



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

HIBRIDACIÓN NATURAL ENTRE *Psidium*  
*sartorianum* Y *Psidium socorrense* EN LA ISLA  
SOCORRO, MÉXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A :

ALFREDO LÓPEZ CAAMAL

TUTOR

DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ

2009



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## Hoja de Datos del Jurado

<p>1. Datos del alumno López Caamal Alfredo 53 38 89 97 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 301844888</p>
<p>2. Datos del tutor Dr Efraín Tovar Sánchez</p>
<p>3. Datos del sinodal 1 M en C Jaime Jiménez Ramírez</p>
<p>4. Datos del sinodal 2 Dra Susana Valencia Ávalos</p>
<p>5. Datos del sinodal 3 M en C Patricia Mussali Galante</p>
<p>6. Datos del sinodal 4 M en C Ivette Ruiz Boijseauneau</p>
<p>7. Datos del trabajo escrito Hibridación natural entre <i>Psidium sartorianum</i> y <i>Psidium socorrense</i> en la isla Socorro, México 55 p 2009</p>

*A mis padres, Carlos Fernando y María Elena*

*A mis hermanos, Fernando y David*

*A Verónica*

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Efraín Tovar Sánchez por la oportunidad de integrarme a su grupo de trabajo y por la confianza brindada durante la elaboración de la tesis. Sobre todo, gracias por darme la oportunidad de continuar enriqueciendo mi vida académica.

A los miembros del jurado; M. en C. Jaime Jiménez Ramírez, Dra. Susana Valencia Ávalos, M. en C. Patricia Mussali Galante y M. en C. Ivette Ruiz, cuyos comentarios contribuyeron a mejorar la tesis.

A Elgar Castillo, Guadalupe Rangel y Valentina Carrasco por la ayuda brindada en el laboratorio. A Mauricio Mora y Maribel Paniagua por las colectas en campo y el apoyo brindado durante la elaboración de la tesis.

A mis compañeros y amigos del CEAMISH, UAEM. No los menciono por temor de omitir alguno, pero no cabe duda que ustedes fueron una parte muy importante durante este proceso.

A mis amigos de la Facultad de Ciencias, ya que de una u otra forma ustedes han sido parte de este proceso.

Agradezco profundamente a mi familia por el apoyo incondicional, el cariño y la paciencia que han tenido conmigo. Por estar cerca aunque físicamente no lo estemos. Sin ustedes nada de esto hubiera sido posible, sobre todo les agradezco por ser un ejemplo de vida.

Gracias Verónica por estos años juntos, por el apoyo, la paciencia, por no dejarme caer y por dejarme compartir parte de mi vida contigo. Gracias por ser, mas que nada, una gran amiga y confidente durante estos años, te lo agradezco profundamente.

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
A. HIBRIDACIÓN NATURAL .....	2
<i>a. Frecuencia de hibridación en plantas y animales .....</i>	<i>3</i>
<i>b. Consecuencias evolutivas de la hibridación.....</i>	<i>4</i>
B. BARRERAS REPRODUCTIVAS .....	5
<i>a. Barreras pre-cigóticas.....</i>	<i>5</i>
<i>b. Barreras post-cigóticas .....</i>	<i>6</i>
C. HIBRIDACIÓN INTROGRESIVA .....	7
D. ZONAS HÍBRIDAS.....	8
E. HERRAMIENTAS PARA DETERMINAR HIBRIDACIÓN .....	11
F. FAMILIA MYRTACEAE .....	12
<i>a. Hibridación en Myrtaceae.....</i>	<i>13</i>
<i>i. Hibridación en Psidium .....</i>	<i>15</i>
<b>II. JUSTIFICACIÓN, OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....</b>	<b>17</b>
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
A. SITIO DE ESTUDIO.....	19
B. SISTEMA DE ESTUDIO .....	21
C. DATOS MORFOLÓGICOS .....	22
D. DATOS GENÉTICOS .....	23
E. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS .....	24
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
A. ANÁLISIS MORFOLÓGICOS .....	26
B. ANÁLISIS GENÉTICOS .....	31
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>34</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>44</b>
<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>45</b>
<b>APÉNDICE .....</b>	<b>55</b>

López-Caamal, A. 2009. Hibridación natural entre *Psidium sartorianum* y *P. socorrense* en la Isla Socorro, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

## RESUMEN

El fenómeno de hibridación ha sido considerado como un evento “extenso” en plantas, ya que se estima que más del 50% de las angiospermas pudieron haber sido originadas por este proceso. En las zonas híbridas, la introgresión promueve la incorporación de genes de una especie a otra por la cruce repetida de los híbridos con las especies parentales. Asimismo, la introgresión puede tener las siguientes consecuencias: a) promover el reforzamiento de las barreras reproductivas, b) la extinción de una de las especies participantes, c) un incremento de la diversidad genética intraespecífica, y d) originar genotipos más adecuados. En este estudio, se evaluó el efecto de la hibridación introgresiva entre *Psidium sartorianum* (O. Berg) Niedenzu y *Psidium socorrense* I. M. Johnston en la isla Socorro, México, a través de un gradiente altitudinal (ocho pisos altitudinales separados equidistantemente cada 100 m). *P. socorrense* es una especie endémica, mientras que *P. sartorianum* es una especie invasora con gran abundancia relativa en la isla y registra una amplia distribución geográfica en el continente Americano. En total se evaluaron 17 caracteres morfológicos foliares (en 4,900 hojas) y 19 marcadores diagnósticos moleculares (RAPD's) pertenecientes a 200 plantas individuales. Los análisis morfológicos y moleculares son altamente congruentes y soportan la hipótesis de que los individuos con morfología foliar atípica entre *P. sartorianum* y *P. socorrense* son el resultado del flujo genético entre estas dos especies. En general, se detectó una hibridación introgresiva con un patrón de flujo unidireccional hacia *P. socorrense*. Lo anterior, sugieren que bajo las condiciones actuales, la introgresión está aumentando la diversidad genética de *P. socorrense*. Sin embargo, si los disturbios continúan en incremento (e.g., actividad volcánica, forrajeo bovino, actividades antropogénicas, etc.), se favorecería un aumento en la progenie híbrida, por lo tanto aumentarán los niveles de introgresión facilitando la posibilidad de que exista erosión genética de *P. socorrense*.

**Palabras clave:** Hibridación introgresiva, Isla Socorro, *Psidium*, erosión genética, diversidad genética.

# I. INTRODUCCIÓN

## A. Hibridación natural

Al hablar de hibridación natural, es necesario retomar el concepto de especie, el cual es un tema de debate en la comunidad científica y ha generado una amplia variedad de conceptos. Entre los conceptos más frecuentes podemos citar: a) especie biológica, b) evolutiva, c) paleontológica, d) filogenética, e) morfológica, f) cohesiva, entre otros. Sin embargo, cuando se estudia el fenómeno hibridación natural es necesario partir de un concepto que involucre al flujo génico como principal barrera entre especies, ya que al romperse esta barrera se estará llevando a cabo un evento de hibridación. En este sentido Mayr (1963), define a la especie como grupos de poblaciones naturales que se entrecruzan y las cuales están aisladas reproductivamente de todos los otros grupos semejantes (Concepto Biológico de Especie, CBE). De manera más puntual se define el CBE como grupos de poblaciones que se entrecruzan y que están genéticamente (más que reproductivamente) aisladas de otros grupos semejantes (Rieseberg y Carney, 1998). Por su parte, Arnold (1997) define a la hibridación natural como un fenómeno en el que se lleva a cabo la cruce entre individuos de dos poblaciones o grupos de poblaciones, los cuales pueden distinguirse por uno o más caracteres heredados.

El estudio de la hibridación natural es de gran interés tanto para los ecólogos como para los biólogos evolutivos ya que permite observar los procesos que intervienen en la especiación, en el aislamiento reproductivo y en el flujo génico. Al mismo tiempo, el fenómeno de hibridación es relevante en un contexto taxonómico, ya que puede ocasionar que algunas especies sean consideradas “problemáticas”, debido a que pueden exhibir morfologías atípicas (e.g., intermedia) entre dos especies, haciendo difícil la delimitación taxonómica (Arnold, 1997).

Los caracteres morfológicos han sido utilizados como la primera evidencia de hibridación en muchos estudios (Anderson, 1949; Rieseberg *et al.*, 1989; Landrum *et al.*, 1995; Carney *et al.*, 2000; Stokoe *et al.*, 2001; Randell *et al.*, 2004; Shiga y Kadono, 2007). Sin embargo, otros eventos que no involucran a la hibridación pueden resultar en patrones de morfología intermedia como por ejemplo, una plesiomorfía, una convergencia ecológica o bien una tendencia evolutiva (Rieseberg, 1997). Por lo



anterior, en algunos casos la morfología por sí sola no puede confirmar un evento de hibridación, ya que en ocasiones los híbridos no son morfológicamente intermedios entre las especies parentales (Rieseberg y Ellstrand, 1993; Rieseberg, 1995; Bacilieri *et al.*, 1995; Mayol y Roselló, 2001). Por ejemplo, si la población ancestral presenta fenotipos intermedios respecto a las especies que dio origen (caracteres plesiomórficos), se puede llegar a una interpretación errónea de hibridación (Dobzhansky, 1941). Por otro lado, la plasticidad fenotípica que pueda exhibir una especie a lo largo de un gradiente ambiental puede dar como resultado morfologías intermedias con otra especie relacionada (convergencia ecológica) y llevar a una interpretación errónea de hibridación (Holman *et al.*, 2003). Asimismo, una tendencia evolutiva puede resultar en patrones de morfología intermedia. Por ejemplo, si en cierto linaje de plantas existe una tendencia hacia la reducción de tamaño en las hojas, el taxón que se encuentre en un paso evolutivo intermedio hacia la reducción en el tamaño de las hojas posiblemente exhibirá una morfología intermedia entre dos especies dentro del mismo linaje (Judd *et al.*, 2002).

#### ***a. Frecuencia de hibridación en plantas y animales***

La hibridación ha sido considerada como un fenómeno natural que se presenta con mayor frecuencia en plantas que en animales. En plantas, se ha sugerido que la mayoría de las especies (50 - 70 %) poseen un origen híbrido (Arnold, 1994), debido a la gran cantidad de especies poliploides identificadas (Grant, 1981). En este sentido, Stace (1984) sugiere que existen cerca de 70,000 casos de hibridación en el mundo. Por su parte, Ellstrand *et al.* (1996), calcularon que sólo del 16 al 34% de las familias de plantas en 5 floras estudiadas, tienen al menos un caso de hibridación citado, siendo las más representativas Asteraceae, Cyperaceae, Fagaceae, Poaceae, Ranunculaceae, Rosaceae y Salicaceae. Asimismo, se observó que los grupos en los que se presenta la mayor frecuencia de hibridación tienden a ser perennes, presentar polinización por insectos y tener un propagación clonal (Ellstrand *et al.*, 1996). A pesar de que la hibridación se considera como un fenómeno frecuente en plantas, se debe considerar que ésta tiene una distribución taxonómica heterogénea. Por ejemplo, Stace (1975)

menciona una frecuencia muy alta de hibridación en familias como Pinaceae, Salicaceae y Rosaceae, mientras que familias como Fabaceae y Lamiaceae no tuvieron registros. Lo anterior, puede deberse en parte a que existen familias de plantas que han sido más estudiados que otras (Arnold, 1997).

Históricamente dentro del campo de estudio de la zoología, la hibridación se ha considerado como un evento evolutivo raro (Mayr, 1963). Sin embargo, se ha demostrado que la hibridación ha tenido un papel importante en la generación de nuevos linajes, así como en el incremento de la variabilidad genética de algunas poblaciones animales (Lewontin y Birch, 1966; Dowling y Secor, 1997). Los peces (3 al 17%) y las aves (9%) son taxa animales en los que se ha encontrado una alta frecuencia de hibridación (Arnold, 1992; Grant y Grant, 1992; Hubbs, 1995). Las familias de peces con la mayor frecuencia de hibridación son: Poeciliidae, Cyprinidae, Catostomidae y Centrarchidae (Hubbs, 1995). Por su parte, los órdenes de aves con mayor frecuencia de hibridación son: Anseriformes, Galliformes, Apodiformes, Ciconiiformes y Piciformes (Grant y Grant, 1992).

### ***b. Consecuencias evolutivas de la hibridación***

Comúnmente se han caracterizado a los individuos híbridos como estériles o bien con una menor adecuación que los individuos de las especies parentales (Dobzhansky, 1941). Sin embargo, existen estudios que demuestran que en algunas ocasiones los híbridos son viables y capaces de dejar descendencia fértil, no obstante en la mayoría de los casos la hibridación genera una progenie con menor viabilidad y/o fertilidad que las poblaciones parentales (Grant, 1963). Lo anterior, ha traído como consecuencia que muchos autores no consideren a la hibridación como un proceso evolutivo importante (Mayr, 1963). Esta conclusión ignora la importancia de los eventos raros en la evolución y se contradice con casos en los que la hibridación ha llevado a un proceso de especiación (Arnold y Hodges, 1995).

Actualmente, se considera que la hibridación puede tener las siguientes consecuencias evolutivas: i) incremento de la diversidad genética intraespecífica (Anderson, 1948), ii) el reforzamiento o rompimiento de las barreras reproductivas

entre especies (Ellstrand y Elam, 1993; Levin y Francisco-Ortega, 1996), iii) formar retrocruzas con las especies parentales (introgresión) (Anderson, 1949); y por último, iv) la hibridación puede dar origen a nuevas especies (Stebbins, 1959).

## **B. Barreras reproductivas**

En la naturaleza existen barreras reproductivas (BR) que impiden el flujo génico entre especies cercanamente relacionadas y pueden ser clasificadas en *pre-cigóticas* y *post-cigóticas* (Futuyma, 1998). Las barreras pre-cigóticas previenen la formación de cigotos híbridos (e.g., la fusión de los gametos), mientras que las barreras post-cigóticas reducen la tasa de sobrevivencia de los híbridos así como su capacidad reproductiva.

### **a. Barreras pre-cigóticas**

Dentro de éstas se encuentra el asilamiento *temporal*, *de hábitat*, *etológico*, *mecánico* así como la *incompatibilidad gamética*. A continuación se presentan algunos ejemplos que involucran barreras pre-cigóticas.

Aún cuando dos poblaciones de diferentes especies que potencialmente podrían reproducirse entre sí se encuentran en simpatría, el flujo génico puede verse impedido si existe un aislamiento *temporal* (Futuyma, 1998). Por ejemplo, si una especie de insecto busca pareja durante la noche mientras que otras especies lo hacen a distintas horas del día, el flujo génico se impide entre éstas, ya que la probabilidad de que se encuentren dos individuos de diferentes poblaciones de especies es muy baja (Lloyd, 1996). De la misma forma en plantas, la floración a distintas horas del día representa una barrera importante al flujo génico entre especies relacionadas (Grant, 1981).

Las diferencias en los *hábitats* ocupados por distintas poblaciones de especies reducen la posibilidad de que ocurran cruzas interespecíficas (Futuyma, 1998). En plantas, el aislamiento de hábitat es una BR frecuente e importante al limitar el flujo génico interespecífico, por ejemplo, se ha observado que los disturbios pueden romper las BR y poner en contacto a las especies favoreciendo cruzas interespecíficas (Anderson, 1949).

Por otro lado, en animales, el aislamiento *etológico* es la BR más común e importante que limita el flujo génico entre especies que se encuentran en simpatria. De igual manera, la conducta de los polinizadores representa una barrera a la hibridación en plantas con flor, ya que la oportunidad de que ocurra hibridación natural entre diferentes taxa de plantas se ve limitada si las flores presentan características que atraen a un grupo específico de polinizadores, es decir, que presenten diferentes síndromes de polinización; si los síndromes de polinización difieren entre taxa cercanamente relacionados, éstos pueden actuar como una barrera importante de flujo génico (Grant, 1994).

Asimismo, las estructuras florales pueden funcionar como un aislamiento *mecánico*, ya que el arreglo floral de dos especies de plantas que potencialmente podrían producir híbridos, impiden que ocurra polinización interespecífica (Grant, 1949).

Por último, la *incompatibilidad gamética* limita al flujo génico en especies animales, particularmente en especies con fecundación externa, como son moluscos y equinodermos (Palumbi, 1994). Por otro lado, si en angiospermas el polen de una especie llega al estigma de otra, usualmente el estigma y el estilo de la planta receptora no permitirá el crecimiento del tubo polínico hacia el óvulo, previniendo así el flujo génico interespecífico (Judd *et al.*, 2002).

### ***b. Barreras post-cigóticas***

Aún cuando se llegue a formar un embrión híbrido debido a la ausencia o incipientes BR pre-cigóticas, las barreras post-cigóticas reducen la tasa de sobrevivencia de éstos así como su capacidad reproductiva (Futuyma, 1998). Un embrión resultante de una cruce interespecífica puede mostrar *inviabilidad* y morir en etapas embrionarias tempranas debido a las diferencias genéticas que presenten los genomas de las especies parentales en el embrión. Este es el caso de algunos anfibios, en donde se ha observado que la sobrevivencia de embriones híbridos no rebasa la etapa de gástrula (Moore, 1961). De la misma forma en plantas, los embriones híbridos pueden no desarrollarse en semillas viables debido a diferencias genéticas entre los genomas de

ambas especies parentales o bien, debido a diferencias genéticas entre el embrión híbrido y el endospermo (Judd *et al.*, 2002). En el caso de que dicho embrión alcance a completar su desarrollo, es posible que éste sea menos competitivo que las especies parentales o bien, que no alcance la edad reproductiva (Arnold, 1997; Judd *et al.*, 2002). Sin embargo, en algunos casos el grado de inferioridad híbrida parece ser dependiente del ambiente, ya que se ha observado que existe una alta incidencia de individuos híbridos en ambientes que han sufrido algún tipo de disturbio, es decir, que algunos genotipos híbridos parecen tener una mayor adecuación en este tipo de hábitats que las especies parentales (Anderson, 1949).

