



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

LA CLONALIDAD EN *OPUNTIA MICRODASYS* Y SUS EFECTOS  
DEMOGRÁFICOS Y EVOLUTIVOS EN TRES POBLACIONES DEL  
DESIERTO CHIHUAHUENSE

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:  
ERICK GARCÍA MORALES

DIRECTOR DE TESIS  
DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA  
COMITÉ TUTOR  
DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA  
DR. PABLO VINUESA FLEISHMAN  
INSTITUTO DE CIENCIAS GENÓMICAS

CIUDAD DE MÉXICO, ABRIL DE 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

En primer lugar quiero agradecer a mi tutora Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez por todo el apoyo que me dio durante el desarrollo de este trabajo. También a mi comité tutorial por llevar el seguimiento de mi trabajo a lo largo del programa, los doctores Daniel Piñero Dalmau y Pablo Vinuesa Fleischmann. En particular a Daniel Piñero por su apoyo en la publicación del artículo y por todos los años de enseñarme como ser un buen científico.

Al Posgrado en Ciencias Biomédicas por el apoyo económico y de infraestructura que permitieron el desarrollo de mi trabajo. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de posgrado.

A los Proyectos de Investigación UNAM-PAPIIT IN 207411, PAPIIT – DGAPA – UNAM IN205007 y CONACyT 221362 a cargo de la Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez.

Este trabajo se llevo a cabo en el Laboratorio de Ecología y Evolución del Instituto de Ecología, agradezco a todos su miembros por su apoyo y en particular al grupo de trabajo de la Dra. María del Carmen Mandujano por el tiempo y ayuda que nos brindamos en la realización de nuestros trabajos de tesis.

A la Dra. Mariana Rojas Aréchiga por todo su apoyo en la logística de las salidas de campo, asesoría en los experimentos de invernadero y por su apoyo en trabajo de escritorio.

Al Dr. Jordan Golubov y al Biol. Johannes A. M. Verhulst por todo el apoyo tanto en el trabajo de campo.

A los miembros del jurado por revisar mi trabajo y hacer los comentarios que hicieron que éste mejorara: Dra. Valeria Souza Saldívar, Dra. Ana Wegier Briuolo, Dra. Rocío Cruz Ortega, Dr. Pedro Luis Valverde Padilla y Dr. Daniel Piñero Dalmau.

A todo el personal del Laboratorio del Desierto (INECOL) de la Reserva de la Biósfera de Mapimí y en particular a toda la familia Herrera por todo el apoyo para poder realizar este trabajo en sus instalaciones y por todo el apoyo logístico.

Al personal de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) y a los propietarios de los predios donde realizamos este trabajo.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	3
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVO GENERAL.....	12
OBJETIVOS PARTICULARES.....	12
CAPÍTULO 1. Influencia de la dispersión de frutos sobre la diversidad genotípica y la tasa de migración de un cactus clonal del desierto Chihuahuense.....	13
CAPÍTULO 2. Desempeño de tres tipos de reclutas de <i>Opuntia microdasys</i> en un experimento de jardín común.....	31
DISCUSIÓN GENERAL.....	67
CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES.....	71
LITERATURA CITADA EN LA INTRODUCCIÓN GENERAL Y DISCUSIÓN GENERAL.....	72

## RESUMEN GENERAL

Los procesos de reclutamiento en las poblaciones vegetales dependen de las características biológicas de las especies, así como de los factores bióticos y abióticos del medio. La distribución espacial de los individuos reclutados es un proceso que está determinado en primera instancia por el fenómeno de la dispersión de las unidades de propagación y en segunda por las condiciones de los micrositios que logren alcanzar. Cuando una especie presenta reproducción sexual y clonal la distribución de los genotipos puede cobrar una mayor relevancia en los procesos evolutivos a nivel inter e intra-poblacional.

En esta tesis se estudió *Opuntia microdasys* en tres poblaciones delimitadas por los hábitats que ocupan en la Reserva de la Biosfera de Mapimí y en las que se han encontrado dos formas de reproducción clonal además de las semillas de origen sexual.

En el primer capítulo se reporta como ocurren los procesos de dispersión de los frutos y su efecto en la distribución de los genotipos en diferentes escalas espaciales. A partir de experimentos de campo se encontró que la movilidad de los frutos a corto plazo está determinada por la pendiente del hábitat, pero en periodos más prolongados de tiempo se involucran otros factores que modifican la distribución inicial. Con el uso de ISSR's se determinó que la distribución espacial de genotipos varía entre las escalas analizadas; hay una alta acumulación de reclutas clonales bajo las plantas adultas, a nivel intra-poblacional la diversidad de genotipos es alta y a nivel inter-poblacional hay una diferenciación genética moderada. Con estos resultados se concluyó que las unidades de dispersión clonales tienen un alcance muy limitado, mientras que las semillas pueden ser las estructuras de propagación que homogenizan la variabilidad genética entre las poblaciones.

En el segundo capítulo se evalúan las cualidades de las tres formas de propagación en relación a la población de origen por medio de experimentos de jardín común. Se encontró que cada forma de reproducción tiene respuestas distintas y que están relacionadas con el hábitat de origen en el que presenta el mayor porcentaje de reclutamiento. Las semillas de la población de Ladera-pie de Monte tienen un mayor porcentaje de reclutamiento en la población natural y en condiciones experimentales tuvieron la mayor probabilidad de germinación. Los reclutas clonales originados por frutos abortados tienen un mayor porcentaje de establecimiento en la población de Bajada, mientras que en condiciones experimentales tuvieron una mayor probabilidad de supervivencia y el área de los nuevos cladodios fue la más grande. La reproducción clonal a partir de cladodios es más frecuente en la población de Interdunas y en los experimentos realizados son los que producen un mayor número de nuevos cladodios. La calidad de cada tipo de recluta varía dependiendo de la población de origen, pero las tres formas de reclutamiento aún se encuentran en las tres poblaciones.

La distribución de los clones originados de frutos abortados mantiene el mismo patrón que se origina a partir de la dispersión primaria y por lo tanto los genotipos ya establecidos se mantienen a través del tiempo en los sitios donde se originaron. Por otra parte, la migración de semillas mantiene el flujo genético y por lo tanto no hay una clara diferenciación entre las poblaciones. Aunque las formas de reproducción muestran diferencias dependiendo de su origen, no se encontró especialización a cada uno de los hábitats.

## ABSTRACT

Recruitment in plant populations depends on the biological attributes of each species and on the biotic and abiotic factors of the surrounding environment. Spatial distribution patterns of recruited individuals are a two-step process, beginning with the dispersal of propagules, followed by their establishment which depends on the environmental conditions of each microsite. The distribution pattern of genotypes in species with clonal and sexual reproduction is more relevant for intra- and inter-populations evolutionary processes.

In this research, the clonal cactus *Opuntia microdasys* was studied in three populations (Bajada, Hill-Piedemont and Interdune) at the Mapimi Biosphere Reserve in the Chihuahuan Desert, in which this clonal cactus displays two clonal ways of reproduction and sexual reproduction by seeds.

In the first chapter, fruit dispersal processes are described as well as their effects over the distribution patterns of genotypes along different spatial scales. With field experiments it was found that the slope of the habitat determines the fruits mobility in a short period, while other factors are involved during secondary dispersal which changes the initial distribution or propagules for longer periods of time. With ISSR's it was determined that the spatial distribution of genotypes varied with analyzed scales; the offspring established under adult plants were highly clonal, the genotype diversity was high at an intra-population level and genetic differentiation at inter-population level was moderate. From these results it was concluded that the clonal units mainly had a limited dispersal, while the seeds dispersal homogenize the genetic variability among populations.

In the second chapter, establishment and survival of three offspring types (one sexual and two clonal) was tested in common garden experiments in relation their population origin. All offspring types had a high establishment rate and survival and showed different responses related to their origin. Seeds from the Hill-Piedmont population had the highest recruitment percentage in their natural population and had also the highest probabilities of germination under experimental conditions. Recruits from clonal fruits (plantlets) had the highest percentage of establishment in the Bajada population and under experimental conditions had the highest survival probabilities and showed a bigger size (mean surface of cladodes). Clonal recruitment from cladodes is more frequent in the Interdune population and produced a higher number of cladodes under the common garden experiments. Although, the three types of recruits occur at each population their individual properties are related to their habitat.

Successfully established genotypes from seeds can maintain their original site, while clones from unripe fruits kept the spatial pattern originated from primary dispersal. On the other hand, the genetic flow is sustained by seed migration and avoids the genetic differentiation between populations. Although the types of reproduction studied showed differences related with their origin, and there is slight specialization of offspring type to each habitat was found.

## INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El crecimiento y desarrollo de las plantas ocurre por la formación de nuevos módulos a partir de los meristemas (Watson, Hay, & Newton, 1997), características que acarrear consecuencias a lo largo del ciclo de vida de las plantas. Por un lado, los módulos se conforma por células somáticas y meristemas, convirtiéndolos en la unidad básica de construcción de los individuos (Hans De Kroon, Huber, Stuefer, & Van Groenendael, 2005; J. M. van Groenendael, Klimes, Klimesova, Hendriks, & Groenendael, 1996). Mientras que las células meristemáticas conservan su totipotencialidad por periodos prolongados de tiempo, por lo que son capaces de originar cualquier tipo de estructura en diferentes momentos del ciclo de vida de la planta (Harper, 1977; Watson *et al.*, 1997). Debido a estas dos características, todas las plantas son clonales en un sentido amplio (J. M. van Groenendael *et al.*, 1996). Sin embargo, debemos diferenciar el crecimiento vegetativo de la reproducción clonal (Vallejo-Marín, Dorken, & Barrett, 2010) y acotar el concepto de “plantas clonales” (Tiffney y Niklas, 1985) y clonalidad como forma de reproducción (Mandujano 2007) sólo a aquéllas que presentan crecimiento reproductivo.

A partir de lo anteriormente planteado, las plantas clonales pueden reclutar nuevos individuos, no solo por medios sexuales, sino también de origen clonal; por lo tanto, la conceptualización de “individuos” tiene varios niveles de interpretación en el contexto de plantas clonales. Por su origen y genotipo podemos distinguir a los *genets* como todos los individuos que se originan de un cigoto, con un genotipo único y que generalmente son de larga vida (Harper, 1977; Pan y Price, 2001). Por otro lado, un *ramet* es un individuo con el potencial de ser fisiológicamente independiente, que se origina de manera clonal, es de una vida más corta que el *genet* y es una copia genéticamente idéntica al individuo del que proviene (Harper, 1977; Pan y Price, 2001; Vallejo-Marín *et al.*, 2010). Entonces podemos entender que el conjunto de todos los *ramets* que comparten un genotipo conforman un mismo *genet* (O Eriksson, 1993b; Harper, 1977).

Los niveles de organización no solo están determinados por el genotipo sino también por el grado de independencia que tienen los *ramets*, ya que al ser originados a partir de estructuras especializadas (Klimeš, Klimešová, Hendriks, & van Groenendael, 1997), pueden organizarse en un espectro de formas de vida que van desde las colonias, las unidades semi-autónomas y hasta los clones totalmente independientes (Tuomi y Vuorisalo,

1989a). Debido a que los *ramets* pueden tener independencia fisiológica también pueden moverse en el espacio y como consecuencia un *genet* puede ampliar su rango de distribución al tener varias copias suyas en distintos lugares. Esta movilidad de los *ramets* los hace candidatos para ser estructuras migratorias y así propagar un genotipo para colonizar nuevos ambientes con condiciones muy distintas a las de su población original o mantenerse en la población en el que se ha establecido (Caswell 1985; Mandujano 2007); por lo que en especies clonales podemos reconocer estructuras de dispersión de origen sexual y clonal.

La capacidad de originar individuos clonales a partir de genotipos establecidos trae consecuencias que se reflejan en las historias de vida de los *genets*, por ejemplo: ciertas fases de desarrollo pueden repetirse a lo largo de su vida, por lo que no necesariamente envejecen y su talla y valor reproductivo pueden aumentar indefinidamente conforme aumenta el número de *ramets* (Sackville Hamilton, Schmid, & Harper, 1987; Vallejo-Marín *et al.*, 2010). La organización jerárquica que encontramos en las plantas clonales conlleva el estudio no solo de los individuos reconocibles en la población sino de todos los genotipos y las copias de los mismos (Hämmerli y Reusch, 2003; Pedersen y Tuomi, 1995; Tuomi y Vuorisalo, 1989a; Vuorisalo *et al.*, 1997). Por lo tanto resulta complicado definir la unidad sobre la cual actúa la selección natural (Janzen, 1977; Tuomi y Vuorisalo, 1989b; Vuorisalo *et al.*, 1997), ya que un mismo genotipo puede encontrarse expuesto a una gran variedad de condiciones ambientales, con diferentes presiones de selección (McLellan, Prati, Kaltz, & Schmid, 1997) que afecten su adecuación y la del *genet* (Caswell, 1985; Mandujano, 2007; Mandujano *et al.*, 2001; Price y Marshall, 1999).

Actualmente, la clonalidad se considera un atributo que puede genera ventajas y desventajas en las poblaciones. En particular se ha encontrado que la clonalidad es un carácter que varía en presencia y frecuencia cuando una especie establece poblaciones en más de un hábitat y las condiciones entre ellos difieren (Dorken y Eckert, 2001; Eckert, 2002; Eckert *et al.*, 2003; Mogie y Hutchings, 1990; Polloux *et al.*, 2007). Siendo particularmente notorio los cambios en la forma de reproducción en los límites de distribución de las especies (Dorken y Eckert, 2001). Esto puede deberse a que en estos hábitats, los individuos se enfrentan a condiciones más limitantes para su desempeño (Eckert, 2002) o por la interacción de factores genéticos, ambientales o ecológicos que



limitan o afectan la reproducción sexual (Eckert *et al.*, 2003). En *Geum reptans* (Rosaceae) se determinó que en condiciones de mayor estrés ambiental y competencia, la mayoría de los individuos solo se reproducen de forma clonal y cuando se elimina la competencia ambas formas de reproducción se expresan (Pluess y Stöcklin, 2005). *Ranunculus reptans* (Ranunculaceae) establece poblaciones en dos tipos de hábitats, las poblaciones que se establecen más cercanas a los lagos y las poblaciones que se encuentran tierra adentro. Bajo condiciones de competencia los individuos provenientes de tierra adentro se desempeñan mejor que los de las poblaciones de las orillas del lago, mientras lo contrario ocurre cuando se quita la competencia; pero además los individuos de tierra adentro producen un mayor número de flores y los de las orillas del lago un mayor número de rosetas enraizadas (lo que es equivalente a un mayor número de estructuras clonales) (Prati y Schmid, 2000).

Cuando una especie presenta diversos tipos de reclutamiento hay consecuencias a nivel demográfico, genético y finalmente evolutivo (Caswell 1985; Halkett *et al.* 2005; Carrillo-Angeles *et al.* 2011; Carrillo-Angeles *et al.* 2011). Tales consecuencias deben ser estudiadas considerando los distintos niveles de organización en los cuales puede analizarse una especie clonal (Mandujano, 2007; Sackville Hamilton *et al.*, 1987; Tuomi y Vuorisalo, 1989a) así como la distribución espacial de los genotipos y el impacto de las condiciones locales en la forma de reproducción. A pesar de lo anterior, algunos estudios en plantas clonales sólo consideran a cada individuo fisiológicamente independiente (*i.e. ramet*) como si se tratara de un solo individuo genético (*i.e. genet*), y no consideran si comparte genotipo con algún otro individuo de la población.

Para poder realizar una estimación más precisa de las consecuencias de la clonalidad en las poblaciones se deberían considerar de forma más explícita los diferentes tipos de reproducción que posea la especie y los distintos tipos de unidades de dispersión que sea capaz de producir (*e.g.* semillas, bulbos, rizomas, estolones, bulbilos, plantlets); se ha demostrado que, por ejemplo, hay diferencias en la tasa de natalidad, la supervivencia y reproducción de los individuos reclutados por vías clonales en comparación con los que se reclutan a partir de semillas (Grace, 1993; M. del C. Mandujano, Montana, Mendez, & Golubov, 1998; María C. Mandujano *et al.*, 2001) y además, cada tipo de propágulo puede tener preferencias por el hábitat en el que se establece (María C. Mandujano, Golubov, & Huenneke, 2007; María C. Mandujano *et al.*, 2001; Maynard Smith, 1978).

Otro aspecto importante para considerar en las plantas clonales es el patrón de dispersión de las unidades de dispersión de origen clonal y sexual, así como el patrón de distribución espacial de *genets* y *ramets* resultante. En especies donde la clonalidad es producto de estructuras sexuales abortadas, sobre todo en especies autoincompatibles (Piña *et al.* 2007; Carrillo-Angeles *et al.* 2011; Carrillo-Angeles *et al.* 2011; Carrillo-Angeles & Mandujano 2011), la configuración del vecindario genético puede determinar la producción de los propágulos clonales por la formación de arreglos espaciales donde disminuye la disponibilidad de polen de genotipos distintos (*e.g.* arreglos de *ramets* del mismo *genet* agregados y/o predominantes). En consecuencia disminuye la probabilidad de producir propágulos de origen sexual, que puede llevar a la disminución o pérdida de la reproducción sexual (Eckert, 2002; Hu *et al.*, 2017).

La dinámica de dispersión y establecimiento de las unidades de dispersión de origen clonal y/o sexual, en interacción con las condiciones ambientales, tienen un efecto en la configuración del vecindario genético (Eckert *et al.* 2003; Carrillo-Angeles *et al.* 2011). En torno a esto se ha propuesto que los propágulos clonales pueden reducir el flujo genético entre las poblaciones y también la diversidad clonal dentro de las poblaciones, debido a que es común la falta de estructuras especializadas que promuevan la dispersión (Eckert, 2002); a largo plazo una consecuencia de la dispersión limitada de los propágulos clonales es el establecimiento diferencial de clones entre poblaciones (Polloux *et al.*, 2007). Por ejemplo, en *Convallaria majalis* (Asparagaceae) se determinó que la mayor parte de sus poblaciones son monoclonales y hay un alto grado de diferenciación entre ellas, resultado de una limitada dispersión de la progenie clonal, los altos niveles de clonalidad y el aislamiento reproductivo (Vandepitte, Roldán-Ruiz, Jacquemyn, & Honnay, 2010). Si el patrón de dispersión se mantiene a lo largo del tiempo y las condiciones de los hábitats favorecen alguna de las formas de reproducción, puede ocurrir una diferenciación del tipo de reclutamiento predominante entre poblaciones por efecto de las limitaciones de dispersión.

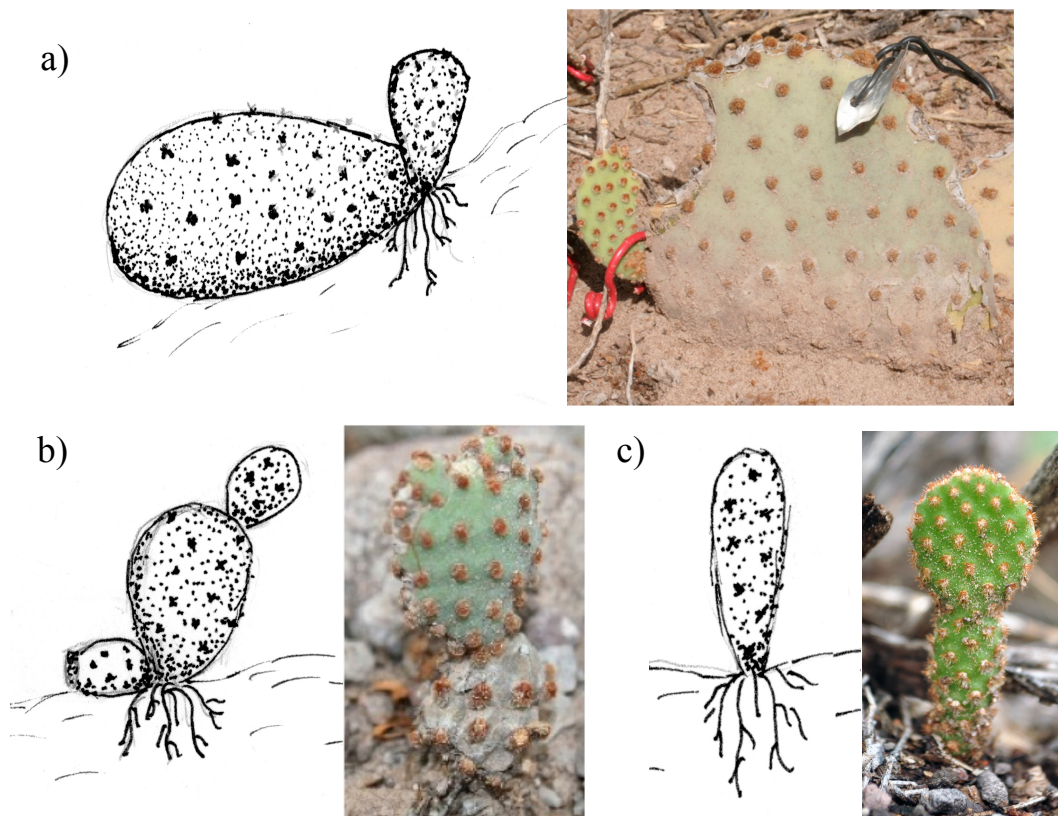
Cuando una especie establece poblaciones en diferentes tipos de hábitats, dependiendo de la capacidad de dispersión de los distintos tipos de unidades de dispersión (Hamrick y Nason, 1996), se pueden aislar genéticamente y por consecuencia disminuir el flujo genético entre ellas. La dispersión diferencial de los tipos de las unidades de dispersión, así como sus capacidades para establecerse en los distintos ambientes, las

podremos medir directamente al estudiar la estructura genética de las poblaciones (Gottlieb, 1973). Por ejemplo, si los propágulos migran largas distancias se puede esperar que la variación presente en las poblaciones sea similar (Eckert *et al.*, 2003) o que en los casos en los que una población se divide o fragmenta, la o las poblaciones derivadas contendrán un subconjunto de la variación contenida en la población fuente de vástagos (Eckert *et al.*, 2003; Gottlieb, 1973). En *Potamogeton malaianus* (Potamogetonaceae), una especie acuática que se distribuye en la mayoría de los cuerpos de agua dulce del este de Asia, Chen *et al.* (2009) determinaron que en 10 poblaciones ubicadas en 10 lagos que se distribuyen a lo largo del río Yangtze hay una estructuración en dos agrupamientos de poblaciones, y que se debe principalmente a procesos de dispersión a larga distancia de unidades de dispersión clonales y sexuales.

La presencia del fenómeno de la clonalidad es muy común en las especies vegetales. En este sentido se ha estimado que se presenta en el 70% de las angiospermas (Tiffney y Niklas, 1985), y en Europa, de 2760 especies de angiospermas el 63% de ellas es clonal según la base de datos de especies clonales europeas CLO-PLA (Price y Marshall, 1999). Los estudios filogenéticos han demostrado que la presencia de este atributo no es ancestral y que ha aparecido de forma independiente en muchos grupos, esto sugiere que la clonalidad podría ser un carácter adaptativo (Mandujano, 2007; Mogie y Hutchings, 1990; Tiffney y Niklas, 1985), por lo cual es indispensable el desarrollo de metodologías que coadyuven a resolver cuáles son los efectos de la clonalidad en la estructura y dinámica poblacionales, y que permitan avanzar en el conocimiento de la ecología y evolución de las especies clonales.

*Opuntia microdasys* (Cactaceae) es un cactus clonal que se distribuye en el desierto Chihuahuense, en particular en el Reserva de la Biosfera de Mapimí (RBM), se ha reportado que posee tres tipos de estructuras distintas a partir de las cuales es capaz de reclutar nuevos individuos (Carrillo-Angeles, 2011; Palleiro, 2001; H Piña, 2007). Dos de estos tipos de estructuras son de origen clonal: la primer forma ocurre cuando los tallos aplanados (también llamados cladodios o pencas) se desprenden de la planta y una vez en el suelo encuentran las condiciones apropiadas para enraizar y establecerse como nuevos individuos fisiológicamente independientes (de aquí en adelante llamados *ramets* - Figura 1a); la otra forma de reclutamiento clonal ocurre cuando un fruto es abortado y se

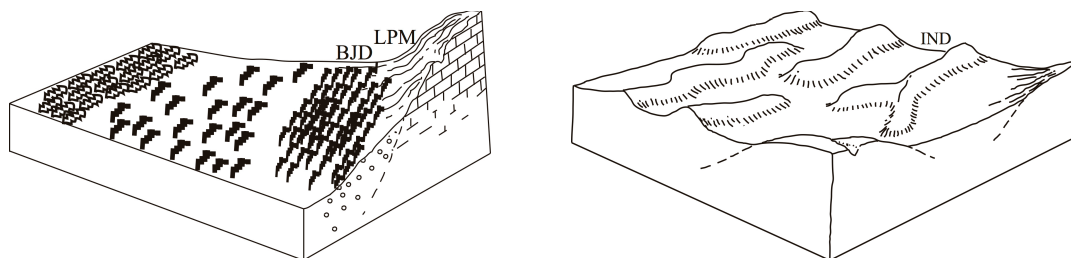
desprende de la planta madre, y al igual que ocurre con los cladodios, al llegar a un sitio con las condiciones adecuadas enraíza y establece un nuevo individuos (debido a que estos individuos clonales provienen de una estructura sexual se les denomina plantlets – Figura 1b). Por su parte, el reclutamiento de plántulas (Figura 1c) de manera sexual es por medio de semillas (Palleiro, Mandujano, & Golubov, 2006); las semillas son el aporte de nuevos *genets* a las poblaciones ya que en esta especie se ha demostrado que es autoincompatible, por lo tanto no hay formación de semillas por agamosperma (H Piña, 2007). En esta región también se ha reportado que forma poblaciones conspicuas en tres tipos de hábitats distintos (Figura 2), dos de ellas son contiguas y se localizan en un cerro: a) Ladera-pie de monte (LPM) y b) Bajada (BJD); la tercera población de *O. microdasys* en la RBM es la localizada en el hábitat de Interdunas (IND).



**Figura 1.** Formas de propagación que presenta *Opuntia microdasys* en las poblaciones de la Reserva de la Biosfera de Mapimí. a) por medio de los tallos o cladodios que se desprenden de la planta que originan **ramets**; b) por medio de los tunos abortados que dan origen a **plantlets** y c) **plántulas** por medio de semillas de origen sexual. Ilustraciones de Mariana Rojas Arechiga.

En un estudio previo Palleiro *et al.* (2006) reportan que en las poblaciones de *O. microdasys* de la RBM, la proporción de reclutas de cada uno de los tipos de propágulos difieren entre ellas (Cuadro 1). En la población de la LPM, el reclutamiento de plántulas vía semillas presenta un mayor porcentaje que en las otras dos poblaciones (Cuadro 1), en la población de la BJD el reclutamiento de *plantlets* es el más alto de los observados (Cuadro 1), y el reclutamiento de *ramets* a partir de cladodios tiene su mayor porcentaje de establecimiento en la población de IND (Cuadro 1). Esto puede deberse a que existen diferentes presiones de selección en cada sitio, favoreciendo el establecimiento de uno u otro tipo de propágulo o a que cada uno de los tres tipos de propágulos proviene de genotipos adaptados localmente a las condiciones particulares de cada población.

El modelo de *Opuntia microdasys* en la Reserva de la Biosfera de Mapimí es propicio para abordar los tópicos relacionados con la clonalidad, la capacidad de dispersión de las unidades de dispersión clonales y sexuales, así como la capacidad de los individuos de producir progenie más adecuada para las condiciones de cada hábitat; por lo que en este trabajo nos planteamos las siguientes preguntas: ¿Cuál es la capacidad de dispersión de las distintas unidades de dispersión?, ¿cómo se ve afectada la movilidad de las unidades de dispersión en cada una de las poblaciones? y ¿las diferencias en el reclutamiento de cada tipo de propágulo en las poblaciones, se deben a una diferencias en las cualidades de las unidades de propagación que se producen en ellas? son preguntas que hay que responder para poder entender los factores que determinan la configuración genética y los patrones de reclutamiento de los distintos propágulos entre las poblaciones, así cómo es que los distintos tipos de reclutas se hacen más frecuentes en una población en particular.



**Figura 2.** Hábitats de *Opuntia microdasys* en a Reserva de la Biosfera de Mapimí. En el cerro San Ignacio se encuentran las poblaciones de Ladera-pie de monte (LPM) y Bajada (BJD), a 6 km se encuentra la población de Interdunas (IND) (modificado de Palleiro *et al.* 2006).

**Cuadro 1.** Características de los hábitats ocupados por *Opuntia microdasys* en la Reserva de la Biosfera de Mapimí (Montaña, 1998) y porcentaje de reclutamiento de los tres tipos de propágulos presentes en la especie en cada hábitat (Palleiro, Mandujano y Golubov, 2006).

