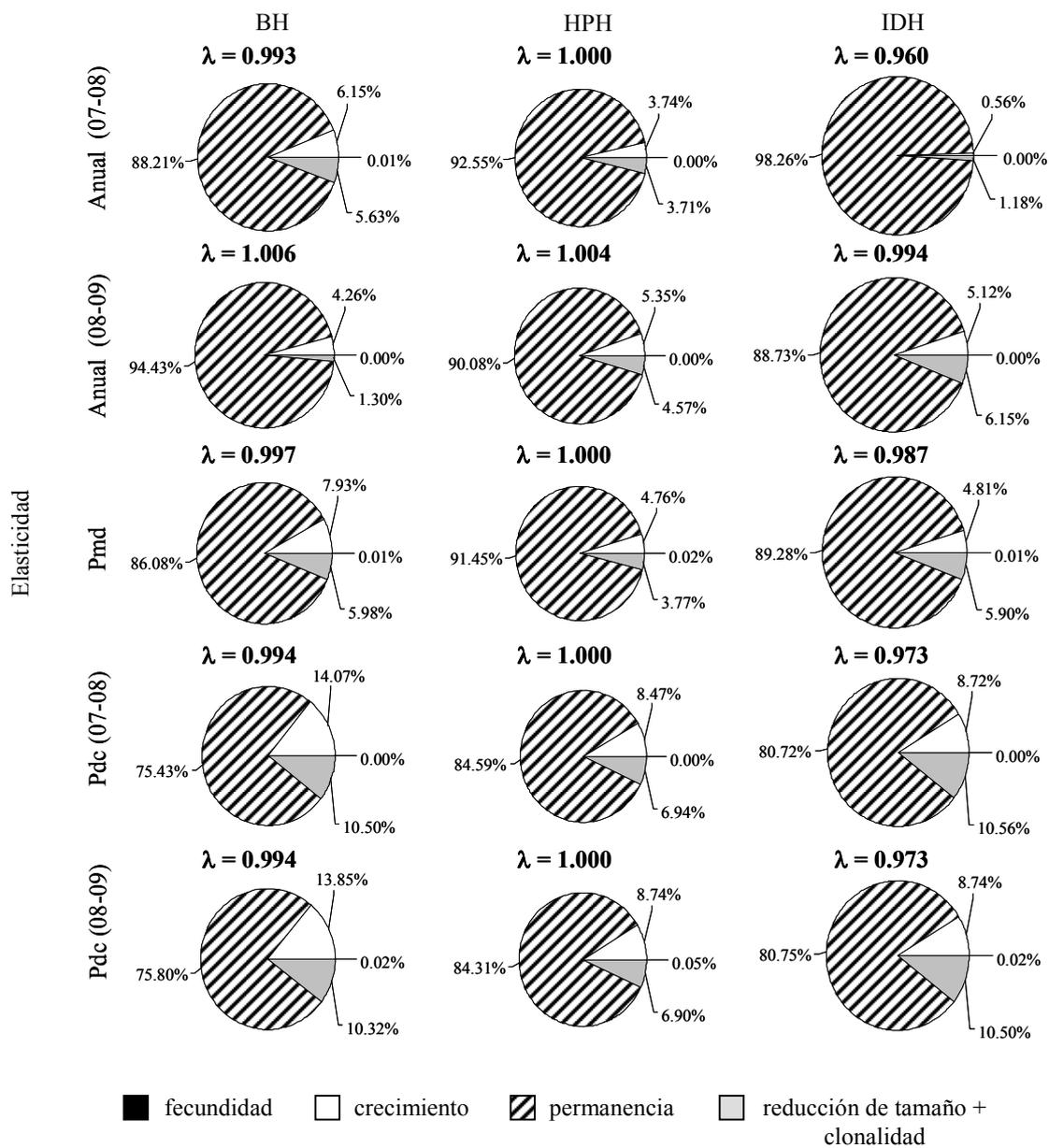


Figura 6. Valores de elasticidad por proceso demográfico, calculados a partir de las matrices anuales, promedio (Pmd) y periódicas (Pdc) de *Opuntia microdasys* en tres hábitats: bajada (BH), ladera (HPH) e interdunas (IDH).

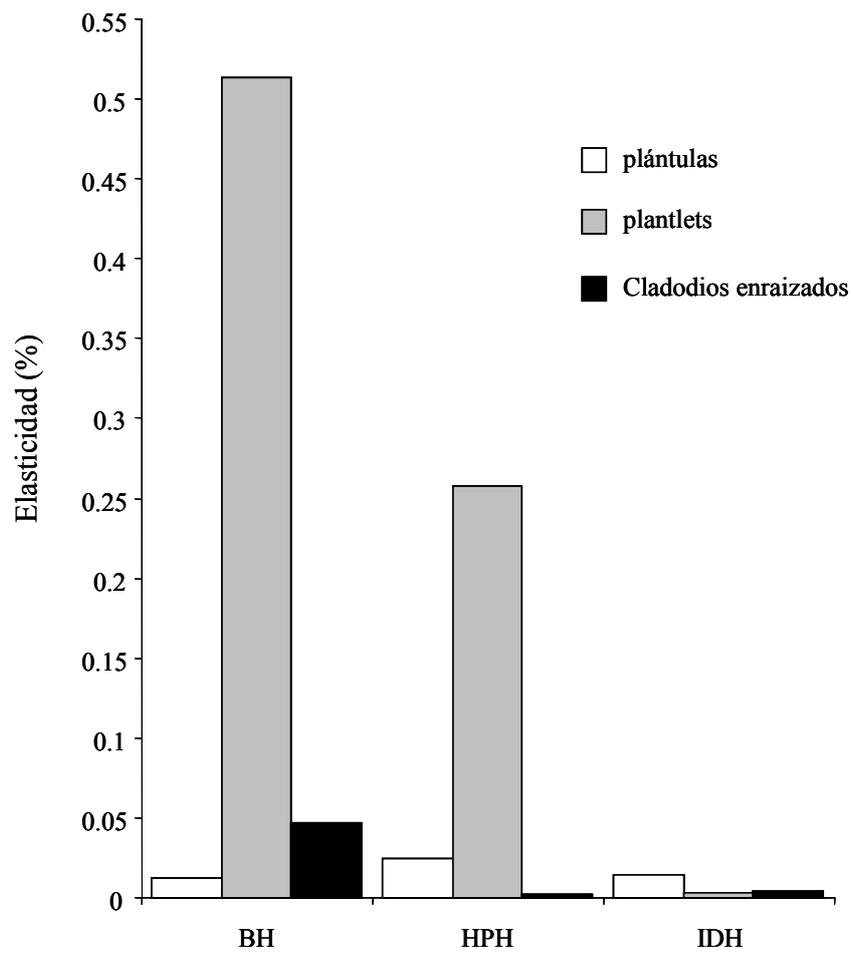


Figura 7. Valores de elasticidad (%) para los tipos de reclutamiento, calculados a partir de la matriz promedio (Pmd) de *Opuntia microdasys* en tres hábitats: bajada (BH), ladera-pi de monte (HPH) e interdunas (IDH).

