



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA
PALMA KUKA'
(*Pseudophoenix sargentii* H. Wendl. ex Sarg.) EN LA
RESERVA DE LA BIOSFERA RÍA LAGARTOS

Tesis que presenta

SARA VILLANUEVA VIRAMONTES

En opción al título de
MAESTRO EN CIENCIAS
(Ciencias Biológicas: Opción Recursos Naturales)

Mérida, Yucatán, México
Agosto 2011





RECONOCIMIENTO



Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis titulado **Diversidad y Estructura Genética de la palma Kuka' (*Pseudophoenix sargentii* H. Wendl. ex Sarg.) en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos** fue realizado en los laboratorios de la Unidad de **Recursos Naturales** del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección del **Dr. Rafael Durán García**, dentro de la Opción **Recursos Naturales**, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

Atentamente,

Dr. Oscar A. Moreno Valenzuela

Director Académico

Centro de Investigación Científica de Yucatán, AC.

Mérida, Yucatán, México; a 18 de agosto de 2011

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.



Firma: _____

Nombre: SARA Villanueva Viramontes

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de la maestría.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C. (CICY) en especial a la Unidad de Recursos Naturales por las instalaciones prestadas durante la realización de este estudio.

A mis asesores Dr. Rafael Durán García y Dr. Jaime Martínez Castillo por la dirección de la tesis, por compartir sus conocimientos, por sus comentarios y sugerencias aportados para la mejora de este trabajo, por el tiempo dedicado en la revisión del documento y por su amistad brindada durante mis estudios.

A mi comité tutorial y evaluador: al Dr. Eduardo Morales Guillaumin, por la enriquecedora revisión de la tesis que hizo que este estudio mejore, a la Dra. Patricia Delgado Valerio por sus consejos en la metodología y sus comentarios puntuales y oportunos, a la Dra. Martha Méndez González por los comentarios y sugerencias muy oportunos, así como su confianza y por sus palabras de ánimo para continuar durante la realización de este estudio, a la Dra. Ivón Sánchez del Pino por su tiempo por los comentarios y sugerencias, así como su confianza. A todos ellos gracias por su paciencia e interés en la revisión del documento.

A Erika Tetetla por su amistad y apoyo para volver a “montarme en la bicicleta de la vida”, y continuar mis estudios hasta este momento.

A la Dra. Merari Ferrer por su amistad, palabras de ánimo y consejo sobre todo en este último semestre.

Al técnico Julián Coello Coello por compartir sus conocimientos conmigo, por su adiestramiento en el laboratorio y sus sabios consejos; al Ing. Alfredo Dorantes Euan por su gran amistad durante mi estadía en la maestría y su apoyo en las primeras tres colectas de material vegetal; a la LARN. Mariela Castilla Martínez por su amistad y grata compañía y apoyo en las primeras tres colectas de material vegetal; al M.C. Francisco Chi May, por su amistad y su apoyo oportuno durante este último semestre, así como también su apoyo en la última colecta de material vegetal; a Gabriel Dzib por su amistad y apoyo en la colecta de material vegetal. A todos ellos gracias por compartir sus conocimientos.

A mis compañeros Biol. Gerardo Godoy, Biol. Fernando Fleites, Biol. Goretty Herrera y la Ing. Jessi Ake por su amistad y apoyo en la colecta de material vegetal, por sufrir conmigo calores, y moscos gigantes.

A mis compañeros de grupo de investigación: a la M.C. Wendy M. Torres por su amistad y apoyo en momentos difíciles, a la Ing. Candy Pérez por su amistad y confianza, Biol. Hiram Blancarte, por su amistad este último semestre.

A mis compañeros de laboratorio: Rubén Andueza y Luciana Camacho por su amistad y confianza, a Ana Carolina por sus divertidas conversaciones durante las comidas.

A mis amigos M.C. Víctor M. Canché Ek y Félix Dzul Tejero por su incondicional amistad, por los viernes de ciencia, filosofía pura y "tintos".

A mis amigos y nueva familia aquí en esta tierra ajena en donde se encuentra ahora parte de mi corazón: al Pastor Marcos Ramírez y María Luisa Castañeda por su amistad y cariño, por su cobijo y consejo... porque pedí a Dios "peras y manzanas" para comprender que es lo que quiere para mí, porque soy torpe... y me dio a ustedes "bello ejemplo"; al M.C. Carlos Regla por su incondicional amistad y apoyo al no permitir que me amargue o decaiga, jeje!!... a Anna Belem Manzanilla por su incondicional amistad, apoyo y cobijo, te quiero; a Arely y Ángel Barbeito y Joaquín García por su amistad incondicional y palabras de ánimo, porque siempre me confrontan con "Las Escrituras"; a Ileana de la Cruz por venir a recordarme con el ejemplo que "lo que sale de mi boca es de lo que está lleno mi corazón"...

Al Biol. Isaac Castillo porque a pesar de todo atesoramos la gran amistad y el perdón de Dios.

A mi mami Yoly por sus oraciones, por su confianza, por su amor, por su apoyo en el cuidado de mis hijos en momentos difíciles, hay tanto que agradecer mami, que no acabaría, te amo.

A mi papá Gerardo por su apoyo incondicional, por sus consejos y por decirme las cosas como son y quererme tanto, te amo.

A mis hermanos Gery y David por el gran amor y cuidados que tienen con mis hijos, por todo su apoyo gracias, los amo.

A mis tíos Ada y Rámis, Sara, Gaby y Pancho, Ceci y Samuel por el apoyo y cuidado que han tenido con mis hijos en mi ausencia; así también mis primos: Adrián, Gaby, Mercy, Cony, Ale y Valeria, gracias.

DEDICATORIA

A Dios sea la honra y la gloria.

Aquello que fue, ya es; y lo que ha de ser, fue ya; y Dios restaura lo que pasó.

Eclesiastés 3:15

A mis hijos Dante y Dania por llenar mis días con risas, por acompañarme a seminarios, exámenes y noches largas de estudio, por su amor incondicional, a Dios gracias por sus vidas que han venido a alegrar la mía.

A la hermosa Kuka' con enigmática belleza.

	Página
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	3
CAPÍTULO I.....	5
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	5
ANTECEDENTES.....	11
Pérdida de la Biodiversidad.....	11
Genética de la Conservación	13
Diversidad Genética	14
Estructura Génica y Flujo Génico	17
Marcadores Moleculares: Microsatélites	20
HIPÓTESIS.....	23
OBJETIVO GENERAL.....	24
Objetivos específicos.....	24
BIBLIOGRAFÍA.....	25
CAPÍTULO II. DIVERSIDAD, ESTRUCTURA Y RELACIONES GENÉTICAS DE LA PALMA KUKA'.....	35
INTRODUCCIÓN.....	35
METODOLOGÍA.....	38
Especie de estudio	38
Área de estudio	44
Sitios de Muestreo y Colecta de material vegetal.....	45
Laboratorio.....	49
Análisis de datos	52
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
Diversidad, Estructura y Relaciones Genéticas de la palma Kuka' en la RBRL	55
Estudio Exploratorio de la Diversidad, Estructura y Relaciones Genéticas de la palma Kuka' en la Península de Yucatán, México.....	63
BIBLIOGRAFÍA.....	72

CAPÍTULO III. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES	79
IMPLICACIONES PARA LA CONSERVACIÓN	79
COLONIZACIÓN DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN POR PARTE DE LA PALMA KUKA'	81
BIBLIOGRAFÍA.....	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Distribución natural conocida de <i>P. sargentii</i> en la República Mexicana...	39
2	<i>Pseudophoenix sargentii</i> H. Wendl. ex Sarg.	41
3	Estructuras reproductivas de <i>P. sargentii</i>	42
4	Mapa de la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos (RBRL).	44
5	Ubicación geográfica de los sitios de muestreo de <i>P. sargentii</i> en la RBRL.	48
6	Ubicación geográfica de los sitios de muestreo de <i>P. sargentii</i> en la Península de Yucatán.	48
7	Frecuencias alélicas de los 9 loci especie-específicos en la RBRL.	56
8	Representación gráfica del AMOVA para <i>P. sargentii</i> en la RBRL.	58
9	Dendrograma (UPGMA) basado en la distancia genética no sesgada de Nei (1978) en la RBRL.....	59
10	Correlación entre la distancia genética (Nei 1972) y la distancia geográfica de <i>P. sargentii</i> en la RBRL.	60
11	Análisis de coordenadas principales (PCoA) basado en la distancia genética no sesgada de Nei (1978) en la RBRL.	60
12	Coeficientes de ancestría: (K = 4) en la RBRL.....	61
13	Coeficientes de ancestría: (K = 2) en la RBRL.	61
14	Frecuencias alélicas de los 9 loci especie-específicos en la Península de Yucatán.	64
15	Representación gráfica del AMOVA para <i>P. sargentii</i> en la Península de Yucatán.	67
16	Dendrograma (UPGMA) basado en la distancia genética no sesgada de Nei (1978) en la Península de Yucatán.	67
17	Correlación entre la distancia genética (Nei 1972) y la distancia geográfica de <i>P. sargentii</i> en la Península de Yucatán.	68
18	Análisis de coordenadas principales (PCoA) basado en la distancia genética no sesgada de Nei (1978) en la Península de Yucatán.	69
19	Coeficientes de ancestría: (K = 4) en la Península de Yucatán.	70
20	Coeficientes de ancestría: (K = 2) en la Península de Yucatán.	71

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Descripción de los sitios de estudio de <i>P. sargentii</i> en la Península de Yucatán.	47
2	Características de los 10 pares de iniciadores de microsatélites transgénicos utilizados en el análisis de diversidad y estructura genética en la RBRL.	50
3	Características de los 10 pares de iniciadores de microsatélites especie-específicos utilizados en el análisis de la diversidad y estructura genética en la RBRL y en la Península de Yucatán.	51
4	Prueba para el Equilibrio Hardy Weinberg para cada locus en la RBRL.	55
5	Estimadores de la diversidad genética para <i>P. sargentii</i> en la RBRL.	57
6	Estimadores de estructura genética y el análisis de varianza molecular para <i>P. sargentii</i> en la RBRL.	58
7	Prueba para el Equilibrio Hardy-Weinberg para cada locus en la Península de Yucatán.	63
8	Estimadores de la diversidad genética para <i>P. sargentii</i> en la Península de Yucatán.	65
9	Estimadores de estructura genética y el análisis de varianza molecular para <i>P. sargentii</i> en la Península de Yucatán.	66

RESUMEN

El acelerado proceso de transformación de ecosistemas y la crisis ambiental actual exigen diseñar estrategias de conservación *in situ* y *ex situ*, que ayuden a disminuir la pérdida de diversidad de las especies nativas de México, como lo es *Pseudophoenix sargentii*, que tiene un papel fundamental en la estructura de los ecosistemas donde se desarrolla y la cual se encuentra enlistada en la NOM-059-SEMARNAT-2010 catalogada como una especie amenazada, además de estar considerada como una especie rara por su distribución limitada a la Cuenca del Caribe.

Por ello, el objetivo de este trabajo fue determinar la variabilidad y estructura genética de las poblaciones de la palma Kuka' que crecen en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, con base al uso de microsatélites nucleares, por ser una zona aparentemente bien conservada y por presentar las poblaciones más numerosas en su distribución natural.

Los resultados muestran niveles muy bajos de variabilidad y estructura genética dentro y entre las localidades analizadas, esto debido a un significativamente alto flujo génico ($N_m = 8.25$), por lo que podemos sostener que en efecto se trata de una sola población que ocupa toda el área de duna costera en la Reserva. Al comparar los niveles de variabilidad genética encontrada en Ría Lagartos con otras poblaciones del Caribe mexicano se observó el mismo patrón de baja variabilidad y estructura genética dentro de las poblaciones, pero una mayor variabilidad entre poblaciones y una mayor diferenciación entre éstas, lo que sugiere la existencia de varias poblaciones de esta especie en la Península de Yucatán.

La información generada en este estudio, sumada a la información ecológica de esta especie, puede orientar la formulación de estrategias de conservación no sólo de su acervo genético, sino también del ecosistema en donde se desarrolla, e incluso ser considerada como una alternativa para el desarrollo sustentable de las comunidades humanas que ocupan la Reserva, mediante el aprovechamiento racional de las poblaciones de *P. sargentii*.

Los resultados permiten además especular acerca de diferentes eventos fundadores en distintas épocas geológicas a lo largo del litoral costero de la Península, durante su emersión entre neógeno superior y el holoceno medio.

ABSTRACT

The accelerated process of transformation of ecosystems and the current environmental crisis requires designing strategies for in situ and ex situ conservation, to help reduce the loss of diversity of native species of Mexico, as it is *Pseudophoenix sargentii*, which has a key role in the structure of ecosystems where it takes place and which is listed in the NOM-059-SEMARNAT-2010 listed as an endangered species as well as being regarded as a rare species by its limited distribution on the basin of the Caribbean.

For this reason, the objective of this work was to determine variability and genetic structure of the populations of the Kuka Palm ' grow in the reserve of Ría Lagartos biosphere, based on the use of nuclear microsatellite, for being an area apparently well preserved and presenting the largest populations in their natural distribution. The results show very low levels of genetic structure and variability within and between the analyzed localities, this due to a significantly high gene flow ($N_m = 8.25$), by which it cannot hold that this is indeed a single village that occupies the entire area of coastal dune in the reserve. Comparing levels of genetic variation found in Ría Lagartos with other populations of the Mexican Caribbean noted the same pattern of low variability and genetic structure within populations, but a greater variability among populations and greater differentiation between them, which suggests several populations of this species in the peninsula of Yucatán.

The information generated in this study in addition to the ecological information of this kind can guide the formulation of strategies of conservation not only of their gene pool, but also the ecosystem in which it develops, and even be considered as an alternative for the sustainable development of human communities that occupy the reserve, through the rational use of the populations of *P. sargentii*.

The result can speculate about different founding events in different geological periods along the coastline of the peninsula, during surfacing between upper Neogene and the Middle Holocene..

INTRODUCCIÓN GENERAL

La biodiversidad o diversidad biológica incluye la variabilidad genética (la variación genética contenida en cada especie), la diversidad de especies (la variedad de especies en un ecosistema dado) y la diversidad de comunidades/ecosistemas (la variedad de tipos de hábitats y procesos de los ecosistemas) (Raven, 1992; Temple, 1991). Esta biodiversidad es el producto de los procesos ecológicos y evolutivos que han ocurrido en el planeta y que siguen operando hoy en día.

La biodiversidad es fundamental para la salud del planeta y tiene un impacto directo sobre nuestra vida; su pérdida se traduce directamente en la reducción de los bienes y servicios ambientales que los ecosistemas proveen, así como en una mayor vulnerabilidad ante los desastres naturales, los efectos del calentamiento global (WWF/Adena, 2008) y el efecto acumulativo del cambio de hábitat, el cambio climático, la introducción de especies invasoras, la explotación excesiva y la contaminación, se puede observar de manera más intensa (Secretaría del Convenio sobre la Diversidad, 2006).

La continua pérdida de diversidad biológica, es una medida del desequilibrio entre las necesidades y deseos humanos, y la capacidad de la naturaleza para su mantenimiento (Raven, 1992). En nuestros días uno de los problemas más acuciantes para el desarrollo sostenible, es conseguir un equilibrio entre la utilización y la conservación de los recursos.

Hay múltiples indicios de la continua pérdida de los tres principales componentes de la biodiversidad (genes, especies y ecosistemas), entre los que cabe mencionar los siguientes (Secretaría del Convenio sobre la Diversidad, 2010):

- En promedio (36%), las especies cuyo riesgo de extinción se ha evaluado (47,677) en distintas categorías de peligro de extinción incluidas en la Lista Roja de la UICN corren cada vez más peligro. Además se estima que cerca de un cuarto de las especies vegetales está en peligro de extinción.
- La abundancia de especies de vertebrados se redujo en promedio casi en un tercio y sigue decreciendo a nivel mundial (en el periodo de 1970 a 2006).

- Los hábitats naturales de la mayor parte del mundo siguen deteriorándose en cuanto a extensión e integridad (se calcula una pérdida neta de superficie forestal en el periodo del 2000 al 2005 de 7,3 millones de ha/año de), aunque se ha visto un progreso en la reducción del ritmo de pérdida de los bosques tropicales y manglares en algunas regiones, excepto en Asia.
- La amplia fragmentación y degradación de los bosques, ríos y otros ecosistemas han causado la pérdida de diversidad biológica, de recursos naturales y de servicios ecosistémicos.
- En los sistemas agrícolas continúa disminuyendo la diversidad genética de los diferentes cultivos, así como de especies y variedades de ganado.
- Las principales presiones que impulsan directamente la pérdida de biodiversidad (el cambio del hábitat, la sobreexplotación, la contaminación, la introducción de especies exóticas invasoras y el cambio climático) se mantienen constantes o se intensifican.

La pérdida de biodiversidad puede alterar el funcionamiento de los ecosistemas, afectando de esta manera también su grado de vulnerabilidad y los servicios ambientales que proporcionan. Cuando una especie se extingue localmente se producen efectos en cascada, afectando significativamente el tamaño de las poblaciones de otras especies, lo que puede conducir a la extinción local de éstas (World Resources Institute, s.f.). Nos enfrentamos al gran reto de detener la pérdida de especies provocada por la destrucción y fragmentación de sus hábitats, lo que sin duda tendrá efectos más duraderos. Aunque en el pasado ha habido grandes extinciones, ninguna ha ocurrido tan rápido o ha sido causada por acciones de una sola especie, siendo la mayor extinción de especies registrada en la historia del planeta (Molina, 2008); la desaparición de la megafauna en distintos puntos del planeta ha coincidido con la llegada de los seres humanos a esos sitios, y de la misma manera el cambio de uso de suelo para la agricultura y el crecimiento urbano han tenido un impacto negativo en los ecosistemas (Eldredge, 2001).

Además de la extinción de especies, hay una pérdida continua de poblaciones únicas, así como de diversidad genética, hábitats y ecosistemas singulares. La diversidad genética tiene problemas especialmente difíciles de abordar, relacionados con la conservación y utilización de ésta, ya que no son sólo los genes los que deben

conservarse, sino que también hay que mantener los procesos evolutivos (Namkoong y Ouédraogo, 1997; FAO, 1993). Es sabido que la pérdida de la diversidad genética es uno de los factores más importantes en el proceso de extinción de las especies, y que dicha variabilidad está directamente relacionada con la adecuación promedio de sus poblaciones (Reed y Frankham, 2003). Es decir, la importancia de la diversidad de un ecosistema es análoga a la importancia de la diversidad genética de una población. Ambas formas de diversidad contribuyen a la salud y la solidez de un sistema más grande. Cuando estos niveles de diversidad disminuyen, ambos sistemas son menos capaces de adaptarse o responder ante un entorno cambiante.

La disminución en el número y el tamaño de las poblaciones de especies, junto con la fragmentación de las comunidades vegetales, las masas de agua continentales y los hábitats marinos, ha llevado necesariamente a una disminución general de la diversidad genética de la vida en la Tierra. Es importante analizar la pérdida de la diversidad genética de las poblaciones silvestres, sobre todo de aquellas especies amenazadas y/o en peligro de extinción, ya que su valor no es meramente estético, sino que éstas presentan un papel importante en el ecosistema.

Si bien esta disminución preocupa por muchas razones, la pérdida de biodiversidad en las variedades y especies de plantas y animales utilizadas para la subsistencia de las comunidades humanas, se suma el efecto de la pérdida de variabilidad genética. Así como la homogeneización general de los paisajes y las variedades agrícolas (traducido en pérdida de la variabilidad genética) puede provocar que las poblaciones rurales se vuelvan más vulnerables a los cambios futuros, de la misma manera las especies silvestres se ven afectadas por la disminución de la variabilidad genética en sus poblaciones, debido a la fragmentación y destrucción de su hábitat principalmente (Whitmore y Sayer, 1992; Oldfield, 1988).

Entre los ecosistemas más afectados por la fragmentación y deforestación, se encuentran los bosques tropicales, los cuales tienen una amplia gama de eventos que los amenazan ahora y en el futuro próximo. Estas presiones incidirán sobre las estrategias de conservación, ya que no basta con evitar alteraciones, es necesario prever incertidumbres y cambios (Eriksson *et al.*, 1993; Ledig y Kitzmiller, 1992).

Los bosques tropicales ocupan aproximadamente el 7% de la superficie terrestre total (Myers, 1989) y contienen más del 70% de las especies del planeta (Cayuela, 2006), además de poseer numerosos endemismos (Krukkeberg y Rabinowitz, 1985), muchas de estas especies (59% en el periodo de 1970 al 2006) se encuentran hoy en día amenazadas de extinción (Secretaría del Convenio sobre la Diversidad, 2010).

La deforestación de estos bosques, representa la mayor pérdida potencial de especies (Whitmore y Sayer, 1992; Oldfield, 1988) y conlleva graves consecuencias biológicas y económicas, lo que ha motivado serias controversias relacionadas a la seguridad alimentaria y la continuidad de la vida (UNFCCC, 1998; XI Congreso Forestal Mundial, 1997; Agenda 21 de la Cumbre de Río, 1992), sobre todo ante el escenario actual de cambio climático.

México posee una gran variedad de palmas en sus bosques tropicales, 100 especies reportadas (Quero, 1994a), que corresponden al 17.89% mundial (Jones, 1995), con 63 especies sujetas a alguna categoría de protección según la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010). Las palmas llegan a ser elementos predominantes en las comunidades vegetales de las zonas tropicales (Durán y Franco, 1992; Durán, 1992b; Oyama, 1987; Vandermeer *et al.*, 1974), así como elementos estructuradores del paisaje, participando en procesos como la determinación del microclima lumínico, el aporte de nutrimentos y la regulación del establecimiento de nuevos individuos en el sotobosque (Durán y Franco, 1992; Martínez-Ramos *et al.*, 1988; Sarukhán *et al.*, 1985).

Las palmas también constituyen uno de los grupos de plantas más útiles para las comunidades rurales, sobre todo en las regiones tropicales (Jones, 1995). Son utilizadas para una gran variedad de actividades como la construcción de viviendas, labores artesanales, alimento y obtención de varios productos, como aceites, además de su importante uso como ornamentales (Orellana y Durán, 1992).

La Península de Yucatán es considerada la región del país que posee la mayor cantidad de géneros de palmas (14 géneros y 20 especies), cuatro de origen antillano, nueve de origen centroamericano y uno de origen norteamericano (Ferrer, 2004; Quero, 1992a). En esta región, las palmas constituyen una de las familias de plantas más

importantes en el desarrollo cultural de los grupos indígenas (Durán *et al.*, 1997; Caballero, 1992; Flores-Guido y Ucán, 1983, Gutiérrez, 1983). Las especies más usadas son el Huano (*Sabal yapa* C. Wright ex Becc.), el Chit (*Thrinax radiata* Lodd. ex Schult. & Schult. f.), el Coco (*Cocos nucifera* L.), el Nakax (*Coccothrinax readii* H.J. Quero) y el Xiat (*Chamaedorea seifrizii* Burret). Además, se han utilizado otras especies como ornato en espacios urbanos.

El crecimiento de las ciudades ha tenido como consecuencia una mayor presión sobre las poblaciones de estas palmas, lo que ha provocado la extracción masiva de plantas de la selva, sin considerar el daño ocasionado (Durán y Franco, 1995), destacando la palma Kuka' (*Pseudophoenix sargentii* H. Wendl. ex Sarg.) como una de las especies más afectadas, a pesar de encontrarse dentro de áreas naturales protegidas como la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an y la Reserva de la Biosfera de Ría Lagartos (Durán y Franco, 1992, Durán, 1992b). Cabe señalar que *P. sargentii* se encuentra enlistada en la NOM-059-SEMARNAT-2010 catalogada como una especie amenazada, de manera que se encuentra legalmente protegida (DOF 2010) además de estar considerada como una especie rara por su distribución limitada a la cuenca del Caribe (SEDUE, 1991; IUCN, 1988).

Es necesario diseñar estrategias de conservación *in situ* y *ex situ*, que ayuden a disminuir la pérdida de diversidad de especies nativas de México, como lo es *Pseudophoenix sargentii*, que tiene un papel fundamental en la estructura de los ecosistemas donde se desarrolla (Durán, 1992).