Otro tipo de barrera post-cigótica es la *esterilidad híbrida*, en ésta, los híbridos se establecen y crecen de manera normal, sin embargo, presentan cierto grado de esterilidad ya que durante la meiosis no puede llevarse a cabo una recombinación homóloga debido a diferencias estructurales entre los cromosomas de las especies parentales, de manera que los gametos resultantes no son funcionales (Mooring, 2001).

### **C. Hibridación introgresiva**

La hibridación introgresiva puede definirse como la permanente incorporación de genes de una especie a otra, debido a retrocruzas repetidas de los híbridos con las especies parentales (Anderson y Hubricht, 1938; Anderson, 1948). En plantas, se ha observado que el flujo genético interespecífico es una fuerza evolutiva importante ya que la variación proporcionada por la introgresión es mayor de la que aporta la mutación (Anderson, 1949). Por lo anterior, los niveles de variación tendrán un gran incremento dentro de la población híbrida, permitiendo que la selección natural actúe sobre esta variación (Anderson y Stebbins, 1954).

La dinámica de la introgresión puede ser muy variable, ya que depende en gran medida del ambiente y de la estructura genética de las especies participantes. La hibridación introgresiva se considera asimétrica o unidireccional cuando los híbridos forman retrocruzas con individuos de una sola especie parental y simétrica o bidireccional cuando las retrocruzas se llevan a cabo con individuos de ambas especies parentales (Arnold, 1992).

Se ha propuesto que la introgresión puede tener las siguientes consecuencias evolutivas: i) si los individuos híbridos presentan una menor adecuación en relación con las especies parentales, la introgresión favorecerá la selección de cruzas conespecíficas y de esta manera se incrementará el aislamiento reproductivo entre las especies parentales (Barton, 2001), por otro lado ii) puede dar como resultado la generación de genotipos más adecuados que puedan ser capaces de colonizar nuevos hábitats (Stebbins, 1942) y por último, iii) la introgresión puede causar la fusión de las especies participantes debido a la pérdida de las barreras reproductivas entre éstas (Futuyma, 1998).

Si bien se ha propuesto que el flujo génico interespecífico puede dotar a las poblaciones de cierta variación que puede favorecer la colonización de nuevos hábitats (Caraway *et al.*, 2001), la hibridación introgresiva puede causar la extinción por asimilación genética de especies con distribución restringida, en especial de poblaciones restringidas a una isla. En particular, dichas poblaciones pueden verse afectadas si las BR se rompen debido a una modificación del hábitat (Arnold, 1997). En este contexto, Ellstrand (1992) ha descrito ciertas características que hacen a las especies endémicas propensas a la extinción vía hibridación, y son: i) la simpatria con especies cercanamente relacionadas, ii) cierto grado de compatibilidad que permita fertilización entre las dos especies y iii) que la especie no endémica presente al menos el doble de tamaño de población que la especie endémica o que sea más efectiva reproductivamente.

#### **D. Zonas híbridas**

Una zona híbrida ocurre donde dos poblaciones genéticamente distintas se encuentran, se cruzan y producen híbridos viables o parcialmente fértiles (Barton y Hewitt, 1985; Arnold, 1997). Los disturbios favorecen la formación de zonas híbridas, por ejemplo, las actividades humanas o bien, la introducción de especies exóticas en el área de distribución de especies nativas (Levin y Francisco-Ortega, 1996), promoviendo la ruptura de las barreras reproductivas (Rhymer y Simberloff, 1996) y favoreciendo el establecimiento de la progenie híbrida (Levin y Francisco-Ortega, 1996).

Existe gran controversia sobre el origen de las zonas híbridas y se han propuesto dos posibles escenarios sobre ello. El primero considera que las zonas híbridas son el resultado de un contacto secundario entre las poblaciones, las cuales se diferenciaron en alopatría, mientras que el otro escenario propone que las zonas híbridas se originan en respuesta a gradientes ambientales (Endler, 1977).

En las últimas décadas se han generado varios marcos conceptuales que predicen los patrones de variación dentro de las zonas híbridas. En estos modelos se incorporan principalmente factores como la selección natural y/o la dispersión (Arnold, 1997), sin embargo, cada uno de estos factores tendrán mayor o menor importancia dependiendo del modelo que se trate. En general, dichos modelos pueden dividirse en dos categorías, i) los independientes del ambiente y ii) los dependientes del ambiente. Los modelos independientes del ambiente suponen que la selección es en contra de los híbridos y que se da en forma de esterilidad o inviabilidad debida a diferencias en el número y estructura de los cromosomas de las especies parentales (selección endógena) (Barton y Hewitt, 1989). Por otro lado, los modelos dependientes del ambiente establecen que las interacciones entre el genotipo y el ambiente son los principales factores que determinan la arquitectura genética de la población híbrida (selección exógena) (Arnold, 1997). Dentro de la primera categoría se encuentran los siguientes modelos:

- *Zonas de tensión.* Este modelo considera que la selección es en contra de los híbridos, por lo que éstos muestran una menor adecuación en relación a los individuos de las especies parentales (Barton y Hewitt, 1985, 1989). El modelo supone que las zonas híbridas se comportan como clinas que se mantienen debido a un balance entre la dispersión de los individuos de las especies parentales hacia la región de solapamiento y la selección endógena en contra de los híbridos (Barton y Hewitt, 1985).
- *Modelo de reforzamiento.* Considera el reforzamiento como el proceso por el cual las barreras pre-cigóticas en la zona de traslape se accionan o aumentan su

intensidad como respuesta a una selección en contra del fenómeno de hibridación (Howard, 1993).

Dentro de la categoría de modelos dependientes del ambiente se encuentran los siguientes:

- *Modelo de superioridad híbrida.* Este modelo sugiere que los individuos híbridos presentan una mayor adecuación en hábitats distintos a los de las especies parentales (Moore, 1977). Bajo este modelo, las zonas híbridas son muy estrechas y se sugiere que al disminuir los disturbios en un sitio en donde se establecen individuos híbridos se reemplazarán paulatinamente aquellos híbridos por individuos de las especies parentales (Arnold, 1997).
- *Modelo de mosaico.* En este modelo las zonas híbridas están formadas por parches de las poblaciones de especies puras y mezcladas, y se distribuyen a través de la zona de traslape. La distribución de las especies parentales refleja una distribución de hábitats y recursos en forma de parches (Harrison, 1986). En general, los individuos híbridos presentan una menor adecuación en comparación con las especies parentales.

Debido a que los modelos arriba mencionados no logran explicar todos los patrones observados en la naturaleza, se ha propuesto recientemente un nuevo marco conceptual que pretende describir todos los factores que están involucrados en la dinámica de las zonas híbridas. El modelo de *Novedad evolutiva* incorpora factores como: la dificultad para la formación de la  $F_1$ , la selección endógena en contra de genotipos híbridos y la selección exógena actuando a favor o en contra de diferentes genotipos híbridos. Bajo este modelo se explica que el área de distribución de las especies parentales o hábitats distintos al de las especies parentales se pueden ver invadidos por individuos híbridos con mayor adecuación (Arnold, 1997).



## E. Herramientas para determinar hibridación

Las herramientas más utilizadas para determinar hibridación han sido las diferencias en los caracteres morfológicos (Anderson, 1949; Rieseberg *et al.*, 1989; Kleinschmit *et al.*, 1995; Landrum *et al.*, 1995; Bacon y Spellenberg, 1996; Carney *et al.*, 2000; Runyeon-Lager y Prentice, 2000; Stokoe *et al.*, 2001; Randell *et al.*, 2004; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004; Shiga y Kadono, 2007). Sin embargo, debido a que fenotipos intermedios pueden originarse por otras vías además de la hibridación (Rieseberg, 1997), se han implementado otras herramientas como caracteres anatómicos (Hillson, 1963; Webb y Carlquist, 1964; Stuessy, 1990), etológicos (Bull, 1979; Gollman, 1984; Butlin y Hewitt, 1985), cromosómicos (Hunt y Selander, 1973; Marchant *et al.*, 1988; Sites *et al.*, 1995), citológicos (Hunt y Selander, 1973; Moran *et al.*, 1980), químicos (Zobel, 1951; Smith y Levin, 1963; Levin, 1966; Dodd *et al.*, 1993; Byrd *et al.*, 1999; Staudt *et al.*, 2004) y palinológicos (Hauser y Morrison, 1964; Graham y Tomb, 1974; Skvarla *et al.*, 1988) con el fin de robustecer el análisis. A pesar de que algunas de estas técnicas han mostrado ser útiles en la detección de hibridación, algunas de ellas resultan costosas y es necesario invertir mucho tiempo para obtener resultados.

En las últimas décadas, se han desarrollado una gran cantidad de técnicas moleculares que se basan en la detección de polimorfismos en proteínas y ADN. Estas técnicas son útiles para resolver problemas en genética de poblaciones, hibridación introgresiva, así como en la identificación de relaciones filogenéticas (Otero *et al.*, 1997). Entre las técnicas moleculares utilizadas para determinar hibridación se encuentran: isoenzimas (Gottlieb, 1984; Woodruff, 1989; Ellena-Rosello *et al.*, 1992; Hokanson *et al.*, 1993; Barbour *et al.*, 2002), microsátélites (Roy *et al.*, 1994; Stokoe *et al.*, 2001; Craft *et al.*, 2002; Estorninos *et al.*, 2002, Tovar-Sánchez *et al.*, 2008), RFLP's (Debener, *et al.*, 1991; Karl y Avise, 1992; Abe *et al.*, 1999; Belahbib *et al.*, 2001) y RAPD's (Arnold *et al.*, 1991; Rieseberg y Ellstrand, 1993; Rieseberg y Gerber, 1995; Dawson *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1996; Daehler y Strong, 1997; Hardig *et al.*, 2000; Mayer *et al.*, 2000; Caraway *et al.*, 2001; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004). El éxito que han tenido los marcadores moleculares en los últimos años se debe a que expresan las características genotípicas de los organismos, a que se pueden obtener un gran número de marcadores independientes y a que una proporción muy elevada son alelos

neutros, es decir, que no están sujetos a selección natural (Rieseberg y Ellstrand, 1993).

Sin embargo, se ha observado que el reconocimiento de hibridación ha tenido más éxito cuando se usa una combinación de las herramientas antes mencionadas (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004).

## F. Familia Myrtaceae

La familia Myrtaceae incluye a plantas arbustivas o arbóreas. Se considera como una familia bien delimitada taxonómicamente que posee alrededor de 3,000 especies contenidas en 140 géneros, con una distribución sureña en regiones tropicales y subtropicales (Wilson *et al.*, 2001). Los caracteres más importantes que delimitan a esta familia son la presencia de hojas opuestas, aromáticas, pelúcido-punteadas, la presencia de una corteza lisa que se exfolia en láminas delgadas; el número de lóbulos del cáliz y las yemas florales (Sánchez-Vindas, 1990). Dentro de Myrtaceae existen dos subfamilias que reflejan los dos grandes centros de dispersión geográfica de la familia. La subfamilia Leptospermoideae se distribuye en su mayoría en Australia y Polinesia, mientras que la subfamilia Myrtoideae se distribuye principalmente en las regiones tropicales, subtropicales y templadas de América (Sánchez-Vindas, 1990). El género más representativo de la subfamilia Leptospermoideae es *Eucalyptus*, cuya importancia económica radica en la madera que es extraída de un gran número de especies de este género, además sus hojas son ampliamente utilizadas en la industria farmacéutica (Sánchez-Vindas, 1990). Por otro lado, dentro de las Myrtoideae la familia está representada por géneros como *Eugenia*, *Psidium*, *Myrciaria* y *Calypttranthes*, los cuales son cultivados debido a su fruto comestible (McVaugh, 1968; Landrum *et al.*, 1995). Las especies del género *Psidium*, particularmente *P. guajava*, *P. sartorianum* y *P. friedrichsthalianum* tienen una gran variedad de usos. Debido a que su madera es compacta, se utiliza en la fabricación de herramientas agrícolas y juguetes (Pennington y Sarukhán, 2005). Asimismo, en Asia *P. guajava* se utiliza en la tinción de seda y algodón; utilizada como leña, posee un valor calórico muy alto (18, 556 KJ/K) ubicando a la especie como excelente fuente energética; el fruto se consume fresco o en

conservas, jugos o vinos; gracias a su alto contenido de taninos de *Psidium* spp. se utilizan para curtir pieles y por último, también son utilizadas como insecticida y con fines medicinales (Sánchez-Vindas, 1990).

#### ***a. Hibridación en Myrtaceae***

En esta familia existen numerosos casos de hibridación en el género *Eucalyptus*, el cual es bien conocido por sus débiles barreras reproductivas (Potts y Wiltshire, 1997), los reportes de hibridación tanto natural como inducida son frecuentes. Por ejemplo, Griffin *et al.* (1988) hicieron una revisión sobre hibridación en *Eucalyptus* y encontraron que 55% de las 528 especies estudiadas eran capaces de originar híbridos con al menos otra especie. Por otro lado, los casos de hibridación son escasos en otros géneros, y la mayoría de los trabajos que hablan de hibridación son simples especulaciones para las cuales no existe evidencia experimental. En el Cuadro 1 se muestran las citas de hibridación en Myrtaceae.

Cuadro 1. Estudios sobre hibridación natural en la familia Myrtaceae utilizando diversas herramientas.

Género	Autor	Híbrido	Parentales	Carácter empleado
CALYTRIX	Craven, 1980	<i>C. achaeta</i> × <i>C. exstipulata</i>	<i>C. achaeta</i> y <i>C. exstipulata</i>	Morfológico
DARWINIA	Briggs, 1964	<i>D. fascicularis</i> × <i>D. grandiflora</i>	<i>D. fascicularis</i> y <i>D. grandiflora</i>	Morfológico
		<i>D. fascicularis</i> × <i>D. glaucophylla</i>	<i>D. fascicularis</i> y <i>D. glaucophylla</i>	Morfológico
		<i>D. fascicularis</i> × <i>D. procera</i>	<i>D. fascicularis</i> y <i>D. procera</i>	Morfológico
		<i>D. fascicularis</i> × <i>D. diminuta</i>	<i>D. fascicularis</i> y <i>D. diminuta</i>	Morfológico
EUCALYPTUS	Prior y Johnson, 1962	<i>E. "rivalis"</i>	<i>E. marginata</i> y <i>E. megacarpa</i>	Morfológico
		<i>E. kalganensis</i>	<i>E. marginata</i> y <i>E. preissiana</i>	Morfológico
		<i>E. chrysanta</i>	<i>E. preissiana</i> y <i>E. sepulcrales</i>	Morfológico
	Hopper <i>et al.</i> , 1978	<i>E. preissiona</i> × <i>E. buprestium</i>	<i>E. preissiona</i> y <i>E. buprestium</i>	Morfológico foliar, floral y frutal
	Drake, 1980	<i>E. melanophloia</i> × <i>E. creba</i>	<i>E. melanophloia</i> y <i>E. creba</i>	Morfológico foliar y frutal
		<i>E. populnea</i> × <i>E. creba</i>	<i>E. populnea</i> y <i>E. creba</i>	Morfológico foliar y frutal
	Potts y Reid, 1983	<i>E. obliqua</i> × <i>E. pulchella</i>	<i>E. obliqua</i> y <i>E. pulchella</i>	Morfológico foliar y frutal
	Potts y Reid, 1985	<i>E. amigdalina</i> × <i>E. risdonii</i>	<i>E. amigdalina</i> y <i>E. risdonii</i>	Morfológico foliar y frutal
Wiltshire y Reid, 1987	<i>E. perriniana</i> × <i>E. rodwayi</i>	<i>E. perriniana</i> y <i>E. rodwayi</i>	Morfológico foliar, floral y frutal	
Grayling y Brooker, 1996	<i>E. "brachyphylla"</i>	<i>E. loxophleba</i> y <i>E. kruseana</i>	Morfológicos foliar y químico	

	Rosetto <i>et al.</i> , 1997	<i>E. graniticola</i>	<i>E. rudis</i> y <i>E. drummondii</i>	RAPDs
	Campinhos <i>et al.</i> , 1998	<i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	<i>E. grandis</i> y <i>E. urophylla</i>	Aloenzimas
	Lopez <i>et al.</i> , 2000	<i>E. ovata</i> x <i>E. globuls</i>	<i>E. ovata</i> y <i>E. globuls</i>	Fenología, adecuación
	Stokoe <i>et al.</i> , 2001	<i>E. acmenoides</i> x <i>E. cloeziana</i>	<i>E. acmenoides</i> y <i>E. cloeziana</i>	Morfológico frutal y moleculares (cpDNA)
	Barbour <i>et al.</i> , 2002	<i>E. nitens</i> x <i>E. ovata</i>	<i>E. nitens</i> y <i>E. ovata</i>	Morfológico y molecular (isoenzimas)
KUNZEA / LEPTOSPERMUM	Harris <i>et al.</i> , 1992	<i>K. sinclairii</i> x <i>L. scoparium</i>	<i>K. sinclairii</i> y <i>L. scoparium</i>	Morfológico (polen), composición de aceites esenciales y fenología
PSIDIUM	Landrum <i>et al.</i> , 1995	<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	<i>P. guajava</i> y <i>P. guineense</i>	Morfológico foliar, floral y químico

### ***i. Hibridación en Psidium***

El género *Psidium* posee alrededor de 30 especies y es endémico del continente Americano (Sánchez-Vindas, 1990). Algunas especies han sido cultivadas extensamente, como por ejemplo *P. guajava*, *P. cattleianum* y *P. guineense* llegando a convertirse en plaga en algunos lugares, como es el caso de *P. cattleianum* en Hawaii (Huenneke y Vitousek, 1990; Uwolo y Denslow, 2008) y de *P. guajava* en las islas Galápagos y en las islas Canarias (Mauchamp, 1997, Sanz-Elorza *et al.*, 2005)

Dentro del género *Psidium*, se han registrado escasos estudios sobre hibridación natural. El único trabajo sobre hibridación en el género es el de Landrum *et al.* (1995), en donde se determina morfológicamente hibridación entre *P. guajava* y *P. guineense*. Sin embargo, se ha propuesto que algunas formas problemáticas desde el punto de vista taxonómico y algunas llamadas “especies” son el resultado de eventos de hibridación (McVaugh, 1963, 1968). Sin embargo, ninguna de estas especulaciones ha sido confirmada experimentalmente. En todos los casos *P. guineense* ha sido propuesta

como una de las especies parentales, siendo *P. salutare* y *P. guajava* otras de las especies participantes. La baja frecuencia de hibridación citada en el género puede deberse en parte a la poca atención que se le ha dado al grupo en este contexto.