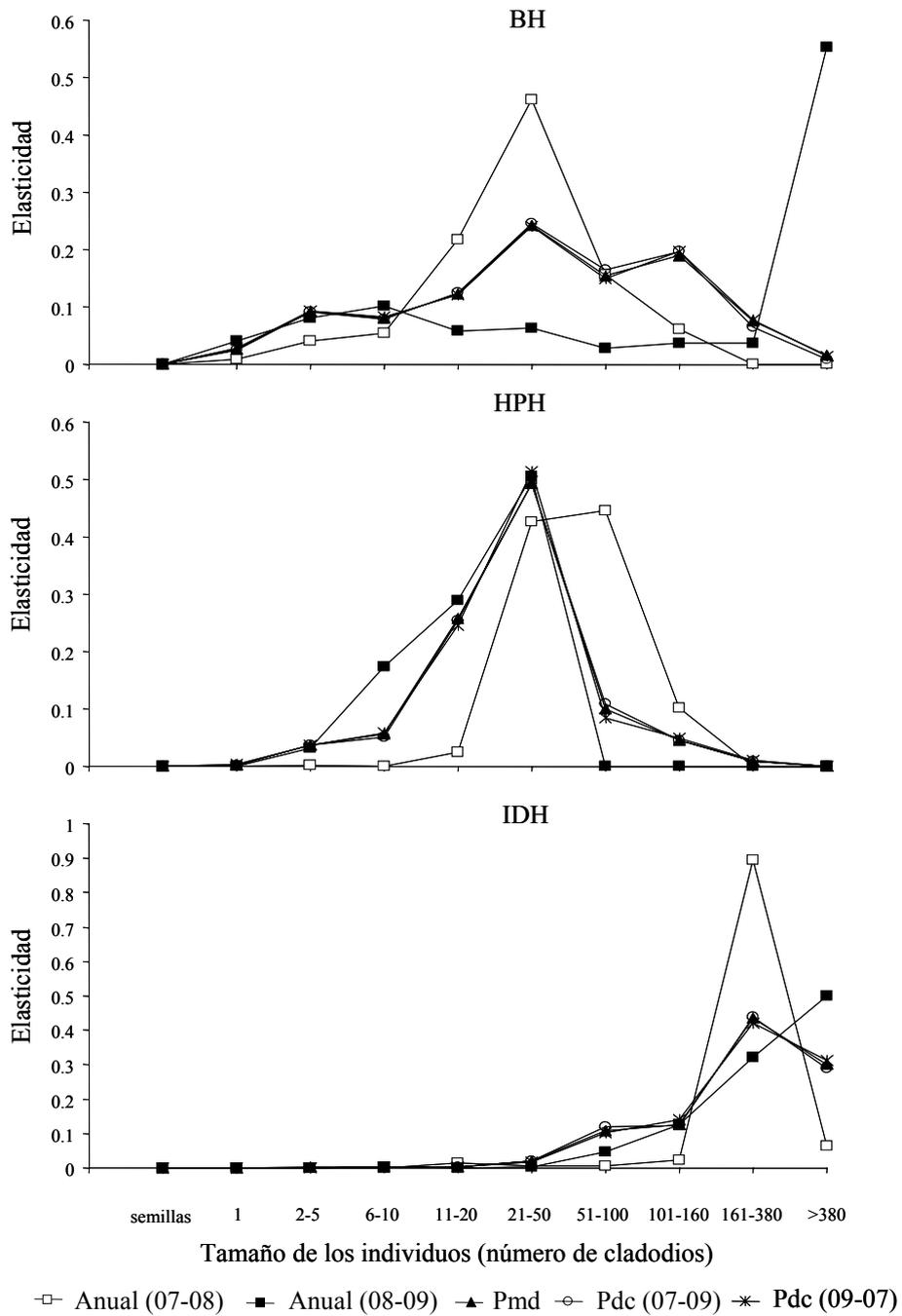


Figura 8. Valores de elasticidad por categoría de tamaño, calculados a partir de las matrices anuales, promedio (Pmd) y periódicas (Pdc) de *Opuntia microdasys* en tres hábitats: bajada (BH), ladera (HPH) e interdunas (IDH).

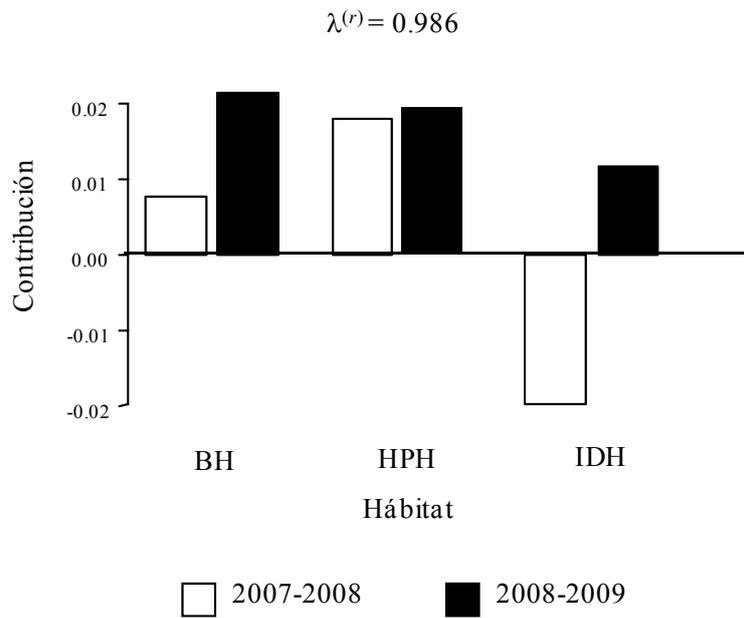


Figura 9. Análisis de respuesta de tabla de vida (LTRE) de *Opuntia microdasys* comparando el *i*ésimo nivel del primer tratamiento (transición, con dos niveles: 2007-2008 y 2008-2009) y el *j*ésimo nivel del segundo factor (hábitat, con tres niveles: bajada, BH; ladera, HPH e interdunas, IDH). $\lambda^{(r)}$ = tasa finita de crecimiento correspondiente a la matriz promedio principal.