Por ello, es primordial conocer la variabilidad genética contenida en las poblaciones de esta especie y los factores que la afectan, tanto los inherentes a la biología de la especie (la diversidad y estructura genética de sus poblaciones, los niveles de flujo genético y el tipo de reproducción), como los debidos a la extracción masiva de individuos de las poblaciones y a factores climáticos a los que están sujetas (como los huracanes).

El objetivo del presente trabajo fue determinar la variabilidad y estructura genética de las poblaciones de la palma Kuka' que crecen en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, con base al uso de microsatélites nucleares, por ser una zona aparentemente bien conservada y por presentar las poblaciones más numerosas en su distribución

natural en la Cuenca del Caribe (Zona, 2002; Durán, 1992b). Asimismo, se evaluó la variabilidad genética en las poblaciones de Xel-Ha, Limones, Mahahual y Xcalak (nuevo reporte para esta especie), en la Península de Yucatán.

La información generada en este estudio, sumada a la información ecológica (Ferrer, 2004; Durán y Franco, 1992; Durán, 1992) de esta especie, pueden orientar la formulación de estrategias de conservación no sólo de su acervo genético, sino también del ecosistema en donde se desarrolla, e incluso ser considerada como una alternativa para el desarrollo sustentable de la Reserva (Aguilar, 2008), así como de las comunidades humanas próximas a aquellas poblaciones de *P. sargentii* que no se encuentran protegidas legalmente. Con ello, se puede generar un plan que permita asegurar la preservación de esta palma y del ecosistema donde ésta se desarrolla, con importantes implicaciones para su aprovechamiento y manejo ulterior.

ANTECEDENTES

PÉRDIDA DE LA BIODIVERSIDAD

Los efectos de la intensa presión que nuestra especie ha ejercido sobre los recursos naturales del planeta sobre todo en las últimas cinco décadas, han ocasionado la pérdida de numerosas especies, así como el agotamiento y/o escasez de recursos naturales como el agua potable, el alimento y el suelo. Sin duda, estamos viviendo la primera gran extinción en masa desde finales del Cretácico, hace 65 millones de años, denominada la "Sexta Extinción" (Molina, 2008), comparable con las cinco grandes extinciones en masa del registro geológico o incluso más grande (Smith *et al.*, 1993), con la diferencia de que se ha producido en un periodo de tiempo mucho más corto.

Novacek y Wheeler (1992) señalaron que los análisis de las tasas de extinción geológicas, han indicado que la crisis actual de biodiversidad, se ha convertido en algo concreto, mientras que Sisk *et al.*, (1994) confirmaron que en varios sitios del mundo se están perdiendo organismos a consecuencia de la contaminación, la transformación y fragmentación de los hábitats naturales y la degradación ambiental, debido a la sobrepoblación humana. Se calcula que la tasa de extinción actual puede ser de 1,000 a 10,000 veces mayor que la tasa de extinción biológica normal, o histórica, que va de 1-10 especies extintas al año (Butler, 2009; Kerr y Cihlar, 2004; Wilson, 2002; May y Tregonning, 1998), y que la desaparición de poblaciones a escala regional, puede incluso estar teniendo lugar a un ritmo más acelerado (Ehrlich y Daily, 1993). Meffe y Carroll (1994), consideraron a la pérdida de la variabilidad genética, como la pérdida de las huellas de la vida.

Las especies se relacionan de diferentes formas, dando lugar a complejas redes de interacción. La estructura de estas redes ecológicas determina las funciones de los ecosistemas, como son el reciclado de nutrientes, los flujos de energía, los ciclos biogeoquímicos, entre otras. Estas funciones se perturban cuando el diseño de estas redes se pierde (Levin, 1999; Schulze y Mooney, 1994). La condición clave para proteger la diversidad biológica a corto plazo, está en resguardar los hábitats naturales de los que las especies dependen. Petchey y Gaston (2002) sugieren que para conservar una gran

proporción de caracteres funcionales de las especies, se requiere conservar una gran proporción de todas las especies.

Doce países son considerados como megadiversos y albergan en conjunto entre 60 y 70% de la biodiversidad total del planeta; México es uno de estos países, ocupando el quinto lugar en diversidad de plantas vasculares con 26 mil especies, conteniendo el 10% de todas las especies del planeta, y más del 40% de ellas son especies endémicas (Mittermeier y Goettsch Mittermeier, 1997). Desde la perspectiva de su biodiversidad, una peculiaridad de nuestro país es que muchos grupos de plantas y animales se han diversificado en su territorio; de ahí que existan biotas con numerosos endemismos (CONABIO, 2000). Sin embargo, México también es conocido por ser el segundo país con mayor número de especies vegetales en alguna categoría de amenaza, superado por China (Kew-Natural History Museum of London-IUCN, 2011).

La necesidad de evitar y detener el deterioro ambiental, es un tema que despierta una gran atención social, y conjuntamente ha crecido el interés por la conservación del planeta y su biodiversidad (Secretaría del Convenio sobre la Diversidad, 2010; Ricketts *et al.*, 2005; UNFCCC, 1998; XI Congreso Forestal Mundial, 1997; Agenda 21 de la Cumbre de Río, 1992). Las estrategias globales de conservación deben contemplar el futuro, y de esta forma, un aspecto importante es la necesidad de preservar aquellas características intrínsecas (como la variabilidad genética), que facultan a las poblaciones de una especie para hacer frente a los retos que impone un ambiente cambiante (con sequías, inundaciones, fluctuaciones en la temperatura, etc.). A pesar de que existe un amplio acuerdo en el hecho de que factores genéticos (como la depresión por endogamia) tienen un papel muy importante en el proceso de extinción (Höglund, 2009; DeSalle y Amato, 2004; Hedrick, 2004; Amos y Balmford, 2001), habitualmente los métodos de conservación de especies en hábitats fragmentados se apoyan solamente en el conocimiento demográfico de las poblaciones.

GENÉTICA DE LA CONSERVACIÓN

En los últimos 20 años ha existido un gran debate acerca de la información biológica que se considera esencial para el diseño de estrategias de conservación de especies de plantas raras y en peligro de extinción (Schemske *et al.*, 1994). Pese a esto, parece haber un consenso sobre la importancia de dos aspectos elementales en la evaluación de la situación de las especies amenazadas: el tamaño de la población y las etapas del ciclo de vida que afectan mayormente la tasa de crecimiento demográfico (Sutherland, 2000; Schemske *et al.*, 1994).

No obstante, la "Disciplina de Crisis" la Biología de la Conservación (Dobson y May, 1986), ha incorporado tecnologías para acelerar y aumentar la precisión de la toma de decisiones en materia de conservación, ejemplos de esto son la caracterización genética de especies en peligro de extinción y el análisis de áreas que contienen especies en alguna categoría de amenaza (DeSalle y Amato, 2004). Desde hace más de 30 años, la genética ha tenido una importante participación en esta disciplina de crisis y en la ecología general (Primack, 1993), además ha aportado conocimientos de gran relevancia para la toma de decisiones en la elaboración de estrategias de conservación de la biodiversidad.

Aunque la preservación de las especies más amenazadas dependiera principalmente de la protección de los individuos y del mantenimiento adecuado del hábitat natural, la atención sustancial se ha centrado en la Genética de la Conservación de las especies en peligro de extinción y las poblaciones de animales en cautiverio (DeSalle y Amato, 2004; Soulé y Kohm, 1989; Frankel y Soulé, 1981), a través del estudio de la biología de poblaciones y la biología reproductiva de éstas (Amos y Balmford, 2001), usando como herramienta la biología molecular y de esta manera, conocer el estado de conservación de la diversidad genética contenida en cada una de las poblaciones de dichas especies.

La persistencia de las especies a largo plazo, es una razón por la que es importante mantener su flexibilidad evolutiva. Las actividades humanas que amenazan la biodiversidad imponen presiones selectivas mucho más intensas que las que experimentan en condiciones naturales, o que muchas de éstas especies no han

experimentado con anterioridad, como son la destrucción y fragmentación del hábitat, la contaminación ambiental, la introducción de especies exóticas, la explotación desmedida de los recursos, entre otras. Es el conocimiento de los efectos de estos procesos sobre la diversidad genética intraespecífica, el que debe guiar la delimitación de unidades de conservación, la evaluación de riesgos y el diseño de estrategias de conservación, ya que cuando se reduce la diversidad genética de una población, su potencial adaptativo disminuye y se reduce su capacidad de responder ante futuros retos ambientales (Mitton, 1997; Fisher, 1930). Por tanto, si queremos preservar expectativas para la evolución de las especies, es necesario conservar su variabilidad genética, y la mejor forma de salvaguardar esta capacidad evolutiva en las especies, es conservando sus hábitats.

DIVERSIDAD GENÉTICA

La diversidad o variabilidad genética se refiere al acervo (riqueza y composición) de genes, rasgos y genotipos comprendidos dentro de los individuos de una de las especie, y es generada por los cambios en la secuencia de los cuatro pares de bases del ADN que forman el código genético, lo cual abarca poblaciones diferenciadas de la misma especie o la variación genética dentro de una población (Freeland, 2005; de Vicente *et al.*, 2004; Karp *et al.*, 1997; Raven, 1992; Temple, 1991). Existen diferencias genéticas entre individuos dentro de una población, y también en las frecuencias alélicas entre poblaciones. En total, la cantidad relativa de variación depende de la especie, la historia de vida y del ambiente.

Existen dos tipos de variación genética: (1) la diversidad neutral, la cual no se ve afectada por la selección natural, las frecuencias de los diferentes alelos son consecuencia de procesos aleatorios o direccionales (migración entre poblaciones y la deriva génica) y (2) una diversidad adaptativa (correspondiente a los caracteres con valor adaptativo), en cuyo caso el mantenimiento de nuevos fenotipos originados por mutación depende de su valor selectivo (Jiménez y Collada, 2000).

Bajo este enfoque, "las poblaciones" son las unidades básicas para la persistencia y evolución de las especies, ya que los cambios en las frecuencias alélicas ocurren dentro de estas unidades, y pueden dar lugar a la evolución de los caracteres adaptativos; en ellas normalmente los individuos se distribuyen de manera desigual, no son infinitamente

grandes, ni tampoco permanecen constantes y la reproducción se lleva a cabo entre los individuos que la componen (de Vicente *et al.*, 2004). Las poblaciones, incluso aquellas que “no han sido perturbadas por las actividades humanas”, están expuestas de forma regular a cambios físicos y bióticos, tanto espaciales como temporales de su entorno. A este respecto, Gianoli (2004) sostiene que es limitado el rango de ambientes en que son efectivos los mecanismos homeostáticos de los individuos que componen dichas poblaciones, para tolerar cambios ambientales a corto plazo. Frente a un cambio relativamente rápido, algunas especies podrán sobrevivir emigrando a un hábitat más adecuado. Por el contrario, para las especies raras y/o amenazadas que viven en hábitats muy específicos y/o fragmentados, con barreras que les resultan infranqueables, la única expectativa de respuesta es el cambio adaptativo (Schemske *et al.*, 1994). Por ello la importancia en preservar las características intrínsecas como la diversidad genética intraespecífica, que le permite a las poblaciones enfrentarse a los retos ambientales y a las fuerzas selectivas (Jiménez y Collada, 2000).

Aunque resulta prácticamente imposible analizar todas las variables genéticas presentes en una población, se puede examinar una población a través de la variación de fenotipos individuales (descripción de ciertos rasgos morfológicos y fisiológicos) o de sus genotipos (marcadores moleculares) (Jiménez y Collada, 2000). Las diferencias alélicas en un locus único en una población indican variación genética. Esta variación genética debe ser considerada para los diferentes genes y para los diferentes individuos o poblaciones (Hartl y Clark, 1989). Una condición especialmente crítica es cuando una población de individuos estrechamente relacionados contiene una baja variabilidad genética, ya que si las condiciones ambientales cambian y esa población no cuenta con la variación necesaria para hacer frente al cambio, podría enfrentarse rápidamente a un proceso de extinción (de Vicente *et al.*, 2004).

Para cuantificar de algún modo la variabilidad genética en una población y estimar las relaciones genéticas entre individuos o entre poblaciones, pueden usarse varios atributos, como son los caracteres morfológicos (fenotípicos), ya sea de variables continuas (datos de madurez, volumen, fenología), variables discretas (resistencia a pestes, color, forma) y de caracteres genotípicos, con base al uso de marcadores moleculares como lo son los AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism, por sus

siglas en inglés) y los microsatélites (SSR – Short Sequence Repeat, por sus siglas en inglés) (Marcucci *et al.*, 2005).

Por lo tanto, la diversidad de especies, así como su distribución, abundancia e importancia dentro de los ecosistemas, son una expresión de la variabilidad genética que se ha ido disponiendo a lo largo del proceso de evolución; la suma relativa de variación en los genomas depende de la especie, la historia de vida y del ambiente al que están expuestas (de Vicente *et al.*, 2004). La información para todos aquellos procesos en que se sustenta la vida en nuestro planeta, está comprendida en el cúmulo global de variabilidad genética. Más aun, se empieza a reconocer que la trascendencia de la diversidad genética intraespecífica va más allá de sus efectos sobre la dinámica poblacional, para afectar a la estructura de las comunidades y a los procesos ecosistémicos (Verdú, 2009; Hughes *et al.*, 2008; Whitham *et al.*, 2006).

Son varios los factores que determinan la dinámica de poblaciones de las especies de manera natural, sobre todo en plantas, entre ellos los demográficos (variabilidad ambiental, densidad poblacional) y genéticos (variabilidad genética de los individuos, deriva genética y/o depresión por consanguinidad) (Silvertown y Lovett Doust, 1993). Sin embargo, Ziswiller (1967) detectó que las causas inmediatas de extinción son a menudo debidas a la devastación por la acción humana, la introducción de especies exóticas y la destrucción del hábitat, los cuales parecen ser los factores que han afectado más la dinámica de las poblaciones. Por ello es necesario comprender los efectos de estos factores sobre la tasa de cambio poblacional, así como sus efectos en la genética de poblaciones, a fin de desarrollar estrategias de conservación para aquellas especies afectadas por la fragmentación de su hábitat, ya que ésta reduce el número de individuos por población y aumenta el grado de aislamiento entre poblaciones (Santos y Tellería, 2006; Hedrick, 1999).

ESTRUCTURA GÉNICA Y FLUJO GÉNICO

Una población puede ser considerada como una unidad. Sin embargo, a menudo, existen subdivisiones en las poblaciones, las cuales pueden deberse a los accidentes en su entorno; en numerosas especies y en diversas circunstancias, las poblaciones se subdividen en unidades de menor tamaño. Esta subdivisión puede ser el resultado de factores geográficos (movimiento de placas tectónicas, formación de ríos), ecológicos (hábitat discontinuos, y procesos de colonización, extinción y recolonización) o de comportamiento (reubicación consciente o inconsciente) (de Vicente *et al.*, 2004).

La estructura de las poblaciones comprende dos conceptos distintos pero interrelacionados: la estructura demográfica y la estructura genética. La estructura demográfica está determinada por todos los procesos asociados al nacimiento, muerte y dispersión, incluyendo el sistema de apareamiento y la historia de vida (Sarukhán *et al.*, 1985) mientras que la estructura genética (la distribución de los alelos, haplotipos y genotipos) está determinada por la estructura poblacional, pero también por procesos genético-evolutivos como la selección, la migración, la deriva y la mutación. Una población se considera estructurada si en algunas de sus subpoblaciones existe deriva genética, si no hay uniformidad en la migración o si el apareamiento no ocurre al azar en toda la población. La estructura de una población afecta el grado de variación genética y los patrones de su distribución (de Vicente *et al.*, 2004).

Para determinar la estructura genética, es necesario comprender el patrón de variación genética de la especie, lo que significa evaluar los genotipos de diferentes individuos. Wright (1930) mostró cómo la estructura demográfica de una población determina su estructura genética, y que el sistema de apareamiento (la proporción de sexos o los efectos de la variación temporal del tamaño poblacional) pueden ser resumidas en un único número que determina la deriva genética en una población, “el tamaño efectivo poblacional” (N_e) de una población ideal representa el número de individuos reproductivos de una población real, ya que son éstos los que contribuyen a la generación siguiente en términos demográficos y sobre todo genéticos, es decir la tasa de cambio por deriva (medida en función de la tasa de pérdida de heterocigosidad) fuera la misma que la observada en la población real (Hedrick, 2000; Wright, 1969). Trabajos

posteriores de Kimura y Crow (1963), Ewens *et al.*, (1989) han propuesto que para diferentes propósitos se requieren diferentes definiciones del tamaño efectivo poblacional. Sin embargo, no existe una definición muy precisa de este concepto, por lo que la mayoría de las definiciones se refieren al número de individuos en una población cuya heterocigosis decrece a una tasa $k=1/2N$, donde N es el número poblacional (Merrel, 1981; Wright, 1930), ya que existen circunstancias como la diferencia en la proporción de sexos, la variación en el número de descendientes producidos por hembras, machos o ambos, el solapamiento de las generaciones y la fluctuación en el tamaño poblacional (N), que disminuyen el tamaño efectivo de la población (Holsinger, 2010).

Los análisis de estructura genética basados en frecuencias alélicas han dominado con mucho las aplicaciones de marcadores moleculares en ecología y conservación. Estos datos permiten poner a prueba la existencia de diferencias significativas en la composición genética de las distintas poblaciones de una especie, y describir el nivel de diferenciación a través de índices de distancia o de fijación. La existencia de estructura para marcadores moleculares permite descartar la panmixia (sistema de apareamiento en el que la elección de pareja se realiza al azar, es decir que la distribución de los genes es uniforme en el seno de una población debido a que todos los individuos tienen igual probabilidad de aparearse entre sí (Mata y Quevedo 1998)), e indica un cierto grado de aislamiento genético de las poblaciones, más su interpretación biológica debe realizarse cuidadosamente. Por una parte, el alto nivel de resolución que aportan los marcadores hipervariables como los microsatélites, puede resultar en una estructura estadísticamente significativa, pero no biológicamente significativa en situaciones en las que ésta diferenciación ha sido impulsada exclusivamente por la deriva en poblaciones recientemente aisladas (Hedrick, 1999). Por otra parte, la ausencia de estructura para marcadores neutrales, no permite descartar tajantemente la existencia de divergencias adaptativas, debido a la posibilidad que éstas se desarrollen incluso en presencia de abundante flujo génico, aunque esta posibilidad requiera gradientes de selección especialmente intensos (Lenormand, 2002). El significado de la estructura genética ha de interpretarse por tanto, con sumo cuidado y en combinación con información sobre la ecología (*heterogeneidad ambiental*) y la demografía de la especie (*cuellos de botella y dispersión*).

Uno de los factores que determinan la estructura genética poblacional, es el flujo génico, el cual se refiere al paso y establecimiento de los genes característicos de una población en el acervo genético de otra (Freeland, 2005), mediante la hibridación y el retrocruzamiento. Además el flujo de genes, determina hasta qué punto cada población local de una especie, es una unidad evolutiva independiente. Cuando una población se subdivide, los vínculos entre las subpoblaciones dependen del nivel de flujo génico existente. Cuando el nivel de flujo génico es alto, éste tiene el efecto de homogeneizar la variación genética entre los grupos, entonces todas las poblaciones evolucionan juntas; mientras que cuando el flujo de genes es bajo, resultado de la deriva génica, la selección y/o mutación, pueden conducir a la diferenciación genética de las subpoblaciones, es decir cada población evoluciona en forma casi independiente (de Vicente *et al.*, 2004). Cuando hay una serie de poblaciones subdivididas en parches en su hábitat, una población cuya ausencia está determinada por la extinción y cuya presencia está determinada por la recolonización del resto de las subpoblaciones, se les denomina "*metapoblación*" (Hanski, 1998). La dinámica de la extinción y de la recolonización pueden ocasionar diferencias tanto ecológicas como genéticas, en las metapoblaciones del concepto tradicional de subpoblación (Hedrick, 2000).

Hasta el momento existen dos rutas para estimar el nivel de flujo génico de las poblaciones naturales (Slatkin, 1985a): (1) los métodos "directos", los cuales dependen de observaciones o experimentos que miden el grado de dispersión, incluyendo las distancias (asumiendo que los individuos que se dispersan poseen las mismas oportunidades de aparearse que los residentes), a su vez indican los detalles de dicha dispersión: el período en la historia de vida de la especie en el cual ocurre la dispersión y posiblemente también las condiciones ecológicas favorables para la misma; sin embargo estos métodos tienen la desventaja de estar limitados en la escala, además los individuos que se dispersan pueden no tener la capacidad de encontrar pareja o de criar exitosamente a sus descendientes; y (2) los métodos "indirectos", que conducen a estimaciones del nivel de flujo génico promedio, a partir de un modelo matemático sobre datos moleculares, para predecir cuánto flujo pudo haber ocurrido para que los patrones observados estén presentes; éstos integran los efectos de todos los tipos de dispersión y promedian en forma efectiva las variaciones en la dispersión a través del tiempo, a su vez, poseen la desventaja de depender de "supuestos" acerca de los procesos que afectan a

las frecuencias alélicas, que no pueden ser probados en forma independiente (ya que asumen que la especie se encuentra en equilibrio genético y demográfico, algo que puede no ser cierto) (Slatkin, 1994). El método indirecto más comúnmente utilizado se basa en el estadístico F_{ST} de Wright, el cual es una medida de la correlación entre los genes en una subpoblación en relación a la población entera (Wright, 1951).

Cabe señalar que el principio propuesto por Hardy y Weinberg (1908), constituye el modelo básico para analizar la dispersión del equilibrio de la variabilidad genética. Este modelo establece que la composición genética de una población permanece en equilibrio de una generación a otra bajo los supuestos de que dentro de la población existe panmixia, las generaciones son discretas (que no se traslapan), que el acervo alélico es igual en ambos sexos, el tamaño poblacional es infinito (no hay deriva génica) y que no existen fuerzas sistemáticas de cambio de las frecuencias génicas (mutación, migración o selección). Por consiguiente la población no evoluciona. A partir de este modelo se han desarrollado los otros modelos más complejos.

MARCADORES MOLECULARES: MICROSATÉLITES

Los objetivos centrales y fundamentales de la Genética de la Conservación han sido evaluar el estado genético de las poblaciones, proponer medidas para preservar la diversidad genética y prevenir los riesgos de naturaleza genética para la persistencia de las poblaciones, para los cuales los marcadores moleculares han resultado enormemente útiles. Sin embargo, la aplicación de los marcadores moleculares en conservación no se restringe sólo a esto, sino que también pueden apoyar de manera fundamental al entendimiento de la historia evolutiva, la demografía y la ecología de las especies en alguna categoría de amenaza (Amos y Balmford 2001). Estos marcadores permiten describir patrones genéticos en las poblaciones naturales (desde individuos a especies), que junto a la aplicación de la teoría evolutiva y la genética de poblaciones, permiten hacer inferencias sobre los procesos demográficos y evolutivos que han operado sobre las especies a distintas escalas temporales. Además, los marcadores moleculares aportan herramientas eficientes para la identificación de especies, asignación de individuos a poblaciones, e identificación de individuos con numerosas aplicaciones en la práctica conservacionista (Karp *et al.*, 1997). Para facilitar la conservación de las especies

amenazadas, se hace entonces necesario profundizar el entendimiento de la diversidad genética dentro de sus poblaciones, así como de la naturaleza de las relaciones genéticas existentes entre cada una de éstas y los genotipos que las conforman (Frankham, 2005).

Con el desarrollo de la biología molecular, diversos marcadores moleculares han sido utilizados exitosamente en el estudio de las poblaciones silvestres de algunas especies vegetales en peligro de extinción. Debido a su abundancia en el genoma vegetal, y a su alto polimorfismo y adaptabilidad a la automatización, la técnica de microsatélites o de Secuencias Simples Repetidas (SSR), resulta atractiva para analizar la diversidad genética y su distribución de dichas especies. A su vez ha resultado adecuada para la caracterización de las especies, sus poblaciones e individuos.