## II. JUSTIFICACIÓN, OBJETIVOS E HIPÓTESIS

A pesar de la alta riqueza específica que presenta la familia Myrtaceae, del frecuente fenómeno de hibridación registrado, de su amplia distribución geográfica, así como de una alta dispersión que ha permitido que especies del continente como *Psidium sartorianum* invada la Isla Socorro, la cual, contiene un 32% de especies de plantas endémicas. Se han realizado pocos estudios que involucren a una especie endémica asociada a una isla y los posibles consecuencias que la hibridación pueda presentar en un contexto taxonómico y de conservación, por lo que en este estudio se planteó el siguiente objetivo general:

- Evaluar la posible existencia de hibridación entre *Psidium sartorianum* y *Psidium socorrense* empleando caracteres morfológico foliares y moleculares (RAPD's). Asimismo, determinar los niveles de hibridación introgresiva a través de un gradiente altitudinal en la Isla Socorro, México.

Se pretende contestar los siguientes objetivos particulares:

- Determinar si los individuos con morfología intermedia son el resultado del flujo genético entre *P. sartorianum* y *P. socorrense*.
- Evaluar los niveles de hibridación entre *P. sartorianum* y *P. socorrense* en un gradiente altitudinal mediante el uso de caracteres morfológicos foliares y moleculares (RAPD's).
- Determinar la dinámica de la hibridación introgresiva en el complejo *P. sartorianum* × *P. socorrense*.

Asimismo, se pretende contestar las siguientes hipótesis:

- Si los disturbios favorecen el rompimiento de Barreras Reproductivas facilitando el flujo genético entre especies cercanas, entonces, se espera que en los sitios afectados por la población de borregos y actividades humanas en la Isla Socorro, faciliten la simpatria entre *P. sartorianum* y *P. socorrense* favoreciendo la hibridación entre estas especies.
- Dado que *P. sartorianum* presenta una mayor distribución geográfica y abundancia relativa que *P. socorrense* en la Isla Socorro, se espera que *P. sartorianum* presente un mayor éxito reproductivo y por lo tanto que exista una introgresión unidireccional hacia *P. socorrense*.



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

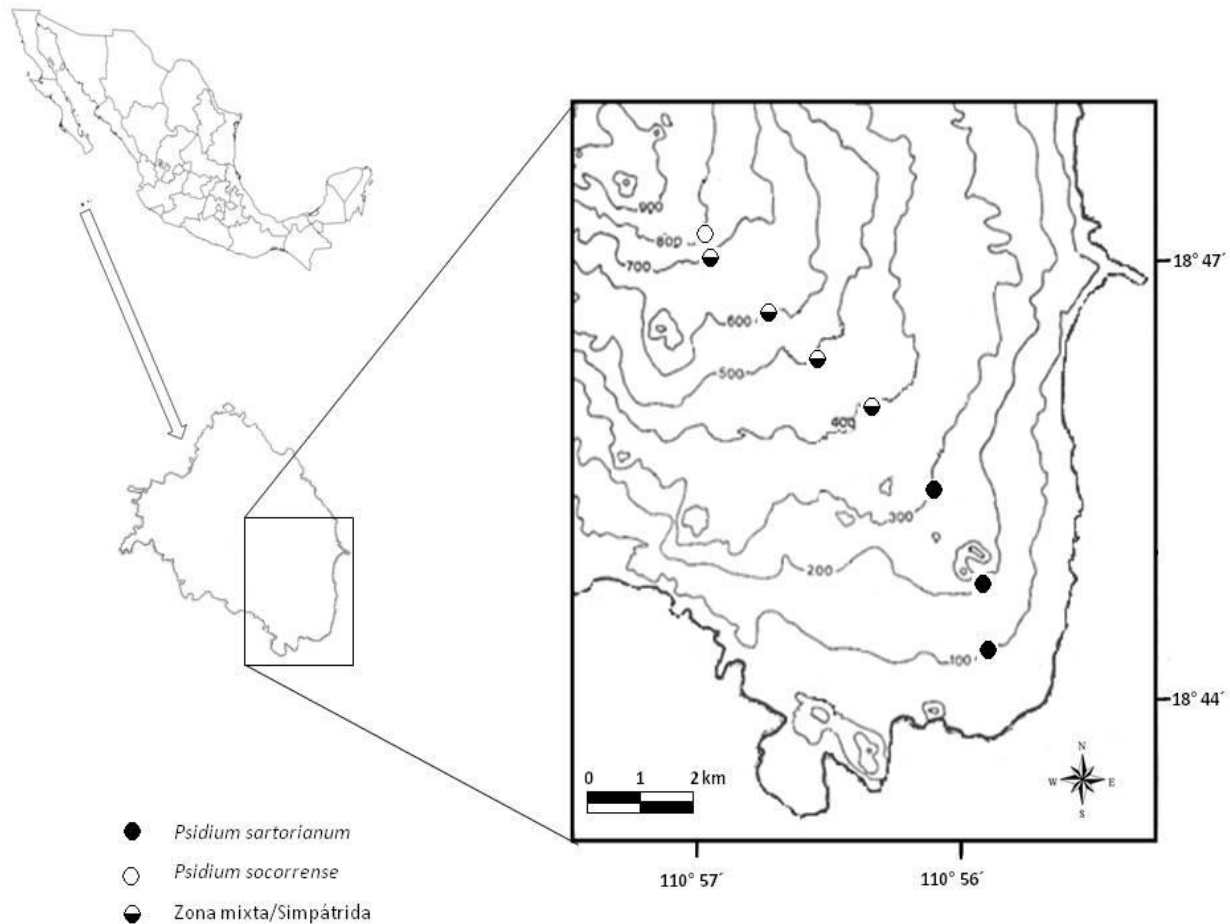
#### A. Sitio de estudio

El archipiélago de Revillagigedo comprende un grupo de cuatro islas volcánicas, que en orden de tamaño está integrado de la forma siguiente: isla Socorro > Clarión > San Benedicto > Roca Partida. Las islas se sitúan aproximadamente entre los 18° 20' y 19° 20' N y 110° 48' W, localizándose a 659.69 km de la costa del estado de Colima y aproximadamente a 386.16 km al sur de Cabo San Lucas, Baja California (Hanna, 1927).

La isla Socorro es la más grande de las islas del archipiélago de Revillagigedo, tiene un extensión de 210 km<sup>2</sup> y se localiza a los 18° 41' N y 110° 56' W, a 480 km al sur de la Península de Baja California y a 716 km al Oeste de Colima (Adem *et al.*, 1960) (Fig. 1). La isla constituye una zona montañosa en la que la elevación máxima está dada por el volcán Evermann, el cual alcanza los 1,150 m s.n.m. De las cuatro islas que conforman al archipiélago, la isla Socorro es la más importante desde el punto de vista biótico, ya que aproximadamente el 32% de las especies vegetales nativas son endémicas (Levin y Morán, 1989); asimismo, todos los vertebrados terrestres nativos son endémicos a nivel de género, especie o subespecie y se calcula que 14 de 16 especies de aves terrestres lo son a nivel de género, especie o subespecie (Brattstrom, 1990).

La isla Socorro presenta un clima cálido semiseco o árido hasta los 500 m s.n.m. en donde predomina el matorral de *Croton masonii* I. M. Johnston y *Psidium sartorianum* (O. Berg) Niedenzu; un clima semicálido subhúmedo en un intervalo altitudinal entre 500 y 800 m, donde se presenta una selva de *Bumelia socorrensis* Brandegees y *Psidium socorrense* I. M. Johnston, y finalmente un clima templado subhúmedo por arriba de los 900 m s.n.m. donde predomina la pradera (Miranda, 1960). Datos mensuales de humedad relativa muestran valores por arriba del 73%, con los registros más altos en julio, agosto y septiembre (80%), las variaciones en los niveles de humedad relativa están dadas por la topografía de la isla, de tal forma que

después de los 700 m de altitud, se presentan elementos arbóreos y se registra una mayor humedad (Coria, 1994). Los vientos dominantes durante todo el año son en



**Figura 1.** Mapa de las poblaciones muestreadas del complejo *Psidium sartorianum* x *Psidium socorrense* en la Isla Socorro, México.

dirección noroeste, con velocidades mensuales de 35 km/h, ya que la isla está situada en la trayectoria de los grandes ciclones tropicales, los cuales se presentan en los meses de junio a octubre (Hobgood, 2003).

El suelo de la isla Socorro consiste en su mayor parte de lava basáltica, cenizas y productos derivados de su desintegración. Los suelos de piedra pómez son pobres en vegetación y solo existe si hay abundante humedad, por otro lado, las tobas propician

el crecimiento de la flora arbustiva de matorral con árboles de forma aislada (Medina, 1957).

En la isla existen un gran número de disturbios naturales así como disturbios causados por actividades humanas. Por ejemplo, el ganado que fue introducido entre 1869 y 1887 ha causado una severa erosión en pendientes a una altitud de alrededor de 300 a 450 m. A alturas mayores (700 m s.n.m.) el ganado ha causado un severo deterioro en la cubierta vegetal original evitando el establecimiento de árboles jóvenes (Levin y Morán, 1989). Además, Miranda (1960) sugiere que los extensos pastizales en la isla pudieron haber sido ocasionados por el forrajeo del ganado. Por otro lado, el establecimiento de la base naval en 1957 (Richards y Brattstrom, 1959) trajo consigo la introducción de especies exóticas y otros disturbios. Se cree que la introducción de gatos ha causado la extinción de una especie de ave endémica (*Zenaida graysoni*) y que ha puesto en riesgo a por lo menos otra (*Mimodes graysoni*) (Jehl y Parkes, 1983). La construcción de carreteras ha sido un disturbio en la parte sur de la isla, además de que el tráfico con el continente ha aumentado considerablemente. En 1988, el número de especies naturalizadas era de al menos 47 (Levin y Morán, 1989), muchas de estas especies se encuentran en los sitios alterados.

## B. Sistema de estudio

Para este estudio se eligieron dos especies de la familia Myrtaceae: *Psidium sartorianum* (O. Berg) Niedenzu y *Psidium socorrense* I. M. Johnston.

*Psidium sartorianum* es una especie continental. En México presenta una amplia distribución geográfica, encontrándose en la vertiente del golfo desde el Norte de Veracruz, en la depresión central y sur de Tabasco, en el norte de la península de Yucatán; en la vertiente del pacífico se encuentra desde Baja California Sur hasta Chiapas. Fuera de México *P. sartorianum* se distribuye en Centroamérica y en las Antillas hasta el norte de Colombia y Venezuela. Asimismo, abarca diversos tipos de vegetación como selvas bajas caducifolias, selvas medianas subperennifolias y matorrales espinosos, entre los 10 y 1,500 m s.n.m (Pennington y Sarukhán, 2005).

*Psidium sartorianum* es un arbusto de 2 a 6 m de altura, presenta hojas ovado-lanceoladas glabras por ambos lados y copiosamente glandular-punteadas, el largo de la hoja es de 2 a 6 cm, mientras que el ancho es de 0.8 a 0.3 cm. Se cree que *P. sartorianum* llegó a la Isla Socorro por medio de una dispersión por aves (Levin y Morán, 1989).

*Psidium socorrense* es una especie endémica a la isla presentándose únicamente en las zonas templadas de la isla Socorro por encima de los 500 m s.n.m. *P. socorrense* es un arbusto de hasta 1.2 m de altura, presenta hojas ovado-oblongas y algunas glándulas en ambas superficies; el largo de la hoja es de 4 a 5.5 cm y un ancho de 1.5 a 3 cm (Johnston, 1931).

La delimitación taxonómica de estas especies en la Isla Socorro ha sido difícil, debido a que existen especímenes que no han podido ser clasificados dentro de alguna de las dos especies, ya que comparten características que supuestamente separan a ambas especies (ver Levin y Morán, 1989). Estas observaciones han llevado a pensar a algunos autores (e.g., Miranda, 1960) que existe una sola especie de *Psidium* en la isla, sin embargo, es importante mencionar que dichas colectas provienen de elevaciones de entre los 450 y 500 m s.n.m., es decir en el área mixta/simpátrida entre las dos especies sugiriendo que la variación observada puede ser explicada en parte por el fenómeno de hibridación.

### **C. Datos morfológicos**

Para llevar a cabo los análisis morfológicos foliares se midieron un total de 17 caracteres (Cuadro 2). La colecta del material botánico se llevó a cabo en la ladera sur de la isla mediante un muestreo sistemático a lo largo de ocho pisos altitudinales separados 100 m entre sí. En cada piso altitudinal se eligieron al azar 25 individuos y de cada uno de ellos, se eligieron al azar 30 hojas maduras y sin daño mecánico aparente.

**Cuadro 2.** Lista de caracteres morfológicos foliares

Carácter	Unidad	Descripción
LT	mm	Longitud total
LL	mm	Longitud de lámina
LP	mm	Longitud del peciolo
AM	mm	Ancho mayor
LBAM	mm	Longitud de la base al ancho mayor
DP	mm	Diámetro del peciolo
DVM	mm	Diámetro de la vena media
DV	mm	Distancia entre venas
A <sup>1</sup> / <sub>3</sub> B	mm	Ancho a <sup>1</sup> / <sub>3</sub> basal
A <sup>1</sup> / <sub>3</sub> A	mm	Ancho a <sup>1</sup> / <sub>3</sub> apical
NV	#	Número de venas
AV	grados	Ángulo de vena
Combinación de caracteres		
P%	---	Longitud del peciolo × 100/longitud total
LBAM%	---	Longitud de la base al ancho mayor × 100/longitud total
LL/AM	---	Longitud de la lámina/Ancho mayor
LBAM/AM	---	Longitud de la base al ancho mayor/ancho mayor
COB	mm <sup>2</sup>	Cobertura

#### D. Datos genéticos

Para llevar a cabo los análisis genético, se colectaron hojas jóvenes y sin daño aparente de los mismos individuos utilizados para el análisis morfológico. Las hojas se conservaron en nitrógeno líquido y fueron transportadas al laboratorio de Genética Molecular del Centro de Educación Ambiental e Investigación Sierra de Huautla, UAEM. Posteriormente, se realizó una extracción de DNA total utilizando el kit DNeasy Plant Minikit (Qiagen, Valencia, California, EUA) y se llevó a cabo el análisis genético utilizando la técnica RAPD-PCR. Para esto, se probaron primers de secuencias al azar de 10 pb de longitud (Operon Technologies, Alameda, California, EUA) de la serie A, B, C, D, y E con el fin de encontrar marcadores diagnósticos o específicos para cada una de las especies parentales. Un marcador diagnóstico es aquel que se encuentra en

todos los individuos de una especie y que no se encuentra en ningún individuo de la otra especie, mientras que un marcador especie-específico es aquel que es único para una de las especies pero que no necesariamente se encuentra en todos los individuos de esta especie. Los fragmentos fueron separados mediante una electroforesis en agarosa al 1.5%, los productos de PCR fueron revelados con bromuro de etidio bajo una lámpara de UV. La masa molecular de los productos de PCR fue estimada utilizando un marcador de 1 kilo base (kb).

### E. Análisis estadísticos

Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANDeVA) para determinar el efecto de la especie sobre la variabilidad en la morfología foliar de los 17 caracteres medidos. Los datos porcentuales fueron transformados como  $X = \arcsin (\%)^{1/2}$  y los datos continuos fueron transformados como  $X = (x)^{1/2} + 0.5$ . Para este análisis se incluyeron únicamente las zonas alopátridas de cada una de las especies. Para *Psidium sartorianum* se consideró la zona alopátrida aquellos individuos entre los 100 y los 300 m s.n.m., mientras que para *P. socorrense* se consideró como la zona alopátrida a los individuos colectados de los 700 a los 800 m s.n.m.

Por otro lado, para determinar el número de caracteres intermedios en la zona de contacto putativa se realizó el procedimiento de conteo de caracteres (Wilson, 1992, con algunas modificaciones) para cada uno de los pisos altitudinales de la zona de contacto putativa (400, 500, 600 y 700 m s.n.m.). Si al llevar a cabo el análisis un carácter de la zona de contacto difería significativamente con algún carácter de las especies parentales, el carácter era registrado como transgresivo positivo cuando excedía positivamente el valor de las especies parentales, transgresivo negativo cuando lo excedía negativamente, intermedio o tipo-sartorianum o tipo-socorrense cuando no difería significativamente de algún parental.