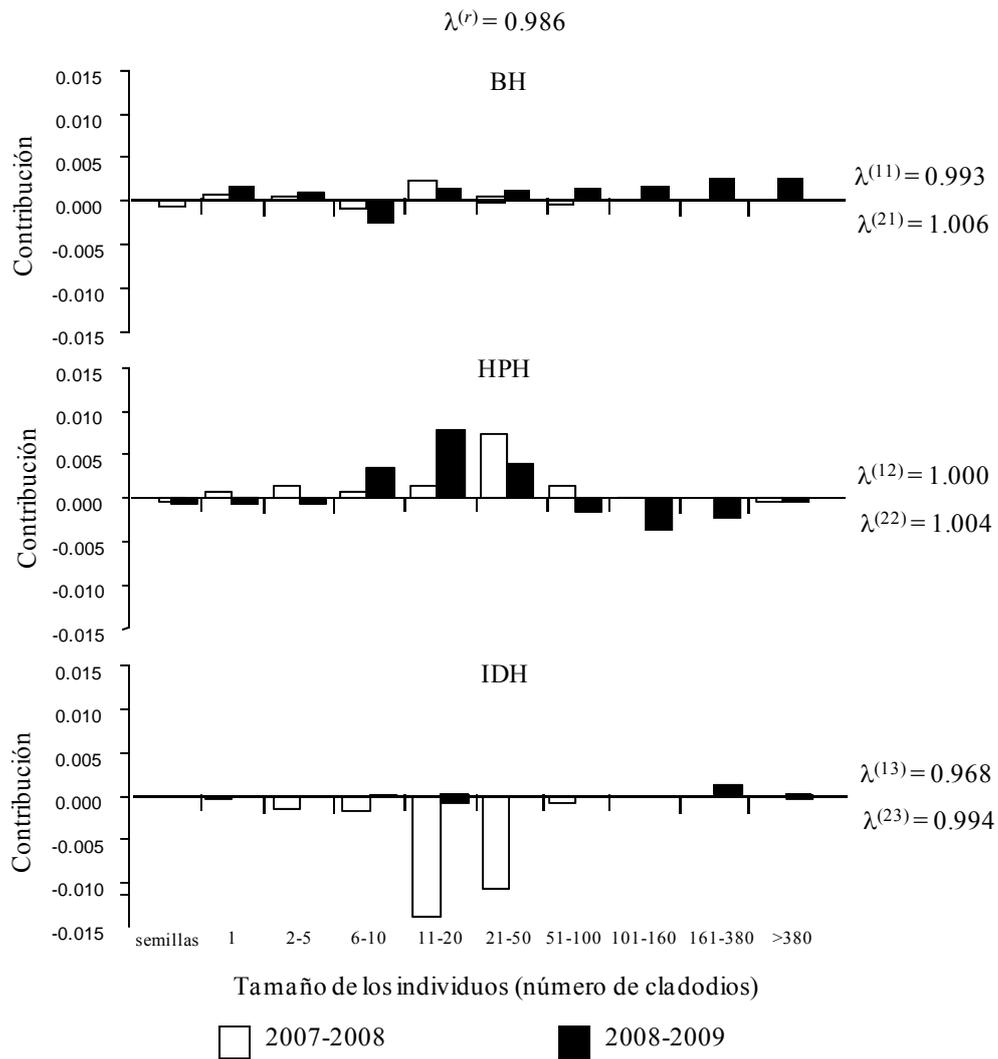


Figura 10. LTRE de *Opuntia microdasys* ordenado por categoría de tamaño. Se comparan el *i*ésimo nivel del primer tratamiento (transición, con dos niveles: 2007-2008 y 2008-2009) y el *j*ésimo nivel del segundo factor (hábitat, con tres niveles: bajada, BH; ladera, HPH e interdunas, IDH). $\lambda^{(r)}$ = tasa finita de crecimiento correspondiente a la matriz promedio principal. Los valores anuales de la tasa de crecimiento en cada hábitat ($\lambda^{(ij)}$) se muestran en el lado derecho de la figura.

