

PATRONES DE DIVERSIDAD GENÉTICA EN ESPECIES ARBÓREAS DE BOSQUES SECOS FRAGMENTADOS EN VENEZUELA

JAFET M. NASSAR, ADRIANA E. GARCÍA-RIVAS
y JOSÉ A. GONZÁLEZ-CARCACÍA

RESUMEN

Los bosques secos están entre los ecosistemas más amenazados del neotrópico debido a la elevada tasa de conversión de estos hábitats naturales en tierras agrícolas y asentamientos humanos. Una de las preguntas que surgen al respecto es si la fragmentación de los bosques secos conlleva a la pérdida de variabilidad genética vegetal, especialmente en las formas arbóreas. Los pocos estudios realizados no muestran una tendencia clara en este sentido. El objetivo del presente estudio fue estimar los niveles de variabilidad y estructura genética de tres especies de árboles asociadas a fragmentos de bosques deciduos y semideciduos en Venezuela, *Samanea saman*, *Guazuma ulmifolia* y *Hura crepitans*, y comprobar si la magnitud de la variabilidad genética intrapoblacional en estas especies responde a la dimensión

espacial de dichos fragmentos. Se emplearon aloenzimas como marcadores genéticos y se realizaron muestreos considerando fragmentos con distintas superficies (120-4500km²). Las tres especies presentaron valores relativamente altos de variabilidad aloenzimática (*S. saman*: $H_{especie} = 0,234 \pm 0,198$; $H_{población} = 0,204 \pm 0,047$; *G. ulmifolia*: $H_{especie} = 0,296 \pm 0,219$; $H_{población} = 0,274 \pm 0,034$; *H. crepitans*: $H_{especie} = 0,292 \pm 0,230$; $H_{población} = 0,257 \pm 0,049$) y baja estructura poblacional (*S. saman*: $G_{ST} = 0,082$; *G. ulmifolia*: $G_{ST} = 0,059$; *H. crepitans*: $G_{ST} = 0,073$). Estos resultados se suman a la lista de casos de especies arbóreas tropicales que, a pesar de existir en un mosaico de parches de bosque aislados entre sí, mantienen niveles de variabilidad genética equivalentes a los encontrados en extensiones continuas de bosque.

En su acepción más simple y general, los bosques secos tropicales son comunidades de plantas dominadas por árboles y arbustos distribuidas en la región tropical, en las que ocurre una marcada estación seca de varios meses de duración, en muchos casos con ausencia total de precipitaciones (Bullock *et al.*, 1995). El atributo visual más resaltante de muchos de estos bosques, aunque no de todos, es la condición decidua de al menos parte de la vegetación leñosa que los constituye, que puede ir desde el 40 al 100% de los árboles y arbustos. Esta formación vegetal es considerablemente

importante a nivel mundial, ya que constituye el 42% de la vegetación intertropical del planeta y 49% de la vegetación mesoamericana y del Caribe (Murphy y Lugo, 1995). Este ecosistema está considerado entre los más amenazados del planeta por ocupar áreas preferidas para el desarrollo de asentamientos humanos y todas las actividades de producción asociadas a éstos (Murphy y Lugo, 1986, 1995; Maass, 1995; González, 2003; Sánchez-Azofeifa *et al.*, 2005; Miles *et al.*, 2006).

Los bosques secos del norte de Suramérica no escapan de la condición de amenaza antes señalada. En el

caso de Colombia, la superficie remanente de bosques secos aun existentes es de menos del 1% del territorio nacional (Ruiz Linares y Fandiño Orozco, 2009), mientras que para Venezuela la cifra es de menos del 10% (Rodríguez *et al.*, 2010). Estimaciones recientes publicadas en el Libro Rojo de los Ecosistemas Terrestres de Venezuela indican cifras alarmantes de pérdida de bosques secos en el territorio nacional (Rodríguez *et al.*, 2010). Para el caso de los bosques semideciduos, contamos en la actualidad con cerca de 57000km² de superficie cubierta con esta formación vegetal, pero el 83% de estas áreas presentan intervenciones entre me-

PALABRAS CLAVE / Aloenzimas / Bosques Secos / Fragmentación / *Guazuma ulmifolia* / *Hura crepitans* / *Samanea saman* / Variabilidad Genética /

Recibido: 03/10/2011. Modificado: 06/12/2011. Aceptado: 07/12/2011.

Jafet M. Nassar. Ph.D. en Biología Tropical, University of Miami, EEUU. Investigador, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Venezuela. Dirección: Centro de Ecología, IVIC. Apartado 20632. Caracas 1020A, Venezuela. e-mail: jnassar@ivic.gob.ve

Adriana E. García-Rivas. M.Sc. en Ciencias Biológicas, Universidad Simón Bolívar, Venezuela. Profesional Asociado a la Investigación, IVIC, Venezuela. e-mail: adriagarci@gmail.com

José A. González-Carcacia. Licenciado en Biología, Universidad Central de Venezuela. Profesional Asociado a la Investigación, IVIC, Venezuela. e-mail: jagcarcacia@gmail.com

días y altas. En los últimos 22 años ha ocurrido una reducción del 19% de la superficie ocupada por estos bosques y la proyección hecha para el 2040 es que, de no cambiar el grado de impacto que estos bosques están sufriendo, ocurrirá una reducción muy severa de su distribución. El diagnóstico presentado en el Libro Rojo permitió concluir que se trata de un ecosistema 'en peligro'. Para el caso de los bosques deciduos, contamos en la actualidad con apenas 29000km² de superficie cubierta por este tipo de vegetación, de los cuales el 96% presenta algún tipo de intervención; es decir, que prácticamente no quedan bosques prístinos de este tipo. En los últimos 22 años ha ocurrido una reducción del 40% de la superficie ocupada por dichos bosques y la proyección para el 2040 es que, de no cambiar el grado de impacto que estos bosques están sufriendo, desaparecerán completamente. En este caso, el diagnóstico realizado en el Libro Rojo permitió concluir que se trata de un ecosistema 'en peligro crítico'. A este escenario se debe añadir que el actual sistema de áreas protegidas de Venezuela deja por fuera una buena proporción de los bosques secos remanentes. En el caso de los bosques semideciduos, solo el 20% está ubicado dentro de áreas protegidas de conservación y 40% dentro de áreas tipo reservas forestales, mientras que en el caso de los bosques deciduos, apenas el 6% está dentro de 'áreas protegidas de conservación' y 29% se encuentra en áreas denominadas 'reservadas para uso futuro' (Rodríguez *et al.*, 2010).

Una de las consecuencias negativas asociadas a la reducción y fragmentación de hábitats es la pérdida de diversidad genética (Young *et al.*, 1996; Frankham *et al.*, 2002; Frankham, 2003; Lowe *et al.*, 2005; Keyghobadi, 2007). Al reducirse el hábitat de una especie se reduce también la capacidad de carga del área ocupada por dicho hábitat, y por tanto el tamaño poblacional efectivo de la especie declina (Andren, 1994), lo que trae como consecuencia una reducción de la diversidad de alelos contenidos en la población. Por su parte, la fragmentación de hábitat reduce la conectividad entre las distintas porciones que conforman un ecosistema particular, y si ese aislamiento espacial entre fragmentos es marcado, entonces el flujo genético entre los parches remanentes de hábitat puede verse reducido o incluso anulado, con el consecuente aislamiento poblacional y pérdida de variabilidad genética por efecto de la deriva génica y la endogamia (Fischer y Matthies, 1997; Couvet, 2002; Keller y Waller, 2002; Frankham, 2003; Oostermeijer *et al.*, 2003; Hamrick, 2004; pero ver Kramer *et al.*, 2008).

En teoría, los árboles tropicales deberían ser particularmente vulnerables a la fragmentación de los bosques debido a su baja densidad poblacional, autoincompatibilidad genética y elevadas tasas de entrecruzamiento (Bawa, 1974; Frankie, 1976; Hamrick y Murawski, 1990; Bullock, 1995). Existen ejemplos, aunque no muy abundantes, de especies arbóreas asociadas a bosques tropicales en las que se corroboran los efectos genéticos arriba señalados (Aldrich *et al.*, 1998; Dayanandan *et al.*, 1999; White *et al.*, 1999; Aguirre-Plantier *et al.*, 2000; Collevatti *et al.*, 2001; Fuchs *et al.*, 2003; Lowe *et al.*, 2005; Farwig *et al.*, 2008); sin embargo, en un artículo de Hamrick (2004) sobre la respuesta de los árboles a los cambios ambientales globales, se señala que muchas especies arbóreas en bosques son bastante resilientes a los efectos adversos de la fragmentación debido a su longevidad, elevada diversidad genética intrapoblacional y altos niveles de flujo genético vía polen, los cuales contrarrestan los efectos de la deriva genética.