El índice de hibridación de Anderson (Anderson, 1949) fue utilizado para identificar a los individuos intermedios y a las posibles retrocruzas a lo largo del gradiente altitudinal. El índice de hibridación se calculó utilizando todos los caracteres morfológicos. A los caracteres representativos de *P. sartorianum* se les asignó un valor

de 2 y a los caracteres de *P. socorrense* se les asignó un valor de 0, mientras que a los caracteres intermedios se les asignó un valor de 1. Los análisis se muestran mediante un histograma de frecuencias.

Para analizar los datos obtenidos de los RAPD's, se utilizó el índice de hibridación de máxima verosimilitud empleando el programa Hardig-Hybrid (Hardig *et al.*, 2000). Este índice es útil para identificar a los individuos intermedios, a retrocruzas así como a la estructura genética de la zona híbrida. Los resultados se mostraron mediante un histograma de frecuencias.

Con el fin de conocer si existe un efecto de la altitud sobre la morfología foliar de *P. sartorianum* se realizó una regresión de los 17 caracteres medidos en este estudio en la cual se incluyeron a todos los individuos reconocidos como *P. sartorianum* por el índice de hibridación morfológico arriba mencionado.

Finalmente, se realizó un análisis discriminante para cada uno de los pisos altitudinales en donde se encontraron híbridos y/o retrocruzas mediante el índice de hibridación. Este análisis se realizó con el fin de encontrar el carácter más útil para la discriminación taxonómica entre *P. sartorianum* y *P. socorrense*. Asimismo, el análisis discriminante puede revelar la manera en la que los caracteres morfológico foliares separan a los individuos en grupos. La variación en cuanto a tamaño y forma debida solo a la forma se cuantificó usando las sumas de los eigen valores obtenidos en el análisis discriminante (Darroch y Mosimann, 1985). El programa STATISTICA 6.0 para Windows fue utilizado para todos los análisis estadísticos (Statsoft, 1998).

## IV. RESULTADOS

### A. Análisis morfológicos

Los 17 caracteres morfológicos foliares fueron medidos en un total de 4,922 hojas pertenecientes a 200 individuos de las zonas alopátricas de *Psidium sartorianum* y *P. socorrense* y a los individuos de las zonas mixtas/simpátricas. Los resultados obtenidos con el análisis de varianza muestran que el 100% de los caracteres morfológico foliares medidos difieren significativamente entre *Psidium sartorianum* y *P. socorrense* (Cuadro 3).

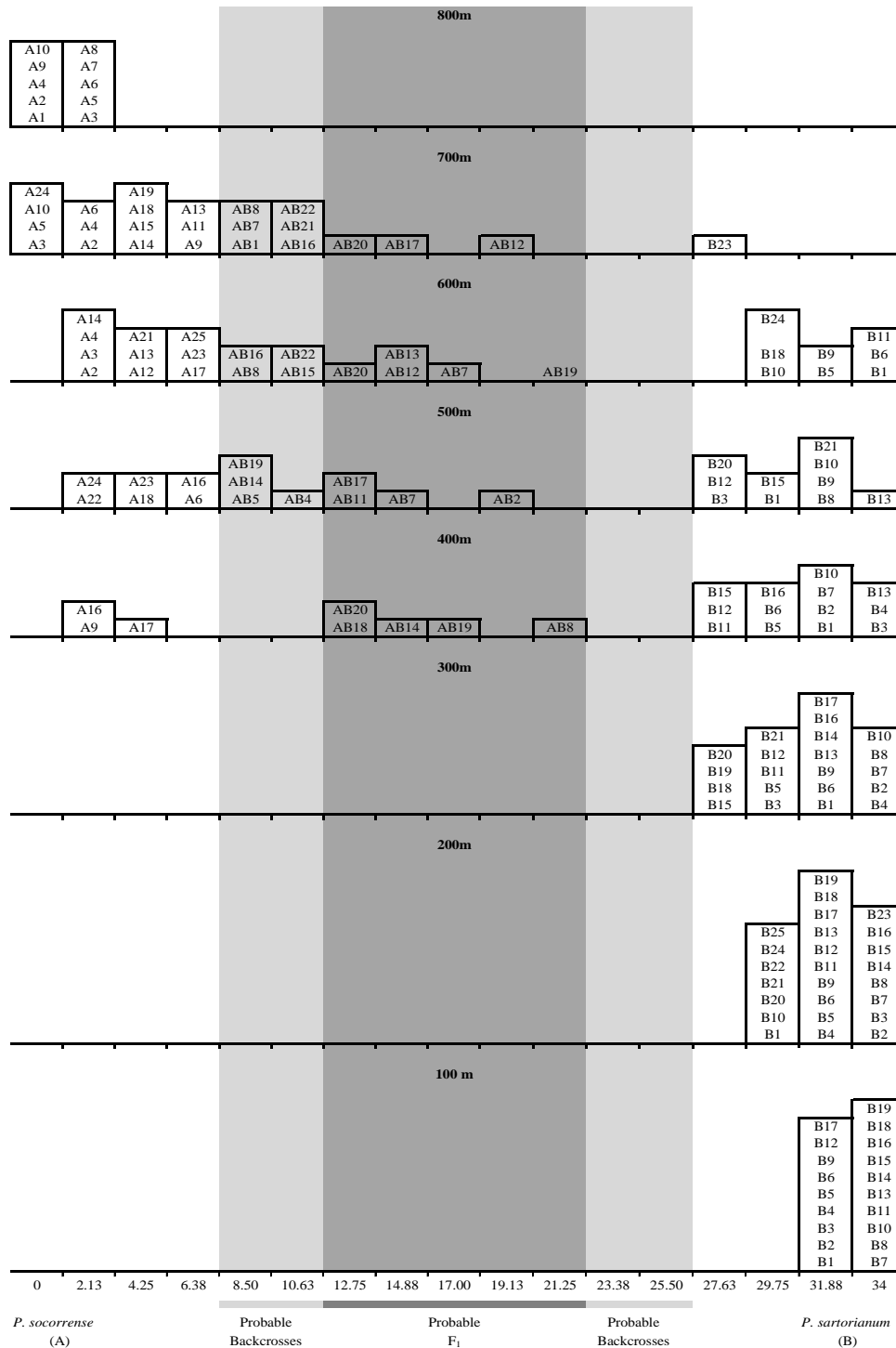
**Cuadro 3.** Promedio  $\pm$  el error estándar y los resultados de ANOVA para todos los caracteres de *Psidium sartorianum* y *P. socorrense*. Diferencias significativas a  $P < 0.001 = ***$ ,  $P < 0.01 = **$  y  $P < 0.05 = *$ .

Caracter	<i>P. sartorianum</i>	<i>P. socorrense</i>	Especie (g.l.=1, 2875)
Caracteres macromorfológicos			
LT	36.14 $\pm$ 0.22	42.74 $\pm$ 0.26	356.74 ***
LL	33.03 $\pm$ 0.20	38.95 $\pm$ 0.25	324.66 ***
LP	3.11 $\pm$ 0.02	3.79 $\pm$ 0.03	401.97 ***
AM	16.09 $\pm$ 0.10	20.81 $\pm$ 0.13	884.72 ***
LBAM	13.86 $\pm$ 0.12	16.13 $\pm$ 0.10	174.52 ***
DP	0.82 $\pm$ 0.01	0.86 $\pm$ 0.01	27.70 ***
DVM	0.42 $\pm$ 0.01	0.45 $\pm$ 0.01	68.30 ***
NV	5.38 $\pm$ 0.02	6.04 $\pm$ 0.04	193.62 ***
AV	38.08 $\pm$ 0.07	36.58 $\pm$ 0.18	83.02 ***
DV	5.08 $\pm$ 0.03	4.87 $\pm$ 0.03	22.66 ***
A $\frac{1}{2}$ A	15.15 $\pm$ 0.09	19.37 $\pm$ 0.12	839.62 ***
A $\frac{1}{2}$ B	12.73 $\pm$ 0.10	15.39 $\pm$ 0.10	294.18 ***
Combinación de caracteres			
P%	8.74 $\pm$ 0.04	8.99 $\pm$ 0.07	8.06 **
LBAM%	37.69 $\pm$ 0.14	38.15 $\pm$ 0.20	4.07 *
LL/AM	2.07 $\pm$ 0.01	1.89 $\pm$ 0.01	263.42 ***
LBAM/AM	0.86 $\pm$ 0.01	0.78 $\pm$ 0.01	93.99 ***
COB	567.92 $\pm$ 6.61	824.92 $\pm$ 9.77	503.23 ***



Por otro lado, mediante el conteo de caracteres se encontró que la zona muestreada a los 400 y a los 700 m s.n.m. fueron las que registraron el mayor número de caracteres intermedios (10 de 17 y 9 de 17 respectivamente), mientras que los pisos altitudinales a los 500 y 600 m registraron la menor cantidad de caracteres intermedios (3 de 17) (Apéndice 1). Asimismo, los análisis de regresión lineal mostraron que no existe un efecto del gradiente altitudinal sobre la morfología foliar de los 17 caracteres medidos.

Para establecer los posibles híbridos  $F_1$  y sus retrocruzas, se empleó el índice de hibridación de Anderson utilizando los 17 caracteres morfológicos foliares. El índice reveló que los individuos muestreados en los primeros tres pisos altitudinales (de 100 a 300 m) corresponden a *P. sartorianum*, sin embargo, a los 400 m s.n.m. se muestran posibles híbridos  $F_1$ , así como individuos que morfológicamente corresponden a *P. socorrense*. A elevaciones mayores (500 a 700 m s.n.m.) el índice mostró que existen individuos que morfológicamente corresponden a *P. sartorianum* y a *P. socorrense* así como híbridos  $F_1$  y retrocruzas unidireccionales hacia *P. socorrense* (Figura 2).



**Figura 2.** Distribución de frecuencia de individuos vs. índice de hibridación de Anderson derivado de 17 caracteres morfológicos foliares a lo largo del gradiente altitudinal en la Isla Socorro, México. El número de cada planta evaluada está representado. Se muestran los resultados de cluster de los parentales puros y zonas mixtas/simpátridas (índice = 0 o 34), un cluster de probables híbridos  $F_1$  (índice = 12.75-21.25), probables retrocruzas hacia *P. socorrrense* (índice = 8.50-10.63) y probables retrocruzas hacia *P. sartorianum* (índice = 23.38-25.5).

Por otro lado, el análisis de función discriminante mostró que cuando se emplean las poblaciones alopátridas utilizando morfología foliar se aglutinan los caracteres de acuerdo a su identidad taxonómica (en *P. sartorianum* y *P. socorrense*), corroborando que los individuos muestreados en la Isla Socorro, pertenecen a dos especies. Asimismo, en el piso altitudinal de 400 m se presenta un patrón de morfología intermedia entre las dos especies parentales. En los dos subsecuentes pisos altitudinales (500 y 600 m) los individuos muestreados tienen una mayor semejanza morfológica foliar con *P. socorrense*. Por último, a los 700 m s.n.m. los individuos de la zona de contacto forman un grupo bien delimitado, compartiendo características morfológicas con ambas especies parentales (Figura 3).

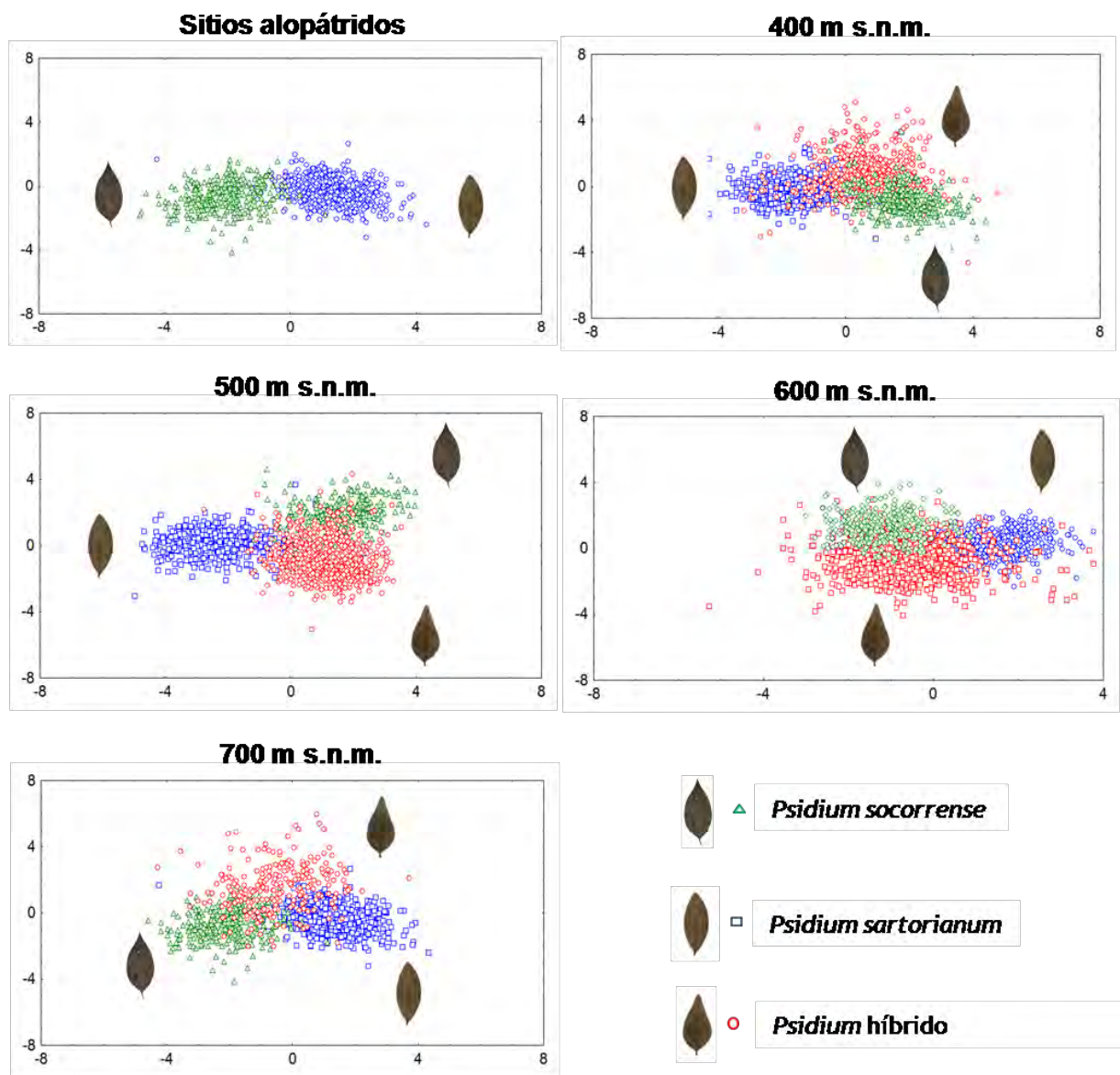


Figura 3. Análisis de función discriminante para la variación morfológica foliar en el complejo *Psidium sartorianum* × *P. socorrense* en la Isla Socorro, México.

Para la comparación del complejo *P. sartorianum* x *P. socorrense*, se obtuvo un eje discriminante significativo ( $P < 0.001$ ) que explicó del 81.21% (a los 400 m s.n.m.) al 70.49% (a los 600 m s.n.m.) de la ordenación entre taxa. El análisis discriminante mostró en general que la variable que tuvo un mayor peso en la ordenación de los datos a los 400 m s.n.m. fue A $\frac{1}{3}$ B, mientras que a los 500 m s.n.m. fue LT. Por último, la variable que tuvo el mayor peso en la ordenación de los datos a los 600 y 700 m s.n.m. fue COB (Cuadro 4).

Las variables de forma produjeron dos ejes discriminantes y el radio de la suma de los eigenvalores mostraron que cerca de  $0.66/1.95 = 34\%$  de la variación en tamaño y forma es explicada únicamente por la forma para los 400 m s.n.m., para los 500 m s.n.m. fue de  $1.67/3.16 = 53\%$ , para los 600 m s.n.m. fue de  $0.59/1.45 = 41\%$  y por último para los 700 m s.n.m. fue de  $0.95/2.50 = 38\%$ .