Características de hábitats				Tipos de propágulos		
Hábitat	Tipo de suelo	Pendiente	Vegetación dominante	Plántula	Plantlet	Ramet
Ladera-pie de Monte	Roca ígnea	>10%	<i>Larrea tridentata</i> <i>Fouquieria splendens</i> <i>Yucca rigida</i>	<b>19.1%</b>	76.6%	4.3%
Bajada	Profundos, mezcla de grava y arena	2%	<i>Larrea tridentata</i> <i>Fouquieria splendens</i>	0.4%	<b>99.3%</b>	0.3%
Interdunas	Arenosos y profundos	<1%	<i>Prosopis glandulosa</i> <i>Flourensia cernua</i>	1%	87.7%	<b>11.2%</b>

1 **HIPÓTESIS**

2 *Opuntia microdasys* es una especie de amplia distribución y con la capacidad de reclutar  
3 individuos de origen sexual y clonal a partir de tres tipos de unidades de propagación. En la  
4 Reserva de la Biosfera de Mapimí forma poblaciones en tres hábitats y en todas  
5 encontramos las tres formas de reclutamiento, aunque no en las mismas proporciones. Si las  
6 unidades de dispersión tienen una alta capacidad de migración y ésta no es afectada por las  
7 condiciones de cada hábitat, entonces podremos medir que la variación genética se reparte  
8 de forma homogénea entre las poblaciones. Como se ha encontrado en estudios anteriores,  
9 en cada población existen condiciones bióticas y abióticas diferentes que pueden tener un  
10 efecto en el establecimiento y producción diferencial de las distintas unidades de  
11 propagación. Si estas presiones determinan las cualidades de cada tipo de unidad de  
12 propagación que se producen en cada población, entonces podremos diferenciar las  
13 cualidades de las distintas unidades de propagación relacionadas con su origen. Entonces  
14 las capacidades de dispersión y establecimiento de cada tipo de unidad de dispersión  
15 determinarán el flujo y la estructura genética de las poblaciones en la región estudiada. La  
16 última consecuencia de esta dinámica sería una alta especialización de los genotipos y las  
17 formas de reclutamiento a los hábitats particulares.

18

19 **OBJETIVO GENERAL**

20 Determinar los patrones de migración de las unidades de dispersión sexuales y clonales de  
21 *Opuntia microdasys* y su efecto en la configuración espacial de los reclutas, en la  
22 diversidad clonal y la tasa de migración de las tres poblaciones. Establecer si las  
23 capacidades de los tres tipos de unidades de propagación producidas en cada una de las tres  
24 poblaciones son distintas, y determinar si es un factor que promueve los patrones de  
25 reclutamiento reportados.

26

27 **OBJETIVOS PARTICULARES**

28 • Medir la capacidad de migración de las unidades de dispersión en cada población,  
29 por medio de experimentos de campos.

30 • Con el uso de marcadores moleculares, determinar la diversidad clonal, estructura  
31 genética y flujo génico entre las poblaciones, resultado de la migración de las distintas  
32 unidades de dispersión.

33 | • Por medio de experimentos de jardín común, evaluar si cada tipo de unidad de  
34 | propagación tiene la misma capacidad de respuesta y está relacionada con la población de  
35 | origen.



## CAPÍTULO 1

# INFLUENCIA DE LA DISPERSIÓN DE FRUTOS SOBRE LA DIVERSIDAD GENOTÍPICA Y LA TASA DEMIGRACIÓN DE UN CACTUS CLONAL DEL DESIERTO CHIHUAHUENSE

### RESUMEN

Este capítulo es un artículo publicado en la revista “Ecology and Evolution” en el año de 2018 con el título “Influence of fruit dispersal on genotypic diversity and migration rates of a clonal cactus from the Chihuahuan Desert” y en él se aborda el estudio de la dispersión de los frutos de *Opuntia microdasys*, sus consecuencias en la distribución de los genotipos a nivel inter- e intra-poblacional. Se trabajó bajo la hipótesis de que hay influencia del hábitat sobre la movilidad las unidades de dispersión y esto se refleja en cómo se reparte la diversidad genética y genotípica a nivel inter- e intra-poblacional.

La dispersión de frutos se evaluó en campo con dos experimentos: a) simulación del desprendimiento del fruto de la planta madre, para medir los alcances de la dispersión primaria y b) marcaje y recaptura de frutos, mediante el seguimiento de los frutos marcados a lo largo de todo el periodo de fructificación de la especie. Con estos experimentos pudimos determinar que la dispersión primaria ocurre a distancias cortas, aunque aumenta en los hábitats con pendientes más pronunciadas. La distancia final que puede alcanzar un fruto es aún mayor si hay dispersión secundaria.

El efecto de la migración en la configuración genética dentro y entre las poblaciones se evaluó con el uso de ISSR's, con un diseño que contempla la escala local (10 familias por población) y regional (tres poblaciones). Las familias colectadas en las tres poblaciones se agrupan en 116 genotipos multilocus y la diversidad genética de las familias fue muy baja. La diversidad genética es más elevada a nivel intra- poblacional y hay muy poca diferenciación a nivel inter-poblacional.

Los resultados de todos los experimentos se discuten en torno a los alcances que tiene cada una de las etapas de dispersión de los frutos, en particular en cómo el destino de los reclutas clonales es un reflejo principalmente de la dispersión primaria. También se discute que la falta de estructura genética a nivel inter-poblacional puede deberse al alto flujo genético propiciado por la migración de las semillas, ya que el polen y los vástagos clonales tienen un movimiento limitado. Por lo tanto, la configuración de genotipos es altamente clonal a escalas pequeñas pero las plantas adultas vecinas tienden a ser más distintas genéticamente, y al cambiar a una escala más regional (población) el flujo genético de estructuras de propagación sexual homogenizan la diversidad genética.

# Influence of fruit dispersal on genotypic diversity and migration rates of a clonal cactus from the Chihuahuan Desert

Erick García-Morales<sup>1</sup> | Israel G. Carrillo-Ángeles<sup>2</sup> | Jordan Golubov<sup>3</sup> | Daniel Piñero<sup>1</sup> | María C. Mandujano<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética y Ecología, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, México

<sup>2</sup>Escuela de Biología, Universidad Autónoma de Querétaro, Mexico City, Mexico

<sup>3</sup>Laboratorio de Ecología, Sistemática y Fisiología Vegetal, Departamento El Hombre y Su Ambiente-CBS-Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Mexico City, Mexico

## Correspondence

María C. Mandujano, Laboratorio de Genética y Ecología, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, México.

Emails: mcmandu@ecologia.unam.mx; mcmandujano@gmail.com

## Funding information

UNAM-PAPIIT, Grant/Award Number: 207411; CONACyT, Grant/Award Number: 221362

## Abstract

The diverse offspring of clonal species differ in their dispersability, influencing genotypic diversity and clonal structure. Here, we determined dispersal patterns and their impact on genetic structure in *Opuntia microdasys*, a self-incompatible cactus with three dispersal units (one sexual and two clonal). We analyzed dispersal, using experiments at three populations, and assessed multilocus genotypes (ISSR markers) of all individuals in 10 clumps per population with known reproductive origin (sexual or clonal). Genotype of all samples, population structure, and migration between clumps and populations were assessed with GenAEx and GenoDive, assuming higher genotypic diversity and migration when sexual reproduction is more frequent. We determined the most likely number of genetic clusters with STRUCTURE and GENELAND. Dispersal differed among populations; primary dispersal occurred at short distances and was farthest on steep slopes, and dispersal distance increased after secondary dispersal. Clumps had 116 different multilocus genotypes in three spatially explicit genetic clusters. We detected genetic structure at small scale, genotypic diversity among clumps varied between populations; diversity decreased while clonal dominance increased, and the most variation occurred among clumps. Genetic structure was moderate, suggesting gene flow by seed dispersal allows slight differentiation among population at large scales. Genetic diversity within clumps was the lowest because dispersal of clonal propagules was limited and caused genotypic dominance at local scale. However, the combined dispersal pattern of sexual and clonal dispersal units is fine-tuned by environmental factors, generating a range of genetic diversity among clusters and populations. This pattern suggests that genetic structure of clonal plants is more dynamic than thought, and dispersal of different types of offspring affects genetic structure at many scales.

## KEYWORDS

establishment, genotype, migration, population structure, ramet

## 1 | INTRODUCTION

Dispersal is a crucial process for the maintenance (in space and time) of spatially structured populations (Nathan & Muller-Landau, 2000; Ronce, 2007), as it affects both local populations and the entire distribution of species. The movement of reproductive structures to suitable sites and the patterns of recruitment affect the spatial arrangement of individuals (Bullock, Shea, & Skarpaas, 2006; Dean & Milton, 2000; Nanami, Kawaguchi, & Yamakura, 1999; Nathan & Muller-Landau, 2000; Pairon, Jonard, & Jacquemart, 2006), the genetic diversity of populations (Oddou-Muratorio, Klein, Vendramin, & Fady, 2011; Pairon et al., 2006; Ronce, 2007), and the geographic distribution of species (Chambers & MacMahon, 1994; Marco, Montemurro, & Cannas, 2011). Spatial patterns of the individuals may also drive future biotic interactions (Chambers & MacMahon, 1994).

Most studies on plant dispersal have focused on pollen or seeds, that is, sexual diaspores (Geng et al., 2008) and mostly ignored other types of dispersal units (Ronce, 2007), even though most perennial plants combine sexual reproduction with some form of clonality (i.e., mixed reproduction, Arizaga & Ezcurra, 2002; Barrett, 2015; Bullock, Shea, & Skarpaas, 2006; Mandujano, 2007; Oddou-Muratorio, et al., 2011). There are multiple strategies for clonality (Arizaga & Ezcurra, 2002; Bullock et al., 2006; Klimeš, Klimešová, Hendriks, & van Groenendael, 1997; Mandujano, 2007), and in some cases, a sexual structure could also act as a clonal diaspore (Klimešová & Klimeš, 2008). Several species of Cactaceae can display different modes of clonality, for example, the stems of *Ferocactus robustus* (Carrillo-Angeles, Mandujano, & Golubov, 2011), all species of *Cylindropuntia* (chollas) from the Sonoran Desert (Bobich & Nobel, 2001), and *Echinopsis thelegona* (Ortega-Baes & Gorostiague, 2013) break the connection with the parent plant acquiring independence. Failures in fruit development cause fruit abortion (Bravo-Hollis, 1978; Fuentes Pérez, 2008; Negron-Ortiz & Strittmatter, 2004; Nobel, 2002; Piña, Montaña, & del Mandujano, 2007; Vázquez-Delfín, Sánchez-Serrano, & Martorell – Delgado, 2005), which also may trigger clonality through pseudo-viviparity (i.e., clonal offspring—plantlets—are produced by failed sexual structures) (Charpentier, 2002; Ellstrand & Roose, 1987; Elmqvist & Cox, 1996; Gélín et al., 2017; Plasencia-López, 2008), for example, plantlets are commonly developed in *Cylindropuntia leptocaulis* (Vázquez-Delfín et al., 2005) and *Opuntia microdasys* (Palleiro, Mandujano, & Golubov, 2006).

Clonal propagules and sexual diaspores differ in morphological and physiological traits, and in dispersal capabilities (Mandujano, 2007; Zhang & Zhang, 2007). For example, in *Prunus serotina*, either the presence or lack of mesocarp determines the dispersal vector and, in consequence, the dispersal curves; when the mesocarp is present, seed dispersal by gravity occurs up to 5 m around the source, but when the mesocarp is absent, seeds are dispersed by birds up to 30 m away from the source (Pairon et al., 2006). Because clonal propagules often lack specialized dispersal structures, dispersal is assumed to be limited (Bullock et al., 2006; Eckert, 2002; Winkler & Fischer, 2002). In species with mixed reproduction

(i.e., combined sexual and clonal recruitment), the spatial genetic structure has two opposite patterns (Alberto et al., 2005), either dispersal and subsequent establishment promote the spatial arrangement of intermingled ramets of different genets (i.e., multi-clonal patches) or limited dispersal of clonal propagules (Bobich & Nobel, 2001; Bravo-Hollis, 1978; Fuentes Pérez, 2008; Negron-Ortiz & Strittmatter, 2004; Nobel, 2002; Piña et al., 2007) leads to groups of clumped ramets of the same genet (i.e., genotypic dominance in monoclonal stands [superclones]) (Alberto et al., 2005; Barrett, 2015; Charpentier, 2002; Gélín et al., 2017). On one hand, dispersal by direct observation is plausible for species with large and easily traceable dispersal units; for these cases, mark and track experiments are useful to determine the source of clonal propagules. Although direct methods provide exact information on dispersal distances, the difficult task of gathering data for dispersal over long distances poses a serious limitation (Bullock et al., 2006; Nathan & Muller-Landau, 2000; Nathan, Perry, Cronin, Strand, & Cain, 2003). In addition, in species with high clonal recruitment, it is hard to determine the source of a ramet, as some species tend to be dominated by a superclone (Bravo-Hollis, 1978). On the other hand, indirect methods that use molecular markers are well developed to evaluate effective dispersals (i.e., dispersal plus establishment events; Cain, Milligan, & Strand, 2000; Levin, Muller-Landau, Nathan, & Chave, 2003) and determine the number and distance of migrants per generation and the degree of genetic structure and differentiation between populations (Cain, Milligan, & Strand, 2000; Carrillo-Angeles et al., 2011; Levin, et al., 2003; Manel, Gaggiotti, & Waples, 2005; Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000a). Indirect methods, however, are focused on effective dispersal (Cain et al., 2000) and exclude all the reproductive structures that dispersed but have not established or survived.

Our study species, *Opuntia microdasys* (Cactaceae), is a clonal cactus that produces three kinds of offspring, one of sexual origin (seedlings from seeds formed from ripe fruits: sexual diaspores) and two of clonal origin (detached cladodes that take root and unripe fruits that can form new plantlet recruits; Palleiro et al., 2006). Frequent short-distance dispersal of clonal diaspores will result in spatial aggregation of clone mates (Bobich & Nobel, 2001; Bravo-Hollis, 1978; Fuentes Pérez, 2008; Negron-Ortiz & Strittmatter, 2004; Nobel, 2002; Piña et al., 2007). Morphological and demographic differences among clonal and sexual diaspores of *Opuntia microdasys* provide an interesting model to assess the dispersal of sexual and clonal diaspores. Palleiro et al. (2006) found that the plantlets mainly establish under the canopy of adults individuals no more than ca. 90 cm from the parent, forming clusters of new offspring under the canopy of adults plants (i.e., clumps of plants). But not only clusters of clonal propagules become established; Dean and Milton (2000) found clusters of intermingled genets of *Opuntia ficus-indica* around telegraph poles and wire fences from seeds dispersed by crows. The demographic contributions of each type of propagule (Palleiro et al., 2006) and the spatial configuration of genotypes (Carrillo-Angeles et al., 2011) produced a gradient of clonality and sexuality between populations. Thus, we

expected that dispersal promotes the intermingling of ramets of different genets (i.e., multiclonal patches) and higher genetic diversity in the more sexual population and monoclonal clumps with low genetic variation in less sexual populations where clonal diaspores remain in close proximity. Evaluating fruit dispersal should help elucidate whether seeds (ripe fruits) or seedless (unripe) fruits move longer distances from parent plants. In addition, in species with high clonal recruitment, it is hard to determine the source of a ramet, as some species tend to be dominated by a superclone (i.e., over-representation of ramets with the same multilocus genotype) (Bravo-Hollis, 1978). Because the interaction between the environment, dispersal availability, and type of dispersal unit imposes a challenge when studying dispersal of a clonal species, we combined direct and indirect methods to assess dispersal patterns of sexual and clonal dispersal units (Bullock et al., 2006; Nathan et al., 2003).

Here, we aimed (a) to determine the spatial genetic structure that results from dispersal and establishment events of either sexual diaspores or clonal propagules and (b) to determine the genotypic diversity and migration rate within and between both clumps of plants and populations of *O. microdasys* (Cactaceae) in the southern Chihuahuan Desert.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 | Study species

*Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff. (Cactaceae; Figure 1a), bunny ears or blinding prickly pear, is a self-incompatible, clonal cactus that forms shrubs up to 1 m tall, with oval, bright green cladodes (racket-like stems) that lack spines (Bravo-Hollis, 1978). Areoles have numerous reddish brown or yellow glochids. The segments of the perianth in the flowers are yellow, with flowering between April and May. The fruits are globose, fleshy, 2–2.5 cm in diameter, and turn from green into red when mature, usually ripen between June and August. Unripe and mature fruits either disperse by gravity or are removed by birds and mammals (E. García-Morales, personal field observations). When the fruits reach the ground, several factors could influence their dispersal, but the immediate factors are the slope and microtopography of the site. Other agents such as temporary streams can move fruits on the ground farther during a heavy rain (M. Mandujano, unpublished data).

*Opuntia microdasys* usually grows on sandy to loamy calcareous soils in hills and uplands in the Chihuahuan Desert of Mexico. The species reproduces both clonally and sexually (Palleiro et al.,



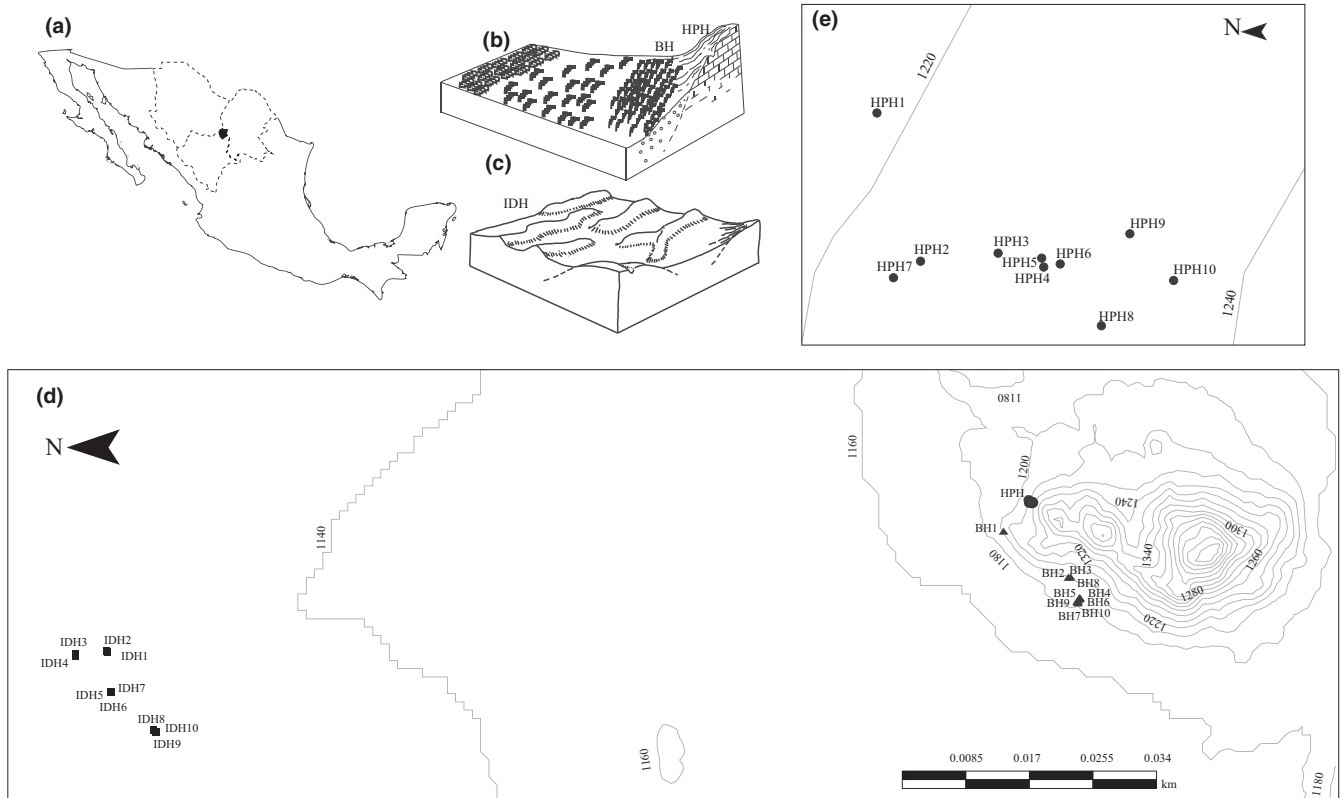
**FIGURE 1** *Opuntia microdasys* (a) and the three different types of recruits originating from different propagules: (b) seedling from seeds, (c) ramets from cladodes, and (d) plantlets from aborted fruits

2006; Piña et al., 2007). The flowers are pollinated by solitary bees (*Diadasia* sp.), and the species is self-incompatible (Piña et al., 2007) because all new genets are recruited from seeds produced from cross-fertilization (Figure 1b). Failure of fruit development causes fruit abortion (Piña et al., 2007); aborted unripe fruits are common propagules (94.3% of the recruits in the Mapimi Biosphere Reserve [MBR] are plantlets; Zhang & Zhang, 2007; Cain et al., 2000) that could recruit new clonal individuals called plantlets (Figure 1c). Two characteristics of the sexual structures in the Cactaceae family are distinctive from those of all other angiosperms and potentially allow clonality via aborted fruits: The axillary buds in areoles differentiate into new stems, flowers, spines, glochids, etc. (Bravo-Hollis, 1978; Nobel, 2002), and the ovary is covered by a modified stem (Nobel, 2002) called the pericarpel (Bravo-Hollis, 1978). Because of its vegetative nature, the pericarpel is green and covered by areoles early in the development of the flower and fruit (Bravo-Hollis, 1978; Fuentes Pérez, 2008). Areoles of the pericarpel most commonly produce spines, scales, and wool (Bravo-Hollis, 1978). In some cases, however, they produce leaves (*Pereskia*), new stems (*Cylindropuntia leptocaulis*; Winkler & Fischer, 2002), or new flowers (*Opuntia prolifera*, *Cylindropuntia bigelovii*, *Cylindropuntia fulgida*; Montaña, 1990, and *Consolea corallicola*; Alberto et al., 2005). These examples highlight the fact that, sometimes, sexual structures in Cactaceae also act as clonal diaspores, (i.e., plantlets, Figure 1d). In addition,

*O. microdasys* can form physiologically independent ramets from detached cladodes (Figure 1d; Palleiro et al., 2006). Consequently, clonal recruitment appears to be important for populations of *O. microdasys* in the MBR, and clonal propagules are spatially autocorrelated with adult clones within a radius of 20 m (Carrillo Angeles, Golubov, Milligan, & Mandujano, 2011).

## 2.2 | Study site

The study was conducted in three populations of *O. microdasys* at MBR—Bajada (BH), Hill-Piedmont (HPH), and Interdune (IDH; Figure 2)—in the southern Chihuahuan Desert, Mexico (26°29'–26°52'N and 103°32'–103°58'W, 1,100 m above sea level, 20.8°C mean annual temperature, and 264 mm mean annual rainfall, of which 80.2% falls between June and October, Figure 2a). The HPH and BH are contiguous populations located on the west side of San Ignacio Mountain (Figure 2b) with steeper slopes of >10% and 2%, respectively. In the HPH, shallow, stony soils overlay igneous rock, and the sparse vegetation is dominated by *Fouquieria splendens* Engelm., *Larrea tridentata* (Sessé & Moc. ex DC.) Coville, and *Yucca rigida* (Engelm.) Trel. The soils are deep in BH, usually a mixture of gravel and sand, and the vegetation is dominated by *Larrea tridentata*, *F. splendens*, and *Opuntia rastrera* Weber. The IDH has sandy and deep soils with slopes of <1%; the dunes form a network of hills connected by flat interdune plains where the dominant vegetation



**FIGURE 2** Representation of the landforms inhabited by *Opuntia microdasys* in Mapimi Biosphere Reserve. Contiguous habitats in the San Ignacio Mountains: (a) Hill-Piedmont (circles), Bajada (triangles), and Interdune (squares), (b) close-up of Hill-Piedmont habitat (note scale differences)

includes *Acacia constricta* Benth., *Acacia greggii* A. Gray, *L. tridentata*, and *Prosopis glandulosa* Torr.

Palleiro et al. (2006) reported different recruitment rates for each type of propagule between populations of *O. microdasys* and represented recruitment as a percentage of offspring that were produced either sexually or clonally. IDH has the highest percentage of establishment by cladodes, BH has the highest percentage of establishment of plantlets, and HPH has the highest percentage of sexual recruitment.

## 2.3 | Fruit dispersal

Two field experiments were set up to explore fruit dispersal of *O. microdasys* during fruiting. In the first experiment, we measured primary dispersal, the distance traveled by fruits immediately after they had detached from the parent plant. In the second experiment, we measured the combined effect of primary and secondary dispersal during the entire reproductive season by marking and tracking the fruits.

### 2.3.1 | Primary fruit dispersal

We experimentally simulated fruit dropping from parent plants at each population (BH, HPH, and IDH) to assess the process of primary dispersal of fruits of *O. microdasys* in relation to landscape and their effect in the spatial distribution of plantlets around parent plants. Ten reproductive focal plants were randomly selected within each population, and the area around the plant crown was split into eight quadrants that corresponded to cardinal and intercardinal directions (i.e., N, NE, E, SE, S, SW, W, and NW). An unripe fruit (ca. 2 cm long and 1.7 cm diameter) was taken from a focal plant and painted; the detachment of fruits from the parent plant was simulated by dropping a different painted fruit 40 times in each cardinal direction, from a height of 1 m to mimic the natural fruit detachment. Fruit was released at the tip of the branches to avoid impact with cladodes that could alter their fall strength or trajectory. Once the fruit reached the ground and stopped moving, we measured the distance traveled by the fruit (cm) and recorded the quadrant in which the fruit was located (fate). We analyzed the fruit fate with circular statistics (Fisher, 1996). Correlation between the number of fruits that fell in each quadrant (circular data) and distance reached by fruits (linear data) was analyzed using Oriana v4.02 (Kovach, 2011). Finally, the dispersal distance of fruits was analyzed with a two-way nested ANOVA (Kutner, Nachtsheim, Neter, & Li, 1996) in JMP 8.0.2 (population and quadrants as fixed factors and focal individual nested within population as random effect) and a Tukey test (Kutner et al., 1996).

### 2.3.2 | Marking and tracking fruits

The fate of fruits was followed over the entire reproductive season (from June to September of 2010) to assess the distances reached by fruits over longer periods. In this experiment, the distance from the

parent plant to the point where the fruits were found could have resulted from primary and/or secondary dispersal. Here, we assumed that any fruits found beyond the mean distance from the focal plant measured in the primary dispersal experiment had undergone secondary dispersal.

During the 2010 fruiting season, 10 reproductive focal plants in each population (30 plants in total), with at least 200 fruits each, were selected. Using unique plant-specific colors, we painted all fruits within each focal plant to later identify the parentage. Once a month, we counted all fruits that remained on the parent plant and all painted fruits found on the ground. We estimated the proportion of detached fruits at each count as the ratio of the number of fruits found on the ground to the number of fruits originally painted on the parent. We recorded the distance from the parent plant, the stage of maturity, and the fate for all painted fruits found on the ground. The fruits were assigned to one of four categories of maturity by direct observations of their morphological qualities: (a) ripe, (b) unripe, (c) aborted, and (d) other (e.g., part of a fruit or painted pericarpel that once covered a fruit). In addition, we identified five possible fates for fruits: (a) parent, when fruits were found under the crown of the focal plant; (b) other plants, when the fruit was observed under the plant crown of other plants in the neighborhood; (c) exposed, when a fruit was found in bare areas; (d) *Neotoma* nest, when the fruit was located in the nest of the white-throated wood rat (*Neotoma albigula*); and (e) lost, the remaining fruits that were not found after detachment.

With the proportion of detached fruits every month as a response variable and populations (IDH, BH, and HPH) and sampling period (months) as fixed factors, the results were analyzed with a generalized linear model using a binomial distribution and a logit link function in JMP 8.0.2. The distances reached by fruits were evaluated with a two-way nested ANOVA in JMP 8.0.2, considering population and month as fixed factors and individual nested in population as random effect. The number of fruits at each stage of maturity was evaluated with a generalized linear model with a Poisson distribution of residuals and the log link function in JMP 8.0.2; fruit count was the response variable, with stage of maturity of fruits, populations, and month as factors (Kutner et al., 1996). Finally, the number of fruits for each fate was analyzed using a generalized linear model with a Poisson distribution of residuals and the log link function in JMP 8.0.2; fruit count was the response variable with fates of fruits, populations, and sampling period as fixed factors (Kutner et al., 1996).

## 2.4 | Genetic assessment of dispersal

### 2.4.1 | Sample collection

We collected samples of fresh tissue from 10 clumps of plants in each population. A clump of plants consisted of a parent plant (focal) and all their putative offspring established under its crown. Offspring were considered to be any established individual with a size of less than three cladodes; when possible, we recorded whether the

offspring originated via unripe fruit, cladode, or seed. All clumps of plants sampled at each population were selected within permanent plots that were previously established for a demographic study that began in 2007. We sampled 577 individual ramets distributed among 30 clumps of plants across the three populations (BH = 347, HPH = 148, IDH = 82; Table 1). Approximately 10 g of fresh tissue from newly produced cladodes was collected from all ramets (physiologically independent individuals). This tissue proved to be most

suitable for extraction and amplification of DNA. Each sample was placed in a sterile 5-cm polyethylene bag with 5 g of silica gel. The silica gel was changed periodically until the tissue was completely dry (this process is required because the *Opuntia* tissue contains mucilage that interferes with DNA extraction). DNA was extracted with a Fast-DNA Kit (116540600 MP Biomedicals), and we test the quantity and purity with electrophoresis in a 2% agarose gel to obtain between 10 and 20 ng.