Para bosques secos tropicales existen relativamente pocos estudios en los que se ha evaluado la diversidad y estructura genética de árboles en el contexto que representa el problema de la fragmentación de hábitat. González-Astorga y Núñez-Farfán (2001) encontraron que, a pesar del paisaje fragmentado en el que se encuentran las últimas cuatro poblaciones de *Brongniartia vazquezii*, un arbusto endémico de los bosques secos de México Central, no se evidenció pérdida de riqueza alélica intrapoblacional ni estructura genética significativa. Moreira *et al.* (2009) reportaron que la fragmentación y alteración del hábitat han reducido la magnitud de la variabilidad genética total e intrapoblacional de *Tabebuia ochracea* en la región centro-occidental de Brasil; sin embargo, estos autores señalan que un flujo genético substancial ha contribuido a mantener niveles de diversidad genética equivalentes entre poblaciones en parches aislados de vegetación y aquellas establecidas en un *continuum* vegetal. Cascante *et al.* (2002) observaron que la progenie derivada de individuos aislados de *Samanea saman* en bosques secos de Costa Rica mantuvo niveles de variabilidad genética, producción de semillas y vigor de las plántulas similares a los observados en árboles presentes dentro del bosque. Un resultado similar fue reportado por White *et al.* (2002) en el caso de poblaciones de *Swietenia humilis* establecidas en un mosaico de bosque altamente fragmentado en Honduras, entre las que se ha mantenido intercambio genético significativo sobre distancias de

más de 4,5km. En resumen, los estudios disponibles para bosques secos tropicales resultan aún insuficientes para delinear patrones generales de comportamiento en cuanto a los efectos que la fragmentación de hábitat tiene sobre la magnitud y distribución de la diversidad genética en especies de árboles. Esta información es necesaria para determinar la viabilidad a largo plazo de las poblaciones de árboles presentes en los parches remanentes de bosque seco en el neotrópico y su valor para programas de restauración vegetal.

El objetivo central del presente estudio fue estimar los niveles de variabilidad y estructura genética de tres especies de árboles asociadas a fragmentos de bosques deciduos y semideciduos en Venezuela, *Samanea saman*, *Guazuma ulmifolia* y *Hura crepitans*, y comprobar si la magnitud de la variabilidad genética intrapoblacional en estas especies responde a la dimensión espacial de dichos fragmentos. Ni éstas ni otras especies arbóreas representativas de los bosques secos de Venezuela han sido evaluadas en relación a su genética poblacional en el país. Estas especies, por su elevada abundancia, presencia en múltiples fragmentos de bosques secos y por poseer el sistema reproductivo predominante de muchos árboles de los bosques tropicales (fertilización cruzada, ver Materiales y métodos), constituyen modelos de estudio adecuados para evaluar los efectos de la fragmentación de hábitat sobre la magnitud y distribución de la diversidad genética en la vegetación arbórea asociada a bosques secos en Venezuela. Valores bajos de diversidad genética para las especies examinadas, al menos en los fragmentos de bosque más pequeños, sugerirían que la marcada pérdida de hábitat por la que están pasando los bosques secos venezolanos ya está generando consecuencias genéticas para las especies arbóreas de este ecosistema. Por el contrario, el mantenimiento de valores considerablemente altos de variabilidad genética en las poblaciones examinadas sugeriría que aun no ha ocurrido el cambio generacional para apreciar el efecto negativo de la fragmentación, o que existe suficiente flujo genético entre fragmentos como para que se conserve la cohesión genética de las especies a nivel nacional.

Materiales y Métodos

Especies de estudio

Las tres especies de estudio, *Samanea saman* (Jacq.) Merrill [*Pithecellobium saman* (Jacq.) Benth.] (Fabaceae), *Hura crepitans* L. (Euphorbiaceae) y *Guazuma ulmifolia* Lam. (Ster-

culiaceae), son árboles mayormente asociados a bosques semidecíduos, aunque también están presentes en vegetación de tipo decidua en el neotrópico (Esser *et al.*, 2007; Fuertes-Aguilar, 2007; Wingfield y Aymard, 2007). *S. saman* ('samán') es una leguminosa de copa en forma de paraguas, que puede alcanzar los 25m de altura, con flores amarillas, hermafroditas, entomófilas (esfingidos), dispuestas en inflorescencias glomerulosas (22-25 flores) en las axilas de las hojas o formando panículas terminales, el polen se presenta empaquetado en polinios, los frutos son dehiscentes tipo legumbre y la especie presenta autoincompatibilidad genética (Bawa, 1974; Schnee, 1984). Se

trata de un árbol muy común en Centroamérica, norte de Suramérica y el Caribe (Hokche *et al.*, 2004). En Venezuela, esta especie ha sido clasificada como vulnerable en el Libro Rojo de la Flora Venezolana (Llamoza *et al.*, 2003). *H. crepitans* ('jabillo') es un árbol con un tronco muy característico por la presencia de abundantes espinas cortas que puede alcanzar una altura de 40m, con flores rojizas, monoicas, entomófilas, las masculinas agrupadas en espigas y las femeninas solitarias, los frutos son tipo cápsula dehiscente (Schnee, 1984). Aunque no existen reportes sobre su grado de autoincompatibilidad genética, la condición monoica pudiera propiciar el entrecruzamiento, especialmente si las flores masculinas y femeninas dentro de un individuo no florecen simultáneamente. Es una especie ampliamente distribuida en la América tropical y relativamente abundante en Venezuela. El Libro Rojo de la Flora Venezolana la clasifica como una especie en riesgo menor (Llamoza *et al.*, 2003). Finalmente, *G. ulmifolia* ('guácimo') es un árbol de 5-15m de altura, con flores amarillas, hermafroditas, entomófilas, dispuestas en inflorescencias paniculadas, con presencia de hercogamia y dicogamia y con frutos tipo cápsula subglobosa (Schnee, 1984). Estas dos condiciones deberían propiciar la fertilización cruzada, especialmente si la maduración de cada sexo ocurre de manera sincronizada dentro de cada individuo. También es una especie amplia-

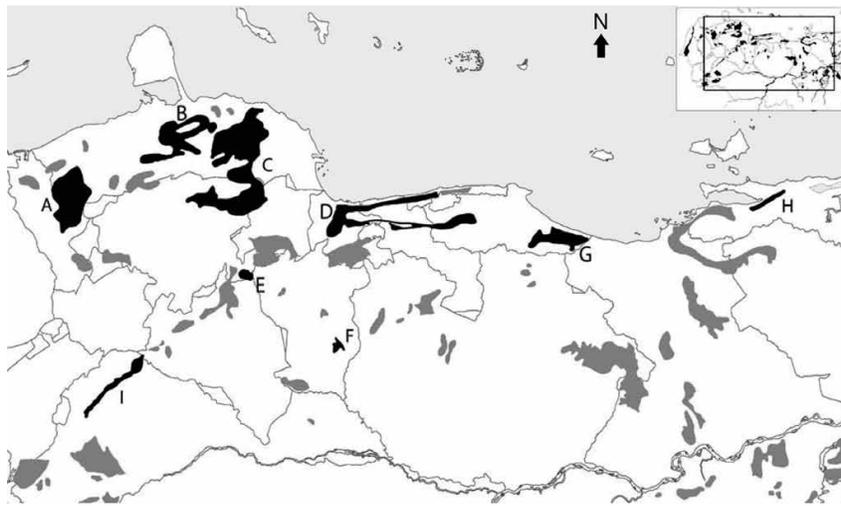


Figura 1. Mapa de distribución de los bosques secos presentes en la región centro-norte de Venezuela según Huber y Alarcón (1988) modificado por V. González (Fajardo *et al.* 2005) y ubicación (gris oscuro) de los fragmentos de bosque de donde se obtuvieron muestras para el estudio. A: 2016km², localidad Campo Lara; B: 894km², localidad San Luis; C: 4508km², localidad Mirimire; D: 1927km², localidad Canoabo; E: 146km², localidad San Carlos; F: 120km², localidad Piñero; G: 814km², localidades Uchire y Guanape; H: 179km², localidades Pilar y Casanay; I: 550km², localidad La Mula. Fragmentos muestreados por especie: *Samanea saman* (A, C, D, E, F, G), *Hura crepitans* (C, D, E, G, H) y *Guazuma ulmifolia* (A, B, C, D, E, F, G, H, I). Mapa generado por: S. Zambrano y José A. González-Carcacia, Laboratorio de Biología de Organismos, Centro de Ecología, IVIC).

mente distribuida en la América Tropical. En Venezuela no ha sido clasificada dentro de ningún grado de amenaza.