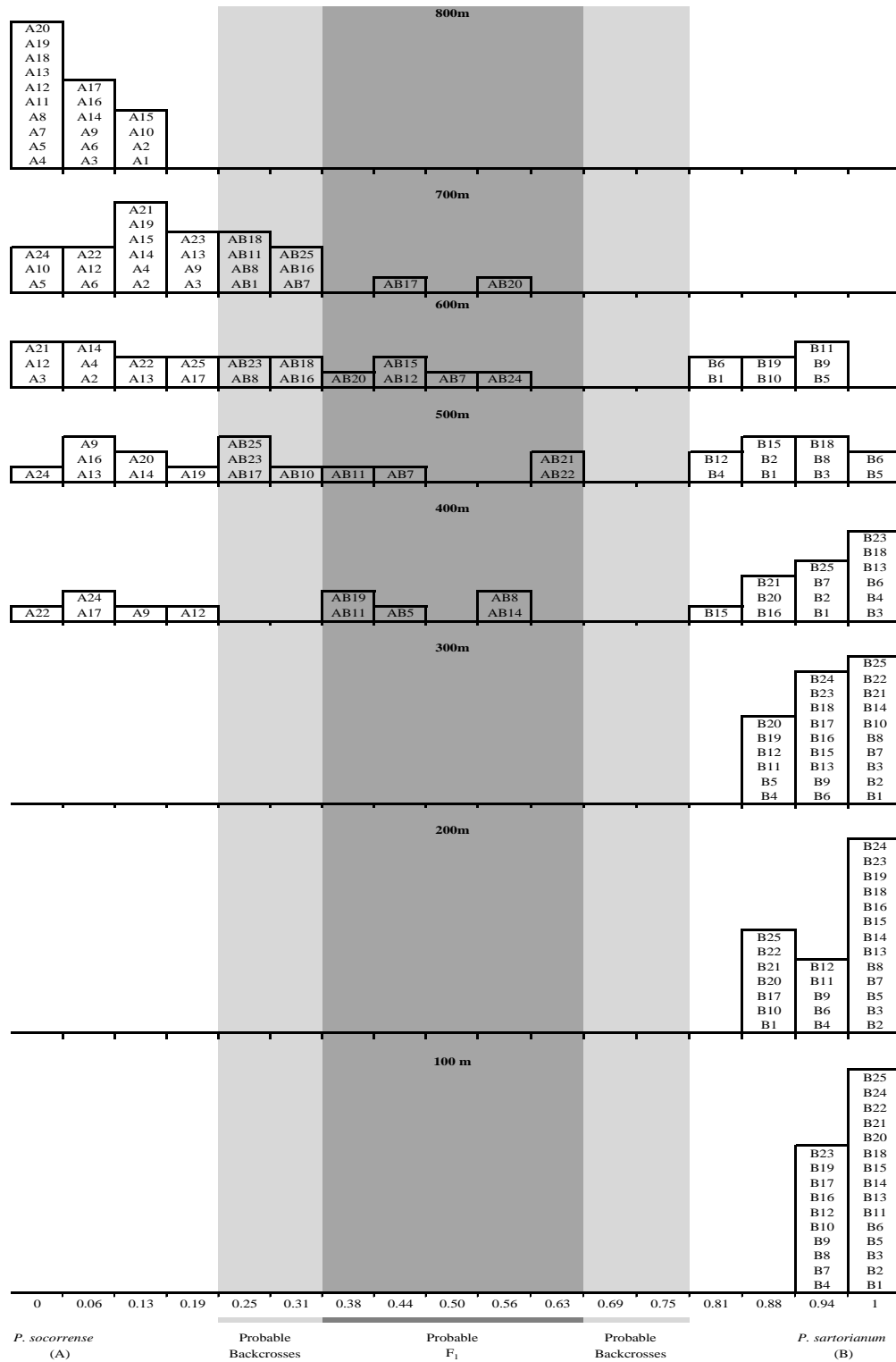
## B. Análisis genéticos

Para evaluar los niveles de hibridación en el complejo *P. sartorianum* x *P. socorrense*, se utilizó un total de 8 primers. Estos primers produjeron 43 distintas marcas (bandas). El análisis de RAPD's mostró ser una poderosa herramienta en la caracterización de individuos híbridos entre *P. sartorianum* y *P. socorrense*. El índice de hibridación de Hardig soporta que en la Isla Socorro, la hibridación entre las especies de guayaba se documenta entre la altitud de 400 y 700 m.

El promedio del índice de hibridación de Hardig para *P. sartorianum* fue de 0.86 (SD 0.06), para *P. socorrense* fue de 0.06 (SD 0.05), y para los híbridos fue de 0.39 (SD 0.13). En general, el índice de hibridación de Hardig (molecular) soporta al índice de hibridación de Anderson (morfológico) produciendo el mismo patrón de hibridación (Figura 4).

**Cuadro 4.** Resultados del análisis de función discriminante para la variación morfológica foliar del complejo *Psidium sartorianum* × *P. socorrense* en la Isla Socorro, México.

Variable	DF1	DF2	Variable	DF1	DF2
<b>400 m s.n.m.</b>			<b>600 m s.n.m.</b>		
LBAM%	-0.35	0.52	LBAM/AM	0.34	-0.14
NV	0.37	-0.33	NV	-0.11	-0.69
AV	-0.41	-0.13	DP	0.58	-0.20
DVM	-0.24	-0.34	A½A	-0.84	0.21
LL/AM	-0.29	1.44	DVM	0.07	0.56
DP	-0.40	0.27	A½B	0.68	-0.20
LP	-0.13	0.58	AV	0.26	0.10
A½A	0.50	-1.82	P%	-0.14	-0.44
A½B	-0.81	0.62	LBAM%	0.34	0.59
DV	-0.31	-0.29	DV	0.11	-0.25
AM	0.70	1.91	AM	-0.83	0.57
LBAM	-0.22	-0.71	COB	1.04	-0.49
P%	0.13	-0.93	LBAM	-0.37	-0.34
COB	0.59	2.01	LL	-0.29	0.48
LL	-0.36	-2.75	LL/AM	-0.05	0.12
LBAM/AM	0.19	-0.65	Eigenvalor	1.32	0.55
Eigenvalor	1.91	0.44	% de Variación	70.49	29.51
% de Variación	81.21	18.79	Significancia	<0.001	<0.001
Significancia	<0.001	<0.001			
<b>500 m s.n.m.</b>			<b>700 m s.n.m.</b>		
DVM	-0.51	0.42	NV	0.39	0.70
NV	0.39	0.26	LBAM/AM	-0.04	0.38
LBAM/AM	0.21	0.77	DV	-0.18	0.63
AV	-0.25	-0.33	DVM	-0.07	-0.50
DP	-0.34	-0.27	AV	-0.32	0.05
LP	-0.47	-2.57	DP	-0.41	0.08
A½A	0.02	0.61	COB	0.78	-0.38
A½B	-0.84	-0.77	A½B	-0.70	0.54
P%	-0.70	0.90	A½A	0.72	0.73
AM	1.36	0.62	AM	-0.27	-0.88
LBAM%	-0.33	-0.45	LBAM%	-0.46	0.20
LT	-12.69	-16.75	LL/AM	-0.52	0.00
COB	1.73	-0.97	LBAM	0.12	-0.65
LL/AM	0.01	-0.72	LP	0.12	-0.09
DV	-0.04	0.12	LT	-0.54	0.56
LBAM	-0.36	-0.13	P%	0.02	0.16
LL	11.00	19.52	Eigenvalor	2.41	0.85
Eigenvalor	2.98	0.94	% de Variación	73.85	26.15
% de Variación	75.98	24.02	Significancia	<0.001	<0.001
Significancia	<0.001	<0.001			



**Figura 4.** Distribución de frecuencia de individuos vs. índice de hibridación de Hardig derivados de los marcadores moleculares (RAPD) a lo largo del gradiente altitudinal en la Isla Socorro, México. El número de cada planta evaluada está representada. Se muestran los resultados de cluster de los parentales puros y zonas mixtas/simpátricas (índice = 0 o 1), un cluster de probables híbridos  $F_1$  (índice = 0.38-0.63), retrocruzadas hacia *P. socorrense* (índice = 0.25-0.31) y retrocruzadas hacia *P. sartorianum* (índice = 0.69-0.75)

## V. DISCUSIÓN

En general, la hibridación natural es deducida normalmente por la morfología intermedia de las plantas y los caracteres morfológicos foliares son considerados una poderosa herramienta para la detección de individuos híbridos dentro de la familia Myrtaceae (Landrum et al., 1995; Lopez et al., 2000; Stokoe et al., 2001; Barbour et al., 2002). Sin embargo, en algunos casos la morfología intermedia de los árboles no ha reflejado hibridación, por ejemplo, Craft *et al.* (2002) analizaron individuos con características foliares intermedias entre *Quercus lobata* y *Q. douglasii*. Los autores concluyeron que los aparentes fenotipos intermedios entre estas dos especies no son necesariamente híbridos y que los híbridos verdaderos no son necesariamente fenotípicamente intermedios.

En nuestro estudio la hibridación estuvo fuertemente corroborada por los caracteres morfológico foliares, los cuales señalaron que los individuos con morfología intermedia atípica son híbridos derivados del entrecruzamiento de *P. sartorianum* y *P. socorrense*. En general, los árboles híbridos se encuentran en los sitios de simpatria de las especies parentales putativas. Particularmente, se observó que se encuentran ubicadas en los pisos altitudinales de los 400 a los 700 m, en estos sitios el disturbio ha sido un factor que probablemente promueve la hibridación (Arnold *et al.*, 1990; Klier *et al.*, 1991). Las principales formas de disturbio en los sitios de estudio son los huracanes, la introducción de ganado y actividades humanas. Arnold (1997) sugiere que los individuos híbridos que se forman en ambientes perturbados podrían ser eliminados si el ambiente regresara a un estado de predisturbio. Sin embargo, esto sería muy poco probable en las zonas híbridas estudiadas, ya que en las visitas constantes que se realizaron se observó un incremento sostenido en la extensión del área disturbada.

La hibridación es un fenómeno natural con un gran impacto evolutivo ya que se considera que del 50 al 70% de las especies vegetales se han originado por esta vía (Arnold, 1994). En particular, la Isla Socorro contiene un 32% de especies vegetales endémicas y se han registrado dentro de la Isla especies invasoras procedentes del continente (e.g., *Psidium sartorianum*, *Psidium guajava*, *Rynchelytrum repens*, *Dodonea viscosa*, *Cedrela odorata*, *Pithecellobium dulce*, *Ipomoea pres-capre*), lo cual



podría promover que el fenómeno de hibridación se facilite entre especies cercanas taxonómicamente. Por lo anterior, se espera que la hibridación tenga un papel importante en la diversificación de la flora de la Isla Socorro, como se ha registrado con otros sistemas insulares. Por ejemplo, la flora de las islas de Hawaii se ha visto considerablemente afectada por este fenómeno (Carr, 1995; Smith *et al.*, 1996; Caraway *et al.*, 2001; Randell *et al.*, 2004) presentándose en 37 géneros nativos (Ellstrand *et al.*, 1996). Además, la hibridación es común en otras floras insulares, por ejemplo en las islas de California (Liston *et al.*, 1990; Rieseberg y Gerber, 1995), las islas Canarias (Brochman, 1984; Gilmert y Kadereit, 1989; Salas-Pascual *et al.*, 1993), las islas Británicas (Stace, 1975), entre otras.

*Psidium socorrense* es una especie endémica de la Isla Socorro, la cual se encuentra especialmente susceptible a la hibridación cuando se encuentran en simpatria con *P. sartorianum*, debido a que por lo general las especies endémicas poseen débiles barreras reproductivas y una menor diversidad genética en comparación con especies de amplia distribución geográfica y muy abundantes como *P. sartorianum*. Asimismo, la presencia de polinizadores generalistas es otro factor que puede promover el fenómeno de hibridación entre estas especies (Levin y Francisco-Ortega, 1996). En general, los resultados morfológico foliares y moleculares (RAPD's) mostraron que existen individuos híbridos F<sub>1</sub> y retrocruzas únicamente hacia *P. socorrense*.

### **Hibridación del complejo *Psidium sartorianum* × *Psidium socorrense***

Comúnmente el fenómeno de hibridación afecta la correcta identificación y delimitación de las especies, resultando difícil y en algunas ocasiones imposible resolverlo. Para el género *Psidium* esto es particularmente cierto, ya que los límites de las especies dentro del género no están bien definidos y se ha propuesto que muchas poblaciones y algunas “especies” son de origen híbrido (McVaugh, 1963, 1968). Para efectos de este estudio, la distinción de las especies involucradas (*P. sartorianum* y *P. socorrense*) ha sido difícil, e incluso algunos autores han propuesto que existe una sola especie de *Psidium* en la isla Socorro (e.g., Miranda, 1960). Los resultados derivados de este trabajo sugieren que existen dos entidades discretas desde el punto de vista morfológico (Cuadro 3 y Figura 3) y genético (Figura 4) cuando ambas especies se

encuentran en alopatría. Sin embargo, en la zona simpátrida (400 a 700 m s.n.m.) entre las dos especies se encontraron individuos intermedios morfológica y genéticamente (híbridos  $F_1$ ), así como retrocruzas hacia *P. socorrense* en altitudes de los 500 a 700 m. Es importante mencionar que en la zona de contacto existe una incidencia diferencial de disturbios (e.g., huracanes, forrajeo intensivo, entre otros) (Levin y Morán, 1989), los cuales han causado una severa erosión del suelo en algunos pisos altitudinales que difícilmente permiten el establecimiento de individuos de *P. sartorianum* y de *P. socorrense*. Es probable que en estos ambientes con un alto grado de disturbio se favorezca el establecimiento de individuos híbridos, ya que éstos se pueden establecer en ambientes con condiciones y recursos diferentes a los parentales. Es decir, se estaría favoreciendo el establecimiento de híbridos más competitivos (vigor híbrido) que las especies parentales putativas.

El sitio a los 400 m s.n.m. registró la menor frecuencia de individuos de *P. socorrense* ( $n=5$ ) en relación con *P. sartorianum* ( $n=14$ ). Asimismo, se encontró que solo existen cinco individuos híbridos  $F_1$ . Ésta es una frecuencia alta de individuos híbridos tomando en cuenta el bajo número de individuos de *P. socorrense* según el índice de hibridación genético (cinco) (Figura 4) y tres individuos según el índice de hibridación morfológico (Figura 2). Sin embargo, debemos tomar en cuenta que debido a los disturbios en la parte sur de la isla por actividades humanas (marinos) y forrajeo por borregos (introducidos entre 1869 y 1887), el bosque de *P. socorrense* pudo haberse reducido en los últimos años, y los híbridos encontrados pueden ser el resultado de eventos no recientes de hibridación o bien pueden ser el resultado de la dispersión de semilla por parte de aves desde elevaciones mayores. La ausencia de retrocruzas en este sitio (400 m s.n.m.) puede deberse a la baja probabilidad de que ocurran cruzas interespecíficas debido a la baja frecuencia de *P. socorrense*.

En contraste, a altitudes mayores (500 y 600 m) donde la intensidad de los disturbios es menor, se encontró un mayor número de *P. socorrense*, individuos híbridos  $F_1$  y retrocruzas hacia *P. socorrense*. Por último, a los 700 m s.n.m. no se detectaron individuos puros de *P. sartorianum*. Sin embargo, existen híbridos  $F_1$  y retrocruzas hacia *P. socorrense*. Esto puede deberse a una intensa dispersión de polen desde altitudes menores de la zona de contacto hacia los 700 m s.n.m.

### ***Implicaciones en conservación***

La hibridación natural puede generar múltiples escenarios en cuanto a la conservación de especies con distribución restringida. En general, estos escenarios pueden llevar a: i) la extinción de la especie debido a asimilación genética por parte del taxón más abundante o depresión exogámica (Rhymer y Simberloff, 1996) o bien ii) al enriquecimiento de la diversidad genética de la especie rara (Stebbins, 1942), esto dependiendo de la frecuencia de la hibridación y/o introgresión y de la intensidad de los disturbios que permitan el establecimiento de los individuos híbridos. Para conocer los posibles escenarios que la hibridación sobre una especie endémica puede originar a corto y largo plazo es necesario conocer los pasos que han ocurrido desde el contacto de las dos especies hasta los mecanismos que favorecen el establecimiento de los híbridos.

El incremento en el número de especies exóticas en muchas regiones del mundo y la alteración del ambiente debido a actividades humanas promueven la hibridación entre especies previamente alopátridas, ya sea entre especies nativas o entre una especie nativa y una introducida (Vilà *et al.*, 2000). Esto es cierto para las floras insulares, particularmente en el caso de las islas de Hawaii (Smith *et al.*, 1996), Galápagos (Klekowski, 2008), entre otras. En el caso de este estudio, se registró hibridación entre una especie insular endémica (*P. socorrense*) y una especie continental de amplia distribución (*P. sartorianum*). Se ha propuesto que *P. sartorianum* es una especie relativamente reciente en la isla Socorro que tuvo una dispersión de semilla facilitada por aves desde el continente (Levin y Moran, 1989). Esta especie se ha establecido en la parte sur de la isla formando densos parches a lo largo de la ladera sur, entrando en contacto y formando híbridos con la especie endémica *P. socorrense* desde los 400 m s.n.m. hasta los 700 m s.n.m.

Además del efecto que *P. sartorianum* podría tener sobre la persistencia de *P. socorrense* en términos de competencia y de la severa erosión que han causado el ganado y los huracanes, la hibridación representa una amenaza para la especie endémica, ya que puede tener un efecto negativo en *aspectos demográficos* o bien

puede ocasionar *asimilación genética* de la especie endémica (Levin y Francisco-Ortega, 1996).

Hablando de los *aspectos demográficos*, si los individuos híbridos son parcialmente estériles o presentan una menor adecuación que las especies parentales, la especie rara puede verse amenazada por depresión exogámica (Templeton, 1986). Esto es, que las poblaciones de la especie rara tengan una menor adecuación debido a que existe un gasto de gametos en la formación de semillas híbridas, lo que puede causar una disminución de la especie menos abundante, ya que no existe una cantidad suficiente de semilla conespecífica para mantener a la población (Ellstrand y Elam, 1993; Levin y Francisco-Ortega, 1996). En tal caso, el resultado es el mismo si las semillas son abortadas o si son viables. La baja frecuencia de híbridos  $F_1$  encontrados para el complejo *P. sartorianum* × *P. socorrense* indican que la formación de la  $F_1$  es difícil, por lo que, la depresión exogámica puede significar una amenaza para *P. socorrense*.

Si las semillas son viables y los híbridos se desarrollan pero muestran esterilidad y se reproducen vegetativamente, los híbridos pueden ser capaces de disminuir el número de los individuos de las especies parentales debido a que pueden llegar a ser más competitivos que éstas, principalmente en ambientes con algún grado de disturbio (Levin y Francisco-Ortega, 1996). Debido a que *P. guajava* y *P. cattleianum* son especies que presentan cierta reproducción vegetativa (Huenneke y Vitousek, 1990; Vilchez-Perozo *et al.*, 2004) y a que son especies cercanas a *P. sartorianum* y *P. socorrense* no se descarta la posibilidad de que los híbridos detectados en este estudio puedan presentar reproducción clonal y competir con las especies parentales aún que presenten esterilidad. Asimismo, el sobrepastoreo por parte de los borregos es otro factor que contribuye a la degradación del sotobosque y afecta negativamente la regeneración por semilla, lo que trae como consecuencia una disminución en el establecimiento por vía sexual; por lo que, una alternativa para el establecimiento de nuevos individuos es el crecimiento clonal (Alfonso-Corrado *et al.*, 2004).

