



Universidad Austral de Chile
Facultad de Ciencias Forestales

Estudios taxonómicos y filogenéticos de las especies de *Podocarpus* del Caribe y América Central

Patrocinante: Sr. Carlos Le Quesne

Trabajo de Titulación presentado
como parte de los requisitos para optar
al Título de **Ingeniero Forestal**.

DARIAN MESRIAM STARK SCHILLING

VALDIVIA
2005

CALIFICACIÓN DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Patrocinante:	Sr. Carlos Le Quesne	Nota 7,0
Informante:	Srta. Paulina Hechenleitner	6,7
Informante:	Sra. Angélica Aguilar	6,5

El patrocinante acredita que el presente Trabajo de Titulación cumple con los requisitos de contenido y de forma contemplados en el reglamento de Titulación de la Escuela. Del mismo modo, acredita que en el presente documento han sido consideradas las sugerencias y modificaciones propuestas por los demás integrantes del Comité de Titulación.

Sr. Carlos Le Quesne

A mi familia

*La
vida
no es más
que la unión
de todos los seres
vivos que la componen
el ser humano es solo parte
de un proceso evolutivo y es tan
valioso como todos los otros seres
con los cuales comparte esto que llamamos
Tierra.
Es tarea
de todos
el asegurar
la coexistencia armónica de todos
y cada uno de los seres que nos rodean.
Tengo fe que nuestra sabiduría interna nos mostrará el camino para
lograrlo.*

ÍNDICE DE MATERIAS

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 México y América Central	5
2.2 Jamaica, Puerto Rico y Bajas Antillas	6
2.3 Cuba y Española	7
3. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	10
3.1 Datos Moleculares	10
3.1.1 Material Vegetativo	10
3.1.2 Ingroup y Outgroup Taxa	11
3.1.3 Extracción de ADN	11
3.1.4 Amplificaciones PCR	12
3.1.5 Purificación del Producto PCR y Obtención de Secuencias	12
3.1.6 Análisis Filogenético	13
3.2 Datos de Morfología	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
4.1 Análisis Molecular	15
4.1.1 Secuencias de la Región Cloroplástica trnL-F	16
4.1.2 Secuencias de la Región Nuclear ITS2	18
4.1.3 Análisis Combinado	19
4.2 Morfología	24
4.2.1 Sección Pumilis	25
4.2.2 Sección Nemoralis	25
4.2.3 Sección Lanceolatus	25
4.2.4 Sección Pratensis	25
4.3 Discusión General	27
4.3.1 Delimitación de especies y secciones	27
4.3.2 Evolución de caracteres	28
4.3.3 Biogeografía	30
4.3.4 Conservación	31
5. CONCLUSIONES	33
6. BIBLIOGRAFÍA	35
ANEXOS	
1 Abstract	
2 Síntesis de los tratamientos taxonómicos aplicados para los taxa de <i>Podocarpus</i> que ocurren en México y América central	
3 Síntesis de los tratamientos taxonómicos aplicados para los taxa de <i>Podocarpus</i> del Caribe	
4 Especímenes Voucher	
5 Lista de caracteres, sus estados e ilustraciones	
6 Matriz de especies versus caracteres morfológicos	
7 Claves de identificación	
8 Lista exicata	

RESUMEN

El género *Podocarpus* fue revisado extensivamente por Buchholz y Gray los que publicaron sus resultados en una serie de artículos durante 1948 a 1956. Desde entonces el género ha sido dividido en varios géneros y se han descrito nuevas especies. En 1985 De Laubenfels revisó *Podocarpus sensu stricto* y propuso una nueva clasificación en donde separa al género en dos subgéneros compuestos de nueve secciones cada uno. Ambos subgéneros han mostrado constituir grupos naturales monofiléticos (Conran *et al.*, 2000; Sinclair *et al.*, 2002), sin embargo no se han realizado trabajos a nivel seccional. Las especies de *Podocarpus* que habitan en el Caribe y América Central se encuentran repartidas en cuatro de las nueve secciones del subgénero *Podocarpus*. Para el Caribe, distintos autores han reconocido desde cinco a diez especies (Buchholz y Gray, 1948c; De Laubenfels, 1985; Staszkiwicz, 1988). En América Central el número de especies que han sido reconocidas varía según autor entre cuatro a seis (Buchholz y Gray, 1948c; De Laubenfels, 1985).

En este estudio se utilizaron técnicas moleculares y herramientas morfológicas para clarificar el estado taxonómico de los *Podocarpus* que ocurren en el Caribe y en América Central. Además se realizaron análisis filogenéticos para confirmar la monofilia de ambos subgéneros junto con testear por primera vez si 3 de las secciones propuestas para el subgénero *Podocarpus* conforman grupos monofiléticos.

Los resultados permitieron aclarar el estado taxonómico de todas las taxa estudiadas, las secciones propuestas resultaron ser parafiléticas, sin embargo se encontró que todas las taxa que habitan en las Grandes Antillas forman un grupo monofilético.

El sistema multi-disciplinario utilizado en este estudio fue exitoso para resolver problemas taxonómicos en grupos pobres en caracteres morfológicos como lo es *Podocarpus*.

Palabras claves: *Podocarpus*, taxonomía, ITS2, *trnL-F*, Caribe, Centro América

1. INTRODUCCIÓN

Podocarpaceae es una de las familias de coníferas (después de Pinaceae) más numerosas, con aproximadamente 185 especies (Farjon, 2001). Habita principalmente en medioambientes montañosos tropicales y subtropicales, prácticamente solo en el hemisferio sur (Gaussen, 1976; Page, 1990; Farjon y Page, 1999). Tradicionalmente se reconocían siete géneros (Dallimore y Jackson, 1923), siendo *Podocarpus sensu latu* y *Dacrydium sensu latu* los más numerosos. Actualmente se reconocen 18 géneros debido, principalmente a la investigación que se ha realizado sobre la familia, tanto en morfología (Buchholz y Gray, 1948a; 1948b; 1948c; Gray y Buchholz, 1948; Gray y Buchholz, 1951a; 1951b; Gaussen, 1976; Page, 1989; 1990; Möller *et al.*, 2000; Mill *et al.*, 2001), como en estudios de ADN (Kelch, 1997; 1998; Conran *et al.*, 2000; Kelch, 2002; Sinclair *et al.*, 2002).

El género *Podocarpus* fue descrito en 1807 por el botánico francés Charles Louis L'Héritier de Brutelle (Persoon, 1807) basándose en la especie Sud Africana *Podocarpus elongatus* (Aiton) L'Hérit. ex Pers. En un principio el género fue clasificado en la familia Taxaceae (Parlatore, 1868; Pilger, 1903) hasta que Pilger separó Podocarpaceae de Taxaceae (Pilger, 1926). *Podocarpus* fue revisado por Buchholz y Gray en una serie de artículos científicos (Buchholz y Gray, 1948a; 1948b; 1948c; Gray y Buchholz, 1948; 1951a; 1951b; Gray, 1953a; 1953b; 1955; 1956; 1958; 1960; 1962). Estos autores trataron el género en forma amplia incluyendo taxa que ahora son reconocidos como géneros distintos, tales como *Retrophyllum* y *Prumnopitys*. Buchholz y Gray clasificaron el género en 8 secciones basándose principalmente en el número y posición de los canales resiníferos de las hojas, tejido de transfusión accesoria de las hojas, presencia de 'Florin ring' rodeando al estoma y las brácteas ubicadas debajo del receptáculo del cono femenino (figura 1) (Buchholz y Gray, 1948a). Posteriormente Gaussen (1976) reconoce solo 4 secciones dentro del género, pero a diferencia de Buchholz y Gray (1948a) incluyó *Nageia*, *Parasitaxus* y *Retrophyllum* como secciones dentro del género denominándolas *Nageia*, *Microcarpus* y *Polypodiopsis*, respectivamente.

De Laubenfels (1985) propuso una nueva clasificación para *Podocarpus* en la que describe dos subgéneros con nueve secciones cada uno, subgéneros *Podocarpus* y *Foliolatus* sumando un total de 95 especies aproximadamente. Ambos subgéneros pueden ser claramente distinguidos basándose en el receptáculo del cono femenino y en la epidermis de las hojas. El subgénero *Podocarpus* no tiene dos foliolos debajo del receptáculo, mientras que el subgénero *Foliolatus* no posee Florin ring (figura 1).

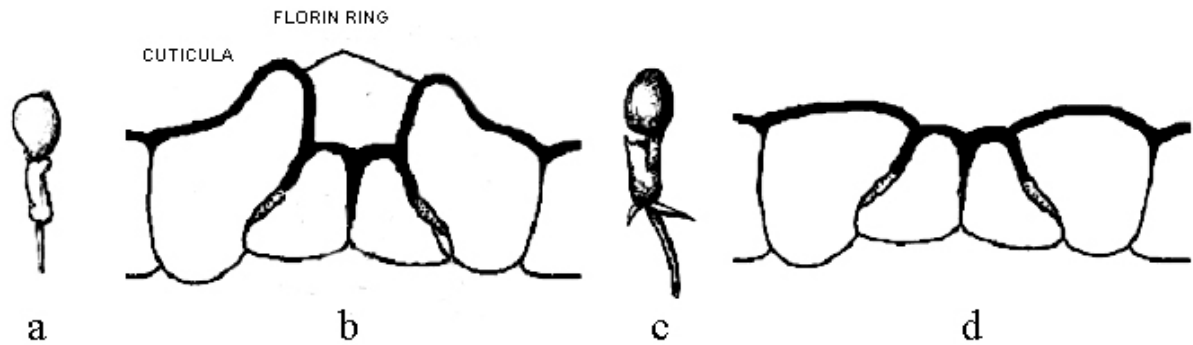


Figura 1: Foliolos debajo del receptáculo y Florin ring; a y b subgénero *Podocarpus*; c y d subgénero *Foliolatus*.

También existen otros caracteres, tales como: la distribución de los canales resiníferos foliares, la forma de la superficie superior de las hojas y la posibilidad de una cresta en la parte terminal de las semillas. Estos últimos, aunque tienden a separar ambos subgéneros, no siempre son exclusivos para uno u otro.

Geográficamente el subgénero *Podocarpus* ocurre en Australia, Tasmania, Nueva Zelanda, África, América central, el Caribe y América del sur, incluyendo Chile. La mayoría de las especies se concentran en América central, el Caribe y el norte de América del sur. Por otro lado el subgénero *Foliolatus* se concentra en el trópico asiático y pacífico. Sólo en Australia y Nueva Caledonia existe una pequeña superposición de las distribuciones geográficas de ambos subgéneros (De Laubenfels, 1985).

Junto a las diferencias morfológicas entre los dos subgéneros, estudios basados en secuencias del gen cloroplástico *rbcL* (Conran *et al.*, 2000), y una combinación del gen cloroplástico *trnL-F* intron/spacer con el gen nuclear rDNA ITS2 (Sinclair *et al.*, 2002) también han aportado fuerte evidencia de que cada subgénero representa un grupo monofilético.

En este estudio se tratan los taxa que ocurren en América central y el Caribe (figura 2 y 3, respectivamente), todos pertenecientes al subgénero *Podocarpus*, y distribuidos en 4 de las nueve secciones propuestas por De Laubenfels (1985). Estas secciones fueron definidas basándose principalmente en características morfológicas externas tales como conos masculinos, brotes vegetativos y sus escamas, forma de las hojas y la presencia de un canal o protuberancia sobre el nervio central en el haz de la hoja (cuadro 1).

El objetivo principal de este estudio es realizar una revisión taxonómica y filogenética de los taxa de *Podocarpus* que habitan las regiones del Caribe y América central.

Los objetivos específicos son:

- Revisar detalladamente todos los taxa de *Podocarpus* que ocurren en las islas del Caribe y entregar una revisión preeliminar de aquellas especies que habitan en América central.
- Crear claves de identificación de todas las especies consideradas.
- Reconfirmar si ambos subgéneros, *Podocarpus* y *Foliolatus*, son monofiléticos.
- Evaluar si las secciones *Pumilis*, *Nemoralis* y *Lanceolatus* (subgénero *Podocarpus*) constituyen grupos monofiléticos.
- Elucidar las relaciones filogenéticas de los *Podocarpus* del Caribe y América central y proponer una hipótesis sobre la biogeografía del género en la región.

Debido a la complejidad taxonómica que caracteriza a las especies contempladas en este estudio, fue necesario realizar una extensa revisión de todas las publicaciones relevantes al tema, y así dilucidar los distintos tratamientos taxonómicos que han recibido las especies. Esta revisión se entrega en forma cronológica y geográfica en el marco teórico.

Técnicas moleculares (secuencias ITS2 y *trnL-F*) y de morfología fueron usadas para establecer las relaciones entre las especies, así como también para proponer una hipótesis sobre la biogeografía del género en la región.

Es necesario dejar claro que el siguiente trabajo constituye un resumen de la tesis realizada por el mismo autor para optar al grado de Magíster en la Universidad de Edimburgo el año 2004 (Stark, 2004).

2. MARCO TEÓRICO

Los taxa son separados por áreas geográficas donde México y América central estan en un grupo; Jamaica, Puerto Rico, las bajas Antillas y Trinidad & Tobago forman el segundo grupo y finalmente los taxa que ocurren en Cuba y Española en donde se encuentra la mayor problemática taxonómica. Se sigue un orden cronológico partiendo desde la fecha de descripción de cada taxón hasta la situación actual.

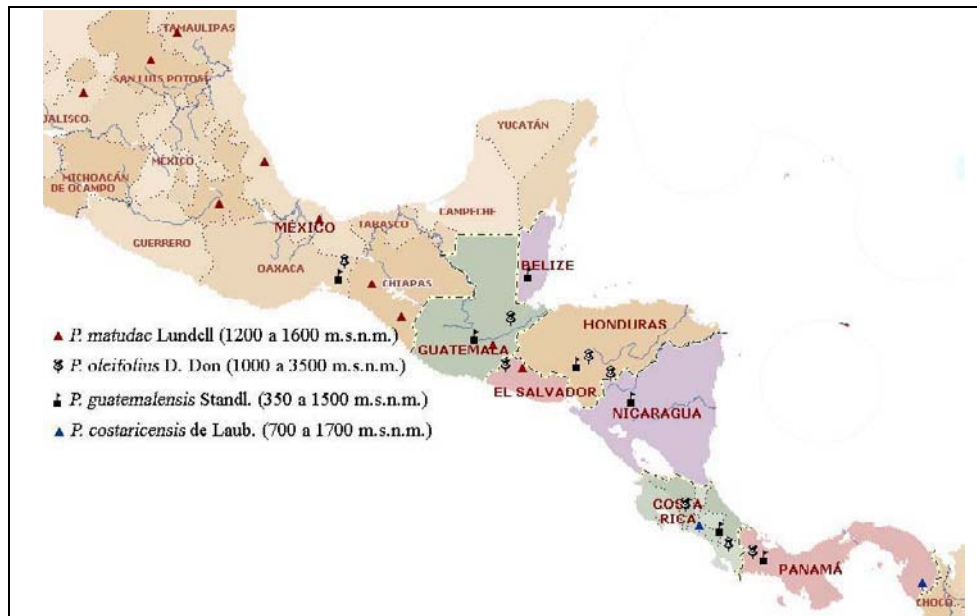


Figura 2: Mapa de distribución de las especies de *Podocarpus* que ocurren en América central.

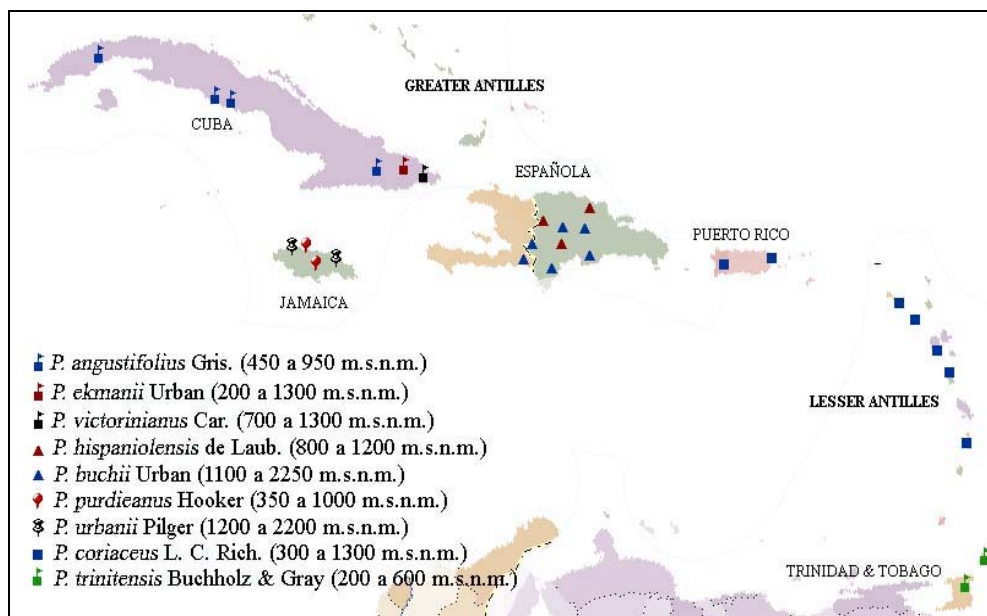


Figura 3: Mapa de distribución de las especies de *Podocarpus* que ocurren en el Caribe.

2.1 México y América Central

Los taxa de *Podocarpus* que ocurren en América central y México han sido tratados, a nivel de especies, de forma ampliamente aceptada. A continuación se entrega un listado de todos los taxa descritos y los subsecuentes cambios en rango; en el anexo 2 se puede ver una tabla resumen.