Localidades de estudio y colección de muestras

Poblaciones de las tres especies de árboles se encuentran presentes en fragmentos de vegetación decidua y semidecidua de superficie variable, mayormente distribuidos en el norte de Venezuela (Figura 1). Lo que ahora se observa como un archipiélago de áreas boscosas fragmentadas, conformó en el pasado extensiones mucho más amplias e interconectadas de ambas formas de vegetación, ahora separadas por áreas con perturbaciones de origen antrópico (Fajardo *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2009, 2010). Los cálculos de las superficies de cada una de las unidades de vegetación incluidas en el estudio fueron realizados georreferenciando el Mapa de Vegetación de Huber y Alarcón (1988) e identificando en la imagen cada una de las unidades de bosques deciduos y semidecíduos incluidas en el estudio; para lo que se utilizó el programa ArcGis 10. Los fragmentos variaron en superficie, desde aproximadamente 120km² (Piñero y zona al norte de la Sierra de San Luis) hasta cerca de 4500km², en la región nororiental del país. Para las tres especies se procuró obtener poblaciones dentro de fragmentos con distintas superficies. En total, se ob-

tuvieron muestras de cinco poblaciones de jabillo, seis de samán y nueve de guácimo.

En cada fragmento de vegetación las poblaciones fueron identificadas accediendo a través del sistema vial primario y secundario disponible y preguntando a los locales. Una vez ubicados varios individuos de alguna de las especies, se realizaban recorridos en vehículo a lo largo de la carretera y se obtenían muestras de hojas jóvenes y en buen estado con ayuda de una escopadora con brazo extensible. Siempre se procuró no muestrear individuos que estuvieran separados menos de 10m lineales entre sí. Las hojas obtenidas de cada individuo eran empaquetadas en papel alu-

minio con una hoja rotulada con lápiz de grafito, sumergidas dentro de un tanque con N₂ líquido y transportadas hasta el Laboratorio de Biología de Organismos, Centro de Ecología, IVIC, donde las muestras eran depositadas en un ultracongelador (-70°C). De cada población censada se obtuvieron muestras de 30 a 40 individuos adultos o subadultos.

Electroforesis de aloenzimas

Las hojas de cada muestra fueron trituradas usando N₂ líquido, arena y un mortero frío. Al tejido triturado, dependiendo de la especie, se le añadió una solución tampón de extracción a base de PVP-fosfato para solubilizar y estabilizar las enzimas presentes en el tejido. Para *S. saman* se empleó la solución de extracción propuesta por Wendel y Parks (1982), para *H. crepitans*, dependiendo del sistema enzimático examinado, se utilizaron dos soluciones de extracción (Wendel y Parks, 1982; Garay-Arroyo y Alvarez-Buylla, 1997), y para *G. ulmifolia* también se emplearon dos soluciones de extracción (Mitton *et al.*, 1979; Wendel y Parks, 1982). Seguidamente, dentro del extracto enzimático se colocaron pequeños recortes rectangulares (0,5×0,3mm) de papel para cromatografía (Whatman 3MM, Maidstone, RU), los cuales se embebieron en el extracto enzimático, luego se colocaron en celdas dentro de placas para ELISA, y finalmente se

almacenaron a -70°C hasta el momento de realizar la electroforesis. Se aplicó el procedimiento de electroforesis horizontal en geles de almidón de papa al 10% (Starch Art, Smithville, TX, EEUU). Se utilizó una combinación de cuatro soluciones tampón de corrida y 15, 11 y 10 sistemas enzimáticos para *S. saman*, *H. crepitans* y *G. ulmifolia*, respectivamente. Dichos sistemas lograron resolver 24, 11 y 10 loci putativos, respectivamente. En la Tabla I se resumen los sistemas de corrida y sistemas enzimáticos empleados para cada especie. Los procedimientos para elaborar las soluciones de corrida y los reveladores de las enzimas son modificaciones a partir de los procedimientos propuestos por Mitton *et al.* (1979) y Soltis *et al.* (1983), con excepción de AAT (Cheliak y Pitel, 1984). Loci y alelos fueron designados con base en la movilidad relativa de las proteínas sobre la matriz del gel, asignando los números más bajos a los alelos más alejados de la línea de origen.

Análisis de datos

Las frecuencias alélicas y parámetros estándar de diversidad genética según Hedrick (1985) y Berg y Hamrick (1997) fueron estimados a nivel de especie y poblaciones. Las frecuencias alélicas se calcularon empleando el programa GENALEX (Peakall y Smouse, 2006). Desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg fueron examinadas para cada locus y población empleando el Test Exacto H-W propuesto por Rousset y Raymond (1995) usando el programa GENEPOP v.1.2. Los parámetros de diversidad genética estimados fueron: porcentaje de loci polimórficos (P), número promedio de alelos por locus (A) y por locus polimórfico (AP), número efectivo de alelos por locus ($A_e = 1/\sum p_i^2$, donde p_i es la frecuencia del alelo i), heterocigosidad observada (H_o) y diversidad genética ($H_e = 1 - \sum p_i^2$) de Nei (1973). Estas estimaciones fueron realizadas para cada locus y promediadas sobre todos los loci. Estimaciones a nivel poblacional fueron promediadas sobre todas las poblaciones para obtener medias y errores estándar para cada especie. Todos estos parámetros fueron estimados usando el programa PopGene 32 (Yeh *et al.*, 1997).

Los parámetros de diversidad genética de Nei (Nei, 1973, 1977) fueron estimados para cada locus polimórfico, incluyendo la diversidad genética total (H_T), la diversidad genética promedio dentro de las poblaciones (H_S) y la proporción de diversidad genética debida a diferencias entre poblaciones ($G_{ST} = (H_T - H_S)/H_T$). Estos estimados fue-

TABLA I
COMBINACIÓN DE SOLUCIONES TAMPÓN DE EXTRACCIÓN Y SISTEMAS ENZIMÁTICOS UTILIZADOS EN CADA ESPECIE DE ÁRBOL

	Sistema 4	Sistema 8-	Sistema 7	Sistema 11	Sistema 34
<i>Samanea saman</i>	PGI(CA) SKDH(CA) 6-PGD(CA)	AAT(CA) FE(CA) MNR(CA) TPI(CA)		AK(CA) IDH(CA) MDH(CA) PGM(CA) UGPP(CA)	ADH(CA) CE(CA) GDH(CA)
<i>Hura crepitans</i>		AAT(CA) FE(CE) MNR(CA) TPI(CA)		AK(CE) IDH(CA) PGI(CE) PGM(CA) SKDH(CE) 6-PGD(CA) UGPP(CA)	CE(CE)
<i>Guazuma ulmifolia</i>	PGI(CA) 6-PGD(CA)	AAT (CA) TPI (CA)	MNR(CA)	IDH(NE) PGM(NE) UGPP(NE)	CE(NE) FE(NE)

El código dentro del paréntesis indica el sistema de extracción empleado: CA (Wendel y Parks, 1982), CE (Garay-Arroyo y Álvarez-Buylla, 1997) y NE (Mitton *et al.*, 1979).

ron obtenidos empleando el programa FSTAT (Goudet, 1995). El coeficiente de endogamia de Wright (1978) F_{IS} fue estimado para cada locus usando el programa TFPGA (Miller, 1997) en el caso de especies diploides y Spagedi (Hardy y Vekemans, 2002) en el caso de especies poliploides.