Por otro lado, si los híbridos son fértiles y más vigorosos que la especie rara, entonces ésta puede verse amenazada por *asimilación genética* por parte del taxón más abundante (Rhymer y Simberloff, 1996). Dicho fenómeno sólo ocurre cuando la

frecuencia de hibridación es alta y el tamaño poblacional de la especie en riesgo es menor a la otra especie (Ellstrand y Elam, 1993). En este sentido, las poblaciones insulares son muy susceptibles a la asimilación genética debido a su bajo número poblacional, a la simpatria con especies cercanamente relacionadas de amplia distribución, a las débiles barreras reproductivas y el incremento en los disturbios causados por el hombre (Ellstrand y Elam, 1993). En la isla Socorro, *P. socorrense* se encuentra en potencial peligro de asimilación genética por parte de *P. sartorianum* ya que se registró que existen retrocruzas únicamente hacia *P. socorrense*. Además, *P. sartorianum* presenta mucho mayor abundancia en la isla y los disturbios a causa de las actividades humanas parecen ir en aumento. En particular, el ganado introducido entre 1869 y 1887 y la constante presencia de huracanes han causado una severa erosión y un grave deterioro de la cobertura vegetal, especialmente cerca de los 450 m s.n.m. (Levin y Morán, 1989), es decir en la zona de contacto entre *P. sartorianum* y *P. socorrense*. Esto sugiere que la actividad del ganado puede estar favoreciendo el fenómeno de hibridación entre estas especies, creando hábitats distintos a los de las especies parentales en donde los híbridos pueden establecerse. La introducción de ganado se ha propuesto como un disturbio crítico que favorece el fenómeno de hibridación en diversos estudios (Rieseberg *et al.*, 1989; Liston *et al.*, 1990; Rieseberg y Gerber, 1995).

Uno de los casos más extremos en este sentido es el de *Cercocarpus traskieae* en las islas de California, en este estudio solamente se encontraron 6 individuos puros de *C. traskieae* utilizando RAPD; por otro lado, al analizar las plántulas se encontró que en todas al menos uno de los progenitores era de origen híbrido, dejando a la especie en severo peligro de extinción (Rieseberg y Gerber, 1995). Además, existen varios estudios a largo plazo en otras especies vegetales que citan la pérdida de una o ambas especies parentales en zonas de simpatria en donde existe una alta incidencia de disturbios causados por el hombre (Stebbins y Daly, 1961; Heiser, 1979; Meyn y Emboden 1987). Asimismo, existen un gran número de especies animales en peligro por asimilación genética (Mech, 1970; Soltz y Naiman, 1978; Cade, 1983; Allendorf y Leary, 1988; Echelle y Conner, 1989).

Sin embargo, además de tener un impacto negativo sobre la biodiversidad, en algunos estudios se ha propuesto que la hibridación introgresiva puede enriquecer la variación genética intraespecífica de la especie rara (Stebbins, 1942; Anderson, 1949). Bajo este escenario, si bien existe introgresión hacia la especie endémica, los alelos de la especie rara no son eliminados, sino que sólo son “diluidos” por los alelos de la especie más abundante, de manera que la población permanece aunque pueda presentar mayor similitud fenotípica y genotípica con la especie más abundante. En este caso, se podría pensar que la variación introducida por introgresión puede dotar a la especie endémica con nuevos alelos que le confieran la oportunidad de colonizar nuevos hábitats (e.g. Caraway *et al.*, 2001).

A pesar de que la frecuencia de introgresión parece no ser tan intensa en el complejo *P. sartorianum* × *P. socorrense*, se propone que ésta última puede estar en peligro de extinción. En los últimos años, el rango de distribución de *P. sartorianum* se está incrementando gracias a la eliminación parcial del ganado en la parte sur de la isla. Esto traería como consecuencia una mayor frecuencia en el fenómeno de hibridación y una presión importante para *P. socorrense* en términos de competencia. Esto, aunado a los efectos de la depresión exogámica podrían resultar una amenaza muy importante para la integridad de *P. socorrense* como especie.

Sin embargo, es importante mencionar que se han encontrado individuos de *P. socorrense* en la parte norte de la isla (Flores-Palacios, A. com. pers.) en donde las condiciones son más templadas y no se ha encontrado a *P. sartorianum* ni ganado. Es posible que la parte norte funcione como un refugio para la especie, ya que parece haber una divergencia en las preferencias de hábitat entre las dos especies.

### ***Marcadores morfológicos vs. moleculares***

Los marcadores morfológicos han sido ampliamente utilizados y han resultado ser una poderosa herramienta en estudios que tratan de evidenciar el fenómeno de hibridación natural. Particularmente, los posibles individuos híbridos son inicialmente detectados en campo por la morfología intermedia que presentan con respecto a las especies parentales putativas. En este estudio, los marcadores morfológicos foliares proporcionaron poca información en relación con los caracteres moleculares, lo cual

puede abordarse desde dos puntos de vista. En primer lugar, es probable que no sea posible distinguir los híbridos de la convergencia ecológica que los caracteres morfológicos presentan a lo largo del gradiente altitudinal. Sin embargo, es importante mencionar que en futuros estudios sería conveniente emplear caracteres morfológicos frutales y florales que han mostrado ser útiles en estudios de hibridación en Myrtaceae (Drake, 1980; Shaw *et al.*, 1984; Landrum *et al.*, 1995; Grayling y Brooker, 1996), ya que éstos son los principales caracteres utilizados en la delimitación de géneros y especies dentro de la familia Myrtaceae (McVaugh, 1963, 1968)

En segundo lugar, la poca información derivada de los análisis morfológicos puede estar relacionada con que los híbridos entre *Psidium sartorianum* y *P. socorrense* no presenten una morfología intermedia entre las especies parentales, lo cual es consistente con otros estudios (Burke y Hamrick, 2002; Swartz y Brunsfeld, 2002; Jorgensen y Mauricio, 2005). Se ha sugerido que la presencia de estos caracteres nuevos o “extremos” (Rieseberg, 1995) encontrados en estos estudios pueden explicarse por: i) una mayor tasa de mutación en los híbridos, ii) la acción complementaria que tiene una nueva combinación de alelos en los híbridos, iii) alelos no expresados en los parentales pueden estar sometidos a un nuevo patrón de regulación en los híbridos o iv) a una baja estabilidad en la ontogenia de los híbridos (Rieseberg, 1995). Este punto de vista es el que parece ser más congruente con el caso de *P. sartorianum* × *P. socorrense*, ya que no se encontraron individuos con morfologías intermedias mediante el conteo de caracteres, pero se encontró que cada uno de los sitios alopátridos y los individuos de la zona híbrida putativa forman grupos bien delimitados (ver análisis discriminante).

Debido a casos como éste en que los marcadores morfológicos no son conclusivos, los marcadores moleculares han sido ampliamente usados en la caracterización de hibridación e introgresión en las últimas décadas y ha sido sugerido por algunos autores (Doebley y Wendel, 1989; Rieseberg y Brunsfeld, 1992; Jorgensen y Mauricio, 2005) que estos marcadores son preferibles a los morfológicos en casos ambiguos de hibridación debido a que: i) se pueden encontrar una gran cantidad de marcadores independientes, ii) a que presentan una variación no heredable muy baja y a que iii) la mayoría de los marcadores son neutros. En contraste, los marcadores

morfológicos suelen ser pocos y tienden a presentar correlaciones entre ellos. Además los caracteres morfológicos presentan una variación fenotípica que es difícil de estimar y frecuentemente convergen al estar sometidos a presiones ambientales similares (Harrison, 1993).

A pesar de las ventajas que ofrecen los marcadores moleculares en la detección de hibridación, es necesario hacer énfasis en las limitantes de las conclusiones que se pueden derivar de su análisis. Por ejemplo, para efectos de este estudio, ya que existe introgresión hacia *P. socorrense* se sugiere que ésta puede estar aumentando su diversidad genética, la cual puede dotarle de cierta plasticidad para que colonice nuevos hábitats. Sin embargo, a pesar de que esta posibilidad no puede ser descartada, la utilización de caracteres moleculares neutros (en este caso RAPD's) hacen difícil comprobar esta hipótesis, ya que se ha comprobado que los híbridos actúan como “filtros evolutivos” (Barton y Bengtsson, 1986). Por ejemplo, Martinsen *et al.* (2001) mediante RFLP detectaron en una población simpátrida de *Populus fremontii* y *Populus angustifolia* que los híbridos actúan como filtros evolutivos, previniendo la introgresión del 79% de los alelos estudiados, mientras que el restante 21% mostró una amplia introgresión. Estos resultados sugieren que la mayoría de los alelos no son introducidos de una especie a otra al azar, sino que son elegidos selectivamente. Sin embargo, no es posible asignar un valor adaptativo a uno u otro alelo *a priori*.

### ***Modelo de zonas híbridas***

El modelo que mejor describe a esta zona híbrida es el Modelo de Mosaico (Harrison, 1986), ya que la distribución espacial que presenta *P. sartorianum* y *P. socorrense* al interior de la Isla, es en forma de parches. Lo anterior sugiere que la distribución espacial de recursos y condiciones para ambas especies se encuentran de forma agregada. Este modelo propone que en ambientes afectados por disturbios los híbridos presentan una mayor competitividad y adecuación que las especies parentales putativas, por lo que, este modelo es dependiente del ambiente. Además de que no existe una transición gradual de *P. sartorianum* a *P. socorrense*.



### ***¿Hibridación, convergencia o plesiomorfía?***

Comúnmente, la hibridación es la explicación que con mayor frecuencia se le da a patrones intermedios, ya sean morfológicos o genéticos (Rieseberg, 1997). Sin embargo, este mismo patrón puede ser un reflejo de una evolución convergente, es decir, que una tercera especie adquiera de manera independiente caracteres similares a los parentales putativos. Otra posible explicación es el evento de una plesiomorfía, es decir, de la retención de caracteres ancestrales por parte de un taxón intermedio que al diferenciarse da lugar a taxa parentales semejantes (Rieseberg y Ellstrand, 1993). De manera que es esencial determinar cuál de estas explicaciones refleja de mejor manera los patrones observados en *P. sartorianum* y *P. socorrense*.

Dado que Mesoamérica ha sido considerado como el centro de origen y diversificación del género *Psidium* (McVaugh, 1963), y que *P. sartorianum* es una especie que presenta un amplio intervalo de distribución geográfica en el continente americano y a que no se han encontrado individuos de *P. socorrense* en el continente, la hipótesis de que los individuos intermedios entre *P. sartorianum* y *P. socorrense* encontrados en la isla Socorro sean la especie ancestral de éstas es poco probable. Además se ha propuesto que la dispersión de *P. sartorianum* ha sido del continente hacia la isla Socorro (Levin y Morán, 1989).

Por otro lado, debido a la alta cantidad de loci polimórficos encontrados para cada una de las especies parentales y a que los individuos intermedios presentaron un patrón aditivo de los marcadores diagnósticos de *P. sartorianum* y *P. socorrense*, la hipótesis de convergencia es poco probable, ya que la posibilidad de que los individuos intermedios adquieran todos los loci de las especies parentales únicamente por convergencia es muy baja (Rieseberg, 1997).

Debido a que la posibilidad de convergencia y plesiomorfía son bajas, el fenómeno de hibridación es el que mejor explica los patrones observados en *P. sartorianum* y *P. socorrense*.

## VI. CONCLUSIONES

- Los marcadores morfológico-foliareos y moleculares (RAPD's) son coincidentes y soportan la existencia del fenómeno de hibridación entre *Psidium sartorianum* y *P. socorrense* en la isla Socorro, México.
- Los individuos híbridos se encontraron en el intervalo altitudinal de los 400 a los 700 m. La alta incidencia de disturbios en esta zona sugiere que éstos promueven el fenómeno de hibridación entre *P. sartorianum* y *P. socorrense*.
- Se registró una introgresión unidireccional hacia *P. socorrense*. Lo anterior sugiere que actualmente existe un incremento de la diversidad genética de esta especie. Sin embargo, de continuar la alta incidencia de disturbios, podría incrementarse la tasa de hibridación introgresiva y por lo tanto el fenómeno de asimilación genética de *P. socorrense* por parte de *P. sartorianum* sería posible.

## LITERATURA CITADA

- Abe, J., A. Hasegawa, H. Fukushi, T. Mikami, M. Ohara. y Y. Shimamoto. 1999. Introgression between wild and cultivated soybeans of Japan revealed by RFLP analysis for chloroplast DNA. *Economic Botany* 53: 285-291
- Adem, J., E. Cobo, L. Blázquez, F. Miranda, A. Villalobos, T. Herrera, B. Villa y L. Vázquez. 1960. *La isla Socorro, Archipiélago de las Revillagigedo*. Monografías del Instituto de Geofísica. UNAM, México.
- Alfonso-Corrado, C., R. Esteban-Jiménez, R. Clark-Tapia, D. Piñero, J. E. Campos y A. Mendoza. 2004. Clonal and genetic structure of two Mexican oaks: *Quercus eduardii* and *Quercus potosina* (Fagaceae). *Evolutionary Ecology* 18: 585-599
- Allendorf, F. W. y R. F. Leary. 1988. Conservation and distribution of genetic variation of genetic variation in a polytypic species, the cutthroat trout. *Conservation Biology* 2: 170-184
- Anderson, E. 1948. Hybridization of the habitat. *Evolution* 2: 1-9
- Anderson, E. 1949. Introgressive hybridization. John Wiley, Nueva York, E.U.
- Anderson, E. y G. L. Stebbins. 1954. Hybridization as an evolutionary stimulus. *Evolution* 8: 378-388
- Anderson, E. y L. Hubricht. 1938. The evidence for introgressive hybridization. *American Journal of Botany* 25: 396-402
- Arnold, M. L. 1992. Natural hybridization as an evolutionary force. *Annual Review of Ecology and Systematics* 23: 237-261
- Arnold, M. L. 1994. Natural hybridization and Louisiana irises. *Bioscience* 44: 141-147
- Arnold, M. L. 1997. Natural hybridization and evolution. Oxford University Press. Oxford. Reino Unido.
- Arnold, M. L. y S. A. Hodges. 1995. Are natural hybrids fit or unfit relative to their parents? *Trends in Ecology and Evolution* 10: 67-71
- Arnold, M. L., C. M. Buckner y J. Robinson. 1991. Pollen-mediated introgression and hybrid speciation in Louisiana irises. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 80: 1398-1402
- Arnold, M. L., J. L. Hamrick y B. D. Bennett. 1990. Allozyme variation in Louisiana irises: a test for introgression and hybrid speciation. *Heredity* 65: 297-306
- Bacilieri, R., A. Ducouso y A. Kremer. 1995. Genetic, morphological, ecological and phenological differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of Northwest of France. *Silvae Genetica* 44: 1-10
- Bacon, J. R. y R. Spellenberg. 1996. Hybridization in two distantly related Mexican black oaks *Quercus conzattii* and *Quercus eduardii* (Fagaceae: Quercus: section Lobatae). *SIDA* 17: 17-41
- Barbour, R. C., B. M. Potts, R. E. Vaillancourt, W. N. Tibbits y R. J. E. Wiltshire. 2002. Gene flow between introduced and native *Eucalyptus* species. *New Forests* 23: 177-191
- Barton, N. H y G. M. Hewitt. 1985. Analysis of hybrid zones. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 16: 113-148

- Barton, N. H. 2001. The role of hybridization in evolution. *Molecular Ecology* 10: 551-568
- Barton, N. H. y B. O. Bengtsson. 1986. The barrier to genetic exchange between hybridising populations. *Heredity* 57: 357-376
- Barton, N. H. y M. Hewitt. 1989. Adaptation, speciation and hybrid zones. *Nature* 341: 497-503
- Belahbib, N., M. H. Pemonge, A. Oasussou, H. Sbay, S. A. Kremer y R. J. Petit. 2001. Frequent cytoplasmic exchanges between oak species that are not closely related: *Quercus suber* and *Q. ilex* in Morocco. *Molecular Ecology* 10: 2003-2012
- Brattstrom, B. H. 1990. Biogeography of the Isles Revillagigedo, Mexico. *Journal of Biogeography* 17: 177-183
- Briggs, B. G. 1964. The control of interspecific hybridization in *Darwinia*. *Evolution* 18: 292-303
- Brochmann, C. 1984. Hybridization and distribution of *Argyranthemum coronopifolium* (Asteraceae - Anthemideae) in the Canary Islands. *Nordic Journal of Botany* 4: 729-736
- Bull, C. M. 1979. A narrow hybrid zone between two western Australian frog species *Ranidella insignifera* and *R. pseudinsignifera*: the fitness of hybrids. *Heredity* 42: 381-389
- Burke, J. M. y J. L. Hamrick. 2002. Genetic variation and evidence of hybridization in the genus *Rhus* (Anacardiaceae). *Journal of Heredity* 93: 37-41
- Butlin, R. K. y G. M. Hewitt. 1985. A hybrid zone between *Chorthippus parallelus parallelus* and *Chorthippus parallelus erythropus* (Orthoptera: Acrididae): morphological and electrophoretic characters. *Biological Journal of the Linnean Society* 26: 269-285
- Byrd, D. W., E. D. McArthur, H. Wang, J. H. Graham y D. C. Freeman. 1999. Narrow hybrid zone between two subspecies of big sagebrush, *Artemisia tridentata* (Asteraceae). Spatial and temporal pattern of terpenes. *Biochemical Systematics and Ecology* 27: 11-25
- Cade, T. J. 1983. Hybridization and gene exchange among birds in relation to conservation. Pp. 288-309. En: *Genetics and conservation*. C. M. Schonewald-Cox, S. M. Chambers, B. MacBryde y L. Thomas (eds.). Benjamin-Cummings, Menlo Park, California, EU.
- Campinhos, E. N., F. L. Bertolucci y A. C. Alfenas. 1998. Interspecific hybridization and inbreeding effect in seed from a *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* clonal orchard in Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 21: 369-374
- Caraway, V., G. D. Carr y C. W. Morden. 2001. Assessment of hybridization and introgression in lava-colonizing Hawaiian *Dubautia* (Asteraceae: Madiinae) using RAPD markers. *American Journal of Botany* 88: 1688-1694
- Carney, S. E., K. A. Gardner y L. H. Rieseberg. 2000. Evolutionary changes over the fifty-year history of a hybrid population of sunflowers (*Helianthus*). *Evolution* 54: 462-474
- Carr, G. D. 1995. A fully fertile intergeneric hybrid derivative from *Argyroxiphium sandwicense* ssp. *Macrocephalum* x *Dubautia menziesii* (Asteraceae) and its relevance to plant evolution in the Hawaiian Islands. *American Journal of Botany* 82: 1574-1581