Podocarpus oleifolius D. Don (Don, 1824)
Podocarpus macrostachya Parlatores (Parlatores, 1868)
Podocarpus guatemalensis Standley (Standley, 1924)
Podocarpus pinetorum Bartlett (Bartlett, 1935)
Podocarpus matudae Lundell (Lundell, 1937)
Podocarpus allenii Standley (Standley, 1941)
Podocarpus reichei Buchholz & Gray (Buchholz y Gray, 1948c)
Podocarpus matudae Lundell var. *macrocarpus* Buchholz & Gray (n. var.) (Buchholz y Gray, 1948c)
Podocarpus guatemalensis Standley var. *pinetorum* (Bartlett) Buchholz & Gray (n. comb.) (Buchholz y Gray, 1948c)
Podocarpus guatemalensis Standley var. *allenii* (Standley) Buchholz & Gray (n. comb.) (Buchholz y Gray, 1948c)
Podocarpus oleifolius D. Don var. *costaricensis* Buchholz & Gray (n. var.) (Buchholz y Gray, 1948c)
Podocarpus oleifolius D. Don var. *macrostachyus* Buchholz & Gray (n. comb.) (Buchholz y Gray, 1948c)
Podocarpus oleifolius D. Don var. *trujillensis* Buchholz & Gray (n. var.) (Buchholz y Gray, 1948c)
Podocarpus monteverdeensis de Laubenfels (De Laubenfels, 1990)
Podocarpus costaricensis de Laubenfels (De Laubenfels, 1990), non *P. oleifolius* var. *costaricensis* Buchholz & Gray

El trabajo de Buchholz y Gray (1948c) ha sido el más completo para los taxa de *Podocarpus* de América central y México. Ellos reconocieron 4 especies y 6 variedades. *P. pinetorum* Bartlett y *P. allenii* Standl. fueron tratadas como variedades de *P. guatemalensis* Standl., mientras que *P. macrostachya* Parl. fue reducido al estatus de variedad de *P. oleifolius* D. Don. También describieron una variedad de *P. matudae* Lundell y dos de *P. oleifolius* D. Don. (ver lista de arriba), por último describieron una nueva especie nativa de México, *P. reichei* Buchholz & Gray tomando como tipo el espécimen Sharp 441222.

Gaussen (1976) siguió el tratamiento taxonómico de Buchholz y Gray, mientras que De Laubenfels (1985) trató *P. reichei* como un sinónimo taxonómico de *P. matudae*, pero no mencionó ninguna variedad.

En 1990, De Laubenfels describió dos especies nuevas para Costa Rica, *P. monteverdeensis* De Laub. y *P. costaricensis* De Laub. (De Laubenfels, 1990). Una revisión reciente de las podocarpáceas de Costa Rica consideró a *P. monteverdeensis* como sinónimo de *P. oleifolius*, mientras que *P. costaricensis* fue reconocido como especie (Merello, 2003).

2.2 Jamaica, Puerto Rico y Bajas Antillas

De las especies de *Podocarpus* que ocurren en estas áreas, la primera en ser descrita fue *P. coriaceus* L. C. Rich. basada en un espécimen proveniente de la isla Montserrat, Bajas Antillas. Sin embargo, no se le designó ningún tipo (Richard, 1826). En general no ha existido controversia acerca de este taxón, sin embargo el nombre se ha aplicado en forma errónea (Grisebach, 1864; Parlato, 1868; Pilger, 1903; Marshall, 1934). Es ampliamente aceptado que esta especie ocurre desde Puerto Rico, Bajas Antillas hasta Trinidad (Grisebach, 1864; Pilger, 1903; Buchholz y Gray, 1948c; Little y Wadsworth, 1964; Staszkievicz, 1988; Farjon, 1998; Zanoni, 1999; Farjon, 2001). Sin embargo Zanoni (1999) citó Trinidad & Tobago como uno de los lugares de origen pero entre paréntesis lo que sugiere que el autor no estaba completamente seguro del rango completo de distribución. Por otro lado no se encuentran registros de *P. coriaceus* de las islas St. Vincent y Grenada, y el material disponible proveniente de Trinidad & Tobago corresponde a *P. trinitensis* Buchholz & Gray. Esta última fue descrita por Buchholz y Gray (1948c), y el tipo designado fue Broadway 7151 colectado en el camino Valencia, Trinidad en mayo de 1929.

En Jamaica existen dos especies, *P. purdieanus* Hook. y *P. urbanii* Pilger. La primera fue descrita por Hooker (1844) como *P. purdieana* basándose en el espécimen Purdie (sin número) colectado en la propiedad de J. Tasker en Dunrobin Castle, al Este de Jamaica. A pesar de que Hooker estaba conciente de la existencia de otro *Podocarpus* en Jamaica "*P. urbanii*", el lo consideró como *P. coriacea* L.C. Rich. (Hooker, 1842; 1844). *P. urbanii* fue formalmente descrito en 1903 por Pilger quien se basó en varios sintipos (Pilger, 1903). Se presume que estos especímenes fueron destruidos durante el bombardeo que afectó al herbario de Berlín en 1943. Sin embargo uno de ellos, el espécimen Harris 7798 colectado el año 1899 cerca de Chinchona en la Montaña Azul, Jamaica, se encuentra duplicado en el herbario de Nueva York y es propuesto como lectotipo en el presente trabajo.

2.3 Cuba y Española

Podocarpus angustifolius Griseb. fue la primera especie descrita para Cuba cuyo autor fue Grisebach (1866) quien basó su descripción en el espécimen Wright 3188 (Pinar del Río, oeste de Cuba). Dos años más tarde Parlatore (1868), no mencionó este taxón en su revisión y describió una nueva especie para Cuba, *P. aristulata* Parl. [la escritura correcta es *aristulatus* de acuerdo al artículo 23.5 del Código Internacional de Nomenclatura Botánica (Greuter *et al.*, 2000)], citando como isotipos los especímenes Wright 1461 y Wright 3188. Sin embargo, en la publicación original este último número de colección fue impreso incorrectamente como 3788; esto fue verificado consultando la microficha no. 2789 del De Candolle Herbarium. Por otro lado, en la misma revisión Parlatore describió una especie nativa de Bolivia que nombró *P. angustifolia* Parl. (Parlatore, 1868), esto sugiere que el no “tuvo conocimiento” de la publicación anterior de Grisebach.

Es claro que la descripción de Parlatore para *P. aristulatus* fue basada principalmente en el espécimen Wright 1461, pero también mencionó que en Wright 3188 las hojas eran más angostas y casi lineares [*angustiora et fere lineari*] 4-5cm de largas (Parlatore, 1868), lo cual corresponde a la especie *P. angustifolius*, por lo tanto parece ser que esta nueva especie *P. aristulatus* fue una mezcla entre dos taxa diferentes.

Esta confusión fue dilucidada 35 años después cuando Pilger escribió una revisión de Taxaceae (Pilger, 1903) donde consideró a *P. aristulatus* como un sinónimo de *P. angustifolius*., tipificando *P. aristulatus* con el espécimen Wright 3188, pero desafortunadamente al mismo tiempo propuso un nuevo taxón *P. angustifolius* var. *wrightii* Pilger basándose en el espécimen Wright 1461 (Monteverde, Cuba. 1859), en vez de tipificar *P. aristulatus* con Wright 1461, lo cual hubiese sido la mejor solución nomenclatural.

Más tarde Urban (1920-1921) reconoce ambos taxa, *P. angustifolius* = *P. aristulatus* y *P. angustifolius* var. *wrightii* Pilger, pero cometió el error de citar el espécimen Nash & Taylor 1715 como var. *wrightii* nativo de Cuba; este espécimen realmente fue colectado en 1905 cerca de Mt. Bellance, Haití, y aquí es asignado al taxón *P. hispaniolensis* de Laub.

En 1922 Urban describe *P. ekmanii* basándose en el espécimen colectado en Sierra Cristal, Cuba Ekman 6790 (Urban, 1922). Dos años después describe una segunda especie para Haití, basándose en el espécimen Buch 2089, la cual nombró *P. buchii* Urban (Urban, 1924). También reafirma que *P. angustifolius* var. *wrightii* Pilger ocurre en Española, dando una descripción diagnóstica para diferenciarla de *P. buchii*. Probablemente Urban se refería al taxón que ahora es conocido como *P. hispaniolensis*.

Diez años más tarde Florin (1934) estuvo de acuerdo con Pilger y Urban en considerar *P. aristulatus* como un sinónimo de *P. angustifolius* y también reconoció

P. angustifolius var. *wrightii* Pilger, pero siendo de Cuba no de Española. Florin describe otro taxón nativo de Española *P. buchii* var. *latifolius* Florin basándose en Ekman H. 4913 colectado en Morne Bellance, Haití (Florin, 1934). Este tratamiento de *P. buchii* y su variedad *latifolius* también fue aceptada nueve años más tarde por Moscoso (1943).

En 1941 José Carabia rechaza el tratamiento nomenclatural de Pilger quien consideró que *P. aristulatus* era un sinónimo de *P. angustifolius* e intentó lectotipificar *P. aristulatus* con el espécimen montado al lado derecho de Wright 1461 mantenido en el Gray Herbarium (Carabia, 1941), postulando que éste espécimen, Wright '1461' (note que el número fue erróneamente impreso como 3146) tendría dos taxa montados. Aquel montado al lado derecho lo consideró como *P. aristulatus* y lo utilizó como isotipo para tipificar este nombre. Sin embargo, esta tipificación fue inválida ya que el nombre *P. aristulatus* Parl. había sido tipificado anteriormente por Pilger (1903) como un sinónimo de *P. angustifolius* Griseb. utilizando otro espécimen, (Wright 3188). Por otro lado, el espécimen montado al lado izquierdo lo consideró como un taxón nuevo que denominó *P. victorinianus* Carabia. Personalmente he revisado varias copias del espécimen Wright 1461 pertenecientes a los herbarios G-BOIS, NY y B, y ninguno posee dos taxa. Lo que parece ser es que muchos *Podocarpus* tienen hojas morfológicamente distintas dependiendo del estado de desarrollo de los individuos, esta situación podría haber confundido a Carabia.

Carabia (1941) también describió otra especie, *P. leonii* Carabia, basándose en el espécimen Fre. León 12192. De acuerdo con Carabia, éste fue colectado entre el 12 de agosto y el 4 de septiembre de 1924 en Putón del Mate, a 500m (Carabia, 1941). Sin embargo, la etiqueta del espécimen tiene otra información: Putón del Mate, 1230m, Jul-Aug 1924, esta debe ser la información correcta ya que otro espécimen colectado por Fre. León la misma fecha y altitud, cuyo número de colección es 12193, representa al mismo taxón.

En la flora de Cuba, Sauget y Babier (1946) reconocen 5 especies de *Podocarpus*, *P. angustifolius*, *P. aristulatus*, *P. ekmanii*, *P. leonii* y *P. victorinianus*, pero los autores no hacen referencia al estado taxonómico y nomenclatural de estas.

Buchholz y Gray (1948c) reconocen a *P. angustifolius* y *P. aristulatus* como taxa diferentes, sin embargo, ellos consideran *P. angustifolius* var. *wrightii* Pilger como sinónimo de *P. aristulatus*. Los autores también aceptan *P. leonii*, *P. victorinianus* y *P. ekmanii* como especies cubanas, a pesar de considerar que el material disponible con el que contaban no era suficiente para evaluar el estado taxonómico de las especies cubanas. Por ejemplo, ellos sólo citaron el tipo de *P. angustifolius* (Wright 3188) como espécimen examinado, mientras que el espécimen Wright 1461, ubicado en el Gray Herbarium, fue citado para *P. aristulatus* y *P. victorinianus* (eventualmente el espécimen que tiene "dos" taxa montados).

Gaussen (1976) en su trabajo sobre gimnospermas, consideró a los *Podocarpus* cubanos siguiendo el tratamiento taxonómico de Buchholz y Gray (1948).

En 1984 De Laubenfels describe a *P. hispaniolensis* como una especie endémica de Española, el tipo designado fue Mejía y Pimentel 444 (JBSD) colectado en la provincia de Peravia, República Dominicana (De Laubenfels, 1984). Ahora, si se lee cuidadosamente la descripción de este taxón es posible dilucidar que concuerda con el taxón descrito previamente *P. buchii* var. *latifolius* Florin (Florin, 1934). Esto se reafirma al examinar el espécimen Nash y Taylor 1715, considerado por Buchholz y Gray (1948) como *P. buchii* var. *latifolius* Florin, y ahora considerado como *P. hispaniolensis* de Laub. según anotaciones en el espécimen realizadas por Silva (1986), Zanoni (1994), y el presente autor. Sin embargo De Laubenfels (1984) no citó a *P. buchii* var. *latifolius* Florin como sinónimo de *P. hispaniolensis* de Laub.

En 1985 una nueva “revisión taxonómica” abarcando todo el género fue llevada a cabo por David De Laubenfels quien reconoció sólo dos especies. Una presente en Cuba y Española, *P. aristulatus* (= *P. buchii*, *P. leonii*, *P. victorinianus*) y la otra endémica de Cuba, *P. angustifolius* (= *P. ekmanii*) (De Laubenfels, 1985). El autor no consideró variedades y además no citó ningún espécimen que apoyara sus drásticas decisiones. *P. hispaniolensis* no fue incluido ya que al momento en que fue descrito, la revisión se encontraba en prensa (De Laubenfels, 1984).

Staszkievicz (1988) escribe una revisión taxonómica para los taxa de *Podocarpus* Caribeñas basando su estudio en técnicas de morfometría de las hojas. Los resultados de este estudio llevan a Staszkievicz a proponer una clasificación completamente nueva para las especies de Cuba y Española. Es interesante el hecho de que basara su clasificación solo en morfología externa de las hojas, a pesar de que Orr (1944) en un estudio detallado de la anatomía externa e interna de las hojas de *Podocarpus*, no encontrase suficientes diferencias estructurales o anatómicas que provean clara evidencia de identidad entre las especies. En resumen Staszkievicz sólo mantuvo a *P. ekmanii* como especie, todos los otros taxa fueron consideradas como pertenecientes a *P. angustifolius*, la que fue considerada como una especie con 2 subespecies y múltiples variedades y formas (Staszkievicz, 1988). El autor no mencionó a *P. hispaniolensis* de Laub., además no es claro el hecho de que considerara que algunos especímenes con el mismo número de colección representaran taxa distintos. Por ejemplo el espécimen León 12193 (NY) fue considerado como *P. angustifolius* subsp. *angustifolius* var. *leonis*, mientras que León 12193 (GH) fue tratado como *P. angustifolius* subsp. *angustifolius* var. *aristulatus*. Una situación similar se encuentra en los especímenes Alain, López y Figuierras 7293; Carabia 3843; y Ekman 12666, 5999, 9514, 9813 (Staszkievicz, 1988).

Finalmente como parte del Plan de Acción para Coníferas de la UICN (Farjon y Page, 1999), Zanoni (1999) reconoce 4 especies para Cuba y Española, principalmente siguiendo el tratamiento de De Laubenfels (1985), pero manteniendo a *P. ekmanii* como una especie distinta. Este tratamiento también fue utilizado al momento de producir la lista de chequeo de coníferas (Farjon, 1998; 2001). En el anexo 3 se entrega una tabla resumen.

3. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El estudio se realizó entre mayo y agosto del 2004 en las dependencias del Real Jardín Botánico de Edimburgo (RBGE), Reino Unido. Debido al carácter de la investigación, materiales y métodos se separa en dos secciones; una para los datos moleculares y la otra para los morfológicos. En el cuadro 1 se entrega un listado con todos los taxa considerados en este trabajo.

Cuadro 1: Secciones y especies bajo estudio junto con sus rangos de distribución y los caracteres morfológicos diagnósticos.

		Caracteres Morfológicos				
Especie	Distribución	Sección / % Muestra	Compartido entre secciones		Diagnósticos	
<i>P. ekmanii</i> Urban	Cuba	Pumilis 72	Ausencia de canales resiníferos en las hojas Un canal resinífero vascular Receptáculo del cono femenino carnoso Conos masculinos estrictamente solitarios	Extremos de las escamas externas de los brotes hacia fuera, o si no, haz de la hoja con una protuberancia distintiva	Escamas de los brotes cortas, nunca mucho más larga que el diámetro de brote; hojas adultas no lanceoladas	Conos masculinos de hasta 1.5cm de largo; hojas adultas de hasta 3,5 x 0,8cm, haz usualmente con una protuberancia
<i>P. angustifolius</i> Griseb.						
<i>P. victorinianus</i> Carabia						
<i>P. buchii</i> Urban	Española	Nemoralis 57			Escamas de los brotes foliáceas, mucho más largas que el diámetro del brote; hojas adultas lanceoladas	
<i>P. urbanii</i> Pilger	Jamaica					
<i>P. purdieanus</i> Hook.	México a Panamá					
<i>P. guatemalensis</i> Standl.						
<i>P. hispaniolensis</i> de Laub.	Española					
<i>P. trinitensis</i> Buchholz. & Gray	Trinidad y Tobago	Lanceolatus 60		Escamas de los brotes cortas, nunca mucho más larga que el diámetro de brote; hojas adultas no lanceoladas		
<i>P. coriaceus</i> Pilger	P. Rico y Bajas Antillas					
<i>P. matudae</i> Lundell	México a El Salvador					
<i>P. costaricensis</i> de Laub.	Costa Rica y Panamá	Pratensis 33			Extremos de las escamas exteriores de los brotes imbricadas y sobrepuestas; haz de las hojas con un canal	
<i>P. oleifolius</i> D. Don	México a Venezuela					

3.1 Datos Moleculares

El trabajo molecular se llevó a cabo en el laboratorio molecular del RBGE. Todos los materiales utilizados fueron desechables y/o esterilizados, para manipular las muestras además se utilizaron guantes quirúrgicos, a objeto de evitar cualquier tipo de contaminación.

3.1.1 Material Vegetativo

El material vegetativo fue obtenido desde plantas cultivadas en la colección de coníferas del RBGE, y desde colecciones en terreno realizadas por Martin Gardner y Sabina Knees (RBGE) durante los últimos tres años. Las muestras fueron

mantenidas en sílica gel hasta ser utilizadas. En el anexo 4 se entrega una tabla con todos los especímenes Voucher.