Los SSR son regiones genómicas hipervariables constituidas por repeticiones en tandem de unos pocos pares de bases (1 a 4) flanqueadas por secuencias de copia única, además de ser codominantes, genoma-específicos y altamente polimórficos en comparación con otros marcadores moleculares (Karp *et al.*, 1997). La base del polimorfismo de los SSR está en la variabilidad del número de repeticiones en tandem y consecuentemente del tamaño del microsatélite en los individuos de una especie amplificado por PCR, porque la longitud de repetición es de dos a seis nucleótidos, que corresponden al polimorfismo de longitud mínimo en un SSR, el cual ha constituido la base para detectar las diferencias entre individuos en una población, y se han utilizado en cartografía de los genomas, en la labor forense y en la conservación genética (Hedrick, 2000).

Es posible cuantificar el porcentaje de heterocigosis para cada locus de microsatélites mediante el uso de estimadores como el índice de diversidad Nei (el más utilizado), que considera tanto el número de variantes alélicas como su distribución en la población, y la riqueza alélica el cual sólo considera el número de variantes. En términos de conservación, este último estimador comenzó a cobrar mayor importancia en estudios de poblaciones naturales, porque permitió revelar si existió algún cuello de botella durante la evolución de dichas poblaciones, y de esa manera examinar si su diversidad se vio afectada en forma severa, como podría sucederle a una población sometida a una fuerte presión de selección.

Cabe señalar que la mayoría de los estudios de diversidad genética en especies raras y/o amenazadas han sido realizados con aloenzimas (Chung *et al.*, 2007; Broadhurst y Coates, 2002; Shapcott y Playford, 1996; Purdy y Bayer, 1996; Ranker, 1994), los cuales han reportado para estas especies niveles de variación genética más bajos que los encontrados para sus congéneres de amplia distribución. No obstante, algunas especies han mostrado tener niveles iguales o incluso mayores que sus congéneres de amplia distribución, por lo que aparentemente no hay una clara diferencia en términos de cómo está dividida la variación genética dentro y entre las poblaciones de las especies raras y sus parientes más comunes (Gitzendanner y Soltis 2000). A pesar de ello, se ha predicho que las especies raras son a menudo más susceptibles a la extinción que aquellas especies comunes, resultado de la disminución del tamaño de sus poblaciones (Leimu *et al.*, 2006). Por otra parte, son pocos los estudios que han desarrollado y analizado loci microsatélites en especies raras y/o amenazadas (Shapcott *et al.*, 2009, Shapcott *et al.*, 2007; Terry *et al.*, 2006), los cuales han detectado niveles muy bajos de variabilidad genética en las especies analizadas.

Considerando todo lo antes mencionado, y dado a que la palma Kuká está catalogada como una especie rara y amenazada, conocer la variabilidad genética contenida en sus poblaciones y determinar los factores que la afectan resulta primordial para contribuir a su conservación. Por ello, surge la pregunta de qué tan alta es la variabilidad genética en las poblaciones de *P sargentii* en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, que desde el punto de vista demográfico están bien estructuradas y tienen una alta densidad de individuos en todas sus etapas del ciclo de vida.

HIPÓTESIS

- ❖ Por el buen estado que guardan sus poblaciones, constituidas por numerosos individuos en todas sus clases fenológicas, y por encontrarse en un área natural protegida, las poblaciones de *P. sargentii* presentes en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, deben contener un nivel alto de diversidad genética, acorde con su densidad, estructura y dinámica poblacional.

- ❖ Considerando la distribución de *P. sargentii* en la vegetación de dunas costeras que se desarrolla a lo largo del cordón litoral de la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, y tomando en cuenta la fragmentación de las dunas debido a las modificaciones históricas (naturales y antropogénicas) en algunas zonas de la Reserva, las poblaciones de esta especie deben presentar altos niveles de estructura genética a partir de un asilamiento por distancia.

OBJETIVO GENERAL

Analizar la diversidad, estructura y las relaciones genéticas de las poblaciones de *P. sargentii* presentes en la RBRL con base en el uso de marcadores microsatélites nucleares.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Estimar la diversidad genética de las poblaciones de *P. sargentii* presentes en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos (RBRL).
- Determinar la estructura genética de *P. sargentii* en la RBRL.
- Determinar el número real de poblaciones existente en la RBRL.
- Determinar las relaciones genéticas entre las poblaciones de, *P. sargentii* distribuidas en la RBRL.
- Explorar la diversidad, estructura y las relaciones genéticas de *P. sargentii* en una muestra limitada de poblaciones presentes fuera de la Reserva.

BILIOGRAFÍA

Agenda 21 de la Cumbre de Río. (1992).

Aguilar, A. (2008). Plan de Manejo Sustentable para la especie *Pseudophoenix sargentii* (Palma Kuka') en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos. Tesis de Licenciatura, Universidad Marista de Mérida. México. 124 p.

Amos, W. y A. Balmford (2001). When does conservation genetics matter?. *Heredity*, 87, 257-265.

Broadhurst, L. y D. Coate (2002). Genetic diversity within and divergence between rare and geographically widespread taxa of the *Acacia acuminata* Benth. (*Mimosaceae*) complex. *Heredity*, 88, 250–257.

Butler, R. A. (2009), Mongabay.com / A Place Out of Time: Tropical Rainforests and the Perils They Face (Extinction - Tropical Rainforests: Disappearing Opportunities) [online] (Actualizado 9 de January de 2009)

Disponible en: <http://es.mongabay.com/rainforests/0908.htm>
(Acceso: 28 de Noviembre de 2010).

Caballero, J. A. (1992). The Maya homegardens of Yucatán Peninsula: past, present and future. *Ethnoecological* 1, 1, 35-54.

Cayuela, L. (2006). Deforestación y fragmentación de bosques tropicales montanos en los Altos de Chiapas, México. Efectos sobre la diversidad de árboles. *Ecosistemas* 15, 3, 192-198.

Chung, M Y; C-W Park y M G Chung (2007). Extremely low levels of allozyme variation in southern Korean populations of the two rare and endangered lithophytic or epiphytic *Bulbophyllum drymoglossum* and *Sarcanthus scolopendrifolius* (*Orchidaceae*): implications for conservation. *Biodiversity and Conservation* , 16, 775–786.

Conabio (2000). *Estrategia nacional sobre biodiversidad de México*. SEMARNAP/CONABIO. México. 103 p.

de Vicente, M. C., C. López y T. Fulton (eds.) (2004). *Análisis de la Diversidad Genética Utilizando Datos de Marcadores Moleculares: Módulo de Aprendizaje*. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Roma, Italia.

DeSalle, R., y G. Amato (2004). The expansion of conservation genetics. *Nature Reviews*, 5, 702-712.

- Dobson, A. y R. May (1986). *Conservation Biology. The Science of Scarcity and Biodiversity*. Editado por M E Soulé. Sinauer Association, Inc. Publisher.
- DOF (Diario Oficial de la Federación) (2010). *NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo*. México.
- Durán, R. (1992) La conservación de la naturaleza y el problema de extinción de las especies. *Gaceta Universitaria*, 10-14.
- Durán, R. (1992b). Variabilidad intra específica y Dinámica poblacional de *Pseudophoenix sargentii*. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Durán, R., M. Méndez y R. Orellana-Lanza (1997). *Manual de Propagación de plantas nativas de la Península de Yucatán*. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. México. (1).
- Durán, R. y M. Franco (1992). Estudio demográfico de *Pseudophoenix sargentii*. *Bulletin de l'Institut français d'études andines*, 21(2), 609-621.
- Durán, R. y M. Franco (1995). La contribución de la ecología de poblaciones: el caso de *Pseudophoenix sargentii* Wendl. ex Sarg. en la Península de Yucatán. Experiencias y avances en el conocimiento de las plantas mexicanas en peligro de extinción, en: *Conservación de plantas en peligro de extinción: Diferentes enfoques*, Linares E., F. Chiang, R. Bye y T. S. Elías (eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 77-86.
- Ehrlich, P. R. y G. C. Daily (1993). Population extinction and saving biodiversity. *Ambio*, 22, 64-68.
- Eldredge N. (2001). ActionBioscience.org (The Sixth Extinction) [Online]
Disponibile en: <http://www.actionbioscience.org/newfrontiers/eldredge2.html>
(Acceso: 25 de julio de 2011).
- Eriksson, G., G. Namkoong y J. Roberds (1993). Gene conservation of forest trees for uncertain futures. *Forest Ecology and Management*, 62, 15-37.
- Ewens, W. J. (1989). The effective population size in the presence of catastrophes, en: *Mathematical Evolutionary Theory*, Feldman, M. W. (editor). Princeton University Press, Princeton, NJ. pp. 9-25

- FAO. Conservation of genetic resources in tropical forest management. Estudio FAO Montes Italia, 107 p.
- Ferrer, M. (2004). Dinámica poblacional, abundancia y extracción potencial de la palma *Pseudophoenix sargentii* Wendl. ex Sarg. en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán. México.
- Fisher, R. A. (1930). *The Genetical Theory of Natural Selection*. Clarendon Press [Variorum edition, Bennett, J H (Editor), 1999, Oxford University Press, Oxford], EE.UU.
- Flores-Guido, J. S. y E. Ucán (1983). *Nombres usados por los mayas para designar la vegetación*. Cuadernos de divulgación (INIREB), 10, 30 p.
- Frankel, O. H. y M. E. Soulé (1981). *Conservation and evolution*. Cambridge: Cambridge University Press, 327 p.
- Frankham, R. (2005). Genetics and extinction. *Biological Conservation*, 126, 131-140.
- Freeland, J. R. (2005). *Molecular Ecology*. John Wiley & Sons, Ltd., England.
- Gianoli, E. (2004). Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas, en: *Fisiología Ecológica en Plantas: Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas*, de H M Cabrera, EUV, Chile. pp. 13-25.
- Gitzendanner M. A. y Soltis P. S. (2000). Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. *American Journal of Botany*, 87(6), 783-792.
- Gutiérrez, E. (1983). Aspectos etnobotánicos, en: *Sian Ka'an: Estudios preliminares de una zona en Quintana Roo propuesta como Reserva de la Biosfera*. CIQRO-SEDUE. México.
- Hanski (1998). Metapopulation dynamics. *Nature*, 396, 41-49.
- Hardy GH (1908) Mendelian proportions in a mixed population. *Science*, 28, 49-50.
- Hartl, D. L. y A. G. Clark (1989). *Principles of Population Genetics*. Sinauer Associates 2 ed., Massachusetts.
- Hedrick, P. W. (1999). Perspective: Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution*, 53, 313-318.
- Hedrick, P. W. (2000). *Genetics of Populations*. Jones and Bartlett Publishers, 2nd edn. Massachusetts.
- Hedrick, P. W. (2004). *Genetics of Populations*, 3rd Edition. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, Massachusetts, USA.

- Holsinger, K. (2010) Genetic Drift (Effective population size) [Online]
Disponible en: <http://darwin.eeb.uconn.edu/eeb348/lecturenotes/drift/drift.html>
(Acceso: 28 de julio de 2011).
- Höglund, J. (2009). *Evolutionary Conservation Genetics*. University Press, Oxford.
- Hughes, A. R., B. D. Inouye, M. T. J. Johnson, N. Underwood y M. Vellend (2008).
Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11, 609-623.
- IUCN (1988). *Rare and Threatened Palms of the New World*. Botanic Gardens
Conservation Secretariat.
- Jiménez, P. y C. Collada (2000). Técnicas para la Evaluación de la Diversidad Genética y
su Uso en los Programas de Conservación. *Investigación Agraria: Sistemas y
Recursos Forestales*, 2, 237-248.
- Jones, D. L. (1995). *Palms throughout the World*. Smithsonian Institution Press, EE.UU.
- Karp, A., S. Kresovich, K. V. Bhat, W. G. Ayad y T. Hodgkin (1997). *Molecular tools in
plant genetics resources conservation: a guide to the technologies*. Instituto
Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Roma, Italia.
- Kerr, J. T. y J. Cihlar. (2004). Patterns and causes of species endangerment in Canada.
Ecological Applications, 14, 743-753.
- Kimura y Crow (1963). The measurement of effective population number. *Evolution*, 17,
279-288.
- Royal Botanic Gardens, Kew; Natural History Museum, London & International Union for
Conservation of Nature (IUCN) (2011). (Plants under pressure - a global
assessment) [Online] (Actualizado 29 de Octubre de 2011).
Disponible en; <http://www.kew.org/science/plants-at-risk/plants-worldwide.htm>
(Acceso: 5 de Marzo de 2011).
- Kruckeberg, A. R. y D. Rabinowitz (1985). Biological aspects of endemism in higher
plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 16, 447-479.
- Ledig, F. T. y J. H. Kitzmiller (1992). Genetic strategies for reforestation in the face of
global climate change. *Forest Ecology and Management*, 50, 153-169.
- Leimu R., P. Mutikainen, J. Koricheva y M. Fischer (2006). How general are positive
relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *Journal of
Ecology*, 94, 942-952.

- Lenormand, T. (2002). Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 183-189.
- Levin, S. (1999). *Fragile Dominion*. Perseus Book. EE.UU .
- Marcucci, P. S., C. V. Acuña, S. Torales, N. Zelener, P. Phatauer, G. A. López, L. Harand y E. Hopp (2005). Evaluación de la variabilidad genética en huertos semilleros de especies de eucalyptus, en: IDIA XXI, Revista de Información sobre Investigación y Desarrollo Agropecuario V, 8, 186-190.
- Martínez-Ramos, M., J. Sarukhán y D. Piñero (1988). The demography of tropical trees in the context of forest gap dynamics: the case of *Astrocaryum mexicanum* at Los Tuxtlas tropical rain forest, en: *Plant population ecology*, Davy D. J., M. J. Hutchings y A. R. Watkinson (eds.). Blackwell, EE.UU. pp. 293-313.
- Mata, A. y F. Quevedo (1998). *Diccionario didáctico de ecología*. Editorial de la Universidad de Costa Rica (UCR). San José. 387 p.
- May, R. M. y K. Tregonning (1998). Global Conservation and UK government policy, en: *Conservation in a changing world*, Mace, G. M., A. Balmford y J. R. Ginsberg (editors). Cambridge University Press. United Kingdom. pp. 287-301.
- Meffe, G. K. y C. R. Carroll (1994). *Principles of Conservation Biology*. Sinauer Associates, Sunderland.
- Merrel, D. J. (1981). *Ecological genetics*. Longman, Londres.
- Mittermeier, R. y C. Goettsch Mittermeier (1997). *Megadiversidad. Los países biológicamente más ricos del mundo*. CEMEX, México.
- Mitton, J. B. (1997). *Selection in Natural Populations*. Oxford University Press, Inc., EE.UU.
- Molina, E. (2008). Etapas y causas de la sexta extinción en masa, en: *La vida en el Terciario. Del impacto del meteorito al origen del hombre*, Arcega C. y J. Lahoz. Universidad de Zaragoza. España. pp. 187-203.
- Myers, N. (1989). *Deforestation rates in tropical forest and their climatic implications*. Friends of the Earth. England.
- Namkoong, G. y A. S. Ouédraogo (1997). *Developing decision making support strategies for conservation and sustainable use of forest genetic resources*. Italia: Research Proposal, IPGRI/UBC, IPGRI. Roma, Italia.

- Novacek, M. J. y Q. D. Wheeler (1992). Introduction: Extinct taxa: Accounting for 99.9% of Earth's biota, en *Extinction and Phylogeny*, Novacek M. J. y Q. D. Wheeler (ed.). Columbia University Press, New York. pp. 1-16.
- Oldfield, S. (1988). Buffer zone management in tropical moist forests. Case studies and guidelines. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. Switzerland.
- Orellana, L. R. y R. Durán (1992). Las palmas de la Península de Yucatán: un patrimonio que debemos conservar. *Gaceta Universitaria*.
- Ouédraogo, A.S. (1997). Conservation and use of forest genetic resources. Memoria especial presentada al XI Congreso Forestal Mundial (13-22 de octubre de 1997).
- Oyama, A. K. (1987). *Demografía y dinámica poblacional de Chamaedorea tepejilote Liebm. en la selva de los Tuxtlas, Veracruz, México*. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Petchey, O. L. y K. J. Gaston (2002). Extinction and the loss of functional diversity. *The Royal Society*, 269, 1721-1727.
- Primack, R. B. (1993). *Essentials of Conservation Biology*. Sinauer Associates Inc., USA.
- Purdy, B. G. y R. J. Bayer (1996). Genetic variation in populations of the endemic *Achillea millefolium* ssp. *megacephala* from the Athabasca sand dunes and the widespread ssp. *lanulosa* in western North America. *Canadian Journal of Botany*, 74, 1138-1146
- Quero, H. J. (1994a). Las palmas de México: presente y futuro. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 123-127.
- Quero, H. J. (1992a). *Las palmas silvestres de la Península de Yucatán*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. (10).
- Ranker, T. A. (1994). Evolution of high genetic variability in the rare Hawaiian fern *Adenophorus periens* and implications for conservation management. *Biological Conservation*, 70, 19-24.
- Raven, P. (1992). The Nature and Value of Biodiversity, en: *Global Biodiversity Strategy. Guidelines for Action to Save, Study, and Use Earth's Biotic Wealth Sustainably and Equitably*, IUCN, UNEE WRI, pp. 1-36.
- Reed, D. H. y R. Frankham (2003). Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conservation Biology*, 1(17), 230-237 p.

- Ricketts, T. H., E. Dinerstein, T. Boucher, T. M. Brooks, S. Butchart, M. Hoffmann, J. Lamoreux, J. Morrison, M. Parr, J. D. Pilgrim, A. Rodrigues, W. Sechrest, G. E. Wallace, K. Berlin, J. Bielby, N. D. Burgess, D. R. Church, N. Cox, D. Knox, C. Loucks, G. W. Luck, L. L. Master, R. Moore, R. Naidoo, R. Ridgely, G. E. Schatz, G. Shire, H. Strand, W. Wettengel y E. Wikramanayake (2005). Pinpointing and preventing imminent extinctions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. EE.UU. 51, 18497-18501 p.
- Santos, T. y J. L. Tellería (2006). Pérdida y fragmentación del hábitat: efecto sobre la conservación de las especies. *Ecosistemas*, 15(2), 3-12.
- Sarukhán, J., D. Piñero y M. Martínez-Ramos (1985). Plant Demography: A community-level interpretation, en: *Studies on plant demography a Festschrift for John L. Harper*, de Wuite, J. (ed.). Academic Press. England. 17-31 p.
- Schemske, D. W., B. C. Husband, M. H. Ruckelshaus, C. Goodvillie, I. M. Parker y J. G. Bishop. (1994). Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants. *Ecology*, 75, 586-606.
- Schulze, E. D. y H. A. Mooney (1994). Ecosystem function of biodiversity: a summary, en: *Biodiversity and ecosystem function*, Schulze, E. D. y H. A. Mooney (eds.). Springer-Verlag. Germany. pp. 497-510.
- Secretaría del Convenio sobre la Diversidad (2006). *Perspectiva Mundial sobre Diversidad Biológica 2*. Montreal.
- Secretaría del Convenio sobre la Diversidad (2010). *Perspectiva Mundial sobre Diversidad Biológica 3*. Montreal.
- SEDUE (1991). Especies raras, amenazadas, en peligro de extinción o sujetas a protección especial y sus endemismos, de la flora y fauna terrestres y acuáticas en la República Mexicana. *Diario Oficial de la Federación*. México. 7-35 p.
- Shapcott A. y J. Playford (1996). Comparison of genetic variability in remnant and widespread rainforest understorey species of *Austromyrtus* (Myrtaceae). *Biodiversity and Conservation*, 5, 881-895.
- Shapcott, A., J. L. Dowe y H. Ford (2009). Low genetic diversity and recovery implications of the vulnerable Bankoualé Palm *Livistona carinensis* (Arecaceae), from North-eastern Africa and the Southern Arabian Peninsula. *Conservation Genetics*, 10, 317-327.

- Shapcott, A., M. Rakotoarinivo, R. J. Smith, G. Lysakova, M. F. Fay y J. Dransfield (2007). Can we bring Madagascar's critically endangered palms back from the brink? Genetics, ecology and conservation of the critically endangered palm *Beccariophoenix madagascariensis*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 154, 589-608.
- Silvertown, J. W. y J. Lovett Doust (1993). *Introduction to Plant Population Biology*. Blackwell Science Ltd Canada.
- Sisk, T. D., A. E. Launer, K. R. Switky y P. R. Ehrlich (1994). Identifying extinction threats: global analyses of the distribution of biodiversity and the expansion of the human enterprise. *BioScience*, 44, 592-604.
- Slatkin, M. (1994). Gene flow and population structure, en: *Ecological Genetics*, de Real L., Princeton.
- Slatkin, M. (1985a). Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 393-430.
- Smith, F. D. M., R. M. May, R. Pellew, T. H. Johnson y K. R. Walter (1993). Estimating extinction rates. *Nature*, 364, 494-496.
- Soulé, M. E. y K. A. Kohm editors (1989). *Research priorities for conservation biology*. Island Press Washington, D.C.
- Sutherland, W. J. (2000). Research, Management and Policy, en: *The Conservation Handbook*. Blackwell Science. Oxford.
- Temple, S. A. (1991). Conservation biology: New goals and new Partners for managers of biological resources, en: *Challenges in the Conservation of Biological Resources: A Practitioner's Guide*, Decker, D. J., M. E. Krasny, G. R. Goff, C. R. Smith y D. W. Gross (eds.). Westview Press. EE.UU. 45-54 p.
- Terry T. M., A. E. Pepper y J. R. Manhart (2006). Development and characterisation of microsatellite loci in endangered *Astrophytum asterias* (Cactaceae). *Molecular Ecology Notes*, 6, 865-866.
- UNFCCC (1998). *Protocolo de Kyoto de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático*. (United Nations Framework Convention on Climate Change) [Online].
Disponible en: <http://unfccc.int/2860.php>
(Acceso 16 de Febrero de 2011).

- Vandermeer, J., J. Stout y G. Miller (1974). Growth rates of *Welfia georgii*, *Socratea durissima* and *Iriartea gigantea* under various conditions in a natural rainforest in Costa Rica. *Pincipes*, 18, 148-154.
- Verdú, M. (2009). Genética de comunidades. *Ecosistemas*, 18(1), 17-22.
- Weinberg W (1908) Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. *Jahresh Verein f vaterl Naturk Württem*, 64, 368-382. Versión en inglés: On the demonstration of heredity in Man. en: Boyer SH (ed) *Papers on Human Genetics*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, pp 4-15.
- Whitham, T. G., J. K. Bailey, J. A. Schweitzer, S. M. Shuster, R. K. Bangert, C. J. Leroy, E. V. Lonsdorf, G. J. Allan, S. P. DiFazio, B. M. Potts, D. G. Fischer, C. A. Gehring, R. L. Lindroth, J. C. Marks, S. C. Hart, G. M. Wimp y S. C. Wooley (2006). A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. *Nature Reviews Genetics*, 7, 510-523.
- Whitmore, T. C. y J. A. Sayer (1992). Deforestation and species extinction in tropical forest, en: *Tropical deforestation and species extinction*, de IUCN,. Londres: Chapman & Hall, pp. 1-14.
- Wilson, E. O. (2002). *The future of life*. Vintage Books, New York, USA. 230 p.
- World Resources Institute. World Resources Institute. (Working at the intersection of environment & human needs) [Online].
Disponible en: <http://www.wri.org/>
(Acceso 15 de Agosto de 2010).
- Wright, S. (1930). Evolution in mendelian populations. *Genetics*, 16, 97-158.
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15, 323-354.
- Wright, S. (1969). *Evolution and the genetics of populations. The theory of gene frequencies*. Chicago: University of Chicago Press.2.
- WWF/Adena (2008). Más allá del 2010: Cómo enfrentar el desafío de la Biodiversidad. España. [Online].
Disponible en: <http://adena.es/>
(Acceso 28 de Julio 2010)
- XI Congreso Forestal Mundial (13-22 de octubre de 1997). Declaración de Antalya. Turquía.
- Ziswiller, V. (1967). *Extinct and vanishing animals*. Springer-Verlag, New York, USA.

Zona S. (2002). A revision of *Pseudophoenix*. *Palms*, 46, 19-38.