La hipótesis de aislamiento por distancia fue puesta a prueba usando el método de Rousset (1997), el cual está basado en una regresión lineal de estimaciones pareadas de $F_{ST}/(1-F_{ST})$ en función del logaritmo natural de las distancias geográficas entre pares de poblaciones. Esta prueba fue realizada usando el programa GENEPOP. Una correlación positiva entre las dos variables es indicativa de aislamiento por distancia. Se realizó un test de Mantel de asociación (9000 permutaciones) entre las matrices de estimaciones pareadas de $F_{ST}/(1-F_{ST})$ y el logaritmo natural de las distancias geográficas con el programa TFPGA para probar si la asociación entre ambas variables era significativa (Mantel y Valand, 1970; Heywood, 1991). La identidad (I) y distancia genética (D) de Nei (1972) fueron estimadas entre todos los pares de poblaciones usando PopGene 32 para generar árboles de agrupamiento empleando el método UPGMA. Los dendrogramas obtenidos usando este procedimiento fueron creados con el programa MEGA (Tamura *et al.*, 2007) y ayudaron a entender las relaciones genéticas entre las poblaciones de cada especie y su correspondencia o no con sus ubicaciones geográficas. Finalmente, se puso a prueba la hipótesis

de correlación entre el tamaño del fragmento de bosque y la variabilidad genética de las poblaciones censadas en cada fragmento calculando el coeficiente de correlación de Spearman.

Resultados

Diversidad genética

Los patrones de segregación de bandas de las aloenzimas examinadas indican que *Samanea saman* y *Guazuma ulmifolia* se comportan genéticamente como organismos diploides, mientras que *Hura crepitans* presenta el patrón de bandas de una especie autotetraploide. Con excepción de UGPP-1 y IDH-1, los otros nueve loci examinados en esta especie presentaron patrones de bandas balanceados y desbalanceados en el caso de individuos heterocigotos, sugiriendo herencia tetrasómica. No se observó evidencia de heterocigotos fijos normalmente observados en plantas alopoliploides.

Los estimados de variabilidad genética para las tres especies se presentan en la Tabla II. Un total de 60, 43 y 39 alelos fueron detectados para *S. saman*, *G. ulmifolia* y *H. crepitans*, respectivamente. A nivel de especie, los tres taxones presentaron valores considerablemente altos de variabilidad genética para todos los parámetros examinados, excepto para el caso de A_e , que presentó valores moderados. El porcentaje de loci polimórficos varió entre 90,9% y 100%. El número de alelos por locus fue de 2,5 para *S. saman*, 3,55 para *H. crepitans* y 4,3

TABLA II
ESTIMADOS DE DIVERSIDAD GENÉTICA DE *Samanea saman*, *Hura crepitans* y *Guazuma ulmifolia* A NIVEL DE ESPECIE Y POBLACIÓN, BASADOS EN 24, 11 Y 10 LOCI, RESPECTIVAMENTE

Nivel	Área del fragmento (km ²)	Lat. N	Long. O	N	%P	A	AP	A _e	H _o	H
<i>Samanea saman</i>										
Especie				209	91,67	2,50 ±0,83	2,64 ±0,73	1,40 ±0,39	0,192 ±0,208	0,234 ±0,198
Población										
Piñero, Cojedes	120	8°52'13"	68°11'56"	35	62,50	1,67 ±0,56	2,07 ±0,26	1,19 ±0,06	0,133 ±0,209	0,128 ±0,153
Uchire, Anzoátegui	814	9°54'54"	65°30'38"	35	75,00	1,88 ±0,68	2,17 ±0,51	1,28 ±0,07	0,171 ±0,233	0,173 ±0,184
Mirimire, Falcón	4508	11°09'15"	68°34'32"	35	66,67	1,96 ±0,86	2,44 ±0,63	1,48 ±0,10	0,220 ±0,247	0,256 ±0,228
San Carlos, Cojedes	146	9°39'36"	68°36'13"	35	83,33	2,13 ±0,74	2,35 ±0,59	1,34 ±0,07	0,192 ±0,211	0,211 ±0,184
Campo Lara, Zulia	2016	10°10'33"	71°04'37"	35	70,83	2,00 ±0,83	2,41 ±0,62	1,39 ±0,10	0,219 ±0,259	0,215 ±0,219
Canoabo, Carabobo	1927	10°18'20"	68°16'54"	34	70,83	2,17 ±0,92	2,65 ±0,61	1,41 ±0,08	0,220 ±0,228	0,239 ±0,204
Promedio poblacional					71,53 ±7,18	1,97 ±0,18	2,40 ±0,21	1,35 ±0,10	0,193 ±0,035	0,204 ±0,047
<i>Hura crepitans</i>										
Especie				167	90,91	3,55 ±1,51	3,80 ±1,51	1,57 ±0,55	0,223 ±0,163	0,292 ±0,230
Población										
Mirimire, Falcón	450 8	11°10'10"	68°31'14"	35	81,82	2,82 ±1,40	3,22 ±1,20	1,54 ±0,14	0,216 ±0,169	0,293 ±0,223
San Carlos, Cojedes	146	09°44'29"	68°54'31"	30	72,73	2,55 ±1,13	3,13 ±0,64	1,39 ±0,17	0,167 ±0,183	0,203 ±0,222
Uchire, Anzoátegui	814	9°54'54"	65°30'38"	35	90,91	2,82 ±0,98	3,00 ±0,82	1,59 ±0,20	0,252 ±0,230	0,283 ±0,245
Casanay, Sucre	179	10°30'34"	63°19'51"	35	81,82	2,36 ±0,92	2,67 ±0,71	1,32 ±0,10	0,148 ±0,139	0,203 ±0,183
Canoabo, Carabobo	1927	10°19'13"	68°17'27"	32	72,73	2,55 ±1,29	3,13 ±0,99	1,66 ±0,20	0,256 ±0,222	0,304 ±0,271
Promedio					80,00 ±7,61	2,62 ±0,20	3,03 ±0,22	1,50 ±0,14	0,208 ±0,049	0,257 ±0,049
<i>Guazuma ulmifolia</i>										
Especie				340	100,00	4,30 ± 1,95	4,30 ± 1,95	1,38 ±0,26	0,180 ±0,140	0,296 ±0,219
Población										
San Carlos, Cojedes	146	09°42'08"	68°57'08"	35	100,00	3,10 ±1,66	3,10 ±1,66	1,68 ±0,23	0,241 ±0,203	0,330 ±0,219
San Luis, Falcón	894	11°21'43"	69°34'24"	35	90,00	2,70 ±1,34	2,89 ±1,27	1,52 ±0,20	0,204 ±0,167	0,264 ±0,233
Campo Lara, Zulia	2016	10°10'33"	71°04'37"	35	100,00	3,10 ±1,66	3,10 ±1,66	1,57 ±0,22	0,178 ±0,164	0,276 ±0,239
Piñero, Cojedes	120	8°52'13"	68°11'56"	35	90,00	2,90 ±1,37	3,11 ±1,27	1,64 ±0,19	0,210 ±0,188	0,321 ±0,232
Mirimire, Falcón	4508	11°10'26"	68°39'34"	40	80,00	2,60 ±1,43	3,00 ±1,31	1,65 ±0,33	0,135 ±0,155	0,242 ±0,289
Canoabo, Carabobo	1927	10°27'19"	68°19'13"	40	100,00	2,90 ±0,99	2,90 ±0,99	1,40 ±0,14	0,168 ±0,137	0,235 ±0,195
Pilar, Sucre	179	10°30'34"	63°19'51"	40	70,00	2,30 ±1,06	2,86 ±0,69	1,58 ±0,17	0,187 ±0,156	0,301 ±0,238
Guanape, Anzoátegui	814	10°02'42"	65°20'26"	40	80,00	2,70 ±1,25	3,13 ±0,99	1,54 ±0,24	0,158 ±0,166	0,248 ±0,251
La Mula, Barinas	550	08°35'45"	70°23'46"	40	90,00	2,90 ±1,20	3,11 ±1,05	1,38 ±0,08	0,168 ±0,127	0,252 ±0,153
Promedio					88,89 ±10,54	2,80 ±0,25	3,02 ±0,11	1,55 ±0,11	0,183 ±0,030	0,274 ±0,034

N: tamaño muestral, %P: porcentaje de loci polimórficos, A: número promedio de alelos por locus, AP: número promedio de alelos por locus polimórfico, A_e: número efectivo de alelos por locus, H_o: heterocigocidad observada, H: diversidad genética de Nei (1973). Valores ±desviación estándar.

para *G. ulmifolia*. El número de alelos por locus polimórfico incrementó ligeramente para el caso de las dos primeras especies. En contraste, el número efectivo de alelos por locus decayó considerablemente para las tres especies (1,38-1,54), indicando que una proporción importante de alelos en los diferentes loci examinados se presentan con baja frecuencia, dominando principalmente uno de ellos en cada locus. La diversidad genética de Nei (H), que engloba a todos los parámetros antes indicados, fue substancialmente alta para las tres especies, con valores entre 0,234 y 0,296.

