



Estructura y diversidad genética de *Annona squamosa* en huertos familiares mayas de la península de Yucatán

Genetic structure and diversity of *Annona squamosa* in Mayan homegardens of Yucatán Peninsula

Carmen Salazar¹, Carlos F. Vargas-Mendoza^{2*} y José Salvador Flores¹

¹ Departamento de Botánica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán. Km 15.5 Carretera Mérida-Xtmaxuil, Apartado postal 4-116, Itziminá 97100 Mérida, Yucatán, México.

² Laboratorio de Variación y Evolución, Departamento de Zoología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Casco de Santo Tomás, 11340 México, D.F., México.

*Correspondencia: carfvargas@yahoo.com

Resumen. Los huertos familiares del sureste de México son sitios donde se ha domesticado y conservado una alta diversidad de especies y variedades, lo cual ha generado cambios en su variabilidad genética. Con el fin de conocer la relación entre la actividad económica en una región y la distribución de la variabilidad genética de *Annona squamosa* L. —uno de los árboles frutales más representativos en estos sistemas—, se analizaron árboles en huertos de los estados de Yucatán y Quintana Roo mediante el uso de marcadores isoenzimáticos. El estudio se llevó a cabo en 14 poblaciones de 5 regiones que diferían en su principal actividad económica. Los resultados muestran que todos los marcadores fueron polimórficos con 3 o 4 alelos. El número promedio de alelos y de alelos en loci polimórficos fueron altos respecto a otros árboles cultivados, lo que sugiere que los efectos de la deriva génica no han sido importantes. La heterocigosis promedio observada fue de 0.373 ± 0.03 y la esperada de 0.470 ± 0.023 . El análisis de la distribución jerárquica de la variación indica que el mayor nivel de variación (85%) se encuentra dentro de las poblaciones. La variación entre poblaciones de una misma región fue del 12% y menos importante entre regiones, donde fue del 2%, lo que indica que no hay un efecto de las actividades socioeconómicas en la distribución de la variabilidad genética.

Palabras clave: Annonaceae, genética de poblaciones, saramuyo, solares, sureste de México

Abstract. Many plant and animal species have been domesticated in southeastern Mexican homegardens, resulting in changes in their genetic variability. One of the most representative fruit trees in these systems is *Annona squamosa* L. We wanted to know if the predominant type of economic activity in a given area affects the distribution of genetic variability in *A. squamosa*. In order to answer this question, we analyzed 14 populations in 5 different socioeconomic regions in the states of Yucatán and Quintana Roo, using isozyme analysis. All the enzyme markers were polymorphic with 3 or 4 alleles. The mean number of alleles and alleles in polymorphic loci were high than other cultivated trees, suggesting no effect of genetic drift. The mean observed heterozygosity was 0.373 ± 0.03 , while the expected heterozygosity was 0.470 ± 0.023 . The results from the hierarchical analysis indicated that the greatest variation (85 %) was explained by differences between genotypes within populations. Variations among populations within a socioeconomic region (12 %) and among regions (2 %) were less important. This indicated that there is no effect of socioeconomic activity on the distribution of genetic variability.

Key words: Annonaceae, population genetics, sugar apple, forest gardens, Mexico southeast.

Introducción

Los huertos familiares proveen a sus propietarios de alimentos, materiales para la construcción, combustibles, así como de plantas medicinales y de ornato (Ewel, 1999;

Kumar y Nair, 2004). Aunque son agroecosistemas muy difundidos en todo el mundo

(Levasseur y Olivier, 2000; Berkers, 2004; Kumar y Nair, 2004; García-Frapolli et al., 2008), las características de cada huerto familiar con respecto a la composición de especies, dinámica y estructura son muy distintas, incluso en el mismo poblado (De Clerck y Negreros-Castillo, 2000).

Sin embargo, una de las características que comparten

Recibido: 05 octubre 2009; aceptado: 24 febrero 2010

prácticamente todos es la alta diversidad de especies en diferentes estratos (Ewel, 1999; De Clerck y Negreros-Castillo, 2000; García-Frapolli et al., 2008). Los huertos son sistemas que tienen un equilibrio en los procesos bioquímicos muy parecido al de los bosques naturales que los rodean (De Clerck y Negreros-Castillo, 2000; Kumar y Nair, 2004; García-Frapolli et al., 2008), lo cual hace que sean sustentables y sostenibles (Ewel, 1999); por esto, su rentabilidad e importancia en la economía han sido muy estudiadas (Ewel, 1999; García-Frapolli et al., 2008).

Se sabe que las poblaciones humanas están en constante y compleja interacción con las plantas y animales que las rodean (Szabó, 1999). Las especies utilizadas para alimento han experimentado por muchos siglos los efectos de la selección y sus reservorios genéticos se han explotado causando en algunos casos erosión genética, pero la selección humana también ha conducido a su adaptación a las condiciones locales imperantes (por ejemplo, falta de agua, suelos pobres, etc.), lo cual puede mantener la variación genética para toda la especie (Szabó, 1999). Sin embargo, uno de los puntos que hasta la fecha no se ha evaluado con profundidad en los huertos familiares de la península de Yucatán es precisamente el que tiene que ver con la variación genética que existe en las plantas y anima-

les dentro de estos sitios (Caballero, 1992; Kumar y Nair, 2004).

La importancia de conocer la variación genética radica en la factibilidad de diseñar estrategias eficientes de manejo y explotación, así como mantener los niveles convenientes de germoplasma para las generaciones futuras (Marshall y Brown, 1975, 1983; Guarino y Maxted, 1996; Otero-Arnaiz et al., 2005). La información generada es indispensable para programas de reproducción adecuados y de selección de variedades resistentes a enfermedades y parásitos (Harlan, 1975; Marshall y Brown, 1983). En este sentido, se desconoce si los huertos mayas son reservorios de variación genética de plantas, si hay una estructura espacial de la variación genética asociada a los diferentes factores culturales, o si el manejo por el hombre ha hecho que se pierda o conserve la variación (Hernández-X, 1993; García-Frapolli et al., 2008). En algunas otras comunidades rurales (fuera de la península de Yucatán), sí se ha evaluado este parámetro para especies de cactáceas y se ha visto el efecto que tiene el manejo sobre la distribución de la variabilidad genética y algunos atributos morfológicos (Casas et al., 2001; Otero-Arnaiz et al., 2005).