3.1.2 Ingroup y Outgroup Taxa

El ingroup incluyó 15 taxa; 12 representantes de seis de las nueve secciones descritas para el subgénero *Podocarpus* y 3 taxa representantes del subgénero *Foliolatus* (De Laubenfels, 1985). Las especies incluidas del subgénero *Podocarpus* fueron: *P. angustifolius* Griseb., *P. ekmanii* Urban, *P. urbanii* Pilger (Sección *Pumilis*); *P. matudae* Lundell, *P. coriaceus* L. C. Rich. (Sección *Lanceolatus*); *P. purdieanus* Hook., *P. trinitensis* Buchholz y Gray, *P. hispaniolensis* de Laub., *P. guatemalensis* Standl. (Sección *Nemoralis*); *P. oleifolius* D. Don (Sección *Pratensis*); *P. salignus* D. Don. (Sección *Capitulatus*) y *P. nivalis* Hook. f. (Sección *Australis*). Mientras que las representantes del subgénero *Foliolatus* fueron: *P. longefoliolatus* Pilger (Sección *Longifoliolatus*); *P. macrophyllus* (Thunb.) Sweet (Sección *Polystachyus*), y *P. sylvestris* J. Buchholz (Sección *Globulus*).

Dentro del outgroup se incluyeron representantes de otros géneros de la familia Podocarpaceae, estos fueron: *Dacrycarpus compactus* (Wasscher) De Laub., *Dacrycarpus imbricatus* (Blume) De Laub., *Afrocarpus gaussenii* (Woltz) C. N. Page, *Afrocarpus gracilior* (Pilger) C. N. Page y *Nageia nagi* (Thunb.) Kuntze. La especie *Dacrycarpus compactus* fue escogida como taxa basal al momento de calcular los árboles filogenéticos, siguiendo a otros estudios (Conran *et al.*, 2000; Sinclair *et al.*, 2002).

3.1.3 Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó desde muestras de hojas deshidratadas en sílica gel (para Vouchers vea anexo 4). Se utilizó una modificación del procedimiento de extracción mediante CTAB (Doyle y Doyle, 1987; 1990), donde se pesaron dos gramos de muestra para cada especie, estas se congelaron con nitrógeno líquido y luego molidas con un pequeño mortero. Posteriormente se le agregó 1ml CTAB + 2µl 2-mercaptoethanol pre-calentado a 65°C junto con un gramo de PVPP (polyvinyl poly pyrrolidone). Luego de una incubación de 30 minutos a 65°C se agregaron 500µl de chloroform:isoamyl alcohol (24:1). Las muestras fueron depositadas en un mezclador orbital a mínima velocidad por un periodo de 20 minutos. El ADN fue precipitado agregando 2/3 del volumen de la muestra de isopropanol a 0°C. En esta etapa las muestras se dejaron hasta el día siguiente, luego se realizó un proceso de lavado usando 76% Etanol + 10mM NH₄ Ac (Acetato de Amonio), el pellet de ADN fue secado en una centrifuga de baja revolución con el fin de remover todos los residuos de etanol. Finalmente el ADN fue disuelto en 75µl de TE.

Se realizaron varios intentos de extracción de ADN desde material de herbario de *P. buchii* Urban y *P. victorinianus* Car., sin embargo los resultados fueron todos negativos.

3.1.4 Amplificaciones PCR

Las muestras se amplificaron usando una máquina PCR MJ Research PTC-200 Peltier thermal cycler. Los genes objetivo fueron; la región ITS2 del ADN nuclear y la región *trnL-F* del ADN cloroplástico. Las combinaciones de primers y protocolos utilizados se entregan a continuación:

Para la región ITS2 se utilizó la combinación de primers ITS 3P (5'-GCA TCG ATG AAG AAC GTA GC-3') y ITS 8P (5'-CAC GCT TCT CCA GAC TAC A-3'), o 3P y ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'), para el origen de los primers ver Möller y Cronk (1997). Para cada 25µl de reacción PCR se utilizaron: 2µl de DNA, 0.75µl 10µM de cada primer, 0.125µl Taq polymerase (Bioline), 2.5µl dNTPs, 1.25µl MgCl₂, 2.5µl buffer de reacción (16mM (NH₄)₂SO₄, 67mM Tris-HCl (pH 8.8), 0.1% Tween-20), y 15.125µl dH₂O. Se realizaron 32 ciclos incluyendo, un ciclo inicial de 3 minutos a 94°C; 30 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 57°C y 1 minuto 30 segundos a 72°C; y un ciclo de extensión final de 5 minutos a 72°C (modificado de White *et al.* (1990)).

Para la amplificación de la región *trnL-F* intron/spacer se utilizaron los primers: C (5'-CGA AAT CGG TAG ACG CTA CG-3') y F (5'-ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG-3') (Taberlet *et al.*, 1991). Se realizaron 35 ciclos PCR (1 minuto a 94°C; 1 minuto a 55°C, y 2 minutos a 72°C (modificado de Hollingsworth *et al.* (1999)).

Los productos PCR fueron chequeados en 1% agarose gel, teñidos con ethidium bromide y fotografiados bajo luz UV.

3.1.5 Purificación del Producto PCR y Obtención de Secuencias

Los productos PCR fueron purificados usando un kit de purificación Qiaquick, siguiendo el protocolo del fabricante.

Los productos PCR se secuenciaron en un CEQ 8000 – Beckman sequencer usando la mezcla DTCS Quickstart mix. Se utilizaron 10µl de solución para cada reacción, compuestos de; 3µl agua, 2µl ADN, 1µl 10pM primer, y 4µl Quickstart mix. Se realizaron 35 ciclos de 20 segundos a 96°C, 20 segundos a 50°C y 4 minutos a 60°C.

Los primers utilizados para obtener las secuencias fueron los mismos utilizados en las amplificaciones PCR, con la adición de los primers internos D (5'-GGG GAT AGA GGG ACT TGA AC-3') y E (5'-GGT TCA AGT CCC TCT ATC CC-3') para la región *trnL-F* intron/spacer. Alineamiento preeliminares de las secuencias se realizaron con el programa Sequencher™ Versión 4.1.4 (Gene Codes Corporation, USA), luego este alineamiento fue ajustado manualmente. Los estadísticos descriptivos de las secuencias se calcularon con el programa PAUP 4.0b10 (Swofford, 2001), mientras que las tasas de transiciones y transversiones se obtuvieron con el programa MacClade Versión 4.06 (Maddison y Maddison, 2003).

Las secuencias ITS2 y *trnL-F* de *Dacrycarpus compactus*, *D. imbricatus*, *Afrocarpus gausсенii*, *A. gracilior*, *Nageia nagi*, *Podocarpus longefoliolatus*, *P. macrophyllus*, *P. sylvestris*, *P. salignus*, *P. nivalis* y *P. guatemalensis* fueron proveídas por Michael Möller, RBGE. Los límites de las secuencias se determinaron comparando datos publicados de *Nageia nagi* (ITS2 GenBank número de accesoión AY083063), y *Podocarpus guatemalensis* (*trnL-F* GenBank número de accesoión AY083067).

3.1.6 Análisis Filogenético

Se realizó un análisis de máxima parsimonia (MP) usando la opción Branch and Bound de PAUP, además de calcularon los siguientes estadísticos descriptivos; índice de consistencia, CI (Kluge y Farris, 1969), índice de retención, RI (Farris, 1989) e índice de consistencia graduado, RC. Los espacios vacíos se trataron como datos faltantes y fueron registrados como caracteres solo cuando los límites eran claros, de acuerdo con Simmons y Ochoterena (2000). Análisis de Branch support (BS) se obtuvo usando PAUP con bootstrap heurístico, 10,000 replicas, TBR activado, Multrees y Steepest Descent desactivados. Finalmente el índice de decadencia "Decay Index" (DI) se calculó con los programas AutoDecay 4.0.2 (Eriksson, 1999) y PAUP.

3.2 Datos de Morfología

La caracterización de la morfología fue hecha en base a especímenes de herbario del RBGE (E), más especímenes solicitados a otros herbarios tales como; Jardín Botánico de Nueva York (NY), Jardín Botánico de Missouri (MO), Arnold Arboretum de la Universidad Harvard (A), y el Museo de Historia Natural de Chicago (F). En total se examinaron 400 especímenes incluyendo tipos y/o isotipos de la mayoría de los taxa. En el anexo 8 se entrega un listado de todos los especímenes examinados.

Se utilizaron entre 5 a 10 especímenes adultos y dos juveniles por cada taxón y se registraron un total de 29 caracteres (para lista de caracteres, sus estados e ilustraciones ver anexo 5). Los caracteres fueron escogidos considerando la variabilidad de estos dentro y entre especies lo cual fue posible después del examen rápido de todos los especímenes. Además de tomaron en cuenta aquellos caracteres utilizados tradicionalmente por otros autores (Buchholz y Gray, 1948c; Gaussen, 1976; De Laubenfels, 1985; Staszkievicz, 1988).

Para los caracteres cuantitativos, como el largo de las hojas, se calculó la media, la desviación estándar y los valores mínimos y máximos. Algunos caracteres cualitativos, como la forma de las hojas, fueron tratados como caracteres de multi-estados, mientras que otros como la presencia o ausencia de un mucrón en el ápice de las hojas, fueron registrados como caracteres de dos estados.

Con las variables obtenidas se construyó una matriz de datos taxón versus caracteres (anexo 6) la cual fue utilizada para la descripción de las especies y para la construcción de 5 claves de identificación correspondientes a las distintas áreas geográficas (anexo 7).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados son presentados en dos secciones; en la primera sección se entregan los resultados del análisis molecular y en la segunda los de morfología.

4.1 Análisis Molecular

Varios intentos de amplificación PCR de la región ITS completa, bajo distintas condiciones y utilizando la combinación de primers 5P y 8P, resultaron en la obtención de dos fragmentos de ADN de alrededor 2000 bp (pares de bases) y 850 bp respectivamente (figura 4).

Cuando se amplificó ITS1 y ITS2 en forma independiente utilizando las combinaciones de primers 5P – 2G y 3P – 8P respectivamente, el segundo fragmento apareció solo en la región ITS1, sugiriendo que en esta región existen dos copias que difieren considerablemente en longitud (figura 5). Por otro lado en la región ITS2, a pesar de detectarse más de una copia, estas resultaron ser del mismo tamaño.

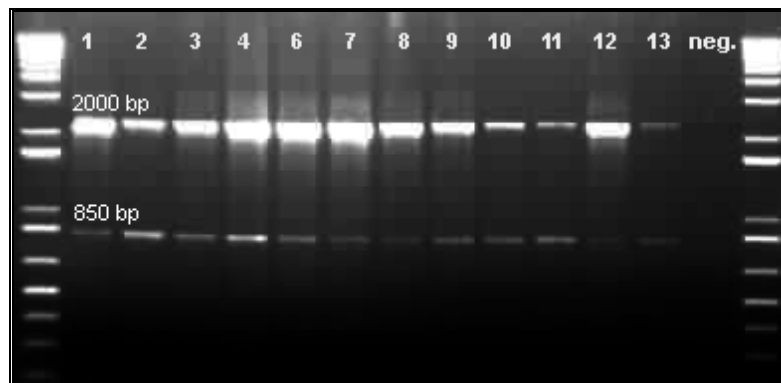


Figura 4: Resultados de reacciones PCR con ADN de varias especies de *Podocarpus* utilizando la combinación de primers 5P y 8P. Líneas 1, 2, 12 y 13 *P. urbanii*, líneas 3, 4, 8 y 9 *P. trinitensis*, líneas 6 y 7 *P. angustifolius*, líneas 10 y 11 *P. purdieanus*.

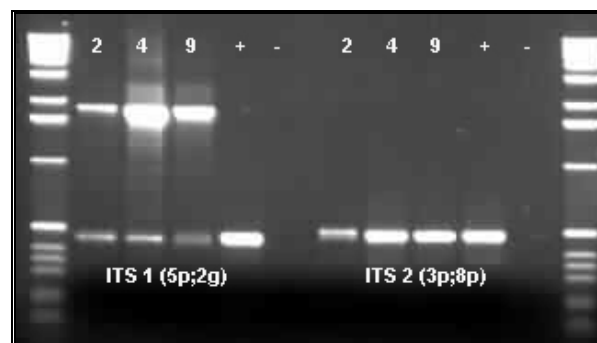


Figura 5: Resultados de reacciones PCR con ADN de varias especies de *Podocarpus* utilizando las combinaciones de primers 5P y 2G, amplificando sólo ITS1 (izquierda), y primers 3P y 8P, amplificando sólo ITS2 (derecha). Línea 2 *P. urbanii*, líneas 4 y 9 *P. trinitensis*.

Ambos fragmentos de ADN ITS1 fueron extraídos desde el gel para intentar secuenciarlos separadamente utilizando varias combinaciones de primers, pero no se obtuvieron secuencias legibles debido a la presencia de múltiples copias (figura 6). No se realizaron otros experimentos, como la clonación individual de los fragmentos debido a que el problema se escapaba de los alcances de este estudio, el cual contempló sólo la región ITS2.

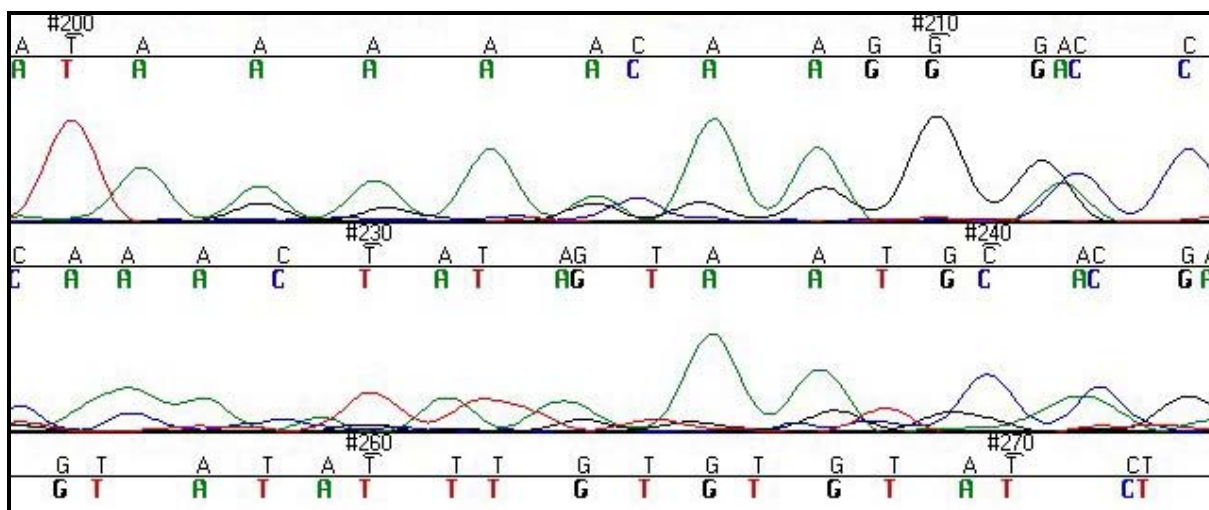


Figura 6: Sección de un cromatograma de las secuencias ITS1 mostrando la presencia de múltiples copias.

Un resultado interesante de este estudio fue la obtención de dos fragmentos de ADN cuando se amplificó la región ITS usando la combinación de primers 5P y 8P (figura 4). Este resultado también fue observado en especies de *Retrophyllum*, Podocarpaceae (Mill, 2004 comunicación personal). Es sabido que la región de ADN nuclear ITS es variable en longitud en gimnospermas (Liston *et al.*, 1996), pero este fenómeno de dos fragmentos distintos de aproximadamente 2000 bp y 850 bp, respectivamente, fuertemente constante a través de las especies estudiadas, no ha sido reportado anteriormente. Desafortunadamente los intentos por secuenciar estos fragmentos fallaron repetidamente, por lo tanto la identidad de los mismos aun es desconocida.

4.1.1 Secuencias de la Región Cloroplástica trnL-F

Las secuencias de los taxa ingroup variaron en longitud desde 742 bp en *P. urbanii* a 748 bp en *P. longefoliolatus*. Los tamaños de Indel estuvieron entre el rango de 1 bp a 36 bp en todas las especies de América central, el Caribe y *P. salignus* de Chile. La matriz de datos resultante tuvo una longitud de 1022 posiciones. Doscientos cuatro caracteres fueron excluidos del análisis debido a ambigüedades de alineamiento. De los 818 caracteres restantes, el 81.5% fueron constantes, el 6.36% no aportó información y el 12.1% fue informativo (99 caracteres). Las secuencias fueron típicas para ADN cloroplástico, ricas en bases A y T (66.8%).

Los taxa del outgroup presentaron una divergencia en la secuencia sin corregir que varió de 0.4% (entre *Dacrycarpus imbricatus* y *Dacrycarpus compactus*) y 7% (entre *Nageia nagi* y *Dacrycarpus compactus*), mientras que en los taxa ingroup la divergencia varió de 0% (entre *P. hispaniolensis*, *P. angustifolius*, *P. urbanii* y *P. purdieanus*) a 5.5% (entre *P. nivalis* y *P. macrophyllus*). Considerando sólo los taxa del Caribe y América central, la mayor divergencia alcanzó el 0.83% (entre *P. ekmanii* y *P. guatemalensis*).

El análisis filogenético produjo 6 árboles de mayor parsimonia de 214 pasos de longitud con **CI** de 0.90, **RI** de 0.93 y **RC** de 0.84. La razón de transiciones versus transversiones fue 1:1.16. En la figura 4A se muestra uno de los árboles de mayor parsimonia en forma de filograma.

La topología del árbol de consenso estricto resultante del set de datos *trnL-F* (figura 7B), muestra que tanto el género *Podocarpus* (**BS** = 100%; **DI** = 11) como el subgénero *Podocarpus* (**BS** = 100%; **DI** = 13) son monofiléticos. Dentro del subgénero *Podocarpus*, *P. salignus* y *P. nivalis* (secciones *Capitulatus* y *Australis*, respectivamente) forman un grupo hermano con los taxa de América central y el Caribe (**BS** = 93%; **DI** = 5). Por otro lado la monofilia del subgénero *Foliolatus* también se encuentra solidamente validada (**BS** = 100%; **DI** = 11).

Las especies de *Podocarpus* de las Grandes Antillas constituyen un grupo monofilético bien respaldado (**BS** = 78%; **DI** = 3), donde *P. angustifolius* es hermano de *P. purdieanus*, pero sin soporte de rama “branch support”. La clade de las Grandes Antillas, junto con *P. oleifolius*, *P. guatemalensis*, *P. matudae* (América central), *P. coriaceus* (Bajas Antillas) y *P. trinitensis* (Trinidad & Tobago), todas forman una politomía fuerte, donde *P. guatemalensis* y *P. matudae* forman un par hermano (**BS** = 62%; **DI** = 1).