**TABLE 1** Attributes of plant clumps. Habitat-Clump ID: population of origin and identity of each sampled clump (BH: Bajada, HPH: Hill-piedmont, IDH: Interdune, clumps 1–10). Number of individual ramets sampled in the clump including the parent plant (*N*), and number of each type of recruit identified along the sampled (P: plantlet, C: cladode, S: seedling, ?: origin could not be assigned) based on morphological observations. Percentage of polymorphic bands (%P), number of private bands (PB), unbiased genotypic diversity (*R*), unbiased Nei's genetic diversity index (*D*), and corrected Shannon index for clumps and habitats

Habitat-Clump ID	<i>N</i>	P	C	S	?	%P	PB	<i>R</i>	<i>D</i>	Shannon
BH1	22	21	0	0	0	0.00	1	0.000	0	0
BH2	37	35	1	0	0	2.87	0	0.028	0.054	0.054
BH3	33	27	0	0	5	7.53	1	0.156	0.333	0.329
BH4	23	16	0	0	6	0.36	0	0.045	0.087	0.078
BH5	22	21	0	0	0	10.04	1	0.048	0.091	0.08
BH6	33	32	0	0	0	16.5	2	0.250	0.432	0.459
BH7	48	46	0	0	1	0.00	0	0.000	0	0
BH8	39	38	0	0	0	0.00	0	0.000	0	0
BH9	47	46	0	0	0	0.00	1	0.000	0	0
BH10	43	42	0	0	0	9.68	1	0.119	0.221	0.237
Total	347	324	1	0	12	57.71	7	0.087	0.907	1.104
HPH1	8	3	0	0	4	11.11	3	0.286	0.464	0.319
HPH2	9	8	0	0	0	2.51	3	0.125	0.389	0.23
HPH3	13	11	0	0	1	15.41	2	0.917	0.987	1.068
HPH4	29	27	0	1	0	10.04	1	0.250	0.48	0.484
HPH5	18	17	0	0	0	0.00	0	0.000	0	0
HPH6	33	32	0	0	0	24.73	5	0.719	0.949	1.266
HPH7	21	15	1	0	4	15.77	3	0.250	0.495	0.453
HPH8	8	7	0	0	0	1.79	3	0.143	0.25	0.164
HPH9	5	4	0	0	0	6.81	2	0.750	0.9	0.579
HPH10	4	1	0	0	2	15.05	1	0.667	0.833	0.452
Total	148	125	1	1	11	82.44	23	0.435	0.949	1.519
IDH1	24	20	1	2	0	13.62	2	0.130	0.239	0.223
IDH2	11	2	0	8	0	9.32	5	0.100	0.182	0.132
IDH3	9	2	1	5	0	16.13	2	0.125	0.222	0.151
IDH4	8	4	0	3	0	0.00	1	0.000	0	0
IDH5	13	3	0	9	0	5.38	1	0.167	0.295	0.233
IDH6	4	0	0	3	0	0.00	4	0.000	0	0
IDH7	4	1	0	2	0	0.00	2	0.000	0	0
IDH8	3	1	1	0	0	5.38	2	1.000	1	0.477
IDH9	3	0	0	0	2	0.00	0	0.000	0	0
IDH10	3	0	2	0	0	0.00	3	0.000	0	0
Total	82	33	5	32	2	65.95	22	0.222	0.884	1.044
All	577	482	7	33	25			0.198		

## 2.4.2 | Molecular analysis

We used intersimple sequence repeats (ISSRs) as molecular markers to genotype each sample (Zietkiewicz, Rafalski, & Labuda, 1994). The use of dominant markers (such as ISSRs or AFLPs) is a common technique used in ecological and systematic studies of plants and other organisms because of their low cost and high reproducibility, variable loci, and distribution throughout the genome (Bornet & Branchard, 2001; Nybom, 2004; Zietkiewicz et al., 1994). Compared with other dominant markers such as RAPDs, ISSRs are advantageous for two reasons: High annealing temperatures in ISSR protocols make PCR conditions more stringent for the amplification of fragments (Nybom, 2004), and the longer primers seem to provide the same reproducibility as microsatellites (Bornet & Branchard, 2001; Nybom, 2004). Preliminary tests were done to standardize the protocols for several primers, and three primers (817 [CAC ACA CAC ACA CAC AA], 827 [ACA CAC ACA CAC ACA CG], and 842 [GAG AGA GAG AGA GAG AYG; Y = C or T]; IUBC SSR first 100-9, University of British Columbia) yielded consistent banding patterns and polymorphism for *O. rastrera* (Plasencia-López, 2008) and *O. microdasys* (Carrillo-Angeles et al., 2011). The three selected ISSR primers amplified 281 loci with reproducible bands, which were used to assess the multilocus genotype of all sampled *O. microdasys* individuals.

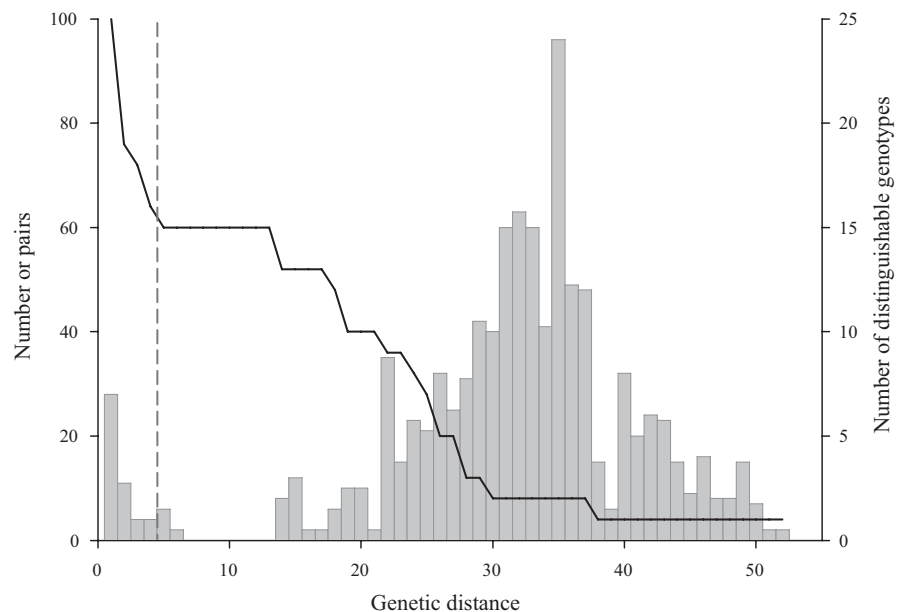
DNA amplification reactions were run in a total volume of 15  $\mu$ l, with the following composition: 0.8  $\mu$ M primer (for primers 817 and 842) or 0.6  $\mu$ M (for primer 827), 1 $\times$  PCR buffer (BIOGENICA), 2.0 mM MgCl<sub>2</sub> (BIOGENICA), 0.2 mM dNTPs (Invitrogen), 1 U Taq polymerase (Amplificasa–BIOGENICA), and 2  $\mu$ l (10–20 ng/ $\mu$ l) DNA of *O. microdasys* and purified water (Sigma). The amplification reactions were carried out in a PTC-100 thermocycler (MJ Research) programmed with an initial denaturation of 4 min at 94°C; followed by 36 cycles of 30 s at 94°C, 45 s at 52°C, 2 min at 72°C, and 2 min at 72°C; and a final extension of 7 min at 72°C. Amplification products

were separated on 1.4% agarose gels (0.5 $\times$  Tris-borate-EDTA [TBE] buffer at 120 V for 4.5 h), stained with ethidium bromide (0.01%), and visualized and photographed under UV light. The molecular marker 1Kb Plus (Invitrogen) was used as a molecular weight standard. Digital images of the gels were obtained for each individual using LabWorks software 4.0 (UVP, Inc.). The banding pattern was subsequently transformed into a presence/absence matrix. To test the reproducibility of the band patterns, we re-extracted and amplified DNA from a sample of 45 individuals taken from all parent plants from all clumps. If the banding pattern of the sampled replicates varied, we adjusted the conditions (i.e., purity and concentration of DNA) and, if necessary, diluted or repeated the extraction and amplification. Following the method of Bonin, Ehrich, and Manel (2007), we estimated error rate at the allelic level with the 45 repeated samples; the error rate for dominant markers was estimated from the number of phenotypic differences (band presence or absence) and the total number of comparisons (number of pairs = 96, threshold to assign multilocus genotypes of three bands, Figure 3, see below). The error rate estimated for this study was 3.15%. We also checked that no band exceeded a frequency of  $1 - (3/N)$  according to the proposal of Lynch & Milligan (1994) for dominant markers.

## 2.4.3 | Genetic data analysis

When molecular markers are used to define multilocus genotypes (MLGs), individuals can be misallocated in two ways: (a) Genetically similar individuals are assigned as clones but in reality are from different MLGs; (b) dissimilar genetic individuals are assumed to be genets but are actually clones (Duhovnikoff & Dodd, 2003). Individuals could be misallocated into MLGs for three reasons: scoring errors in the banding patterns, PCR artifacts, and somatic mutations (Meirmans & Van Tienderen, 2004). These errors can create small differences between individual genotypes and thus bias individuals of the same clonal lineage (Duhovnikoff, McBride, & Dodd,

**FIGURE 3** Frequency distribution of pairwise genetic distances (bars and left axis) based on ISSR markers between all *Opuntia microdasys* samples ( $N = 577$ ) and number of distinguishable genotypes (solid line and right axis) under the selected threshold (dashed line). The threshold was selected according to the method of Meirmans and Van Tienderen (2004), and the pairwise distances and number of distinguishable genotypes to the left of the threshold correspond to a mismatch difference between clones of the same clonal lineage. To the right of the threshold are the genotypes without errors and the clonal lineages chosen for the study





2005; Meirmans & Van Tienderen, 2004). To avoid this bias, we used the program GenoDive (Meirmans & Van Tienderen, 2004), which plots the differences between individuals against the frequency of individuals. A multimodal histogram frequently results, and a threshold must be chosen to determine the number of clonal lineages in the sample (Douhovnikoff & Dodd, 2003). For choosing a threshold for genetic differences among pairs of individuals and excluding scoring errors or small differences due to somatic mutations, Meirmans and Van Tienderen (2004) recommended using the valley between the first and the second peak as the threshold. In the present study, we thus set the threshold for determining differences at three bands (Figure 3).

We determined the probability that the detected genotypes are unique genets using  $P_{\text{dgen}}$  of Sydes and Peakall (1998), which is the probability of drawing a second copy of a particular genotype, given that one copy of this genotype has already been drawn from the population and assuming a population with sexual reproduction and random mating.  $P_{\text{dgen}}$  can be extended to the probability of drawing the same genotype  $n$  times as  $(P_{\text{dgen}})^{n-1}$ . Further,  $P_{\text{dgen}} = \prod p_i$ , where  $p_i$  is the frequency of each locus in the multilocus genotype (Oddou-Muratorio et al., 2011). On the basis of the genotyped lineages obtained using the selected threshold, banding patterns of ramets belonging to each clonal lineage were matched manually for further analysis.

For the total sample and for each clump of plants, we calculated the percentage of polymorphic bands (%P) and the number of private bands (PB) with the program GenALEX 6.4 (Peakall & Smouse, 2006, 2012). We also calculated the genotypic diversity index corrected for sample size:

$$R = \frac{G-1}{n-1},$$

where  $G$  is the number of genotypes identified in the sample and  $n$  is the sample size.  $R$  can have values between 0 and 1;  $R$  is 0 when all individuals are copies of the same genotype and 1 when all individuals have different genotypes (Dorken & Eckert, 2001).

An AMOVA for diploid binary data was used to determine the distribution of genetic variation among the levels of organization included in the study, clumps of plants and populations. This method calculates a matrix of Euclidean distances between pairs of individuals (Excoffier, Smouse, & Quattro, 1992). This test was performed with GenALEX 6.4 (Peakall & Smouse, 2006, 2012) after running 1,000 iterations.

We calculated  $\Phi_{\text{PT}}$ , which refers to a relation of the genetic variance among the populations relative to the total variance, but based on information of differences, matrix and differentiation among populations were calculated via AMOVA from haplotypes or dominant markers (Excoffier et al., 1992; Peakall & Smouse, 2006, 2012); and their interpretation is similar to  $F_{\text{ST}}$ , values near 0 means no genetic structure and near to 1 high levels of differentiation between populations. To assess the most likely number of genetic clusters, we conducted two different Bayesian analyses of clustering, one with STRUCTURE V. 2.3.4 (Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000a) and

one with GENELAND v. 4.0.5. After an exploratory run, STRUCTURE was run with the following parameters: admixture, allele frequencies correlated among populations, three populations with a location prior, 250,000 burn-in and 500,000 MCMC iterations,  $K$  between 2 and 30,  $\alpha$  inferred from data, and 20 repetitions for each value of  $K$ . The parameters admixture, allele frequencies correlated among populations, and location prior were used because they are recommended when local genotypes comprise alleles from many populations, which can obscure the identification of populations (Falush, Stephens, & Pritchard, 2003; Porras-Hurtado et al., 2013; Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000a). Admixture was included in the model as populations of *O. microdasys* are relatively close and it is possible that actual genotypes represent a mixture of genetic composition of genotypes that come from different populations (Porras-Hurtado et al., 2013), and we considered allele frequencies correlated as it helps to distinguish among genetic groups even if they are similar (Porras-Hurtado et al., 2013). From the results, we selected the value of  $K$  using the STRUCTURE HARVESTER website (Earl & vonHoldt, 2012), which maximizes  $\Delta K$ . Evanno, Regnaut, and Goudet (2005) defined  $\Delta K$  as the second-order rate of change in the likelihood function with respect to the number of genetic clusters ( $K$ ). With GENELAND, we tested the values of  $K$  from 1 to 30, the number of iterations of MCMC was set to 500,000, with thinning of 100, coordinate uncertainty of 0.01, and a burn-in period of 200 (Guillot, Estoup, Mortier, & Cosson, 2005). This criterion suggested  $K = 20$ , but 17 of the 20 putative clusters were empty (i.e., 17 ghost populations). Consequently, a second GENELAND analysis was performed with  $K$  fixed at three, 800,000 MCMC iterations, thinning of 1,000, and coordinate uncertainty of 0.01 and burn-in of 100; 30 independent runs were done with the same parameters, and we selected the run in which no "ghost" populations occurred and obtained approximately the same estimates of individual population membership,  $K$ , and maps.

## 3 | RESULTS

### 3.1 | Evaluation of fruit dispersal

#### 3.1.1 | Primary fruit dispersal

The mean directional angle ( $\mu$ ), mean resultant length of dispersal ( $r$ ), and the chi-squared test for uniformity at which fruits fell in the primary dispersal experiment differed between populations (Table 2). The slope of each habitat affects the spatial pattern of fallen fruits. More fruits that dropped in the west quadrants fell with the highest frequencies to the SW, NW, and W at HPH (Appendix 1a), which resulted in a  $\mu$  close to a west orientation (Table 2, Appendix 1). Three circular statistics support this finding: the highest values of mean resultant length of dispersal ( $r = 0.273$ ) and the concentration ( $\kappa = 0.568$ ) and the lowest standard deviation ( $SD = 92.32^\circ$ ). Quadrants  $NW > SW > NE > SE$  showed the highest frequency of fruits in BH (Appendix 1b). Nevertheless, the value of  $\mu$  was close to NW (Table 2 and Appendix 1b;  $r = 0.063$ ,

**TABLE 2** Circular statistics of the experiment to simulate primary dispersal of fruits of *Opuntia microdasys* in three populations (BH: Bajada, HPH: Hill-piedmont, IDH: Interdune) from the southern Chihuahuan Desert

Model	Population		
Variable	HPH	BH	IDH
Mean direction ( $\mu$ )	259.441°	313.032°	76.23°
Mean resultant length of dispersal ( $r$ )	0.273	0.063	0.03
Concentration ( $\kappa$ )	0.568	0.126	0.061
Circular standard deviation (SD)	92.329°	134.762°	151.494°
Chi-squared test (uniform, $\chi^2$ )	822.4	339.81	23.46
Chi-squared test ( $p$ )	<1E-12	<1E-12	0.001
Weighted statistics			
Weighted mean vector (WMV)	262.496	324.264	122.791
Length of WMV (in m)	31.721	5.158	2.104
Length of WMV ( $r$ , scaled 0–1)	0.041	0.032	0.011

$\kappa = 0.126$ , and  $SD = 134.76^\circ$ ). Finally, the frequency of fruits at IDH was more homogeneous between directions, with a slight increase in the frequencies to the NE, E, SE, and SW (Appendix 1c) and mean direction approximately to the E (Table 2 and Appendix 1c). The IDH population had the lowest frequency of fruits with a skewed orientation around a focal plant ( $r = 0.03$ ,  $\kappa = 0.061$ , and  $SD = 151.49^\circ$ ).

The correlation between direction and fruits dispersal distance was analyzed with circular-linear correlations and was significant for all populations (HPH,  $r = 0.393$ ,  $p < 0.0001$ ; BH,  $r = 0.207$ ,  $p < 0.0001$ ; IDH,  $r = 0.107$ ,  $p < 0.0001$ ). The mean dispersal distance of fruits differed between populations (ANOVA,  $F_{2,27} = 9.53$ ,  $p < 0.001$ ) and quadrants ( $F_{7,956} = 69.31$ ,  $p < 0.001$ ), and the

interaction between factors was significant ( $F_{14,956} = 67.31$ ,  $p < 0.001$ ). The interaction reflects the influence of specific quadrants in each habitat; for example, quadrants with west orientations determined the fate of fruits in HPH (Appendix 2). The longest mean dispersal distance reached by fruits occurred in HPH (58.4 cm), followed by 32.18 cm in IDH, and the minimum distance was found in BH (29.9 cm; Appendix 2).

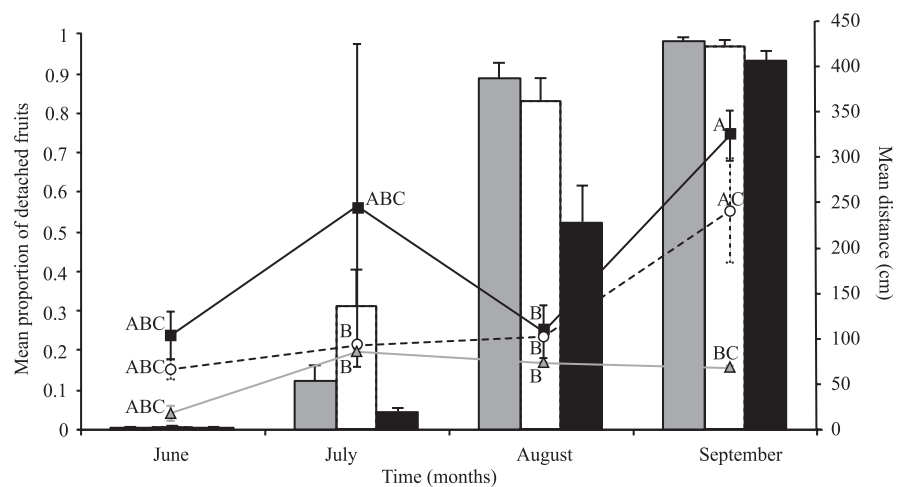
### 3.1.2 | Marking and tracking fruits

The monthly proportion of fruits detached from the parent plant was statistically significant (full model: goodness of fit Pearson value  $\chi^2 = 6150.8$ ,  $df = 108$ ,  $p < 0.001$ , and deviance  $\chi^2 = 6577.3$ ,  $df = 108$ ,  $p < 0.001$ ,  $AIC = 152.9$ ). The proportion of detached fruits did not differ between populations ( $\chi^2 = 1.92$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.382$ ), but the proportion did differ among months ( $\chi^2 = 453.5$ ,  $df = 3$ ,  $p < 0.001$ ), and an interaction existed between months and population ( $\chi^2 = 19.08$ ,  $df = 6$ ,  $p = 0.004$ ). The proportion of detached fruits increased during the fruiting season, from 0.003 to 0.004 at the first count in June to  $0.82 \pm 1$  at the last count (Figure 4, Bars). The population with the highest proportion of detached fruits was BH, with 88% since the third count. In contrast, the proportion in IDH was less than HPH in the third count and higher for the last count (Figure 4, Bars).

Fruit dispersal distance differed between populations ( $F_{2,189} = 3.617$ ,  $p < 0.0287$ ). In the IDH, fruits disperse the farthest (average 182 cm), followed by HPH (106 cm), then BH (75 cm). Dispersal distance also differed among months ( $F_{3,7061} = 12.627$ ,  $p < 0.0001$ ), with the longest distance in the fourth count (273 cm) and the shortest in the first count (63 cm; Figure 4, lines, secondary y-axes). The interaction between factors was also significant ( $F_{6,6433} = 4.925$ ,  $p < 0.0001$ ). Fruits in the IDH moved farthest, and fruits in BH always moved the shortest distance (Figure 4, lines).

The full model for the proportion of fallen fruits at each stage of maturity was significant (full model goodness of fit Pearson value:  $\chi^2 = 12,764.4$ ,  $df = 456$ ,  $p < 0.0001$ , deviance value:  $\chi^2 = 10,053.4$ ,  $df = 456$ ,  $p < 0.0001$ ,  $AIC = 454.07$ ); the factors population

**FIGURE 4** Mean proportion (Bars  $\pm SE$ ) of detached fruits and mean distance (Lines  $\pm SE$ , secondary y-axes) traveled by fruits of *Opuntia microdasys* over the four sampling periods. Bars represent proportion of detached fruits ( $\pm SE$ ) in each habitat Bajada = gray bars, Hill-Piedmont = white bars, and Interdune = black bars. Lines represent the distance traveled by fruits in each habitat:  $\triangle$  = Bajada,  $\circ$  = Hill-Piedmont, and  $\square$  = Interdune. Same letters indicate groups that did not differ significantly (Tukey's post hoc test)



( $\chi^2 = 4.1$ ,  $df = 3$ ,  $p = 0.2491$ ) and stage of fruit maturity ( $\chi^2 = 2.0$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.3673$ ) were not statistically significant, but month had a significant effect ( $\chi^2 = 194.4$ ,  $df = 3$ ,  $p < 0.0001$ ) as fruits mature (Appendix 3a). The interaction of population with the maturity stage of fallen fruits was statistically significant ( $\chi^2 = 22.01$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0.0001$ ), because most fruits fell in the first or second count at BH and IDH and abortion rate was constant over time at HPH. Also, the interaction of the month and the stage of maturity of fruits differed ( $\chi^2 = 65.31$ ,  $df = 9$ ,  $p < 0.0001$ ) because the highest proportion of fallen ripe fruits peaked in the second or the third count, unripe fruits peaked in the first count and that proportion decreased toward mid-season (Appendix 3a). One other difference is that in IDH, numerous fruits were not found in the first and the last count (Appendix 3a).

We found significant differences in the proportion of fruits with different fates (full model goodness of fit Pearson value:  $\chi^2 = 19,244.07$ ,  $df = 570$ ,  $p < 0.0001$ , deviance value:  $\chi^2 = 15,687.65$ ,  $df = 570$ ,  $p < 0.0001$ , AIC = 572.68). The proportion of fruits did not differ between populations ( $\chi^2 = 0.975$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.6141$ ), but there were differences among months ( $\chi^2 = 56.78$ ,  $df = 3$ ,  $p < 0.001$ ) and fates ( $\chi^2 = 28.383$ ,  $df = 4$ ,  $p < 0.001$ ), with a significant interaction between population and fate ( $\chi^2 = 49.88$ ,  $df = 8$ ,  $p < 0.001$ ) and between months and fate ( $\chi^2 = 66.321$ ,  $df = 12$ ,  $p < 0.001$ ). The fates with the highest proportions of fruits were the parent and lost fruit fates (Appendix 3b) in all populations. The number of fruits found in the parent fate was highest in the first count of the fruiting period and decreased with time. The number of lost fruits was highest in the fourth count, although in IDH the maximum lost had occurred by the second count (Appendix 3b). The exposed fate was consistent in all three populations but variable over time (Appendix 3b). Finally, the *Neotoma* nest and other fates had the lowest proportions. The *Neotoma* nest fate was particularly common in the IDH, especially in the first count (Appendix 3b).

### 3.2 | Genetic structure of clumps of plants and populations

Of the 577 individual ramets that were genotyped with the three selected ISSR primers (Table 1), we identified 115 different clonal lineages (genotypes) with GenoDive using a three-band threshold of differences between genotypes (Figure 3).

In most clumps of plants, we found clonal individuals. The population with the highest genotypic diversity was HPH ( $R = 0.435$ ), followed by IDH ( $R = 0.222$ ) and BH ( $R = 0.087$ ; Table 1). Plant clump IDH8 had the highest genotypic diversity ( $R = 1$ ) and the fewest members (only three ramets). In HPH, the highest values of  $R$  corresponded to two clumps of plants (HPH3 and HPH6;  $R = 0.917$  and  $0.719$ , respectively; Table 1). On the other hand, in BH and IDH, most clumps of plants had lower genotypic diversity (0 in several cases), indicating a predominantly clonal composition (Table 1). The values of  $P_{\text{dgen}}$  were very low for all populations (BH = 0, HPH =  $1.6e^{-38}$ , IDH =  $5.13e^{-89}$ ), which suggests that the assignment of clones is robust.

In agreement with HPH having the highest genotypic diversity, HPH also had the highest percentage of polymorphic bands

and private bands (%P = 82.44%, PB = 23), followed by IDH (%P = 65.95%, PB = 22) and BH (%P = 57.71%, PB = 7, Table 1). At the level of clumps of plants, there was no clear pattern; the values of %P and PB varied between clumps of plants, and none of the clumps had high values for either polymorphic loci or private alleles (Table 1). The AMOVA between habitats—without considering clumps—showed the highest percentage of variation within populations (Table 3) and only 21% of the variation between habitats. This result means that the differentiation of populations was moderate to high ( $\Phi_{\text{PT}} = 0.21$ ). The AMOVA that included the clumps and populations also highlighted the fact that almost all the variation was found between clumps (81%,  $\Phi_{\text{PT}} = 0.92$ , Table 3), with very little variation between populations (11% of variation) or within clumps (8%).

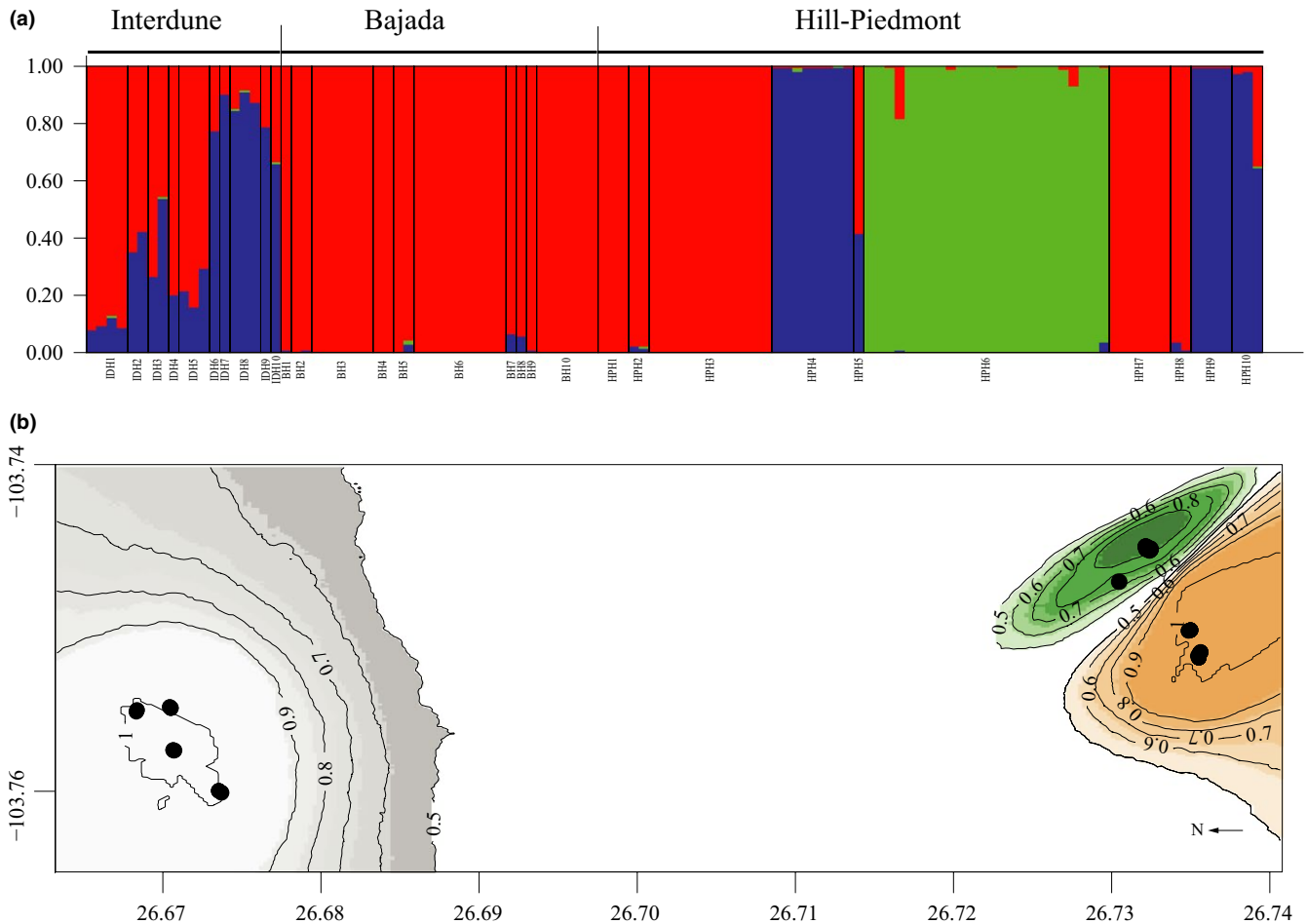
We tested two Bayesian methods of assignment of individuals into genetic clusters: STRUCTURE (Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000b) and GENELAND (Guillot et al., 2005). The same number of clusters ( $K = 3$ ) was chosen in both analysis, but assignment of individuals differed between the two methods. The three clusters predicted by STRUCTURE were represented by individuals from all three populations in different proportions. In BH, the proportion of individuals in cluster one (red cluster in Figure 5a) was 0.99; in the HPH, three genetic clusters were present in similar proportions (red cluster = 0.4, green cluster = 0.37, and blue cluster = 0.23, Figure 5a); and in the IDH genetic clusters, one and three were predominant (red cluster = 0.55 and blue cluster = 0.44, Figure 5a). In the GENELAND analysis, the genetic clusters corresponded closely to the spatial distribution of individuals. All individuals from IDH were assigned to one cluster (white cluster in Figure 5b). All individuals but one (BH1) from BH were assigned to another cluster (tan cluster in Figure 5b), and all individuals from HPH, with the BH1, were assigned to a third cluster (green cluster in Figure 5b).