Por otro lado, en la península de Yucatán se ha venido dando un fenómeno de regionalización socioeconómica de

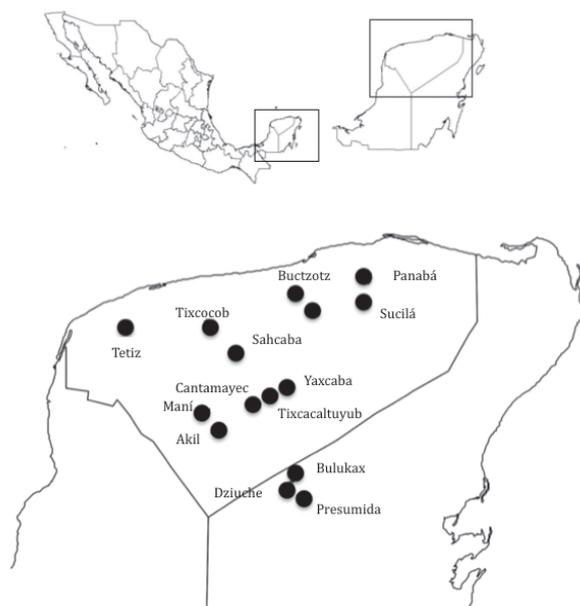


Figura 1. Mapa de distribución geográfica de las 14 localidades muestreadas en la península de Yucatán; 3 en el estado de Quintana Roo y 11 en Yucatán.

las comunidades rurales y a la fecha se reconocen al menos 5 zonas que mantienen una actividad principal: ganadera, frutícola, henequenera, milpera o forestal (Villanueva-Mukul, 1990; Batllori et al., 2000; Fig 1). En estas zonas existen los huertos familiares tradicionales y en ellos se encuentran grupos de plantas comunes y otras que sólo se ven en algunos de estos huertos en cada zona (Caballero, 1992; Flores 1993; García de Miguel, 2000).

En poblaciones de plantas no cultivadas o manejadas se ha visto que cuando en un ambiente existen presiones de selección heterogéneas se puede tener altos niveles de variación aunque con altos grados de diferenciación (Petit y Excoffier, 2009). En plantas que han estado sujetas a manejo hay evidencias de que esto también se puede dar (Otero-Arnaiz et al., 2005). De hecho, al comparar los valores de G_{ST} entre plantas cultivadas y no cultivadas, Hamrick y Godt (1997) observaron mayor diferenciación en los cultivos ($G_{ST} = 0.339$ para plantas cultivadas contra $G_{ST} = 0.212$ en plantas no cultivadas). Este punto fue el que nos llevó a preguntar qué efecto podría tener la zonificación de la península de Yucatán en la estructuración de la variación genética de *Annona squamosa* L., una de las plantas más características de los huertos familiares (Flores, 1993).

Las anonáceas son una familia bien representada en la península (Sosa et al., 1985), y *A. squamosa* es una de las especies neotropicales más frecuentes en los huertos mayas (Caballero, 1992). A pesar de la importancia de esta especie, hay muy pocos trabajos realizados sobre ella; no se tiene certeza de cuáles son sus centros de origen y domesticación, sus usos potenciales y la forma en que se maneja, ni cuál la composición genética en los huertos (Cabrera Cano et al., 2004).

En esta línea, y con el grado de zonificación que hay en la península de Yucatán, surgieron las siguientes preguntas: *a)* ¿Cuánta variación genética existe actualmente en *A. squamosa*?; *b)* ¿Cómo es la distribución espacial de la variación genética?; *c)* ¿Qué tan diferenciadas están las poblaciones de *A. squamosa* pertenecientes a regiones económicas distintas y dentro de una misma región económica?, y *d)* ¿si la zonificación económica tiene algún patrón en la distribución de los genotipos (por ejemplo, que sólo se encuentren algunos alelos en alguna de las regiones)? Para responder estas preguntas se analizaron plantas adultas de 168 huertos familiares en 14 poblaciones de 2 estados de la península de Yucatán, usando isoenzimas.

Materiales y métodos

Zona de estudio. Las 5 zonas donde se recolectó fueron: *a)*

la región henequenera, en los poblados de Tetiz, Tixcocob, y Sahcabá; *b)* la región frutícola, en los poblados Akil y Maní; *c)* la región milpera, en los poblados Tixcacaltuyub, Yaxcabá y Cantamayec; *d)* la región ganadera, en las localidades de Buctzotz, Panabá y Sucilá, y *e)* la región forestal en los poblados de Dziuché, Presumida y Bulukax (Fig. 1).

Annona squamosa L. Árbol tropical de 4 a 8 m de alto, con follaje disperso. Hojas lanceolado-elípticas de 6-12 mm de largo, sin estípulas (Standley y Steyermark, 1946; Flores, 1993; Cabrera Cano et al., 2004). Flores con pedicelos bracteolados en la base con 3 sépalos valvados y 6 pétalos en 2 series, los interiores rudimentarios, carnosos amarillos a verde pálido. Las anteras no presentan filamentos y suelen estar cubiertas por los pétalos en toda la antesis. Produce un fruto globoso o cordado ovoide de 8 a 9 cm de diámetro, donde los múltiples carpelos no están fusionados completamente y sobresalen como protuberancias redondeadas. La pulpa es blanca amarillenta, cremosa y muy dulce, con múltiples semillas (Cabrera Cano et al., 2004). Se conoce como saramuyo, tsalmuy en maya, poshte en náhuatl y sugar apple en inglés (Standley y Steyermark, 1946; Cabrera Cano et al., 2004). La polinización en esta planta, como en todas las especies del género, es por escarabajos de las familias Nitidulidae, Curculionidae y Chrysomelidae (Gottsberger, 1999). No se conoce el dispersor de los frutos; aunque existen diversos grupos de aves que pueden alimentarse de ellos, no se ha establecido claramente que sean dispersores (Flores, 1993; Gottsberger, 1999).

Se cree que su origen está en el sureste de México o en las Antillas (Zeven y De Wet, 1982) pero no se conoce con certeza. Se encuentra en lugares secos aunque crece bien en regiones de humedad media (Flores, 1993, 1997). Actualmente se distribuye de manera natural en la vertiente del Pacífico desde Michoacán hasta Oaxaca, en toda la península de Yucatán, Cuba y Centro América, entre los 0 y los 1000 m snm (Hernández Martínez y Cabrera Cano, 1996). También se encuentra en los huertos familiares de Honduras, Belice, Nicaragua, Costa Rica y El Salvador (Flores, 1997).

Diseño de la recolección y almacenamiento. Se muestrearon árboles adultos en 12 distintos huertos familiares en cada uno de los 14 poblados (Fig. 1), para hacer un total de 168 huertos. Las muestras se recolectaron en huertos que conservaran las características siguientes: *a)* casa tradicional maya; *b)* huerto familiar de autoconsumo, y *c)* albarrada de piedra. Adicionalmente, sólo se muestreó en huertos donde se contó con el permiso del propietario para poder recolectar.

De cada árbol no muy joven ni senescente se tomaron 1 o 2 hojas sin daño aparente, se embolsaron y etiquetaron, y se mantuvieron en hielo hasta llegar al laboratorio donde

se colocaron en un ultracongelador a -80°C . Las hojas refrigeradas se procesaron al día siguiente de la recolección para evitar que se degradaran. Se trituraron en morteros con nitrógeno líquido, añadiendo un *buffer* de extracción (Samuel et al., 1991) modificado (a $\text{pH} = 8$, con PVP al 11 %), para posteriormente efectuar la electroforesis, o bien, almacenarlas a -80°C hasta poder realizarla después.