DIVERSIDAD, ESTRUCTURA Y RELACIONES GENÉTICAS DE LA PALMA KUKA'

INTRODUCCIÓN

Los procesos de deterioro de los ecosistemas ha alcanzado niveles nunca antes vistos en la historia del planeta; en las últimas décadas los seres humanos han provocado cambios sin precedentes en los ecosistemas en su afán por adquirir alimentos, energía y fibras para satisfacer sus necesidades (MEA, 2005). Entre los principales problemas están la sobreexplotación de los recursos, la contaminación de suelo, agua y aire, así como la fragmentación y deforestación de los bosques y selvas tropicales, los cuales albergan una gran diversidad de organismos, y prestan multitud de servicios ambientales.

Como resultado de la necesidad imperiosa e inmediata de conservar y restaurar los ecosistemas afectados por la fragmentación y deforestación de los bosques tropicales es necesario implementar estrategias de conservación que contemplen el resguardo de la variabilidad genética de aquellas poblaciones de especies que están siendo más afectadas, como es el caso de la familia de las palmas (Arecaceae), que llegan a ser elementos predominantes (Durán, 1992; Durán y Franco, 1992; Oyama, 1987; Vandermeer *et al.*, 1974) y estructuradores del paisaje en estos ecosistemas (Durán y Franco 1992; Martínez-Ramos *et al.*, 1988; Sarukhán *et al.*, 1985). La necesidad de conservar la diversidad genética de las poblaciones se basa en dos argumentos: la necesidad de diversidad genética para que ocurra la evolución, y la relación esperada entre la heterocigosidad y la adaptabilidad de la población. Debido a que la pérdida de diversidad genética se relaciona con la endogamia, y la endogamia reduce la aptitud reproductiva, se espera una correlación entre heterocigosidad y adaptabilidad de la población. Sin embargo, otras consideraciones teóricas y observaciones empíricas sugieren que la correlación entre adaptabilidad y heterocigosidad puede ser débil o inexistente. La correlación media ponderada entre medidas de fue 0.4323. La correlación entre la diversidad genética (a nivel de población) y la adaptabilidad (de la población) fue altamente significativa y justificaba el 19 % de la variación de la adaptabilidad. Nuestro estudio apoya la hipótesis de que la pérdida de heterocigosidad tiene efecto deletéreo sobre la adaptabilidad de la población y apoya la designación de diversidad genética de IUCN como merecedora de conservación.

Las palmas pueden formar bosques de 40 a 60 m de altura, constituir matorrales de 50 a 80 cm de alto (Rzedowski, 1983), así como también pueden encontrarse como elementos asociados en bosque de pino-encino, matorral xerófilo y bosque tropical perennifolio; aun así los verdaderos palmares prosperan mayormente en zonas de clima cálido y húmedo a semihúmedo (Maidman, 1999; Sarukhán y Hernández 1968). Además, frecuentemente, sólo una especie de palma, es la que juega un papel importante en una determinada comunidad vegetal (Rzedowski, 1991a). En cualquier caso, estas asociaciones no se presentan de manera continua, sino que generalmente forman agrupaciones de tamaño variable (Olmsted *et al.*, 1999; Gutiérrez, 1983; Olmsted y Ercilla, 1988;).

La familia Arecaceae está bien representada en casi todo el mundo, principalmente en regiones tropicales. En México, exceptuando la región central y el altiplano, se presentan palmas en la vertiente del Golfo, desde Nuevo León y Tamaulipas hasta la Península de Yucatán y en el Pacífico, desde la península de Baja California y Sonora hasta Chiapas. Se han documentado en México 22 géneros con alrededor de 100 especies: *Acoelorrhaphe* H. Wendl., *Acrocomia* Mart., *Astrocaryum* G. Mey., *Bactris* Jacq. ex Scop., *Brahea* Mart., *Calyptrogyne* H. Wendl., *Chamaedorea* Willd., *Coccothrinax* Sarg., *Cryosophila* Blume, *Desmoncus* Mart., *Erythea* S. Watson, *Gaussia* H. Wendl., *Geonoma* Willd., *Orbignya* Mart. ex Endl., *Pseudophoenix* H. Wendl., *Reinhardtia* Liebm., *Roystonea* O. F. Cook, *Sabal* Adans., *Scheelea* H. Karst., *Synechanthus* H. Wendl., *Thrinax* Sw., *Washingtonia* H. Wendl. (Quero, 1994; 1992; 1989). En su gran mayoría, México representa el límite norte de la distribución natural de estas palmas, cuyo origen ha sido considerado como norteamericano, del centro y sur de América, o típicamente antillanas e insulares (Quero y Flores, 2004). Estas especies se desarrollan en regiones montañosas, por lo general a bajas altitudes, aunque algunas especies pueden vivir a 2500 msnm (Quero y Flores, 2004), o a escasos metros sobre el nivel del mar, como es el caso de *P. sargentii*.

Para la generación y adecuada aplicación de proyectos de conservación para las palmas (como de otras especies en estos ecosistemas), es necesario contemplar aspectos como el ciclo de vida de la especie y su sistema de reproducción, la historia de vida de sus poblaciones y su tasa de crecimiento, así como contar con información de la

diversidad genética de sus poblaciones, para ver el estado de conservación de éstas (Primack, 1993).

Son muy pocos los estudios de diversidad genética reportados para las poblaciones silvestres de la familia *Arecaceae*. Entre éstos podemos mencionar a Eguiarte *et al.*, (1992), quienes analizaron la genética de poblaciones de *Astrocaryum mexicanum* Liebm. en México, mediante electroforesis enzimática; Shapcott (1999) analizó el efecto de la densidad poblacional sobre la estructura genética de cinco especies de palmas congéneres: *Pinanga aristata* (Burret) J.Dransf., *Pinanga brevipes* Becc., *Pinanga dumetosa* J.Dransf., *Pinanga tenella* Scheff. y *Pinanga veitchii* H.Wendl.; mediante el análisis de isoenzimas; Cardoso *et al.*, (2000) analizaron la diferenciación genética de *Euterpe edulis* Mart. en el bosque lluvioso del Atlántico en Brasil, mediante el uso de marcadores genéticos AFLP; Shapcott *et al.*, (2007) investigaron la diversidad genética y la endogamia dentro de las poblaciones de *Beccariophoenix madagascariensis* Jum. & H.Perrier, así como la diferenciación potencial entre las poblaciones, junto a la recientemente descrita *Beccariophoenix alfredii* Rakotoarin., Ranariv. & J.Dransf., mediante el uso de marcadores AFLP y microsatélites; Trénel *et al.*, (2008) examinaron la filogeografía y la genética del paisaje de la palma Andina *Ceroxylon echinulatum* Galeano que ocurre en los Andes, mediante el uso de marcadores microsatélites, Shapcott *et al.*, (2009) investigaron la diversidad y relaciones genéticas dentro de *Livistona carinensis* (Chiov.) J.Dransf. & N.W.Uhl, mediante la utilización de microsatélites, la única especie de *Livistona* que ocurre en África, limitada a las regiones de Yemem, Somalia y Djibouti, y que actualmente se encuentra catalogada como vulnerable (IUCN, 2010).

Varios autores han planteado la hipótesis de que la alta diversidad de especies de árboles tropicales es un producto de la especiación no-adaptativa, que resulta de la endogamia y la deriva genética (van Steenis, 1969; Federov, 1966; Baker, 1959; Comer, 1954) dentro de sus poblaciones. De esta manera, la comprensión de la estructura genética de las poblaciones de árboles tropicales, como las palmas, puede ayudar a explicar la evolución de una gran diversidad en los trópicos, propiciando el diseño de mejores estrategias de conservación (Eguiarte *et al.*, 1992), para la preservación de la variabilidad genética de cada una de sus poblaciones.

METODOLOGÍA

ESPECIE DE ESTUDIO

El género *Pseudophoenix* pertenece a la tribu Cyclospathae de la subfamilia de las palmas Ceroxyloideae, la cual probablemente tuvo un periodo de divergencia en el Cretácico superior. Al parecer *Pseudophoenix*, pudo haberse dispersado conjuntamente con la formación del Caribe, y radiado alrededor de hace 5 millones de años en el Plioceno (Trénel *et al.*, 2007), después de la fragmentación de Gaarlandia y la formación de las Antillas mayores (Iturralde-Vinent, 2004-2005). Es un género meramente insular y su centro de origen se le atribuye a La Española (Read, 1968). Este género está conformado únicamente por cuatro especies, tres de ellas endémicas a esta isla (*P. ekmanii*, *P. lediniana* y *P. vinifera*). *Pseudophoenix sargentii* es la única especie con una amplia distribución en la cuenca del Caribe (Read, 1968), abarcando La Española, Las Bahamas, Cuba, algunos cayos de Florida y Belice, y en las costas del Caribe Mexicano (Read, 1968; Zona, 2002). Las cuatro especies están catalogadas en alguna categoría de amenaza (IUCN, 2010).

Pseudophoenix sargentii, es conocida comúnmente con los nombres de palma de cerezo, palma bucanera, palma del vino, falsa palmera datilera, falsa palma real, palma enana real, la palma perdida y Kuka' (Lippincott, 1992). Es además una especie que presenta numerosos sinónimos (Zona, 2002). Son plantas perennes con un ciclo de vida largo, podrían vivir más de 100 años (Garvue y Carrara, 2001). Crecen cerca del mar sobre la arena o en suelos de piedra caliza (Zona, 2002; Durán y Franco, 1995; Quero, 1992a; Read, 1968), son muy resistentes a la salinidad y al viento, crecen casi en cualquier suelo bien drenado.

En la Península de Yucatán, México, es donde las poblaciones de *P. sargentii* (llamada localmente como palma KuKa') alcanzan su mayor desarrollo en su distribución natural (Durán, 1992a y 1992b; Quero, 1992a, 1992b y 1981; Read, 1968) (Figura 1). En estudios de vegetación, ha sido reconocida como una especie característica de la selva baja subcaducifolia de Quintana Roo, junto con *Beaucarnea plibilis*, *Clusia salvinii*, *Manilkara zapota*, *Sebastiania adenophora*, *Gymnanthes lucida*, *Coccoloba cozumelensis* y *Vitex gaumeri* (Durán y Olmsted, 1987; Durán, 1986). Mientras que al noreste del estado

de Yucatán es un elemento dominante del matorral de dunas costeras (Durán, 1992). Es en estos estados, donde las poblaciones de Kuka' alcanzan su mayor desarrollo (Durán, 1992a y 1992b; Quero, 1992a; 1992b y 1981, Read, 1968). Ésta se presenta a lo largo de la costa en grandes poblaciones, aisladas en forma de parches, las cuales se han visto afectadas por la destrucción de su hábitat, debido al crecimiento urbano y a su extracción con fines comerciales para los principales complejos turísticos de Quintana Roo, como Cancún, Cozumel y Playa del Carmen (Durán, 1992b y 1986; Quero, 1994^a; 1992a y 1981), a pesar de encontrarse dentro de áreas naturales protegidas como son la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an y la Reserva de la Biosfera de Ría Lagartos (Durán y Franco, 1992). Como consecuencia de estas actividades, las poblaciones de esta palma se encuentran cada vez más fragmentadas, lo que determina que sea considerada como una especie en riesgo (Orellana y Durán, 1992; SEDUE, 1991; IUCN, 1989; Vovides, 1981) y catalogada como especie amenazada en la Norma Oficial Mexicana-059-SEMARNAT 2010, además figura en el listado de "Palmas Raras y Amenazadas del Nuevo Mundo" publicado por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, 1988), y en el listado de especies raras, amenazadas y en peligro de extinción para la República Mexicana publicado por la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología (SEDUE, 1991).

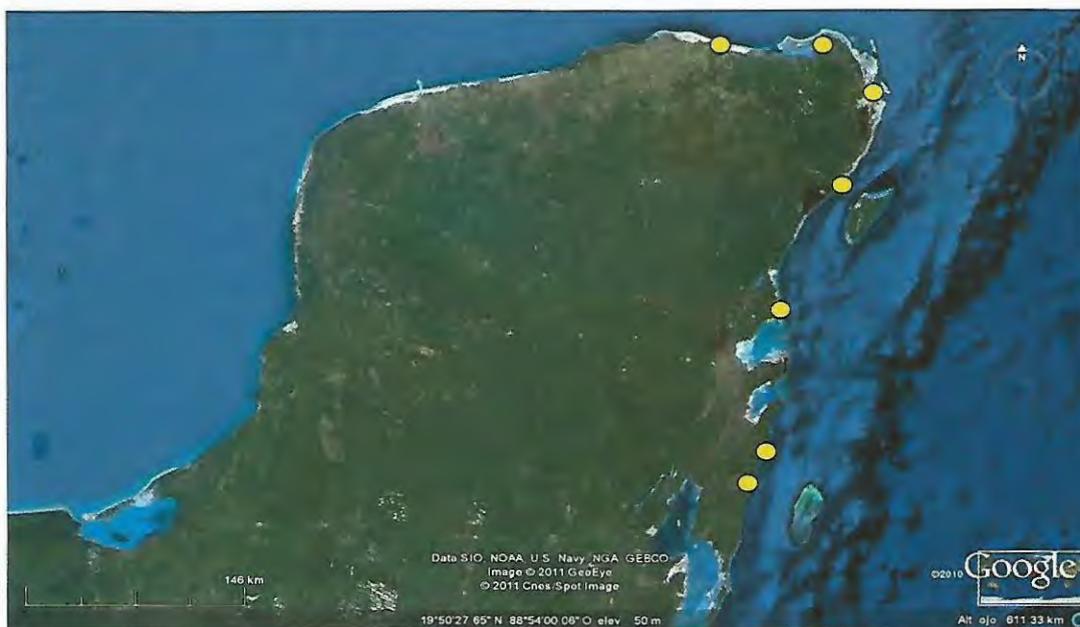


Figura 1. Distribución natural conocida de *P. sargentii* en la República Mexicana.

Pseudophoenix sargentii es una palma monopódica, su tallo es robusto con un diámetro de 15 a 25 cm, de color verde grisáceo, liso con cicatrices (de las hojas al caer) anilladas. En su copa están dispuestas de 8 a 12 hojas pinnadas (Durán, 1992) con una longitud de hasta 2 m (Figura 2). Los individuos adultos llegan a medir hasta 16 m de altura en la selva mediana. Presentan flores hermafroditas en panículas sumamente ramificadas, llegando a producir hasta tres inflorescencias de manera asincrónica en cada periodo. Su inflorescencia es verde, ramificada, con tépalos de color amarillento, ambos órganos sexuales presentes (Figura 3A y B). Produce un fruto anaranjado-rojo de 6.8 a 11.8 mm de diámetro, globular o de dos a tres lóbulos por drupa (Zona, 2002; Read, 1968) (Figura 3C). Sus frutos de color rojo intenso, los hace atractivos a posibles dispersores como *Ortalis vetula* (chachalaca) (Durán, 1992).



Figura 2. *Pseudophoenix sargentii* H. Wendl. ex Sarg.



Figura 3. Estructuras reproductivas de *P. sargentii*. A) Inflorescencia. B) Flores y posibles polinizadores (*Apis mellifera*). C) Frutos maduros de *P. sargentii*.

Al parecer, *P. sargentii* es alógama, puesto que individuos aislados no logran la producción de frutos en un 98%. Además hemos constatado la presencia de *Apis mellifera*, especie que tiene un radio de actividad de 2,000 m (Hisashi, 2010), así como abejas sin aguijón como las Meliponas, cuyo radio de trabajo va por lo general entre los 600 y 2,400 m (Biesmeijer, 1997), las cuales podrían ser importantes agentes dispersores de polen (Figura 3B).

Como habitante de las zonas costeras, *P. sargentii* está sujeta a perturbaciones por huracanes, que sin duda repercuten en sus poblaciones, abriendo zonas de mayor luz que favorecen el crecimiento de plántulas y su establecimiento, sin embargo fuertes huracanes también pueden disminuir severamente el tamaño de las poblaciones, como se vio en los Cayos de Florida, después del huracán Andrew (1992), donde una población fue extirpada por completo, y en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, después del huracán Isidoro en el 2002, donde las poblaciones silvestres perdieron tanto individuos infantiles como adultos, o en la localidad de Xel-Ha, Quintana Roo con los huracanes Wilma (2005) y Gilberto (1988).

Se han realizado estudios en diferentes sitios de la distribución natural de *P. sargentii*. Maschínski y Duquesnel (2006) realizaron un estudio sobre la reintroducción de *P. sargentii* en la Florida, debido a que han sido extraídas de forma desmedida; James (2003) estudió los factores que afectan la permanencia de *P. sargentii* en la isla de Dominica, concluyendo que el futuro de sus poblaciones depende de enfrentar una gran cantidad de amenazas, como incendios, el problema de la propiedad de la tierra, la erosión del suelo y la degradación del hábitat. Para México, Durán (1986) realizó un estudio descriptivo de la vegetación en donde se desarrolla *P. sargentii*, y más tarde (Durán, 1992) llevó a cabo un análisis de la dinámica poblacional y su variabilidad intra-específica, revelando que las poblaciones con mayores tasas de crecimiento son aquellas que se encuentran dentro de la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, debido a la extracción desmedida de individuos adultos y la alta depredación de semillas en los otros sitios de estudio en la Península de Yucatán. Ferrer (2004) por su parte, en la misma reserva, realizó el estudio de la dinámica poblacional, la abundancia y la extracción potencial de *P. sargentii* en condiciones naturales encontrando que la especie no tiene problemas de polinización, ya que se producen un nivel elevado de semillas y tienen un gran éxito de germinación.

ÁREA DE ESTUDIO

La Reserva de la Biosfera Ría Lagartos (RBRL) se ubica en una franja costera al noreste del Estado de Yucatán, limita al norte con el Golfo de México, al sur con los municipios de Tizimín, Río Lagartos y San Felipe, al este con el Estado de Quintana Roo y al oeste con el municipio de San Felipe, Yucatán; sus coordenadas corresponden a los 21°,24',07'' y 21°, 37', 22'' de latitud norte, y 87°,32',00'' y 88°,14',37'' de longitud oeste; tiene una superficie total de 60,347.82 hectáreas, divididas en 6 zonas núcleos y zonas de amortiguamiento (SEMARNAP, 1999), y es decretada como tal en el año 1999 (SEMARNAP, 1999) (Figura 4).



Figura 4. Mapa de la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos (RBRL).

La RBRL, presenta una gran diversidad de comunidades vegetales, entre las que destacan el matorral de duna costera, las comunidades de manglar, los pastizales inundables, los petenes, las selvas medianas subperennifolias y subcaducifolias, la selva baja caducifolia, selva baja caducifolia espinosa y las selvas inundables (SEMARNAP, 1999). En conjunto, estos sistemas sustentan alta diversidad florística y faunística en relación con áreas continentales de tamaño similar. Esta área se considera zona de alto

riesgo, por encontrarse en la trayectoria de huracanes que se originan en el Caribe y Atlántico oriental (Rubiera, 2005). El corazón de la reserva lo constituye una laguna costera de aproximadamente 70 km de longitud, la cual se encuentra separada del mar por una barra arenosa formada por sedimentos marinos de reciente origen (Durán, 1992b).

La vegetación de esta barra está conformada por matorral de duna costera de entre 0.5 m a 4 m de altura aproximadamente, dominado por las palmas *Pseudophoenix sargentii*, *Thrinax radiata* y *Coccothrinax readii*, y por algunas especies de árboles como *Metopium brownei* y *Sideroxylon americanum*. El estrato inferior de la comunidad está dominado por *Agave angustifolia*. Es una comunidad muy diversa y presenta gran afinidad florística con las islas del Caribe (Durán, 1992; Espejel, 1984).

Para la RBRL el clima es cálido subhúmedo, con lluvias en verano y un porcentaje de lluvia invernal superior al 10% (García, 1973), la precipitación oscila alrededor de los 675 mm, el régimen de lluvias es muy variable y altamente impredecible a lo largo de todos los años (Orellana *et al.*, 1999). La temperatura promedio es de 26.3 °C. Es necesario destacar que la comunidad vegetal existente se encuentra muy expuesta a los vientos del mar y la consecuente salinidad de los mismos (Durán, 1992).

En la reserva, *P. sargentii* se encuentra aparentemente de manera discontinua debido a un adelgazamiento en la barra arenosa entre la Ensenada de Mulsinik y La Angostura, así como también a asentamientos humanos, como son los pueblos de Las Coloradas y El Cuyo, además de una salinera en Punta Mecoh.

SITIOS DE MUESTREO Y COLECTA DE MATERIAL VEGETAL

Se seleccionaron cuatro sitios de colecta como poblaciones seleccionadas dentro de la RBRL, denominadas como: Holchit, Las Coloradas, Punta Mecoh y El Cuyo (Figura 5). Asimismo, para conocer la situación presente en la RBRL en comparación a otras poblaciones de *P. sargentii* presentes en la Península de Yucatán, se realizó un estudio exploratorio, que abarcó tres sitios de colecta ubicados en: Xel-Ha, Limones y Mahahual (sobre la carretera a Xcalak) (Cuadro 1, Figura 6). Se ubicó geográficamente a las

poblaciones seleccionadas con el uso de un geoposicionador (*GPSmap 76CS x*, GARMIN), y se registraron los datos de fecha, estado fenológico, altura y localidad.

Cuadro 1. Descripción de los sitios de estudio en donde ocurre *P. sargentii* en la Península de Yucatán. * Durán 1992. ** Contados en campo.

Población	Ubicación	ind./ha	n	Vegetación	Clima	¹ km	Suelo	Relieve	msnm
Holchit	N: 21.61 W: 87.95	** Abundante	30	Matorral de dunas costeras	Cálido-seco	14	Arenoso	Planicie de acumulación marina y fluvio marina	<10
Las Coloradas	N: 21.57 W: 87.87	*808.33	30	Matorral de dunas costeras	Cálido-seco	8.6	Arenoso	Planicie de acumulación marina y fluvio marina	<10
Punta Mecoh	N: 21.52 W: 87.74	** Abundante	30	Matorral de dunas costeras	Cálido-seco	8.6	Arenoso	Planicie de acumulación Marina y fluvio marina	<10
El Cuyo	N: 21.50 W: 87.62	*816.66	30	Matorral de dunas costeras	Cálido-seco	13.5	Arenoso	Planicie de Acumulación Marina y fluvio marina	<10
Xel-Ha	N: 20.67 W: 87.08	*591.66	12	Selva baja subcaducifolia	Cálido-subhúmedo	177	Rocoso con oquedades	Planicie de acumulación lagunar estructural	<10
Limonos	N: 18.97 W: 88.03	***12	12	Selva mediana-baja subperennifolia	Cálido-subhúmedo	45.8	Rocoso con materia orgánica	Planicie de acumulación marginal a la costa a altura media baja	<30
Mahahual	N: 18.69 W: 87.73	****Poco abundante	12	Selva baja subcaducifolia e inundable	Cálido-subhúmedo	45.8	Rocoso con oquedades/ inundable	Planicie de acumulación lagunar estructural	<10



Figura 5. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo de *P. sargentii* en la RBRL.

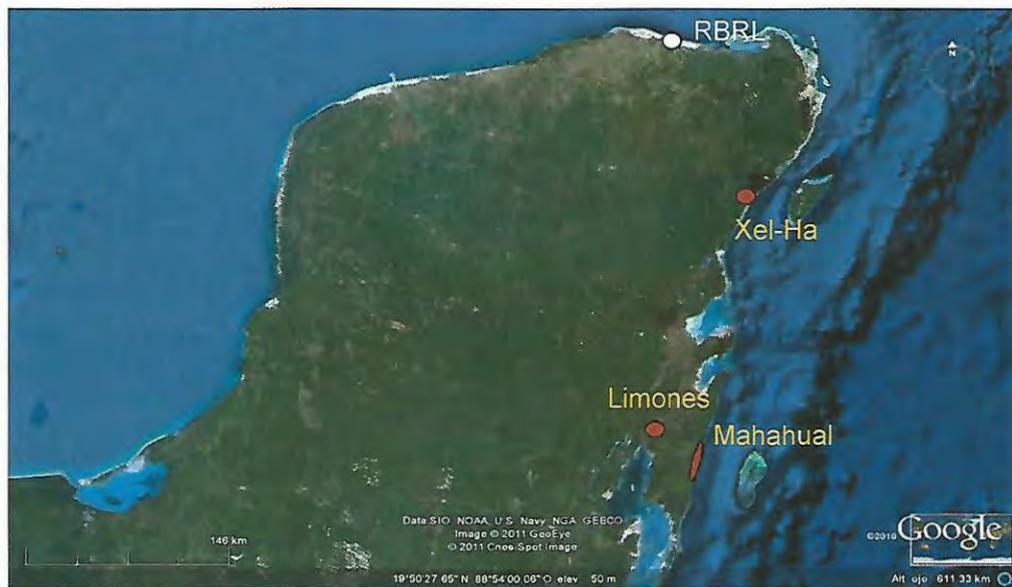


Figura 6. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo de *P. sargentii* en la Península de Yucatán. RBRL: Reserva de la Biosfera Ría Lagartos; Xel-Ha; Limones; Mahahual.