A nivel poblacional también se observaron valores considerablemente altos de variabilidad genética para las tres especies sobre la gran mayoría de las poblaciones examinadas (Tabla II).

Los porcentajes de loci polimórficos se mantuvieron siempre por encima de 60%, alcanzando en varias poblaciones de *G. ulmifolia* el 100%. El número de alelos por locus, por locus polimórfico y número efectivo de alelos por locus fueron entre intermedios y altos en las distintas poblaciones de *S. saman* (A: 1,67-2,17; AP: 2,07-2,65; A_e: 1,19-1,48), *H. crepitans* (A: 2,36-2,82; AP: 2,67-3,22; A_e: 1,32-1,66) y *G. ulmifolia* (A: 2,30-3,10; AP: 2,86-3,13; A_e: 1,38-1,68). La variabilidad genética de Nei (H) se mantuvo alta para todas las poblaciones de *H. crepitans* (0,203-0,304) y *G. ulmifolia* (0,235-0,330). Solo en el caso de *S. saman* se observaron diferencias pronunciadas de H entre algunas poblaciones. Mientras que las poblaciones de Mirimire, San Carlos, Campo Lara y Canoabo presentaron valo-

res por encima de 0,211, las de Piñero y Uchire mostraron valores considerablemente más bajos (0,13-0,17).

En cuanto a cómo se distribuye la diversidad genética en el ámbito geográfico cubierto para cada especie, las poblaciones de *S. saman* con mayor variabilidad genética están localizadas en la región noroccidental del país (Mirimire y Canoabo), entre los estados Falcón y Carabobo, y las de menor variabilidad en los Llanos Centrales (Piñero) y en la región nororiental (Uchire). El mismo patrón se repite para el caso de *H. crepitans*. Sin embargo, en el caso de *G. ulmifolia* se evidenció una condición contrastante, ya que dos de las poblaciones censadas con menor variabilidad genética se ubicaron precisamente en el noroccidente de Venezuela, de nuevo en los esta-

dos Falcón y Carabobo, y las dos poblaciones con mayor variabilidad se localizaron, una en los Llanos Centrales (Piñero) y otra en la región extrema oriental (El Pilar).

El análisis de correlación para probar la hipótesis de asociación entre la dimensión de los fragmentos de bosque y la magnitud de la variabilidad aloenzimática presente en ellos indicó que solo en el caso de *S. saman* existe una asociación significativa para dos de los estimadores, A_e ($\rho = 0,89$, $P=0,05$) y H ($\rho = 0,90$, $P=0,05$).

Estructura genética

En los casos de *S. saman* y *G. ulmifolia*, las dos especies diploides, los valores de heterocigicidad observada (H_o) para todas las poblaciones con excepción de una localidad para la primera especie (Tabla II), fueron iguales o menores a los valores de diversidad genética de Nei (equivalentes a la heterocigicidad esperada H_e para especies diploides). Esto sugiere que en general existe un déficit de individuos heterocigotos en las poblaciones. El Test Exacto H-W por locus y población detectó déficit de heterocigotos en 27,95% de los casos examinados para *S. saman* y 44,87% de los casos para *G. ulmifolia*. El F_{IS} promedio sobre todos los loci no difirió de cero para *S. saman* ($F_{IS} = 0,051 \pm 0,112DE$; 95%CI = -0,151-0,246), indicando ausencia de endogamia o subdivisión genética dentro de las poblaciones. En el caso de *G. ulmifolia*, el F_{IS} si fue significativamente superior a cero ($F_{IS} = 0,335 \pm 0,051$; 95%CI = 0,253-0,431), sugiriendo posible endogamia o subestructura genética en algunas poblaciones. Finalmente, en el caso de *H. crepitans*, el F_{IS} fue también alto y significativo ($F_{IS} = 0,488 \pm 0,03$; 95%CI = 0,469-0,507).

La diversidad genética total de Nei para loci polimórficos fue $H_T = 0,255 \pm 0,193$ para *S. saman*; $0,300 \pm 0,219$ para *G. ulmifolia*, y $0,342 \pm 0,212$ para *H. crepitans*. Buena parte de esta diversidad genética se encuentra dentro de las poblaciones, con $H_S = 0,222 \pm 0,168$ para *S. saman*; $0,276 \pm 0,194$ para *G. ulmifolia* y $0,306 \pm 0,180$ para *H. crepitans*. Las tres especies presentaron valores relativamente bajos de estructura genética, con $G_{ST} = 0,082 \pm 0,129$ para *S. saman*; $0,059 \pm 0,040$ para *G. ulmifolia* y $0,073 \pm 0,077$ para *H. crepitans*.

No se detectó aislamiento por distancia en ninguna de las especies (*S. saman*: $Z = 14,6$, $r = -0,102$, $P = 0,634$; *G. ulmifolia*: $Z = 21,0$, $r = 0,0$, $P = 0,492$; y *H. crepitans*: $Z = 8,8$, $r = 0,323$, $P = 0,206$). Las distancias genéticas

de Nei fueron relativamente bajas para las tres especies. En el caso de *S. saman*, los valores más elevados de distancia genética fueron encontrados entre los pares de poblaciones Campo Lara-Piñero ($D = 0,149$), Campo Lara-Uchire ($D = 0,123$) y Piñero-Mirimire ($D = 0,110$). Para *G. ulmifolia*, el único valor distintivamente más alto que el resto fue Campo Lara-Canoabo ($D = 0,102$), y para *H. crepitans* las distancias más elevadas se encontraron entre San Carlos y Uchire ($D = 0,107$) y San Carlos y Casanay ($D = 0,140$). El dendrograma UPGMA basado en las distancias genéticas entre poblaciones no mostró concordancia con las distancias geográficas entre las poblaciones de *S. saman*, excepto en el caso de las localidades de San Carlos y Canoabo, en la región centro-norte, que quedaron dentro de un mismo grupo (Figura 2). El árbol UPGMA de *G. ulmifolia* muestra un grado moderado de concordancia geográfica, ya que en uno de los dos grupos principales se incluyeron las poblaciones de la región central, desde el límite norte (Canoabo), pasando por las localidades llaneras (San Carlos y Piñero), hasta llegar al extremo muestreado más al sur (La Mula). El otro grupo englobó poblaciones a lo largo del eje costero, de oriente (Pilar y Guanape) a occidente (San Luis y Mirimire). Campo Lara en el estado Zulia quedó como la más distanciada de todas. Finalmente, el árbol UPGMA de *H. crepitans* no mostró congruencia geográfica, como ocurrió en el caso de *S. saman*.