## 4 | DISCUSSION

Field experiments and molecular genetics were both useful for estimating dispersal of clonal and sexual diaspores for *O. microdasys* and

**TABLE 3** AMOVA analysis (a) excluding the factor clump to compare between populations and (b) including both clumps and populations. % = Percentage of the total genetic variation found in each clump and population

Source	df	Variance	%
(a) Population level			
Among populations	2	5.815	21
Within populations	574	21.941	79
Total	576	27.757	100
(b) All levels			
Among populations	2	2.999	11
Among clumps	27	22.482	81
Within clumps	547	2.136	8
Total	576	27.616	100



**FIGURE 5** Assignment of genotypes of three populations of *Opuntia microdasys* (Bajada, Hill-Piedmont, and Interdune) to genetic clusters based on Bayesian methods. (a) STRUCTURE assignment to  $K = 3$ . (b) GENELAND assignment to  $K = 3$ , with different colors for each cluster and with density probabilities of membership to each cluster indicated by lines

to determine the consequences of dispersal on genotypic diversity for clumps of plants and between populations.

On one hand, because plantlets are easily traceable dispersal units, direct observation of dispersal was plausible for this species and gave us an accurate estimate of short dispersal distances, but the estimates were not accurate for long distances (Bullock et al., 2006; Nathan & Muller-Landau, 2000; Nathan et al., 2003). However, we found other abiotic factors that affected dispersal. For example, microtopography modified the trajectory and distance reached by fruits, at the population with the steepest slope, fruits reached longer distances and produce clumps of plants with intermingled genotypes (HPH). In contrast, in the population with the shallowest slope (IDH), the fruits accumulated near the source and produced monoclonal clumps. Movement of clonal propagules is influenced by gravity and slope (Chambers & MacMahon, 1994). Few fruits moved longer distances (i.e., 100 m), following the same leptokurtic curve proposed for seed dispersal (Nathan & Muller-Landau, 2000; Willson, 1993). Furthermore, during primary dispersal, fruits move on average only 1 m, even under the influence of a slope, a common phenomenon in species dispersed by gravity (Chambers & MacMahon, 1994; Nanami et al., 1999; Pairon et al., 2006). The

influence of orientation, slope angle, and gravity on the formation of clone or seed clumps has been previously quantified (Pairon et al., 2006). For example, *Podocarpus nagi* seeds forms clumps under the canopies of large female trees (Nanami et al., 1999), and 95% of the seeds from *Prunus serotina* fall within 0–5 m of the source (Pairon et al., 2006).

The importance of abiotic factors such as river water flow and the hydrologic regime determines the site of deposition of postrelease propagules of *Betula fontinalis* (Merritt & Wohl, 2002). Short-distance dispersal deposits the propagules where the offspring will establish; Palleiro (2001) commonly found offspring within a 90-cm radius under the crown of *O. microdasys* individuals. We expected that the morphological traits of the fruits should confer higher mobility, but this type of propagule shares some traits with other clonal propagules: They are larger than seeds, have shorter dormancy periods and lack a specialized dispersal mechanism, which usually leads to a clumped distribution (Eckert, 2002). Nonetheless, secondary agents increased the mean dispersal distance reached by fruits. We found evidence of postdispersal of fruits by mammals (painted fruits within the nests of *Neotoma albigula*). The association of fruits with packrat nests and the greater mobility of fruits as the duration of

exposure to secondary vectors increased are evidence of the redistribution of fruits and secondary dispersal. Water streams formed after heavy rain is another vector of secondary dispersal that modifies the distance reached by fruits, water moved fruits 440 m (M. Mandujano, unpublished data). Propagules of species that undergo secondary dispersal are commonly redistributed by a second agent (Bohning-Gaese, Gaese, & Rabemanantsoa, 1999; Griffith & Forseth, 2002), which generally increases the dispersal distance (Nathan & Muller-Landau, 2000). Helsen, Verdyck, Tye, and Van Dongen (2009) suggested that finches carry *Opuntia echios* seeds long distances between different islands in the Galapagos Islands. Another example of bird dispersal of *Opuntia* is found in the Karoo, South Africa (Dean & Milton, 2000); crows (*Corvus capensis*) move seeds of *Opuntia ficus-indica* and may be the most important vector for the range expansion of this *Opuntia* species.

On the other hand, indirect methods that use molecular markers are well developed and are used to evaluate effective dispersals (i.e., dispersal plus establishment events; Cain et al., 2000; Levin, et al., 2003), determine the number and distance of migrants per generation, and the degree of genetic structure and differentiation of populations (Cain et al., 2000; Carrillo-Angeles et al., 2011; Levin et al., 2003; Manel et al., 2005; Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000a). Indirect methods, however, are focused on effective dispersal (Cain et al., 2000) and exclude all the reproductive structures that dispersed but have not established or survived.

Unlike species with linked clonal growth, in which the ramets are spatially clumped (Charpentier, 2002), *O. microdasys* produces unlinked ramets from unripe fruits (clonal propagules) with traits that we had expected to provide greater mobility and, consequently, longer dispersal distances. This kind of pseudo-viviparity is a common phenomenon found in other species of Cactaceae such as *Opuntia* spp. and *Cylindropuntia* spp. (Bravo-Hollis, 1978; Fuentes Pérez, 2008; Negron-Ortiz & Strittmatter, 2004; Nobel, 2002; Palleiro et al., 2006; Piña et al., 2007; Vázquez-Delfín et al., 2005). Therefore, we expected new plantlets to establish away from the parent plant, resulting in intermingled genotypes. Nevertheless, the response was not straightforward, genotypic diversity in some clumps of plants of BH was very low or even completely clonal, while other clumps were genetically diverse (HPH, Table 1). This pattern reflects the high clonal recruitment that occurs in the clumps of this population and corresponds with the amount of clonality reported by Palleiro et al. (2006). The low genotypic diversity found in IDH could reflect the importance of each phase of dispersal in the genetic configuration of the clumps of plants; actually, the short distance reached by fruits during primary dispersal would favor the formation of clumps of ramets from the same genet, and the fruits that dispersed longer distances or to unsuitable habitats (e.g., *Neotoma* nests) apparently failed to establish new offspring. The population with the highest genotypic diversity was HPH, for which slope was the main factor influencing primary dispersal, and HPH was the population with the highest percentage of sexual recruitment (Palleiro et al., 2006).

Most genetic variation occurred within a population or among clumps (AMOVA, Table 3); the highest genetic differences were

found between clumps, and the value of  $\Phi_{PT}$  indicated high to moderate genetic differentiation between the studied populations. This pattern is dissimilar to other clonal species with low values of differentiation among populations as in *Potamogeton pectinatus* in which Abbasi, Afsharzadeh, and Saeidi (2017) found values of  $\Phi_{PT} = 0.11$  and the highest genetic variation located within populations (89%). In a study with *Bromus irtutensis*, a clonal grass, found  $F_{ST}$  values ranged from 0.118 to 0.15% and 87% of the genetic variation within the populations. STRUCTURE analysis assigned some individuals from all three populations to one genetic cluster (Figure 5a); consequently, we could not recognize a characteristic genotypic pattern for each population, and we found that most of the genotypic variability occurred within populations and between clumps, supporting the idea that although the establishment of new ramets occurs mostly in the area under a parent plant, there is migration and genet flow between populations (Porras-Hurtado et al., 2013). Most genotypes were overrepresented, and migration rates of clonal propagules were low, based on a sample of 10 clumps of plants from each population, so this scale allowed us to detect the migration of clonal propagules. Nonetheless, migration rates might in fact be greater than determined here if the sampling strategy had been designed to collect samples of most of the genotypes present in the populations. The assignment of genotypes to genetic clusters in STRUCTURE suggests that migration could play a more significant role than we detected with field experiments; in fact, assignment analysis reveals the actual scope of dispersal abilities of propagules and the effective dispersal (Figures 2 and 5). STRUCTURE identified a predominant cluster for all three populations (Figure 5a, cluster in red), but a blue cluster that was present only in IDH and HPH. In contrast, by adding the spatial location of clumps, GENELAND separated the populations, and just one clump of BH was assigned with all clumps of HPH. The difference between these two analyses could be due to the effect of adding spatial data, as all other factors of organization of this study (i.e., offspring under focal plants, clumps, clumps in quadrants, plots of populations, and populations, Figure 2) were the same.

High migration rates or gene flow either by unripe fruits or seeds could be the reason for the spatial genetic structure; that is, most genetic variation occurred within population and among clumps. In addition, gene flow is also limited by pollen dispersal in *Opuntia microdasys*, based on the behavior of the primary pollinator (Piña et al., 2007), in addition to either clonal or sexual offspring dispersal. Furthermore, other examples of similar migration rates have been shown for very well-structured populations (Gélin et al., 2017; Yu, Han, Tian, & Liu, 2011) or for small, isolated populations (Kim & Chung, 1995). An extreme example was found in *Opuntia echios* on the Galapagos Islands, in which no clonal individuals were found in a sample of 444 individuals collected in 22 localities (Helsen, Verdyck, & Van Dongen, 2011). The scale at which levels of variation were observed and the offspring recruitment reported (Palleiro et al., 2006) are evidence indicating a pattern of repeated seedling recruitment (Eriksson, 1992) at the population level, but with clonal recruitment playing an important role at a more local scale (clumps and genet survival).

Although *O. microdasys* was able to recruit using the three possible pathways in all the studied populations, the percentage of recruitment of each type of offspring differed in each population (Palleiro et al., 2006). This pattern is a clear indicator not only of the capacity of the species to produce clonal propagules and sexual diaspores in a variety of habitats, but also of the ecological conditions that limit the sites where each type of dispersal unit was more successful at establishment and the needs of dispersal units to arrive at these safe sites. The clonal propagules and sexual diaspores must be dispersed to reach these sites (Hroudova & Krahulcova, 1996; Nathan & Muller-Landau, 2000), and the nature of that dispersal determines the pattern of recruitment and distribution of the genetic and genotypic variation in the neighborhood and population. The reproductive strategy of *O. microdasys*, maintaining clonal genotypes that can exploit favorable sites in limiting habitats for long periods, often results in monoclonal patches (Gélin et al., 2017; van Groenendael, Klimes, Klimesova, Hendriks, & Van Groenendael, 1996), as occurred in the BH and IDH habitats. However, this strategy incurs a cost by increasing the levels of geitonogamy and limiting the pollen flow between different genotypes (Charpentier, 2002; Zhang & Zhang, 2007). Such pollen limitation has been studied in *Maianthemum bifolium*, a clonal self-incompatible species, for which fruit set is affected in populations with a low level of genotypic diversity (Honnay, Jacquemyn, Roldán-Ruiz, & Hermy, 2006). In a self-incompatible species such as *O. microdasys* (Piña et al., 2007), in which the offspring frequently establish under the parent plant (Palleiro et al., 2006), the aggregation of ramets necessarily leads to some level of geitonogamy (Charpentier, 2002; Zhang & Zhang, 2007), mainly when there is a spatial autocorrelation of genets over short distances (<20 m; Nathan et al., 2003). It is expected that geitonogamy acts as a positive feedback mechanism that favors sexual failure, abortion, and clonality, which thus increase geitonogamy.

The combination of ecological field experiments with molecular genetics experiments allowed us to assess dispersal in a complex system with species with different structures of dispersal and with many levels of organization. Our results suggest that the genetic structure of clumps of plants in part is due to the limited mobility of clonal propagules, bounded by primary dispersal and environmental restrictions for their establishment. This dispersal process leads to an unequal distribution of dispersal unit types at each population (with limited dispersal of clonal propagules and more long-distance dispersal of sexual diaspores), generating monoclonal and intermingled clumps, but with a level of migration over longer distances that allowed some differentiation among populations.

## ACKNOWLEDGMENTS

Financial support was received from projects CONACyT 221362, UNAM-PAPIIT IN 207411, and a sabbatical research grant from the program PASPA-DGAPA, UNAM, at NMSU to MCM. JG received financial support from CONACyT during a sabbatical leave at NMSU. Logistical support was provided by Mariana Rojas Arechiga (IE, UNAM),

Francisco Herrera, Adalberto Herrera, and Agustina Rojas (Mapimi Biosphere Reserve, Ejido la Flor); CONANP, Lab. del Desierto, INECOL, A. C., and Claudia Aguilera granted access to Rancho San Ignacio. J. Verhulst, J. Hidalgo, L. Guerrero, V. Zepeda, and T. Garrido helped with fieldwork. M. Suarez is thanked for his support with STRUCTURE and GENELAND analyses. This paper is in partial fulfillment of the doctoral degree of Erick García-Morales in the program “Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México” (UNAM). The National Council of Science and Technology (CONACyT) provided a scholarship to EGM. We thank P. Vinuesa, B. Milligan, and two anonymous reviewers for comments on the manuscript and Dr. B. E. Hazen for English editing.

## CONFLICT OF INTEREST

None declared.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

All authors contributed with planning, designing, analyzing, and writing of the manuscript. The study is part of the PhD project of GME and is included within a long-term project of population biology of *Opuntia* spp. of MCM. Other details: EGM; Israel Carrillo-Angeles (ICA); MCM; and Jordan Golubov did the field work. EGM, ICA, and MCM performed the molecular experiments. MCM and Daniel Piñero edited the MS as advisors and provided financial and laboratory facilities to carry out molecular experiments.

## DATA ACCESSIBILITY

Data of sampling locations, ID of each plant and population, ISSR genotype of each individual, and UTM locations of each sampled genotype will be available in the Dryad Digital Repository.

## ORCID

Maria C. Mandujano  <http://orcid.org/0000-0001-9855-6645>

## REFERENCES

- Abbasi, S., Afsharzadeh, S., & Saeidi, H. (2017). Genetic diversity of *Potamogeton pectinatus* L. in Iran as revealed by ISSR markers. *Acta Botanica Croatica*, 76(2), 177–182.
- Alberto, F., Gouveia, L., Arnaud-Haond, S., Perez-Llorens, J. L., Duarte, C. M., & Serrao, E. A. (2005). Within-population spatial genetic structure, neighbourhood size and clonal subrange in the seagrass *Cymodocea nodosa*. *Molecular Ecology*, 14(9), 2669–2681.
- Arizaga, S., & Ezcurra, E. (2002). Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid-land succulent rosette. *American Journal of Botany*, 89(4), 632–641.
- Barrett, S. C. H. (2015). Influences of clonality on plant sexual reproduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(29), 8859–8866.
- Bobich, E. G., & Nobel, P. S. (2001). Vegetative reproduction as related to biomechanics, morphology and anatomy of four cholla cactus species in the Sonoran Desert. *Annals of Botany*, 87(4), 485–493.

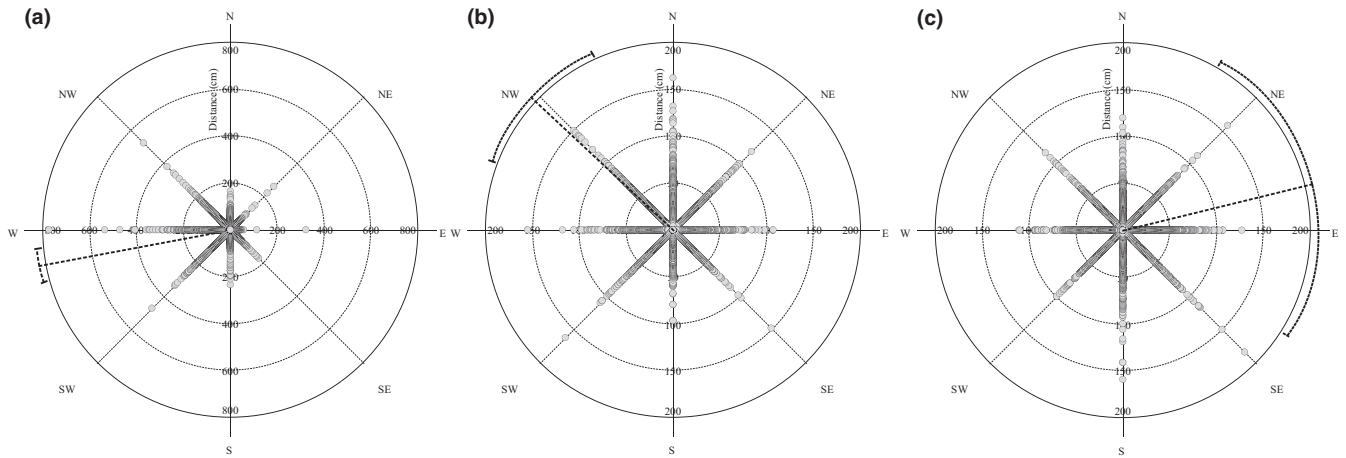
- Bohning-Gaese, K., Gaese, B. H., & Rabemanantsoa, S. B. (1999). Importance of primary and secondary seed dispersal in the malagasy tree *Commiphora guillauminii*. *Ecology*, 80(3), 821–832.
- Bonin, A., Ehrich, D., & Manel, S. (2007). Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: A toolbox for molecular ecologists and evolutionists. *Molecular Ecology*, 16(18), 3737–3758.
- Bornet, B., & Branchard, M. (2001). Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19(3), 209–215.
- Bravo-Hollis, H. (1978). *Las Cactáceas de México* (p. 743). México City, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bullock, J., Shea, K., & Skarpaas, O. (2006). Measuring plant dispersal: An introduction to field methods and experimental design. *Plant Ecology*, 186(2), 217–234.
- Cain, M. L., Milligan, B. G., & Strand, A. E. (2000). Long-distance seed dispersal in plant populations. *American Journal of Botany*, 87(9), 1217–1227.
- Carrillo Angeles, I. G., Golubov, J., Milligan, B. G., & Mandujano, M. C. (2011). Spatial distribution pattern of a clonal species: Effects of differential production of clonal and sexual offspring. *Evolutionary Ecology*, 25(6), 1357–1383.
- Carrillo-Angeles, I., Mandujano, M., & Golubov, J. (2011). Influences of the genetic neighborhood on ramet reproductive success in a clonal desert cactus. *Population Ecology*, 53(3), 449–458.
- Chambers, J. C., & MacMahon, J. A. (1994). A day in the life of a seed: Movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 25(1), 263–292.
- Charpentier, A. (2002). Consequences of clonal growth for plant mating. *Evolutionary Ecology*, 15, 521–530.
- Dean, W. R., & Milton, S. (2000). Directed dispersal of *Opuntia* species in the Karoo, South Africa: Are crows the responsible agents? *Journal of Arid Environments*, 45(4), 305–314.
- Dorken, M. E., & Eckert, C. G. (2001). Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Journal of Ecology*, 89(3), 339–350.
- Douhovnikoff, V., & Dodd, R. S. (2003). Intra-clonal variation and a similarity threshold for identification of clones: Application to *Salix exigua* using AFLP molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(7), 1307–1315.
- Douhovnikoff, V., McBride, J. R., & Dodd, R. S. (2005). *Salix exigua* clonal growth and population dynamics in relation to disturbance regime variation. *Ecology*. *Ecological Society of America*, 86(2), 446–452.
- Earl, D. A., & vonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359–361.
- Eckert, C. G. (2002). The loss of sex in clonal plants. *Evolutionary Ecology*, 15, 501–520.
- Ellstrand, N. C., & Roose, M. L. (1987). Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany*, 74(1), 123–131.
- Elmqvist, T., & Cox, P. A. (1996). The evolution of vivipary in flowering plants. *Oikos*, 77(1), 3–9.
- Eriksson, O. (1992). Evolution of seed dispersal and recruitment in clonal plants. *Oikos*, 63(3), 439–448.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611–2620.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479–491.
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567–1587.
- Fisher, N. I. (1996). *Statistical analysis of circular Data* (p. 296). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Fuentes Pérez, M. (2008). Estudio comparativo de la anatomía floral en Opuntioideae K. Schum. (Cactaceae).
- Gélin, P., Fauvelot, C., Mehn, V., Bureau, S., Rouze, H., & Magalo, H. (2017). Superclone expansion, long-distance clonal dispersal and local genetic structuring in the coral *Pocillopora damicornis* type  $\beta$  in Reunion Island, South Western Indian Ocean. *PLoS ONE*, 12(1), 1–19.
- Geng, Q., Lian, C., Goto, S., Tao, J., Kimura, M., Islam, M. S., & Hogetsu, T. (2008). Mating system, pollen and propagule dispersal, and spatial genetic structure in a high-density population of the mangrove tree *Kandelia candel*. *Molecular Ecology*, 17(21), 4724–4739.
- Griffith, A. B., & Forseth, I. N. (2002). Primary and secondary seed dispersal of a rare, tidal wetland annual, *Aeschynomene virginica*. *Wetlands*, 22(4), 696–704.
- van Groenendael, J. M., Klimes, L., Klimesova, J., Hendriks, R. J. J., & Van Groenendael, J. M. (1996). Comparative ecology of clonal plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 351(1345), 1331–1339.
- Guillot, G., Estoup, A., Mortier, F., & Cosson, J. F. (2005). A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*, 170(3), 1261–1280.
- Helsen, P., Verdyck, P., Tye, A., & Van Dongen, S. (2009). Low levels of genetic differentiation between *Opuntia echios* varieties on Santa Cruz (Galapagos). *Plant Systematics and Evolution*, 279(1–4), 1–10.
- Helsen, P., Verdyck, P., & Van Dongen, S. (2011). The influence of historical geneflow, bathymetry and distribution patterns on the population genetics of morphologically diverse Galápagos' *Opuntia echios*. *Journal of Molecular Evolution*, 72(3), 315–325.
- 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(1), 21–30.
- Hroudova, Z., & Krahulcova, A. (1996). The biology of *Butomus umbellatus* in shallow waters with fluctuating water level. *Hydrobiologia*, 340, 27–30.
- Kim, S. T., & Chung, M. G. (1995). Genetic and clonal structure in Korean populations of *Calystegia japonica* (Convolvulaceae). *Botanical Bulletin- Academia Sinica*, 36(3), 135–141.
- Klímeš, L., Klímešová, J., Hendriks, R., & van Groenendael, J. (1997). Clonal plant architecture: A comparative analysis of form and function. In H. de Kroon, & J. Van Groenendael (Eds.), *The ecology and evolution of clonal plants* (pp. 1–29). Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers.
- Klímešová, J., & Klímeš, L. (2008). Clonal growth diversity and bud banks of plants in the Czech flora: An evaluation using the CLO-PLA3 database. *Preslia*, 80(3), 255–275.
- Kovach, W. L. (2011). *Oriana. Oriana – circular statistics for windows, ver. 4*. Pentraeth, Wales, UK: Kovach Computing Services.
- Kutner, M. H., Nachtsheim, C. J., Neter, J., & Li, W. (1996). *Applied linear statistical models* (4th ed., 1408 p). Boston, MA: McGraw-Hill.
- Levin, S. A., Muller-Landau, H. C., Nathan, R., & Chave, J. (2003). The ecology and evolution of seed dispersal: A theoretical perspective. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 34(2003), 575–604.
- Lynch, M., & Milligan, B. G. (1994). Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3(2), 91–99.
- Mandujano, M. C. (2007). La clonalidad y sus efectos en la biología de población es. In L. E. Eguiarte, V. Souza & X. Aguirre (Eds.), *Ecología molecular* (pp. 215–250). México City, México: SEMARNAT, INE, UNAM, CONABIO.
- Manel, S., Gaggiotti, O. E., & Waples, R. S. (2005). Assignment methods: Matching biological questions with appropriate techniques. *Trends in Ecology and Evolution*, 20(3), 136–142.
- Marco, D. E., Montemurro, M. A., & Cannas, S. A. (2011). Comparing short and long-distance dispersal: Modelling and field case studies. *Ecography (Cop)*, 34(4), 671–682.

- Meirmans, P. G., & Van Tienderen, P. H. (2004). GENOTYPE and GENODIVE: Two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, 4(4), 792–794.
- Merritt, D. M., & Wohl, E. E. (2002). Processes governing hydrochory along rivers: Hydraulics, hydrology, and dispersal phenology. *Ecological Applications*, 12(4), 1071–1087.
- Montaña, C. (1990). A floristic-structural gradient related to land forms in the southern Chihuahuan Desert. *Journal of Vegetation Science*, 1(5), 669–674.
- Nanami, S., Kawaguchi, H., & Yamakura, T. (1999). Dioecy-induced spatial patterns of two codominant tree species, *Podocarpus nagi* and *Neolitsea aciculata*. *Journal of Ecology*, 87(4), 678–687.
- Nathan, R., & Muller-Landau, H. C. (2000). Spatial patterns of seed dispersal, their determinants and consequences for recruitment. *Trends in Ecology and Evolution*, 15(7), 278–285.
- Nathan, R., Perry, G., Cronin, J. T., Strand, A. E., & Cain, M. L. (2003). Methods for estimating long-distance dispersal. *Oikos*, 103(2), 261–273.
- Negron-Ortiz, V., & Strittmatter, L. I. (2004). Embryology of floral dimorphism and gender system in *Consolea corallicola* (Cactaceae), a rare species of the Florida keys. *Haseltonia*, 10, 16–25.
- Nobel, P. S. (2002). *Cacti: Biology and uses* (280 p). Berkeley, CA, USA: University of California Press.
- Nybom, H. (2004). Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology*, 13(5), 1143–1155.
- Oddou-Muratorio, S., Klein, E. K., Vendramin, G. G., & Fady, B. (2011). Spatial vs. temporal effects on demographic and genetic structures: The roles of dispersal, masting and differential mortality on patterns of recruitment in *Fagus sylvatica*. *Molecular Ecology* Blackwell Publishing Ltd; 20(9), 1997–2010.
- Ortega-Baes, P., & Gorostiague, P. (2013). Extremely reduced sexual reproduction in the clonal cactus *Echinopsis thelegona*. *Plant Systematics and Evolution*, 299(4), 785–791.
- Pairon, M., Jonard, M., & Jacquemart, A.-L. (2006). Modeling seed dispersal of black cherry, an invasive forest tree: How microsatellites may help? *Canadian Journal of Forest Research*, 36(November 2015), 1385–1394.
- Palleiro, N. (2001). *Propagación vegetativa a través de frutos abortados de Opuntia microdasys* (Lehmann) Pfeiffer, en el desierto de chihuahense. Facultad de Ciencias. México City, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Palleiro, N., Mandujano, M. C., & Golubov, J. (2006). Aborted fruits of *Opuntia microdasys* (Cactaceae): Insurance against reproductive failure. *American Journal of Botany*, 93(4), 505–511.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 288–295.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenALEX 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539.
- Piña, H. H., Montaña, C., & del Mandujano, M. C. (2007). Fruit abortion in the Chihuahuan-Desert endemic cactus *Opuntia microdasys*. *Plant Ecology*, 193(2), 305–313.
- Plasencia-López, L. M. T. (2008). *Diversidad clonal y cruas óptimas en Opuntia rastrera WEBER (Cactaceae)*. Maestría en Ciencias Biológicas. México City, México: Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología.
- Porrás-Hurtado, L., Ruiz, Y., Santos, C., Phillips, C., Carracedo, Á., & Lareu, M. V. (2013). An overview of STRUCTURE: Applications, parameter settings, and supporting software. *Frontiers in Genetics*, 4, 1–13.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000a). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945–959.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000b). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959.
- Ronce, O. (2007). How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 38(1), 231–253.
- Sydes, M. A., & Peakall, R. O. D. (1998). Extensive clonality in the endangered shrub *Haloragadendron lucasii* (Haloragaceae) revealed by allozymes and RAPDs. *Molecular Ecology*, 7(1), 87–93.
- Vázquez-Delfín, E. F., Sánchez-Serrano, S. L., & Martorell – Delgado, C. (2005). La producción de frutos prolíficos en *Cylindropuntia leptocaulis* (Cactaceae) como una alternativa ante el fracaso de la reproducción sexual. *Bol. Soc. Bot. México*, 76, 79–81.
- Willson, M. F. (1993). Dispersal mode, seed shadow, and colonization patterns. *Vegetatio*, 107–108, 261–280.
- Winkler, E., & Fischer, M. (2002). The role of vegetative spread and seed dispersal for optimal life histories of clonal plants: A simulation study. *Evolutionary Ecology*, 4, 281–301.
- Yu, T., Han, B., Tian, Q., & Liu, A. (2011). Genetic variation and clonal diversity of *Bromus ircutensis* Kom. in the Otingdag sandy land detected by ISSR markers. *Russian Journal of Genetics (Translation of Genetika (Moscow, Russian Federation))*, 47(6), 703–710.
- Zhang, Y., & Zhang, D. (2007). Asexual and sexual reproductive strategies in clonal plants. *Frontiers in Biology China*, 2(3), 256–262.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176–183.