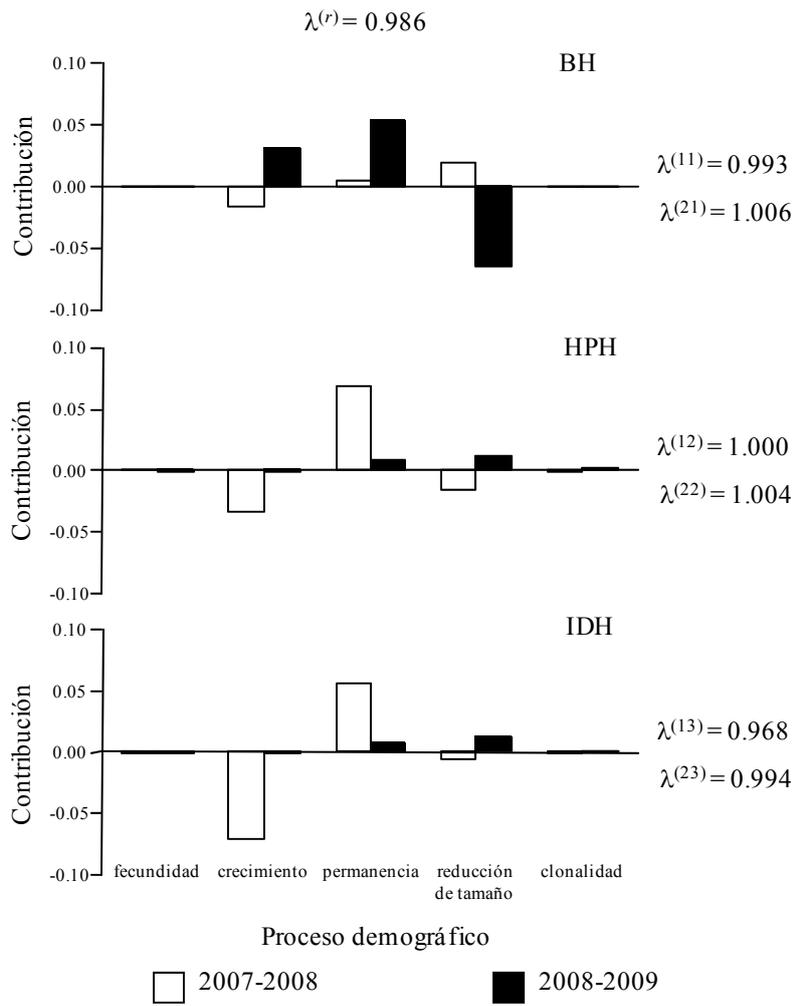
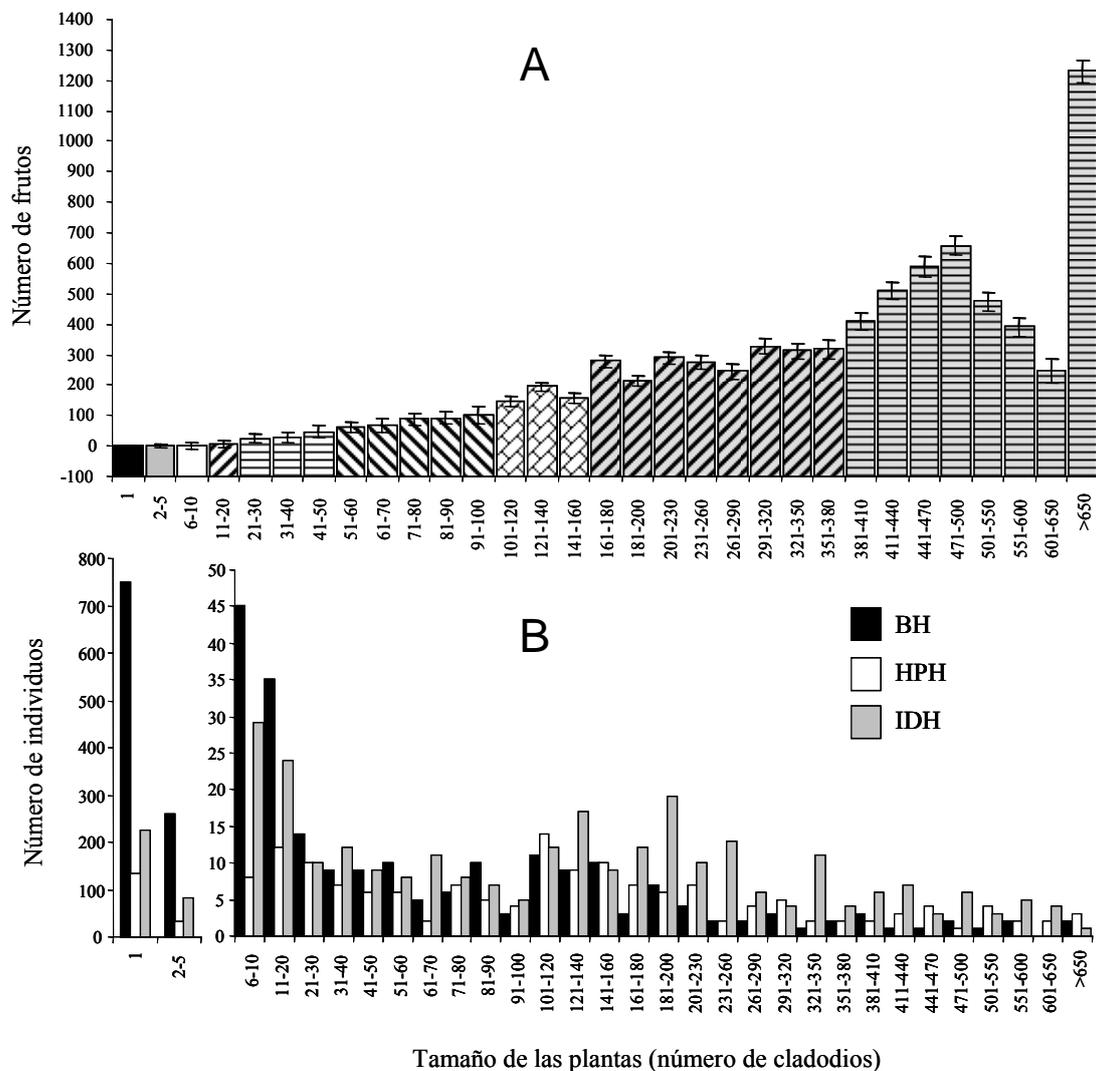


Figura 11. LTRE de *Opuntia microdasys* ordenado por proceso demográfico. Se comparan el *i*ésimo nivel del primer tratamiento (transición, con dos niveles: 2007-2008 y 2008-2009) y el *j*ésimo nivel del segundo factor (hábitat, con tres niveles: bajada, BH; ladera, HPH e interdunas, IDH). $\lambda^{(r)}$ = tasa finita de crecimiento correspondiente a la matriz promedio principal. Los valores anuales de la tasa de crecimiento en cada hábitat ($\lambda^{(ij)}$) se muestran en el lado derecho de la figura.