- Coria, B. R. 1994. Climatología. Pp 55-62. En: *La Isla Socorro, Reserva de la Biosfera Archipiélago de Revillagigedo, México*. Ortega, R. A. y A. Castellanos (eds.). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., La Paz, B. C. S., México
- Craft, K. J., M. V. Ashley y W. D. Koenig. 2002. Limited hybridization between *Quercus lobata* and *Quercus douglasii* (Fagaceae) in a mixed stand in Central Coastal California. *American Journal of Botany* 89: 1792-1798
- Craven, L. A. 1980. A review of the genus *Calytrix* Labill. (Myrtaceae) in Northern Australia. *Brunonia* 3: 217-246
- Daehler, C. y D. R. Strong. 1997. Hybridization between introduced smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*; Poaceae) and native California cordgrass (*S. foliosa*) in San Francisco Bay, California, USA. *American Journal of Botany* 84: 607-611
- Darroch, J. N. y J. E. Mosimann. 1985. Canonical and principal components of shape. *Biometrika* 72: 241-252.
- Dawson, I. K., A. J. Simons, R. Waugh y W. Powell. 1996. Detection and pattern of interspecific hybridization between *Glicidia sepium* and *G. maculate* in Meso-America revealed by PCR-based assays. *Molecular Ecology* 5: 89-98
- Debener, T., F. Salamini y C. Gebhardt. 1991. The use of RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms) detects germplasm introgressions from wild species into potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) breeding lines. *Plant Breeding* 106: 173-181
- Dobzhansky, T. H. 1941. Genetics and the origin of species. Columbia University Press. Nueva York, EU.
- Dodd, R. S., Z. A. Ráfii y S. Bojovic. 1993. Chemosystematic study of hybridization in California live oak: acorn steroids. *Biochemical Systematics and Ecology* 21: 467-473
- Doebley, J. F. y J. F. Wendel. 1989. Application of RFLPs to plant systematics. Pp 57-67. En: Current communications in molecular biology - development and application of molecular markers to problems in plant genetics. T. Helentjaris y B. Burr (eds.). Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York, EU.
- Dowling, T. E. y C. L. Secor. 1997. The role of hybridization an introgression in the diversification of animals. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 28: 593-619
- Drake, D. W. 1980. Contrasting success of natural hybridization in two *Eucalyptus* species pairs. *Australian Journal of Botany* 28: 167-191
- Echelle, A. A. y P. J. Conner. 1989. Rapid, geographically extensive genetic introgression after secondary contact between two pupfish species. *Evolution* 43: 717-727
- Elena-Rosello, J. A., R. Lumaret, E. Cabrera y H. Michaud. 1992. Evidence for hybridization between sympatric holm-oak and cork-oak in Spain based on diagnostic enzyme markers. *Vegetatio* 100: 115-118
- Ellstrand, N. C. 1992. Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics. *Oikos* 63: 77-86

- Ellstrand, N. C. y D. R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 24: 217-242
- Ellstrand, N. C., R. Whitkus y L. H. Rieseberg. 1996. Distribution of spontaneous plant hybrids. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93: 5090-5093
- Endler, J. A. 1977. *Geographic variation, speciation and clines*. Princeton University Press. Nueva Jersey, EU.
- Estorninos Jr., D. R. Gealy, T. L. Dillon, F. L. Baldwin, N. R. Burgos y T. H. Tai. 2002. Determination of hybridization between rice and red rice using four microsatellite markers. *Proceedings of the Southern Weed Science Society* 55:197-198.
- Futuyma, D. J. 1998. *Evolutionary Biology*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, E. U.
- Gilmer, K. y Kadereit J. W. 1989 The biology and affinities of *Senecio teneriffae* Schultz Bip., an annual endemic from the Canary Islands. *Botanische Jahrbuch* 111: 263-273
- Gollmann, G. 1984. Allozyme and morphological variation in the hybrid zone between *Bombina bombina* and *B. variegata* (Anura: Discoglossidae) in northern Austria. *Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionsforschung* 22: 223-233
- Gottlieb, L. D. 1984. Electrophoretic analysis of the phylogeny of the self-pollinating populations of *Clarkia xantiana*. *Journal Plant Systematics and Evolution* 147: 91-102
- Graham, A. y A. S. Tomb. 1974. Palynology of *Erythrina* (Leguminosae: Papilionoideae). Preliminary survey of the subgenera. *Lloydia* 37: 465-481
- Grant, P. R. y R. B. Grant. 1992. Hybridization of bird species. *Science* 256: 193-197
- Grant, V. 1949. Pollination systems as isolating mechanisms in angiosperms. *Evolution* 3: 82-97
- Grant, V. 1963. *The Origin of Adaptations*. Columbia University Press. Nueva York, EU.
- Grant, V. 1981. *Plant speciation*. Columbia University Press, Nueva York, EU.
- Grant, V. 1994. Models and origin of mechanical and ethological isolation in angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91: 3-10
- Grayling, P.M. y I. H. Brooker. 1996. Evidence for the identity of the hybrid *Eucalyptus* "brachyphylla" (Myrtaceae) from morphology and essential-oil composition. *Australian Journal of Botany* 44: 1-13
- Griffn, A. R., Burgess I. P. y Wolf L. 1988. Patterns of natural and manipulated hybridisation in the genus *Eucalyptus* L'Herit. - A review. *Australian Journal of Botany* 36: 41-66
- Hanna, D. G. 1927. Geology of the West Mexican islands. *Pan-american Geologist* 48: 1-24
- Hardig, T. M., S. J. Brunsfeld, R. S. Fritz, M. Morgan y C. M. Orians. 2000. Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. *Molecular Ecology* 9: 9-24
- Harris, W., N. G. Porter y M. J. Dawson. 1992. Observations on biosystematic relationships of *Kunzea sinclairii* and on an intergeneric hybrid *Kunzea sinclairii* x *Leptospermum scoparium*. *New Zealand Journal of Botany* 30: 213-230
- Harrison, R. G. 1986. Pattern and process in a narrow hybrid zone. *Heredity* 56: 337-349

- Harrison, R. G. 1993. *Hybrid zones and the evolutionary process*. Oxford University Press, Oxford, Reino Unido.
- Hauser, E. J. P. y J. H. Morrison. 1964. The cytochemical reduction of nitro blue tetrazolium as an index of pollen viability. *American Journal of Botany* 51: 748-752
- Heiser, C. B. 1979. Hybrid populations of *Helianthus divaricatus* and *H. microcephalus* after 20 years. *Taxon* 28: 71-75
- Hillson, C. J. 1963. Hybridization and floral vascularization. *American Journal of Botany* 50: 971-978
- Hobgood, J. S. 2003. Maximum potential intensities of tropical cyclones near Isla Socorro, Mexico. *Weather and Forecasting* 18: 1129-1139
- Hokanson, S. C., J. G. Isebrands, R. J. Jensen y F. Hancock. 1993. Isozyme variation in oaks of the Apostle islands in Wisconsin: Genetic structure and levels of inbreeding in *Quercus rubra* and *Q. ellipsoidalis* (Fagaceae). *American Journal of Botany* 80: 1349-1357
- Holman, J. S., J. M. Hughes y R. J. Fensham. 2003. A morphological cline in *Eucalyptus*: a genetic perspective. *Molecular Ecology* 12: 3013-3025
- Hopper S. D., D. J. Coates y A. H. Burbidge. 1978. Natural hybridization and morphometric relationships between three mallee eucalypts in the Fitzgerald River National Park, W.A. *Australian Journal of Botany* 26: 319-333
- Howard, D. J. 1993. Reinforcement: the origin, dynamics and fate of an evolutionary hypothesis. Pp: 46-69. En: *Hybrid zones and the evolutionary process*. Harrison, R. (ed.). Oxford University Press, EU.
- Hubbs, C. L. 1995. Hybridization between fish species in nature. *Systematic Zoology* 4: 1-20
- Huenneke, L. F. y P. M. Vitousek. 1990. Seedling and clonal recruitment of the invasive tree *Psidium cattleianum*: implications for management of native Hawaiian forests. *Biological Conservation* 53: 199-211
- Hunt, W. G. y R. K. Selander. 1973. Biochemical genetics of hybridization in European house mice. *Heredity* 31: 11-33
- Jehl, J. R. y K. C. Parkes. 1983. "Replacements" of land-bird species on Socorro Island, México. *Auk* 100: 551-559
- Johnston, M. I. 1931. The Flora of the Revillagigedo II. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 20: 9-104
- Jorgensen, S. y R. Mauricio. 2005. Hybridization as a source of evolutionary novelty: leaf shape in a Hawaiian composite. *Genetica* 123: 1171-1179
- Judd, W. S., C. S. Campbell, E. A. Kellogg, P. F. Stevens y M. J. Donoghue. 2002. *Plant Systematics, a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. EU.
- Karl, S. A. y J. C. Avise. 1993. Balancing selection at allozyme loci in oysters: implications from nuclear RFLPs. *Science* 256: 100-102

- Kleinschmit, J. R., R. Bacilieri, A. Kremer y A. Roloff. 1995. Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Q. robur* L.) and sessile oak (*Q. petraea* (Matt.) Liebl.). *Silvae Genetica* 44: 256-269
- Klekowski, E. J. 2008. Genetic endemism of Galapagos *Pteridium*. *Botanical Journal of Linnean Society* 66: 181-188
- Klier, K., M. J. Leoschke y J. F. Wendel. 1991. Hybridization and Introgression in White and Yellow Ladyslipper Orchids (*Cypripedium candidum* and *C. pubescens*). *Journal of Heredity* 82: 305-318
- Landrum, R. L., W. Dennis, P. Sharp y J. Bredecke. 1995. Hybridization between *Psidium guajava* and *P. guineense* (Myrtaceae). *Economic Botany* 49: 153-161
- Levin, D. A. 1966. Chromatographic evidence of hybridization and evolution in *Phlox maculata*. *American Journal of Botany* 53: 238-245
- Levin, D. A. y J. Francisco-Ortega. 1996. Hybridization and the extinction of rare plant species. *Conservation Biology* 10: 10-16
- Levin, G. y R. Morán. 1989. The vascular flora of Socorro island, Mexico. *San Diego Society of Natural History* 16: 1-71
- Lewontin, R. C. y L. C. Birch. 1966. Hybridization as a source of variation for adaptation to new environments. *Evolution* 20: 315-336
- Liston, A., L. H. Rieseberg y O. Mistretta. 1990. Ribosomal DNA evidence for hybridization between island endemic species of *Lotus*. *Biochemical Systematics and Ecology* 18: 239-244
- Lloyd, J. E. 1996. Studies in the flash communication system in *Photinus* fireflies. *Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology of the University of Michigan*. 130: 1-195
- Lopez, G. A., B. M. Potts y P. A. Tilyard. 2000. F1 hybrid inviability in *Eucalyptus*: the case of *E. ovata* x *E. globulus*. *Heredity* 85: 242-250
- Marchant, A. D., M. L. Arnold y P. Wilkinson. 1988. Gene flow across a chromosomal tension zone. I. Relicts of ancient hybridization. *Heredity* 61: 321-328
- Martinsen, G. D., T. G. Whitham, R. J. Turek y P. Keim. 2001. Hybrid populations selectively filter gene introgression between species. *Evolution* 55: 1325-1335
- Mauchamp, A. 1997. Threats from alien plant species in the Galapagos islands. *Conservation Biology* 11: 260-263
- Mayer, M. S., L. M. Williams y J. P. Rebman. 2000. Molecular evidence for the hybrid origin of *Opuntia prolifera* (Cactaceae). *Madroño* 47: 109-115
- Mayol, M. y J. A. Roselló. 2001. Why nuclear ribosomal DNA spacers (ITS) tell different stories in *Quercus*. *Molecular Phylogenetic and Evolution* 19: 167-176
- Mayr, E. 1963. *Animal species and evolution*. Belknap Press. Massachusetts, EU.
- McVaugh, R. 1963. Tropical American Myrtaceae. *Fieldiana Botany* 29: 395-531
- McVaugh, R. 1968. The genera of American Myrtaceae - An interim report. *Taxon* 17: 354-418



- Mech, L. D. 1970. *The wolf: the ecology and behavior of an endangered species*. Doubleday/Natural History Press. Garden City, Nueva York, EU.
- Medina, G. M. 1957. Memorias de la expedición científica a las Islas Revillagigedo. Imprenta Universitaria, Guadalajara, México.
- Meyn, O. y W. A. Emboden. 1987. Parameters and consequences of introgression in *Salvia apiana* × *S. mellifera* (Lamiaceae). *Systematic Botany* 12: 390-399
- Miranda, F. 1960. Vegetación. Pp 201-216. En: *La isla Socorro, Archipiélago de las Revillagigedo*. Adem, J., E. Cobo, L. Blázquez, F. Miranda, A. Villalobos, T. Herrera, B. Villa y L. Vázquez (eds.). Monografías del Instituto de Geofísica. UNAM, México.
- Moore, J. A. 1961. A cellular basis for genetic isolation. Pp 320-395. En: *Vertebrate speciation*. W. F. Blair (ed.). University of Texas press, Austin, EU.
- Moore, W. S. 1977. An evaluation of narrow hybrid zones in vertebrates. *The Quarterly Review in Biology* 52: 263-277
- Mooring, J. S. 2001. Barriers to interbreeding in the *Eriophyllum loanatum* (Asteraceae, Helenieae) species complex. *American Journal of Botany* 88: 285-312
- Moran, C., P. Wilkinson y D. D. Shaw. 1980. Allozyme variation across a narrow hybrid zone in the grasshopper, *Caledia captiva*. *Heredity* 44: 69-81
- Otero, A., M. De la Cruz y K. Oyama. 1997. El uso de RAPDs como marcadores moleculares en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 60: 85-177
- Palumbi, S. R. 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25: 547-572
- Pennington, T. D. y J. Sarukhán. 2005. Árboles tropicales de México: manual para la identificación de las principales especies. Fondo de Cultura Económica, México.
- Potts, B. M. y J. B. Reid. 1983. Hybridization between *Eucalyptus obliqua* L'Hérit. and *E. pulchella* Desf. *Australian Journal of Botany* 31: 211-229
- Potts, B. M. y J. B. Reid. 1985. Analysis of a hybrid swarm between *Eucalyptus risdonii* Hook. F. and *E. amygdalina* Labill. *Australian Journal of Botany* 33: 543-562
- Potts, B. M. y R. J. Wiltshire. 1997. Eucalypt genetics and genecology. Pp. 59-61. En: *Eucalypt ecology: individuals to ecosystems*. Williams, J y J. Woiinarski (eds.). Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Prior, L. P. y L. A. S. Johnson. 1962. The status and significance of the hybrid *Eucalyptus marginata* Sm. × *E. megacarpa* F. Muell. *Australian Journal of Botany* 10: 129-133
- Randell, R. A., D. G. Howarth y C. W. Morden. 2004. Genetic analysis of natural hybrids between endemic and alien *Rubus* (Rosaceae) species in Hawai'i. *Conservation Genetics* 5: 217-230
- Rhymer, J. M. y D. Simberloff. 1996. Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 83-109