**How to cite this article:** García-Morales E, Carrillo-Ángeles IG, Golubov J, Piñero D, Mandujano MC. Influence of fruit dispersal on genotypic diversity and migration rates of a clonal cactus from the Chihuahuan Desert. *Ecol Evol*. 2018;8:12559–12575. <https://doi.org/10.1002/ece3.4657>

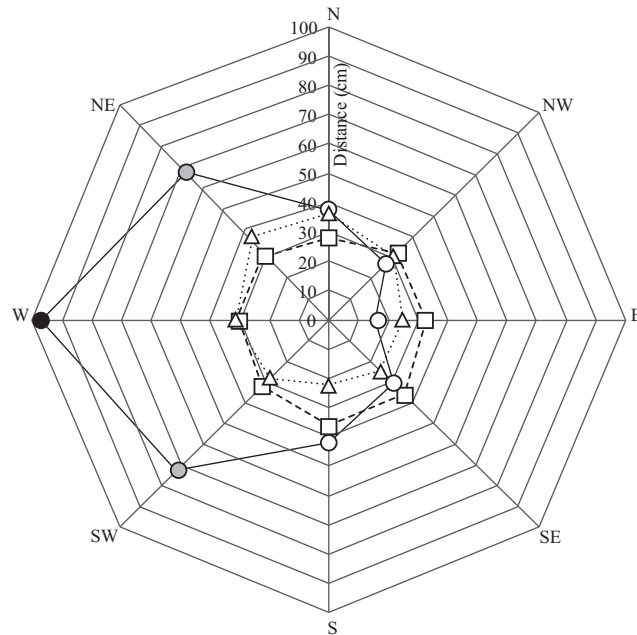


## APPENDIX 1



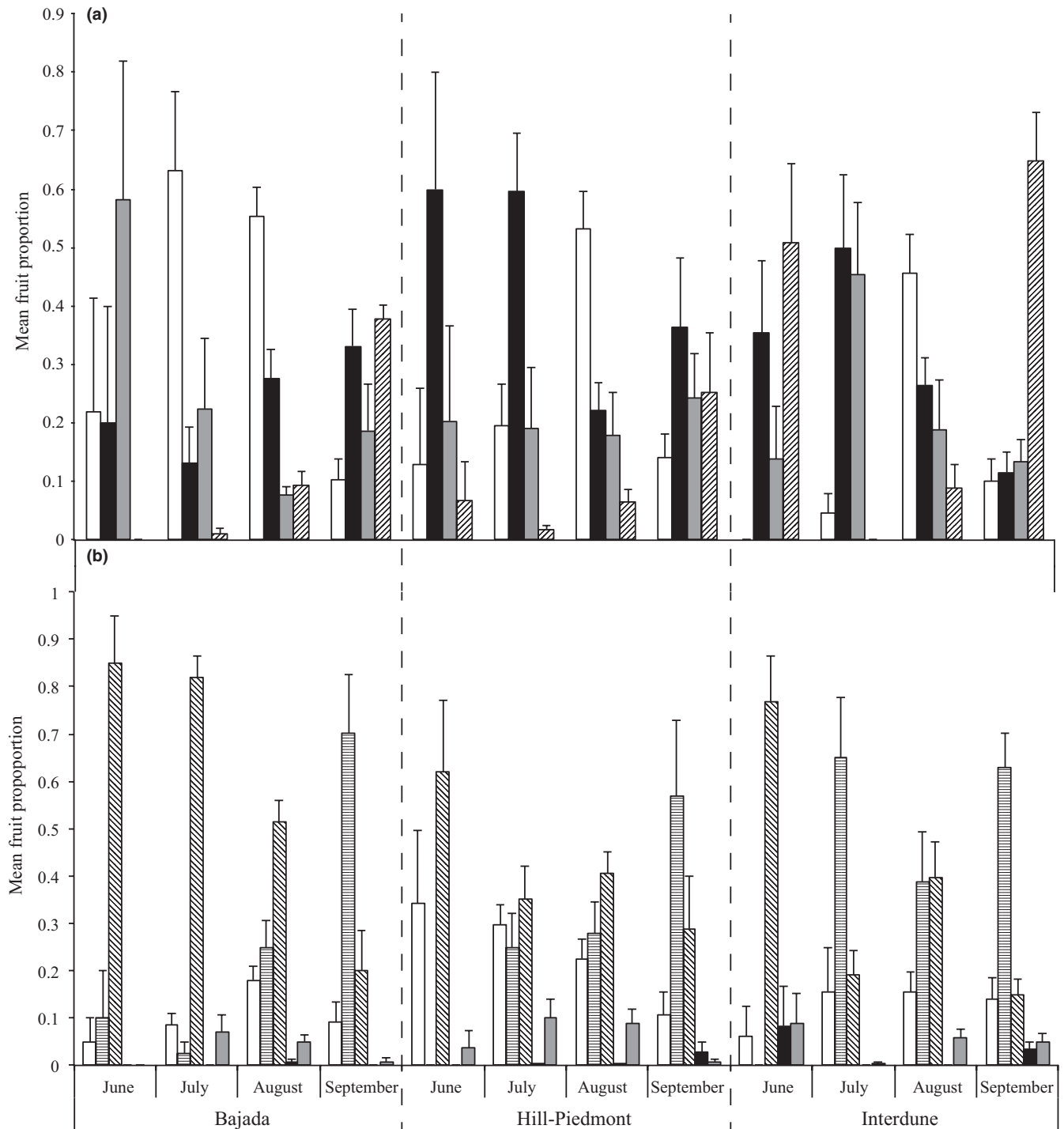
**FIGURE A1** Scatterplot of fruits of *Opuntia microdasys* that fell on cardinal and intercardinal quadrants and distances traveled by fruits around a focal plant at each population: (a) Hill-Piedmont, (b) Bajada, and (c) Interdune. Dotted line is the mean direction angle ( $\mu$ ) and circular standard deviation ( $SD$ )

## APPENDIX 2



**FIGURE A2** *Opuntia microdasys* mean fruit dispersal distance (cm) at eight cardinal and intercardinal quadrants. Symbol shading indicates when more (black), fewer (gray), or the same (white) number of fruits fell into quadrants than expected by chance. Population key:  $\blacktriangle$  = Bajada, BH,  $\circ$  = Hill-Piedmont, HPH, and  $\square$  = Interdune, IDH

## APPENDIX 3



**FIGURE A3** Mean proportion ( $\pm$ SE) of fallen fruits of *Opuntia microdasys* over time grouped by population: (a) type of fruit found (white = ripe, black = unripe, gray = aborted, hatched = partial fruit). (b) Final fates of fallen fruits over time grouped by population during the track/mark experiment of fruit dispersal (white bars = exposed in bare areas; horizontal hatched bars = lost; diagonal hatched bars = under crown of mother plant; black bars = *Neotoma albigula* nest; gray bars = other plants)

## CAPÍTULO 2

### *Desempeño de tres tipos de reclutas de *Opuntia microdasys* en un experimento de jardín común*

Erick García-Morales<sup>1</sup>, Jordan Golubov<sup>2</sup>, Mariana Rojas Arechiga<sup>1</sup> y María C. Mandujano<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Genética y Ecología, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-275 Ciudad Universitaria UNAM, C.P. 04510 México, D.F.

<sup>2</sup> Laboratorio de Ecología, Sistemática y Fisiología Vegetal. Departamento El Hombre y Su Ambiente-CBS-Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, 04960, México, D. F., México.

\* Corresponding author: María C. Mandujano

E-mail address: mmandu@ecologia.unam.mx; mmandujano@gmail.com

Phone 52 55 5622 90 33

Fax 52 55 5616 19 76

Palabras clave: reclutamiento clonal, reclutamiento sexual, experimento de jardín común, cactus, variación en la reproducción.

El siguiente capítulo se pretende publicar en la revista: “American Journal of Arid Environments”

## RESUMEN

La reproducción clonal es una característica de las especies vegetales que les confiere la capacidad de reclutar nuevos individuos fisiológicamente independientes, con altas probabilidades de supervivencia debido a su origen vegetativo y su tamaño. Los vástagos clonales tienden a permanecer cerca de la planta madre, aunque en algunos casos también pueden establecerse en nuevos ambientes y ampliar el rango de distribución de un genotipo ya probado. Por su parte las semillas de origen sexual suelen tener una alta capacidad de dispersión, pero también una baja tasa de reclutamiento debido a las restrictivas condiciones que requieren para su germinación y la alta depredación. Por lo tanto, en plantas podemos tener dos tipos de reclutamiento que varían en sus requerimientos para reclutar nuevos individuos y en sus capacidades de dispersión. Este escenario puede ocasionar que las poblaciones de una especie se establezcan en una gran cantidad de sitios bajo condiciones ambientales contrastantes, que pueden no ser igualmente favorables para el establecimiento de las distintas formas de reproducción con que cuenta la especie. Si el ambiente en el que se encuentra cada población es constante en el tiempo, entonces las presiones de selección ocasionarán que aumenten las probabilidades de cada forma de reproducción o el éxito de cada tipo de vástago en los ambientes en los que encuentren condiciones favorables para su establecimiento. De esta manera la forma de reproducción puede variar entre las poblaciones y asociarse al ambiente en el que se encuentra.

*Opuntia microdasys* es un cactus clonal con tres formas de reclutamiento y que varían en tres poblaciones distintas en la zona semiárida de la Reserva de la Biosfera de Mapimí. Para conocer la capacidad de respuesta y cualidades de las distintas unidades de propagación que se producen en cada población se realizaron experimentos de jardín común con cada una de ellas. A partir de estos experimentos se encontró que los individuos clonales originados a partir de frutos abortados, conocidos como *plantlets*, tienen una mayor supervivencia y tamaño en la población del hábitat de Bajada. La otra unidad de propagación clonal de la especie son los *ramets* originados vía los cladodios que se desprenden de las plantas adultas; esta unidad de propagación mostró que la producción de nuevos cladodios es el evento que más diferencia a los cladodios de la población de Interdunas. Por último, se probó la capacidad de germinación de las semillas (la unidad de propagación sexual de la especie) producidas en las tres poblaciones y bajo condiciones de luz distintas. Las semillas

que estuvieron en el tratamiento de sombra tuvieron mayores probabilidades de germinación que las que estuvieron expuestas directamente a la luz. Las semillas procedentes de la población de Ladera-pie de monte fueron las que presentaron mayores porcentajes de germinación, tasas más rápidas de emergencia de cotiledón y de formación de su primer cladodio. Estos resultados concuerdan con los porcentajes de reclutamiento de cada forma de reproducción previamente encontrados en las poblaciones naturales, por lo tanto, podemos confirmar que, si hay diferenciación ecotípica de cada tipo de unidad de propagación entre las distintas poblaciones, posiblemente una adaptación local generada por presiones de selección ambiental en las poblaciones.

## ABSTRACT

Clonal reproduction is characteristic of plants species and confers the capacity to recruit new physiologically independent individuals with high survival probabilities. Clonal individuals tend to remain close to the mother plant, although some individuals can become established in new microsites and expand the distribution range of the genotype. Sexually originated seeds often have high capacities of dispersal, but also have low rates of recruitment, due to their requirements for germination. In clonal plants, we can observe two ways of recruitment that differ in their establishment probabilities and in their dispersal capacities. Under this scenario, clonal species can establish new populations under contrasting environments, which may not offer the appropriate conditions for the establishment of all ways of reproduction. If adequate environmental conditions persist over time for the successful establishment, selection pressures will cause an increase in the probabilities of recruitment for each form of propagation. In this way, the recruitment way could vary among populations and be related with an environment. *Opuntia microdasys* is a clonal cactus with three forms of recruitment that vary in three different populations in the semiarid zone of the Mapimi Biosphere Reserve. To test the response capacities based on the properties of the different recruitment units from each population, we made common garden experiments, we found that the individuals recruit from unripe fruits, and known as *plantlet*, have high survival probabilities and a greater size when they come from the population of Bajada habitat. The other studied unit of clonal propagation was the *ramet*, which are established from cladodes that are dropped from adult plants. The cladodes from Interdunes population are the recruitment unit that produced more new cladodes. The third recruitment unit studied was the seed (the unit of sexual propagation in the species). Here we tested the population of origin and the germination response under two light conditions. Seeds under shadow showed higher probabilities of germination than seeds exposed under direct light. Seeds from Hill-piedmont population had the highest germination probabilities, higher rates of cotyledon emergence and production of their first cladode. Results found with these experiments are in accordance with the recruitment patterns already found for the same population studied. We sustained that there is an ecotypic differentiation on survival and establishment of recruitment units in each population, probably selected by different environmental conditions.

## INTRODUCCIÓN

La reproducción clonal es un fenómeno muy común en plantas (Barrett, 2015; Klimeš *et al.*, 1997). Debido a que los procesos que dan origen a cada forma de reproducción son diferentes, también lo son sus consecuencias ecológicas, genéticas y evolutivas (Eriksson, 1997; McLellan *et al.*, 1997; Price y Marshall, 1999; Richards, 2003; Silvertown, 2008). En plantas existen varios procesos de reproducción clonal, sin embargo a partir de la propagación vegetativa y la pseudovivíparidad se producen estructuras especializadas en la formación de nuevos individuos (Pan y Price, 2001; Richards, 2003; van Groenendael *et al.*, 1996) llamadas propágulos (Bengtsson y Ceplitis, 2000).

La propagación vegetativa es la vía más común (Klimeš *et al.*, 1997) y ocurre a partir del crecimiento reiterado de estructuras vegetativas (módulos). La pseudovivíparidad (T Elmqvist y Cox, 1996) sucede a partir de estructuras sexuales abortadas y/o reemplazadas por estructuras asexuales; ejemplo de ello son las semillas producidas por apomixis y la formación de propágulos vegetativos tales como bulbilos o plantlets (Chiurugwi *et al.* 2011; Elmqvist & Cox 1996). Ambas formas de reproducción se originan de estructuras especializadas, pero en el caso de la pseudovivíparidad las estructuras sexuales que no logran la maduración tienen una “segunda oportunidad” de reclutar individuos por una vía clonal; lo cual parece ser una ventaja ya que se reutilizan recursos.

En general los propágulos clonales presentan una serie de cualidades derivadas de su forma de desarrollo que les permite aumentar sus probabilidades de establecimiento y supervivencia sobre las semillas y las plántulas (Arizaga y Ezcurra, 2002; Pan y Price, 2001; Ronsheim, 1996; Winkler y Fischer, 2002): a) se originan a partir de estructuras preexistentes (Arizaga y Ezcurra, 2002; Grace, 1993); b) se desarrollan en las plantas madre (Grace, 1993); c) son liberados en un estado avanzado de desarrollo (F. F. Coelho, Capelo, Neves, Martins, & Figueira, 2006), inclusive cuando su morfología es similar a una planta adulta (Lee y Harmer, 1980; Silvertown, 2008); d) pueden acumular una mayor cantidad de nutrientes durante su formación (Harmer y Lee, 1978; Miao *et al.*, 1998; Pan y Price, 2001; Ronsheim, 1996; Schmid y Weiner, 1993); e) tienen un crecimiento más rápido una vez que se han establecido (Coelho *et al.*, 2006; Lee y Harmer, 1980); y f) alcanzan su etapa reproductiva en menos tiempo (Bengtsson y Ceplitis, 2000; Rautiainen *et al.*, 2004; Schmid y Weiner, 1993). Debido a estas ventajas se ha propuesto que la

reproducción clonal es una adaptación a ambientes estresantes o limitantes (Eriksson, 1992; Honnay y Bossuyt, 2005; Klimešová y Doležal, 2011; W. S. Liu *et al.*, 2009; Steiner *et al.*, 2012).

Las cualidades de los propágulos vegetativos pueden representar una ventaja dependiendo del ambiente en el que se presente (Coelho *et al.*, 2007; Eckert, 2002; Klimešová y Doležal, 2011; van Kleunen *et al.*, 2000), por lo que en especies con la capacidad de reproducirse de ambas formas y que habitan en distintos tipos de hábitats puede variar la forma de reproducción presente o predominante. En estos casos podemos encontrar poblaciones en la que ocurre simultáneamente la reproducción sexual y la clonal (Arizaga y Ezcurra, 2002; Miao *et al.*, 1998), hasta los casos en donde alguna de las dos formas de reproducción puede presentarse con mayor frecuencia, pudiendo llegar a observar poblaciones en donde solo ocurre una forma de reproducción (Dorken y Eckert, 2001; Moody *et al.*, 1999).

Cuando la reproducción sexual y clonal ocurren simultáneamente en una especie que se distribuye en diferentes hábitats habrá disyuntivas en la asignación de recursos como respuesta a las condiciones locales (Abrahamson, 1975; F. Liu *et al.*, 2009; Rautiainen *et al.*, 2004; Van Drunen y Dorken, 2012). Los efectos de tales disyuntivas determinan el número y/o cualidades de los propágulos que se producen de cada tipo de reproducción en cada uno de los ambientes (Grace, 1993). El resultado de una dinámica de este tipo puede ser la especialización de las poblaciones a un tipo de reproducción particular (Barrett, 2015; Dorken y Eckert, 2001; Vallejo-Marín *et al.*, 2010), pudiendo llevar a la pérdida total de algunas de las formas de reproducción en un ambiente particular (F. F. Coelho *et al.*, 2006; Piquot *et al.*, 1998). Klimeš *et al.* (1997) plantean que es necesario elucidar si existe una relación entre la distribución de las formas de reproducción y los tipos de ambientes en los que se encuentran, para entender si la reproducción clonal es una adaptación ecológica a los hábitats particulares.

En la Reserva de la Biosfera de Mapimí, *Opuntia microdasys* establece poblaciones en tres hábitats distintos en los que se reproduce de forma sexual, por propagación vegetativa y por pseudovivíparidad. Para cada una de estas formas de reproducción se ha medido un porcentaje de reclutamiento más alto en alguna de las poblaciones (Palleiro *et al.*, 2006); por lo tanto el tipo de reclutamiento no es homogéneo entre las poblaciones, lo



que nos hace pensar que las condiciones de cada hábitat favorecen el establecimiento de alguno de los propágulos en particular y lo que llevaría a una producción de propágulos más adaptados a las condiciones de cada hábitat. En este trabajo abordamos el estudio de las tres formas de reproducción de *O. microdasys* que se producen en cada una de las poblaciones para comparar su capacidad de respuesta al ambiente a partir de sus atributos demográficos, por medio de experimentos de jardín común. Adicionalmente, en las semillas probamos la capacidad de germinación bajo condiciones de luz directa y sombra para conocer si es necesario la protección de una nodriza para el establecimiento de las plántulas.

## MÉTODOS

### **Especie de estudio**

*Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff., nopal cegador, es una especie de cactus clonalfacultativo y autoincompatible (Hugo Piña *et al.*, 2007). Esta especie forma arbustos de hasta un 1 m de altura a partir del crecimiento reiterado de tallos modificados llamados cladodios que son ovalados y aplanados ventralmente, de color verde, su superficie está cubierta por areolas que carecen de espinas y están rodeadas por una gran cantidad de gloquidias o aguates color café-rojizo o amarillas (Bravo-Hollis, 1978). Los segmentos del perianto de las flores son de color amarillo a naranja, el ovario es ínfero y está rodeado por un pericarpelo (tallo modificado) con superficie idéntica a la de los cladodios; el periodo de floración es entre abril y mayo. Los frutos son globosos y carnosos, el pericarpelo que rodea al ovario se mantiene de color verde mientras el fruto se encuentra inmaduro y cambia a color rojizo cuando ya ha madurado y contiene semillas; el periodo de fructificación es entre junio y agosto (Bravo-Hollis, 1978).

*O. microdasys* es capaz de reproducirse sexual y clonalmente a partir de tres estructuras distintas; de aquí en adelante estas estructuras se nombrarán propágulos debido a que son la fase del ciclo de vida a partir de la cual se originan nuevos individuos (Bengtsson y Cepatitis, 2000). Las semillas de origen sexual, se producen estrictamente por fecundación cruzada debido a que la especie tiene un sistema de autoincompatibilidad (Hugo Piña *et al.*, 2007), y a partir de ellas se reclutan plántulas (Figura 1a). Las otras dos formas de reclutamiento en las poblaciones de *O. microdasys* son clonales. Como se

mencionó anteriormente, esta especie crece por la acumulación sucesiva de cladodios, cuando se desprenden de la planta puede establecerse como un nuevo individuo y da origen a un *ramet* independiente (Figura 1b); por lo tanto, los cladodios son un tipo de propágulo clonal. La otra forma de clonalidad ocurre a partir de los frutos que son abortados en fases inmaduras, no contienen semillas, mantienen el pericarpelo de color verde y caen al piso en donde, al igual que los cladodios, son capaces de establecerse como *ramets* independientes; debido a que estos *ramets* provienen de una estructura sexual (abortada) se describen como una forma de pseudovivíparidad y se denominan plantlets (Figura 1c) (Thomas Elmqvist y Cox, 1996).

*Opuntia microdasys* es endémica del Desierto Chihuahuense (Bravo-Hollis, 1978) y en la Reserva de la Biosfera de Mapimí (RBM) forman tres poblaciones muy conspicuas en tres tipos de hábitats que representan tres tipos de unidades paisajísticas distintas asociadas a distintos tipos de vegetación (Montaña, 1998). Dos de estos hábitats son contiguos y se localizan en el cerro San Ignacio: Bajada (BJD) y Ladera-pie de monte (LPM) y el tercer tipo de hábitat se localiza en la zona de Interdunas (IND) a seis kilómetros del cerro San Ignacio. En un estudio previo Palleiro *et al.* (2006) encuentran una asociación entre el tipo de hábitat en el que se establece la población y el porcentaje de reclutamiento de cada uno de los tipos de propágulos. En sus observaciones, los autores determinaron que en la población de LPM las semillas presentan su mayor porcentaje de reclutamiento de plántulas con un 19.1% del total de reclutas de la población (Cuadro1). Para el reclutamiento de *ramets* a partir de cladodios encontraron el mayor porcentaje en la población de IND con un 11.2% en comparación del 4.3% que tuvo en LPM y el 0.3 en BJD (Cuadro 1). Por último, el porcentaje de plantlets siempre fue alto en las tres poblaciones, sin embargo en la población de BJD el porcentaje fue mucho mayor que en las otras dos con un 99.3%, por lo que en esta población es muy difícil observar otro tipo de reclutamiento que no sea a partir de frutos abortados (Cuadro1).

### **Sitio de Estudio**

La Reserva de la Biosfera de Mapimí (RBM) se ubica en el Desierto Chihuahuense (26°29' –26°52' N, 103°32' – 103°58' O, 1100 m s.n.m., 264 de precipitación media anual [80.2% de la precipitación entre junio y octubre] y con 20.8°C de temperatura promedio) en la región del Bolsón de Mapimí, entre los estados de Durango, Chihuahua y Coahuila. La

vegetación presente es matorral xerófilo dominado por *Larrea tridentata* y *Prosopis glandulosa*. En la RBM se estudiaron tres poblaciones de *O. microdasys* que se desarrollan en condiciones bióticas y abióticas diferentes: Bajada, Ladera-pie de monte e Interdunas (Cuadro1).

Las poblaciones de BJD y LPM se encuentran localizadas en el cerro San Ignacio, siendo la zona de BJD la parte baja del cerro y es una unidad fisiográfica formada por abanicos aluviales con una pendiente del 2%; el drenaje de estas zonas se da por medio de canales cercanos a la montaña que dan lugar a flujos laminares que drenan en las playas. Los suelos son profundos, generalmente una mezcla de grava y arena, aunque pueden presentarse acumulaciones secundarias de arcilla. *Larrea tridentata* y *Fouquieria splendens* son los arbustos más comunes en la vegetación de esta zona; con presencia en ciertas zonas de *Opuntia rastrera*. El hábitat de LPM es una zona que se encuentra por encima de BJD y está formada por roca ígnea, con una pendiente mayor a 10% y suelo rocoso, poco profundo y con poca vegetación. Las especies dominantes en la vegetación son *L. tridentata*, *F. splendens* y *Yucca rigida*. La zona de Interdunas son las regiones planas que se localizan entre las dunas de arena en donde la pendiente es menor al 1%. Las áreas entre las dunas conforman llanos con suelos moderadamente profundos, en los cuales se pueden formar acumulaciones secundarias en forma de capas de limo. La vegetación de estas zonas está dominada principalmente por *Prosopis glandulosa* y *Flourensia cernua*, la cual en ocasiones está cubierta por una densa capa de pasto dominada por *Hilaria mutica* (Montaña, 1998).

#### ***Experimento de Jardín Común con Plantlets***

Las cualidades de los plantlets producidos por *O. microdasys* en cada población en la RBM se probó a partir de evaluar los atributos demográficos de supervivencia y crecimiento en un experimento de jardín común. Para este experimento se usaron plantlets establecidos en condiciones naturales de cada uno de los hábitats y durante la misma temporada de fructificación, por lo tanto, tendrían una edad similar y se establecieron bajo las condiciones ambientales impuestas por la misma temporada. Por observaciones previas se definió que un plantlet que cumple con las características requeridas es aquel que: a) es un individuo establecido (un fruto en el suelo que ha producido raíces, por lo que está sujeto o enraizado al suelo), b) presenta un sólo cladodio y c) que el fruto aún conservará su color

verde. El material biológico se colectó en septiembre de 2007 de forma aleatoria a lo largo de cada uno de los hábitats y consistió en 330 plantlets en cada una de las tres poblaciones que tuvieran la misma edad. Este protocolo de colecta se ideó con la intención de medir si existen diferencias en las cualidades de los plantlets que se reclutan en las tres poblaciones de *O. microdasys* en la RBM, debido a que es un tipo de recluta que varía en la contribución demográfica en cada población (Cuadro 1), sin embargo, podría ser de gran importancia para la especie ya que los frutos que no llegan a producir semillas aún pueden contribuir reclutando individuos de forma clonal.

Una vez colectados los plantlets se trasplantaron en jiffypots (macetas de celulosa de 8 x 8 x 8 cm) con suelo idéntico para todos, proveniente de un sitio diferente al de los tres hábitats originales de donde se colectaron los plantlets. En este caso se utilizó sustrato de un hábitat llamado nopalera, en donde *Opuntia rastrera* se establece como especie dominante. Los jiffypots de celulosa contenían la misma cantidad de suelo, la cual fue pesada y en todos los casos se usaron 290 g. La unidad experimental fue un jiffypot con tres plantlets provenientes de la misma población, que fueron seleccionados al azar de los 990 (330 de cada población de origen) previamente colectados, por lo que al final se tuvieron 330 unidades experimentales o jiffypots. Todos los plantlets sembrados pasaron por un periodo de ocho meses (de septiembre de 2007 a mayo de 2008) de pre-aclimatación a las condiciones del vivero, con la finalidad de eliminar el posible error sobre la supervivencia debido al estrés del trasplante y cambio de ambiente de los plantlets. Las unidades experimentales se acomodaron al azar en un vivero en la RBM cubierto con malla de sombra que extinguió la radiación fotosintéticamente activa (RFA) en un 70%. Esta condición se eligió ya que con ese nivel de radiación Palleiro *et al.* (2006) obtuvieron una supervivencia de plantlets del 80% en un experimento en la misma región y sin riego.