La topología del árbol de consenso estricto basado en el set de datos *trnL-F* fue idéntica a la topología del árbol de consenso estricto basado en set de datos combinados *trnL-F* y ITS2. Sin embargo, se encontraron incongruencias entre las topologías de consenso estricto ITS2 y *trnL-F*. La topología de ITS2 mostró al género *Podocarpus* y al subgénero *Podocarpus* como no monofiléticos, mientras que el subgénero *Foliolatus* aparece como monofilético (**BS** = 99; **DI** = 6). Por otro lado el análisis combinado resultó en 66 árboles de mayor parsimonia (AMP), una cantidad mayor a los obtenidos en forma separada con los set de datos *trnL-F* (6 AMP) y ITS2 (20 AMP). Este resultado, junto con el bajo índice de consistencia **CI** obtenido en el análisis ITS2 sugiere la existencia de una señal conflictiva entre los set de datos individuales. Sin embargo el análisis combinado mostró un soporte de ramas mayor.

Cuadro 2: Características de las secuencias ITS2 y *trnL-F* de *Podocarpus* y los taxa outgroup analizadas.

Parámetro	ITS2	<i>trnL-F</i>	Combinado
Rango de longitud de las secuencias (outgroup), bp	195 – 205	756 - 888	967 - 961
Rango de longitud de las secuencias (ingroup), bp	193 – 196	742 - 748	810 - 938
Longitud total de la matriz alineada, bp	212	1022	1234
Contenido de G + C, %	68.3	33.2	39.8
Cantidad de sitios excluidos, bp	0	204	204
Cantidad de sitios alineados inequívocamente*	212	818	1030
Cantidad de indels informativos*	6	35	41
Cantidad de sitios constantes, (%)*	152 (71.3)	667 (81.5)	819 (79.5)
Cantidad de sitios variables, (%)*	61 (28.6)	151 (18.5)	212 (20.5)
Cantidad de sitios sin información, (%)*	21 (9.86)	52 (6.36)	73 (7.1)
Cantidad de sitios informativos, (%)*	40 (18.8)	99 (12.1)	139 (13.4)
Divergencia de las secuencias (outgroup), %*	4.44 - 15.2	0.4 - 7	n/a
Divergencia de las secuencias (ingroup), %*	0 - 10.33	0 - 5.5	n/a
Tasa de sustitución por carácter (ingroup)	0.1038	0.055	n/a
Divergencia de las secuencias (taxa del Caribe y A.C.)) %*	0 – 3	0 - 0.83	n/a
Tasa de sustitución por carácter (taxa del Caribe y A.C.)	0.03	0.0083	n/a
Divergencia de las secuencias (in/outgroup), %*	3.6 - 16.2	4.5 - 8	n/a
Transiciones versus transversiones (mínimo)*	19 vs. 18	44 vs. 38	n/a
Razón Transiciones / Transversiones	1.06	1.16	n/a
Cantidad de árboles de mayor parsimonia	20	6	66
Longitud (steps)	80	214	267
Promedio de steps por carácter	0.38	0.26	0.26
Índice de consistencia, CI	0.75	0.90	0.87
Índice de retención, RI	0.86	0.93	0.91
Índice de consistencia graduado, RC	0.71	0.84	0.79

Número de taxa = 20

*Basado en matriz alineada, excluyendo posiciones ambiguas

4.1.2 Secuencias de la Región Nuclear ITS2

Las secuencias de los taxa ingroup variaron en longitud desde 193 bp en *P. longefoliolatus* a 196 en todos los otros taxa. Los tamaños de Indel estuvieron entre el rango de 1 a 8 bp. La matriz de datos resultante tuvo una longitud de 212 posiciones. El 71.3% de los sitios resulto ser constante, 9.86% sin información, y 18.8% informativos (40 caracteres). A diferencia de las secuencias cloroplásticas, las secuencias de ADN nuclear fueron ricas en bases G y C (68.3%).

Los taxa del outgroup presentaron una divergencia en la secuencia sin corregir que varió desde 4.4% (entre *Dacrycarpus imbricatus* y *D. compactus*) a 15.2% (entre *Nageia nagi* y *D. imbricatus*). Mientras que en los taxa ingroup la divergencia varió desde 0% (entre *P. hispaniolensis*, *P. angustifolius*, y *P. ekmanii*) a 10.3% (entre *P. coriaceus* y *P. longefoliolatus*).

Se obtuvieron veinte árboles con mayor parsimonia de 80 pasos (steps) de longitud, con un **CI** de 0.75, un **RI** de 0.86 y un **RC** de 0.71. La razón de transiciones versus

transversiones fue de 1:1.06. En la figura 8A se muestra uno de los árboles con mayor parsimonia en forma de filograma.

La topología del árbol de consenso estricto obtenido con el set de datos ITS2 (figura 8B) en general muestra una resolución menor que el árbol obtenido con el set de datos *trnL-F*. Sin embargo la monofilia del subgénero *Foliolatus* se encuentra bien soportada (**BS** = 99%; **DI** = 6). La mayoría de los miembros del subgénero *Podocarpus* caen en una politomía con la clade del subgénero *Foliolatus* y la clade que incluye a *Afrocarpus* y *Nageia*. Un resultado un tanto extraño es que el subgénero *Podocarpus* aparece como parafilético.

Los *Podocarpus* de las Grandes Antillas y América central forman un grupo monofilético con un buen soporte de (**BS** = 69; **DI** = 1), con *P. guatemalensis* en una posición hermana, pero con un soporte bajo (**BS** = 50; **DI** = 1). Dentro de esta clade no se obtuvo resolución al nivel de especie.

Las divergencias de las secuencias sin corregir ITS2 fueron muy altas entre los subgéneros *Podocarpus* y *Foliolatus*, donde el valor máximo fue de 10.3% entre *P. coriaceus* y *P. longefoliolatus*, con una tasa de substitución por carácter el doble de rápida que en las secuencias de ADN cloroplástico *trnL-F* (0.1038 vs. 0.055).

Estudios en otros géneros de coníferas como *Pinus* (Liston *et al.*, 1999) y *Taxus* (Möller, 2004 comunicación personal), han encontrado valores máximos de divergencia ITS2 menores a 2%. Esto significa que los subgéneros *Podocarpus* y *Foliolatus* son genéticamente más distantes (cuando se considera sólo ITS2), que los subgéneros *Pinus* y *Strobus*. Esto puede ser explicado mediante dos escenarios; *Podocarpus* y *Foliolatus* se separaron antes que *Pinus* y *Strobus*; o la región ITS2 ha y esta evolucionando más rápido en *Podocarpus* que en *Pinus*.

Por otro lado, cuando se consideran solo los taxa del Caribe y América central (subgénero *Podocarpus*), la máxima divergencia ITS2 fue de 3% un valor aun relativamente alto a los obtenidos para el género *Pinus*. Esto puede estar relacionado a la sorprendente variabilidad en números cromosómicos que caracteriza a *Podocarpus* y en general a toda la familia Podocarpaceae (Hair, 1958; Hair y Beuzenberg, 1958; Davies *et al.*, 1997), y podría indicar antigüedad de la familia envés de una evolución más rápida del gen ITS2.

4.1.3 Análisis Combinado

Cuando se combinaron ambos sets de datos, se obtuvieron 66 árboles de mayor parsimonia de una longitud de 267 pasos, donde el **CI** fue de 0.87, el **RI** de 0.91 y el **RC** de 0.79.

La topología del árbol de consenso estricto fue idéntico al obtenido con las secuencias *trnL-F*, pero con mayor soporte (figura 9). El género *Podocarpus* forma un grupo monofilético con buen soporte (**BS** = 100; **DI** = 14), al igual que los subgéneros *Podocarpus* (**BS** = 99; **DI** = 11) y *Foliolatus* (**BS** = 100; **DI** = 19). Dentro

del subgénero *Podocarpus*, *P. salignus* y *P. nivalis* son hermanas al resto del subgénero (**BS** = 97; **DI** = 10) figura 9.

Las especies de América central y el Caribe forman un grupo monofilético (**BS** = 97; **DI** = 10), donde *P. matudae* es hermano de *P. guatemalensis*, pero con bajo soporte (**BS** = 54; **DI** = 1). Dentro de esta clade las especies de las Grandes Antillas forman un grupo monofilético con buen soporte (**BS** = 82; **DI** = 4) en el cual *P. angustifolius* es hermano de *P. purdieanus*, pero sin validación.

A diferencia del análisis con el set de datos ITS2, el análisis combinado mostró al género *Podocarpus* como monofilético con buena validación (**BS** = 100; **DI** = 14) así como al subgénero *Podocarpus* (**BS** = 99; **DI** = 11). Dentro del género *Podocarpus*, *P. salignus* y *P. nivalis* fueron taxa hermanos al resto de las especies estudiadas (**BS** = 97; **DI** = 10). Este resultado esta de acuerdo con los obtenidos en estudios basados en ADN cloroplástico *rbcL* (Conran *et al.*, 2000), y en una combinación de ADN cloroplástico *trnL-F* y nuclear ITS2 (Sinclair *et al.*, 2002). Sin embargo el presente estudio es importante ya que el de Conran *et al.* (2000) no obtuvo soporte para la monofilia del género *Podocarpus* ni para el subgénero *Podocarpus*. Por otro lado el estudio de Sinclair *et al.* (2002) si obtuvo soporte para la monofilia del género *Podocarpus* y para los subgéneros *Podocarpus* y *Foliolatus*, pero la muestra sólo consideró dos especies del subgénero *Podocarpus*.

Los resultados del presente estudio molecular no confirman la actual clasificación seccional (figura 9), por ejemplo, taxa que pertenecen a la sección *Nemoralis* caen en tres clades distintas, taxa de la sección *Lanceolatus* caen en dos clades, mientras que taxa de las secciones *Pumilis* y *Nemoralis* forman un grupo monofilético con buen soporte. Por lo tanto, estas tres secciones no son monofiléticas (figura 9). Sin embargo todos los taxa que ocurren en las Grandes Antillas forman un grupo natural bien soportado (**BS** = 84; **DI** = 4).

Esta clade formada por los taxa de las Grandes Antillas sugiere que las especies estudiadas de la sección *Nemoralis* necesitarán ser reunidas con las especies estudiadas de la sección *Pumilis* si es que se pretende construir una clasificación seccional que refleje la filogenia del género. Sin embargo es necesario expandir este estudio incluyendo los otros taxa que ocurren en el norte de América del Sur con el fin de corroborar el estatus de monofilia de esta clade antes de realizar conclusiones finales.

No se obtuvo suficiente resolución entre taxa relacionadas cercanamente; esto muestra que las regiones *trnL-F* y ITS2 no son adecuadas, por si solas, para dilucidar la filogenia de especies de *Podocarpus* relacionadas cercanamente. Por ejemplo las secuencias *trnL-F* fueron iguales para *P. angustifolius*, *P. urbanii*, *P. purdieanus* y *P. hispaniolensis*, mientras que las secuencias ITS2 fueron iguales para *P. ekmanii* y *P. hispaniolensis*. Este bajo nivel de divergencia podría indicar eventos de especiación recientes.

La baja resolución obtenida con ITS2 en este y otro estudio de especies africanas de *Podocarpus* (Mill, 2004 comunicación personal), sugiere que para resolver completamente las relaciones filogenéticas de especies de *Podocarpus* cercanamente relacionadas, se necesitarían genes de evolución más rápida o técnicas de genética de poblaciones tales como RAPD, AFLP o microsatélites.

Tres regiones de microsatélites fueron encontradas dentro de la región *trnL-F*; una repetición TA ubicada en la posición 92, una repetición T ubicada en la posición 560 y una repetición TA ubicada en la posición 716. Estas regiones fueron variables a través de las especies estudiadas y por lo tanto podrían servir para obtener filogenias más resueltas.

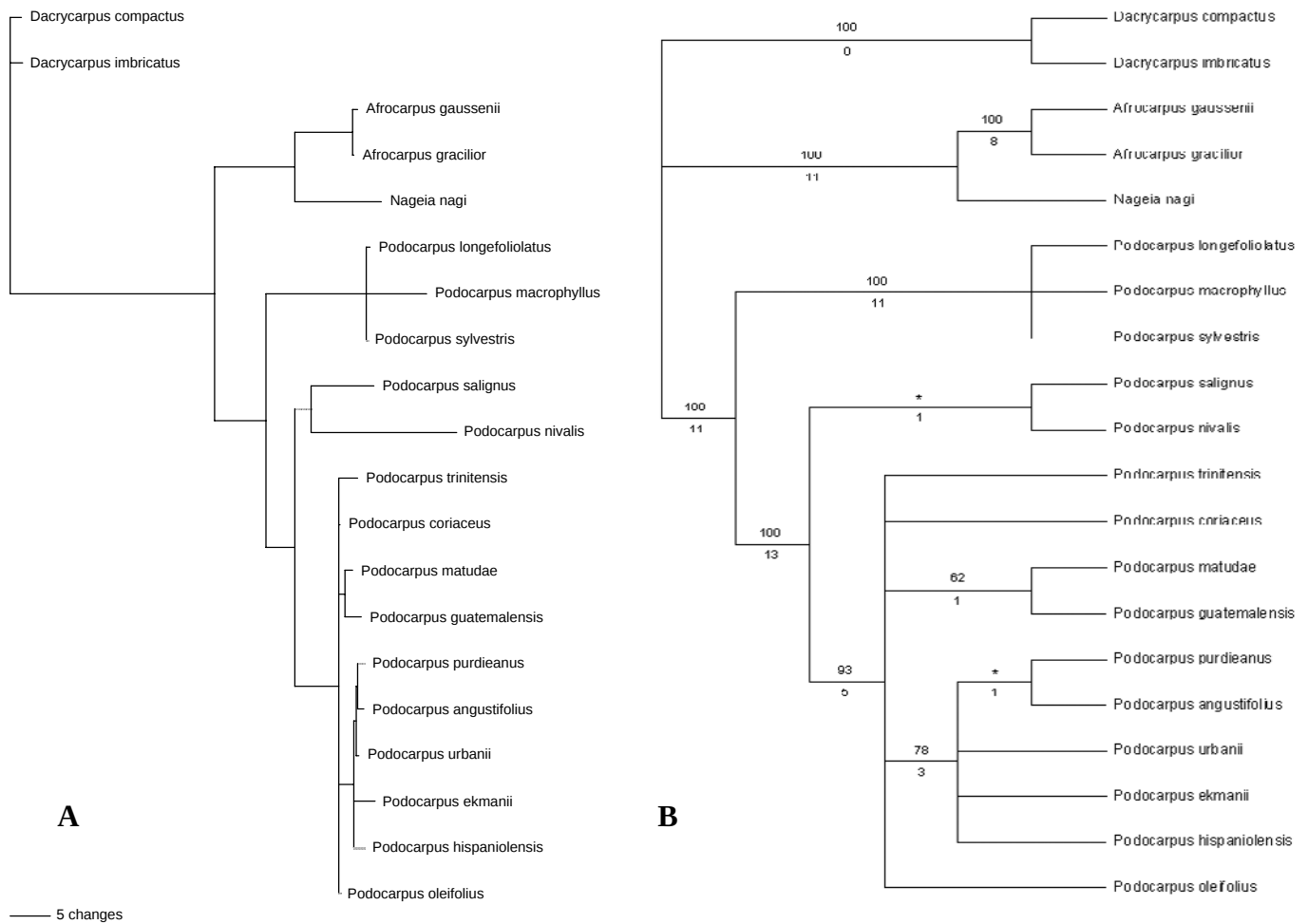


Figura 7: Árboles resultantes de las secuencias *trnL-F*. A; Filograma de uno de los 6 árboles de mayor parsimonia de 214 pasos (CI = 0.899, RI = 0.932, RC = 0.838). B; Árbol de consenso estricto entre los 6 árboles de mayor parsimonia. Los números sobre las ramas son valores de bootstrap de 10,000 replicas; los números bajo las ramas son índices de decaimiento. Asteriscos indican ramas con < 50% de bootstrap.