Electroforesis. La electroforesis se realizó en geles de almidón al 13 % en 2 sistemas (ácido bórico / ácido ítrico $\text{pH} = 7.8$; ácido bórico $\text{pH} 8.5/8.0$), según Samuel et al. (1991). Se probaron 12 sistemas enzimáticos. Los resultados fueron repetibles y de lectura confiable con 2 loci para AcPh (E.C.3.1.3.2), 2 para PER (E.C.1.11.1.7), 1 locus para SKDH (E.C. 1.1.1.25) y 1 para la enzima málica ME (E.C. 1.1.1.40). En esta forma, se obtuvieron 6 marcadores independientes de buena lectura.

Análisis. Con los genotipos obtenidos se construyó una matriz de individuos por población y se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas (Wendel y Weeden, 1989). Se analizaron diferentes parámetros de la variabilidad genética, tales como el índice de polimorfismo al 95% (P), el número de alelos por locus (A), además del número de alelos promedio en loci polimórficos (Ap). Estos valores se calcularon de manera independiente para cada población, usando el programa GDA ver. 1.0 (Lewis y Zaykin, 1999). Con estos valores se comparó si había diferencias en A y Ap entre poblados y zonas económicas, con una prueba de ANOVA de una vía. Se realizó una prueba de Shapiro-Wilke (Cuadras et al., 1984) para probar la normalidad de las variables y cumplir con los supuestos del ANOVA (Zar, 1986). Para el caso del polimorfismo promedio, las comparaciones se hicieron con una prueba de rangos (prueba de Kruskal-Wallis; Zar, 1986). Las pruebas estadísticas se hicieron con el programa Stata/MP ver 10 (StataCorp LP 2009).

Se contaron los heterocigotos observados promedio (H_o) para cada población. También se estimó la diversidad genética, como el índice de heterocigosis esperada (H_e), (Hartl y Clark, 1989) usando el programa GDA (Lewis y Zaykin, 1999). Se calculó el coeficiente de endogamia (f) y el valor de la tasa de entrecruzamiento en equilibrio de endogamia por población (t_e), a partir de los valores del coeficiente de endogamia como $t_e = 1-f / 1+f$ (Hartl y Clark, 1989). De la misma forma que en el caso anterior, se comparó la diversidad y heterocigosis promedio entre zonas económicas con una prueba de ANOVA de una vía (Zar, 1986) e igualmente se probó la distribución normal de las variables con la prueba de Shapiro-Wilke (Cuadras et al., 1984) usando el programa Stata/MP ver. 10 (StataCorp LP, 2009).

Para conocer la estructura genética de las poblaciones se hizo un análisis de varianza molecular (AMOVA)

entre todas las poblaciones; asimismo, se probó si existe diferenciación genética entre las regiones socioeconómicas usando el programa Arlequín ver. 3.1 (Excoffier et al., 2006).

Se construyó una matriz de valores de F_{ST} pareados entre todas las poblaciones y posteriormente se hizo una estandarización de cada valor usando la expresión de Rousset (1997), $F_{ST} / 1-F_{ST}$. Lo anterior se hizo para probar si existía una relación entre la diferenciación genética entre pares de poblaciones con la distancia geográfica que las separa, esta última estimada en kilómetros. La relación se midió con una prueba de Mantel y con una correlación parcial no paramétrica usando 5000 remuestros para conocer la significancia. Lo anterior se hizo con el programa FSTAT (Goudet, 2002).

Finalmente, se calculó la distancia genética de Nei (1978) en 3 diferentes niveles: *a*) entre pares de poblaciones; *b*) entre poblaciones dentro de cada zona, y *c*) entre las diferentes zonas socioeconómicas usando el programa MEGA ver. 3.0 (Kumar et al., 2005). Con los datos de distancia entre pares de poblaciones se hizo una agrupación por *neighbor-joining* (Saitou y Nei, 1987), con el programa GDA ver. 1.0 (Lewis y Zaykin, 1999).

Resultados

Todos los marcadores fueron polimórficos con 3 (Per-1, Per-2 y Sdh-1) o 4 (AcPh-1, AcpH-2 y ME) alelos. La única población que presentó alelos exclusivos fue Cantamayec (alelo D para la isoenzima ME). El polimorfismo promedio ($P \pm EE$) para *A. squamosa* fue de $86.9 \pm 3.1\%$, así como los alelos y alelos promedio para loci polimórficos ($A \pm EE$ y $Ap \pm EE$) fueron 2.464 ± 0.070 y 2.687 ± 0.060 respectivamente (Cuadro 1). Hay 5 poblaciones con un polimorfismo (P) del 100 % (Panabá, Maní, Dziuché, Presumida y Tetiz), mientras que la población con el menor polimorfismo fue Buctzotz (66.7%). En cuanto a los alelos promedio (A) los valores más altos están en Tixcacaltuyub y Panabá ($A=2.833$), siendo el valor más bajo el de Buctzotz ($A=2.000$) que pertenece a la misma región socioeconómica (ganadera). En este mismo sentido, al analizar las zonas económicas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores promedio del polimorfismo (P ; Kruskal-Wallis $H = 0.413$ $P > 0.1$), alelos promedio (A ; ANOVA $F = 0.365$; $GL = 4,9$; $P > 0.1$; Prueba de Shapiro-Wilke $W = 0.970$ $P=0.875$) y alelos para loci polimórficos (Ap ; ANOVA, $F = 1.848$; $GL = 4,9$; $P > 0.1$; Prueba de Shapiro-Wilke $W = 0.962$ $P=0.751$).

La heterocigosis promedio observada (H_o) fue de 0.373

Cuadro 1. Estimación de las 14 localidades de *Annona squamosa* en Yucatán, usando el programa GDA (Lewis y Zaykin, 1999). Polimorfismo promedio (*P*), alelos (*A*), promedio de alelos para loci polimórficos (*Ap*), tamaño de muestra (*n*)