En mayo de 2008, una vez finalizado el periodo de pre-aclimatación se excluyeron los jiffypots en los que había muerto al menos un plantlet, y la primera medición del experimento se realizó el día 14 de mayo de 2008 con un total de unidades experimentales por población de: LPM  $N= 235$ ; BJD  $N= 243$  e IND  $N= 211$ . La supervivencia de los plantlets se evaluó durante el periodo posterior a la pre-aclimatación en tres mediciones durante mayo, julio y octubre de 2008; no se pudieron realizar más mediciones del experimento debido a que un parásito (larva de coleóptero sin identificar) atacó a las

plantas y para la tercer medición el experimento se detuvo. En cada medición se tomaron las siguientes medidas: conteo del número de plantlets vivos, dos radios perpendiculares del cladodio (cm) para calcular su superficie con la fórmula de la elipse, y se contó el número de cladodios nuevos producidos. La supervivencia de los plantlets se evaluó con un modelo de riesgo proporcional o regresión de Cox (Kleinbaum y Klein, 2011) en el que se tomó como variable explicativa la población de origen de los plantlets. Los modelos de riesgo proporcional evalúan las probabilidades de ocurrencia de un evento a lo largo del tiempo y las compara entre los diferentes niveles de las variable explicativa (Kleinbaum y Klein, 2011). La significancia de la variable explicativa se obtiene al comparar, con una ANOVA, la verosimilitud del modelo completo contra la del modelo nulo; el comparar los modelos encontramos diferencias entre ( $\log\text{-likelihood}_{\text{NULO}} = -22569$ ,  $\log\text{-likelihood}_{\text{POBORIGEN}} = -22375$ ,  $\chi^2 = 387.24$ ,  $g. l. = 2$ ,  $p < 0.0001$ ), por lo tanto, el modelo final incluye la población de origen como variable explicativa de las diferencias de la supervivencia observadas en los plantlets. El crecimiento de los plantlets se analizó con una regresión con la función de cuadrados mínimos generalizados (gls) en R, se incluyendo el tiempo en que se realizaron las mediciones y la población de origen de los plantlets como variables explicativas de efectos fijos. El modelo incluyó una correlación general de estructura (corSymm en R) que nos permitió incluir el error correlacionado a cada unidad experimental (Pinheiro y Bates, 2000). El modelo se hizo con una estructura de medidas repetidas, por lo cual se incluyó el tiempo como una función de la varianza para el término del error (Pinheiro y Bates, 2000) mediante la función “weights” en R.

### ***Experimento de Jardín Común con Cladodios***

El segundo tipo de propágulo clonal de *O. microdasys* que se estudió fueron los cladodios. Los cladodios en esta especie son capaces de formar nuevos *ramets* una vez que se encuentran en el suelo (Palleiro *et al.*, 2006), y en este estudio se determinó cuáles son sus capacidades de establecimiento como nuevos individuos de origen clonal y con la capacidad e independencia fisiológica (*i.e.* *ramets*). Para probar esto se midió la capacidad de enraizamiento, su supervivencia y crecimiento entre los cladodios que se producen en los distintos hábitats con un experimento de jardín común.

Para asegurar que los cladodios utilizados en el experimento tuvieran la misma edad y se desarrollaran bajo las mismas condiciones ambientales, en el mes de junio de 2007

(que es el periodo de crecimiento de la especie) se seleccionaron los cladodios que serían incluidos en el experimento; en cada población se eligieron al azar 10 plantas que hubieran producido cladodios nuevos en ese año. En cada una de las plantas se marcaron con alambre 10 cladodios nuevos (los cladodios nuevos se identifican con facilidad debido a que son más pequeños, el color del tallo es de un verde brillante, y las areolas presentan gloquidas rojizas). Los cladodios marcados se dejaron crecer en la planta madre durante un año para su posterior cosecha en abril de 2008. La cosecha consistió en cortar los cladodios en su base para desprenderlos de la planta madre. Una vez cosechados, los cladodios se dejaron sobre el suelo de un vivero durante tres meses para que cicatrizara el tejido en la zona donde se cortaron. El montaje del experimento se realizó en julio de 2008 y se mantuvo en el vivero bajo una malla de sombra al 70% de extinción de RFA y con exclusión de herbívoros.

Los cladodios cosechados y cicatrizados se plantaron en bandejas de 30 cm de diámetro con sustrato de un hábitat llamado nopalera, distinto al de los tres hábitats de origen (este hábitat se encuentra en el elemento orográfico denominado Bajada inferior en el que los suelos son profundos, con poca grava, salinos de leves a moderados y con altas concentraciones de sodio, con margas y margas arcillosas con cales secundarias y acumulaciones de yeso) (Montaña, 1998). En cada una de las bandejas se colocaron dos cladodios, seleccionados al azar de todos los cladodios cosechados en la misma población; en total se montó el experimento con 50 bandejas por población para un total de 150 bandejas conteniendo 300 cladodios. El desempeño de los cladodios en el jardín común se evaluó a partir de seis mediciones a lo largo de 730 días, que se hicieron en octubre de 2008 y junio de 2010. En las mediciones se observó si el cladodio sembrado en la charola se encontraba vivo, si había enraizado al sustrato o se mantenía sin producir raíces nuevas y si había producido o no cladodios nuevos. Con los resultados obtenidos se realizaron los análisis para comprobar si hay diferencias en la supervivencia, enraizamiento y producción de nuevos cladodios entre los propágulos de las poblaciones. Las probabilidades de supervivencia y enraizamiento se analizaron con modelos de riesgo proporcional o regresión de Cox (Kleinbaum y Klein, 2011). El modelo para analizar la supervivencia mostró que la población de origen es marginalmente significativa ( $\log\text{-likelihood}_{\text{NULO}} = -417.66$ ,  $\log\text{-likelihood}_{\text{HÁBITAT}} = -414.72$ ,  $\chi^2 = 5.87$ ,  $g. l. = 2$ ,  $p = 0.05$ ), por lo que si se incluyó

esta variable en el modelo final. En el caso del enraizamiento, el modelo con la población de origen resulto altamente significativo ( $\log\text{-likelihood}_{\text{NULO}} = -1336.8$ ,  $\log\text{-likelihood}_{\text{HÁBITAT}} = -1326$ ,  $\chi^2 = 21.55$ , g. l. = 2,  $p < 0.0001$ ), por lo que elegimos dicho modelo. La producción de nuevos cladodios a lo largo del periodo de medición se hizo con un modelo lineal generalizado con una distribución binomial negativa, para poder lidiar con la sobredispersión de los datos ocasionada por la discontinuidad de la producción de cladodios a lo largo del tiempo (Agresti, 2002); además en el modelo se incluyó la población como variable explicativa y el logaritmo del tiempo como “offset” para evaluar el número de nuevos cladodios en relación al tiempo transcurrido en el experimento (Agresti, 2002). El modelo se planteó de esta manera ya que la producción de un nuevo cladodio es un evento que puede o no ocurrir a través del tiempo, pero que también puede ocurrir más de una vez en cada tiempo; por lo tanto la respuesta es el número de cladodios nuevos que contamos en cada medición. El modelo final incluyó la población de origen de los cladodios, ya que tiene un efecto significativo sobre el número de cladodios producidos por el cladodio sembrado en el experimento ( $\text{DevRes}_{\text{NULO}} = 1100.5$ ,  $\text{DevRes}_{\text{HÁBITAT}} = 54.716$ ,  $\text{Dev} = 1045.7$ , g. l.  $\text{Resid} = 1797$ ,  $p < 0.0001$ ).

### ***Experimento de Jardín Común con Semillas***

Las semillas son el único propágulo de origen sexual en *Opuntia microdasys*, por lo que las plántulas son la única vía en la que pueden reclutarse nuevos *genets* a las poblaciones. Con el objetivo de comparar la germinación de las semillas, así como el establecimiento de las plántulas en diferentes micrositos, se realizó un experimento de jardín común con semillas producidas en las tres poblaciones de origen. En el mes agosto del año 2009 se colectaron frutos en las tres poblaciones de *O. microdasys* en la RBM, la colecta consistió en la selección de individuos en estado reproductivo que tuvieran frutos maduros al momento de la colecta. En cada población se seleccionaron 20 individuos distintos que cumplieron con los criterios mencionados y en cada uno se colectaron 20 frutos maduros ( $n = 1200$  frutos procedentes de las tres poblaciones). Debido a que se ha descrito que las semillas en *Opuntia* necesitan un periodo de postmaduración de un año como mínimo (M.C. Mandujano, Montaña, & Rojas-Aréchiga, 2005), las semillas colectadas se mantuvieron almacenadas en condiciones de laboratorio para montar el experimento de jardín común posteriormente.

Para poder controlar las condiciones de humedad e iluminación, el experimento se llevó a cabo en un vivero ubicado en el Instituto de Ecología de la UNAM en la Ciudad de México. Las semillas colectadas se sembraron en macetas (jiffypots) de celulosa de 8 x 8 x 8 cm de dimensiones, se rellenaron con la misma cantidad de sustrato de un hábitat llamado nopalera, distinto al del hábitat de origen de todas las semillas. En cada jiffypot se sembraron 30 semillas provenientes de la misma población y se utilizaron 100 jiffypots para cada origen. Los jiffypots se colocaron en charolas de plástico para mantener la humedad constante y homogénea. Cada charola contuvo tres jiffypots, uno de cada población de origen (300 jiffypots en 100 charolas de plástico). Se evaluó la germinación en condiciones de luz directa y bajo una sombra con extinción (ERFA) del 70%, para conseguir la condición de sombra 50 de las charolas se cubrieron con malla sombra. El riego consistió en mantener los jiffypots a capacidad de campo, para poder conseguir esto, se hizo una prueba piloto en donde se observó que rellenando la charola de plástico (500 ml) cada tercer día en condiciones de sol directo, y cada cuatro en condiciones de sombra, se podía conseguir el riego adecuado. El experimento inició en octubre de 2011 y se concluyó en mayo del 2012. Durante un periodo de 71 días el experimento se revisó diariamente para contar el número de semillas germinadas, cuántas semillas germinadas produjeron cotiledones y cuántas plántulas con cotiledones produjeron su primer cladodio. La revisión del experimento dejó de hacerse diariamente cuando se observó que las semillas dejaron de germinar a ese ritmo, en ese momento las revisiones comenzaron a ser en periodos de entre dos y seis días (la duración de estos periodos varió dependiendo de cómo fue variando el ritmo de germinación de las semillas) y el experimento se dio por concluido después de 228 días.

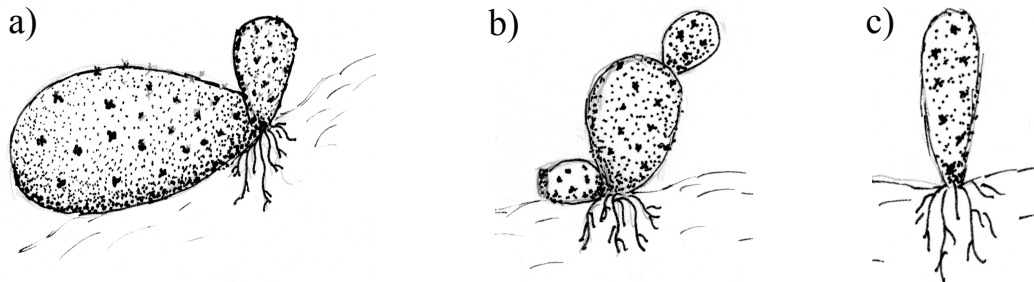
Con el uso de modelos lineales generalizados mixtos con el método Máxima Verosimilitud Restringida (RELM por sus siglas en inglés-JMP, 2009) pudimos comprobar que no hay un efecto de la charola o del jiffypot, por lo tanto analizamos la respuesta de cada semilla de forma independiente. Sin embargo, debido a la naturaleza binomial de las respuestas de los procesos de germinación y desarrollo de la plántula a través del tiempo, se optó por utilizar modelos de riesgo proporcional. Con este tipo de modelos es posible analizar la ocurrencia o no de un evento a lo largo del tiempo en un individuo particular y conocer la ocurrencia del evento por unidad de tiempo (evento conocido como tiempo de



supervivencia), aún y cuando no se tiene registro de cada momento durante la duración del experimento (Klein y Moeschberger, 2003; Kleinbaum y Klein, 2011). En este caso para cada semilla se midió el tiempo en el que ocurrió cada uno de los eventos, ya sea que haya iniciado la germinación, la emergencia del cotiledón o del primer cladodio. En el modelo las variables de respuesta se compararon con las variables explicativas que fueron: la población de origen y la condición de luz a la que fueron expuestas las semillas. No se incluyó la interacción entre las variables explicativas en el modelo final ya que en un modelo previo no se observó que esta fuera significativa. Para el modelo de riesgo proporcional elegido considera como variables explicativas la población de origen de las semillas y la condición de luz a la que fueron expuestas las semillas. En el modelo elegido para analizar la germinación se incluye estas variables ya que se comprobó que si hay un efecto de ambos factores sobre la germinación de las semillas ( $\text{loglik}_{\text{Nulo}} = -16897$ ,  $\text{loglik}_{\text{Habitat}} = -16844$ ,  $\chi^2 = 104.8$ ,  $d.f. = 2$ ,  $p < 0.0001$ ,  $\text{loglik}_{\text{LC}} = 16170$ ,  $\chi^2 = 1349.5$ ,  $d.f. = 1$ ,  $p < 0.0001$ ). Para el análisis de la emergencia del cotiledón se compararon las diferencias entre el modelo que incluye las variables población de origen y condición de luz contra el modelo nulo con un ANOVA del logaritmo verosimilitud de cada modelo, se encontraron diferencias significativas ( $\text{loglik}_{\text{Nulo}} = -11604$ ,  $\text{loglik}_{\text{Habitat}} = -11587$ ,  $\chi^2 = 33.842$ ,  $g.l. = 2$ ,  $p < 0.0001$ ,  $\text{loglik}_{\text{CL}} = -11581$ ,  $\chi^2 = 12,524$ ,  $g.l. = 1$ ,  $p < 0,0001$ ). Para la producción del primer cladodio se probó el modelo nulo contra el modelo que incluye los factores explicativos con un ANOVA de la verosimilitud y encontramos que los modelos son estadísticamente diferentes ( $\text{loglik}_{\text{Nulo}} = -6965.6$ ,  $\text{loglik}_{\text{Habitat}} = -6960.6$ ,  $\chi^2 = 1$ ,  $g.l. = 2$ ,  $p = 0.007$ ,  $\text{loglik}_{\text{CL}} = -6958$ ,  $\chi^2 = 5.34$ ,  $g.l. = 1$ ,  $p = 0.02$ ), por lo tanto ambas variables se incluyeron en el modelo.

**Cuadro 1.** Características de los hábitats ocupados por *Opuntia microdasys* en la Reserva de la Biosfera de Mapimí (Montaña, 1998) y porcentaje de reclutamiento de los tres tipos de propágulos presentes en la especie en cada hábitat (Palleiro *et al.*, 2006).

Características de hábitats				Tipos de propágulos		
Hábitat	Tipo de suelo	Pendiente	Vegetación dominante	Plántula	Plantlet	Ramet
Ladera-pie de monte	Roca ígnea	>10%	<i>Larrea tridentata</i> <i>Fouquieria splendens</i> <i>Yucca rigida</i>	19.1%	76.6%	4.3%
Bajada	Profundos, mezcla de grava y arena	2%	<i>Larrea tridentata</i> <i>Fouquieria splendens</i>	0.4%	99.3%	0.3%
Interdunas	Arenosos y profundos	<1%	<i>Prosopis glandulosa</i> <i>Flourensia cernua</i>	1%	87.7%	11.2%



**Figura 1.** Esquema de los tipos de propagación que presenta *Opuntia microdasys* en las poblaciones de la Reserva de la Biosfera de Mapimí. a) por medio de los tallos o cladodios que se desprenden de la planta que originan *ramets*; b) por medio de los tunos abortados que dan origen a plantlets y c) plántulas por medio de semillas de origen sexual.

## RESULTADOS

### *Experimento de Jardín Común con Plantlets.*

El modelo de riesgo proporcional elegido para analizar la supervivencia de los plantlets incluye la población de origen como variable explicativa debido a su significancia estadística (ver sección de Métodos), por lo tanto si encontramos diferencias en las supervivencia de los plantlets entre las poblaciones de origen. Los plantlets provenientes de BJD son los que tuvieron una supervivencia más alta en este experimento (Figura 2a), los de LPM tienen una supervivencia intermedia, 31% menor que los de BJD ( $\beta_{LPM} = 0.27$ ,  $HR_{LPM} = 1.31$ ,  $z = 5.52$ ,  $p < 0.0001$  - Figura 2<sup>a</sup>) y los plantlets de IND presentaron la menor supervivencia, con 2.44 veces más probabilidades de morir que los de BJD ( $\beta_{IND} = 0.89$ ,  $HR_{IND} = 2.44$ ,  $z = 19.2$ ,  $p < 0.0001$ ).

El modelo lineal con el que se comparó el área de los cladodios de los plantlets de las tres poblaciones mostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre ellas ( $F = 39.322$ ,  $g. l. = 2$ ,  $p < 0.0001$ ), que cambian a través del tiempo ( $F = 40.519$ ,  $g. l. = 1$ ,  $p < 0.0001$ ), y también que hay una interacción entre la población de origen y el tiempo ( $F = 187.556$ ,  $g. l. = 2$ ,  $p < 0.0001$ ). Los cladodios de los plantlets de BJD tuvieron área promedio mayor ( $\mu = 8.80 \text{ cm}^2$  [3.82 D.E.]), seguidos por los de LPM ( $\mu = 6.93 \text{ cm}^2$  [3.46 D.E.]) y finalmente los plantlets con cladodios de menor tamaño fueron los de IND ( $\mu = 4.14 \text{ cm}^2$  [2.36 D.E.]). En la Figura 2b podemos observar como el área promedio de los cladodios de LPM e IND son menores que los de BJD a lo largo del tiempo ( $\beta_{LPM} = -4.32$ ,  $t = -13.52$ ,  $p < 0.0001$ ;  $\beta_{IND} = -6.87$ ,  $t = -13.99$ ,  $p < 0.0001$ ), con un efecto que varió a lo largo del tiempo en los plantlets de todos los orígenes ( $\beta_T = -0.007$ ,  $t = -8.94$ ,  $p < 0.0001$ ). Aunque los cladodios de los plantlets de BJD siempre tuvieron un mayor tamaño, su área fue disminuyendo conforme paso el tiempo, mientras que los cladodios de las otras poblaciones siempre aumentaron su talla (Figura 2b). Este fenómeno se ve reflejado en el modelo ya que la interacción de los factores hábitats y tiempo fue significativa para cada población ( $\beta_{LPM*T} = 0.022$ ,  $t = 18.29$ ,  $p < 0.0001$ ;  $\beta_{IND*T} = 0.021$ ,  $t = 11.14$ ,  $p < 0.0001$ ).

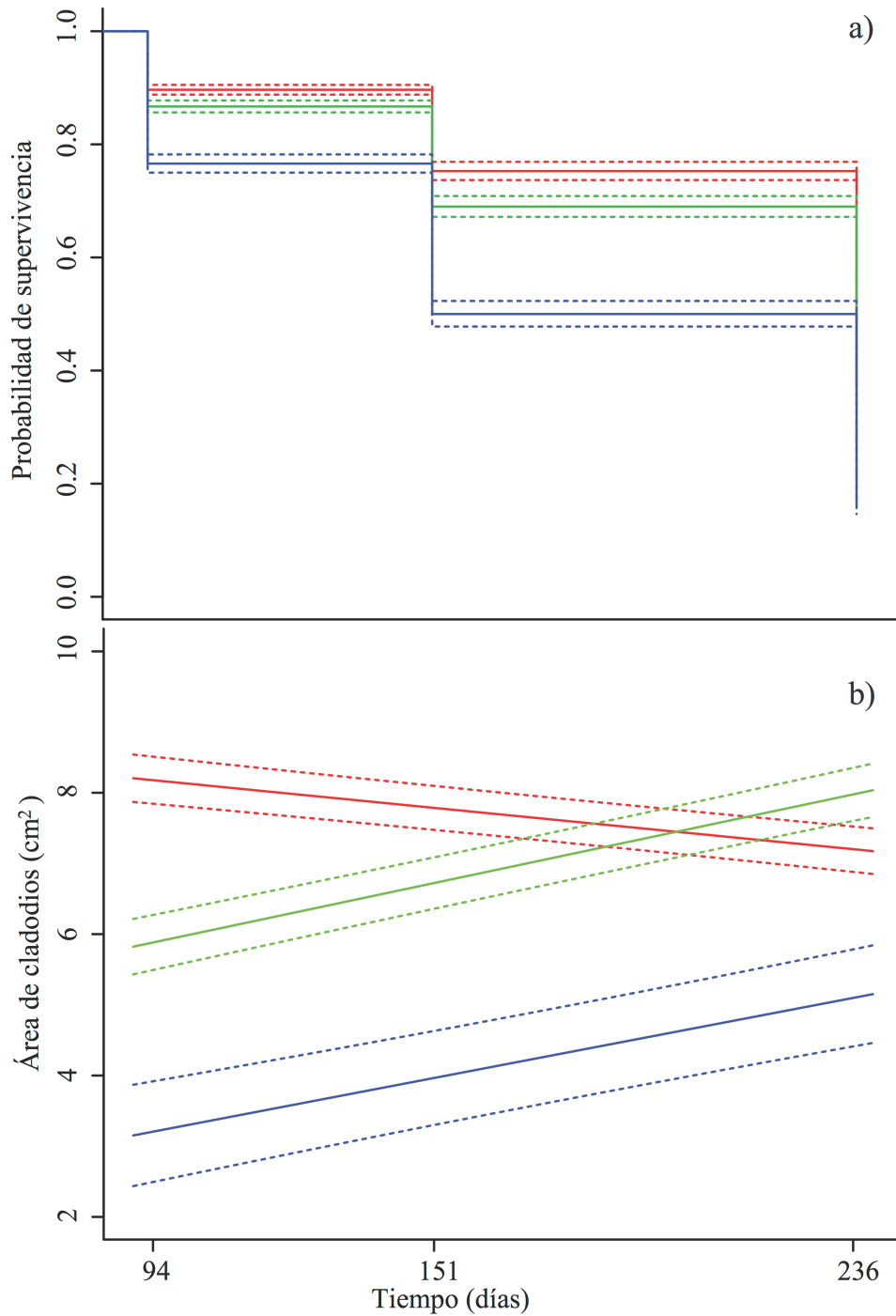


Figura 2. Resultados del experimento de jardín común con plantlets de *Opuntia microdasys* de las tres poblaciones (Bajada= líneas rojas, Ladera-pie de monte= líneas verdes, Interdunas= líneas azules). a) Probabilidades de supervivencia para el modelo de riesgo proporcional de los plantlets. b) área promedio estimada por el modelo de los cladodios de los plantlets evaluados en el experimento. Las líneas punteadas representan los intervalos de confianza al 95%.

### ***Experimento de Jardín Común con Cladodios.***

A partir de los análisis de riesgo proporcional pudimos comprobar que la población de origen tiene un efecto significativamente marginal sobre la supervivencia (ver en Métodos). Los cladodios de BJD son los que tuvieron la supervivencia mas baja, mientras que los cladodios de LPM son los que presentaron la mayor supervivencia, ya que tiene casi un 50% menos de probabilidad de morir que los de BJD ( $\beta_{LPM} = -0.7$ ,  $HR_{LPM} = 0.49$ ,  $z = -2.37$ ,  $p < 0.018$  - Figura 3a), mientras que los cladodios de IND tiene una probabilidad de supervivencia de casi 25% más alta, aunque no es significativamente distinta de los cladodios de BJD ( $\beta_{IND} = -0.29$ ,  $HR_{IND} = 0.75$ ,  $z = -1.09$ ,  $p = 0.28$  - Figura 3a).

La capacidad de enraizamiento de los cladodios que caen al suelo es importante para el establecimiento de nuevos individuos clonales fisiológicamente independientes y la población de origen es una variable que mostró ser significativa en el modelo elegido (ver resultados en Métodos). Aunque el origen de los cladodios es importante es una variable que explica el enraizamiento, en la figura 3b podemos observar que los cladodios de los hábitats de LPM e IND no hay diferencias en la proporción de cladodios enraizados, ya que tienen un 85% y 86%, respectivamente, más probabilidad de enraizar que los cladodios de BJD ( $\beta_{LPM} = 0.614$ ,  $HR_{LPM} = 1.85$ ,  $z = 3.95$ ,  $p < 0.0001$ ;  $\beta_{IND} = 0.62$ ,  $HR_{IND} = 1.86$ ,  $z = 3.99$ ,  $p < 0.0001$ ).

El siguiente paso en la formación de un nuevo *ramet* independiente es la formación de nuevos cladodios, por lo tanto el número de nuevos cladodios formados por un cladodio en el suelo puede ser un indicativo de las cualidades que tienen los cladodios de las distintas poblaciones para establecer nuevos *ramets* a partir de los cladodios que caen al suelo. Los cladodios de IND produjeron un mayor número de nuevos cladodios ( $\mu = 0.51$  [1.14 D.E.]), seguidos por los de LPM ( $\mu = 0.32$  [0.72 D.E.]) y por último los de BJD ( $\mu = 0.24$  [0.64 D.E.]). El modelo utilizado para analizar el número de cladodios producidos incluyó a la población de origen por ser una variable explicativa que es significativa en el modelo (ver resultados en Métodos). Utilizando los cladodios de la población de BJD como referencia en el modelo podemos decir que los cladodios de los hábitats de IND ( $\beta_{IND} = 1.05$ ,  $z = 7.16$ ,  $p < 0.0001$ ) y de Ladera-pie de monte ( $\beta_{LPM} = 0.336$ ,  $z = 2.16$ ,  $p = 0.031$ ) producen un mayor número de cladodios (Figura 3c); aunque Ladera-pie de monte presentó diferencias significativas, no lo es tan grande como la de IND con BJD.

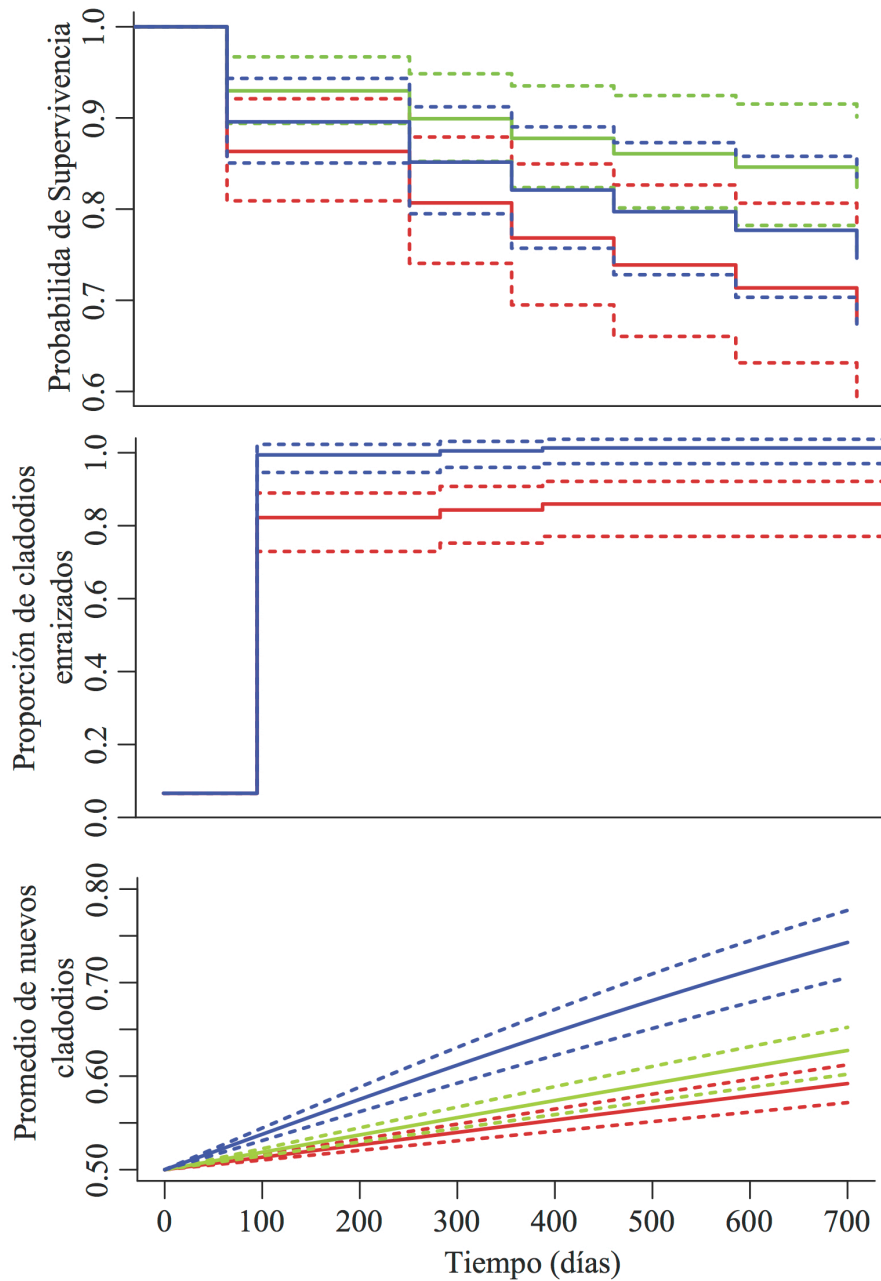


Figura 3. Resultados del experimento de jardín común con cladodios de *Opuntia microdasys* de las tres poblaciones (Bajada= líneas rojas, Ladera-pie de monte= líneas verdes, Interdunas= líneas azules). a) Probabilidad de supervivencia para el modelo de riesgo proporcional de los cladodios. b) Proporción acumulada de cladodios enraizados calculadas a partir del modelo de riesgo proporcional. c) Número promedio estimado por el modelo de nuevos cladodios producidos por los cladodios sembrados en el experimento. Las líneas punteadas representan los intervalos de confianza del 95% predichos por los modelos.