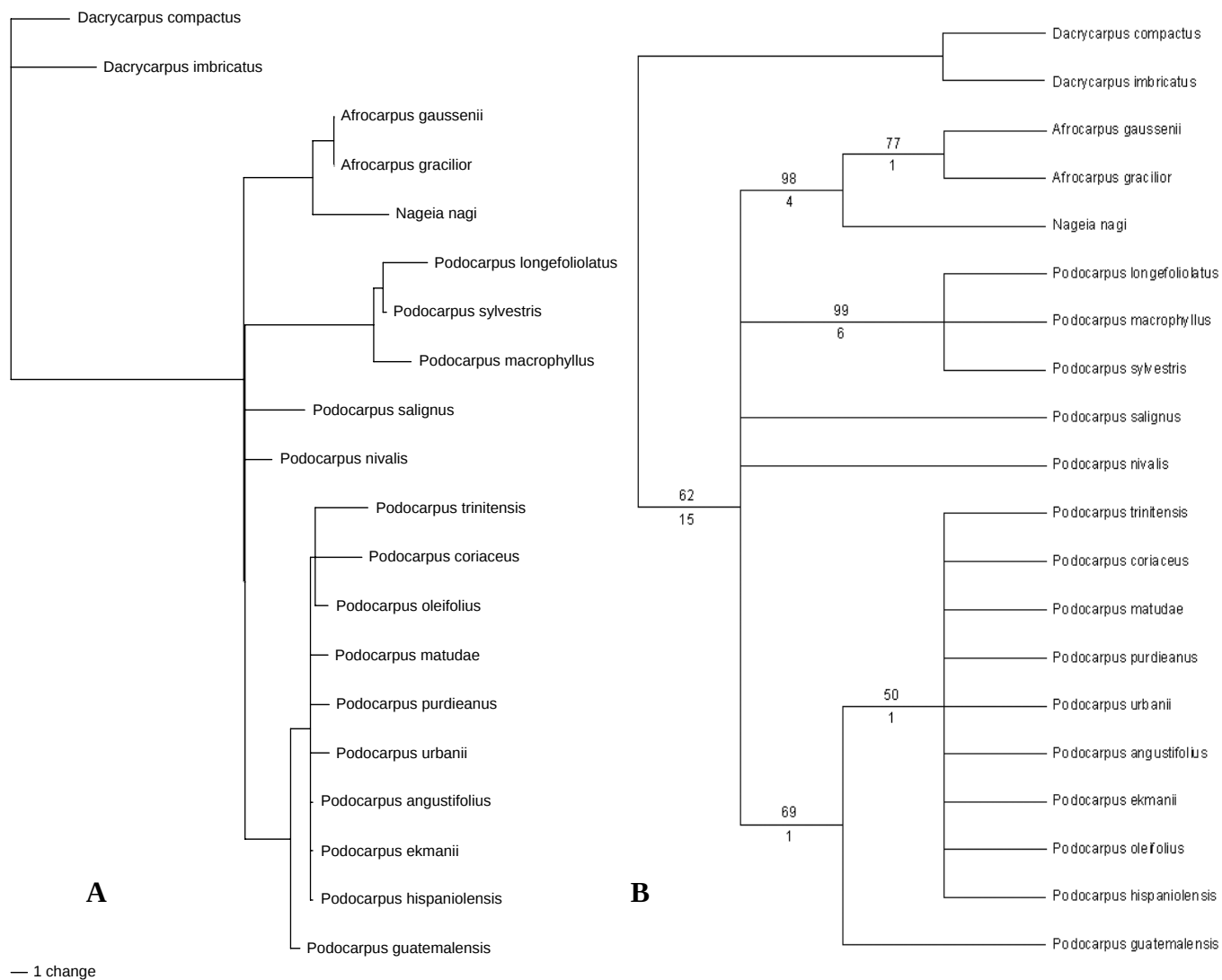


Figura 8: Árboles resultantes de las secuencias ITS2. A; Filograma de uno de los 20 árboles de mayor parsimonia de 80 pasos (CI = 0.754, RI = 0.859, RC = 0.708). B; Árbol de consenso estricto entre los 20 árboles de mayor parsimonia. Los números sobre las ramas son valores de bootstrap de 10,000 replicas; los números bajo las ramas son índices de decaimiento.

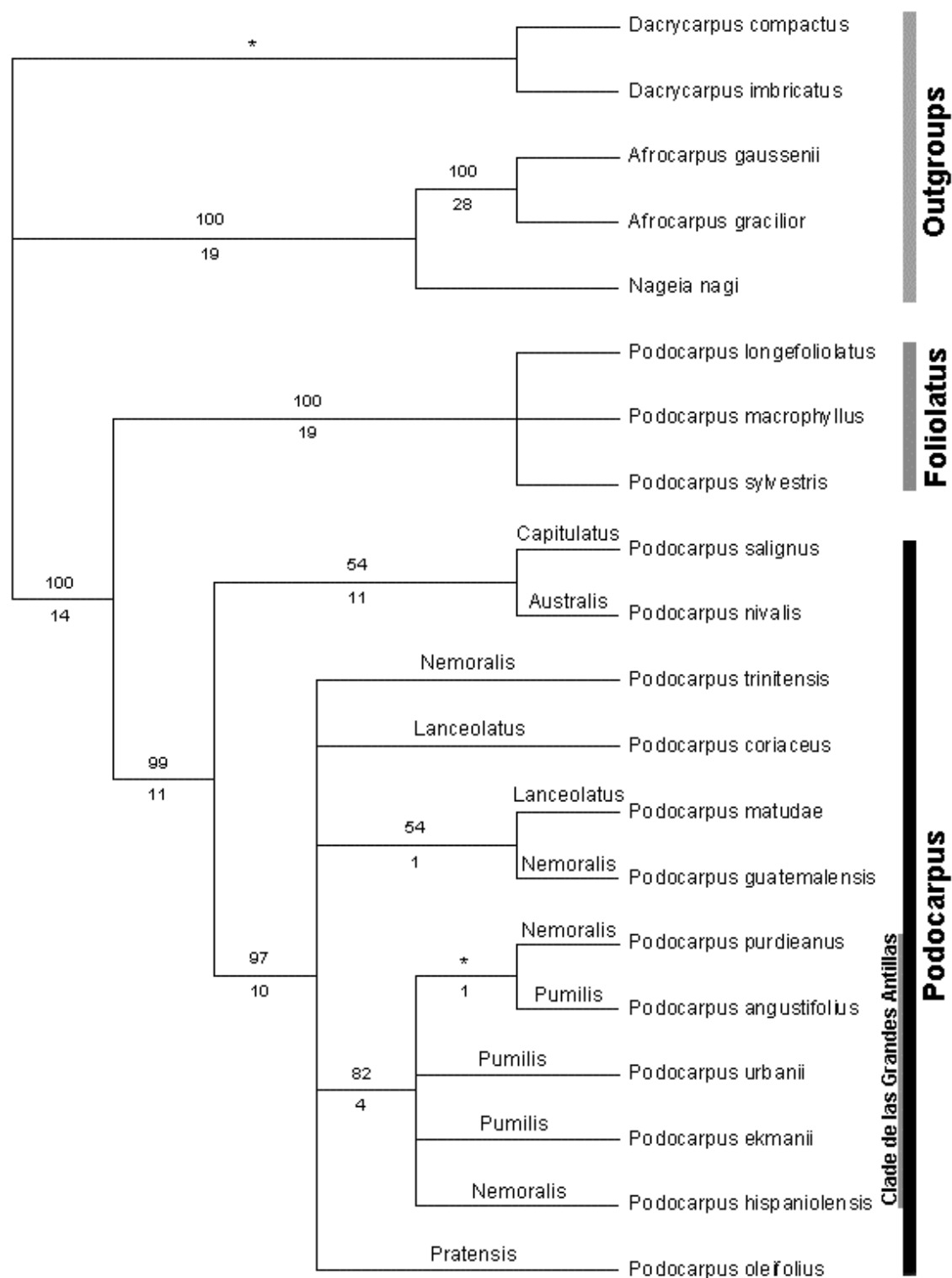


Figura 9: Árbol de consenso estricto de los 66 árboles de mayor parsimonia, basado en las secuencias combinadas *trnL-F* y *ITS2*. Los números sobre las ramas representan valores de bootstrap de 10,000 réplicas; los números bajo las ramas son índices de decaimiento. Asteriscos indican ramas con < 50% de bootstrap, nombres de las secciones es entregado sobre las ramas finales.

4.2 Morfología

Los caracteres más útiles para identificar especies o grupos de especies son; la presencia o ausencia de un mucrón o arista en el ápice de las hojas, presencia de una protuberancia o canal en el haz o envés de las hojas, forma de los brotes terminales, longitud de las escamas de los brotes terminales, longitud del pedúnculo y la longitud del cono masculino. La longitud y ancho de las hojas, así como la forma de estas son características que sirven para distinguir grupos de especies, sin embargo estos caracteres pueden ser variables dentro de una especie, particularmente cuando se comparan hojas de individuos jóvenes con las de individuos adultos.

P. ekmanii difiere de *P. angustifolius* al tener hojas mas gruesas, una vena central muy conspicua en el envés de las hojas y un pedúnculo que raramente supera los 0.5mm de longitud, mientras que en *P. angustifolius* el pedúnculo es de por lo menos 2.5mm de longitud, las semillas maduras son más largas y los conos masculinos son de por lo menos 13mm de longitud (ver anexo 6).

P. victorinianus difiere de *P. buchii* en cuanto a la longitud del pedúnculo y la semilla, en la longitud de las hojas que son de por lo menos 4.4cm en *P. victorinianus* y de no más de 3.1cm in *P. buchii*, los brotes terminales que son más largos en *P. victorinianus* y por último las hojas de *P. buchii* tienen una forma de “V” particular única dentro de las especies estudiadas (ver anexo 6).

P. coriaceus difiere de *P. trinitensis* en los brotes terminales que son cónicos y de por lo menos 5mm de longitud en *P. coriaceus* mientras que en *P. trinitensis* son esféricos u ovoides con una longitud que no supera los 3.2mm. *P. coriaceus* tiene por lo menos 42 filas de estomas en cada lado de la vena central mientras que *P. trinitensis* tiene como máximo 33. *P. coriaceus* tiene una protuberancia en el envés de las hojas mientras que *P. trinitensis* tiene un canal (ver anexo 6). Al parecer este canal sólo se desarrolla completamente cuando las hojas de *P. trinitensis* están maduras, sin embargo estas nunca presentan una protuberancia como en *P. coriaceus*.

En todas las especies de América central se observo la presencia de dos semillas en algunos conos femeninos, el único taxón del Caribe que presentó esta característica fue *P. coriaceus* (ver anexo 6).

En todos los taxa de América central no se observó un mucrón o arista en el ápice de las hojas, mientras que todas las especies del Caribe, excepto *P. coriaceus* presentan esta característica. En algunas hojas de especímenes de *P. urbanii* y *P. hispaniolensis* este mucrón o arista no se observó, sin embargo estuvo presente en por lo menos el 60% de las hojas examinadas.

En *P. matudae* se observó que el receptáculo estaba constituido por tres brácteas, en vez de dos como es lo común para el género, esta tercera bráctea extra no fue observada en ninguna de las otras especies estudiadas (ver anexos 5 y 6).

4.2.1 Sección *Pumilis*

Los caracteres morfológicos definidos para esta sección son: brotes foliares globulares de aproximadamente 2mm de longitud, hojas de menos de 3.5cm x 8mm, conos masculinos de menos de 15mm de longitud y frutos con una cresta (De Laubenfels, 1985). Estos caracteres no están en completo acuerdo con los resultados encontrados en este estudio. Por ejemplo *P. angustifolius* puede tener brotes terminales de hasta 3.1mm, *P. urbanii*, *P. victorinianus* y *P. angustifolius* pueden tener hojas adultas de más de 5cm de largo (hasta de 5.9cm en *P. urbanii*) y los conos masculinos de *P. urbanii* y *P. angustifolius* pueden ser de hasta 20mm de largo (ver anexo 6).

4.2.2 Sección *Nemoralis*

Para esta sección los caracteres diagnósticos que fueron definidos son; brotes foliares globulares de 2-3mm de longitud, hojas de más de 5cm x 8mm, y conos masculinos de más de 30mm de largo (De Laubenfels, 1985). Se encontró que estos caracteres son variables, por ejemplo se encontraron brotes foliares de hasta 4mm en *P. guatemalensis*, *P. hispaniolensis* y *P. purdieanus*. La longitud registrada para las hojas estuvo alrededor de 5cm pero también se encontraron valores bajo 5cm en *P. hispaniolensis* (3cm) y *P. guatemalensis* (4.3cm). La longitud de los conos masculinos fue menor a 30mm en *P. guatemalensis* y *P. hispaniolensis*; sólo en *P. purdieanus* estos registraron longitudes mayores a 30mm (ver anexo 6).

4.2.3 Sección *Lanceolatus*

La sección *Lanceolatus* fue definida por tener; escamas de los brotes foliáceas y elongadas de 3-16mm de longitud con hojas adultas anchas y distintivamente lanceoladas (De Laubenfels, 1985). Estas características están en completo acuerdo con los resultados de este estudio y de hecho el carácter más obvio para la sección es la longitud y aspecto foliáceo de las escamas de los brotes las que variaron entre 4mm en *P. matudae* hasta 10mm en *P. matudae* y *P. costaricensis*. La longitud de las hojas varió entre 6cm hasta 17.5cm en *P. matudae*. La forma de las hojas resultó ser mas falcada que lanceolada en *P. coriaceus* y *P. matudae*, mientras que en *P. costaricensis* fueron estrictamente lanceoladas. Los conos masculinos fueron variables en longitud con un rango de 23 a 40mm en *P. coriaceus* y 33 a 53mm en *P. matudae* (ver anexo 6).

4.2.4 Sección *Pratensis*

Los caracteres diagnósticos descritos para esta sección son: brotes foliares globulares con escamas imbricadas y hojas anchas con un canal distintivo (De

Laubenfels, 1985). Esta sección esta compuesta por tres especies de las cuales solo una, *P. oleifolius* fue considerada en este estudio. Probablemente el carácter más obvio que define a esta sección es el canal conspicuo y profundo presente en el haz de las hojas, las que presentaron una variación en tamaño de 3.4-8.7 x 6.2-15.3cm (ver anexo 6).

La morfología ha mostrado que los límites seccionales definidos por De Laubenfels (1985) no siempre son claros, existiendo una clara transposición especialmente entre las secciones *Pumilis* y *Nemoralis* (cuadro 3).

Cuadro 3: Resumen de caracteres a nivel seccional.

Sección	Semillas mm		Long. del pedúnculo mm	Long. del cono masc. mm	Hojas		Long. brotes terminales mm
	Long.	Ancho			Long. cm	Ancho mm	
<i>Pumilis</i>	4-8	3-5	0-7	8-20	1.8-5.9	3.1-10	1-3.1
<i>Nemoralis</i>	5-10	4-6	1.5-7	17-35	4.8-12.4	4.7-12	1.2-4
<i>Lanceolatus</i>	6-12	4-8	4-24	23-43	6.1-17.6	7.6-18	4-10
<i>Pratensis</i>	6-8	4-5	4-10	25-28	3.4-8.7	6.2-15.2	2-5

La sección *Nemoralis* tiende a tener hojas más grandes y brotes terminales sólo un poco más largos que la sección *Pumilis*. Los conos masculinos son significativamente más largos para sección *Nemoralis* sólo en *P. purdieanus*, ya que en *P. hispaniolensis* son muy cortos (ver anexo 6).

Por otro lado la sección *Lanceolatus* tiene brotes terminales muy distintivos, siendo este caracter una sinapomorfia fidedigna, fácil de identificar y constante dentro y entre las especies de esta sección.

Para la sección *Pratensis* el canal profundo y conspicuo sobre toda la lámina representa un caracter sinapomórfico para esta sección, asumiendo que también esta presente en las otras dos especies asignadas a esta sección y es homólogo a lo que he observado en *P. oleifolius*. Otros caracteres resultaron ser variables y por lo tanto no diagnósticos a nivel de sección.

Un agrupamiento claro puede hacerse al considerar la presencia de una arista o mucrón en el ápice de las hojas, caracter presente en todos los taxa que ocurren en las Grandes Antillas y ausente en todos los otros taxa consideradas por este estudio; este agrupamiento considera especies de dos de la secciones definidas actualmente, *Pumilis* y *Nemoralis*.

Es interesante el hecho de que todas las otras especies de las secciones *Pumilis* y *Nemoralis* que ocurren en Venezuela, *P. buchholzii* de Laub. y *P. roraimae* Pilger (*Pumilis*), *P. brasiliensis* de Laub, *P. magnifolius* Buchholz & Gray y *P. celatus* de Laub. (*Nemoralis*), no poseen este mucrón en el ápice de las hojas (Buchholz y Gray, 1948c; De Laubenfels, 1982), por lo tanto este carácter parece ser exclusivo de los taxa que ocurren en las Grandes Antillas.

4.3 Discusión General

4.3.1 Delimitación de especies y secciones

Desafortunadamente, debido a reglas nomenclaturales el nombre correcto de la planta usualmente llamada *P. aristulatus* Parl. es *P. victorinianus* Car. Esto debido a que *P. aristulatus* fue descrita basada en dos especímenes; Wright 3188 y Wright 1461 los cuales representan taxa diferentes, esto sumado a que Wright 3188 es el tipo de *P. angustifolius*, el cual fue descrito dos años antes que *P. aristulatus*. Luego Pilger (1903) tipificó *P. aristulatus* con el espécimen Wright 3188, convirtiéndolo en un sinónimo taxonómico de *P. angustifolius*. *P. victorinianus* fue descrita por Carabia (1941) basándose en el espécimen Wright 1461, mismo colector y numero de colección de aquel que en 1868 Parlatore utilizó para describir *P. aristulatus* (ver 2.3).

En total se reconocieron nueve especies para la región del Caribe: *P. angustifolius*, *P. ekmanii* y *P. victorinianus* nativas de Cuba; *P. buchii* y *P. hispaniolensis* nativas de Española; *P. urbanii* y *P. purdieanus* nativas de Jamaica; *P. coriaceus* de Puerto Rico y las Bajas Antillas; y *P. trinitensis* nativa de Trinidad y Tobago. Descripciones actualizadas de estas especies se pueden encontrar en Stark (2004).

En México y América central se reconocieron cuatro especies; *P. matudae* nativa desde México a El Salvador; *P. guatemalensis* desde México a Panamá; *P. costaricensis* desde Costa Rica a Panamá; y *P. oleifolius* desde México a Panamá (también en el norte de América del Sur, área no incluida en este estudio).

Cuatro de las nueve secciones propuestas por De Laubenfels (1985) fueron consideradas por este estudio, sin embargo la sección *Pratensis* estuvo representada sólo por *P. oleifolius* y por lo tanto no es mucho lo que puede decirse sobre esta sección. Sin embargo este taxón representa una entidad taxonómica única al momento de considerar las características morfológicas.

Las especies de la sección *Lanceolatus* que fueron consideradas en este estudio representan un grupo bien definido al considerar los datos morfológicos, sin embargo el análisis molecular sugiere que esta sección representa un grupo no monofilético. Mientras que al considerar las características morfológicas y el análisis molecular la sección *Nemoralis* no representa un grupo natural.

Todas las especies estudiadas de la sección *Pumilis* cayeron en una clade bien soportada (**BS** = 82; **DI** = 4), sin embargo dentro de esta clade se encuentran dos especies pertenecientes a la sección *Nemoralis*; *P. hispaniolensis* y *P. purdieanus*. Los datos morfológicos también soportan esta clade la que comparte dos caracteres sinapomórficos; la presencia de una arista o mucrón en el ápice de las hojas y la ausencia de dos semillas por cono femenino (figura 10). Datos de la micromorfología interna de las cutículas también agrupan esta clade, incluyendo a *P. guatemalensis* (Stark y Mill, 2004). Por otro lado la micromorfología del polen también agrupa a esta clade, pero esta vez incluyendo a *P. matudae* envés que a *P. guatemalensis* (Stark y

Mill, 2005). Es interesante el hecho de que *P. guatemalensis* y *P. matudae* aparecen como especies hermanas en el análisis molecular (**BS** = 54; **DI** = 1), lo que sugiere que cualquiera de las dos especies podría representar el ancestro de las especies que constituyen la clade de las Grandes Antillas. Sin embargo, el análisis molecular no fue suficientemente resuelto como para estar seguro de cual es la especie ancestral, y sin haber estudiado más especies de ambos subgéneros, es difícil postular patrones evolutivos de estos caracteres morfológicos.