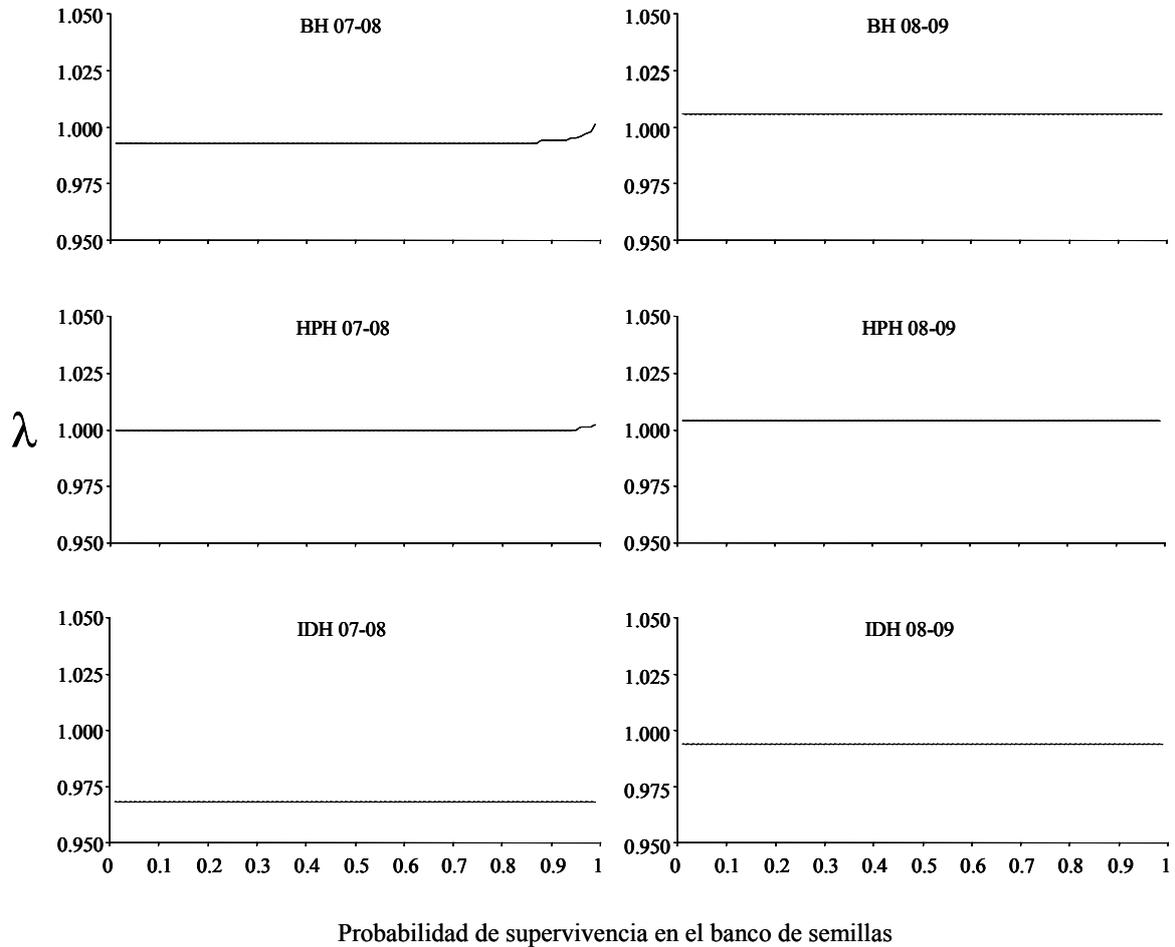
Apéndice A

Para definir las categorías de tamaño, la muestra total de individuos se ordenó inicialmente en 31 intervalos de número de cladodios. En el primer intervalo se incluyeron los individuos con un solo cladodio, los cuales corresponden a plántulas y ramets pequeños derivados de plantlets y cladodios enraizados; en el segundo y tercer intervalos se incluyeron individuos con 2 a 5 cladodios y con 6 a 10 cladodios, que corresponden a individuos juveniles, la mayoría no reproductivos (99% y 91%, respectivamente). Los individuos con 11 a 100 cladodios se ordenaron en intervalos de tamaño de 10 cladodios (es decir, 11 a 20, 21 a 30, etc.); los individuos con 101 a 200 cladodios en intervalos de 20 cladodios (101 a 120, 121 a 140, etc.); los individuos con 201 a 500 cladodios en intervalos de 30 cladodios (201 a 230, 231 a 260, etc.); los individuos con 501 a 650 cladodios en intervalos de 50 cladodios (501 a 550, 551 a 600 y 601 a 650) y una categoría final con los individuos con más de 650 cladodios. En cada una de las 31 categorías se calculó el número promedio de frutos producidos por un individuo en la categoría correspondiente y se construyó un histograma. Las categorías con valores similares del número de frutos promedio por individuo y el número de individuos se usaron como criterios para agrupar varios intervalos, con lo cual se establecieron nueve categorías de tamaño: 1, 2 a 5, 6 a 10, 11 a 20, 21 a 50, 51 a 100, 101 a 160, 161 a 380 y > 380 cladodios. En la figura A (abajo) se muestran los intervalos de tamaño (de los 31 intervalos iniciales) que se agruparon en la misma categoría (barras que presentan la misma trama) y el número de frutos (promedio \pm E. E.) en cada uno de estos intervalos. En la figura B (abajo) se muestra el número de individuos en cada uno de los 31 intervalos iniciales para cada población.



Apendice B

En las siguientes figuras se muestran las simulaciones que se realizaron para evaluar el efecto de la probabilidad de supervivencia en el banco de semillas sobre la tasa de crecimiento (λ), utilizando las matrices anuales (2007-2008 y 2008-2009) de cada hábitat de *O. microdasys*: bajada (BH), ladera-pie de monte (HPH) e interdunas (IDH). Los valores de la probabilidad de supervivencia en el banco de semillas que se emplearon para hacer las simulaciones varían entre 0.01 y 0.99.



DISCUSIÓN GENERAL

Aunque, en la actualidad existe un cúmulo de evidencia teórica sobre los distintos aspectos que se abordan en este trabajo, más en algunos que en otros, existen pocos intentos para integrar estos distintos enfoques y evaluar sus consecuencias en el ciclo de vida de especies clonales. El punto de partida de este trabajo es la influencia de la variación en la producción de distintos tipos de descendientes sobre el arreglo espacial de los genets y los ramets, y como estos cambios de la distribución espacial de los genotipos influyen en la reproducción sexual. El planteamiento básico es que la variación de los procesos mediante los cuales pueden generarse descendientes clonales, aunada a la baja capacidad potencial de dispersión de los propágulos vegetativos puede modificar los patrones de distribución espacial de los genotipos presentes en una población, afectando los patrones de transferencia de polen y el éxito reproductivo de los individuos (Handel, 1985; Ericksson y Bremer, 1993; Charpentier, 2002), y en general se espera que las especies clonales que forman ramets independientes sin la intervención de estructuras de conexión con la planta madre (crecimiento clonal no ligado según Tiffney y Niklas, 1985), formen arreglos espaciales de genets con ramets más entremezclados y promuevan mayores niveles de entrecruza (Gabrielsen y Brochmann, 1998; Charpentier, 2002), que las especies clonales que forman ramets a partir de estructuras de conexión con la planta madre (crecimiento clonal ligado según Tiffney y Niklas, 1985).