### ***Experimento de Jardín Común con Semillas.***

En el experimento de jardín común con las semillas de las tres poblaciones la primera respuesta que se midió fue la capacidad germinativa. El modelo elegido para analizarla considera como variables explicativas la población de origen de las semillas y la condición de luz, ya que ambos factores demostraron ser significativos para explicarla (ver resultados en Métodos). Los coeficientes de regresión del modelo de riesgo proporcional para LPM e IND fueron de  $\beta = 0.4$  y  $\beta = -0.24$ , respectivamente, tomando como referencia la germinación de semillas de BJD. Estos resultados son evidencia de las diferentes capacidades de germinación de las semillas de cada población. El riesgo proporcional para LPM fue estadísticamente diferente de uno y predice que las semillas de esta población tienen un 50% más probabilidad de germinar que las de BJD ( $HR_{LPM} = 1.5$ ,  $z = 7.38$ ,  $p < 0.0001$ ) y para IND la probabilidad de germinación es un 22% más baja que la de BJD ( $HR_{IND} = 0.78$ ,  $z = -3.97$ ,  $p < 0.0001$ ). En la Figura 4a y 4b se muestra que, sin importar la condición de luz, las semillas de LPM siempre tuvieron la mayor proporción de germinación y que las semillas de IND la más baja; pero si consideramos las condiciones de luz, pudimos observar que las semillas expuestas a la luz directa tuvieron una menor germinación que las semillas en condiciones de sombra. El coeficiente para las semillas bajo el tratamiento de sombra fue  $\beta = 7.317$  y es estadísticamente diferente de las semillas expuestas a la luz ( $HR_{Sombra} = 7.32$ ,  $z = 30.274$ ,  $p < 0.0001$ ), lo que significa que una semilla germina en condiciones de sombra con 7.32 más probabilidad que bajo condiciones de luz directa.

El segundo evento en el establecimiento de un nuevo individuo a partir de una semilla es la emergencia del cotiledón, el modelo final incluyó la población de origen y las condiciones de luz como variables explicativas ya que son significativas (ver Métodos). El coeficiente de regresión del modelo de riesgo proporcional para LPM fue de  $\beta = 0.283$  y para IND de  $\beta = 0.0095$ , tomando como referencia la emergencia del cotiledón de las plántulas de BJD. A pesar de la influencia de la población y la luz sobre la emergencia del cotiledón, el efecto no es el mismo para las plántulas de cada población porque el riesgo proporcional para LPM fue estadísticamente diferente y mayor de uno ( $HR_{LPM} = 1.33$ ,  $z = 5.01$ ,  $p < 0.0001$ ) pero para IND la relación de riesgo no fue estadísticamente diferente de uno ( $HR_{IND} = 1.01$ ,  $z = -0.15$ ,  $p = 0.88$ ). Los riesgos proporcionales calculados para estos

hábitats señalan que las plántulas de semillas LPM tienen un 33% más de probabilidad de aparición de cotiledones que las plántulas de BJD, mientras que las plántulas de IND tienen la misma probabilidad de aparición de cotiledones que las plántulas de BJD. El coeficiente de regresión para la condición de sombra fue  $\beta = -0.25$  y la relación de riesgo fue significativamente diferente ( $HR_{\text{sombra}} = 0.78$ ,  $z = -3.643$ ,  $p < 0.0001$ ), lo que significa que las plántulas bajo condiciones de sombra tienen una probabilidad de aparición del cotiledón 22% menor sin considerar la población de origen de las semillas (Figura 4c y 4d).

El último proceso por el que pasa una semilla para establecer un nuevo individuo en *O. microdasys* es la producción del primer cladodio, esto es así ya que el posterior desarrollo de los individuos de esta especie ocurre a partir de la reiteración de estas estructuras, en las cuales también se desarrollan las flores y los frutos. El modelo elegido incluyó la población de origen y las condiciones de luz ya que fueron significativas en el modelo (ver resultados en Métodos). El coeficiente de regresión para LPM fue de  $\beta = 0.069$  y para IND de  $\beta = -0.185$ ; mientras que para las plántulas bajo condiciones de sombra fue de  $\beta = -0.199$ . Las proporciones de riesgo para la población de origen, tomando como referencia BJD, fueron estadísticamente diferentes solo para las plántulas de IND ( $HR_{\text{IND}} = 0.83$ ,  $z = -2.15$ ,  $p = 0.03$ ) y tuvieron una probabilidad 17% menor de producir su primer cladodio que las plántulas de BJD o LPM. Las plántulas de BJD y LPM tienen las mismas probabilidades de producir su primer cladodio porque el riesgo proporcional no fue significativamente distinto ( $HR_{\text{LPM}} = 1.07$ ,  $z = 0.98$ ,  $p = 0.32$ ). Las condiciones de luz bajo las que estuvieron expuestas las plántulas tuvieron un efecto en la producción del primer cladodio, y las plántulas expuestas a condiciones de luz directa tuvieron una probabilidad 18% mayor que las plántulas bajo sombra ( $HR_{\text{SHADOW}} = 0.82$ ,  $z = -2.36$ ,  $p = 0.02$ ).



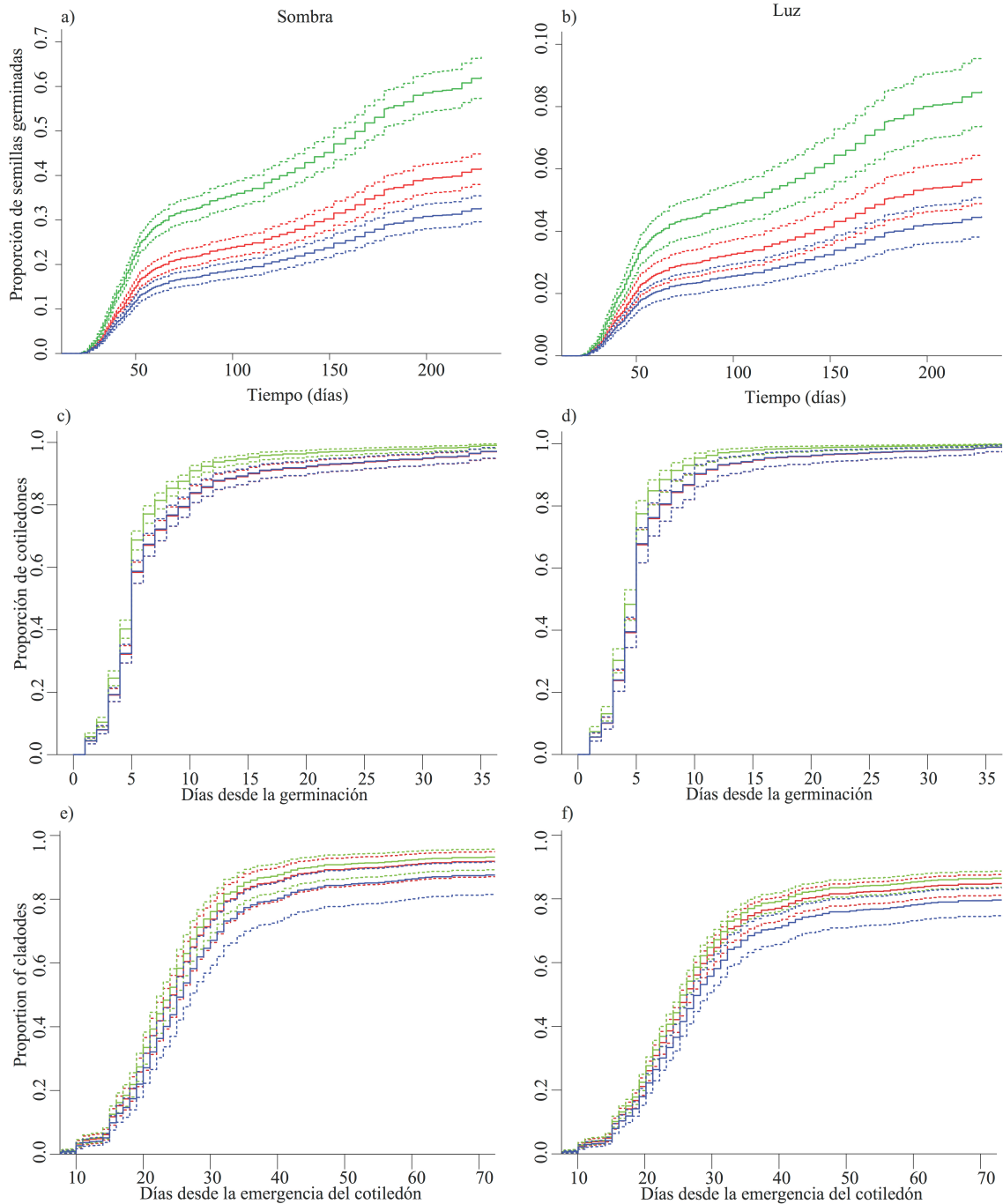


Figura 4. Resultados del experimento de jardín común con semillas de *Opuntia microdasys* de las tres poblaciones (Bajada= líneas rojas, Ladera-pie de monte= líneas verdes, Interdunas= líneas azules) bajo condiciones de sombra (izquierda) y luz directa (derecha). probabilidades de germinación a) y b); proporción de plántulas germinadas c) y d); y producción del primer cladodio en condiciones de sombra e) y f). Las líneas punteadas representan los intervalos de confianza del 95% predichos por los modelos.

## DISCUSIÓN

Los resultados de los experimentos de jardín común que se realizaron con las formas de propagación de *Opuntia microdasys* indicaron que las respuestas de los vástagos bajo condiciones experimentales dependieron de la población de origen. Por lo tanto, se encontró una adaptación local, dado que las poblaciones en las que se observó un porcentaje más alto de reclutamiento son precisamente en donde las estructuras de propagación tienen mayor sobrevivencia y crecimiento en condiciones naturales. Cuando los procesos de reclutamiento de cada tipo de vástago están determinados por las diferencias en sus cualidades, entonces puede estar ocurriendo un proceso evolutivo en el que se favorece la producción de cierto tipo de propágulos con mejores características que favorecen su establecimiento en cada población como lo observado en *O. microdasys* (Palleiro *et al.*, 2006). Este tipo de procesos evolutivos pueden llevar a la especialización del tipo de reproducción que caracterice a cada una de las poblaciones (Ellstrand y Roose, 1987; Zhang y Zhang, 2007); así, una forma de reclutamiento resulta predominante en alguna población y está asociada a los niveles de diversidad clonal. Por ejemplo, en *Cryptomeria japonica* encontraron poblaciones en donde el reclutamiento vía semillas es muy bajo y la mayor parte de los individuos son clones (Shimizu, Ando y Sakai, 2002). En el caso de *Decodon verticilatus* en el que la reproducción sexual y los niveles de variación genética se han visto afectados por factores genéticos y ecológicos asociados al ambiente donde se establecen las poblaciones (Dorken y Eckert, 2001). Igualmente, en *Butomus umbellatus* (Eckert *et al.*, 2003) y en *Cylindropuntia bigelovii* (Hernández-Rosas *et al.*, enviado) se han encontrado poblaciones en las que se relacionó el nivel de ploidía con la forma de reproducción presente en las poblaciones y se concluyó que en poblaciones diploides se producen una gran cantidad de semillas viables mientras que en poblaciones triploides o tetraploides el reclutamiento clonal es la forma de reproducción predominante.

Los resultados sugieren que los plantlets originarios de la población de Bajada tienen cualidades distintas a los plantlets originados en las otras dos poblaciones, ya que tuvieron una mayor probabilidad de supervivencia y sus cladodios siempre fueron los más grandes; sin embargo, la talla de los cladodios de Bajada fue disminuyendo a lo largo del tiempo. Este fenómeno de decrecimiento en los plantlets de Bajada podría llegar a tener consecuencias en la supervivencia a largo plazo y aumentar las probabilidades de

establecimiento de los plantlets de Ladera-pie de monte e Interdunas, los cuales incrementaron su talla bajo condiciones experimentales.

Las condiciones ambientales en las que se establecieron los plantlets cambiaron al incluirse en el experimento de jardín común y este cambio pareció afectar el crecimiento de los plantlets originados en la población de Bajada. A partir de estas observaciones podemos suponer que mientras las condiciones ambientales no cambien, los plantlets de Bajada tendrán un mejor desempeño, pero si las condiciones ambientales cambian, los plantlets de Ladera-pie de monte serán los más adecuados para enfrentar esos cambios. Este tipo de cualidades nos hacen pensar que los frutos abortados que se producen en Ladera-pie de monte tendrían un mayor éxito para colonizar nuevos ambientes; mientras que los plantlets de Bajada tendrían un mayor éxito sólo en el ambiente en el que se han venido desarrollando. Aunque con los resultados obtenidos solo podemos decir que los plantlets de de Bajada presentaron mejores cualidades y esto corresponde con lo que esperábamos, basándonos en lo reportado por Palleiro (2001) y Palleiro *et al.* (2006) que encontraron que esta fue la población con un mayor porcentaje de plantlets reclutados.

Al analizar los resultados obtenidos en el experimento de jardín común con los cladodios de las tres poblaciones de *O. microdasys* se encontró que no todas las respuestas medidas fueron favorables en los cladodios provenientes de una misma población. En términos de la supervivencia de los cladodios como unidad de propagación, los de Ladera-pie de monte tuvieron una mayor probabilidad de supervivencia. La capacidad de enraizamiento es alta para los cladodios de las tres poblaciones. Sin embargo, la mayor proporción de cladodios enraizados fue la de los cladodios de Ladera-pie de monte e Interdunas, aunque todos los cladodios que siguieron vivos al final del experimento produjeron raíces. Los cladodios son una forma muy exitosa de propagación, todas las especies de Opuntioideae clonan mediante este tipo de *ramet*, y las especies cultivadas de *Opuntia* spp. se siembran usando esta estructura (Reyes-Agüero, Aguirre R., y Valiente-Banuet, 2006). No obstante, los cladodios son sumamente sensibles a las condiciones ambientales y a las características del propágulo. Los cladodios más grandes y jóvenes producen eficientemente raíces y crecen con rapidez, mientras que los maduros no son aptos para propagación y esto se relaciona con los procesos de lignificación de los tallos (Barbera *et al.* 1995). Las especies silvestres presentan características similares, cladodios

jóvenes producen nuevos cladodios y flores (Bowers, 1996) y enraízan y crecen sin dificultad en condiciones de luz favorable, no sombreadas (Mandujano *et al.*, 1998). Algunos estudios no han encontrado adaptación local de estas estructuras, pero si reportan una interacción importante entre el enraizamiento y producción de nuevos cladodios y el ambiente, sugiriendo una gran plasticidad en los cladodios (Mandujano *et al.*, 1998; Reyes-Agüero *et al.*, 2006)

El número de nuevos cladodios producidos a partir del cladodio sembrado difirió significativamente entre los orígenes de los cladodios. En todos los cladodios la capacidad de producir nuevos cladodios aumentó con relación al tiempo, por lo que mientras más tiempo permanezca vivo un cladodio mayor será la probabilidad de que produzca más nuevos cladodios; aunque el número de nuevos cladodios que produjo dependió del origen del cladodio. Los cladodios de Interdunas fueron los que produjeron un mayor número de cladodios, y según las predicciones del modelo, pueden llegar a producir un promedio 0.75 nuevos cladodios por día.

Las cualidades de los cladodios como unidades de propagación clonal son positivas sin importar la población de origen, en términos de la alta probabilidad de supervivencia, enraizamiento y producción de nuevos cladodios. Aunque los cladodios de los distintos orígenes mostraron un alto potencial de formar nuevos *ramets* en condiciones experimentales, en condiciones naturales se ha encontrado que los cladodios de Interdunas tienen un mayor porcentaje de reclutamiento (Carrillo-Angeles, Golubov, *et al.*, 2011; Palleiro *et al.*, 2006). Lo anterior coincide con la mayor capacidad de los cladodios de Interdunas de producir más cladodios nuevos en condiciones experimentales.

La respuesta de las unidades de propagación clonal varían dependiendo de la población de origen de *O. microdasys*, este tipo de respuestas se ha observado en otras especies como en *Iris japonica* (Iridaceae) (Wang, Shi, & Zhong, 2013) en la que con experimentos de trasplantes recíprocos se determinó que la capacidad de reproducirse clonalmente está determinada por la población de origen, mientras que la reproducción sexual fue afectada por el origen y las condiciones de luz.

Las semillas colectadas en las tres poblaciones de *O. microdasys* en la RBM se sometieron a condiciones experimentales para medir sus capacidades germinativas, de emergencia de los cotiledones y de formación del primer cladodio, como indicativos de sus

cualidades como propágulos sexuales. Con los experimentos de jardín común solo encontramos diferencias entre las semillas de las tres poblaciones el caso de la capacidad germinativa. Las semillas de Ladera-pie de monte siempre tuvieron mayor germinación que la de las otras poblaciones. El otro factor analizado en este experimento fue la respuesta a las condiciones de luz a las que las semillas fueron expuestas, respecto a este factor podemos decir que los resultados fueron contundentes y las condiciones de luz juegan un papel importante en todos los procesos de las semillas que se midieron, aunque no de la misma manera en cada etapa del desarrollo de las plántulas. El mayor efecto de la luz que encontramos fue que reduce drásticamente la germinación de las semillas. Estos resultados contrastan con estudios de germinación en jardín común del nopal rastrero, *Opuntia rastrera*, en donde no se encontraron diferencias en la germinación entre semillas de diferentes orígenes, pero encontraron que la producción del primer cladodio se retrasa en ambientes más sombreados que en ambientes con mayor radiación (Mandujano *et al.*, 1998). Esto muestra que la respuesta de los propágulos a las condiciones ambientales son heterogéneas y apunta a una adaptación local para la germinación de las semillas de *O. microdasys* de la Ladera-pie de monte. Aunque la respuesta de la germinación a las condiciones de luz es variable en las Cactáceas, por ejemplo, al comparar la germinación de dos especies de *Neobuxbaumia*, Ramírez-Padilla y Valverde (2005) reportan respuestas contrastantes entre *Neobuxbaumia macrocephala* que tiene una baja germinación en condiciones de luz y *N. mezcalaensis* que germina pobremente en condiciones de oscuridad.

El proceso de germinación en las semillas y el establecimiento de las plántulas siempre es de vital importancia para el crecimiento de las poblaciones y el mantenimiento de la variabilidad genética. En el caso de una especie como *O. microdasys*, en donde la capacidad de reclutamiento de nuevos individuos depende de tres tipos de propágulos distintos y dos de ellos son clonales y con un alto aporte de individuos a las poblaciones (Cuadro 1); es primordial conocer las capacidades de las semillas en la especie y si las cualidades de las semillas que se producen en cada ambiente son distintas. Con los resultados obtenidos podemos decir que las semillas de las tres poblaciones de la RBM, si tienen capacidades distintas de germinación y de establecimiento de nuevas plántulas, y que las semillas que se originan en la Ladera-pie de monte tienen características que sugieren

que se trata de semillas con más cualidades para reclutar individuos en condiciones naturales. Al respecto, Palleiro *et al.* (2006) encontraron que en la población de Ladera-pie de monte se establecían un mayor porcentaje de plántulas que en los otros dos tipos de hábitats. Además, la población de la Ladera-pie de monte tiene la diversidad genotípica y genética más alta (Carrillo-Angeles, Golubov, *et al.*, 2011). La diversidad genética en Ladera-pie de Monte es la más alta, cuatro veces mayor que en Bajada y el doble que en Interdunas ( $R = 0.43, 0.09, 0.22$ , respectivamente; García-Morales *et al.* 2018), indicando que en esta población predomina el reclutamiento sexual. Posiblemente, la forma de reclutamiento de las plantas parentales tenga una influencia en el éxito de establecimiento de su progenie, es decir, una planta originada de semilla puede producir semillas más exitosas. No obstante, habrá que estimar la heredabilidad del origen del recluta.

Los resultados de este experimento también nos permiten discernir entre la importancia de las distintas etapas de desarrollo de las plántulas de *Opuntia microdasys* y de su respuesta a las condiciones ambientales, ya que las diferencias mostradas en la germinación van desapareciendo conforme avanza su desarrollo y entre las condiciones de luz a las que están expuestas y la población de origen de las semillas (Figura 4). La luz es un factor determinante en el crecimiento de las plántulas, *Opuntia rastrera* ya que en condiciones de sombra la producción del primer cladodio se retrasa en comparación con las plántulas expuestas a mayor radiación solar (Mandujano *et al.*, 1998).

*Opuntia microdasys* presenta tres poblaciones en tres tipos de hábitats distintos en la Reserva de la Biosfera de Mapimí y en esas poblaciones se ha observado reclutamiento de tres tipos de propágulos. De los tres tipos de propágulos de la especie dos reclutan individuos por vías clonales (frutos abortados-plantlets y cladodios) y uno de ellos por la vía sexual (semillas)(Carrillo-Angeles *et al.* 2011; Palleiro 2001; Palleiro *et al.* 2006; Piña, 2007). Los resultados encontrados por Palleiro (2001) y Palleiro *et al.* (2006) en las poblaciones de *Opuntia microdasys* mostraron que los tres tipos de reclutas se encuentran en las tres poblaciones, pero no se encuentran representados en las mismas proporciones (véase Cuadro 1). Es claro que aunque los tres tipos de propágulos tienen un importancia demográfica en las poblaciones, no se conocen las causas que propician las diferencias; las causas podrían simplemente ser restricciones impuestas por cada tipo de hábitat a cada tipo de propágulo (Emery, Chinnappa, y Chmielewski, 1994), a lo cual apuntan los resultados

de adaptación local o diferencias en las cualidades de los propágulos que se producen en cada una de las poblaciones a lo cual apuntan los resultados del experimento de jardín común.

## CONCLUSIONES

Los plantlets de la población de Bajada tienen cualidades que los hacen tener una mayor supervivencia, aunque son sensibles a los cambios ambientales y pueden disminuir su tamaño.

El proceso más importante para el reclutamiento de *ramets* vía cladodio es la producción de nuevos cladodios y este proceso ocurre con mayor frecuencia en los cladodios de la población de Interdunas.

Las semillas de *O. microdasys* son extremadamente sensibles a las condiciones de luz para su germinación y en condiciones de sombra pueden tener hasta 7.32 más probabilidades de germinar.

Las semillas provenientes de Ladera-pie de monte tienen mayor probabilidad de germinación, pero las plántulas de todos los orígenes tienen las mismas capacidades de desarrollarse.

La forma en la que respondieron cada uno de los propágulos en las distintas etapas de desarrollo es un indicio de cómo cada uno de los procesos por los que pasa una estructura para reclutar un nuevo individuo van cambiando, y cómo los primeros estadios son los más sensibles y en donde vemos más diferencias entre los propágulos de las tres poblaciones estudiadas.

Las diferencias que encontramos entre los propágulos de los hábitats de *O. microdasys* en la RBM son coincidentes con la forma en que cada tipo de propágulo recluta individuos en cada una de las poblaciones, lo cual es evidencia de los procesos evolutivos que ocurren a escala poblacional y sugieren una adaptación local.

La presencia de varios tipos de reproducción en las poblaciones de especies clonales se ha planteado como una paradoja, debido a que la reproducción sexual parecería proveer menos ventajas en condiciones ambientales estables (Piquot *et al.*, 1998); sin embargo, el escenario de *O. microdasys* parece ser propicio para que todas las formas de reproducción se mantengan en las tres poblaciones de la Reserva de la Biosfera de Mapimí. En este sentido, Bengtsson y Ceplitis (2000) proponen que esto puede ocurrir cuando las condiciones ambientales no son constantes y cada forma de reproducción provee una ventaja en circunstancias particulares, lo cual parece ocurrir en las poblaciones estudiadas.



Así, el mejor desempeño de cada tipo recluta según su origen responde a las condiciones que más lo favorecen en cada población, propiciando un proceso de adaptación local incipiente. ¿Por qué no se han diferenciado las poblaciones propiciando una clara dominancia del tipo de vástago más exitosos? Posiblemente, esto no ha ocurrido ya que no hay una distribución de genotipos exclusivos en las poblaciones (García-Morales *et al.*, 2018) debido al flujo genético propiciado por las semillas y la baja movilidad de los propágulos clonales, por lo que la distribución de genotipos necesaria para la especialización de las formas de reproducción en las poblaciones se diluye (Hörandl, 2006).

El caso de *Opuntia microdasys* es de gran interés para los estudios de evolución de las formas de reproducción sexuales y clonales en plantas, y este trabajo aporta información novedosa acerca del desempeño de cada uno de los propágulos con los que cuenta la especie para reclutar; sin embargo, aún hace falta conocer cuál es el aporte demográfico real de cada uno de estos propágulos en cada tipo de ambiente, ya que aunque conocemos cómo es su comportamiento en condiciones experimentales falta conocer cuáles son las consecuencias sobre las tasas vitales de los *genets* y *ramets* en condiciones naturales, lo cual podría ser por medio de experimentos de trasplantes recíprocos.

## LITERATURA CITADA

- Abrahamson, W., 1975. Reproductive Strategies in Dewberries. *Ecology* 56, 721–726.
- Agresti, A., 2002. *Categorical data analysis*. Wiley-Interscience.
- Arizaga, S., Ezcurra, E., 2002. Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid-land succulent rosette. *Am. J. Bot.* 89, 632–641.
- Barrett, S.C.H., 2015. Influences of clonality on plant sexual reproduction. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112, 8859–8866.
- Bengtsson, B.O., Ceplitis, A., 2000. The balance between sexual and asexual reproduction in plants living in variable environments. *J. Evol. Biol.* 13, 415–422.
- Bowers, J. E. 1996 More flowers or new cladodes ? environmental correlates and biological consequences of sexual reproduction in a Sonoran Desert prickly pear cactus, *Opuntia engelmannii*, *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 123(1), pp. 34–40.
- Bravo-Hollis, H., 1978. *Las Cactáceas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Carrillo-Angeles, I.G., 2011. Efecto de la estructura clonal sobre la dinámica poblacional y la reproducción de *Opuntia microdasys*. Instituto de Ecología Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Chiurugwi, T., Beaumont, M.A., Wilkinson, M.J., Battey, N.H., 2011. Adaptive divergence and speciation among sexual and pseudoviviparous populations of *Festuca*. *Heredity* (Edinb). 106, 854–861.
- Coelho, F.D.E.F., Capelo, C.D.L., Neves, A.C.O., Figueira, J.E.C., 2007. Vegetative propagation strategies of four rupestrian species of *Leiothrix* (Eriocaulaceae). *Rev. Bras. Botânica* 30, 687–694.
- Coelho, F.F., Capelo, C., Neves, A.C.O., Martins, R.P., Figueira, J.E.C., 2006. Seasonal timing of pseudoviviparous reproduction of *Leiothrix* (Eriocaulaceae) rupestrian species in South-eastern Brazil. *Ann. Bot.* 98, 1189–1195.
- Dorken, M.E., Eckert, C.G., 2001. Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *J. Ecol.* 89, 339–350.
- Eckert, C.G., 2002. The loss of sex in clonal plants. *Evol. Ecol.*
- Eckert, C.G., 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, N.C., Roose, M.L., 1987. Patterns of Genotypic Diversity in Clonal Plant Species. *Am. J. Bot.* 74, 123.
- Elmqvist, T., Cox, P.A., 1996. The evolution of vivipary in flowering plants. *Oikos* 77, 3–9.
- Emery, R.J.N., Chinnappa, C.C., Chmielewski, J.G., 1994. Specialization, Plant Strategies, and Phenotypic Plasticity in Populations of *Stellaria longipes* along an Elevational Gradient. *Int. J. Plant Sci.* 155, 203–219.
- Eriksson, O., 1997. Clonal life histories and the evolution of seed recruitment, en: de Kroon, H., van Groenendael, J. (Eds.), *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*. Backhuys Publishers, Leiden, Holanda, pp. 211–226.
- Eriksson, O., 1992. Evolution of seed dispersal and recruitment in clonal plants. *Oikos* 63, 439–448.
- García Morales, E., Carrillo Ángeles, I.G., Golubov, J., Piñero, D., Mandujano, M.C., 2018. Influence of fruit dispersal on genotypic diversity and migration rates of a clonal cactus from the Chihuahuan Desert. *Ecol. Evol.*
- Grace, J.B., 1993. The adaptive significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective. *Aquat. Bot.* 44, 159–180.
- Harmer, R., Lee, J.A., 1978. The growth and nutrient content of *Fesiuca vivipara* (L.) Sm. plantlets. *New Phytol.* 80, 99–106.
- Hernandez-Rosas, L. Molina-freaner, F., Carrillo-Angeles, I., Mandujano, M. enviado Sexual reproduction and genotypic diversity among populations of *Cylindropuntia bigelovii* from the Sonoran Desert, Heradity.
- Honnay, O., Bossuyt, B., 2005. Prolonged clonal growth: Escape route or route to extinction? *Oikos* 108, 427–432.
- Hörandl, E., 2006. The complex causality of geographical parthenogenesis. *New Phytol.* 171, 525–538.
- JMP, S.A.S., 2009. JMP 8 Statistics and Graphics Guide, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. Cary, North Carolina.
- Klein, J.P., Moeschberger, M.L., 2003. *Survival Analysis: Techniques for Censored and*

- Truncated Data. Springer-Verlag, New York.
- Kleinbaum, D.G.D., Klein, M., 2011. Survival Analysis: A Self-Learning Text, Third Edition (Statistics for Biology and Health), Biometrical Journal
- Klimeš, L., Klimešová, J., Hendriks, R., van Groenendael, J., 1997. Clonal plant architecture: a comparative analysis of form and function, en: de Kroon, H., Van Groenendael, J. (Eds.), The Ecology and Evolution of Clonal Plants. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 1–29.
- Klimešová, J., Doležal, J., 2011. Are clonal plants more frequent in cold environments than elsewhere? *Plant Ecol. Divers.* 4, 373–378.
- Lee, J. a, Harmer, R., 1980. Vivipary, a reproductive strategy in response to environmental stress. *Oikos* 35, 254–265.
- Liu, F., Chen, J.-M., Wang, Q.-F., 2009. Trade-offs between sexual and asexual reproduction in a monoecious species *Sagittaria pygmaea* (Alismataceae): the effect of different nutrient levels. *Plant Syst. Evol.* 277, 61–65.
- Liu, W.S., Wei, W., Dong, M., 2009. Clonal and genetic diversity of *Carex moorcroftii* on the Qinghai-Tibet plateau. *Biochem. Syst. Ecol.* 37, 370–377.
- Mandujano, M. C., Montaña, C. Méndez, I. y Golubov, J. 1998. The relative contributions of sexual reproduction and in *Opuntia* clonal propagation *rastrera* from two habitats in the Chihuahuan Desert, *Journal of Ecology*, 86(6), pp. 911–921.
- Mandujano, M.C., Montaña, C., Rojas-Aréchiga, M., 2005. Breaking seed dormancy in *Opuntia rastrera* from the Chihuahuan desert. *J. Arid Environ.* 62, 15–21.
- McLellan, A.J., Prati, D., Kaltz, O., Schmid, B., 1997. Structure and analysis of phenotypic and genetic variation in clonal plants, en: de Kroon, H., van Groenendael, J. (Eds.), The Ecology and Evolution of Clonal Plants. Backhuys Publishers, Leiden, pp. 185–210.
- Miao, S.L., Kong, L., Lorenzen, B., Johnson, R.R., 1998. Versatile Modes of Propagation in *Cladium jamaicense* in the Florida Everglades. *Ann. Bot.* 88, 285–290.
- Montaña, C., 1998. Estudio integrado de los recursos vegetación, suelo y agua de en la Reserva de la Biosfera de Mapimí. Instituto de Ecología A.C., México.
- Moody, A., Diggle, P.K., Steingraeber, D.A., 1999. Developmental analysis of the evolutionary origin of vegetative propagules in *Mimulus gemmiparus* (Scrophulariaceae). *Am. J. Bot.* 86, 1512–1522.