En los sitios dentro de la Reserva, se muestreo (hoja) al azar a 30 individuos adultos, mientras que en las otras localidades externas a la reserva se tomaron muestras de 12 individuos por cada sitio. Las muestras consistieron en 7 pinas de la hoja bandera y/o espada por individuo. De las muestras colectadas, se almacenaron 3 réplicas a -80°C y 6 réplicas en sílica gel, para la posterior extracción de ADN.

LABORATORIO

Se extrajo ADN genómico con el método CTAB (Cetyltrimethyl Ammonium Bromide) (de Dellaporta et al., 1998, modificación Coello, 2007). La calidad del ADN extraído fue evaluada por medio de geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio. La cuantificación del ADN se realizó por medio de Fluorimetría (Hoefer Quant DQ200 Lab Dyna).

Se aplicó la técnica de microsatélites para analizar la variabilidad genética de cada uno de las localidades seleccionadas siguiendo la metodología propuesta por Billotte *et al.* (2004) y Namoff *et al.* (2010). Para la selección de los iniciadores se probaron 20 pares de iniciadores que fueron exitosos en especies filogenéticamente cercanas a *P. sargentii* de acuerdo con Roncal *et al.* (2008). 10 pares de iniciadores transgénicos: dos de Baudouin y Lebrun (2002), cinco de Gaitán-Solis (2003), uno de Gaiotto *et al.* (2003), dos de Billotte *et al.* (2004a y 2004b) y 10 pares de iniciadores especie-específicos: Namoff *et al.* (2010) (Cuadros 2 y 3).

De los 10 iniciadores transgénicos que se probaron en la RBRL, se logró la amplificación de 6 loci: *mPdCIRO15*, *mPdCIRO48*, *Ca1*, *Ca13*, *Cs5* y *Cs24*, todos ellos resultaron monomórficos para la RBRL. De los 10 pares de iniciadores especie-específicos se logró la amplificación de 9 loci: *pse2.1*, *pse3.11*, *pse3.34^b*, *pse3.6*, *pse5.2*, *pse5.4*, *pse5.5*, *pse5.6* y *pse7.26^b*, de los cuales 7 loci resultaron monomórficos para la RBRL, mientras que a nivel de la Península de Yucatán resultaron polimórficos los 9 loci, los cuales se utilizaron para llevar a cabo el análisis de los datos (Cuadro 3).

Cuadro 2. Características de los 10 pares de iniciadores de microsatélites transgénicos utilizados en el análisis de la diversidad, estructura y en las poblaciones de *P. sargentii* presentes en la RBRL. Evaluación de la amplificación de los productos y su nivel de polimorfismo. Número de alelos por locus (N_a), temperatura de alineamiento en °C (T_a).

Locus	Secuencia/primer (5'-3')	Motivo	T_a	Tamaño/ producto	N_a	Autores/ especie	PCR RBRL
<i>mPdCl</i> <i>R015</i>	F: AGCTGGCTCCTCCCTTCTTA R: GCTCGGTTGGACTTGTCT	(GA) ₁₅	52	127-147	9	Billotte <i>et al.</i> 2004a	✓ monomórfico
<i>mPdCl</i> <i>R048</i>	F:CGAGACCTACCTTCAACAAA R:CCACCAACCAAATCAAACAC	(GA) ₃₂	51.4	156-192	12	Billotte <i>et al.</i> 2004a	✓ monomórfico
<i>mBgCl</i> <i>R077</i>	F: TTTGCATGTTGGGACAT R: ACTGCTACTGGCACTGTAAG	(CA) _n (GA) _n	52	172-186	2	Billotte <i>et al.</i> 2004b	X
<i>Ca1</i>	F: GGGGCTTACAAAATAGGGAGA R: GACAACAACACCATACGACCA	(GA) _n	52	229-235	4	Gaitán-Solís 2003	✓ monomórfico
<i>Ca13</i>	F: TTTGACCCTCCCTAGACCC R: ATCAGGAGCTAATGTTGACCC	(GA) _n	52	226-246	7	Gaitán-Solís 2003 <i>Ceroxylon alpinum</i>	✓ monomórfico
<i>Ca17</i>	F: CAGACATTGGCTTCAAACA R: ATGCGCTTATTCTGTTCTC	(GA) _n	50	103-127	8	Gaitán-Solís 2003	X
<i>Cs5</i>	F: GCATTGTGAGAGCAAGTGC R: GAAACCACCAATCCTCCTTT	(GT) _n (GA) _n	50	196-222	8	Gaitán-Solís 2003	✓ monomórfico
<i>Cs24</i>	F: CGTGTCTTCACCAGAGTGTG R: ACCGTCGTTGATGGCACCA	(CA) _n (GA) _n	50	174-212	10	Gaitán-Solís 2003	✓ monomórfico
<i>EE5</i>	F: GA _g AACACATAAGCTGC R: GCTTCAG _g AATTAGGACA	(AG) ₂₄	56	102-136	13	Gaiotto <i>et al.</i> 2001	X
<i>EE59</i>	F: AACCTCTCTTTGGCCTA R: CTTGGCATACTGGAACC	(AG) ₁₆	56	84-128	12	Gaiotto <i>et al.</i> 2001	X

Cuadro 3. Características de los 10 pares de iniciadores de microsatélites especie-específicos utilizados en el análisis de la diversidad, estructura y en los sitios de muestreo de *P. sargentii* en la RBRL y en la Península de Yucatán. Evaluación de la amplificación de los productos y su nivel de polimorfismo. Número de alelos por locus (*N_a*), temperatura de alineamiento en °C (*T_a*).

Locus	Secuencia/primer (5'-3')	Motivo	<i>T_a</i>	Tamaño/ producto	<i>N_a</i>	Autores	PCR RBRL
<i>pse2.1</i>	F:TCTTCAGTCTTCACCTTCTGC CATGC R:GAGTCTTACAGATAGCGAAG AACACAG	(CA) ₂₁	54	255-294	12	Namoff <i>et al.</i> 2010	✓ monomórfico
<i>pse 3.11</i>	F:AGTGCTGTGATTATCTGAAAT TGACCTGT R:GCCTACATGCTCCATCAACTA ATGATGTAG	(CA) ₁₅	64	269-291	8	Namoff <i>et al.</i> 2010	x
<i>pse 3.33b</i>	F:GATTCTTCAAAATGCCAAGTT CAGCCTG R:ATCCATGCCATTCTCATCCTG GTCC	(TA) ₆ (GA) ₇	55	266-276	5	Namoff <i>et al.</i> 2010	✓ monomórfico
<i>pse 3.34b</i>	F:TACCTGCTTTTACAGTAGCCT CAGTAAT R:CATTGCTGGACTTGATGTGTT GAATTTCTGATG	(AG) ₁₀	56	217-227	6	Namoff <i>et al.</i> 2010	✓ Polimórfico (2 alelos)
<i>pse3.6</i>	F:AGTTACGGTGGCTTGAATTG GAGTTAG R:TCTGCCATCATCCACAGCCAT CAAC	(CA) ₁₆ (GA) ₁₉	68	168-246	17	Namoff <i>et al.</i> 2010	✓ monomórfico
<i>pse5.2</i>	F:AATGCAAGACTCGGTCAACC AAAAGT R:TGATTCTGGTGAAATGTTGC ATCA	(AT) ₈ (GT) ₂₁	55	390-432	11	Namoff <i>et al.</i> 2010	✓ monomórfico
<i>pse5.4</i>	F:CAAACATACGAATAGACTTTG GAATAAGATGTTT R:ATAGAAAACCATCATGCAGTA CGAG	(GT) ₅ (GT) ₃ (AT) ₇	54	348-352	3	Namoff <i>et al.</i> 2010	✓ * monomórfico
<i>pse5.5</i>	F:CTGACCCTGTAGCTTGATCCA ACCTAG R:CCATCAAAATTAGCCATCCTA GACCTAATC	(GT) ₁₂ (GT) ₂₀	54	181-208	7	Namoff <i>et al.</i> 2010	✓ * monomórfico
<i>pse5.6</i>	F:CCAGCTCCCAGTGTTTATGAT CC R:TATCTCCAACACCACTCCTAG CCG	(GT) ₁₇ (GA) ₂₁	65	349-397	14	Namoff <i>et al.</i> 2010	✓ monomórfico
<i>pse 7.26b</i>	F:ACTGGAAGGTGATGACATAA GATG R:CTCAACGTGACATCCGACGG TAG	(AAG) 10	64	306-318	4	Namoff <i>et al.</i> 2010	✓ Polimórfico (2 alelos)

La amplificación se realizó en un termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems). Se aplicaron las condiciones para la PCR reportadas por cada autor para cada grupo de cebadores; con una mezcla única para PCR con un volumen final de reacción de 20 μ l: 0.8 μ M de cada primer, 1 unidad de Taq, 1x de buffer de reacción, 2.0 mM MgCl₂, 0.2mM de cada dNTP y 1 μ l de ADN (50ng/ml).

La electroforesis se realizó en geles desnaturalizantes de poliacrilamida al 5 % (19:1 acrilamida- bisacrilamida, urea 5 M y TBE 0.5 x), se adicionó formamida (0.45 % de azul de bromofenol y 0.25 % de xileno-cianol) y se desnaturalizó en un secuenciador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) a 94°C por 5 minutos, se utilizaron marcadores de 10pb, 50pb y 100pb dependiendo del tamaño del fragmento esperado. La electroforesis fue a 60-W de poder constante (SQ3 Sequencer, Hoeffer) con un duración promedio de 2:30 hrs, dependiendo del tamaño del fragmento esperado. Para su visualización se llevó a cabo la técnica de tinción con plata (Christensen, y otros 1999): Inmersión en una solución de ácido Acético al 15% en agitación constante, enjuague en agua destilada, inmersión en una solución de Plata al 0.2% en agitación constante, y por último el revelado en una solución de Carbonato de Sodio al 3%.

ANÁLISIS DE DATOS

Para evaluar la variabilidad genética de las poblaciones de *P. sargentii* en la RBRL y a su vez evaluar su variabilidad con respecto a otras poblaciones en la Península de Yucatán, el análisis se llevó a cabo a los dos niveles: al interior de la RBRL, y a nivel de la Península de Yucatán.

En primer término, se probó el ajuste al equilibrio Hardy-Weinberg (H-W) de las poblaciones seleccionadas estudiadas por medio de la prueba exacta basada en el método convencional de MonteCarlo (Gou y Thompson, 1992) utilizando el programa TFGA (Tools for Population Genetic Analyses) (Miller, 1997). También, se obtuvo el índice de fijación de Wright (F_{IS}) (1978) como un indicador de exceso o déficit de heterocigotos para cada locus/población.

Para analizar la diversidad genética se estimaron los siguientes índices: número de alelos por locus (A), número efectivo de alelos por locus (A_e) (Hartl y Clark, 1989),

heterocigosidad observada (H_o) e índice de diversidad genética de Nei (H_E) (Nei, 1973). Para estos análisis se utilizaron los programas POPGENE 1.31, opción marcadores diploides codominantes (Yeh y Boyle, 1999) y GenAIEX (Genetic Analysis in Excel) (Peakall y Smouse, 2006).

Para analizar la estructura genética, se estimaron los valores de F_{ST} y R_{ST} . Para comparar los resultados obtenidos con ambos estimadores de diferenciación, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA, por sus siglas en inglés) (Excoffier *et al.*, 1992) considerando dos niveles de jerarquía: entre individuos y entre poblaciones. El flujo génico histórico fue estimado usando N_m ($N_m = [(1/F_{ST}) - 1]/4$) (Freeland, 2005). Todos estos análisis fueron realizados con POPGENE 1.31 (Yeh y Boyle, 1999) y GenAIEX (Peakall y Smouse, 2006). Para evaluar la hipótesis de aislamiento por distancia, se hizo una prueba de Mantel (Mantel, 1967; Sokal, 1979) utilizando las matrices de distancias genéticas y geográficas de las poblaciones. Su significancia fue probada con 1000 permutaciones. Para ambos análisis se utilizó el programa ARLEQUÍN ver 2.0 (Schneider *et al.*, 2000).

Para determinar el número real de poblaciones de *P. sargentii* existentes, se hicieron pruebas de asignación de individuos utilizando el programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) y el programa GenAIEX (Peakall y Smouse, 2006). Por un lado, el programa de STRUCTURE permite conocer el flujo genético reciente entre poblaciones, pero también nos permite conocer el número de poblaciones reales (valor de K), genéticamente hablando (Pritchard *et al.*, 2000). Para esto, se analizaron en primer término los datos considerando a los sitios de colecta como poblaciones seleccionadas, esto es una $K = 4$ tanto para el estudio realizado a nivel de la RBRL como a nivel de la Península de Yucatán. Posteriormente se analizaron los datos con valores de K de 1 a 5 para ambos niveles de estudio y así determinar cuál K es genéticamente la más óptima a considerar. Por su parte, el programa GenAIEX permite identificar el número de individuos pertenecientes a una población dada, así como la asignación de cada uno de los individuos que no pertenecen originalmente a la población dónde se encuentran, a la población con mayor similitud genética (Peakall y Smouse, 2006).

Las relaciones genéticas se determinaron con base en la distancia genética de Nei (1978). Para su representación se construyó un dendograma con el método de UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) y 1000 remuestreos al azar (Felsenstein, 1985). Estos análisis se hicieron con el programa TFPGA (Miller, 1997). Para corroborar los datos encontrados se aplicó la técnica del método factorial de Análisis de Coordenadas Principales (Principal Coordinates Analysis - PCoA – por sus siglas en inglés). Ésta técnica consiste en detectar estructuras fuertes en una población, sin tomar en cuenta en lo posible los efectos individuales. El PCoA es una técnica de análisis multivariado que permite detectar los ejes de mayor variación a diferencia del método de agrupamiento (UPGMA) que solo tiene un eje. Se realizó con el programa GenAIEX (Peakall y Smouse, 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DIVERSIDAD, ESTRUCTURA Y RELACIONES GENÉTICAS DE LA PALMA KUKA' EN LA RBRL

Las poblaciones estudiadas de *P. sargentii* se desarrollan en el matorral de duna costera, con distintas densidades de individuos maduros, siendo la población de El Cuyo la más densa, y la población de Las Coloradas la menos densa, aunque las diferencias no son significativas (Durán, 1992). Entre las poblaciones se observó un alto número de loci monomórficos (7). Únicamente los loci *pse3.34^b* y *pse7.26^b* resultaron polimórficos en las cuatro poblaciones (Cuadro 4). Para las poblaciones de Holchit, Las Coloradas y Punta Mecoh, las frecuencias genotípicas de estos loci no fueron significativamente diferentes de las esperadas bajo el Equilibrio Hardy Weinberg. Sin embargo, para El Cuyo el locus *pse3.34^b* no se encuentra en EHW ($P = 0.0059$). Asimismo, considerando todas las localidades de la Reserva como una sola población, este mismo locus mostró no estar bajo EHW. Estos resultados son acordes con lo encontrado a partir del índice de fijación (F_{IS}) como medida de un exceso o déficit de heterocigosidad, que mostró que las poblaciones de Holchit, Las Coloradas y El Cuyo tienen un ligero déficit de heterocigosidad, a excepción de Punta Mecoh que mostró un exceso (Cuadro 5). Las poblaciones de Holchit, Las Coloradas y El Cuyo mostraron un déficit de heterocigosidad. En contraste la población de Punta Mecoh, mostró un ligero exceso de heterocigosidad, consecuencia posiblemente de la densidad de individuos entre los sitios de muestreo.

Cuadro 4. Prueba para el Equilibrio Hardy Weinberg para cada locus en cada sitio de muestreo en la RBRL.

Población	Loci								
	<i>pse</i> 2.1	<i>pse</i> 3.11	<i>pse</i> 3.34 ^b	<i>pse</i> 3.6	<i>pse</i> 5.5	<i>pse</i> 5.6	<i>pse</i> 7.26 ^b	<i>pse</i> 5.2	<i>pse</i> 5.4
Holchit	M	M	0.248	M	M	M	1.000	M	M
P. Mecoh	M	M	0.302	M	M	M	1.000	M	M
Coloradas	M	M	1.000	M	M	M	1.000	M	M
El Cuyo	M	M	**0.00	M	M	M	1.000	M	M
RBRL	M	M	**0.00	M	M	M	1.000	M	M

M = monomórfico; ** $P < 0.01$

Se encontraron 11 alelos en los 9 loci estudiados (Figura 7). Los loci con mayor número de alelos fueron pse3.4b y pse7.26b (con 2 alelos cada uno). El resto de los loci fueron monomórficos (Cuadro 5 y Figura 7).

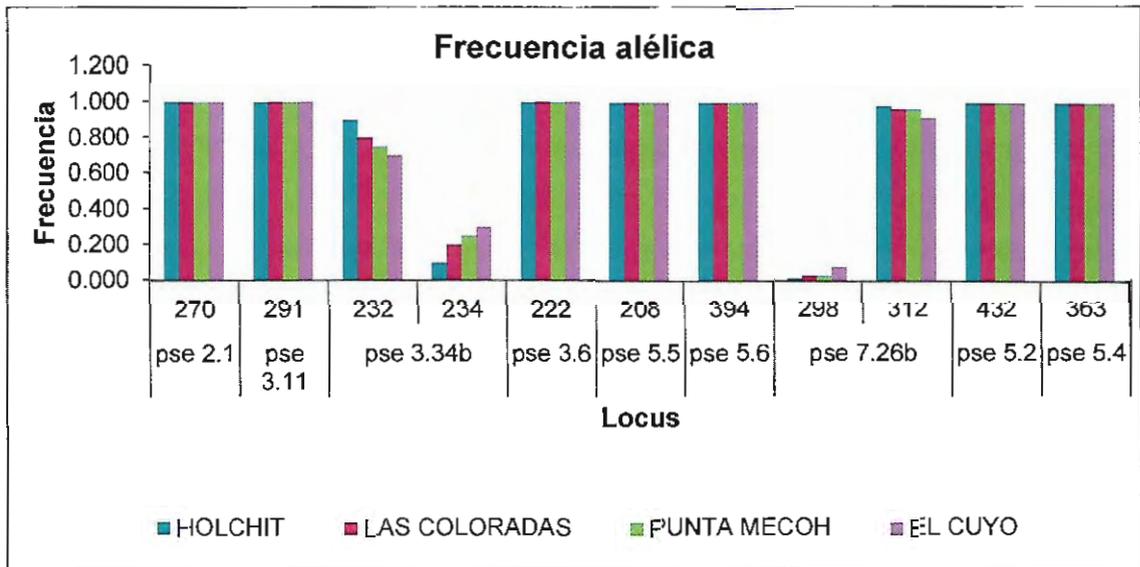


Figura 7. Frecuencias alélicas de los 9 loci especie-específicos en la RBRL.

Para toda la RBRL se encontraron los siguientes valores de riqueza alélica y diversidad genética: $A = 1.222$, $A_e = 1.066$, $H_o = 0.036$ y $H_E = 0.045$ (Cuadro 5), los cuales fueron significativamente bajos. La población que tuvo el mayor índice de diversidad ($H_E = 0.064$) y el mayor número de alelos efectivos ($A_e = 1.1$) fue El Cuyo, la cual se encuentra en el extremo este de la RBRL, lo que pudiera indicar que ésta es quizá, el remanente de los primeros individuos que llegaron a colonizar esta zona, ya que el índice de diversidad disminuye gradualmente hacia la población de Holchit ($H_E = 0.024$), límite oeste de la reserva, lo cual pudiera explicar la dirección de la dispersión de esta especie en la Reserva. Aun así, estos valores fueron menores comparados con otros estudios realizados en otras especies de palmas y con otros marcadores genéticos. Eguiarte *et al.* (1992), mediante el uso de electroforesis enzimática, encontraron para *A. mexicanum* un $H_E = 0.153$ y un exceso de heterocigotos ($F_{IS} = -0.41$) para las palmas adultas de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas (Veracruz, México). Shapcott (1999), mediante el uso de isoenzimas, reportó para cinco especies de *Pinanga* niveles altos de diversidad genética ($H_E = 0.379, 0.256, 0.294, 0.133$ y 0.352). Cardoso *et al.* (2000), usando marcadores genéticos AFLP, reportaron una variación moderada ($H_E = 0.119$) para 150

individuos de 11 poblaciones de *E. edulis* presentes en el bosque lluvioso del Atlántico de Brasil, lo que podría estar influenciado por el gran número de poblaciones representado con tan pocos individuos en cada una de éstas. Gaiotto *et al.* (2003), usando 18 loci microsatélites en 2 poblaciones, reportaron para esta misma especie en el centro de Brasil, un nivel de diversidad muy alto ($H_E = 0.751$). Las diferencias encontradas en los dos últimos estudios antes citados pueden ser explicadas por la gran sensibilidad de los microsatélites en la detección de polimorfismo y por el tamaño de la batería de microsatélites. Aunque cabe señalar que, para las poblaciones de la RBRL, esta alta sensibilidad en la detección de polimorfismos señalada para los microsatélites no fue observada, aun cuando se reportó una gran cantidad de alelos por loci en el diseño de los iniciadores (Cuadro 3) (Namoff *et al.* 2010). Una variedad de factores podrían explicar estas diferencias, como la selección humana en algunas poblaciones, la extracción masiva de individuos, la selección por el ambiente, entre otros. La baja variabilidad genética encontrada al interior de la RBRL podría ser explicada debido a un efecto fundador, es decir, que esta zona haya podido ser colonizada en un inicio, por un grupo pequeño de miembros de alguna población Antillana. Esto pudo haber ocasionado la reducción de la variación genética, y asimismo, posiblemente por la presión selectiva ejercida por el nuevo ambiente a colonizar, haya sufrido una reducción aún mayor.

Cuadro 5. Estimadores de la diversidad genética de las cuatro poblaciones consideradas en el análisis de *P. sargentii* presente en la RBRL, con 9 loci de microsatélites. n = tamaño de muestra, A = número de alelos, A_e = número de alelos efectivos, H_o = heterocigosidad observada, H_E = heterocigosidad esperada (Nei 1978), $\%P$ = porcentaje de loci polimórficos, F_{IS} = índice de fijación.

Población	n	A	A_e	H_o	H_E	$\%P$	F_{IS}
Holchit	30	1.222	1.028	0.019	0.024	22.22	0.121
Coloradas	30	1.222	1.060	0.037	0.043	22.22	0.066
P. Mecoh	30	1.222	1.074	0.048	0.049	22.22	-0.006
El Cuyo	30	1.222	1.100	0.041	0.064	22.22	0.216
RBRL	120	1.222	1.066	0.036	0.045	22.22	0.099

Con respecto a la estructura genética, se observó una muy baja diferenciación genética entre las poblaciones seleccionadas en la RBRL ($F_{ST} = 0.029$ y $R_{ST} = 0.006$). Esto es probablemente debido al nivel significativamente alto de flujo génico entre las poblaciones ($N_m = 8.254$) (Cuadro 6) lo cual no se esperaba. Estos resultados fueron apoyados por el AMOVA (Figura 8) que indicó sólo el 1% de variación entre las poblaciones (0.054). Eguiarte *et al.* (1992) hallaron niveles significativamente bajos de diferenciación genética para *A. mexicanum*, especialmente para los adultos ($F_{ST} = 0.040$), lo que parece ser, el resultado de un equilibrio entre la polinización cruzada y la selección natural. Gaiotto *et al.* (2003) reportaron para *E. edulis* bajos pero significativos índices de variación genética intrapoblacional ($F_{IT} = 0.17$, $F_{IS} = 0.12$, $F_{ST} = 0.06$ y $R_{ST} = 0.07$), así como altos niveles de flujo génico ($N_m = 3.37$), aunque no tan altos como los encontrados en este trabajo.