En resumen una clasificación seccional filogenéticamente basada, resultará en una reducción del número actual de secciones, como ejemplo este estudio sugiere la unión de *P. purdieanus* y *P. hispaniolensis* (actualmente en la sección *Nemoralis*) con todos los otros taxa que ocurren en las Grandes Antillas (actualmente en la sección *Pumilis*) con el objeto de formar una sección soportada filogenéticamente. Ya que ambas secciones fueron descritas al mismo tiempo (De Laubenfels, 1985), no existen problemas nomenclaturales en cuanto a escoger cualquiera de los nombres para denominar a este grupo natural, sin embargo considerando que el grupo esta compuesto principalmente por miembros de la sección *Pumilis*, el autor piensa que éste debería ser el nombre para denominar a esta “nueva” sección, a pesar de que *P. hispaniolensis* y *P. purdieanus* están lejos de ser pequeños o enanos como el nombre *pumilis* sugiere.

4.3.2 Evolución de caracteres

La baja resolución obtenida en el análisis molecular entre las especies objeto del estudio sugiere una especiación relativamente reciente, por otro lado los bajos niveles de sustitución media por carácter sugiere que no es muy probable la ocurrencia de reversiones y por lo tanto la escasez de caracteres sinapomórficos puede deberse a que estos sufrieron una evolución del tipo reticulada.

La arista o mucrón en el ápice de las hojas constituye uno de los pocos caracteres morfológicos sinapomórficos encontrados en la clade de las Grandes Antillas. Este carácter debe haber evolucionado *in situ* ya que no fue encontrado en ninguno de los otros taxa estudiados, y la información bibliográfica (Buchholz y Gray, 1948c; De Laubenfels, 1982; Torres-Romero, 1988) sugiere que esta característica no esta presente en los taxa que ocurren en el norte de América del Sur, sin embargo esta característica se encuentra presente en la especie chilena *P. nubigenus* Lindley (sección *Australis*). Por lo tanto este carácter no es único para esta clade.

Esta adaptación morfológica podría ayudar a la especie a mantener las superficies superiores de las hojas libres de agua, o para evitar/disminuir herviboría. La primera teoría no parece muy plausible, ya que las hojas son hipostomáticas y por lo tanto no debiera ser prioritario el mantener las superficies de las hojas libres de agua. La segunda teoría parece ser más probable considerando que muchas de las especies que poseen esta característica tienen hábito arbustivo o son pequeños árboles (excepto por *P. purdieanus*, *P. hispaniolensis* y *P. nubigenus*). Desafortunadamente no existen estudios fisiológicos que permitan validar o rechazar estas hipótesis.

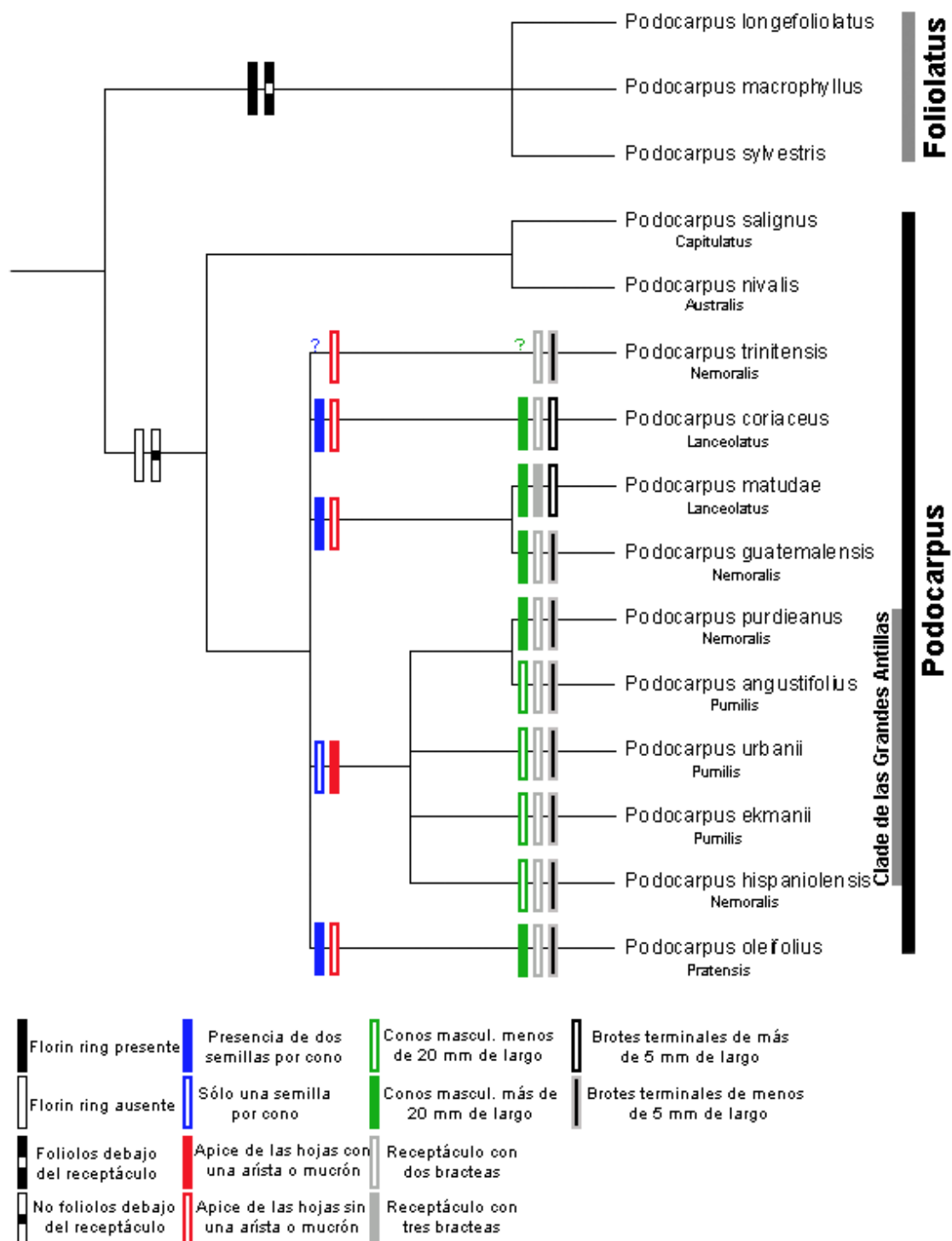


Figura 10: Árbol de consenso estricto, basado en el set de datos combinados *trnL-F* y *ITS2*. Caracteres morfológicos mapeados (ver figura 9 para los valores de bootstrap e índice de desmoronamiento, y anexo 6 para la tabla de caracteres).

4.3.3 Biogeografía

Sorprendentemente la familia Podocarpaceae no ha sido objeto de ningún estudio biogeográfico moderno (Mill, 2003). La teoría convencional (Florin, 1940; Page, 1990; Kelch, 1997) propone un origen Gondwánico con una consecuente migración hacia el norte hasta alcanzar los límites actuales en el Caribe, Etiopía y este de Asia. Sin embargo, Mill (2003) opina que esta hipótesis no considera los numerosos fósiles del Terciario encontrados en zonas de origen Laurásico que han sido asignados a Podocarpaceae, y si estos realmente fuesen podocarpaceas debería invocarse una teoría distinta.

Los resultados de este estudio sugieren que la colonización de las bajas Antillas y Puerto Rico por *P. coriaceus* constituyó un evento distinto y no relacionado a la colonización de las Grandes Antillas (excluyendo Puerto Rico). Esta teoría se encuentra soportada por datos de micromorfología (Stark y Mill, 2004), morfología y análisis molecular, los cual claramente soportan una clade monofilética compuesta por los taxa de las Grandes Antillas.

Esta barrera biológica para *Podocarpus* entre Puerto Rico y el resto de las Grandes Antillas fue propuesta por Mill (2003) y es confirmada por el presente estudio.

Uno de los posibles escenarios es una migración hacia el norte donde primero fueron colonizadas las Bajas Antillas seguido por una migración continua de taxa por centro América continuando con la colonización, desde América Central hacia las Grandes Antillas (posiblemente primero a Cuba a través de Yucatán), figura 11. Desafortunadamente la información disponible hasta este momento no permite deducir si la colonización de América central ocurrió antes o después de la formación del istmo de Panamá (~3.2 m.a).



Figura 11: Hipótesis de migración de las especies de *Podocarpus*.

Otro resultado interesante del presente estudio es el hecho de que *P. salignus* (Chile) resultó estar relacionado más cercanamente con *P. nivalis* (Nueva Zelanda) que con las otras especies que fueron estudiadas del continente americano.

Si aceptamos la teoría que propone que Podocarpaceae tuvo un origen Sud Americano-Antártico, lo cual parece ser lo mas plausible (Mill, 2003). Sumado a que Chile se encuentra biogeográficamente aislado después del mayor levantamiento de la Cordillera de los Andes y la consecuente formación del Desierto de Atacama hace aproximadamente 10 m.a, entonces este resultado sugiere una especiación y colonización rápida de *Podocarpus* hacia el norte de América del sur.

Por otro lado es plausible que las podocarpáceas chilenas no hallan sufrido mayores cambios, como es el caso de otra conífera (*Araucaria araucana*) la que parece haber cambiado muy poco genética y fenotípicamente desde la edad jurásica en contraste con la relativamente rápida y reciente especiación de los taxa de *Araucaria* que ocurren en Nueva Caledonia (Gilmore y Hill, 1997). Sin embargo esta es sólo una hipótesis que deberá validada incluyendo los otros taxa de América del Sur junto con más representantes del subgénero *Foliolatus*.

4.3.4 Conservación

Ocho de las nueve especies reconocidas para el Caribe se encuentran listadas en alguna de las categorías de conservación de las UICN (cuadro 4). *P. coriaceus* es la única especie considerada de baja preocupación, sin embargo se encuentra en esta categoría debido a su amplio rango de distribución, ya que si fuese evaluada en forma individual para cada isla, seguramente habría que considerarla en peligro o por lo menos vulnerable.

Todas las especies de América Central, excepto *P. oleifolius*, se encuentran en la categoría de datos insuficientes (cuadro 4). Esta situación resalta lo poco conocidos que son estos taxa y la importancia de realizar más trabajo de terreno.

Cuadro 4: Estado de conservación de las especies bajo estudio.

Especies	Estado de conservación (IUCN, 2003)	
<i>P. angustifolius</i>	EN, B1+2c	Caribe
<i>P. hispaniolensis</i>	EN, B1+2e	
<i>P. buchii</i>	VU, B2ac [citado como <i>P. aristulatus</i> (Zanoni, 1999)]	
<i>P. victorinianus</i>	VU, B2ac [citado como <i>P. aristulatus</i> (Zanoni, 1999)]	
<i>P. urbanii</i>	LRnt	
<i>P. purdieanus</i>	DD	
<i>P. trinitensis</i>	DD	
<i>P. ekmanii</i>		
<i>P. coriaceus</i>	Baja Preocupación	América Central
<i>P. guatemalensis</i>	DD	
<i>P. costaricensis</i>	DD	
<i>P. matudae</i>	DD	
<i>P. oleifolius</i>	Baja Preocupación	

* necesita ser evaluada ya ha sido considerada como un sinónimo de *P. angustifolius*. [D. D. según el presente autor].

Principales amenazas. Para el Caribe, Zaroni (1999) cita como amenazas principales; la baja ocupación geográfica que poseen la mayoría de los taxa, cambios de la cubierta vegetal debido, principalmente, a deforestación, incendios naturales y de origen antrópico y por último el floreo de árboles para producción de madera. Desafortunadamente el trabajo de Zaroni (1999) no consideró las amenazas que afectan a islas independientes.

Probablemente la información más actualizada acerca de los taxa del Caribe proviene desde informes técnicos realizados por Martin Gardner y Sabina Knees (RBGE) durante sus visitas a Jamaica (2001), Trinidad & Tobago (2003), Cuba (2003, 2004), y Española (2004). Estos informes indican que para *P. purdieanus* y *P. hispaniolensis* la mayor amenaza es la producción de madera, debido a que ambos son árboles grandes y sus maderas son muy cotizadas en los mercados.

En Jamaica las mayores amenazas son la industria de la papa dulce, que se provee de estacas de *Podocarpus* para afirmar los cultivos y la introducción de especies tales como; *Afrocarpus falcatus*, *Cupressus* spp., *Rhododendron arboretum* y *Pittosporum undulatum*, siendo esta última la más problemática. Es irónico que una de estas especies sea miembro de otro género de la familia Podocarpaceae. En Cuba la mayor amenaza es sin duda la minería de Níquel a tajo abierto.

Estrategias de conservación. Para las especies del Caribe se debería considerar reforestación *in situ* y conservación *ex situ*, así como el control de especies invasivas, especialmente en Jamaica.

Se propone el entrenamiento a silvicultores locales y creación de manejos de bosques que sean sustentables. Estas son medidas urgentes, especialmente en Jamaica donde no existe control en la explotación de bosques. Por otro, lado la industria jamaicana de papa dulce necesita crear cultivos forestales manejados con el objeto de suplir sus necesidades de madera para soportes y así dejar de talar renovales de *Podocarpus* u otras especies amenazadas. Probablemente la especie más indicada para alcanzar esto es *Pinus caribaea*, ya que posee una de las tasas de crecimientos más elevadas del mundo.

5. CONCLUSIONES

Los problemas taxonómicos y nomenclaturales de las especies de *Podocarpus* del Caribe fueron en gran medida resueltos, nueve especies fueron reconocidas sin ningún taxón en rangos inferiores al de especie. Se propone el nombre *P. victorinianus* Car. como el correcto para referirse a la planta conocida como *P. aristulatus* Parl. Además se propone lectotipificar a *P. urbanii* con el espécimen Harris 7788.

En América Central se reconocieron cuatro especies, sin embargo estas necesitan investigación a un nivel taxonómico inferior, especialmente *P. guatemalensis* y *P. oleifolius*.

Se crearon claves actualizadas para todos los taxa bajo estudio, sin embargo aún falta información acerca de los taxa que ocurren en Sierra Maestra, Cuba.

Se confirmó que el género *Podocarpus* y los subgéneros *Podocarpus* y *Foliolatus* constituyen grupos monofiléticos. Dentro del subgénero *Podocarpus*, *P. salignus* (Chile) y *P. nivalis* (Nueva Zelanda) resultaron ser taxa hermanos a todas las otras especies de América Central y el Caribe.

La clasificación seccional actual (De Laubenfels, 1985) fue encontrada artificial, dado que las secciones *Pumilis*, *Nemoralis* y *Lanceolatus* constituyen grupos no monofiléticos. Sin embargo, se encontró un grupo de especies bien soportado morfológica y molecularmente. Este grupo estaría compuesto por todos los taxa de las Grandes Antillas e incluiría miembros de las actuales secciones *Pumilis* y *Nemoralis*.

No fueron resueltas las relaciones filogenéticas entre las especies que conforman el grupo mencionado anteriormente, por lo tanto se propone utilizar secuencias de la región ITS1 y/o técnicas de genética poblacional.

P. coriaceus resultó estar relacionada más cercanamente con las especies de América central que con las de las Grandes Antillas; por lo tanto la colonización de las Bajas Antillas y Puerto Rico constituyó un evento distinto y probablemente más antiguo que la colonización de las Grandes Antillas.

La dinámica de los ecosistemas donde ocurren estas especies debe ser estudiada con más profundidad en orden de desarrollar prácticas sustentables que aseguren su conservación en el largo plazo y así aprovechar estos recursos naturales asegurando su sobrevivencia para futuras generaciones.

Se propone reevaluar el estado de conservación de las especies de *Podocarpus* que habitan en el Caribe, para luego desarrollar planes de conservación activos, contemplando sitios seguros para la conservación *ex situ*.

Finalmente el autor cree que, ampliando este estudio con más representantes del género y la familia, será posible comprender la biogeografía y los patrones de migración y radiación de un grupo de plantas que actualmente posee una amplia distribución tanto ecológica como geográfica (familia Podocarpaceae), aportando modelos y ejemplos acerca de distribuciones vicariantes y patrones de especiación de otros grupos de plantas.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Bartlett, H. H. 1935. *Podocarpus pinetorum*. Publ. Carnegie Inst. Wash. 461: 21.
- Buchholz, J. T.; N. E. Gray. 1948a. A taxonomic revision of *Podocarpus* I. The sections of the genus and their subdivisions with special reference to leaf anatomy. J. Arnold Arbor. 29: 49-63.
- Buchholz, J. T.; N. E. Gray. 1948b. A taxonomic revision of *Podocarpus* II. The American species of *Podocarpus*: section *Stachycarpus*. J. Arnold Arbor. 29: 64-76.
- Buchholz, J. T.; N. E. Gray. 1948c. A taxonomic revision of *Podocarpus* IV. The American species of section *Eupodocarpus*, Subsections C and D. J. Arnold Arbor. 29: 123-151.
- Carabia, J. P. 1941. Contribuciones al estudio de la flora Cubana, Gymnospermae. Caribbean Forester 2: 83-99.
- Conran, J. G.; G. G. Wood; P. G. Martin; J. M. Dowd; C. J. Quinn; P. A. Gadek; R. A. Price. 2000. Generic relationships within and between the Gymnosperm families Podocarpaceae and Phyllocladaceae based on an analysis of the chloroplast gene *rbcl*. Austral. J. Bot. 48: 715-724.
- Dallimore, W.; A. B. Jackson. 1923. Handbook of the Coniferae including Ginkgoaceae. London. Edward Arnold 570 p.
- Davies, B. J.; I. E. W. O'brien; B. G. Murray. 1997. Karyotypes, chromosome bands and genome size variation in New Zealand endemic gymnosperms. Pl. Syst. Evol. 208 (3-4): 169-185.
- De Laubenfels, D. 1982. Podocarpaceae. pp. 7-41. En: Luces De Febres, Z. y J. A. Steyermark (eds.), Flora de Venezuela. Volumen XI. Segunda Parte. Instituto Nacional de Parques, Dirección de Investigaciones Biológicas, Ediciones Fundación Educación Ambiental.
- De Laubenfels, D. J. 1984. Un nuevo *Podocarpus* (Podocarpaceae) de la Española. Moscosoa 3: 149-150.
- De Laubenfels, D. J. 1985. A Taxonomic Revision of the Genus *Podocarpus*. Blumea 30: 251-278.
- De Laubenfels, D. J. 1990. The Podocarpaceae of Costa Rica. Brenesia 33: 119-121.
- Don, D. 1824. A description of the genus *Pinus*. Pinus 2: 20.
- Doyle, J. J.; J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemistry Bull. 19: 11-15.