- Palleiro, N., 2001. Propagacion vegetativa a traves de frutos abortados de *Opuntia microdasys* (Lehmann) Pfeiffer, en el desierto de chihuahuense. Fac. de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Palleiro, N., Mandujano, M.C., Golubov, J., 2006. Aborted fruits of *Opuntia microdasys* (Cactaceae): Insurance against reproductive failure. *Am. J. Bot.* 93, 505–511.
- Pan, J.J., Price, J.S., 2001. Fitness and evolution in clonal plants: The impact of clonal growth. *Evol. Ecol.* 15, 583–600.
- Pinheiro, J.C., Bates, D.M., 2000. Mixed effects models in S and S-Plus, Springer VerlagNewYork.
- Piña, H., 2007. Biología reproductiva de *Opuntia microdasys* (Lehm) Pfeiffer en el Desierto Chihuahuense. *Ecol. y Manejo Recur. Nat. Instituto de Ecología A.C.*, Xalapa.
- Piña, H., Montaña, C., Mandujano, M. del C., 2007. Fruit abortion in the Chihuahuan-Desert endemic cactus *Opuntia microdasys*. *Plant Ecol.* 193, 305–313.
- Piquot, Y., Petit, D., Valero, M., Cuguen, J., De Laguerie, P., Vernet, P., 1998. Variation in sexual and asexual reproduction among young and old populations of the perennial macrophyte *Sparganium erectum*. *Oikos* 82, 139–148.
- Price, E.A.C., Marshall, C., 1999. Clonal plants and enviromental heterogeneity. *Plant*
- Ramírez-Padilla, C. A. y Valverde, T. 2005. Germination responses of three congeneric cactus species (*Neobuxbaumia*) with differing degrees of rarity, *Journal of Arid Environments.* *Ecolgy* 141, 3–7.
- Rautiainen, P., Koivula, K., Hyvärinen, M., 2004. The effect of within-*genet* and between-*genet* competition on sexual reproduction and vegetative spread in *Potentilla anserina* ssp. *egedii*. *J. Ecol.* 92, 505–511.
- Reyes-Agüero, J. A., Aguirre R., J. R. y Valiente-Banuet, A. 2006 Reproductive biology of *Opuntia*: A review, *Journal of Arid Environments*, 64(4), pp. 549–585.
- Richards, A.J., 2003. Apomixis in flowering plants: an overview. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 358, 1085–1093.
- Ronsheim, M.L., 1996. Evidence Against a Frequency-Dependent Advantage for Sexual Reproduction in *Allium vineale*. *Am. Nat.* 147, 718–734.
- Schmid, B., Weiner, J., 1993. Plastic Relationships between Reproductive and Vegetative

- Mass in *Solidago altissima*. *Evolution* (N. Y). 47, 61–74.
- 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.
- Silvertown, J., 2008. The Evolutionary Maintenance of Sexual Reproduction: Evidence from the Ecological Distribution of Asexual Reproduction in Clonal Plants. *Int. J. Plant Sci.* 169, 157–168.
- Steiner, B.L., Armbruster, G.F.J., Scheepens, J.F., Stocklin, J., 2012. Distribution of bulbil- and seed-producing plants of *Poa alpina* (Poaceae) and their growth and reproduction in common gardens suggest adaptation to different elevations. *Am. J. Bot.* 99, 2035–2044.
- Vallejo-Marín, M., Dorken, M.E., Barrett, S.C.H., 2010. The Ecological and Evolutionary Consequences of Clonality for Plant Mating. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 41, 193–213.
- Van Drunen, W.E., Dorken, M.E., 2012. Trade-offs between clonal and sexual reproduction in *Sagittaria latifolia* (alismataceae) scale up to affect the fitness of entire clones. *New Phytol.* 196, 606–616.
- van Groenendael, J.M., Klimes, L., Klimesova, J., Hendriks, R.J.J., Groenendael, J.M. Van, 1996. Comparative Ecology of Clonal Plants. *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci.* 351, 1331–1339.
- van Kleunen, M., Fischer, M., Schmid, B., 2000. Clonal integration in *Ranunculus reptans*: by-product or adaptation? *J. Evol. Biol.* 13, 237–248.
- Wang, Y.-J., Shi, X.-P., Zhong, Z.-C., 2013. The relative importance of sexual reproduction and clonal propagation in rhizomatous herb *Iris japonica* Thunb. from two habitats of Jinyun Mountain, Southwest China. *Russ. J. Ecol.*
- Winkler, E., Fischer, M., 2002. The role of vegetative spread and seed dispersal for optimal life histories of clonal plants: A simulation study. *Evol. Ecol.* 15, 281–301.
- Zhang, Y., Zhang, D., 2007. Asexual and sexual reproductive strategies in clonal plants. *Front. Biol. China* 2, 256–262.

## DISCUSIÓN GENERAL

En *Opuntia microdasys* la reproducción en tres poblaciones naturales ubicadas en la Reserva de la Biosfera de Mapimí ocurre a partir de dos tipos de estructuras clonales y de semillas de origen sexual. En trabajos anteriores con esta misma especie y en las mismas poblaciones se ha logrado obtener información sobre: 1) la proporción de individuos que se reclutan por cada una de las unidades de propagación y como difiere entre las poblaciones, 2) como es la distribución de los reclutas bajo plantas de la misma especie (Palleiro, 2001; Palleiro, Mandujano y Golubov, 2006), 3) que hay un sistema de autoincompatibilidad en la especie (H Piña, 2007), 4) la configuración espacial de los genotipos y la diversidad clonal en las poblaciones y su efecto en la producción de frutos (Carrillo-Angeles, 2011; Carrillo-Angeles, Golubov, *et al.*, 2011) y 5) el efecto de los polinizadores en los patrones de dispersión de polen (Cabrera Manrique, 2011). Pero no se conocía la capacidad de dispersión de los frutos, así como su efecto sobre el vecindario genético de todos los reclutas que se establecen en agrupamientos bajo las plantas adultas, y mucho menos su efecto a nivel de la estructura genética de las poblaciones de la RBM. EL estudio de las dispersión de frutos es importante en esta especie ya que que esta estructura funciona como unidad de dispersión sexual o clonal dependiendo de su estado de maduración. Tampoco se sabía si las diferencias de reclutamiento de las formas reproducción entre poblaciones se debía a una especialización de las unidades de propagación a cada uno de los hábitat. Estas preguntas son las que se abordaron en esta tesis.

La movilidad de los frutos por si solos es extremadamente limitada. La dispersión primaria genera un acomodo de los frutos bajo las plantas madres y tiene una gran influencia de la pendiente del hábitat en el que se ubica la población. Este acomodo se puede modifiacr cuando los frutos permanecen por pediodos mas largos de tiempo en el suelo, pero la mayor parte de los frutos se mantienen bajo la planta madre. Con la información de ambos experimentos se demostrará que los frutos son una unidad de dispersión extremadamente limitada, que tienden a permanecer en la misma población o incluso, en mayores proporciones, bajo la cobertura de la planta madre; tal y como se encuentran los plantlets establecidos en radios no mayores de 90cm bajo la planta madre (Palleiro, 2001). Patrones similares se han reparatdo para *Pyrus*

*bourgaeana* (Roseaceae) se encontró que hasta el 80% de los individuos establecidos a una distancia máxima de 1 m son *ramets* de un individuo focal (Castilla, Godoy, Delibes, Rodríguez-Prieto, & Fedriani, 2019) o como con *Tephrocactus aoracanthus* (Cactaceae) en la que las unidades de propagación clonal se establecen en cúmulos de 1m de diámetro al rededor de la planta madre (Almirón y Martínez Carretero, 2013). Estos patrones de dispersión y establecimiento de propágulos clonales son discutidos en Zobel *et al.* (2010) y Zhang y Zhang (2007) y la progenie de origen clonal tiende a establecerse en cumulos altamente densos debido a su limitadas capacidades de dispersión por la falta de mecanismos especializados para tal labor (Eckert, 2002).

La estructura genética de las tres poblaciones fue distinta en los tres niveles analizados: 1) cumulos de reclutas bajo una planta madre conformados por *ramets* pertenecientes al mismo *genet*; 2) altos niveles de variación genética se al interior de las poblaciones y 3) poca diferenciación genética entre las poblaciones. En un estudio previo con la misma especie, Carrillo Angeles *et al.* (2011) encontró un patrón similar, pero a una mayor escala, y determinó una fuerte autorrelación espacial positiva entre genotipos a distancias menores de 20m; pero en ese trabajo no se analizó la diversidad clonal a una escala mas fina ya que su muestreo se enfoco en los individuos reproductivos (aquellos con cinco pencas o mas). En especies clonales como es el caso de *Saxifraga cernua* (Saxigraceae) (Gabrielsen y Brochmann, 1998), *Viola riviniana* (Violaceae) (Auge, Neuffer, Erlinghagen, Grupe, & Brandl, 2001), *Ilex leucoclada* (Aquifoliaceae) (Torimaru y Tomaru, 2005), *Mikania micrantha* (Asteraceae) (Li y Dong, 2009), se ha encontrado una alta diversidad genotípica dentro de las poblaciones y se ha relacionado con una alta reproducción sexual, un gran número de plántulas reclutadas y numerosos genotipos fundadores; este parece ser el caso de *O. microdasys* aunque no medimos directamente la dispersión de las semillas, pero parece ser la única forma de mantener varios genotipos en las poblaciones y flujo genético entre ellas.

Con esto podemos decir que los frutos tienen una movilidad limitada comparada con la potencial movilidad que tienen las semillas (Zobel, Moora y Herben, 2010), como cualquier otro tipo de unidad de dispersión clonal (Eckert, 2002), esto es la causa de que los *ramets* de un *genet* se ubiquen en sus cercanías, quedando las semillas como la única forma de dispersión a larga distancia, y que homogenizan la variación entre las



poblaciones.

A pesar de que la distribución de la variación genética no muestra una clara diferenciación entre las poblaciones ni mucho menos genotipos exclusivos en cada una de ellas, el patrón de reclutamiento de cada una de las unidades de propagación es muy evidente desde que lo midió por primera vez Palleiro *et al.* (2006). En este trabajo pusimos a prueba la capacidad de cada tipo de recluta observado un patrón que corresponde a las preferencias de establecimiento de cada una de las unidades de propagación en las poblaciones. Por un lado los plantlets reclutados en BJD tienen mayores supervivencias y capacidad de crecimiento, las semillas de LPM tienen un mayor porcentaje de germinación y los cladodios de IND son capaces de reclutar más *ramets* al producir un mayor número de nuevos cladodios a partir de un cladodio en el suelo. Las características de cada uno de los tipos de reclutas parecen no ser una adaptación local a cada uno de los ambientes, pero sí son medibles a nivel de reclutamiento entre las poblaciones y de sus respuestas en condiciones experimentales.

Con el experimento de migración no se pudo determinar si había una estructura espacial de la variación genética, ni a nivel local ni entre las poblaciones estudiadas; ya que el mayor porcentaje de la variación lo encontramos entre los individuos, esto es algo que nos permite diferenciar entre familias, pero no entre poblaciones. La mayor parte de los individuos que se reclutan vía clonal permanecen bajo la planta madre, el polen tiene una dispersión que se limita a distancias menores de 40m (Piña, Montaña y Mandujano, 2007); por lo que las semillas parecen ser las estructuras que se dispersan a mayores distancias y son las que evitan que se diferencien las poblaciones y haya una marcada estructura genética entre las poblaciones. Con los experimentos de jardín común pudimos determinar que las cualidades de los tres tipos de reclutas es diferente dependiendo de la población de origen, esto corresponde a los porcentajes de reclutamiento reportados por Palleiro *et al.* (2006); por lo tanto, hay un patrón bien definido en las cualidades de las unidades de propagación que se producen en cada una de las poblaciones. Con la información obtenida en estudios anteriores (Cabrera Manrique, 2011; Carrillo-Angeles, 2011; Palleiro, 2001) y la información de este trabajo, podemos concluir que no hay genotipos asociados a las poblaciones, pero sí respuestas en los individuos que los habitan y que se ven reflejadas en los atributos

demográficos de las unidades de propagación que producen.

Durante el desarrollo de los experimentos de campo pudimos observar que hay una alta tasa de reclutamiento de plantlets (*i.e.* alto reclutamiento clonal) pero que no tienen altas supervivencias, ya que muchos de los reclutas clonales que se registraron en un año al año siguiente se encontraban muertos. Aunque durante los experimentos de campo no se encontraron muchas plántulas en las poblaciones, en los experimentos de jardín común se observó que una vez que comienza el proceso de germinación, las plántulas tienen una alta probabilidad de producir su primer cladodio. A partir de estos resultados podemos inferir que el reclutamiento por medios sexuales es muy eficiente una vez que las semillas consiguen germinar; por lo tanto podemos suponer que las plántulas son el tipo de recluta con la capacidad de establecerse y mantenerse a lo largo del tiempo en las poblaciones naturales. Mientras que la propagación clonal tendría una importancia a nivel local y funcionando como un reservorio de individuos con genotipos probados.

El patrón identificado en estas poblaciones nos habla de poblaciones que se establecen a partir de un conjunto de semillas con genotipos provenientes de varios orígenes y en las que hay un reclutamiento recurrente de plántulas a lo largo de su historia (O Eriksson, 1993a). Los individuos que se reclutan por medio de semillas parecen ser los que logran mantenerse en las poblaciones ya que no se encontraron genotipos predominantes y todos los *ramets* que se reclutan se encuentran en los agrupamientos bajo la planta madre. Si el reclutamiento clonal fuera el origen de los individuos adultos de las poblaciones, hubiéramos encontrado la dominancia de uno o pocos genotipos en cada población (De Visser y Rozen, 2005), y una mayor diferenciación entre las poblaciones, y no entre los individuos dentro de las poblaciones. El reclutamiento de plántulas no se observa con tanta frecuencia en las poblaciones y esto puede deberse a las limitaciones de la germinación, ya que como pudimos medir en el experimento de jardín común, la exposición directa a la luz disminuye mucho las probabilidades de germinación; por lo tanto las semillas necesitan llegar a micrositios con las condiciones de luz necesarias para su germinación.

## CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES

En este trabajo se estudiaron los patrones de dispersión de los frutos, lo que nos permite concluir que el proceso de dispersión primaria determinará el acomodo de los propágulos en los sitios donde se establecerán como nuevos individuos, y que esta está muy influenciada por la pendiente del terreno. Los patrones de reclutamiento ocurren bajo la cobertura de individuos adultos bien establecidos y la gran mayoría de los reclutas son clones. La migración de semillas no se evaluó de forma directa, pero a partir de los marcadores moleculares estimamos que hay una baja diferenciación genética entre las poblaciones, por lo que suponemos que las semillas pueden ser un propágulo que viaje grandes distancias y homogeneizar la variación genética entre las poblaciones. Mientras que la dispersión de frutos abortados es más limitada y es la que contribuye en la formación de grupos de clones muy compactos.

La producción de cada uno de los tipos de propágulos en cada tipo de ambiente si tiene un patrón de reclutamiento diferencial que corresponde a las cualidades de los propágulos que se producen en cada población, sin embargo, no encontramos variación genética asociada a estos patrones. Por lo tanto, se deben hacer estudios que profundicen más en cuáles son las causas de estas diferencias.

A pesar de la información recabada en este sistema biológico aún es necesario profundizar en su estudio, ya que presenta diversas complicaciones que dejan abiertas varias preguntas, por ejemplo: ¿cómo es la dispersión de las semillas?, ¿cuál es el efecto de la dispersión de las semillas sobre los patrones de distribución espacial de los genotipos?, ¿qué factores ocasionan las diferencias en las cualidades de cada tipo de recluta originado en cada población? y ¿cuál es la contribución demográfica de los *genets* y los *ramets* en cada población?.

## LITERATURA CITADA EN LA INTRODUCCIÓN GENERAL Y DISCUSIÓN GENERAL

- Almirón, M. G. y Martínez Carretero, E. (2013) *Tephrocactus aoracanthus* (Lem.) Lem. sexual and clonal reproduction in dominant cacti of the argentine hyper-arid desert, *Journal of Professional Association for Cactus Development*.
- Auge, H. *et al.* (2001) Demographic and random amplified polymorphic DNA analyses reveal high levels of genetic diversity in a clonal violet, *Molecular Ecology*, 10(7), pp. 1811–1819.
- Cabrera Manrique, V. (2011) *Características espaciales que afectan la distancia de dispersión de polen en Opuntia microdasys (Lehm.) Pfeiff. (Cactaceae)*. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México
- Carrillo-Angeles, I. G. (2011) *Efecto de la estructura clonal sobre la dinámica poblacional y la reproducción de Opuntia microdasys*. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México
- Carrillo-Angeles, I. G. *et al.* (2011) Spatial distribution pattern of a clonal species: effects of differential production of clonal and sexual offspring, *Evolutionary Ecology*, 25(6), pp.
- Carrillo-Angeles, I. G. y Mandujano, M. del C. (2011) Patrones de distribución espacial en plantas clonales, *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (89), pp. 1–18.
- Carrillo-Angeles, I. G., Mandujano, M. y Golubov, J. (2011) Influences of the genetic neighborhood on *ramet* reproductive success in a clonal desert cactus', *Population Ecology*. Springer Japan, 53(3), pp. 449–458.
- Castilla, A. R. *et al.* (2019) Microgeographical variation in recruitment under adult trees: arrival of new genotypes or perpetuation of the existing ones?, *Plant Biology*.
- Caswell, H. (1985) The evolutionary demography of clonal reproduction, en Jackson, J. B. C., Buss, L. W., and Cook, R. E. (eds) *Population Biology and Evolution of Clonal Organisms*. New Haven: Yale University Press, pp. 187–244.
- Chen, Y. *et al.* (2009) Genetic diversity and migration patterns of the aquatic macrophyte *Potamogeton malaianus* in a potamo-lacustrine system, *Freshwater Biology*, 54(6), pp. 1178–1188.
- Dorken, M. E. y Eckert, C. G. (2001) Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae), *Journal of Ecology*, 89(3), pp. 339–350.

- Eckert, C. G. (2001) The loss of sex in clonal plants, *Evolutionary Ecology*, 15(4-6), pp. 501-520.
- Eckert, C. G. *et al.* (2003) Population genetic consequences of extreme variation in sexual and clonal reproduction in an aquatic plant, *Molecular Ecology*, 12, pp. 331-344.
- Eriksson, O. (1993a) Dynamics of *genets* in clonal plants, *Trends in ecology & evolution*, 8(9), pp. 313-6.
- Eriksson, O. (1993b) Evolution of seed dispersal and recruitment in clonal plants, *Oikos*, 63(3), pp. 439-448.
- 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(12), pp. 1701-1708.
- Gottlieb, L. D. (1973) Genetic differentiation, sympatric speciation, and the origin of a diploid species of *Stephanomeria*, *American Journal of Botany*, 60(6), pp. 545-553.
- Grace, J. B. (1993) The adaptive significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective, *Aquatic Botany*, 44(2-3), pp. 159-180.
- van Groenendael, J. M. *et al.* (1996) Comparative Ecology of Clonal Plants, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 351(1345), pp. 1331-1339.
- Halkett, F., Simon, J. y Balloux, F. (2005) Tackling the population genetics of clonal and partially clonal organisms, *Trends in Ecology & Evolution*, 20(4), pp. 194-201.
- 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(5), pp. 448-455.
- Hamrick, J. L. y Nason, A. D. (1996) Consequence of dispersal in plants, en Rhodes, O. E. J. y Chesser, R. K. (eds) *Population ecology in space and time*. Chicago: The University of Chicago Press, pp. 203-236.
- Harper, J. L. (1977) *Population Biology of Plants*. London: Academic Press.
- Hu, A. Q. *et al.* (2017) Preponderance of clonality triggers loss of sex in a bicolor, an obligately outcrossing epiphytic orchid, *Molecular Ecology*, 26(13), pp. 3358-3372.
- Janzen, D. H. (1977) What are Dandelions and Aphids?, *The American Naturalist*, 111(9), pp. 586-589.
- Klimeš, L. *et al.* (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*. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers, pp. 1–29.
- De Kroon, H. *et al.* (2005) A modular concept of phenotypic plasticity in plants, *New Phytologist*, pp. 73–82.
- Li, J. y Dong, M. (2009) Fine-scale clonal structure and diversity of invasive plant *Mikania micrantha* H.B.K. and its plant parasite *Cuscuta campestris* Yunker, *Biological Invasions*, 11(3), pp. 687–695.
- Mandujano, M. C. *et al.* (2001) Integration of demographic annual variability in a clonal desert cactus, *Ecology*. Ecological Society of America, 82(2), pp. 344–359.
- Mandujano, M. C. (2007) La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones, en Eguiarte, L. E., Souza, V., y Aguirre, X. (eds) *Ecología Molecular*. México, D.F.: SEMARNAT, INE, UNAM, CONABIO, pp. 215–250.
- 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(2), pp. 141–153.
- Mandujano, M. del C. *et al.* (1998) The relative contributions of sexual reproduction and in *Opuntia* clonal propagation rastrera from two habitats in the Chihuahuan Desert, *Journal of Ecology*, 86(6), pp. 911–921.
- Maynard Smith, J. (1978) *The evolution of sex*. Cambridge: Cambridge University Press.
- McLellan, A. J. *et al.* (1997) Structure and analysis of phenotypic and genetic variation in clonal plants, en de Kroon, H. y van Groenendael, J. (eds) *The ecology and evolution of clonal plants*. Leiden: Backhuys Publishers, pp. 185–210.
- Mogie, M. y Hutchings, M. (1990) Phylogeny, ontogeny and clonal growth in vascular plants, en van Groenendael, J. y de Kroon, H. (eds) *Clonal growth in plants: regulation and function*. SPB Academic Publishing, The Hague.
- Montaña, C. (1998) *Estudio integrado de los recursos vegetación, suelo y agua de en la Reserva de la Biosfera de Mapimí*. México: Instituto de Ecología A.C.
- Palleiro, N. (2001) *Propagación vegetativa a través de frutos abortados de Opuntia microdasys (Lehmann) Pfeiffer, en el desierto de chihuahuense*, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Palleiro, N., Mandujano, M. C. y Golubov, J. (2006) Aborted fruits of *Opuntia microdasys*

- (Cactaceae): Insurance against reproductive failure, *American Journal of Botany*, 93(4), pp. 505–511.
- Pan, J. J. y Price, J. S. (2001) Fitness and evolution in clonal plants: The impact of clonal growth, *Evolutionary Ecology*, 15(4–6), pp. 583–600.
- Pedersen, B. y Tuomi, J. (1995) Hierarchical selection and fitness in modular and clonal organisms, *Oikos*. Blackwell Publishing Limited, 73(2), pp. 167–180.
- Piña, H. (2007) *Biología reproductiva de Opuntia microdasys (Lehm) Pfeiffer en el Desierto Chihuahuense*, Ecología y Manejo de Recursos Naturales. Instituto de Ecología A.C.
- Piña, H., Montaña, C. y Mandujano, M. del C. (2007) Fruit abortion in the Chihuahuan-Desert endemic cactus *Opuntia microdasys*, *Plant Ecology*, 193(2), pp. 305–313.
- Pluess, A. R. y Stöcklin, J. (2005) The importance of population origin and environment on clonal and sexual reproduction in the alpine plant *Geum reptans*, *Functional Ecology*, 19(2), pp. 228–237.
- Polloux, B. J. A. et al. (2007) Reproductive strategy, clonal structure and genetic diversity in populations of the aquatic macrophyte *Sparganium emersum* in river systems, *Molecular Ecology*, 16, pp. 313–325.
- Prati, D. y Schmid, B. (2000) Genetic differentiation of life-history traits within populations of the clonal plant *Ranunculus reptans*, *Oikos*, 90(3), pp. 442–456.
- Price, E. A. C. y Marshall, C. (1999) Clonal plants and environmental heterogeneity, *Plant Ecology*, 141, pp. 3–7.
- Sackville Hamilton, N. R., Schmid, B. y Harper, J. L. (1987) Life-History Concepts and the Population Biology of Clonal Organisms, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. The Royal Society, 232(1266), pp. 35–57
- Tiffney, B. H. y Niklas, K. J. (1985) Clonal growth in land plants: a paleo botanical perspective, en Jackson, J. B. C., Buss, L., y Cook, R. E. (eds) *Population biology and evolution of clonal organisms*. Yale University Press.
- Torimaru, T. y Tomaru, N. (2005) Fine-scale clonal structure and diversity within patches of a clone-forming dioecious shrub, *Ilex leuoclada* (Aquifoliaceae), *Annals of Botany*, 95(2), pp. 295–304.
- Tuomi, J. y Vuorisalo, T. (1989a) Hierarchical selection in modular organisms, *Trends in Ecology and Evolution*, 4(7), pp. 209–213.

- Tuomi, J. y Vuorisalo, T. (1989b) What are the units of selection in modular organisms, *OIKOS*, 54, pp. 227–233.
- Vallejo-Marín, M., Dorken, M. E. y Barrett, S. C. H. (2010) The Ecological and Evolutionary Consequences of Clonality for Plant Mating, *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41(1), pp. 193–213.
- Vandepitte, K. *et al.* (2010) Extremely low genotypic diversity and sexual reproduction in isolated populations of the self-incompatible lily-of-the-valley (*Convallaria majalis*) and the role of the local forest environment, *Annals of Botany*, 105(5), pp. 769–776.
- De Visser, J. a G. M. y Rozen, D. E. (2005) Limits to adaptation in asexual populations, *Journal of Evolutionary Biology*, 18(4), pp. 779–788.
- Vourisalo, T. *et al.* (1997) Hierarchical Selection in a Clonal Plants, en de Kroon, H. y van Groenendael, J. (eds) *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*. Leiden: Backhuys Publishers, pp. 243–260.
- Watson, M. A., Hay, M. J. M. y Newton, P. C. D. (1997) Developmental phenology and the timing of determination of shoot bud fates: ways in wich the developmental program modulates fitness in clonal plants, en de Kroon, H. y van Groenendael, J. (eds) *The ecology and evolution of clonal plants*. Leiden, Backhuys Publishers, pp. 31–53.
- Zhang, Y. y Zhang, D. (2007) Asexual and sexual reproductive strategies in clonal plants, *Frontiers of Biology in China*. 2(3), pp. 256-262.
- Zobel, M., Moora, M. y Herben, T. (2010) Clonal mobility and its implications for spatio-temporal patterns of plant communities: What do we need to know next?, *Oikos*, 119(5), pp. 802–806.