- Richards, A. F. y B. H. Brattstrom. 1959. Bibliography, cartography, discovery, and exploration of the Islas Revillagigedo. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 29: 315-360
- Rieseberg, L. H. 1995. The role of hybridization in evolution: old wine in new skins. *American Journal of Botany* 82: 944-953
- Rieseberg, L. H. 1997. Hybrid origins of plant species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 359-389
- Rieseberg, L. H. y D. Gerber. 1995. Hybridization in the Catalina Island mountain mahogany (*Cercocarpus traskiae*): RAPD's evidence. *Conservation Biology* 9: 199-203
- Rieseberg, L. H. y N. C. Ellstrand. 1993. What can morphological and molecular markers tell us about plant hybridization? *Critical Reviews in Plant Sciences* 12: 213- 241
- Rieseberg, L. H. y S. E. Carney. 1998. Plant hybridization. *New Phytologist* 140: 599-624
- Rieseberg, L. H., S. Zona, L. Abernomb y T. D. Marin. 1989. Hybridization in the island endemic, Catalina mahogany. *Conservation Biology* 3: 52-58
- Rieseberg, L. H. y S.J. Brunfeldt. 1992. Molecular evidence and plant introgression. Pp 151-176. En: *Plant molecular systematics*. D.E. Soltis, P.S. Soltis y J.J. Doyle (eds.). Chapman and Hall Inc., Nueva York, EU.
- Rossetto, M., F. Lucarotti, S. D. Hopper y K. W. Dixon. 1997. DNA fingerprinting of *Eucalyptus graniticola*: a critically endangered relict species or a rare hybrid? *Heredity* 79: 310-318
- Roy, M. S., E. Geffen, D. Smith, E. A. Ostrander y R. K. Wayne. 1994. Patterns of differentiation and hybridization in North American wolflike canids, revealed by analysis of microsatellite loci. *Molecular Biology and Evolution* 11: 553-570
- Runyeon-Lager H. y H. C. Prentice. 2000. Morphometric variation in a hybrid zone between the weed, *Silene vulgaris*, and the endemic, *Silene uniflora* ssp. *petraea* (Caryophyllaceae), on the Baltic island of Öland. *Canadian Journal of Botany* 78: 1384-1397
- Salas-Pascual, M., Acebes-Ginoves J. R., Del Arco Aguilar, M. 1993. *Arbutus* × *androsterilis*, a new interspecific hybrid between *A. canariensis* and *A. unedo* from the Canary Islands. *Taxon* 42: 789-792
- Sánchez-Vindas, P. E. 1990. Flora de Veracruz. Fasc. 62: *Myrtaceae*. Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México
- Sanz-Elorza, M., E. D. Dana y E. Sobrino. 2005. Aproximación al listado de plantas vasculares alóctonas invasoras reales y potenciales en las islas Canarias. *Lazaroa* 26: 55-56
- Shaw, M. J., B. M. Potts y J. B. Reid. 1984. Variation Within and Between *Eucalyptus nitida* Hook. F. and *E. coccifera* Hook. F. *Australian Journal of Botany* 32: 641-654
- Shiga, T. y Y. Kadono. 2007. Natural hybridization of the two *Nuphar* species in northern Japan: homoploid hybrid speciation in progress?. *Aquatic Botany* 86: 123-131
- Sites, Jr. J. W., N. H. Barton y K. M. Reed. 1995. The genetic structure of a hybrid zone between two chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Sauria, Phrynosomatidae) in Central Mexico. *Evolution* 49: 9-36

- Skvarla, J. J., J. R. Rowley y W. F. Chissoe. 1988. Adaptability of scanning electron microscopy to studies of pollen morphology. *Aliso* 12: 119-175
- Smith, D. M. y D. A. Levin. 1963. A chromatographic study of reticulate evolution in the appalachian *Asplenium* complex. *American Journal of Botany* 50: 952-958
- Smith, J. F., C. Burke y W. L. Wagner. 1996. Interspecific hybridization in natural populations of *Cyrtandra* ( Gesneriaceae) on the Hawaiian Islands: Evidence from RAPD markers. *Plant Systematics and Evolution* 200: 61-77
- Soltz, D. L. y R. J. Naiman. 1978. The natural history of native fishes in the Death Valley system. Natural history Museum of Los Angeles County, Los Angeles, E.U.
- Stace, C. A. 1984. Plant taxonomy and biosystematics. Edward Arnold. Londres, Reino Unido.
- Stace, C. A. (ed.). 1975. *Hybridization and the flora of the British Isles*. Academic Press. Londres, Reino Unido.
- Statsoft. 1998 STATISTICA para Windows 6.0. Statsoft. Tulsa, Oklahoma, EU.
- Staudt, M., C. Mir, R. Joffre, S. Rambal, A. Bonin, D. Landais y R. Lumaret. 2004. Isoprenoid emissions of *Quercus* spp. (*Q. suber* and *Q. ilex*) in mixed stands contrasting in interspecific introgression. *New Phytologist* 163: 573-584
- Stebbins, G. L. 1942. The genetic approach to problems of rare and endemic species. *Madroño* 6: 241-272
- Stebbins, G. L. 1959. The role of hybridization in evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society*. 103: 231-251
- Stebbins, G. L. y K. Daly. 1961. Changes in the variation pattern of a hybrid population of *Helianthus* over an eight year period. *Evolution* 15: 60-71
- Stokoe, R. L., M. Sheperd, D. Lee, G. Nikles y J. R. Henry. 2001. Natural inter-subgeneric Hybridization between *Eucalyptus acmenoides* Schauer and *Eucalyptus cloeziana* F. Muell (Myrtaceae) in Southeast Queensland. *American Journal of Botany* 88: 563-570
- Stuessy, T. F. 1990. Plant taxonomy. The systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press. Nueva York, EU.
- Swartz, L. M. y S. J. Brunsfeld. 2002. The morphological and genetic distinctness of *Botrychium minganense* and *B. crenulatum* as assessed by morphometric analysis and RAPD markers. *American Fern Journal* 92: 249-269
- Templeton, A. R. 1986. Coadaption and outbreeding depression. Pp. 105-116. En: *Conservation biology: the science of scarcity and diversity*. Soule, M. E. (ed.). Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts, EU.
- Tovar-Sánchez, E. y Oyama, K. 2004. Natural hybridization between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany* 91: 1352-1363

- Tovar-Sánchez, E., P. Mussali-Galante, R. Esteban-Jiménez, D. Piñero, D. M. Arias, O. Dorado y K. Oyama. 2008. Chloroplast DNA polymorphism reveals geographic structure and introgression in the *Quercus crassifolia* × *Quercus crassipes* hybrid complex in Mexico. *Botany* 86: 228-239
- Uwolo, A. L. y J. S. Denslow. 2008. Characteristics of the *Psidium cattleianum* (Myrtaceae) seed bank in Hawaiian lowland wet forests. *Pacific Science* 62: 129-135
- Vilà, M., E. Weber y C. M. D. Antonio. 2000. Conservation implications of invasion by plant hybridization. *Biological Invasions* 3: 207-217
- Vilchez-Perozo, J., I. Bracho, N. Arenas, M. Marín y L. Martínez. 2004. Respuesta a la técnica de acodo aéreo en plantas de guayabo (*Psidium guajava* L.) tolerantes al nematodo *Meloidogyne incognita*. *Revista de la Facultad de Agronomía* 1: 22-27
- Webb, A. y Carlquist, S. 1964. Leaf anatomy as an indicator of *Salvia apiana-mellifera* introgression. *Aliso* 5:437-449
- Wilson, P. 1992. On inferring hybridity from morphological intermediacy. *Taxon* 41: 11-23
- Wilson, P. G., M. M. O'Brien, P. A. Gadek y C. J. Quinn. 2001. Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamiliar groups. *American Journal of Botany* 88: 2013-2025
- Wiltshire, R. J. y J. B. Reid. 1987. Genetic variation in the spinning Gum, *Eucalyptus perriniana* F. Muller ex Rodway. *Australian Journal of Botany* 35: 33-47
- Woodruff, D. S. 1989. Genetic anomalies associated with *Cerion* hybrid zones: the origin and maintenance of new electromorphic variants called hybridzymes. *Biological Journal of the Linnean Society* 36: 281-294
- Zobel, B. 1951. Oleoresin composition as a determinant of pine hybridity. *Botanical Gazette* 113: 221-227

# Apéndice 1. Conteo de caracteres en sitios mixtos/simpátridos de *Psidium sartorianum* y *P. socorrense* en la Isla Socorro, México.

Caracter	<i>P. sartorianum</i>	Híbrido putativo	<i>P. socorrense</i>	Fenotipo
<b>400 m s.n.m.</b>				
LT	36.14 ± 9.28 <sup>a</sup>	40.71 ± 9.12 <sup>b</sup>	46.48 ± 8.68 <sup>c</sup>	intermedio
LL	33.03 ± 8.69 <sup>a</sup>	37.52 ± 8.53 <sup>b</sup>	42.51 ± 8.34 <sup>c</sup>	intermedio
LP	3.11 ± 0.82 <sup>a</sup>	3.19 ± 0.94 <sup>a</sup>	3.97 ± 0.82 <sup>b</sup>	tipo-sartorianum
AM	16.09 ± 4.08 <sup>a</sup>	18.68 ± 4.91 <sup>b</sup>	21.79 ± 4.17 <sup>c</sup>	intermedio
LBAM	13.86 ± 4.94 <sup>a</sup>	14.96 ± 3.88 <sup>b</sup>	16.73 ± 3.63 <sup>c</sup>	intermedio
DP	0.82 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.18 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.16 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
DVM	0.41 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.36 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.06 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
NV	5.38 ± 1.06 <sup>a</sup>	6.39 ± 1.14 <sup>b</sup>	7.56 ± 1.15 <sup>c</sup>	intermedio
AV	38.08 ± 2.83 <sup>a</sup>	34.90 ± 5.86 <sup>b</sup>	34.26 ± 2.98 <sup>c</sup>	intermedio
DV	5.08 ± 1.20 <sup>a</sup>	4.72 ± 1.54 <sup>b</sup>	5.20 ± 1.06 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
A¼A	15.15 ± 3.64 <sup>a</sup>	17.48 ± 4.59 <sup>b</sup>	20.96 ± 3.99 <sup>c</sup>	intermedio
A½B	12.73 ± 4.33 <sup>a</sup>	14.84 ± 3.93 <sup>b</sup>	16.24 ± 3.37 <sup>c</sup>	intermedio
P%	8.74 ± 1.64 <sup>a</sup>	7.90 ± 2.08 <sup>b</sup>	8.62 ± 1.38 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
LBAM%	37.69 ± 5.83 <sup>a</sup>	37.03 ± 7.13 <sup>b</sup>	36.01 ± 3.95 <sup>b</sup>	tipo-socorrense
LL/AM	2.07 ± 0.30 <sup>a</sup>	2.05 ± 0.29 <sup>b</sup>	1.96 ± 0.20 <sup>b</sup>	tipo-sartorianum
LBAM/AM	0.86 ± 0.22 <sup>a</sup>	0.82 ± 0.17 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.10 <sup>c</sup>	intermedio
COB	567.92 ± 283.27 <sup>a</sup>	728.37 ± 349.97 <sup>b</sup>	946.34 ± 347.24 <sup>c</sup>	intermedio
Número de caracteres intermedios				10:07
<b>500 m s.n.m.</b>				
LT	36.14 ± 9.28 <sup>a</sup>	33.69 ± 8.28 <sup>b</sup>	46.48 ± 8.68 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
LL	33.03 ± 8.69 <sup>a</sup>	31.06 ± 7.58 <sup>b</sup>	42.51 ± 8.34 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
LP	3.11 ± 0.82 <sup>a</sup>	2.63 ± 0.91 <sup>b</sup>	3.97 ± 0.82 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
AM	16.09 ± 4.08 <sup>a</sup>	15.41 ± 4.52 <sup>b</sup>	21.79 ± 4.17 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
LBAM	13.86 ± 4.94 <sup>a</sup>	12.32 ± 3.27 <sup>b</sup>	16.73 ± 3.63 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
DP	0.82 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.77 ± 0.14 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.16 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
DVM	0.42 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.28 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.06 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
NV	5.38 ± 1.06 <sup>a</sup>	6.17 ± 1.11 <sup>b</sup>	7.56 ± 1.15 <sup>c</sup>	intermedio
AV	38.08 ± 2.83 <sup>a</sup>	37.22 ± 2.96 <sup>b</sup>	34.26 ± 2.98 <sup>c</sup>	intermedio
DV	5.08 ± 1.20 <sup>a</sup>	4.28 ± 1.14 <sup>b</sup>	5.20 ± 1.06 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
A¼A	15.15 ± 3.64 <sup>a</sup>	14.46 ± 4.48 <sup>b</sup>	20.96 ± 3.99 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
A½B	12.73 ± 4.33 <sup>a</sup>	12.20 ± 3.58 <sup>b</sup>	16.24 ± 3.37 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
P%	8.74 ± 1.64 <sup>a</sup>	7.78 ± 1.52 <sup>b</sup>	8.62 ± 1.38 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
LBAM%	37.69 ± 5.83 <sup>a</sup>	36.52 ± 3.40 <sup>b</sup>	36.01 ± 3.95 <sup>b</sup>	tipo-socorrense
LL/AM	2.07 ± 0.30 <sup>a</sup>	2.05 ± 0.23 <sup>a</sup>	1.96 ± 0.20 <sup>b</sup>	tipo-sartorianum
LBAM/AM	0.86 ± 0.22 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.10 <sup>c</sup>	intermedio
COB	567.92 ± 283.27 <sup>a</sup>	504.55 ± 271.06 <sup>b</sup>	946.34 ± 347.24 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
Número de caracteres intermedios				03:14
<b>600 m s.n.m.</b>				
LT	36.14 ± 9.28 <sup>a</sup>	47.28 ± 8.16 <sup>b</sup>	46.48 ± 8.68 <sup>b</sup>	tipo-socorrense
LL	33.03 ± 8.69 <sup>a</sup>	43.65 ± 7.87 <sup>b</sup>	42.51 ± 8.34 <sup>b</sup>	tipo-socorrense
LP	3.11 ± 0.82 <sup>a</sup>	3.63 ± 0.90 <sup>b</sup>	3.97 ± 0.82 <sup>c</sup>	intermedio
AM	16.09 ± 4.08 <sup>a</sup>	23.38 ± 4.40 <sup>b</sup>	21.79 ± 4.17 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
LBAM	13.86 ± 4.94 <sup>a</sup>	18.53 ± 3.95 <sup>b</sup>	16.73 ± 3.63 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
DP	0.82 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.85 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.16 <sup>b</sup>	transgresivo pos.
DVM	0.42 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.06 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
NV	5.38 ± 1.06 <sup>a</sup>	6.09 ± 1.60 <sup>b</sup>	7.56 ± 1.15 <sup>c</sup>	intermedio
AV	38.08 ± 2.83 <sup>a</sup>	35.77 ± 6.23 <sup>b</sup>	34.26 ± 2.98 <sup>c</sup>	intermedio
DV	5.08 ± 1.20 <sup>a</sup>	5.29 ± 1.80 <sup>b</sup>	5.20 ± 1.06 <sup>b</sup>	transgresivo pos.
A¼A	15.15 ± 3.64 <sup>a</sup>	22.13 ± 4.53 <sup>b</sup>	20.96 ± 3.99 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
A½B	12.73 ± 4.33 <sup>a</sup>	17.67 ± 4.06 <sup>b</sup>	16.24 ± 3.37 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
P%	8.74 ± 1.64 <sup>a</sup>	7.81 ± 1.98 <sup>b</sup>	8.62 ± 1.38 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
LBAM%	37.69 ± 5.83 <sup>a</sup>	39.71 ± 14.02 <sup>b</sup>	36.01 ± 3.95 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
LL/AM	2.07 ± 0.30 <sup>a</sup>	1.89 ± 0.27 <sup>b</sup>	1.96 ± 0.20 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
LBAM/AM	0.86 ± 0.22 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.17 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.10 <sup>b</sup>	tipo-socorrense
COB	567.92 ± 283.27 <sup>a</sup>	1006.64 ± 344.86 <sup>b</sup>	946.34 ± 347.24 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
Número de caracteres intermedios				03:14
<b>700 m s.n.m.</b>				
LT	36.14 ± 9.28 <sup>a</sup>	41.20 ± 7.82 <sup>b</sup>	46.48 ± 8.68 <sup>c</sup>	intermedio
LL	33.03 ± 8.69 <sup>a</sup>	37.48 ± 7.40 <sup>b</sup>	42.51 ± 8.34 <sup>c</sup>	intermedio
LP	3.11 ± 0.82 <sup>a</sup>	3.72 ± 1.02 <sup>b</sup>	3.97 ± 0.82 <sup>c</sup>	intermedio
AM	16.09 ± 4.08 <sup>a</sup>	20.41 ± 4.01 <sup>b</sup>	21.79 ± 4.17 <sup>c</sup>	intermedio
LBAM	13.86 ± 4.94 <sup>a</sup>	15.88 ± 3.15 <sup>b</sup>	16.73 ± 3.63 <sup>c</sup>	intermedio
DP	0.82 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.22 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.16 <sup>b</sup>	tipo-socorrense
DVM	0.42 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.06 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
NV	5.38 ± 1.06 <sup>a</sup>	5.42 ± 0.94 <sup>a</sup>	7.56 ± 1.15 <sup>b</sup>	tipo-sartorianum
AV	38.08 ± 2.83 <sup>a</sup>	37.54 ± 6.56 <sup>b</sup>	34.26 ± 2.98 <sup>c</sup>	intermedio
DV	5.08 ± 1.20 <sup>a</sup>	4.73 ± 0.99 <sup>b</sup>	5.20 ± 1.06 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
A¼A	15.15 ± 3.64 <sup>a</sup>	18.71 ± 3.69 <sup>b</sup>	20.96 ± 3.99 <sup>c</sup>	intermedio
A½B	12.73 ± 4.33 <sup>a</sup>	15.05 ± 3.24 <sup>b</sup>	16.24 ± 3.37 <sup>c</sup>	intermedio
P%	8.74 ± 1.64 <sup>a</sup>	9.15 ± 2.41 <sup>b</sup>	8.62 ± 1.38 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
LBAM%	37.69 ± 5.83 <sup>a</sup>	39.03 ± 6.84 <sup>b</sup>	36.01 ± 3.95 <sup>c</sup>	transgresivo pos.
LL/AM	2.07 ± 0.30 <sup>a</sup>	1.86 ± 0.28 <sup>b</sup>	1.96 ± 0.20 <sup>c</sup>	transgresivo neg.
LBAM/AM	0.86 ± 0.22 <sup>a</sup>	0.78 ± 0.14 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.10 <sup>b</sup>	tipo-socorrense
COB	567.92 ± 283.27 <sup>a</sup>	774.76 ± 286.44 <sup>b</sup>	946.34 ± 347.24 <sup>c</sup>	intermedio
Número de caracteres intermedios				09:08