Discusión

No se evidencian procesos de pérdida de diversidad genética en *Samanea saman*, *Guazuma ulmifolia* y *Hura crepitans*, a pesar de que las poblaciones examinadas de estas especies se encuentran distribuidas en un mosaico disperso de fragmentos de bosques secos en el norte y centro de Venezuela. Los resultados de este estudio se suman a la ya substancial lista de casos de especies arbóreas tropicales que, a pesar de existir en un mosaico de parches de bosque aislados entre sí, mantienen niveles de variabilidad

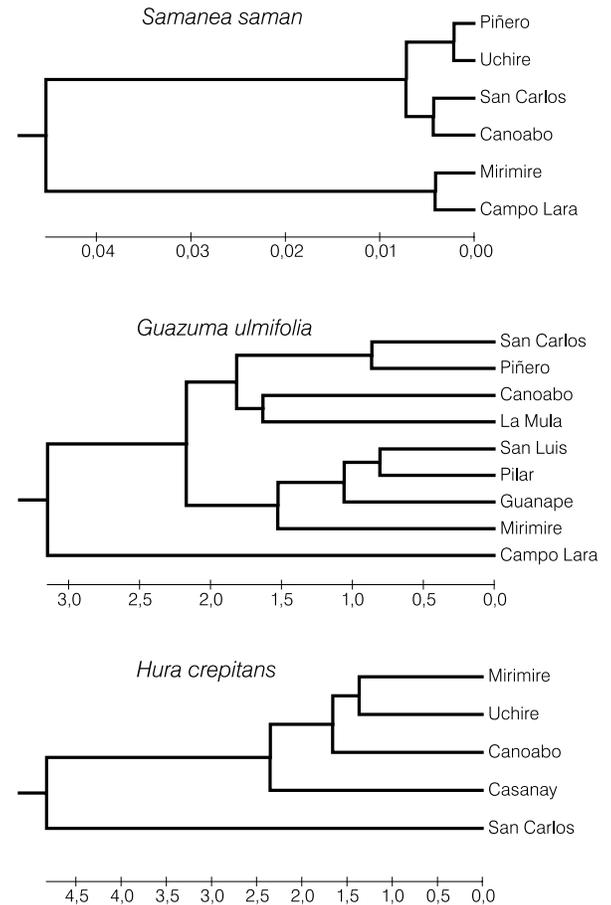


Figura 2. Árboles de agrupamiento UPGMA basados en distancias genéticas de Nei (1972) estimadas entre las poblaciones de cada especie de árbol estudiada. Los números en la escala corresponden a las distancias genéticas de Nei. N: tamaño muestral, %P: porcentaje de loci polimórficos, A: número promedio de alelos por locus, AP: número promedio de alelos por locus polimórfico, A_e : número efectivo de alelos por locus, H_o : heterocigicidad observada, H: diversidad genética de Nei (1973). Valores \pm desviación estándar.

genética equivalentes a los encontrados en extensiones continuas de bosque.

En general, en plantas leñosas se han encontrado los valores más elevados de variabilidad genética en el reino vegetal. A este patrón contribuyen los tiempos de vida relativamente largos de los árboles en relación a otras formas de vida vegetal, el predominio de la xenogamia, y la posesión de sistemas efectivos de dispersión de polen y semillas que promueven el flujo genético (Hamrick y Godt, 1996). Los tres árboles estudiados superaron con creces los valores promedio ($H_{e-especies} = 0,17$; $H_{e-población} = 0,14$) reportados por Hamrick *et al.* (1992) para plantas leñosas. Aun las dos especies diploides, *S. saman* y *G. ulmifolia*, presentaron valores de H tan altos como *H. crepitans*, la especie tetraploide. Pero cabe resaltar que a pesar de que la mayoría de los loci examinados presentaron múltiples alelos, se aprecia un sesgo

en las frecuencias alélicas a un alelo en particular en cada locus. Tal patrón ha sido reportado como un carácter genético distintivo de plantas perennes leñosas (Hamrick, 2004).

En las tres especies también se observó baja estructura genética, lo que sugiere que las poblaciones de los tres árboles han mantenido sustancial flujo génico histórico en Venezuela. A pesar de que la franja norte del territorio nacional ha sido siempre la porción del país que más impacto antrópico ha sufrido desde tiempos de la colonia, no es sino hasta mediados del siglo XX que las grandes extensiones centrales de Venezuela se convirtieron en blanco de las acciones del Estado para la expansión de la agroindustria y la producción de ganado (Kammesheidt, 1999). Es posible entonces pensar que mucha de la diversidad genética presente en la región antes del inicio de la acelerada conversión de los bosques secos, permanece aún representada en los árboles adultos que conforman las actuales poblaciones fragmentadas. Pero se debe prestar atención al caso particular de *S. saman*, una especie muy ligada a la actividad forestal en Venezuela y para la cual se logró detectar en este estudio una relación significativa entre el tamaño de los fragmentos de áreas boscosas y la magnitud de la variación genética encontrada en las poblaciones presentes en ellos.

En varias revisiones realizadas sobre el tema de la estructura genética en plantas, se ha encontrado que las poblaciones de muchas especies arbóreas se caracterizan por presentar baja diferencia genética interpoblacional (Hamrick y Godt, 1989, 1996, 1997; Nybom, 2004) y el potencial de mantener flujo génico entre moderado y extensivo (Hamrick, 2004). Este potencial posiblemente es responsable de que en muchos estudios de genética poblacional de árboles tropicales en paisajes fragmentados no se aprecien efectos negativos en términos de reducción de la variabilidad genética (Hamrick, 2004; Kramer *et al.*, 2008). *Bursera simaruba* en los bosques secos de Puerto Rico (Dunphy y Hamrick, 2007) mantuvo elevados niveles de variación genética a pesar de la conversión de hábitat. *Polylepis pauta* en Ecuador ha mantenido elevados niveles de variación genética intrapoblacional y baja estructura genética a pesar de que en la actualidad las poblaciones se encuentran fragmentadas (Aragundi *et al.*, 2011). En poblaciones fragmentadas de *Protium spruceanum* en Brasil, de Almeida-Vieira y de Carvalho (2008) comprobaron elevados valores de diversidad genética y ausencia de endogamia. En estos casos, el común denomina-

do explicativo es que, posiblemente, la fragmentación de hábitat ocurrió durante la ventana de tiempo de vida de muchos de los individuos censados en los estudios o que el flujo genético se sigue manteniendo a pesar de la fragmentación.

La conclusión más importante derivada de estos estudios, incluyendo el presente, es que la diversidad genética de las especies arbóreas tropicales puede ser menos susceptible a los procesos de fragmentación espacial de lo que normalmente se ha asumido. Es posible que la magnitud de flujo genético existente en muchos de estos árboles permita que a pesar de que desaparezcan varias de las poblaciones, la mayor parte de la diversidad genética disponible se siga manteniendo en las poblaciones remanentes. Y esto significa que, a pesar de la drástica reducción poblacional que sufren muchas de nuestras especies de árboles, aún se está a tiempo de recuperarlas. Sin embargo, basarse solo en los resultados de estimaciones de variabilidad genética en individuos adultos para llegar a esta afirmación puede ser arriesgado, ya que muchos de estos individuos pudieran no estar reproduciéndose, o tal vez lo están haciendo con individuos consanguíneos, con los consecuentes problemas de depresión de aptitud en la progenie. Es por eso importante complementar los censos de variabilidad genética en individuos adultos con censos realizados en plantas jóvenes de las mismas especies en las mismas localidades. En varios estudios en que se ha realizado este tipo de análisis, se ha encontrado que las poblaciones de plántulas presentan menos variabilidad genética que las poblaciones de adultos (Dayanandan *et al.*, 1999; Rossetto *et al.*, 2004; Farwig *et al.*, 2008), lo cual debería ser interpretado como una señal de alarma de que el pool de variabilidad genética disponible no está siendo transmitido a las nuevas generaciones. En base a esto, como próximo paso a dar para las especies sujeto del presente estudio, se recomienda conducir un análisis de diversidad genética que considere las poblaciones de plántulas y subadultos asociadas a cada una de las localidades censadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Julio César Romero y Carla Aranguren su colaboración en la colección de tejidos durante las salidas de campo, y a Sergio Zambrano la preparación del mapa de la distribución de fragmentos de bosque seco en Venezuela. Este trabajo fue financiado por un fondo para investigación otorgado por TOTAL de Venezuela a JMN y por la partida de in-

vestigación asignada por el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas a JMN. La Unidad de Servicios Biodiven brindó apoyo administrativo. Este proyecto contó con el permiso para colección de tejidos vegetales # I-011 y el permiso de acceso a recursos genéticos # 41-0505, otorgados por el Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (MI-NAMB), Venezuela.