<i>Región socioeconómica / Localidad</i>	<i>n</i>	<i>P</i>	<i>A</i>	<i>Ap</i>
Milpera				
Cantamayec	9	83.3%	2.667	3.000
Tixcaltuyub	10	83.3%	2.833	3.200
Yaxcabá	9	83.3%	2.333	2.600
		83.3% ± 0.000%	2.611 ± 0.065	2.933 ± 0.093
Ganadera				
Buctzotz	7	66.7%	2.000	2.500
Panabá	8	100.0%	2.833	2.833
Sucilá	7	66.7%	2.167	2.750
		77.8% ± 3.7%	2.333 ± 0.194	2.694 ± 0.030
Frutícola				
Akil	8	83.3%	2.167	2.400
Maní	10	100.0%	2.667	2.667
		91.7% ± 1.4%	2.417 ± 0.125	2.533 ± 0.036
Forestal				
Bulukax	8	83.3%	2.333	2.600
Dziuché	9	100.0%	2.667	2.667
Presumida	8	100.0%	2.333	2.333
		94.4% ± 1.0%	2.444 ± 0.037	2.533 ± 0.031
Henequenera				
Sahcabá	8	83.3%	2.333	2.600
Tetiz	8	100.0%	2.667	2.667
Tixcocob	7	83.3%	2.500	2.800
		88.8% ± 1.0%	2.500 ± 0.028	2.689 ± 0.010
Promedio ± EE		86.9% ± 3.1%	2.464 ± 0.070	2.687 ± 0.060

Cuadro 2. Poblaciones de *Annona squamosa* L. analizadas en 14 localidades de la península de Yucatán, pertenecientes a 5 regiones con diferente actividad socioeconómica: milpera, ganadera, frutícola, forestal y henequenera. Heterocigosidad esperada (diversidad genética) H_e , heterocigosidad observada (H_o), coeficiente de endogamia (f) y tasa de entrecruzamiento (t_e)

<i>Población</i>	H_e	H_o	f	t_e
Cantamayec	0.509	0.293	0.438	0.391
Tixcaltuyub	0.431	0.388	0.101	0.817
Yaxcabá	0.429	0.303	0.307	0.530
	0.456	0.328	0.282	0.579
Buctzotz	0.349	0.231	0.348	0.484
Panabá	0.622	0.588	0.054	0.898
Sucilá	0.391	0.338	0.154	0.733
	0.454	0.386	0.185	0.705
Akil	0.441	0.412	0.072	0.866
Maní	0.615	0.552	0.148	0.742
	0.528	0.482	0.11	0.804
Bulukax	0.424	0.479	-0.142	1.331
Dziuché	0.590	0.434	0.333	0.500
Presumida	0.403	0.315	0.208	0.656
	0.472	0.409	0.133	0.829
Sahcabá	0.461	0.365	0.218	0.642
Tetiz	0.480	0.181	0.623	0.232
Tixcocab	0.435	0.339	0.222	0.637
	0.459	0.295	0.354	0.504
Promedio ± EE	0.470 ± 0.023	0.373 ± 0.031	0.224 ± 0.050	0.634 ± 0.071

± 0.031 y la esperada (H_e) de 0.470 ± 0.023 (Cuadro 2). En cuanto al índice de endogamia (f), el valor promedio general fue de 0.222 ± 0.050 , esto indica que existe algún grado de endogamia entre los árboles de *A. squamosa*. La tasa de entrecruzamiento promedio (t_e) fue de 0.634 ± 0.071 , lo cual se interpreta como que esta planta tiene un sistema de reproducción mixto, y puede presentar como máximo un 37% de autofecundación ($selfing = 1 - t_e$). El valor más alto de endogamia entre las poblaciones se encontró en Tetiz (0.623), en tanto que el más alto de heterocigosis observada (H_o) estuvo en Panabá (0.588) con un valor muy bajo de $f = 0.051$.

En el análisis por zonas, la región henequenera tiene el promedio más bajo de $H_o = 0.295$ y por consiguiente, el más alto de endogamia $f = 0.354$. Sin embargo, al hacer un análisis de varianza entre los parámetros, se observó que no existen diferencias significativas entre las zonas para ninguno de estos índices (H_e , $F = 1.014$ $GL = 4,9$ $P > 0.5$ Prueba de Shapiro-Wilke $W = 0.890$ $P = 0.080$; H_o , $F = 0.225$ $GL = 4,9$ $P > 0.9$ Prueba de Shapiro-Wilke $W = 0.974$ $P = 0.927$; f , $F = 0.781$ $GL = 4,9$ $P > 0.9$ Prueba de Shapiro-Wilke $W = 0.977$ $P = 0.951$; t_e , $F = 0.726$ $GL = 4,9$ $P > 0.9$ Prueba de Shapiro-Wilke $W = 0.948$ $P = 0.531$).

Respecto a los resultados obtenidos con el análisis de varianza molecular AMOVA (Cuadro 3), se observa que el porcentaje mayor de la varianza se encuentra entre los genotipos dentro de las poblaciones (85%). De igual forma, se observa que entre las poblaciones dentro de una zona o región socioeconómica, la varianza explicada es del 12% y finalmente, entre las zonas económicas solamente fue del 2% ($F_{SC} = 0.126$ $P \leq 0.001$; $F_{ST} = 0.146$ $P \leq 0.001$; $F_{CT} = 0.022$ $P = 0.259$).

No se registró una correlación significativa entre la distancia genética y la distancia geográfica (Fig. 2), es decir, con la prueba de Mantel y la correlación parcial no se observó una relación entre estos parámetros (correlación

parcial -0.00065 $P > 0.999$; $R^2 = 0.000$ $P > 0.999$). Este resultado quiere decir que al aumentar la distancia geográfica entre poblaciones no se incrementó la diferencia genética y a corta distancia las poblaciones pueden ser genéticamente muy diferentes. Finalmente, con el árbol obtenido con el *neighbor-joining* no se observó ninguna agrupación clara que corresponda a las zonas económicas o a las regiones geográficas (Fig. 3).

Discusión

Como se mencionó, es importante conocer los recursos naturales que hay en los huertos familiares y la manera de conservarlos (Caballero, 1992; Herrera Castro et al., 1993, 1994; Schnell et al., 1993; Heaton et al., 1997; Whittkus et al., 1998; Eyzaguirre y Linares 2004; Perfectti y Pascual, 2004), y una de las formas que ayuda a definir estrategias de manejo es caracterizar los niveles de variación y diferenciación genética (Hamrick y Loveless, 1986; Colunga-García Marín et al., 1996, 1997; Otero-Arnaiz et al., 2005). En este sentido, los resultados más importantes de nuestro trabajo fueron: a) saber que los niveles de variabilidad genética son altos en *A. squamosa* para todas las localidades en todas las zonas estudiadas de la península de Yucatán, y b) la poca diferenciación genética que existe entre las poblaciones y las regiones socioeconómicas. A continuación se discuten ambos puntos.