La evidencia proporcionada a través de la revisión de diversos estudios en el capítulo 1 sugiere que en las poblaciones de plantas clonales con crecimiento no ligado o que presentan tanto crecimiento ligado como no ligado tienden a presentar arreglos espaciales más entremezclados que aquellas presentando sólo crecimiento ligado, pero no hay un patrón concluyente respecto al efecto sobre los niveles de entrecruza cuando se utilizan índices de

diversidad genotípica como estimadores, bajo el supuesto de que las poblaciones donde la entrecruza es más frecuente tenderán a presentar niveles más altos de diversidad genotípica. No obstante, la falta de diferencias claras cuando se emplean los índices de diversidad genotípica como estimadores del reclutamiento sexual asociado a mayores tasas de entrecruza, está influenciado por múltiples factores que pueden resultar en niveles similares de diversidad en poblaciones con distintos niveles de clonalidad y reclutamiento sexual (Ellstrand y Roose, 1987; Eriksson 1989, 1993; Widen *et al.*, 1994; Pan y Price, 2002). Adicionalmente, la búsqueda de patrones a partir de la información generada por múltiples estudios presenta varias dificultades asociadas con la variedad de los métodos de muestreo, análisis y los objetivos de cada estudio. En particular, para el planteamiento hecho en el primer capítulo de este trabajo, otros problemas adicionales son el sesgo que muestran los estudios hacia especies herbáceas que pueden formar descendientes clonales a través de estructuras de crecimiento como rizomas, estolones y acodaduras, y la carencia de índices para comparar los arreglos espaciales de los genets y los ramets.

Los factores mencionados anteriormente pueden influir en la dificultad para detectar patrones claros a través de varias poblaciones y especies. Sin embargo, las consecuencias del arreglo espacial de los genets y los ramets sobre la reproducción sexual han sido observados de manera individual en varios estudios (e. g., Reusch, 2001; Liston *et al.*, 2003; Rugeiro *et al.*, 2005; Wilson *et al.*, 2005), por lo que es probable que con el incremento de la evidencia teórica involucrando especies con formas de vida y medios de propagación clonal distintas, así como con la implementación de índices comparables que describan el arreglo espacial de los genets y los ramets, en un futuro pueden hacerse exploraciones más extensas sobre el tema.

Previo a las consecuencias del arreglo espacial de los genets y los ramets en la reproducción, los factores que determinan los patrones de distribución espacial en poblaciones

naturales de plantas pueden ser muy diversos, dependiendo de factores tales como las características del suelo (Couteron y Kokou, 1997), la disponibilidad de luz (Chen y Bradshaw, 1999), la capacidad de dispersión de los frutos y las semillas (Okuda, 1997; Gibson y Menges, 1994), la presencia de especies que generan condiciones adecuadas para la germinación y el establecimiento en condiciones estresantes (Shreve, 1917; Valiente-Bannuet *et al.*, 1991, Mandujano *et al.*, 1998), y la especificidad de los dispersores (Howe, 1993). En adición a estos factores, en este trabajo se planteó que los patrones de distribución y el arreglo espacial de los genets y los ramets podían mostrar una variación entre las poblaciones de una misma especie como resultado de la producción diferencial de descendientes clonales y sexuales. Para analizar este planteamiento en este trabajo se utilizó a *Opuntia microdays* como sistema de estudio, debido a que es una especie autoincompatible que se reproduce sexualmente a través de semillas y clonalmente a través del desprendimiento de cladodios y la formación de plantlets (frutos inmaduros que son abortados y que pueden enraizar al entrar en contacto con el suelo Palleiro *et al.* 2006; Piña *et al.*, 2007). La especie presenta una variación en la frecuencia relativa con que se producen descendientes clonales y se reclutan plántulas en tres hábitats (bajada: BH, ladera HPH e interdunas: IDH). En HPH predomina el reclutamiento sexual (> 90%), mientras que en BH e IDH la producción de descendientes clonales es más frecuente, predominando la producción de plantlets en BH (Palleiro *et al.*, 2006). En los tres hábitats, la variación observada en la producción de los distintos tipos de descendientes coincide con los niveles de reproducción sexual y clonal estimados mediante los marcadores moleculares (ISSR), mostrando que 94% del total de ramets y el 90% de los ramets pequeños en HPH tienen genotipos únicos, mientras que en BH e IDH el porcentaje de ramets totales y de ramets pequeños con genotipos únicos representan alrededor de 60% (Capítulos 2 y 3). Esta variación influye en la distribución espacial de los ramets y en el arreglo espacial de los genotipos, sin embargo, esta actúa en conjunto con

otros factores como la capacidad de dispersión de los distintos propágulos, la presencia y distribución de las condiciones microambientales donde pueden establecerse los distintos tipos de descendientes y la dispersión de propágulos por animales (Capítulo 2).

Además de su influencia en la distribución y en el arreglo espacial de los genets y los ramets, la variación en la producción de descendientes clonales y sexuales puede afectar diferencialmente los niveles de diversidad genética y genotípica en las poblaciones. En especies clonales una capacidad de dispersión restringida de los descendientes clonales puede afectar la diversidad genética de las poblaciones reduciendo su tamaño efectivo, incrementando la importancia de la deriva génica (Handel, 1985; Reusch *et al.*, 1999, 2000), puede restringir el reclutamiento sexual afectando a los sistemas de cruce (Charpentier, 2002; Eckert, 2002), y puede favorecer la estructura genética a pequeña escala (Hämmerli y Reusch, 2003; Chung *et al.*, 2006). Los resultados en el presente estudio apoyan este planteamiento (Capítulos 2 y 3). En *O. microdasys* la producción más frecuente de descendientes clonales en BH e IDH coincide con niveles menores de diversidad genética y genotípica que los detectados en HPH. Sin embargo, es importante considerar que la variación en la producción de descendientes de distinto tipo no necesariamente resulta en la reducción de la diversidad genética y genotípica, y que en el caso de *O. microdasys* este efecto puede ser resultado de la dispersión frecuente de los propágulos vegetativos y las semillas a distancias cortas como lo sugiere la estructura genética encontrada en este estudio. Adicionalmente, la predominancia de genotipos poco variables en las poblaciones y en las parcelas más clonales hace posible que la reproducción clonal a través de plantlets en *O. microdasys* haya sido favorecida por una base genética local inicialmente poco diversa, y así, la clonalidad, más que un proceso causal, puede ser un proceso que retroalimenta el mantenimiento de niveles bajos de diversidad genética.