REFERENCIAS

- Aguirre-Plantier E, Furnier GR, Eguiarte LE (2000) Low levels of genetic variation within and high levels of genetic differentiation among populations of species of *Abies* from southern Mexico and Guatemala. *Am. J. Bot.* 87: 365-371.
- Aldrich PR, Hamrick JL, Chavarriaga P, Kochert G (1998) Microsatellite analysis of demographic genetic structure in fragmented populations of the tropical tree *Symphonia globulifera*. *Mol. Ecol.* 7: 933-944.
- Andren H (1994) Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscape with different proportion of suitable habitat - a review. *Oikos* 71: 355-366.
- Aragundi S, Hamrick JL, Parker KC (2011) Genetic insights into the historical distribution of *Polylepis pauta* (Rosaceae) in the north-eastern Cordillera Oriental of Ecuador. *Cons. Genet.* 12: 607-618.
- Astorga J, Núñez-Farfán J (2001) Effect of habitat fragmentation on the genetic structure of the narrow endemic. *Evol. Ecol. Res.* 3: 861-872.
- Bawa KS (1974) Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* 28: 85-92.
- Berg EE, Hamrick JL (1997) Quantification of genetic diversity at allozyme loci. *Can. J. Forest Res.* 27: 415-424.
- Bullock SH, Mooney HA, Medina E (Eds.) (1995) *Seasonally Dry Tropical Forests*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 450 pp.
- Bullock SH (1995) Plant reproduction in Neotropical dry forests. pp. 277-303.
- Cascante A, Quesada M, Lobo JJ, Fuchs EA (2002) Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. *Cons. Biol.* 16: 137-147.
- Cheliak WM, Pitel JA (1984) *Techniques for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Forest Tree Species*. Information Report PI-X-42. Petawawa National Forestry Institute. Canadian Forestry Service. Ottawa, Canada. 49 pp.
- Collevatti RG, Grattapaglia D, Hay JD (2001) Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliense*, based on variability at microsatellite loci. *Mol. Ecol.* 10: 349-356.
- Couvet D (2002) Deleterious effects of restricted gene flow in fragmented populations. *Cons. Biol.* 16: 369-376.
- Dayanandan S, Dole J, Bawa K, Kesseli R (1999) Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). *Mol. Ecol.* 8: 1585-1592.

- de Almeida Vieira F, de Carvalho D (2008) Genetic structure of an insect-pollinated and bird-dispersed tropical tree in vegetation fragments and corridors: implications for conservation *Biodiv. Cons.* 17: 2305-2321.
- Dunphy BK, Hamrick JL (2007) Estimation of gene flow into fragmented populations of *Bursera simaruba* (Burseraceae) in the dry-forest life zone of Puerto Rico. *Am. J. Bot.* 94: 1786-1794.
- Esser HJ, Cardiel JM, Berry PE, Riina R (2007) Euphorbiaceae. En Duno de Stefano R, Aymard G, Huber O (Eds.) *Flora Vascular de los Llanos de Venezuela*. FUDENA-Fundación Polar-FIBV. Caracas, Venezuela. pp. 463-479.
- Fajardo L, González V, Nassar JM, Lacabana P, Portillo CA, Carrasquel F, Rodríguez JP (2005) Tropical Dry Forests of Venezuela: Characterization and current status. *Biotropica* 37: 531-546.
- Farwig N, Carsten B, Böhning-Gaese, K (2008) Human disturbance reduces genetic diversity of an endangered tropical tree, *Prunus africana* (Rosaceae) *Cons. Genet.* 9: 317-326.
- Fernández-M JF, Sork VL (2007) Genetic variation in fragmented forests stands of the Andean oak *Quercus humboldtii* Bonpl. (Fagaceae). *Biotropica* 39: 72-78.
- Finkeldey R, Hattmer HH (2007) Tropical forest genetics. Springer, Berlin, p 315.
- Fischer M, Matthies D (1997) Mating structure and inbreeding and outbreeding depression in the rare plant *Gentianella germanica* (Gentianaceae). *Am. J. Bot.* 84: 1685-1692.
- Frankham R (2003) Genetics and conservation biology. *C. R. Biol.* 326: S22-S29.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2002) *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 619 pp.
- Frankie GW (1976) Pollination of widely dispersed trees by animals in Central America, with an emphasis on bee pollination systems. En Burley J, Styles BT (Eds.) *Tropical Trees, Variation, Breeding and Conservation*. Linnean Society Symposium. Series 2. Academic Press. Londres, RU. pp. 151-159.
- Fuchs EJ, Lobo JA, Quesada M (2003) Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. *Cons. Biol.* 17: 149-157.
- Fuertes-Aguilar J (2007) Malvaceae. En Duno de Stefano R, Aymard G, Huber O (Eds.) *Flora Vascular de los Llanos de Venezuela*. FUDENA-Fundación Polar-FIBV. Caracas, Venezuela. pp. 549-558.
- Garay-Arroyo A, Alvarez-Buylla ER (1997) Isozyme variation in a tropical pioneer tree species (*Cecropia obtusifolia*, Moraceae) with high contents of secondary compounds. *Biotropica* 29: 280-290.
- González V (2003) Bosques secos. En Aguilera M, Azócar A, González-Jiménez E (Eds.) *Biodiversidad en Venezuela*. Tomo II. Fundación Polar - Ex libris. Caracas, Venezuela. pp. 734-744.
- González-Astorga J, Núñez-Farfán J (2001) Effect of habitat fragmentation on the genetic structure of the narrow endemic *Brongniartia vazquezii*. *Evol. Ecol. Res.* 3: 861-872.
- Goudet J (1995) FSTAT (Version 1.2): A Computer Program to Calculate F-Statistics. *J. Hered.* 86: 485-486.
- Hamrick JL (2004) Response of forest trees to global environmental changes. *Forest Ecol. Manag.* 197: 323-335.
- Hamrick JL, Godt MJ (1989) Allozyme diversity in plant species. En Brown AH, Clegg MT, Kahler AA, Weir BS (Eds.) *Plant Population Genetics, Breeding and Germplasm Resources*. Sinauer. Sunderland, MA, EEUU. pp. 43-63.
- Hamrick JL, Godt MJW (1996) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.* 351: 1291-1298.
- Hamrick JL, Godt MJW (1997) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. En Silvertown J, Franco M, Harper JL (Eds.) *Plant Life Histories: Ecology, Phylogeny and Evolution*. Cambridge Royal Society. Cambridge, RU. pp. 102-118.
- Hamrick JL, Murawski DA (1990) The breeding structure of tropical tree populations. *Plant Spec. Biol.* 5: 157-165.
- Hamrick JL, Godt MJW, Sherman-Broyles SL (1992) Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* 6: 95-124.
- Hardy OJ, Vekemans X (2002) Spagedi: a versatile computer program to analyze spatial genetic structure at the individual or population levels. *Mol. Ecol. Notes* 2: 618-620.
- Hedrick PW (1985) *Genetics of Populations*. Jones and Bartlett. Boston, MA, EEUU. 629 pp.
- Heywood JS (1991) Spatial analysis of genetic variation in plant populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 22: 335-355.
- Hokche O, Berry PE, Huber O (Eds.) (2004) *Nuevo Catálogo de la Flora Vascular de Venezuela*. Fundación Instituto Botánico. Caracas, Venezuela. 859 pp.
- Huber O, Alarcón C (1988) *Mapa de Vegetación*. MARNR. Caracas, Venezuela.
- Keyghobadi N (2007) The genetic implications of habitat fragmentation for animals. *Can. J. Zool.* 85: 1049-1064.
- Kammesheidt L (1999) The role of population growth and land-use policy in deforestation: a case study in the western Venezuelan plains. Deutscher Tropentag 1999 in Berlin, Session: Research and Management of Ecosystems and Natural Resources incl. Forests (Conference Proceedings).
- Keller LF, Waller DM (2002) Inbreeding effects in wild populations. *Trends Ecol. Evol.* 17: 230-241
- Kramer AT, Ison JL, Ashley MV, Howe HF (2008) The paradox of forest fragmentation genetics. *Cons. Biol.* 22: 878-885.
- Llamozas S, Duno de Stefano R, Meier W, Riina R, Stauffer F, Aymard G, Huber O, Ortiz R. (2003) *Libro Rojo de la Flora Venezolana*. Provita - Fundación Polar - Fundación Instituto Botánico. Caracas, Venezuela. 555 pp.
- Lowe AJ, Boshier D, Ward M, Bacles CFE, Navarro C (2005) Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity* 95: 255-273.
- Maass JM (1995) Conversion of tropical dry forest to pasture and agriculture. En Bullock SH, Mooney HA, Medina E (Eds.) *Seasonally Dry Tropical Forests*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp. 399-422.
- Mantel N, Valand RS (1970) A technique of non-parametric multivariate analysis. *Biometrics* 26: 547-558.
- Miles L, Newton AC, DeFries RS, Ravilious C, May I, Blyth S, Kapos V, Gordon JE (2006) A global overview of the conservation status of tropical dry forests. *J. Biogeogr.* 33: 491-505.
- Miller M (1997) *TTPGA (Tools for Population Genetics Analysis)*. Northern Arizona University. Flagstaff, AZ, EEUU. 102 pp.
- Mitton JB, Linhart YB, Sturgeon KB, Hamrick JL (1979) Allozyme polymorphism detected in mature needle tissues of ponderosa pine. *J. Heredity* 70: 86-89.
- Moreira PA, Fernandes GW, Collevatti RG (2009) Fragmentation and spatial genetic structure in *Tabebuia ochracea* (Bignoniaceae) a seasonally dry Neotropical tree. *Forest Ecol. Manag.* 258: 2690-2695.
- Murphy PG, Lugo AE (1986) Ecology of tropical dry forest. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17: 67-88.
- Murphy PG, Lugo AE (1995) Dry forest of Central America and the Caribbean. En Bullock SH, Mooney HA, Medina E (Eds.) *Seasonally Dry Tropical Forests*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp. 9-34.
- Nason JD, Hamrick JL (1997) Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation: two case studies of neotropical canopy trees. *J. Hered.* 88: 264-276.
- Nei M (1972) Genetic distance between populations. *Am Nat.* 106: 283-292.
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 70: 3321-3323.
- Nei M (1977) F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Human Genet.* 41: 225-233.
- Nybohm H (2004) Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Mol. Ecol.* 13: 1143-1155.
- Oostermeijer JGB, Luijten SH, Den Nijs JCM (2003) Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation. *Biol. Cons.* 113: 389-398.
- Peakall AR, Smouse APE (2006) Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6: 288-295.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity* 86: 248-249.
- Rodríguez JP, Nassar JM, Rodríguez-Clark KM, Zager I, Portillo-Quintero CA, Carrasquel F, Zambrano S (2009) Tropical dry forests in Venezuela: Assessing status, threats, and future prospects. *Env. Cons.* 35: 311-318.
- Rodríguez JP, Rojas-Suárez F, Hernández DG (2010) *Libro Rojo de los Ecosistemas Terrestres de Venezuela*. Provita, Shell Venezuela, Lenovo. Caracas, Venezuela. 324 pp.
- Rossetto M, Jones R, Hunter J (2004) Genetic effects of rainforest fragmentation in an early successional tree (*Elaeocarpus grandis*). *Heredity* 93: 610-618.
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* 145: 1219-1228.
- Rousset F, Raymond M (1995) Testing heterozygote excess and deficiency. *Genetics* 140: 1413-1419.