Diversidad genética. En los huertos de la península de Yucatán el polimorfismo de *A. squamosa* (87%, con una variación del 66.7 al 100%) es mayor que el que se registra para plantas cultivadas perennes (59.3%; Hamrick y Godt, 1997), así como para plantas cultivadas de sistema de cruce mixto (58.4%; Hamrick y Godt, 1997). Igualmente, se observa que estos valores son altos comparados con

Cuadro 3. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de las poblaciones de *Annona squamosa* L. en 14 localidades de la península de Yucatán, pertenecientes a 5 regiones con diferente actividad socioeconómica: milpera, ganadera, frutícola, forestal y henequenera

Fuente de variación	Suma de cuadrados	g.l.	Componentes de varianza	Porcentaje de varianza
Entre grupos	6.930	4	0.0072 Va	2.21 %
Entre poblaciones dentro de grupo	11.243	9	0.0404 Vb	12.34 %
Dentro de poblaciones	90.042	322	0.2796 Vc	85.45 %
Total	108.214	335	0.3273	

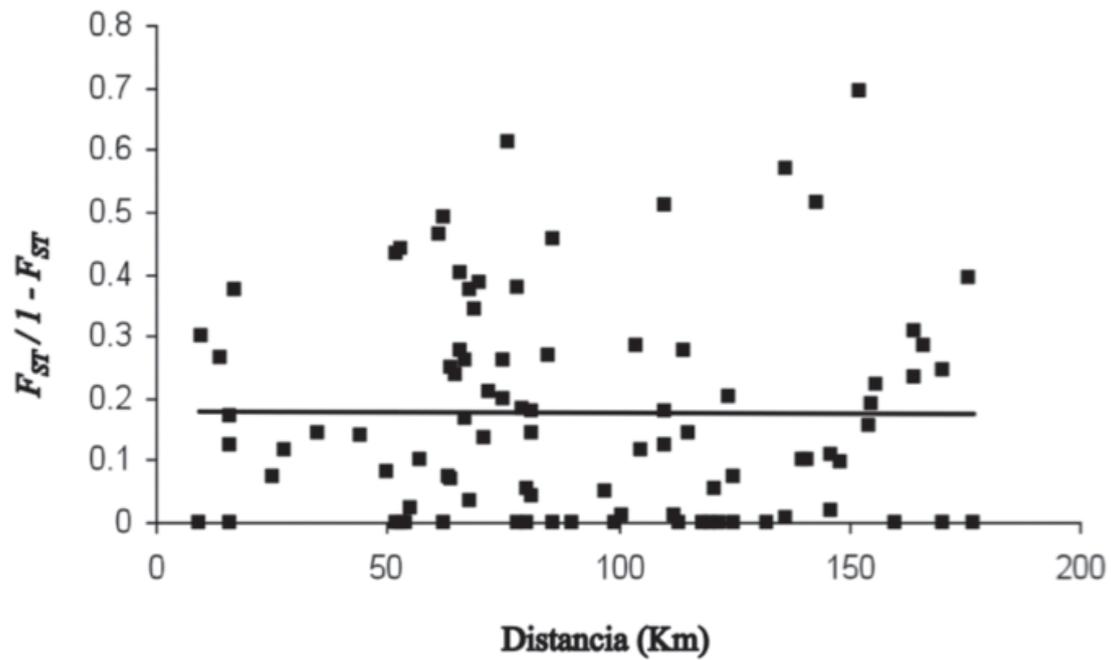


Figura 2. Relación de las diferencias genéticas entre pares de poblaciones medida como $F_{ST}/1 - F_{ST}$ y la distancia geográfica de cada localidad medida en kilómetros.

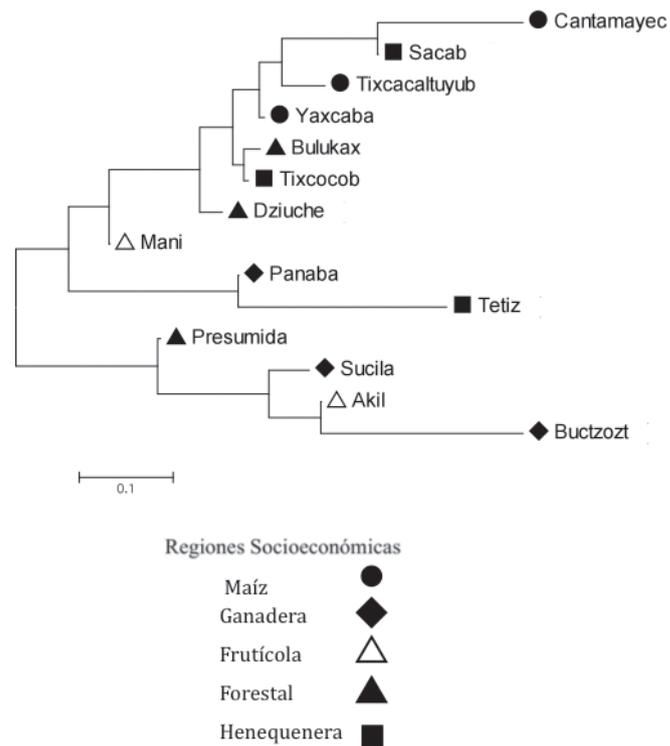


Figura 3. Árbol resultante usando un *neighbour-joining* con las distancias genéticas de Nei (1978) de las 14 localidades muestreadas. *Actividad principal de las regiones:* milpera, ●; ganadera, ◆; frutícola, △; forestal, ▲; henequenera, ■.

los de otros árboles cultivados del género *Prunus*, como el durazno (*P. persica* 11%), el albaricoque (*P. armeniaca* 58%), el ciruelo (*P. salicina* 67%) y el almendro (*P. dulcis* 65%; Byrne, 1990). Una especie de árbol cultivado, con valores similares de polimorfismo, es el aguacate (*Persea americana* 86%; Byrne, 1990). En *A. cherimola* (chirimoyo), otro frutal del mismo género, el valor de polimorfismo fue más alto (100%) que en *A. squamosa* (Lee y Ellstrand, 1987). El sistema reproductivo puede ser el principal factor que mantiene este nivel de polimorfismo en plantas como *A. squamosa*, que tiene un sistema de cruce mixto que le permite apareamientos abiertos y con menor posibilidad de autopolinización (Gottsberger, 1985; Franco-Mora et al., 2000).

El mismo patrón se encontró respecto a los alelos promedio, ya que en *A. squamosa* (2.46) el valor es más alto que en el durazno (1.14), albaricoque (1.75), ciruelo (2.17) y almendro (1.5; Byrne, 1990). Los únicos valores igualmente altos son, nuevamente, los del aguacate (2.57; Byrne, 1990) y del chirimoyo (2.47, obtenido con 15 loci isoenzimáticos; Lee y Ellstrand, 1987). Una de las explicaciones dadas para los valores bajos en árboles cultivados es que la mayoría se han propagado a partir de pocas clonas (Byrne, 1990); bajo este argumento se puede pensar que *A. squamosa* ha sido propagada preferentemente por una vía no clonal. Aunque no existen datos duros para este hecho (Flores 1997), los valores de polimorfismo y alelos promedio son congruentes con una propagación por semilla de entrecruza (Hamrick y Godt, 1997; Lowe, 2005).