Cuadro 6 Estimadores de estructura genética para *P. sargentii* en la RBRL, con 9 loci de microsatélites y el análisis de varianza molecular (AMOVA). R_{ST} = análogo de F_{ST} , asumiendo un modelo de mutación gradual, F_{ST} = índice de diferenciación genética entre las poblaciones, F_{IT} = diversidad total, N_m = flujo génico.

Población	R_{ST}	F_{ST}	F_{IT}	N_m	AMOVA
RBRL	0.006	0.029	0.216	8.254	0.054

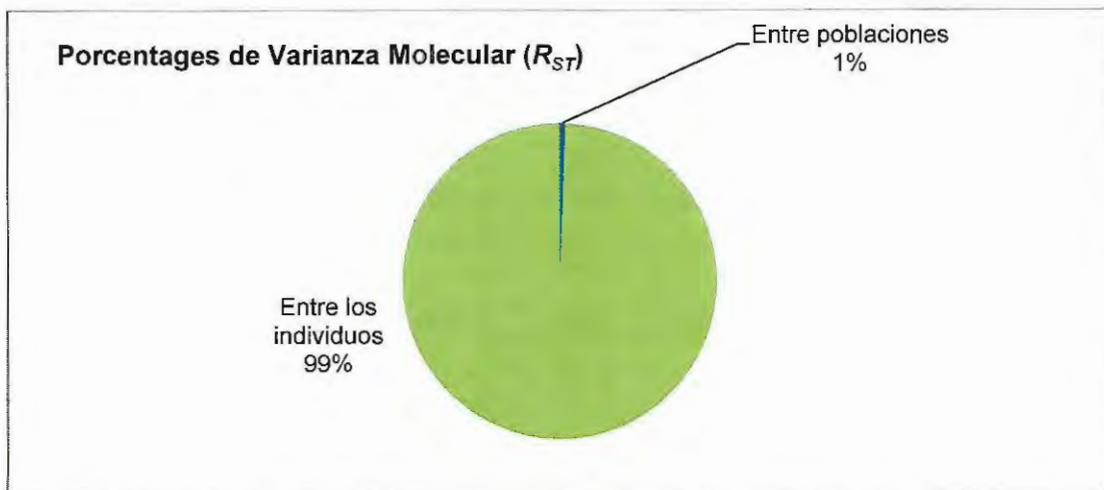


Figura 8. Representación gráfica del AMOVA para *P. sargentii* en la RBRL.

La Figura 9 muestra el UPGMA de las 4 poblaciones seleccionadas. La topología observada (el patrón de interconexión entre los nodos) indica un agrupamiento con una distancia genética muy pequeña a pesar de su distribución geográfica. Los sitios de Punta Mecoh y El Cuyo se agruparon a una misma distancia y son muy similares a Las Coloradas. Únicamente Holchit (la población en el extremo oeste de la RBRL) se separó de las otras tres poblaciones aunque a una distancia genética muy pequeña (< 0.005).

Distancia genética no sesgada (Nei 1978)

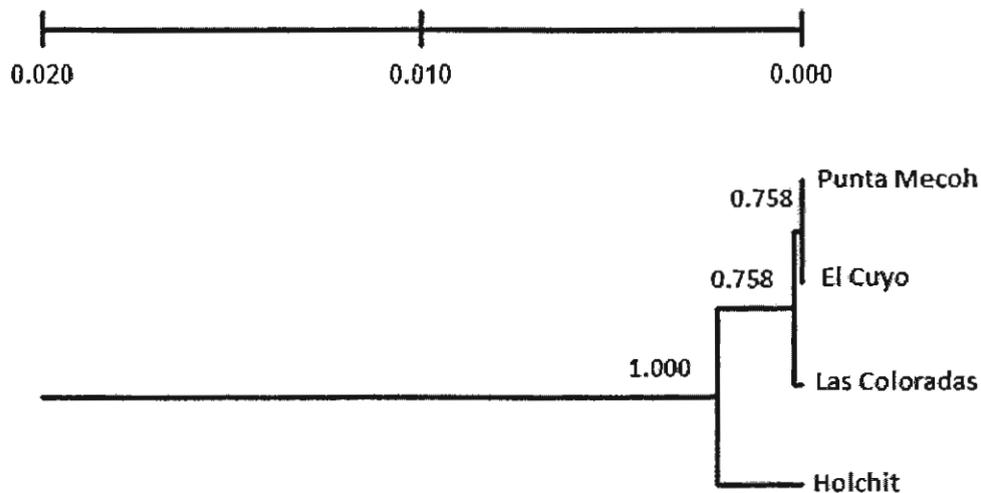


Figura 9. Dendrograma (UPGMA) basado en la distancia genética no sesgada de Nei (1978) de los cuatro sitios de colecta de *P. sargentii* en la RBRL. Los números arriba de las líneas son la proporción de réplicas similares que soportan cada nodo.

Esta distancia genética tan pequeña entre las poblaciones fue confirmada por una prueba de Mantel (Figura 10). Las poblaciones no presentaron un patrón de agrupamiento basado en su ubicación geográfica. La diferenciación genética encontrada en el análisis es muy baja y poco evidente, lo cual puede ser explicado muy probablemente por el flujo génico tan alto. Es factible que, eventualmente, después de entre los 40 y 45 km, el aislamiento por distancia sea más evidente, y por ende el nivel de diferenciación genética sea mayor, por lo que podemos decir que las localidades analizadas se comportan como una sola población.

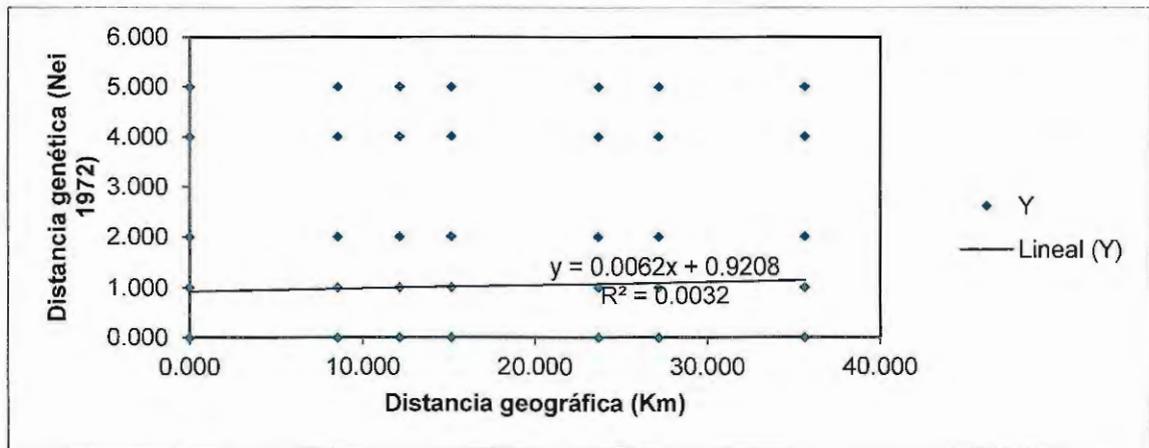


Figura 10. Correlación entre la distancia genética (Nei 1972) y la distancia geográfica de cuatro sitios de muestreo de *P. sargentii* en la RBRL. $R^2 = 0.003$.

Cardoso *et al.* (2000) en el análisis de estructura genética de *E. edulis*, reportaron una diferenciación genética moderada entre las poblaciones ($F_{ST} = 0.426$), y a su vez fue correlacionada positivamente con la distancia geográfica. Estos autores concluyen que sus resultados podrían ser explicados por la fragmentación histórica de la región, junto con el ciclo de vida y el sistema de apareamiento de la especie.

El Análisis de Coordenadas Principales (Figura 11) no apoyó el agrupamiento observado en el UPGMA, ya que individuos muy similares ocurren en distintas poblaciones, y no presentan un agrupamiento acorde a su distribución geográfica.

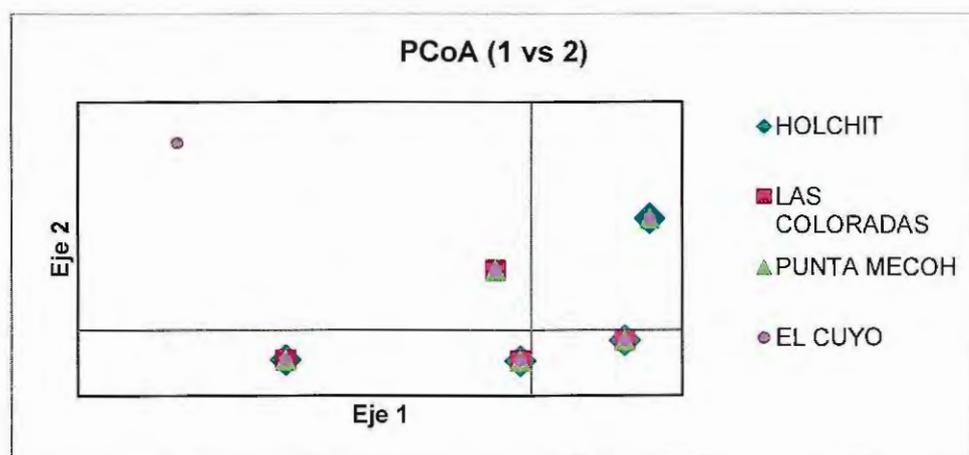


Figura 11. Análisis de coordenadas principales (PCoA) basado en la distancia genética no sesgada de Nei (1978) de los cuatro sitios de colecta de *P. sargentii* en la RBRL.

La prueba de asignación de individuos usando como referencia a las poblaciones seleccionadas, es decir con una $K = 4$ (Figura 12), reveló la presencia de individuos muy similares genéticamente ubicados en diferentes poblaciones (casi con el mismo nivel de ancestría). Además, mediante esta prueba se reconoció únicamente a 2 subpoblaciones ($K = 2$), lo que permitió distinguir mejor la procedencia de los individuos dentro de la RBRL, donde estos solamente pertenecen a las poblaciones de Holchit y El Cuyo, que son las poblaciones ubicadas a los extremos de la reserva (Figura 13), aunque con muy baja diferenciación genética, lo que corroboró el alto flujo génico, y la existencia gradual del aislamiento por distancia.

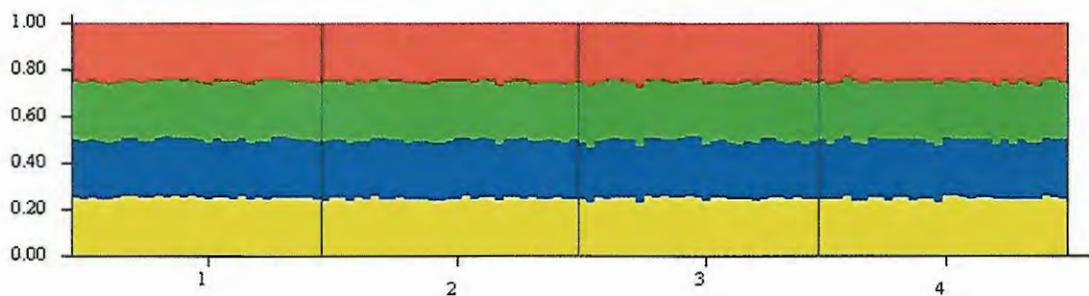


Figura 12. Coeficientes de ancestría ($K = 4$) estimados por individuo, agrupados por población. Cada individuo es representado por una línea vertical, dividida en cuatro segmentos de color, con una longitud proporcional a la fracción de ancestría del individuo de cada una de las cuatro poblaciones seleccionadas: 1) Holchit (rojo), 2) Las Coloradas (verde), 3) Punta Mecoh (azul) y 4) El Cuyo (amarillo).

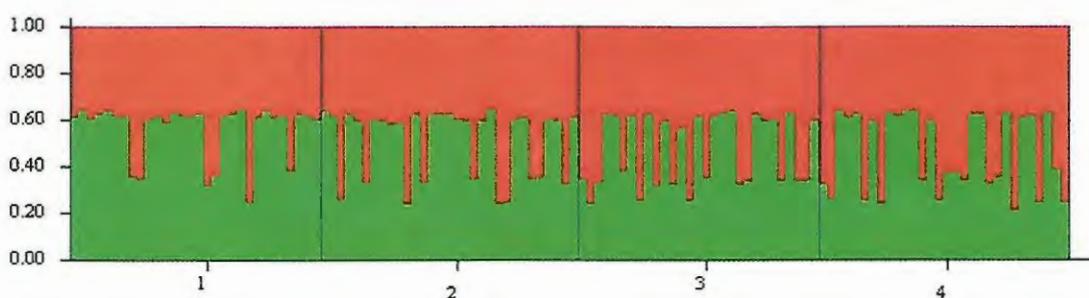


Figura 13. Coeficientes de ancestría ($K = 2$) estimados por individuo, agrupados por población. Cada individuo es representado por una línea vertical, dividida en dos segmentos de color, con una longitud proporcional a la fracción de ancestría del individuo de cada una de las dos subpoblaciones reconocidas: Holchit (rojo) y El Cuyo (verde). Sitios de muestreo: 1) Holchit, 2) Las Coloradas 3) Punta Mecoh y 4) El Cuyo.

En vista de la mínima diferenciación genética entre las poblaciones seleccionadas, podemos considerarlas como una sola población de *P. sargentii* que se extiende a todo lo largo de la duna costera de la RBRL.

ESTUDIO EXPLORATORIO SOBRE LA DIVERSIDAD, ESTRUCTURA Y RELACIONES GENÉTICAS DE LA PALMA KUKA' EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN, MÉXICO

Para tener mayor claridad en relación a la diversidad genética encontrada en las poblaciones de *P. sargentii* de la RBRL se comparó con otras poblaciones existentes en la Península de Yucatán.

A nivel de la península, la población que mostró mayor número de loci polimórficos fue Mahahual (7), seguida de las población de Xel-Ha y Limones (5 cada una). Siendo la RBRL la única población con el menor número de loci polimórficos (2) (Cuadro 7). El locus pse3.34^b no se encuentra en Equilibrio Hardy-Weinberg para ninguna de las poblaciones ($P = 0.000$). Así también, la mayoría de las frecuencias genotípicas de los loci en la población de Mahahual, son significativamente diferentes a las esperadas bajo Equilibrio Hardy-Weinberg. A nivel de la Península de Yucatán, ninguno de los loci estudiados mostró estar bajo Equilibrio Hardy-Weinberg. Estos resultados son apoyados por aquellos obtenidos a partir del índice de fijación (F_{IS}) como medida de un exceso o déficit de heterocigosidad (Cuadro 8). Este índice reveló un déficit de heterocigosidad significativamente alto, consecuencia, posiblemente, del efecto fundador en cada una de las poblaciones, así como también por la fragmentación y degradación del hábitat.

Cuadro 7. Prueba para el Equilibrio Hardy-Weinberg para cada locus en cada sitio de muestreo en la Península de Yucatán.

Población	Loci									
	pse	pse	pse	pse	pse	pse	pse	pse	pse	pse
RBRL	2.1	3.11	3.34 ^b	3.6	5.5	5.6	7.26 ^b	5.2	5.4	
Xel-Ha	M	M	**0.004	M	0.5478	M	1.000	0.0938	***0.00	
Limones	M	M	***0.00	M	1.000	M	1.000	0.558	***0.00	
Mahahual	***0.0	***0.00	***0.00	***0.00	M	***0.00	***0.00	1.000	M	
PY	***0.0	***0.00	***0.00	***0.00	***0.00	***0.00	***0.00	***0.00	***0.00	***0.00

M = monomórfico; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ***

En total se encontraron 23 alelos en los 9 loci estudiados para la Península de Yucatán (Figura 14). El locus con mayor número de alelos fue el pse7.26^b (4), seguido de los loci pse3.11, pse3.4^b y pse5.2 (con 3 alelos cada uno), el resto de los loci tuvieron 2 alelos cada uno.

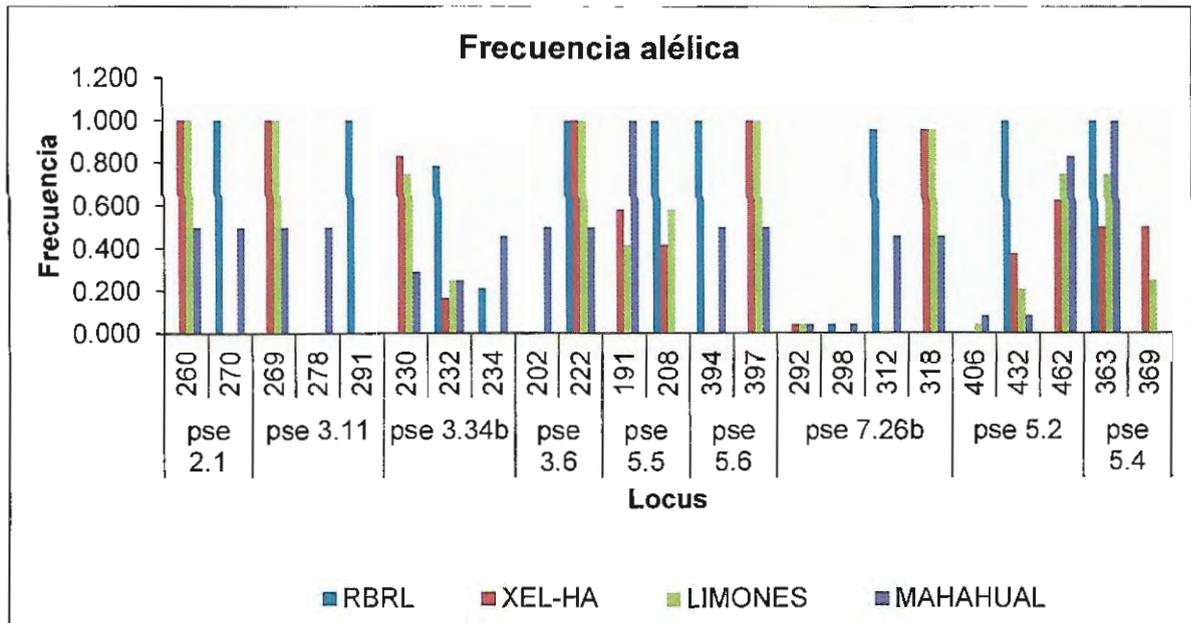


Figura 14. Frecuencias alélicas de los 9 loci especie-específicos en la Península de Yucatán.

Para la Península de Yucatán se encontraron los siguientes valores de riqueza alélica y diversidad genética: $A = 1.667$, $A_e = 1.398$, $H_o = 0.053$ y $H_E = 0.290$ (Cuadro 8), los cuales fueron bajos. Las poblaciones de Xel-Ha, Limones y Mahahual, a pesar del tamaño de muestra tan pequeño, mostraron índices de diversidad significativamente mayores que la encontrada en la RBRL, siendo Mahahual (la población más al sur en la distribución natural en la península) la que tiene una mayor diversidad ($H_E = 0.407$) y el mayor número de alelos efectivos ($A_e = 1.840$) de las poblaciones estudiadas en la península. Los loci pse3.11 y pse3.6 mostraron alelos privados para las poblaciones de la RBRL (pse3.11 – alelo 291) y Mahahual (pse3.11 – alelo 278 y pse3.6 – alelo 202).

La diversidad genética presente en Xel-Ha, Limones y Mahahual, también fue baja comparada con los estudios realizados por Eguiarte *et al.* (1992) *A. mexicanum*, Shapcott (1999), Cardoso *et al.* (2000) y Gaiotto *et al.* (2003), siendo éstos muy similares entre sí y considerados altos. De igual forma se compararon los resultados para la Península de

Yucatán con estudios de otras especies de palmas; Shapcott *et al.* (2007), hallaron que las poblaciones de *Beccariophoenix madagascariensis* (especie amenazada en Madagascar), contenían niveles altos de diversidad genética ($H_E = 0.489$), dentro de cinco poblaciones, a pesar de su tamaño críticamente pequeño. Los resultados de Shapcott *et al.* (2009), revelaron que *Livistona carinensis* (única especie conocida de *Livistona* que ocurre en África, clasificada por la IUCN-2004 como especie vulnerable; restringida únicamente a Somalia, Yemen y Djibouti) contiene muy baja diversidad genética ($H_E = 0.023$) y dicha variación se debió a la variación entre las muestras de Yemen y Somalia a pesar del pequeño tamaño de muestra de dichas poblaciones, comparadas con las poblaciones de Djibouti, las cuales son casi monomórficas. Estos dos últimos casos, tienen gran similitud con los resultados del presente estudio. Esto es, poblaciones con un menor número de individuos presentan una variabilidad genética mayor, en comparación con aquellas poblaciones con una densidad poblacional mayor. Sin embargo, sigue siendo una variación significativamente baja para las especies.

Cuadro 8. Estimadores de la diversidad genética de las cuatro poblaciones consideradas en el análisis exploratorio de *P. sargentii* en la Península de Yucatán (PY), con 9 loci de microsatélites. n = tamaño de muestra, A = número de alelos, A_e = número de alelos efectivos, H_o = heterocigosidad observada, H_E = heterocigosidad esperada (Nei 1978), $\%P$ = porcentaje de loci polimórficos, F_{IS} = índice de fijación.

Población	n	A	A_e	H_o	H_E	$\%P$	F_{IS}
RBRL	120	1.222	1.065	0.036	0.046	22.22	0.217
Xel-Ha	12	1.555	1.366	0.166	0.210	55.56	0.210
Limones	12	1.666	1.319	0.102	0.198	55.56	0.485
Mahahual	12	2.222	1.840	0.064	0.407	77.78	0.843
PY	156	1.667	1.398	0.053	0.290	52.78	0.651

Con respecto a la estructura genética, se observó una diferenciación significativamente alta entre las poblaciones ($F_{ST} = 0.562$ y $R_{ST} = 0.848$). Lo cual es probablemente debido al nivel de aislamiento y el insignificante flujo génico entre las poblaciones analizadas (Cuadro 9). Estos resultados fueron apoyados por el AMOVA (Figura 15) que indicó que el mayor porcentaje de la variación se encuentra entre las poblaciones. Los niveles de diferenciación genética y flujo génico encontrado entre las poblaciones de la Península de Yucatán, fueron totalmente opuestos a los reportados por Eguiarte *et al.* (1992) para *A. mexicanum* y Gaiotto *et al.* (2003) para *E. edulis*, muy probablemente debido a la distancia geográfica (mucho más cortas) y al nivel de aislamiento entre las poblaciones estudiadas por estos autores. Shapcott *et al.* (2007), hallaron que las poblaciones de *B. madagascariensis* son genéticamente diferentes ($F_{ST} = 0.348$) (tanto ecológica como geográficamente). Así mismo, las poblaciones mostraron tener considerables niveles de flujo génico (de 1.317 a 1.519), probablemente debido a la dispersión de las semillas. Shapcott *et al.* (2009), encontraron para *L. carinensis*, que los índices de variación genética a nivel de especie fueron significativamente bajos ($F_{IS} = 0.538$, $F_{IT} = 0.682$, $F_{ST} = 0.224$) y con tendencia a la endogamia. La variación genética entre las poblaciones, se debió a la variación entre las muestras de un pequeño número de individuos de Yemen y Somalia, en relación con las muestras de Djibouti. Estos autores especulan respecto a la baja diversidad genética y la ubicación de las poblaciones de *L. carinensis* a mayor altitud, que pudieran ser explicadas si los humanos tuvieron una historia de utilización cultural de esta especie en la región de Djibouti, sin embargo, no parece tener una significancia cultural o usos útiles para los habitantes actuales.