- Ruiz Linares J, Fandiño Orozco MC (2009) Estado del bosque seco tropical e importancia relativa de su flora leñosa, islas de la Vieja Providencia y Santa Catalina, Colombia, Caribe suroccidental. *Rev. Acad. Col. Cienc.* 33: 5-15.
- Sánchez-Azofeifa A, Quesada M, Rodríguez JP, Nassar JM, Stoner KE, Castillo A, Garvin T, Zent EL, Calvo-Alvarado JC, Kalacska MER, Fajardo L, Gamon JA, Cuevas-Reyes P. Research priorities for Neotropical dry forests. *Biotropica* 37: 477-485.
- Schnee L (1984) *Plantas Comunes de Venezuela*. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 822 pp.
- Soltis DE, Haufler CH, Darrow DC, Gastony GJ (1983) Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *Am. Fern J.* 73: 9-27.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24: 1596-1599.
- Wendel JF, Parks CR (1982) Genetic control of isozyme variation in *Camellia japonica* L. *J Heredity* 73: 197-2004.
- White GM, Boshier DH, Powell W (1999) Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. *Mol. Ecol.* 8: 1899-1909.
- White GM, Boshier DH, Powell W (2002) Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: An example from *Swietenia humilis* Zuccarini. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 99: 2038-2042.
- Wingfield R, Aymard G (2007) Fabaceae. En Duno de Stefano R, Aymard G, Huber O (Eds.) *Flora Vascular de los Llanos de Venezuela*. FUDENA-Fundación Polar-FIBV. Caracas, Venezuela. pp. 479-508.
- Wright S (1978) *Evolution and Genetics of Populations*. Vol. 4. *Variability within and among Natural Populations*. University of Chicago Press. Chicago, IL, EEUU. 590 pp.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ, Ye ZH, Mao JX (1997) *POPGENE, the User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis*. Molecular Biology and Biotechnology Centre. University of Alberta. Canada.
- Young AG, Boyle T, Brown AHD (1996) The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends Ecol. Evol.* 11: 413-418.

PATTERNS OF GENETIC DIVERSITY IN TREE SPECIES OF FRAGMENTED DRY FORESTS IN VENEZUELA

Jafet M. Nassar, Adriana E. García-Rivas and José A. González-Carcacia

SUMMARY

Dry forests are among the most threatened ecosystems in the Neotropics due to the high rates of conversion of natural habitats into agricultural and urban areas. One question that emerges in this regard is whether fragmentation of dry forests generates a loss of plant genetic diversity, especially in trees. The few available studies do not show a clear trend. The goal of the present study was to estimate levels of population genetic diversity and structure of three species of trees associated with fragments of deciduous and semi-deciduous forests in Venezuela, *Samanea saman*, *Guazuma ulmifolia* and *Hura crepitans*, and to test if levels of genetic diversity within populations are related to forest fragment size. Allozymes were used as genetic

markers and sampled populations included fragments of forest of a broad range of areas (120-4500km²). The three species presented considerably high levels of genetic diversity (*S. saman*: $H_{species} = 0.234 \pm 0.198$, $H_{population} = 0.204 \pm 0.047$, *G. ulmifolia*: $H_{species} = 0.296 \pm 0.219$, $H_{population} = 0.274 \pm 0.034$, *H. crepitans*: $H_{species} = 0.292 \pm 0.230$, $H_{population} = 0.257 \pm 0.049$) and low population structure (*S. saman*: $G_{ST} = 0.082$, *G. ulmifolia*: $G_{ST} = 0.059$, *H. crepitans*: $G_{ST} = 0.073$). These results add to the growing list of cases of tropical trees for which, in spite of a patchy distribution of forest fragments, levels of genetic diversity in isolated patches remain similar to those found in populations within continuous extensions of forests.

PADRÕES DE DIVERSIDADE GENÉTICA EM ESPÉCIES ARBÓREAS DE BOSQUES SECOS FRAGMENTADOS NA VENEZUELA

Jafet M. Nassar, Adriana E. García-Rivas e José A. González-Carcacia

RESUMO

Os bosques secos estão entre os ecossistemas mais ameaçados do neotrópico devido à elevada taxa de conversão destes habitats naturais em terras agrícolas e assentamentos humanos. Uma das perguntas que surgem a este respeito é se a fragmentação dos bosques secos leva à perda de variabilidade genética vegetal, especialmente nas formas arbóreas. Os poucos estudos realizados não mostram uma tendência clara neste sentido. O objetivo do presente estudo foi estimar os níveis de variabilidade e estrutura genética de três espécies de árvores associadas a fragmentos de florestas decíduas e semidecíduas na Venezuela, *Samanea saman*, *Guazuma ulmifolia* e *Hura crepitans*, e comprovar se a magnitude da variabilidade genética intrapopulacional nestas espécies responde à dimensão espacial de ditos fragmen-

tos. Empregaram-se aloenzimas como marcadores genéticos e se realizaram amostragens considerando fragmentos com distintas superfícies (120-4500km²). As três espécies apresentaram valores relativamente altos de variabilidade aloenzimática (*S. saman*: $H_{espécie} = 0,234 \pm 0,198$; $H_{população} = 0,204 \pm 0,047$; *G. ulmifolia*: $H_{espécie} = 0,296 \pm 0,219$; $H_{população} = 0,274 \pm 0,034$; *H. crepitans*: $H_{espécie} = 0,292 \pm 0,230$; $H_{população} = 0,257 \pm 0,049$) e baixa estrutura populacional (*S. saman*: $G_{ST} = 0,082$; *G. ulmifolia*: $G_{ST} = 0,059$; *H. crepitans*: $G_{ST} = 0,073$). Estes resultados se somam à lista de casos de espécies arbóreas tropicais que, a pesar de existir em um mosaico de retalhos de florestas isolados entre si, mantêm níveis de variabilidade genética equivalentes aos encontrados em extensões contínuas de floresta.