En cuanto a la heterocigosis observada (H_o), se obtuvieron valores mayores al 35%, que se consideran altos si los comparamos con las especies tropicales registradas para Barro Colorado por Hamrick y Loveless (1986), donde el valor más alto fue de 0.226 (para *Sorocea affinis*). Estos autores señalan que en general se tiene un mayor nivel de heterocigosis en poblaciones de árboles tropicales que en otras especies arbóreas o fuera de los trópicos.

También es interesante encontrar que la tasa de entrecruzamiento de *A. squamosa* indica que se trata de un sistema de cruce mixto ($t_c=0.634$), es decir, que aun cuando las plantas se entrecruzan es posible que haya endogamia (Hartl y Clark, 1989). Esto se puede deber a que las plantas en una localidad están emparentadas y aunque se polinicen de manera cruzada, la endogamia es alta (endogamia biparental), o bien, a que los polinizadores en una misma flor están removiendo el polen y autopolinizándola (endogamia uniparental; Hartl y Clark, 1989), ya que estas plantas son protóginas y con una complicada biología floral.

Aunque generalmente la polinización es cruzada, mediada por escarabajos, si ésta falla, a veces se da la autopolinización (Gottsberg, 1985, 1990; Webber 1981 citado por Samuel et al., 1991). Asimismo, el que en la zona fru-

tícola se presenten los valores más bajos de endogamia (f cercanos a 0) puede deberse al elevado flujo génico que existe entre sus poblaciones, haciéndolas muy homogéneas genéticamente, o a una elevada polinización cruzada. En esta zona también es común que los árboles procedan de distintas regiones, por ser preponderantemente productora de frutales (García de Miguel, 2000).

Al comparar la diversidad genética de *A. squamosa* ($H_e = 0.47$) con plantas cultivadas pertenecientes al grupo de las dicotiledóneas se ve que el promedio en estas plantas es de $H_e = 0.159$ (Hamrick y Godt, 1997). En plantas perennes es de $H_e=0.180$ y en las de reproducción mixta es de $H_e=0.147$ (Hamrick y Godt, 1997). En todos estos grupos se observa que hay valores menores que los del saramuyo. Los valores de diversidad genética altos de *A. squamosa* muestran que no ha habido algún factor, como un cuello de botella o una deriva génica intensa (Nei, 1978). En esta forma se puede suponer que en el manejo de esta especie se han mantenido las condiciones que favorecen su alta variabilidad (Perfectti y Camacho, 1999; Perfectti y Pascual 2004), es decir, que se poliniza naturalmente y se recluta por semilla, aunque no existen trabajos que especifiquen las formas de manejo y domesticación de *A. squamosa* (Flores, 1993).

A lo anterior puede agregarse que las anonáceas son árboles tropicales y se ha encontrado que los árboles del trópico tienen valores altos de diversidad genética (Hamrick y Loveless 1986; Ellstrand y Lee, 1987; Lowe, 2005). En otro trabajo con una variedad de *A. squamosa* cultivada en Florida, Ronning et al. (1995) obtuvieron valores de $H_e=0.308$, lo cual es muy similar a lo registrado para el saramuyo de los huertos mayas.

Estructura genética. Contrario a lo esperado, no se observó un efecto de la regionalización socioeconómica en los niveles de diferenciación genética (Cuadro 3). El análisis de varianza molecular mostró que el mayor porcentaje de variación se explica entre los individuos de una población y después entre poblaciones de una misma zona socioeconómica (con un 12.34%); esto último indica que las localidades de una misma zona económica tienen diferencias genéticas de más del 10% entre ellas. Finalmente, entre zonas socioeconómicas hay muy poca diferencia genética (2%). El intercambio de semillas, frutos y plantas es práctica común entre los propietarios de huertos familiares en el sureste mexicano, más aún tratándose de un fruto que se consume ampliamente y con el que se comercia (Herrera Castro et al., 1993). Esto contribuye a mantener la diversidad genética en niveles altos y también a no aislar las poblaciones, como también se ha mostrado en otras especies comerciales (como la calabaza, Montes-Hernández, 2005). En *A. squamosa* no se espera que la dispersión natural de polen sea a gran distancia ya que la estructura

floral, como en otras anonas, no la favorece; las anteras no presentan filamento y se mantienen muy cubiertas aún en la máxima anthesis (Franco-Mora et al., 2000). Además sus principales polinizadores son coleópteros que no buscan recompensa como néctar o polen, sino que utilizan la flor como lugar de apareamiento (Endres, 2007), lo que hace pensar que el flujo de polen es limitado. Su principal mecanismo de dispersión es el que realizan los humanos, que le permite una gran movilidad y finalmente impide que se dé una diferenciación muy marcada entre poblaciones (Perfectti y Pascual, 2004).

En un estudio de diversidad y estructura genética de *A. cherimola* en 3 localidades de Bolivia, Owens (2003) encontró que la distancia genética fue menor entre plantas de huertos comerciales que entre las de huertos de autoconsumo de la misma localidad. La única población donde no se cumplió ese patrón pudo deberse a la hibridización natural de los árboles. Así, para *A. squamosa* el que la diferenciación genética no esté relacionada con la distancia geográfica puede ser indicio de que hay una fuente o centro de abasto de este tipo de plantas entre los pobladores y el origen de este material pudiera ser el mismo; por ejemplo, Oxkutzcab (en la zona frutícola), que se considera la huerta del estado y donde se venden frutas y plantas (Lazos Chavero, 1990 citado por Herrera Castro, 1994).

La edad de los huertos también puede ser un factor que influye en la homogeneidad genética de los árboles muestreados. García de Miguel (2000) aporta datos acerca de la edad de los huertos de las diferentes zonas, donde la henequenera resultó tener huertos más antiguos (44.6 años en promedio) que los de otras zonas. La frutícola tuvo 31.8 años en promedio, siendo la zona más joven. El mismo autor piensa que los pueblos de la zona henequenera datan de tiempos de la conquista, ya que el patrón de asentamiento es europeo, propio de esa época, mientras que el de las otras zonas es más reciente. Los huertos en general no son muy antiguos, debido a que muchas poblaciones fueron reconstruidas después de la guerra de castas a mediados del siglo XIX o principios del XX (González-Navarro, 1979).

Conclusión. Es importante mencionar que la forma tradicional de uso múltiple de recursos en las comunidades mayas (Barrera et al., 1977; Feddick, 1966; García-Frapolli, et al., 2008) no permite una estructuración genética de las poblaciones y mantiene altos niveles de variación en cada localidad, esto ayudó a la conservación del germoplasma de *A. squamosa*, como se vió en este trabajo. Así, la regionalización socioeconómica no impide que cada comunidad siga dedicándose a otra gran cantidad de actividades (ganadería, cultivos, etc), donde a escala de la unidad doméstica se privilegia el aprovechamiento de toda una variedad de recursos tanto para subsistencia como

para intercambio económico local y regional (Toledo et al., 2008).