- Doyle, J. J.; J. L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Eriksson, T. 1999. AutoDecay. Bergius Foundation, Royal Swedish Academy of Sciences, Stockholm.
- Farjon, A. 1998. World checklist and bibliography of conifers. 1ed. Kew: Royal Botanic Gardens 298 p.
- Farjon, A. 2001. World checklist and bibliography of conifers. 2ed. Kew: Royal Botanic Gardens 309 p.
- Farjon, A.; C. N. Page. 1999. Conifers. Status Survey and Conservation Action Plan. Gland, Switzerland & Cambridge, U.K. IUCN/SSC Conifer Specialist Group, IUCN 121 p.
- Farris, J. S. 1989. The retention index and homoplasy excess. *Syst. Zool.* 38: 406-407.
- Florin, R. 1934. Die von E. L. Ekman (†) in Westindien gesammelten Koniferen. *Arkiv für Botanik* 25A (5): 1-3.
- Florin, R. 1940. The Tertiary fossil conifers of South Chile and their phytogeographical significance (with a review of the fossil conifers of southern lands). *Kongl. Svenska Vetenskapsakad. Handl.* 19: 1-107.
- Gaussen, H. 1976. Les Gymnospermes actuelles et fossiles. Fascicule XIV. Genre *Podocarpus*. Conclusion des Podocarpaceae. *Trav. Lab. Forest. Toulouse* tome 2, vol. 1, fasc. XIV. Toulouse: Faculté des Sciences. 296 p.
- Gilmore, S.; K. D. Hill. 1997. Relationships of the Wollemi Pine (*Wollemia nobilis*) and a molecular phylogeny of the Araucariaceae. *Telopea* 7 (3): 275-291.
- Gray, N. E. 1953a. A taxonomic revision of *Podocarpus* VII. The African species of *Podocarpus* section *Afrocarpus*. *J. Arnold Arbor.* 34: 67-76.
- Gray, N. E. 1953b. A taxonomic revision of *Podocarpus* VIII. The African species of section *Eupodocarpus*, subsections A and E. *J. Arnold Arbor.* 34: 163-175.
- Gray, N. E. 1955. A taxonomic revision of *Podocarpus* IX. The South Pacific species of section *Eupodocarpus*, subsection F. *J. Arnold Arbor.* 36: 199-206.
- Gray, N. E. 1956. A taxonomic revision of *Podocarpus* X. The South Pacific species of Section *Eupodocarpus*, subsection D. *J. Arnold Arbor.* 37: 160-172.
- Gray, N. E. 1958. A taxonomic revision of *Podocarpus* XI. The South Pacific species of Section *Podocarpus*, subsection B. *J. Arnold Arbor.* 39: 424-477.

- Gray, N. E. 1960. A taxonomic revision of *Podocarpus* XII. Section *Microcarpus*. J. Arnold Arbor. 41: 36-39.
- Gray, N. E. 1962. A taxonomic revision of *Podocarpus* XIII. Section *Polypodiopsis* in the South Pacific. J. Arnold Arbor. 43: 67-79.
- Gray, N. E.; J. T. Buchholz. 1948. A taxonomic revision of *Podocarpus* III. The American species of *Podocarpus*: section *Polypodiopsis*. J. Arnold Arbor. 29: 117-123.
- Gray, N. E.; J. T. Buchholz. 1951a. A taxonomic revision of *Podocarpus* V. The South Pacific species of *Podocarpus*: section *Stachycarpus*. J. Arnold Arbor. 32: 82-92.
- Gray, N. E.; J. T. Buchholz. 1951b. A taxonomic revision of *Podocarpus* VI. The South Pacific species of *Podocarpus*: section *Sundacarpus*. J. Arnold Arbor. 32: 93-97.
- Greuter, W.; J. McNeill; F. R. Barrie; H. M. Burdet; V. Demoulin; T. S. Filgueiras; D. H. Nicolson; P. C. Silva; J. E. Skog; P. Trehane; N. J. Turland; D. L. Hawksworth. 2000. International Code of Botanical Nomenclature (Saint Louis Code) adopted by the Sixteenth International Botanical Congress, St Louis, Missouri, July-August 1999. Regnum Veg. 138. Koeltz Scientific Books, Königstein. 474 p.
- Grisebach, A. H. R. 1864. Flora of the British West Indian Islands. London. Lovell Reeve & Co. 504 p.
- Grisebach, A. H. R. 1866. Catalogus plantarum cubensium exhibens collectionem Wrightianam aliasque minores ex insula Cuba missas. Lipsiae. Wilhelm Engelmann. 301 p.
- Hair, J. B. 1958. The chromosomes of the Podocarpaceae. Proc. X Intern. Congr. Genet 2: 110-111.
- Hair, J. B.; E. J. Beuzenberg. 1958. Chromosomal evolution in the Podocarpaceae. Nature 181: 1584-1586.
- Hollingsworth, M. L.; J. P. Bailey; P. M. Hollingsworth; C. Ferris. 1999. Chloroplast DNA variation and hybridisation between invasive populations of Japanese Knotweed and Giant Knotweed (*Fallopia*, Polygonaceae). Bot. J. Linn. Soc. 129: 139-154.
- Hooker, W. J. 1842. *Podocarpus coriacea*. London Journal of Botany 1: 656 t. 21.
- Hooker, W. J. 1844. Icones Plantarum; or Figures with brief descriptive characters and remarks of new or rare plants. London.

- Kelch, D. G. 1997. The phylogeny of the Podocarpaceae based on morphological evidence. *Systematic Botany* 22 (1): 113-131.
- Kelch, D. G. 1998. Phylogeny of Podocarpaceae: comparison of evidence from morphology and 18S rDNA. *American Journal of Botany* 85 (7): 986-996.
- Kelch, D. G. 2002. Phylogenetic assessment of the monotypic genera *Sundacarpus* and *Manoao* (Coniferales: Podocarpaceae) utilising evidence from 18S rDNA sequences. *Austral. Syst. Bot.* 15: 29–35.
- Kluge, A. G.; J. S. Farris. 1969. Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Syst. Zool.* 18: 1-32.
- Liston, A.; A. W. Robinson; M. J. Oliphant. 1996. Length variation in the nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region of non-flowering seed plants. *Systematic Botany* 21 (2): 109-120.
- Liston, A.; A. W. Robinson; D. Piñero; R. E. Alvarez-Buylla. 1999. Phylogenetics of *Pinus* (Pinaceae) based on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 11 (1): 95-109.
- Little, E. L.; F. H. Wadsworth. 1964. Common trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Agriculture Handbook No. 249. Washington. U.S. Department of Agriculture.
- Lundell, L. 1937. Studies of Mexican and Central American Plants II (a). *Phytologia* 6: 212-213.
- Maddison, W. P.; D. R. Maddison. 2003. MacClade. Sinauer, Sunderland, MA.
- Marshall, R. C. 1934. Trees of Trinidad and Tobago. Trinidad, Port of Spain. Government Printing Office 110 p.
- Merello, M. 2003. Podocarpaceae. pp. 11-13. En: Hollowell, C. V., A. Mcpherson, y D. Gunter (eds.), *Manual de Plantas de Costa Rica; Gimnospermas y Monocotiledóneas*. U.S.A. Missouri Botanical Garden Press.
- Mill, R. R. 2003. Towards a biogeography of the Podocarpaceae. *Acta Horticulturae (ISHS)* 615: 137-147.
- Mill, R. R.; M. Möller; F. Christie; S. M. Glidewell; D. Masson; B. Williamson. 2001. Morphology, anatomy and ontogeny of female cones in *Acmopyle pancheri* (Brongn. & Gris) Pilg. (Podocarpaceae). *Ann. Bot.* 88: 55-67.
- Möller, M.; Q. C. B. Cronk. 1997. Origin and relationships of *Saintpaulia* (Gesneriaceae) based of ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences. *Amer. J. Bot.* 84: 956-965.

- Möller, M.; R. R. Mill; S. M. Glidewell; D. Masson; B. Williamson. 2000. Comparative biology of the pollination mechanisms in *Acmopyle pancheri* and *Phyllocladus hypophyllum* (Podocarpaceae s.l.) and their taxonomic significance. *Ann. Bot.* 86: 149–158.
- Moscoso, R. M. 1943. *Catalogus Florae Domingensis*. Parte 1, Spermatophyta. New York. Universidad de Santo Domingo.
- Orr, M. Y. 1944. The leaf anatomy of *Podocarpus*. *Trans. Proc. Bot. Soc. Edinburgh* 34: 1-54.
- Page, C. N. 1989. New and maintained genera in the conifer families Podocarpaceae and Pinaceae. *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh* 45: 377-395.
- Page, C. N. 1990. Podocarpaceae. pp. 332-346. En: Kubitzki, K., K. U. Kramer, y P. S. Green (eds.), *The families and genera of vascular plants*, vol. 1, Pteridophytes and Gymnosperms. New York. Springer–Verlag.
- Parlatore, P. 1868. *Podocarpus*. pp. 507-521. En: De Candolle, A. (ed.), *Prodromus systematis regni vegetabilium*.
- Persoon, C. H. 1807. *Synopsis Plantarum, seu Enchiridion botanicum, complectens enumerationem systematicam specierum hucusque cognitarum*. Pars secunda. Parisiis Lutetiorum: apud Bibliopolas Treuttel et Würtz, et Tübingen, apud J. G. Cottam. Treuttel & Würtz; Tübingen: J. G. Cotta.
- Pilger, R. 1903. Taxaceae. pp. 124. En: Engler, A. (ed.), *Das Pflanzenreich. Regni vegetabilis conspectus*. IV.
- Pilger, R. 1926. Podocarpaceae. pp. 211-249. En: Engler, A. (ed.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien* ed. 2, 13 Band, Gymnospermae. Leipzig. Wilhelm Engelmann.
- Richard, L. C. 1826. *Commentatio botanica de Conifereis et Cycadeis characteres genericos singulorum utriusque familiae et figuris analyticis eximie ab autore ipso ad naturam delineatis ornatos complectens*. Opus posthumum ab Achille Richard filio, perfectum et in lucem. Stuttgartiae 212 p.
- Sauget, S. J.; Babier. 1946. *Flora de Cuba*. La Habana. Cultural, S. A.
- Simmons, M. P.; H. Ochoterena. 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Syst. Biol.* 49 (2): 369-381.
- Sinclair, W. T.; R. R. Mill; M. F. Gardner; P. Woltz; T. Jaffré; J. Preston; M. L. Hollingsworth; A. Ponge; M. Möller. 2002. Evolutionary relationships of the New Caledonian heterotrophic conifer, *Parasitaxus usta* (Podocarpaceae), inferred from chloroplast *trnL-F* intron/spacer and nuclear rDNA ITS2 sequences. *Pl. Syst. Evol.* 233: 79-104.

- Standley, P. C. 1924. Nine new species of plants from Central America. Proc. Biol. Soc. Wash. 37: 49-54.
- Standley, P. C. 1941. *Podocarpus allenii*. Ann. Missouri Bot. Gard. 28: 409.
- Stark, D. 2004. Taxonomic studies of Caribbean and Central American species of *Podocarpus* subgenus *Podocarpus*: A multi-disciplinary approach. Tesis Magister en Cs. University of Edinburgh/Royal Botanic Garden Edinburgh, Edinburgh 140 p.
- Stark, D.; R. R. Mill. 2004. Cuticle micromorphology of caribbean species of *Podocarpus* (Podocarpaceae). Sin Publicar
- Stark, D.; R. R. Mill. 2005. Pollen micromorphology of caribbean species of *Podocarpus* (Podocarpaceae). Sin Publicar
- Staszkiwicz, J. 1988. A taxonomic revision of the genus *Podocarpus* from the Greater and Lesser Antilles. Fragmenta Floristica et Geobotanica 23 (1-2): 71-105.
- Swofford, D. L. 2001. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods). Sinauer Associates Sunderland, Massachusetts.
- Taberlet, P.; L. Gielly; G. Pautou; J. Bouvet. 1991. Universal primers for the amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Molecular Biology 17: 1105-1109.
- Torres-Romero, J. H. 1988. Podocarpaceae. pp. 5-67. En: Pinto, P. y G. Lozano (eds.), Flora Colombia Monogr. 5. Bogotá. Instituto de Ciencias Naturales, Museo de Historia Natural, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.
- Urban, I. L. 1920-1921. Symbolae antillanae seu fundamenta florae Indiae occidentalis. Borntraeger. pag 4. (*Podocarpus* published Feb. 1920). Lipsiae.
- Urban, I. L. 1922. Sertum antillanum. XIV. Repertorium Specierum Novarum (Fedde Repertorium). pp 17-26.
- Urban, I. L. 1924. Sertum antillanum. XIV. Repertorium Specierum Novarum (Fedde Repertorium). 308 p.
- White, T. J.; T. Burns; S. Lee; J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp. 315-322. En: Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, y T. J. White (eds.), PCR protocols. London. Academic Press.
- Zanoni, T. A. 1999. Regional Action Plan: Caribbean Conifers: current status. pp. 59-62. En: Farjon, A. y C. N. Page (eds.), Conifers. Status Survey and

Conservation Action Plan. Gland, Switzerland & Cambridge, U. K. IUCN/SSC
Conifer Specialist Group, IUCN.

ANEXOS

ANEXO 1

Abstract

ABSTRACT

Genus *Podocarpus* was extensively revised by Buchholz and Gray in a series of papers during 1948 to 1956. Since then the genus has been split into several genera and many new species have been described. In 1985 de Laubenfels revised *Podocarpus* s. s. and proposed a new classification consisting of two subgenera with nine sections each. Both subgenera have been shown to form monophyletic groups (Conran *et al.*, 2000; Sinclair *et al.*, 2002), but no work has been done at sectional level. The Caribbean and Central American *Podocarpus* are scattered through four sections of subgenus *Podocarpus*. Five to ten species have been recognized occurring in the Caribbean islands (Buchholz and Gray, 1948; De Laubenfels, 1985; Staszkiwicz, 1988), the latter author recognizing several subspecies, varieties and forms. In Central America four to six species have been recognized (Buchholz and Gray, 1948; De Laubenfels, 1985).

In this study molecular techniques and morphology was used to clarify the taxonomic status of the taxa occurring in the Caribbean and Central America. Phylogenetic analyses were used to confirm the monophyly of subgenera *Podocarpus* and *Foliolatus* and to test the monophyly of three sections of subgenus *Podocarpus*.

The results allowed the taxonomic status of all the taxa under study to be resolved, the current sectional classification was found to be artificial, where none of the sections were monophyletic, however all the species occurring in the Greater Antilles formed a well supported monophyletic group.

A multidisciplinary approach was found to be the best way to solve taxonomic problems within a 'character poor' group such as *Podocarpus*.

Key words: *Podocarpus*, Taxonomy, ITS2, tmL-F, Caribbean, Central America.

ANEXO 2

**Síntesis de los tratamientos taxonómicos aplicados par alas taxa de
Podocarpus que ocurren en México y América central**

Buchholz & Gray (1948)		de Laubenfels (1985; 1990)*		Este Trabajo	
Taxa Reconocidas	Sinónimo	Taxa Reconocidos	Sinónimo	Taxa Reconocidos	Sinónimo
<i>P. guatemalensis</i> Standl.		<i>P. guatemalensis</i> Standl.	<i>P. pinetorum</i> Bartlett	<i>P. guatemalensis</i> Standl.	<i>P. pinetorum</i> Bartlett
<i>P. guatemalensis</i> var. <i>pinetorum</i> (Bartlett) Buchholz & Gray	<i>P. pinetorum</i> Bartlett		<i>P. allenii</i> Standl.		<i>P. allenii</i> Standl.
<i>P. guatemalensis</i> var. <i>allenii</i> (Standl.) Buchholz & Gray	<i>P. allenii</i> Standl.				
<i>P. matudae</i> Lundell		<i>P. matudae</i> Lundell	<i>P. reichei</i> Buchholz & Gray	<i>P. matudae</i> Lundell	<i>P. reichei</i> Buchholz & Gray
<i>P. matudae</i> var. <i>macrocarpus</i> Buchholz & Gray					
<i>P. reichei</i> Buchholz & Gray					
<i>P. oleifolius</i> D. Don		<i>P. oleifolius</i> D. Don	<i>P. macrostachya</i> Parl.	<i>P. oleifolius</i> D. Don	<i>P. macrostachya</i> Parl.
<i>P. oleifolius</i> var. <i>costaricensis</i> Buchholz & Gray	<i>P. macrostachya</i> Parl.				<i>P. monteverdeensis</i> de Laub.
<i>P. oleifolius</i> var. <i>macrostachyus</i> Buchholz & Gray					
<i>P. oleifolius</i> var. <i>trujillensis</i> Buchholz & Gray					
Aún no descrita		<i>P. monteverdeensis</i> de Laub.			
Aún no descrita		<i>P. costaricensis</i> de Laub.		<i>P. costaricensis</i> de Laub.	

* El autor no considero ninguna variedad.