Cuadro 9. Estimadores de estructura genética para *P. sargentii* en la Península de Yucatán (PY), con 9 loci de microsatélites y el análisis de varianza molecular (AMOVA). R_{ST} = análogo de F_{ST} , asumiendo un modelo de mutación gradual, F_{ST} = índice de diferenciación genética entre las poblaciones, F_{IT} = diversidad total, N_m = flujo génico.

Población	R_{ST}	F_{ST}	F_{IT}	N_m	AMOVA
PY	0.848	0.562	0.810	0.195	531.681

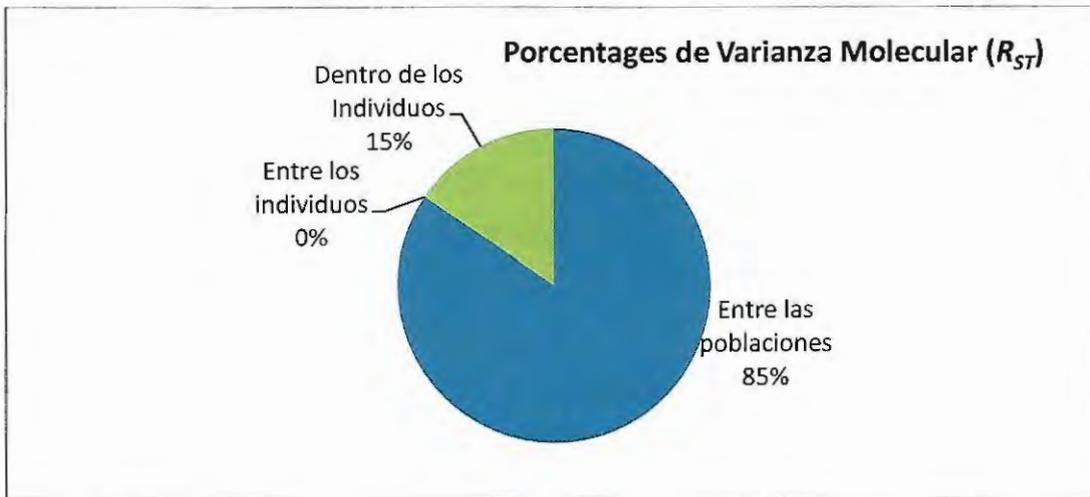


Figura 15. Representación gráfica del AMOVA para *P. sargentii* en la Península de Yucatán.

La Figura 16 muestra el UPGMA de las 4 poblaciones seleccionadas. La topología observada indica un agrupamiento basado en un aparente aislamiento geográfico. Las Poblaciones de Xel-Ha y Limones se agruparon prácticamente a una misma distancia, Mahahual se colocó como grupo hermano de Xel-Ha - Limones. Únicamente la RBRL se separó de las otras tres poblaciones a una distancia genética moderada (> 0.500).

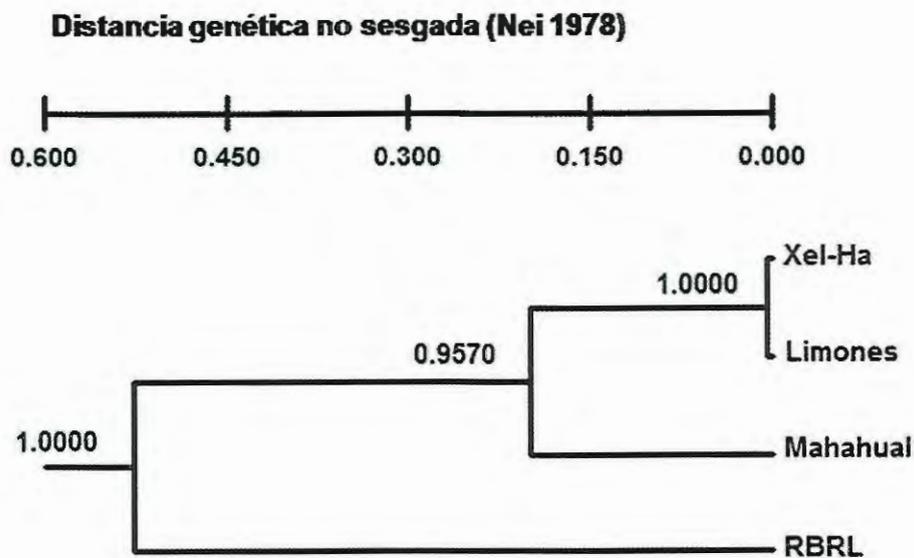


Figura 16. Dendrograma (UPGMA) basado en la distancia genética no sesgada de Nei (1978) de los cuatro sitios de colecta de *P. sargentii* en la Península de Yucatán. Los números arriba de las líneas son la proporción de réplicas similares que soportan cada nodo.

La agrupación de las poblaciones en el UPGMA fue confirmada por una prueba de Mantel (Figura 17), aunque algunos individuos desfasan la correlación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas, lo que podría deberse a una posible ancestría en común a pesar de las distancias geográficas. La RBRL está a una distancia geográfica aproximada de 255 km de la población de estudio más cercana (Xel-Ha), siguiendo el litoral, lo que pudiera explicar la diferenciación tan grande (en promedio $F_{ST} = 0.932$) de la reserva con el resto de las poblaciones y la agrupación de éstas según su ubicación geográfica, aunque es necesario considerar que entre éstas, existen otras poblaciones de *P. sargentii* a lo largo del litoral (Cabo Catoche, Cancún, Sian Ka'an). Por otro lado, entre las poblaciones de Xel-Ha y Limones hay una distancia aproximada de 177 km, sin embargo aparentemente tienen una mínima distancia genética, probablemente debido a la continuidad de individuos en poblaciones relativamente grandes a través de la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an (Durán 1992), que se encuentra ubicada entre estas dos poblaciones, que por su grado de conservación permita la sobrevivencia de dispersores de semillas como las chachalacas y/o por pequeños roedores, así como de polinizadores, incrementando de esta forma el flujo génico entre ambos sitios de muestreo. Entre las poblaciones de Limones y Mahahual hay aproximadamente 45.8 km de distancia entre ellas, no obstante el índice de diferenciación entre éstas es más alto (0.205), lo que pudiera deberse a distintos eventos fundadores, a pesar de que el flujo génico entre ellas es alto.

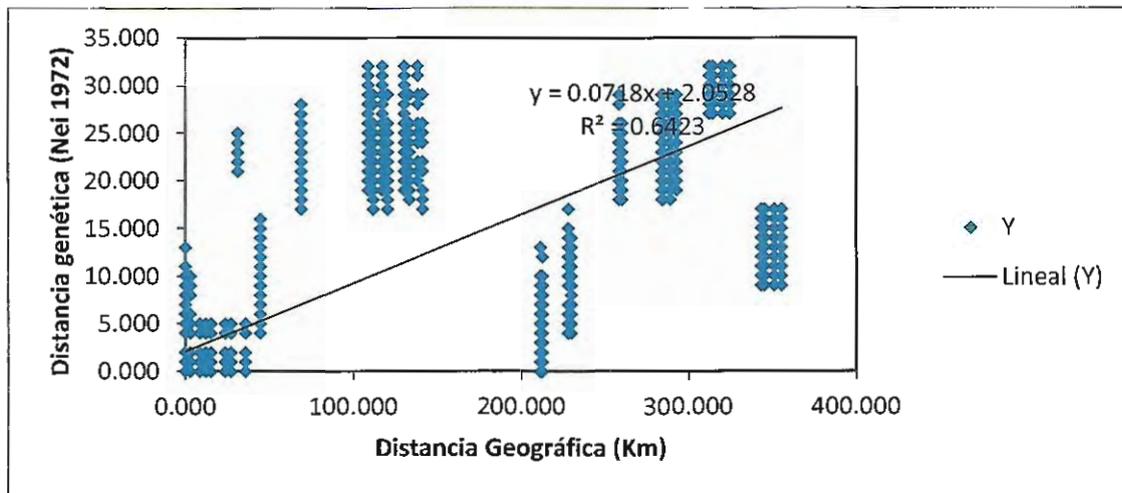


Figura 17. Correlación entre la distancia genética (Nei 1972) y la distancia geográfica de cuatro sitios de muestreo de *P. sargentii* en la Península de Yucatán. $R^2 = 0.642$.

Los resultados observados en el UPGMA fueron corroborados con el Análisis de Coordenadas Principales (Figura 18), con la excepción de 6 individuos de Mahahual, que se aproximaron a la RBRL (lo que explica el desfase de puntos en la correlación de las distancias genéticas y geográficas). La aproximación de los 6 individuos que ocurren en la población de Mahahual, a la RBRL probablemente indique una ancestría común. A nivel de la península, no podemos correlacionar la distancia genética entre las poblaciones con la distancia geográfica, por lo que probablemente la diferenciación genética sea debida a otros factores, como pudieran ser diferentes eventos fundadores (lo que puede estar respaldado por la geomorfología del suelo) de una o más poblaciones Antillanas, y el aislamiento histórico, ya que aparentemente no hay señales de una fragmentación histórica en la península.

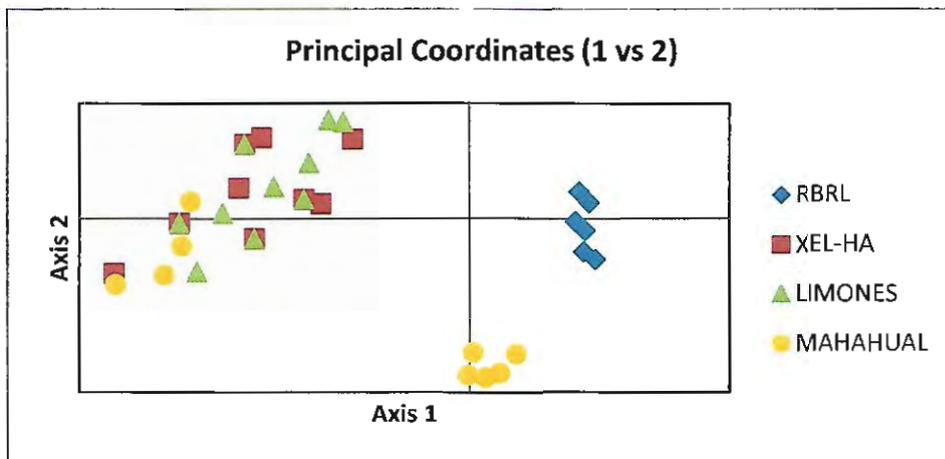


Figura 18. Análisis de coordenadas principales (PCoA) basado en la distancia genética no sesgada de Nei (1978) de los cuatro sitios de colecta de *P. sargentii* en la Península de Yucatán.

La Figura 19 muestra la prueba de asignación de individuos usando como referencia a las poblaciones seleccionadas, es decir con una $K = 4$. Esta prueba reveló la presencia de 3 poblaciones diferenciadas presentes en la Península de Yucatán de entre los sitios de muestreo: 1) RBRL, 2) Complejo Xel-Ha-Limones-Mahahual (a continuación llamado Sian Ka'an) y 3) Xcalak. La RBRL presentó el mismo patrón de agrupamiento que en su análisis individual (con individuos muy similares genéticamente ubicados a diferentes distancias a lo largo de la reserva), confirmando las dos subpoblaciones y el significativamente alto flujo génico entre éstas.

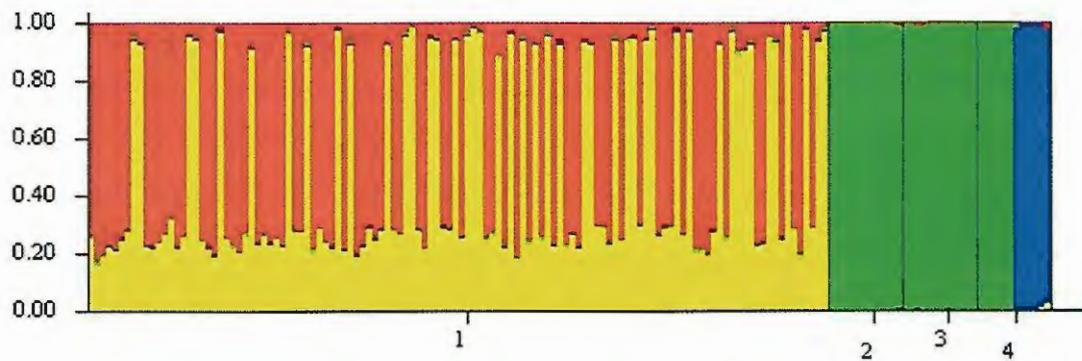


Figura 19. Coeficientes de ancestría ($K = 4$) estimados por individuo, agrupados por población. Cada individuo es representado por una línea vertical, dividida en cuatro segmentos de color, con una longitud proporcional a la fracción de ancestría del individuo de cada una de las cuatro poblaciones seleccionadas: 1) RBRL: Holchit (rojo), y El Cuyo (amarillo), 2) Complejo Xel-Ha-Limones (verde) y 3) Xcalak (azul).

Quando se probaron diferentes valores de K (de 1 a 5), esta prueba de asignación reconoció únicamente a 2 poblaciones ($K = 2$) a nivel de la Península de Yucatán: la RBRL y Sian Ka'an (Figura 20). La población de Mahahual está subdividida aparentemente en 2 hacia el extremo sur (cercana a la población humana de Xcalak), donde 6 individuos aparentemente tienen una coancestría con la RBRL (Figura 20), aunque con un flujo génico muy alto con la población de Sian Ka'an y nulo con la RBRL. Estos individuos se habían contemplado dentro de la población de Mahahual debido a la distancia tan corta entre el primer sitio de muestreo en ésta zona y el segundo más al sur, ya que únicamente están separados por 40.22 km entre sí, y a lo largo de la orilla de la carretera dónde fueron colectados, tenían una distribución continua a excepción de 6 km.

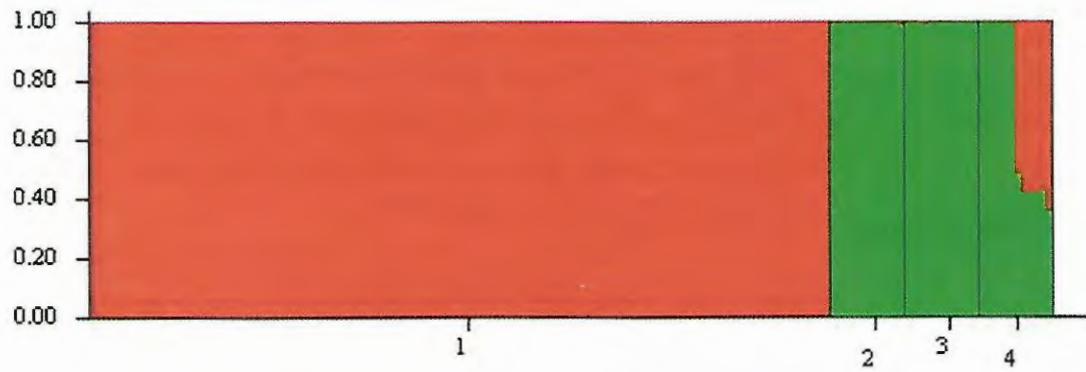


Figura 20. Coeficientes de ancestría ($K = 2$) estimados por individuo, agrupados por población. Cada individuo es representado por una línea vertical, dividida en dos segmentos de color, con una longitud proporcional a la fracción de ancestría del individuo de cada una de las dos poblaciones reconocidas en la Península de Yucatán: 1) RBRL (rojo) y 2) el complejo Xel-Ha-Limones-Mahahual.

Este análisis corroboró la ausencia de flujo génico entre las poblaciones a nivel de la península, la gran diferenciación entre las poblaciones de Yucatán y Quintana Roo, el nivel alto de endogamia dentro de las poblaciones y el alto flujo génico dentro de las mismas, así como también el asilamiento por distancia e histórico de las poblaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Baker, H. G. (1959). Reproductive methods as factors in speciation in flowering plants. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 24, 177-190.
- Biesmeijer, T. (1997). Manejo de especies no convencionales y su papel en la economía familiar. *Journal of Animal Science*, 65, 223-298.
- Billotte, N., N. Marseillac and P. Brottier. 2004. Nuclear microsatellite markers for the date palm (*Phoenix dactylifera* L.): characterization, utility across the genus *Phoenix* and in other palm genera. *Mol. Ecol. Notes*, 4: 256-258.
- Cardoso, S. R. S., N. B. Eloy, J. Provan, M. A. Cardoso y P. C. G. Ferreira (2000). Genetic differentiation of *Euterpe edulis* Mart. populations estimated by AFLP analysis. *Molecular Ecology*, 9 1753-1760.
- Christensen, M., L. Sunde, L. Bolund y T. F. Orntoft (1999). Comparison of three methods of microsatellite detection. *Scandinavian Journal Clinical and Laboratory Investigation*, 59, 167-178.
- Corner, E. J. H. (1954). The evolution of tropical forest, en: *Evolution as a Process*, Huxley, J., A. C. H. Hardy y E. B. Ford (eds). George Allen and Unwin. London. pp. 34-46.
- Dellaporta SL, Wood J, and Hicks JB (1983) A plant DNA miniprep: version II. *Plant Mol Biol Rep* 1: 19-21.
- Durán, R. (1986). *Estudio de la vegetación de la selva baja subcaducifolia de Pseudophoenix sargentii*. México: Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Durán, R. (1992). *Variabilidad intra específica y Dinámica poblacional de Pseudophoenix sargentii*. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Durán, R. e I. Olmsted. (1987). Listado florístico de la Reserva Sian Ka'an. Puerto Morelos, Quintana Roo, México. 71 p.
- Durán, R. y M. Franco (1992). Estudio demográfico de *Pseudophoenix sargentii*. *Bulletin de l'Institut français d'études andines*, 21(2), 609-621.
- Durán, R. y M. Franco (1995). La contribución de la ecología de poblaciones: el caso de *Pseudophoenix sargentii* Wendl. ex Sarg. en la Península de Yucatán. Experiencias y avances en el conocimiento de las plantas mexicanas en peligro de extinción, en: *Conservación de plantas en peligro de extinción: Diferentes enfoques*, Linares E., F.

- Chiang, R. Bye y T. S. Elías (eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 77-86.
- Eguiarte, L. E., N. Pérez-Nasser y D. Piñero (1992). Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity*, 69, 217-228.
- Espejel, I. (1984). La vegetación de las dunas costeras de la Península de Yucatan. I. análisis florístico del estado de Yucatan. *Biotica*, 9, 183-210.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., and Quattro, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Federov, A. A. (1966). The structure of the tropical rain forest and speciation in the humid tropics. *Journal of Ecology*, 54, 1-11.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), pp. 783-791.
- Ferrer, M. (2004). *Dinámica poblacional, abundancia y extracción potencial de la palma Pseudophoenix sargentii Wendl. ex Sarg. en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos*. Universidad Autónoma de Yucatán. México.
- Freeland, J. R. (2005). *Molecular Ecology*. John Wiley & Sons, Ltd., England.
- Gaiotto, F. A., D. Grattapaglia y R. Vencovsky (2003). Genetic Structure, Mating System, and Long-Distance Gene Flow in Heart of Palm (*Euterpe edulis* Mart.). *Journal of Heredity*, 94(5), 399-406.
- Gaitán, E. 2003. "Obtención y uso de secuencias microsatélites en estudios de diversidad genética en las especies de palmas colombianas *Ceroxylon sasalmae*, *Ceroxylon alpinum* y *Attalea amigdalina*". Tesis doctoral. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia. 157 p.
- Garvue, D. and S. Carrara. (2001). Seed storage and germination research at Fairchild Tropical Garden. Final Report to the Institute of Museum and Library Services for grant agreement IC-90218-99.
- Guo, S. y Thompson, E. A. (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48, 361-372.

- Gutiérrez, E. (1983). Aspectos etnobotánicos, en: Sian Ka'an: Estudios preliminares de una zona en Quintana Roo propuesta como Reserva de la Biosfera. CIQRO-SEDUE. México.
- Hartl, D. L. y A. G. Clark (1989). *Principles of Population Genetics*. 2 ed. Sinauer Associates, Massachusetts.
- Hisashi, J. (2010). Profitable Beekeeping with *Apis cerana*. *Bees for Development Journal* 94
- Iturralde-Vinent, M. A. (2004-2005). La Paleogeografía del Caribe y sus implicaciones para la biogeografía histórica. *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 25-26, 49-78.
- IUCN (1989). Rare and threatened palms of the New World. Botanic gardens Conservation Secretariat.
- IUCN (2010). *IUCN Red List of Threatened Species*. [Online] (2011.1).
Disponible en: www.iucnredlist.org
(Acceso 10 de Abril de 2011).
- James, A. (2003). *Pseudophoenix sargentii* in Dominica. *Palms*, 47 (2), 57-61 pp.
- Lippincott, C. L. (1992). Restoring Sargent's Cherry Palm on the Keys. *Fairchild Tropical Garden Bulletin*, 47(1), 12-21.
- Mantel, N. A. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27: 209-220.
- Martínez-Ramos, M., J. Sarukhán y D. Piñero (1988). The demography of tropical trees in the context of forest gap dynamics: the case of *Astrocaryum mexicanum* at Los Tuxtlas tropical rain forest, en: *Plant population ecology*, Davy D. J., M. J. Hutchings y A. R. Watkinson (eds.). Blackwell, EE.UU. pp. 293-313.
- Maschinski, J. y J. Duquesnel. (2006). Successful reintroductions of the endangered long-lived Sargent's cherry palm, *Pseudophoenix sargentii*, in the Florida Keys. *Biological Conservation* 134:122-129.
- MEA (Millennium Ecosystem Assessment) (2005). *Synthesis Reports* [Online].
Disponible en: <http://www.millenniumassessment.org/en/Synthesis.aspx>
(Acceso: 20 de julio de 2011).
- Miller, M. P. (1997). Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA) version 1.3 A Windows® program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Department of Biological Sciences. Northern Arizona University.

- Namoff, S., J. Francisco-Ortega, S. Zona y C. Lewis (2010). Microsatellite markers developed for the Caribbean palm *Pseudophoenix sargentii*: two PCR-based methods. *Conservation Genetics Resources* 1(2), 85-87.
- Nei M. 1973 Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 70: 3321-3323
- Olmsted, I. y M. J. Ercilla (1988). *Historia Natural de las Palmas chit y Nakax en Quintana Roo*. Cuadernos de Sian ka'an, 2, 1988.
- Olmsted, I.C., R. Durán, J.A. González-Iturbe, J. Granados y F. Tun (1999). Vegetación en: Atlas de Procesos Territoriales de Yucatán. Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Arquitectura, Mérida, Mexico.
- Orellana, L. R. y R. Durán (1992). Las palmas de la Península de Yucatán: un patrimonio que debemos conservar. *Gaceta Universitaria*. Mérida, Yucatán.
- Orellana, R., E. García de Miranda, I. Bañuelos, M. Balam, J. A. González-Iturbe, F. Heerera, J. Vidal (1999). Climatología de la Península de Yucatán (1961-1993), en: Atlas de Procesos Territoriales de Yucatán, García de Fuentes, A., J. Córdoba y P. Chico (Editores). Facultad de Arquitectura, Universidad Autónoma de Yucatán-CONACYT. México. 163-182.
- Oyama, A. K. (1987). *Demografía y dinámica poblacional de Chamaedorea tepejilote Liebm. en la selva de los Tuxtlas, Veracruz, México*. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Peakall, R. y P. E. Smouse (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Primack, R. B. (1993). *Essentials of Conservation Biology*. Sinauer Associates Inc., USA.
- Quero, H. J. (1981). *Pseudophoenix sargentii* in the Yucatan Peninsula. *Principes*, 25, 63-72.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945–959.
- Quero, H. (1989). Flora genérica de Arecáceas de México. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Quero, H. J. (1992a). *Las palmas silvestres de la Península de Yucatán*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. (10).