La identidad genética, la densidad, la distribución espacial y el número de flores que presentan de los individuos que se encuentran alrededor de un individuo influyen en la distancia a la que es dispersado su polen (Kunin, 1997, Karron *et al.*, 2004; Jones y Comita, 2008; de Cauwer *et al.*, 2010). En plantas clonales, la dispersión deficiente de los ramets del mismo genet puede reducir la tasa entrecruza favoreciendo la geitonogamia, y afectar la producción de semillas y el reclutamiento de descendientes de origen sexual cuando hay autoincompatibilidad o depresión endogámica (Handel, 1985; Eriksson, 1993; Clark-Tapia *et al.*, 2006; Palleiro *et al.*, 2006). Adicionalmente, en especies clonales que forman ramets por pseudoviviparidad la reproducción clonal puede incrementarse a medida que se reduce la reproducción sexual (Arizaga y Ezcurra, 1995, 2002; Palleiro *et al.*, 2006), debido a que al fallar la producción de propágulos de origen sexual puede producirse un vástago clonal (Youngner, 1960; Arizaga y Ezcurra, 1995; Elmqvist y Cox, 1996; Palleiro *et al.*, 2006). De manera general, los resultados mostrados en el capítulo 4 sugieren que en *O. microdasys*, los vecindarios locales genotípicamente más diversos y con individuos genéticamente más distintos favorecen la reproducción sexual, mientras que lo contrario favorece la reproducción clonal a través de plantlets. No obstante, el efecto de estas condiciones genéticas del vecindario depende de su influencia conjunta con la de otros factores como la densidad, distribución espacial y despliegue floral de los individuos reproductivos. De este modo, aunque la la variación entre los hábitats en la producción de descendientes sexuales y clonales puede retroalimentarse influyendo en la distribución espacial de los genotipos, la influencia de esta distribución sobre la frecuencia con que se producen propágulos clonales y sexuales puede ser mayor en años con una alta producción de flores (como en 2007). La proporción de ramets pequeños que tienen genotipos compartidos con al menos otro ramet sugiere que esta retroalimentación ocurre a largo plazo (Capítulo 3), pero es necesario realizar estudios en otros años para corroborar este planteamiento.

La variación en la frecuencia con que ocurre el reclutamiento sexual y la producción de descendientes clonales puede influir en la dinámica de las poblaciones, debido a las diferencias en las tasas de supervivencia, crecimiento y maduración de los distintos tipos de vástagos (Caswell, 1985; Dorken y Eckert, 2001). En *O. microdays*, la variación en la frecuencia con que se producen distintos tipos de descendientes parece influir poco en la tasa de crecimiento de las poblaciones, aunque puede modificar algunos caracteres de historia de vida como el tamaño a la primera reproducción e influir en el valor reproductivo y en la estructura poblacional (Capítulo 5). Sin embargo, las diferencias entre los patrones observados y los mostrados por las proyecciones a partir de dos transiciones indican que es necesario incluir más años para hacer predicciones más confiables de la dinámica poblacional a largo plazo.

REFERENCIAS DE LA INTRODUCCIÓN Y DISCUSIÓN GENERALES

- Arizaga, S. y Ezcurra E. (1995) Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macroacantha* flowering stalks. *Oecologia*, 101, 329-334.
- Arizaga, S. y Ezcurra E. (2002) Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid-land succulent rosette. *American Journal of Botany*, 89, 632-641.
- Ashman, T. L., Knight T. M., Steets J. A., Amarasekare P., Burd M., Campbell D. R., Dudash M. R., Johnston M. O., Mazer S. J., Mitchell R. J., Morgan M. T. y Wilson W. G. (2004) Pollen limitation of plant reproduction: Ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, 85, 2408-2421.
- Caswell, H. (1985) The evolutionary demography of clonal reproduction. In Jackson J. B. C., Buss L. W. y Cook R. E. (Eds.), *Population biology and evolution of clonal organisms*. Yale University Press. New Haven and London; 511 p.

- Charpentier, A., Grillas P. y Thompson J. D. (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.
- Charpentier, A. (2002) Consequences of clonal growth for plant mating. *Evolutionary Ecology*, 15, 521-530.
- Chen, J. y Bradshaw A. (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.
- Chung, J. M., Lee B. C., Kim J. S., Park C., Chung M. Y. y Chung M. G. (2006) Fine-scale genetic structure among genetic individuals of the clone-forming monotypic genus *Echinospora koreensis* (Fabaceae). *Annals of Botany*, 98, 165-173.
- 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., Alfonso-Corrado C., Mandujano M. C. y Molina-Freaner F. (2006) Reproductive consequences of clonal growth in *Stenocereus eruca*, a rare clonal cactus of the Sonoran desert. *Evolutionary Ecology*, 20, 131-142.
- Couteron, P. y Kokou K. (1997) Woody vegetation spatial patterns in a semi-arid savanna of Burkina Faso, West Africa. *Plant Ecology*, 132, 211-227.
- de Cauwer, I., Dufay M., Fuguen J. y Arnaud J. (2010) Effects of fine-scale genetic structure on male mating success in gynodioecious *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. *Molecular Ecology*, 19, 1540-1558.
- Dorken, E. y Eckert, C. G. (2001) Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Journal of Ecology*, 89, 339- 350.

- Eckert, E. G. (2000) Contributions of autogamy and geitonogamy to self-fertilization in a mass flowering, clonal plant. *Ecology*, 81, 532-542.
- Eckert, C. G. (2002) The loss of sex in clonal plants. *Evolutionary Ecology*, 15, 501-520.
- Ellstrand, N. C. y Roose M. L. (1987) Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany*, 74, 123-131.
- Elmqvist, T. y Cox P.-A. (1996) The evolution of vivipary in flowering plants. *Oikos*, 77, 3-9.
- Eriksson, O. (1989) Seedling dynamics and life histories in clonal plants. *Oikos*, 55, 231-238.
- Eriksson, O. (1993) Dynamics of genets in clonal plants. *TREE*, 8, 313-316.
- Eriksson, O. y Bremer B. (1993) Genet dynamics of the clonal plant *Rubus saxatilis*. *Journal of Ecology*, 81, 533-542.
- Eriksson, O. (1997) Clonal life histories and the evolution of seed recruitment. In: de Kroon H, van Groenendael J (eds) *The ecology and evolution of clonal plants*. Backhuys Publications, Leiden, pp 211–226.
- Gabrielsen, T. M. y Brochmann C. (1998) Sex after all: high levels of diversity detected in the arctic clonal plant *Saxifraga cernua* using RAPD markers. *Molecular Ecology*, 7, 1701-1708.
- Gibson, D. J. y Menges E. S. (1994) Population structure and spatial pattern in the dioecious shrub *Ceratiola ericoides*. *Journal of Vegetation Science*, 5, 337-346.
- Hämmerli, A. y Reusch T. B. H. (2003) Genetic neighbourhood of clone structures in eelgrass meadows quantified by spatial autocorrelation of microsatellite markers. *Heredity*, 91, 448-455.
- Handel, S. N. (1985) The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding system. *The American Naturalist*, 125, 367-384.
- Harper, J. (1985) Modules, branches, and the capture of resources. En: J. B. C. Jackson, Buss L. W., y Cook R. E. [eds.]. *Population Biology and Evolution of Clonal Organisms*. Yale University Press, New Haven, Connecticut.