En un trabajo realizado por García-Frapolli et al. (2008) se muestra cómo el ecoturismo viene a insertarse en toda la gama de actividades tradicionales. Las comunidades invierten parte de su tiempo y esfuerzo en esta nueva actividad, pero al mismo tiempo la estrategia campesina del uso múltiple de recursos sigue siendo muy importante. Así, el manejo que se da en los huertos familiares cumple un papel fundamental en la conservación de la variabilidad en cualquier zona de la península de Yucatán (Rico-Gray et al., 1990; Ramírez-Barajas et al., 2001; Toledo et al., 2008).

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por la CONABIO y la Fundación Mac Arthur (Núm. M065). También se recibió una beca de maestría para Carmen Salazar por parte de CONACYT (Núm. 69714). Queremos agradecer a J. J. Osornio y J. Pérez Mutul, de la Universidad Autónoma de Yucatán, a Yolanda Salinas, del Instituto Politécnico Nacional, por su ayuda en el laboratorio; a Luis Abdala y Daniel Piñero por las sugerencias al manuscrito.

Literatura citada

- Barrera, A., A., Gómez-Pompa. y C. Vázquez Yanes. 1977. El manejo de las selvas por los mayas: sus implicaciones silvícolas y agrícolas. *Biotica* 2:47-61.
- Batllore, E. F., A. Dickinson, M. García, I. Martín, M. González-Navarro, M. Villasuso y J. L. Febles. 2000. Socioecological regions of the Yucatán Peninsula, *In* Population, development and environment on the Yucatan Peninsula: from ancient Maya to 2030, W. Lutz, L. Prieto, W. C. Sanderson (eds.). International Institute for Applied Systems Analysis, Vienna. p. 33-53.
- Berkes, F. 2004. Rethinking community-based conservation. *Conservation Biology* 18:621-630.
- Byrne, D. H. 1990. Isozyme variability in four diploid stone fruits compared with other perennial plants. *Journal of Heredity* 81:68-71.
- Caballero, J. 1992. Mayan homegardens: past, present and future. *Etnoecológica* 1:35-54.
- Cabrera-Cano, E., E. Hernández Martínez, J. S. Flores, y C. Salazar. 2004. Annonaceae de la península de Yucatán. *Taxonomía, florística y etnobotánica. Etnoflora Yucatanense*, Fascículo . 21. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán. 123 p.

- Casas, A., A. Valiente-Banuet y J. L. Viveros. 2001. Plant resources of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Economic Botany* 55:129-166.
- Colunga-García Marín, P., E. Estrada-Loera y F. May-Pat. 1996. Patterns of morphological variation, diversity and domestication of wild and cultivated populations of *Agave* in Yucatán, México. *American Journal of Botany*. 83:1069-1082.
- Colunga-García Marín, P. y F. May-Pat. 1997. Morphological variation of henequen (*Agave fourcroydes* Agavaceae) germplasm and its wild ancestor (*A. angustifolia*) under uniform growth conditions: diversity and domestication. *American Journal of Botany*. 84:1449-1465.
- Cuadras, C. M., B. Echeverría, J. Mateo, P. Sánchez. 1984. Fundamentos de estadística. Aplicación a las ciencias humanas. Promociones y Publicaciones Universitarias (PPU), Barcelona. 950 p.
- De Clerck, F. A. J. y P. Negreros-Castillo. 2000. Plant species of traditional Mayan homegardens of Mexico as analogs for multistrata agroforests. *Agroforestry Systems* 48:303-317.
- Ellstrand, N. C. y J. M. Lee. 1987. Cultivar identification of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) using isozyme markers. *Scientia Horticulturae* 32:25-31.
- Endres, L. 2007. Daily and seasonal variation of water relationship in sugar apple (*Annona squamosa* L.) under different irrigation regimes at semi-arid Brazil. *Scientia Horticulturae* 113:149-154.
- Ewel, J. J. 1999. Natural systems as models for the design of sustainable systems of land use. *Agroforestry Systems* 45:1-21.
- Excoffier, L., G. Laval y S. Scheider. 2006. Arlequin ver. 3.0 An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*. 1:47-50.
- Eyzaguirre, P. B. y Linares O. F. 2004. Home Gardens and Agrobiodiversity. Smithsonian Books, Washington, D.C. 296 p.
- Feddick, S. L. 1966. The managed mosaic: ancient Maya agriculture and resource use. University of Utah Press, Salt Lake City. 360 p.
- Flores, J. S. 1993. Observaciones preliminares sobre los huertos familiares mayas en la ciudad de Mérida, Yucatán, México. *Biotica*, nueva época 1:13-18.
- Flores, J. S. 1997. Importancia de los huertos familiares de Mesoamérica en el intercambio y conservación de los recursos vegetales entre América y Europa. *Acta Etnobotánica* 92:129-142.
- Franco-Mora, O., C. Saucedo-Veloz, J. Jasso-Mata y E. García-Villanueva. 2000. Patrón de crecimiento y grado de polinización en guanábana. Memorias del Primer Congreso Nacional de Anonáceas. Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco, Estado de México. 212 p.
- García de Miguel, J. 2000. Etnobotánica maya. Origen y evolución de los huertos familiares de la península de Yucatán. Tesis doctorado, Universidad de Córdoba. 210 p.
- García-Frapolli, E., V. M. Toledo y J. Martínez-Alier. 2008. Adaptations of a Yucatec Maya multiple-use ecological management strategy to ecotourism. *Ecology and Society* 13:31.
- González-Navarro, M. 1979. Raza y tierra. La guerra de castas y el henequén. Centro de Estudios Históricos, Nueva serie 10. El Colegio de México, México, D.F. 156 p.
- Gottsberger, G. 1985. Pollination and dispersal in the annonaceae. *Annonaceae Newsletter* [Utrecht] 1:6-7.
- Gottsberger, G. 1999. Pollination and evolution in neotropical Annonaceae. *Plant Species Biology* 14:143-152.
- Goudet, J. 2002. FSTAT. Software. Vr. 2.9.3.2. <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.htm>; s.d.
- Guarino, L. y N. Maxted. 1996. Complementary approaches to collecting plant genetic resources by national programs. *Plant Genetic Resources Newsletter* 107:19-22.
- Hamrick, J. L. y M. D. L. Loveless. 1986. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of plant populations. In *Frugivores and seed dispersal*, A. Estrada y T. H. Fleming (eds.). Junk, The Hague p. 211-223.
- Hamrick, J. L. y M. J. Godt. 1997. Allozyme diversity in cultivated crops. *Crop Science* 37:26-30.
- Harlan, J. R. 1975. Crops and man. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Madison, Wisconsin. 254 p.
- Hartl, D. L. y A. G. Clark. 1989. Principles of population genetics, second edition. Sinauer, Sunderland. 677 p.
- Heaton, H. J., R. Whitkus y A. Gómez-Pompa. 1997. A study on variation in chico zapote (Manilkara zapota). Master of Sciences Thesis, Department of Botany and Plant Sciences, University of California at Riverside. http://www.uv.mx/citro/el_eden/research/papers/pub_ing.html; última consulta 23.I.2007.
- Hernández-Martínez, E. y E. Cabrera-Cano. 1996. Las anonáceas de la Reserva de Sian Ka'an, Quintana Roo, México. *AvaCient* 4: 14-24.
- Hernández-X, E. 1998. Aspectos de la domesticación de plantas en México: una apreciación personal. In *Diversidad biológica de México. Orígenes y distribución*, T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.). Instituto de Biología, UNAM, México D.F. p. 58-77.
- Herrera-Castro, N., A. Gómez-Pompa, L. Cruz-Kuri y J. S. Flores. 1993. Los huertos familiares mayas en Xuilub, Yucatán, México. Aspectos generales y estudio comparativo entre la flora de los huertos familiares y la selva. *Biotica*, nueva época 1:19-36.
- Herrera- Castro, N. 1994. Los huertos familiares mayas en el oriente de Yucatán. *Etnoflora Yucatanense*. Fascículo 9. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán México. 98 p.
- Kumar, B. M. y P. K. R. Nair. 2004. The enigma of tropical