- Quero, H. J. (1994a). Las palmas de México: presente y futuro. Boletín de la Sociedad Botánica de México, 123-127.
- Quero Rico, H. y J. S. Flores. 2004. Arecaceae Taxonomía, Florística y Etnobotánica. En: Etnoflora Yucatanense. (J. S. Flores ed.). Fascículo 23: 14-119.
- Read, R. (1968). A study of *Pseudophoenix* (Palmae). Gentes Herbarum, 10, 169-213.
- Roncal, J. y S. Zona (2008). Molecular phylogenetic studies of caribbean palms (Arecaceae) and their relationships to biogeography and conservation. Botanical Review (74), 78.
- Rubiera, J. (2005). Early Warning for Hurricanes. Thematic Session Cluster 2 World Conference on Disaster Reduction. Japan.
- Rzedowski, J. 1992. Diversidad del universo vegetal de México: perspectivas de un conocimiento sólido. En:
- Sarukhán, J. y R. Dirzo (comps.). México ante los retos de la biodiversidad . Conabio. México.
- Sarukhán, J., D. Piñero y M. Martínez-Ramos (1985). Plant Demography: A community-level interpretation, en: Studies on plant demography a Festschrift for John L. Harper, de Wuite, J. (ed.). Academic Press. England. 17-31 p.
- SEDUE (1991). Acuerdo por el que se establecen los criterios ecológicos CT-CERN-001-91 que determinan las especies raras, amenazadas, en peligro de extinción o sujetas a protección especial y sus endemismos, de la flora y fauna terrestres y acuáticas en la República Mexicana. En: Diario Oficial de la Federación. Tomo CDLII; No. 12. México, pp, 7-35.
- Shapcott, A. (1999). Comparison of the population genetics and densities of five *Pinanga* palm species at Kuala Belalong, Brunei. Molecular Ecology, 8, 1641-1654.
- Shapcott, A., J. L. Dowe y H. Ford (2009). Low genetic diversity and recovery implications of the vulnerable Bankoualé Palm *Livistona carinensis* (Arecaceae), from North-eastern Africa and the Southern Arabian Peninsula. Conservation Genetics, 10, 317-327.
- Shapcott, A., M. Rakotoarinivo, R. J. Smith, G. Lysakova, M. F. Fay y J. Dransfield (2007). Can we bring Madagascar's critically endangered palms back from the brinks? Genetics, ecology and conservation of the critically endangered palm

- Beccariophoenix madagascariensis*. Botanical Journal of the Linnean Society, 154, 589-608.
- Shneider, S., D. Roessli and L. Excoffier. 2000. Arlequin ver 2.000: A software for population genetics data analysis. genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva.
- Sokal, R. R. (1979). Testing statistical significance of geographic variation patterns. Syst. Zool. 28: 227-231.
- Trénel, P., M. H. G. Gustafsson, W. J. Baker, C. B. Asmussen-Lange, J. Dransfield y F. Borchsenius (2007). Mid-Tertiary dispersal, not Gondwanan vicariance explains distribution patterns in the wax palm subfamily (Ceroxyloideae: Arecaceae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 45, 272–288.
- Trénel, P., M. M. Hansen, S. Normand y F. Borchsenius (2008). Landscape genetics, historical isolation and cross-Andean gene flow in the wax palm, *Ceroxylon echinulatum* (Arecaceae). Molecular Ecology, 17, 3528-3540.
- van Steenis, C. G. G. J. (1969). Plant speciation in Malesia with special reference to the theory of non-adaptative saltatory evolution. Biological Journal of the Linnean Society, 1, 97-133.
- Vandermeer, J., J. Stout y G. Miller (1974). Growth rates of *Welfia georgii*, *Socratea durissima* and *Iriartea gigantea* under various conditions in a natural rainforest in Costa Rica. Pincipes, 18, 148-154.
- Vovides, A. P. (1981). Lista preliminar de especies Mexicanas raras o en peligro de extinción. Biótica, 6 (2): 219-228 pp.
- Wright, S. (1978). Evolution and the Genetics of Populations. Variability Within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago., (4).
- Yeh, F. C., and T. J. B. Boyle. 1999. Population genetics analysis of codominant and dominant markers and quantitative traits. Belgium J. Bot. 129:157.
- Zona S. (2002). A revision of *Pseudophoenix*. Palms, 46, 19-38.

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

IMPLICACIONES PARA LA CONSERVACIÓN

Las muestras de *Pseudophoenix sargentii* a lo largo de la RBRL, mostraron pertenecer a una sola población, cuya variación se debió únicamente a dos de los loci analizados. Esta población mostró muy baja diversidad y estructura genética, debido muy probablemente a un evento fundador muy reciente y al alto flujo génico, que junto con las presiones del ambiente en esta zona debido a la alta radiación, a la poca disponibilidad de agua dulce y a las altas concentraciones de sales, hayan aumentado el nivel de endogamia al interior de la reserva. Sin embargo y a pesar del nivel significativamente bajo de polimorfismo y de diferenciación genética, los análisis mostraron la presencia de dos subpoblaciones (Holchit y El Cuyo), con altísimo flujo génico entre ellas. Empero que al interior de la reserva existen niveles bajos de riqueza y diversidad genética, esto no ha afectado su éxito reproductivo, que gracias a la protección de la reserva es la población más numerosa en su distribución natural en la Península de Yucatán (Durán, 1992), por lo que podemos concluir que su diversidad genética, no es acorde con su densidad, estructura y dinámica poblacional. Además, tomando en cuenta la fragmentación de las dunas debido a las modificaciones históricas (naturales y antropogénicas) en algunas zonas de la Reserva, podemos afirmar que no han tenido un impacto significativo en la estructura genética de la población, probablemente debido a que el espaciamiento generado por estas perturbaciones entre las poblaciones estudiadas no es suficiente para limitar el flujo génico entre éstas, además hay que considerar que los habitantes los asentamientos humanos (Las Coloradas y El Cuyo), han cultivado individuos de *P. sargentii*, los cuales muy probablemente permitan la continuidad en el flujo génico. Por su parte, las relaciones genéticas entre los individuos de *P. sargentii* presentes en la Reserva, están relacionadas al significativamente alto flujo génico a lo largo de ésta, y de esta manera el aislamiento por distancia es poco evidente dentro de 45 km aproximadamente entre las subpoblaciones.

A nivel de la Península de Yucatán la diversidad genética también fue muy baja, debido al alto grado de endogamia al interior de las poblaciones estudiadas. Sin embargo, tiene una fuerte estructura genética entre sus poblaciones, cuya variación se debió a la

diferencia en las frecuencias alélicas de todos los loci estudiados entre las poblaciones de la RBRL, Sian Ka'an y Xcalak. Curiosamente, y a pesar de los tamaños de muestra tan pequeños procedentes de los sitios de muestreo más distantes Xel-Ha-Limones y Mahahual (Xcalak), fueron poblaciones genéticamente más diversas que la RBRL, teniendo estas poblaciones una densidad poblacional menor que la Reserva, por lo que tampoco es acorde con su densidad poblacional, la cual ha sido tremendamente afectada por la extracción masiva de individuos. Por otra parte, la fragmentación del hábitat ha tenido un efecto perjudicial en el reclutamiento de nuevos individuos, principalmente en las poblaciones del sur, donde la construcción de la carretera modificó las condiciones del suelo, obstruyendo el flujo y la permeabilidad del agua, provocando la inundación temporal de estas zonas, provocando un estrés por anoxia en la semillas y plántulas, ya que es en estas zonas donde solamente se observaron individuos maduros, los cuales son el reflejo de un alto flujo génico que hubo entre las poblaciones de Limones-Mahahual y Xcalak, ya que los alelos que se encuentran en Xcalak, no son visibles en las otras poblaciones.

Cabe mencionar que entre los sitios muestreados fuera de la Reserva, el único que se encuentra bajo alguna protección es el parque ecológico Xel-Ha. Empero que existen poblaciones pequeñas de *P. sargentii* fuera de este parque, que son importantes para el mantenimiento de la diversidad, cabe mencionar que si continúa la extracción de individuos adultos, podría ocasionar graves problemas. De la misma manera, los individuos que ocurren en Limones (12) y en la carretera de Mahahual-Xcalak, no se encuentran bajo ninguna protección, con una densidad muy baja en cada localidad. Durante la colecta de las muestras en estos dos sitios, pudimos constatar la deforestación desmedida y fragmentación del hábitat (Limones), así como la extracción indiscriminada de individuos adultos (Xcalak), y siendo estas poblaciones las que contienen la mayor riqueza y diversidad genética, es de total prioridad la conservación de estas poblaciones para la preservación de la diversidad genética de *P. sargentii*, y por ende asegurar la existencia de esta especie en nuestro país.

Shapcott *et al.* (2009) especularon respecto a la baja diversidad genética y la ubicación de las poblaciones de *Livistona carinensis*, las cuales pudieran ser explicadas si los humanos tuvieron una historia de utilización cultural de esta especie en la región de

Djibouti, sin embargo, no parece tener una significancia cultural o usos útiles para los habitantes actuales. No se tienen registros de la utilización de *P. sargentii* por parte de la civilización Maya, quienes convivieron con varias de las poblaciones de *P. sargentii*, como lo podemos observar en Tulúm, sin embargo en nuestros días, esta palma es muy codiciada por su belleza.

Dada la falta de diversidad genética en la población de Ría Lagartos, las plantas pueden ser cultivadas para la mejora *in situ*, de cualquier semilla disponible en Ría Lagartos, sin impactos significativos de desajuste genético por la procedencia. Es evidente que las poblaciones de las regiones de Ría Lagartos, Xel-Ha y Xcalak, son de procedencias diferentes, y en periodos de tiempo distintos. Y a su vez son de gran importancia para la preservación de la especie, debido a su riqueza y diversidad genética, por lo que es necesario plantear estrategias para la conservación y recuperación de *P. sargentii* en la Península de Yucatán.

COLONIZACIÓN DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN POR PARTE DE LA PALMA KUKA'

El nivel tan alto de endogamia en la RBRL y al interior del resto de las poblaciones, así como la fuerte estructuración genética que presenta *P. sargentii* en la Península de Yucatán, dio lugar a la especulación de diferentes eventos fundadores y a un aislamiento histórico de las poblaciones. Trénel *et al.* (2008) sugieren una dispersión histórica de este a oeste para *Ceroxylon echinulatum*, y a su vez los análisis basados en la población, revelaron una fuerte estructuración genética, tanto a pequeña como a gran escala, y que a lo largo de esta "clina", el flujo génico estuvo limitado principalmente por la distancia, con un impacto de las fricciones climáticas menor pero significativo. Además, realizaron un análisis de coalescencia, el cual reveló que la divergencia a través de los Andes tomó lugar durante el Cuaternario, donde el histórico y significativo aislamiento ($R_{ST} > F_{ST}$) se encontró en la población del suroeste. Lo cual puede ser un efecto conjunto de la dinámica del fundador, la divergencia por distancia y el aislamiento histórico, sobre los patrones de la diversidad y distribución Andina.

La Península de Yucatán es una unidad fisiográfica con características que no tienen semejanza con el resto de la República Mexicana. Esto es resultado de una historia

geológica muy particular, que ha definido el territorio actual durante el Neógeno y el Cuaternario (Lugo y García, 1999). La península muestra dos unidades morfológicas principalmente: la primera ubicada al norte “neogénica”, y la segunda al sur “oligogénica”. Esta configuración expresa un levantamiento a partir del Mioceno en la porción meridional; y en el norte de la península se produce un ascenso esencialmente en el Plioceno y Cuaternario en dirección noreste (Lugo y García, 1999). De acuerdo con los planteamientos de Hardy *et al.* (2003), Trénel *et al.* (2007) y Trénel *et al.* (2008), podemos sostener que la diferenciación genética de *P. sargentii* al interior de la RBRL (aislamiento por distancia) es muy reciente (Holoceno) ya que los estimadores de diferenciación genética no fueron significativamente diferentes. Sin embargo, las poblaciones estudiadas en la Península de Yucatán presentaron diferencias en los estimadores de diferenciación genética, siendo el valor de R_{ST} mayor que el valor de F_{ST} (Cuadro 9), lo cual sugiere un aislamiento histórico, producto de posibles eventos fundadores en diferentes tiempos. Conjuntamente con el nivel de diferenciación genética entre las poblaciones (la diferencia entre los estimadores R_{ST} y F_{ST} , y los valores para K), la composición de la comunidad vegetal y la geomorfología del suelo en que éstas ocurren, podemos decir que estamos frente a 3 eventos fundadores, en distintas épocas. Las poblaciones de Limones y Xel-Ha ocurren en la selva mediana subcaducifolia (dónde la competencia por la luz es muy alta) en una antigua línea de costa perteneciente al Neogeno superior (Lugo-Hubp *et al.*, 1992; López-Ramos, 1975,), lo que sería acorde con lo que dicen Trénel *et al.* (2007), respecto a la posible radiación en el Plioceno del género *Pseudophoenix*, conjuntamente con la formación del Caribe y la elevación paulatina de esta zona de la Península de Yucatán en esa época (Lugo-Hubp *et al.*, 1992). Por otra parte, los suelos de la RBRL (matorral de duna costera, donde la radiación de luz es mayor) y Mahahual (selva mediana subcaducifolia y bajos-zonas inundables, donde sufren anoxia las semillas y las plántulas), corresponden al Cuaternario (Lugo-Hubp *et al.*, 1992; López-Ramos, 1975,). Es muy probable que estas dos poblaciones se hayan originado a partir de dos eventos fundadores en épocas diferentes, tomando en consideración tanto la composición y estructura de la comunidad vegetal, así como la distancia al mar en que ocurren estas poblaciones. El sustrato de la RBRL emergió en nuestra época (Holoceno) desde hace aproximadamente 10,000 años (Lugo y García, 1999), en donde *P. sargentii* se desarrolla en la duna costera a escasos metros del mar, mientras que los individuos que ocurren

entre Mahahual y Xcalak se encuentran a una mayor distancia, tierra adentro (a 1.58 km y 2.6 km respectivamente, del punto más cercano al mar), lo que indica que probablemente la colonización de esta última zona haya sido en el Pleistoceno o inicios del Holoceno, y que haya tenido oportunidad de sostener un alto flujo génico con el complejo Xel-Ha-Limones-Mahahual. Por otro lado, de acuerdo con la distancia genética que se encontró entre las poblaciones de RBRL y Xcalak es muy probable que los individuos que llegaron a colonizar estas áreas tan distantes, hayan pertenecido a una misma población Antillana que aún sobrevive en nuestros días. Por lo antes mencionado, podemos concluir que es un efecto conjunto de la dinámica del fundador, presión selectiva del ambiente, la divergencia por distancia y el aislamiento histórico, sobre los patrones de la diversidad y distribución de *P. sargentii*. Varios autores han planteado la hipótesis de que la alta diversidad de especies de árboles tropicales es un producto de la especiación *no-adaptativa*, que resulta de la endogamia y la deriva genética de sus poblaciones (van Steenis, 1969; Federov, 1966; Baker, 1959; Corner, 1954). Corner (1954) estimuló este continuo e intenso debate a través de sus investigaciones en campo, tratando de dilucidar los procesos evolutivos en los bosques tropicales. Es a raíz de su propuesta de la Teoría de Durian, la cual se basó en observaciones de una serie de características poco comunes de plantas tropicales, que postuló que se trataba de caracteres ancestrales, que se mantuvieron como anomalías en los bosques actuales, pero que puestos en un contexto evolutivo, podrían ser utilizados para explicar el desarrollo de la complejidad y diversidad de especies vegetales en las selvas tropicales. Dichos caracteres podrían quedar fijos en aquellas poblaciones originadas a partir de eventos fundadores. Eguiarte *et al.*, (1992) concluyen que el nivel relativamente alto de variación genética, baja diferenciación genética espacial, el exceso de heterocigotos, la alta tasa de fecundación cruzada y la heterosis en *A. mexicanum* parecen ser comunes en los árboles tropicales. Cardoso *et al.* (2000), concluyen que los resultados para *E. edulis* podrían ser explicados por la fragmentación histórica de la región, junto con el ciclo de vida y el sistema de apareamiento de la especie. Por otra parte, Gaiotto *et al.*, (2003) concluyen para esta misma especie, que los resultados son congruentes con los estudios que evalúan la tasa de endogamia en las poblaciones de árboles forestales, los cuales han mostrado que durante las primeras etapas de desarrollo los valores del índice de endogamia suelen ser positivos y significativos, pero conforme los árboles crecen esta estimación tiende a no ser

significativamente diferente de cero o incluso mostrar valores negativos, debido a la operación de la selección en contra de los individuos "puros", es decir homocigos, después del establecimiento de plántulas, lo cual ha sido a menudo atribuido a la selección contra los individuos homocigotos (Eguiarte *et al.*, 1992; Gaiotto *et al.*, 1997). Shapcott (1999) reportó para las especies de *Pinanga* niveles muy altos de diversidad genética, y ésta a su vez fue correlacionada con la densidad poblacional y la distancia promedio al vecino más cercano de la misma especie, de manera que en la especie más densa había menos diversidad genética y las especies menos densas tuvieron mayor diversidad genética; así mismo el flujo génico entre poblaciones siguió aproximadamente un gradiente en aumento, acorde con la densidad y la abundancia de las especies, de manera que la especie más común (*P. dumetosa*) tuvo un flujo génico mayor entre sus poblaciones. Todas las especies de *Pinanga* fueron endogámicas, sin embargo, la cantidad de homocigosis y endogamia no fueron correlacionadas con la densidad poblacional, o con la distancia entre las plantas vecinas más cercanas de la misma especie. El autor concluye que los patrones de diferenciación genética y de diversidad genética observados en estas especies tienen importantes consecuencias para el potencial evolutivo y la especiación, y que lo observado en estas especies es claramente compatible con las teorías de observación temprana, como la de Federov (1966), que mucha de la especiación en los trópicos se debe a las especies con tendencias a la endogamia y subestructuración de las poblaciones condiciones que promueven la especiación (Gentry, 1989; Ashton, 1969,) coincidiendo de esta manera con Corner (1954). Más concretamente, sí las especies que ocurren en densidades bajas, llevan muchos alelos raros que se distribuyen de manera desigual a través de la distribución de las especies, entonces hay un mayor potencial de subestructuración genética y divergencia entre las poblaciones sí el flujo génico es bajo, lo que a su vez podría dar lugar a especies endémicas localizadas.

La hipótesis de la "no-adaptación", asume que la estructura genética de los árboles tropicales se caracteriza por la endogamia (altos índices de fijación), de bajo tamaño efectivo de la población y de alta diferenciación genética espacial, medida por la distancia genética o F de Wright. Una hipótesis alternativa, los "micronichos-equilibrio", propuesto originalmente por Dobzhansky (1950), sostiene que la diversidad de árboles tropicales es debida a la adaptación de las poblaciones de árboles a nichos muy específicos definidos

por componentes bióticos y abióticos (polinizadores, dispersores de semillas, el suelo, la luz, la sucesión, los depredadores de semillas). Esta hipótesis requiere endogamia por un tamaño efectivo de la población pequeño. Durán (1992) señaló que debido a que *P. sargentii* crece en comunidades que difieren grandemente en la altura de la vegetación y por lo tanto en las condiciones lumínicas a nivel de sotobosque y estrés hídrico, las distintas poblaciones manifiestan diferencias en sus tiempos generacionales y por tanto en su estructura y en la dinámica de cada una de éstas, generando ecotipos, lo cual queda implícito en el presente estudio, pues coincide que la estructuración genética está relacionada a diferencias ambientales en los distintos sitios de muestreo. Por otra parte, la diversidad genética no pudo ser correlacionada con la densidad poblacional, sin embargo aparentemente las poblaciones más abundantes parecen ser aquellas con menor diversidad genética.

La estructura genética de las poblaciones de árboles tropicales impone restricciones sobre las estrategias de manejo y conservación. Si los árboles tropicales por lo general ocurren en poblaciones pequeñas, puras, como la hipótesis de “*no-adaptación*” predice, entonces, una especie puede ser conservada con pocos individuos de cada población (*in situ*). Sin embargo, también se pueden impulsar acciones de conservación a través de la compilación de individuos de diferentes poblaciones, considerando que la conservación *ex situ* podría ser práctica y factible. Estas características de la genética de poblaciones de la palma Kuka', parecen reunir las condiciones necesarias para la evolución *no-adaptativa*, una hipótesis comúnmente invocada para explicar la alta diversidad de árboles tropicales.

BIBLIOGRAFÍA

- Ashton, P. S. (1969). Speciation among tropical forest trees: some deductions in the light of recent evidence. *Biological Journal of the Linnean Society*, 1, 155-196.
- Baker, H. G. (1959). Reproductive methods as factors in speciation in flowering plants. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 24, 177-190.
- Cardoso, S. R. S., N. B. Eloy, J. Provan, M. A. Cardoso y P. C. G. Ferreira (2000). Genetic differentiation of *Euterpe edulis* Mart. populations estimated by AFLP analysis. *Molecular Ecology*, 9, 1753-1760.
- Corner, E. J. H. (1954). The evolution of tropical forest, en: *Evolution as a Process*, Huxley, J., A. C. H. Hardy y E. B. Ford (eds). George Allen and Unwin. London. pp. 34-46.
- Dobzhansky, T. (1950) Evolution in the tropics. *American Scientist* 38, 209–221.
- Durán, R. (1992). *Variabilidad intra específica y Dinámica poblacional de Pseudophoenix sargentii*. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Eguiarte, L. E., N. Pérez-Nasser y D. Piñero (1992). Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity*, 69, 217-228.
- Federov, A. A. (1966). The structure of the tropical rain forest and speciation in the humid tropics. *Journal of Ecology*, 54, 1-11.
- Gaiotto, F. A., D. Grattapaglia y R. Vencovsky (2003). Genetic Structure, Mating System, and Long-Distance Gene Flow in Heart of Palm (*Euterpe edulis* Mart.). *Journal of Heredity*, 94(5), 399-406.
- Gaiotto, F. A., M. Bramucci y D. Grattapaglia (1997). Estimation of outcrossing rate in a breeding population of *Eucalyptus urophylla* with dominant RAPD and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 95, 842–849.
- Gentry, A .H. (1989). Speciation in tropical forests, en: *Tropical Forests; Botanical Dynamics, Speciation and Diversity*, Holm-Nielsen, L.B., I. C. Nielsen y H. Balslev. London: Academic Press. pp. 112-134.

- Hardy O.J., Charbonnel N., Fréville H. y Heuertz M. 2003. Microsatellite allele sizes: a simple test to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics* 163: 1467-1482
- López Ramos, E. 1975. Geological summary of the Yucatan peninsula, en: Nairn, A. E. M., & Stehli. F. G., eds., *The ocean basins and margins. The Gulf of Mexico and the Caribbean*, New York, Plenum Press: (1), 257-282.
- Lugo, J. y M. T. García (1999). Geomorfología, en: *Atlas de Procesos Territoriales de Yucatán*, Lugo, J. Universidad Autónoma de Yucatán. México. 155-162.
- Lugo-Hubp, J., J. F. Aceves-Quesada y R. Espinosa-Pereña (1992). Rasgos geomorfológicos mayores de la Península de Yucatán. *Revista del Instituto de Geología (UNAM)*, 2(10), 143-150.
- Shapcott, A. (1999). Comparison of the population genetics and densities of five Pinanga palm species at Kuala Belalong, Brunei. *Molecular Ecology*, 8, 1641-1654.
- Shapcott, A., J. L. Dowe y H. Ford (2009). Low genetic diversity and recovery implications of the vulnerable Bankoualé Palm *Lisvistona carinensis* (Arecaceae), from North-eastern Africa and the Southern Arabian Peninsula. *Conservation Genetics*, 10, 317-327.
- Trénel, P., M. H. G. Gustafsson, W. J. Baker, C. B. Asmussen-Lange, J. Dransfield y F. Borchsenius (2007). Mid-Tertiary dispersal, not Gondwanan vicariance explains distribution patterns in the wax palm subfamily (Ceroxyloideae: Arecaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45, 272–288.
- Trénel, P., M. M. Hansen, S. Normand y F. Borchsenius (2008). Landscape genetics, historical isolation and cross-Andean gene flow in the wax palm, *Ceroxylon echinulatum* (Arecaceae). *Molecular Ecology*, 17, 3528-3540.
- van Steenis, C. G. G. J. (1969). Plant speciation in Malesia with special reference to the theory of non-adaptative saltatory evolution. *Biological Journal of the Linnean Society*, 1, 97-133.