- Howe, H. (1993) Specialized and generalized dispersal systems: where does “the paradigm” stand?. *Vegetatio*, 107, 3-13.
- Jones, F. A. y Comita L. S. (2008) Neighbourhood density and genetic relatedness interact to determine fruit set and abortion rates in a continuous tropical tree population. *Proceedings of the Royal Society B*, 275, 2579-2767.
- Kanno, H., y Seiwa, K. (2004) Sexual vs. vegetative reproduction in relation to forest dynamics in the understorey shrub, *Hydrangea paniculata* (Saxifragaceae). *Plant Ecology*, 170, 43-53.
- Karron, J. D., Mitchell R. J., Holmquist K. G., Bell J. M. y Funk B. (2004) The influence of floral display size on selfing rates in *Mimulus ringens*. *Heredity*, 92, 242-248.
- Klinkhamer, P.G.L., de Jong, T.J. y de Bruyn, G. J. (1989) Plant size and pollinator visitation in *Cynoglossum officinale*. *Oikos*, 54, 201–204.
- Kudoh, H., Shibaike H., Takasu H., Whigham D. F. y Kawano S. (1999) Genet structure and determinants of clonal structure in a temperate deciduous woodland herb, *Uvularia perfoliata*. *Journal of Ecology*, 87, 244-257.
- Kunin, W. E. (1997) Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*. *The Journal of Ecology*, 85, 225-234.
- Liston, A., Wilson B. L., Robinson W. A., Doescher P. S., Harris N. R. y Svejaar T. (2003) The relative importance of sexual reproduction versus clonal spread in an arid bunchgrass. *Oecologia*, 137, 216-225.
- Mandujano, M. C., Montaña C., Méndez I. y Golubov J. (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.

- Montaña, C. (1988) Estudio integrado de los recursos vegetación, suelo y agua en la Reserva de la Biosfera de Mapimí. Instituto de Ecología, A.C. Mexico City, Mexico.
- Montaña, C. (1990) A floristic-structural gradient related to land forms in the southern Chihuahuan Desert. *Journal of Vegetation Science*, 1, 669-674.
- Neal, P. R. y Anderson G. J. (2005) Are 'mating systems' 'breeding systems' of inconsistent and confusing terminology in plant reproductive biology? Or is in the other way around. *Plant Systematics and Evolution*, 250, 173-185.
- Nuortila, C., Tuomi J. y Laine K. (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.
- Okuda, T., Kachi N., Yap S. K. y Manokaran N. (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.
- Palleiro, N., Mandujano M. C. y Golubov J. (2006) Aborted fruits of *Opuntia microdasys* (Cactaceae): insurance against reproductive failure. *American Journal of Botany*, 93, 505-511.
- Pan, J. J. y Price J. S. (2002) Fitness and evolution in clonal plants: the impact of clonal growth. *Evolutionary Ecology*, 15, 583-600.
- Parker, K. C. y Hamrick J. L. (1992) Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *American Journal of Botany*, 79, 86-96.
- Piña, H., Montaña C. y Mandujano M. C. (2007) Reproductive ecology of *Opuntia microdasys* (Cactaceae) and its relation on abortion in the Chihuahuan Desert: Floral biology, pollinators and

- breeding system. *American Journal of Botany*, 193, 305-313.
- Pornon, A. y Scaravage N. (1999) Genotypic structure in clonal *Rhododendron ferrugineum* L. (Ericaceae) populations: Origin and maintenance. *Plant Ecology*, 141, 145-151.
- Reusch, T. B. H., Stam W. T. y Olsen J. L. (1999) Size and estimated age of genets in eelgrass *Zostera marina* L. assessed with microsatellite markers. *Marine Biology*, 133, 519-525.
- Reusch, T. B. H., Stam W. T. y Olsen J. L. (2000) A microsatellite-based estimation of clonal diversity and population subdivision in *Zostera marina*, a marine flowering plant. *Molecular Ecology*, 9, 127-140.
- Reusch, T. B. H. (2001) Fitness-consequences of geitonogamous selfing in a clonal marine angiosperm (*Zostera marina*). *Journal of Evolutionary Biology*, 14, 129-138.
- Ruggiero, M. V., Capone S., Pirozzi P., Reusch T. B. H. y Procaccini G. (2005) Mating system and clonal architecture: a comparative study in two marine angiosperms. *Evolutionary Ecology*, 19, 487-499.
- Shimizu, Y., Ando M. y Sakai F. (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.
- Tiffney, B.H. y Niklas K. J. (1985) Clonal growth in land plants: a paleobotanical perspective. En: Jackson J. B. C., Buss L. y Cook R. E. [eds.]. *Population biology and evolution of clonal organisms*. Yale University Press.
- Ueno, S., Tomaru N., Yoshimaru H., Manabe T. y Yamamoto S. (2000) Genetic structure of *Camellia japonica* L. in an old-growth evergreen forest, Tsushima, Japan. *Molecular Ecology*, 9, 647-656.

- Valiente-Banuet, A., Vite F. y Zavala-Hurtado J. A. (1991) Interaction between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse shrub *Mimosa lusiana*. *Journal of Vegetation Science*, 2, 11-14.
- Warburton, C. L., James E. A., Fripp Y. J., Trueman S. J. y Wallace H. M. (2000) Clonality and sexual reproductive failure in remnant populations of *Santalum lanceolatum* (Santalaceae). *Biological Conservation*, 96, 45-54.
- Widén, B., Cronberg N. y Widén M. (1994) Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genets in clonal plants, a literature survey. *Folia Geobotanica y Phytotaxonomica*, 29, 245-263.
- Willson, M. F. (1983) *Plant Reproductive Ecology*. John Wiley & Sons, New York.
- Wilson, A. S. G., van der Kamp B. J. y Ritland C. 2005. Opportunities for geitonogamy in the clonal herb *Maianthemum dilatatum*. *Canadian Journal of Botany* 83: 1082-1087.
- Wolf, A. T., Harrison S. P. y Hamrick J. L. (2000) Influence of habitat patchiness on genetic diversity and spatial structure of a serpentine endemic plant. *Conservation Biology*, 14, 454-463.
- Youngner, V. B. (1960) Environmental control of initiation of the inflorescence, reproductive structures, and proliferations in *Poa bulbosa*. *American Journal of Botany*, 47, 753-757.