- homegardens. *Agroforestry Systems* 61:135-152.
- Kumar, S., K. Tamura y M. Nei. 2005. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163.
- Lee, J. M. y N. C. Ellstrand. 1987. Inheritance and linkage of isozymes in the cherimoya. *Journal of Heredity* 78:383-387.
- Levasseur, V. y A. Olivier. 2000. The farming system and traditional agroforestry systems in the Maya community of San Jose, Belize. *Agroforestry Systems* 49:275-288.
- Lewis, P. O. y D. Zaykin. 1999. Genetic data analysis: computer program for the analysis of allelic data. Ver 1.0 (d12). <http://chee.unm.edu/gda/>; <http://chee.unm.edu/gda/s.d>.
- Lowe, A. 2005. Population genetics of neotropical trees focus issue. *Heredity* 95:243-245.
- Marshall, D. R. y A. D. H. Brown. 1975. Optimum sampling strategies in genetic conservation. *In* *Crop genetic resources for today and tomorrow*, O. H. Frankel y J. G. Hawkes (eds.). Cambridge University Press. p. 53-67.
- Marshall, D. R. y A. D. H. Brown. 1983. Theory of forage plant collection. *In* *Genetic resources of forage plants*, J. G. McIvor y R. A. Bray (eds.). Australian Commonwealth Scientific and Research Organization, Melbourne, Victoria. p. 135-141.
- Montes-Hernández, S., C. Merick y L. E. Eguiarte. 2005. Maintenance of squash (*Cucurbita* spp.) land race diversity by farmer's activities in Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52:697-707.
- Nei, M. 1978. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals of Human Genetics*. 41:225-233.
- Otero-Araiz, A., A. Casas, J. L. Hamrick y J. Cruse-Sanders. 2005. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central Mexico. *Molecular Ecology* 14:1603-1611.
- Owens, K. J. 2003. Genetic Diversity of *Annona cherimola* Mill. in South Central Bolivia. M. in Sc. Thesis in Forestry Science, Michigan State University, East Lansing. 310 p.
- Perfectti, F., y J. P. M. Camacho. 1999. Analysis of genotypic differences in developmental stability in *Annona cherimola*. *Evolution* 53:1396-1405
- Perfectti, F. y L. Pascual. 2004. Geographic variation for isozymes in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 51:837-843.
- Petit, R. J. y L. Excoffier. 2009. Gene flow and species delimitation. *Trends in Ecology & Evolution* 24:386-393.
- Ramírez-Barajas, P. J., N. Torrescano-Valle, A. Tecpa-Jiménez y J. Vázquez-Rodríguez. 2001. Importancia y uso del entorno natural en una comunidad maya (Petcacab, Quintana Roo, México) TIP. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 4:61-71.
- Rico-Gray, V., F. J. G. García, A. Chemas, A. Puch y P. Sima. 1990. Species composition, similarity, and structure of Mayan homegardens in Tixpeual and Tixcaltuyub, Yucatán, Mexico. *Economic Botany* 44:470-487.
- Ronning, C. M., R. J. Schell y S. Gazit. 1995. Using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to identify *Annona* cultivars. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 120:726-729.
- Rousset, F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* 145:1219-1228.
- Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method of reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.
- Samuel, R., W. Pinsker, S. Balasubramaniam y W. Morawetz. 1991. Allozyme diversity and systematics in Annonaceae: a pilot project. *Plant Systematics and Evolution* 178:125-134.
- Schnell, R. J., C. M. Ronning y R. J. Knight. 1993. Identification of cultivars and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* L. using RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics* 90:269-274.
- Sosa, V., J. S. Flores, V. Rico-Gray, J. J. Lira R. y Ortiz. 1985. Lista florística y sinonimia maya. *Etnoflora Yucatanense*. Fascículo 1. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, Xalapa, Veracruz, México. 148 p.
- Standley, P. C. y J. A. Steyermark. 1946. Annonaceae. *Flora de Guatemala. Fieldiana: Botany* 24(Part IV) Chicago History Museum. 271 p.
- StataCorp LP. 2009. Stata/MP software para Mac ver. 10.0., College Station, Texas
- Szabó, T. A. 1999. Genetic erosion, human environment and ethnobiodiversity studies. *Bio Tár Electronic. Germoplasma Bge766ba99050604* Praga, Chw BTN 766: 1-16. <http://genetics.bdf.hu/>; <http://vebi.vein.hu/>; 07/04/2007
- Toledo, V. M., N. Barrera-Bassols, E. García-Frapolli y P. Alarcón-Chaires. 2008. Uso multiple y biodiversidad entre los mayas yucatecos (México). *Interciencia* 33:345-352.
- Villanueva-Mukul, E. 1990. La formación de las regiones en la agricultura (el caso Yucatán), primera edición. Maldonado Editores/ Instituto Nacional Indigenista/Facultad de Contaduría y Administración-Universidad Autónoma de Yucatán/ Mérida, Yucatán. 156 p.
- Wendel, J. y N. Weeden. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. *In* *Isozymes in plant biology*, S. D. Soltis, P. Soltis (eds.). Dioscorides, Portland, Oregon. p. 5-45.
- Whitkus, R., M. De la Cruz, L. Mota-Bravo y A. Gómez-Pompa. 1998. Genetic diversity and relationships of wild cacao (*Theobroma cacao*) in southern Mexico. *Theoretical and Applied Genetics* 96:621-627.
- Zar, J. H. 1986. *Biostatistical Analysis*, second edition. Prentice Hall, New York. 913 p.
- Zeven, A. C. y J. M. de Wet. 1982. *Dictionary of cultivated plants and their regions of diversity: excluding most ornamentals, forest trees and lower plants. Cradles of agriculture and regions of diversity*. Center for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen. p. 21-31.