ANEXO 3

**Síntesis de los tratamientos taxonómicos aplicados par a las taxa de
Podocarpus del Caribe**

Buchholz y Gray (1948)		Gaussen (1976)		De Laubenfels (1985)		Staszkievicz (1988)			Este trabajo		
Taxa Reconocidos	Sinónimo	Taxa Reconocidos	Sin.	Taxa Reconocidos	Sin.	Taxa Reconocidos			Taxa Reconocidos	Sin.	
<i>P. ekmanii</i> Urban		<i>P. ekmanii</i> Urban		<i>P. angustifolius</i> Griseb.		<i>P. ekmanii</i> Urban			<i>P. ekmanii</i> Urban		
<i>P. angustifolius</i> Griseb.		<i>P. angustifolius</i> Griseb.				<i>P. angustifolius</i> Griseb. Emend. Stasz.	<i>angustifolius</i> var.	<i>angustifolius</i>	<i>P. angustifolius</i> Griseb	<i>P. aristulatus</i> Parl. (in part, the lectotype)	
<i>P. aristulatus</i> Parl.	<i>P. purdieanus</i> Hook. (sensu Griseb.)	<i>P. aristulatus</i> Parl.	No citado	No citado	subsp. <i>angustifolius</i>						var. <i>aristulatus</i> (Parl.) Stasz.
	<i>P. purdieanus</i> f. <i>parvifolia</i> Griseb.		Igual								
	<i>P. angustifolius</i> var. <i>wrightii</i> Pilger		Igual				No citado				
<i>P. leonii</i> Carabia		<i>P. leonii</i> Carabia		<i>P. aristulatus</i> Parl.			var. <i>leonis</i> (Carabia) Stasz.	<i>P. victorinianus</i> Carabia	<i>P. aristulatus</i> Parl. (in part, excluding the lectotype)		
<i>P. victorinianus</i> Carabia		<i>P. victorinianus</i> Carabia									
<i>P. buchii</i> Urban											
<i>P. buchii</i> var. <i>latifolius</i> Florin	<i>P. angustifolius</i> var. <i>wrightii</i> Pilger (s. Urban, 1920)	<i>P. buchii</i> Urban	No citado		No citado	subsp. <i>buchii</i> (Urb.) Stasz.	var. <i>buchii</i>	<i>P. buchii</i> Urban	<i>P. aristulatus</i> Parl. (in part)		
						var. <i>latifolius</i> Florin		Ver <i>P. hispaniolensis</i> al final de la tabla			
<i>P. purdieanus</i> Hook.	<i>P. jamaicensis</i> Hort.	<i>P. purdieanus</i> Hook.	Igual	<i>P. purdieanus</i> Hook.	No citado	<i>P. purdieanus</i> Hook.	<i>P. purdieanus</i> Hook.	<i>P. purdieanus</i> Hook.	Igual		
	<i>P. mucronata</i> Hort.		Igual		No citado				Igual		
	No citado		<i>P. antarctica</i> Hort., invalid		No citado				Nombre inválido		
<i>P. urbanii</i> Pilger	<i>P. coriacea</i> Hook. non Rich.	<i>P. urbanii</i> Pilger	Igual	<i>P. urbanii</i> Pilger	No citado	<i>P. urbanii</i> Pilger	<i>P. urbanii</i> Pilger	<i>P. urbanii</i> Pilger	Igual		
	<i>P. yacca</i> G. Don, nomen nudum		Igual		No citado				Nombre inválido		
<i>P. coriaceus</i> Pilger	<i>P. antillarum</i> R. Br. ex Mirbel	<i>P. coriaceus</i> Pilger	Igual	<i>P. coriaceus</i> Pilger	No citado	<i>P. coriaceus</i> Pilger	<i>P. coriaceus</i> Pilger	<i>P. coriaceus</i> Pilger	Igual		
	<i>Taxus</i> (?) <i>lancifolia</i> Wilkstrom		Igual		Igual				Igual		
	<i>Nageia coriacea</i> O. Kuntze		Igual		Igual				Igual		
	<i>P. salicifolia</i> Klotzsch & Karsten		Igual		No citado				Igual		
<i>P. trinitensis</i> Buchholz & Gray	<i>P. coriaceus</i> sensu Marshall	<i>P. trinitensis</i> B. & Gray	Igual	<i>P. trinitensis</i> B. & Gray	No citado			<i>P. trinitensis</i> B. & Gray			
Aún no descrita		Aún no descrita		<i>P. hispaniolensis</i> de Laub.		No citada		<i>P. hispaniolensis</i> de Laub.	<i>P. buchii</i> var. <i>latifolius</i> Florin		

ANEXO 4

Especimenes Voucher

H = herbario, C.E. = cuticula externa, C. I. = cutícula interna

Taxón	País/Localidad	Long. W			Lat. N			Alt. m.	Sexo	Colector	No. Col.	Fecha de colección			H	C.E.	C. I.	Polen	ADN
<i>P. angustifolius</i>	Cuba / Sancti Spiritus	79	36		21	52		700	F	Becquer, E., Bennel, A., Deber & Gardner, M.	8	14	Nov	2003	E				X
		79	35	55	21	52	57		M		13	14	Nov	2003	E	X	X	X	
<i>P. angustifolius*</i>	Cuba / Sierra de Nipe	75	48	35	20	28	56	710		Becquer, E., Gardner, M. & Metos, A. Carabia, J.	7000	24	Abr	2004	E		X		X
											3843		Abr	1940	N Y	X			
<i>P. buchii</i>	Haiti / Massif de la Selle							2210	F/M	Judd, W. S	4852	20	May	1984	A	X	X	X	
<i>P. coriaceus</i>	Dominica / Laudat							940		Pendry, C. (Acc. Num. 19901428*A) Howard E. S. Winters		25	Mar	1990	E				X
	Guadalupe / Bains Jaunes								F		19379	17	Abr	1979	A		X		
	Puerto Rico								M		582	13	Abr	1955	A	X		X	
<i>P. costaricensis</i>	Costa Rica / San Jose	84	5	25	9	38	10	70		Herrera, G.	7738	22	Feb	1995	F		X		
		84	5	25	9	38	10	70			7736	22	Feb	1995	F	X			
<i>P. ekmanii</i>	Cuba / Sierra de Moa	74	48	58	20	32	43	207		Becquer, E., Gardner, M. & Metos, A.	7014	27	Abr	2004	E				X
		74	49		20	28	39	467	F		7017	27	Abr	2004	E		X		
		75	26	8	20	31	50	750	M		7007	26	Abr	2004	E			X	
		74	49	7	20	29	43	467	F		7015	27	Abr	2004	E	X			
<i>P. guatemalensis</i>	Panama / Veraguas							800-1200	M	Liesner, R. L.	934	19	Mar	1973	M O			X	
	Belize / Stann Greek								F	Percy Churchill, H., Liese, A., D'Arcy, W. & Todzia, C.	3159	24	Ene	1940	A		X		
	Panama / Herrera	80	45		7	42		400			5947	4	Ago	1984	M O	X			

<i>P. hispaniolensis</i>	D. Republic / San José	70	22	32	18	43	40	1080	M	Gardner, M., Knees, S. & Jiménez, F.	7024	7	Jul	2004	E			X	X
	D. Republic / Peravia	70	26		18	32		1085		Mejía, M., Pimentel & García	991	28	Jun	1984	N Y	X	X		
<i>P. reichei</i>	Mexico / Jalisco								M	McVaugh, R.	23446	4	Abr	1965	N Y	X	X	X	
<i>P. matudae</i>	Mexico / Chiapas							2300		Breedlove, D. E.	34829	6	May	1973	M O		X		
	Mexico / Tamaulipas	99	15		23			1260- 1485	M	Gardner, M.	7022	24	May	2004	E				X
<i>P. oleifolius</i>	Mexico									Gardner, M.	7023	24	May	2004	E				X
	Honduras / San Juancito							2200	M	Williams, O. & Molina	18908	10	Abr	1954	A			X	
	Costa Rica / San Jose							2800	F	Madriz, A. V.	AMV-32	18	Nov	1966	F	X	X		
<i>P. purdieanus</i>	Jamaica / Trelawny	77	39	30	18	16	21	670		Gardner, M. & Knees, S.	6374	5	Dic	2001	E				X
	Jamaica / St. Ann	77	6	39	18	16	47	350	F	Britton N. L. & Hollick	2798	6	Abr	1908	F		X		
									M	Gardner, M., Knees, S., Oberli & Johnstone	6310	29	Nov	2001	E	X		X	
<i>P. trinitensis</i>	Trinidad / St. Andrew	61	11	34	10	41	16	123		Gardner, M., Knees, S. & Johnson, W.	6626	1	Abr	2003	E				X
	Trinidad / St. Andrew	61	9	46	10	40	54	147			6624	1	Abr	2003	E		X		
	Trinidad / Cultivated at Trinidad Botanic Garden								F	Broadway	7277	12	May	1929	M O	X	X		
<i>P. urbanii</i>	Jamaica / St. Andrew	76	43	33	18	5	14	1311		Gardner, M., Knees, S.	6329	30	Nov	2001	E				X
	Jamaica / St. Thomas							1800	M	Proctor, R. G. & Howard, R. A.	14820	27	Ene	1956	A	X	X	X	
<i>P. victorinianus</i>	Cuba / Puton del Mate							1230		León	12193		Jul	1924	A	X	X	X	

ANEXO 5

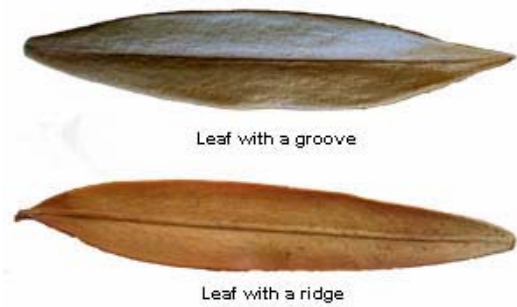
Lista de caracteres, sus estados e ilustraciones

1. **Longitud de la hoja adulta** cm
2. **Ancho de la hoja adulta** (en el punto más ancho) mm
3. **Canal en el haz de la hoja**
 1. Presente en todo el largo
 2. Presente en el extremo proximal
 3. Presente en el extremo distal
 4. Ausente
4. **Canal en el envés de la hoja**
 1. Presente en todo el largo
 2. Presente en el extremo proximal
 3. Presente en el extremo distal
 4. Ausente
5. **Protuberancia en el haz de la hoja**
 1. Presente en todo el largo
 2. Presente en el extremo proximal
 3. Presente en el extremo distal
 4. Ausente
6. **Protuberancia en el envés de la hoja**
 1. Presente en todo el largo
 2. Presente en el extremo proximal
 3. Presente en el extremo distal
 4. Ausente
7. **Apice de la hoja**
 1. Acuminado
 2. Largamente acuminado
 3. Apiculado
 4. Largamente apiculado
 5. Agudo
 6. Largamente agudo
 8. Mucronado
 8. Pungente
8. **Forma de la hoja**
 1. Lanceolada
 2. Lanceolada-falcada
 3. Falcada
 4. Elíptica
 5. Lanceolada-elíptica
 6. Elíptica-oblancheolada
 7. Linear
 8. Linear-elíptica
9. **Hoja revoluta**
 1. Revolutas
 2. No revolutas
10. **Mucrón o arista en el ápice de la hoja**
 1. Ausente
 2. Presente

11. **Longitud del mucrón de la hoja** mm
12. **Ancho de la vena central** (medida en el envez en el punto más ancho) mm
13. **Número de filas de estomas** (a un lado de la vena central)
14. **Longitud de las escamas del brote terminal** mm
15. **Ancho de las escamas de los brotes** (en el punto más ancho) mm
16. **Mucrón en el ápice de las escamas de los brotes terminales**
 1. Presente
 2. Ausente
17. **Curvatura de las escamas del brote terminal**
 1. Derechas
 2. Curvadas hacia adentro
 3. Curvadas hacia afuera
18. **Longitud de las escamas del brote terminal** mm
19. **Forma del brote terminal**
 1. Globoso
 2. Ovoide
 3. Esférico
 4. Cónico
20. **Longitud de la semilla madura** mm
21. **Ancho de la semilla madura** (al punto más ancho) mm
22. **Número de bracteas en el receptáculo**
 1. Dos bracteas
 2. Tres bracteas
23. **Número de semillas por cono femenino**
 1. Una semilla
 2. Dos semillas
24. **Longitud del pedúnculo** mm
25. **Longitud del receptáculo** mm (en cono femenino maduro)
26. **Ancho del receptáculo** mm (al punto más ancho de conos maduros)
27. **Cresta en la semilla**
 1. Presente
 2. Ausente
28. **Longitud del cono masculino maduro** mm
29. **Ancho del cono masculino maduro** mm

Fotografías mostrando algunos caracteres

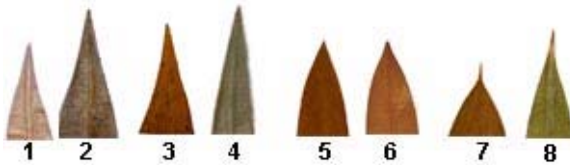
Caracteres 3: 4: 5 & 6



Caracteres 14 y 15



Caracter 7



Caracteres 16 y 18



Carácter 8



Carácter 11

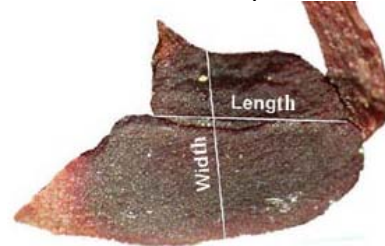


Carácter 10

Carácter 12



Caracteres 25 y 26



ANEXO 6

Matriz de especies versus caracteres de morfología gruesa

Códigos al final de la tabla

		Cono Femenino								Cono Mascul.	Hojas													Brotes Terminales						
		Semilla			Receptáculo																									
Caracteres	Taxa	Estadístico	Número	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Cresta (Y - N)	Longitud del pedúnculo (mm)	Ancho (mm)	Número de bracteas	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Forma	Apice	Mucrón (A - P)	Longitud del mucrón (mm)	Longitud (cm)	Ancho (mm)	Ancho de la vena central (mm)	Protuberancia en el haz	Protuberancia en el envés	Canal en el haz	Canal en el envés	Revoluta (Y - N)	Filas de estomas	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Forma del brote	Longitud del mucrón de las escamas (mm)	Curvatura del ápice de la escama	
																														Podocarpus

<i>hispaniolensis</i>	X SD MIN MAX	1	5,5 0,5 5,0 6,0	4,0 0,0 4,0 4,0	Y	7,0 0,0 7,0 7,0	3,5 0,0 3,5 3,5	2,0 0,0 2,0 2,0	2	15,0 1,0 14,0 16,0	4,0 0,5 3,5 4,5	LIE- EO	M- LAP	P	1,0 0,2 0,7 1,5	4,9 1,4 3,0 7,0	8,5 1,0 7,3 10,4	1,0 0,0 1,0 1,0	A	PC	PC	A	Y- N	33 4 25 36	2,8 0,7 2,0 4,0	1,8 0,4 1,3 2,5	G	0,6 0,1 0,5 0,8	E- IN
<i>purdieanus</i>	X SD MIN MAX	1	7,8 0,3 7,5 8,0	4,5 0,5 4,0 5,0	Y	2,3 0,8 1,5 3,5	4,7 0,5 4,0 5,0	2,7 0,5 2,0 3,0	2	35,0 0,0 35,0 35,0	5,0 0,0 5,0 5,0	L- LF	AP- AC- P	P	1,2 0,3 1,0 1,6	7,5 2,4 4,8 12,4	9,4 2,6 4,7 12,0	0,8 0,2 0,5 1,0	A	PP	A- PP	A	Y	27 5 20 35	2,7 0,8 1,7 4,0	1,5 0,3 1,0 2,0	G	0,9 0,2 0,5 1,2	E- RE
<i>trinitensis</i>	X SD MIN MAX	1-?	? ? ? ?	? ? ? ?	Y	7,5 0,5 7 8	6,0 0,0 6,0 6,0	3,0 0,0 3,0 3,0	2	? ? ? ?	? ? ? ?	LE- LF	AC- LAC	A	--- --- 4,7 7,3	5,6 1,0 8,6 11,0	9,9 1,0 8,6 11,0	0,7 0,2 0,5 1,0	PP	A	A	PC	Y	32 1 30 33	2,6 0,5 2,0 3,2	1,9 0,1 1,7 2,0	S O	0,8 0,2 0,4 1,0	RE
<i>coriaceus</i>	X SD MIN MAX	1-2	8,0 1,7 6,0 10,0	6,4 1,0 5,0 8,0	Y	6,8 3,2 4,0 13,0	6,6 1,4 5,0 9,0	3,1 0,6 2,5 4,0	2	30,8 6,2 23,0 40,0	5,0 1,2 4,0 7,0	F- LF	LAC U	A	--- --- 6,2 12,4	9,6 1,9 2,4 15,2	11,2 2,4 7,6 15,2	1,0 0,0 1,0 1,0	A- PP	PC	A	A	Y- N	44 3 42 50	5,8 0,7 5,0 7,0	2,3 0,6 2,0 3,5	C	--- --- 2,0 3,5	E- RE
<i>costaricensis</i>	X SD MIN MAX	1-2	? ? ? ?	? ? ? ?	N	? ? ? ?	? ? ? ?	? ? ? ?	? ? ? ?	33,0 5,0 28,0 38,0	3,8 0,3 3,5 4,0	L	ACU	A	--- --- 6,1 11,1	8,8 1,8 2,6 18,0	14,8 2,6 10,4 18,0	1,0 0,0 1,0 1,0	A	PC- PP	PC	A	N	35 9 24 46	7,0 1,5 6,0 10,0	2,1 0,5 1,5 3,0	C	--- --- 1,5 3,0	RE
<i>matudae</i>	X SD MIN MAX	1-2	9,3 1,9 7,0 12,0	7,0 0,0 7,0 7,0	N	17,9 3,9 12,0 24,0	6,6 1,7 3,5 9,0	3,1 0,7 2,0 4,0	3	43,0 8,2 33,0 53,0	4,5 1,1 3,5 6,0	L- LF	AC- LAC	A	--- --- 8,4 17,6	12,4 2,5 1,8 16,4	13,2 1,8 10,6 16,4	0,8 0,2 0,5 1,0	PP	A- PP	A	A	N	40 4 33 43	7,2 1,7 4,0 10,0	1,8 0,2 1,5 2,0	C	--- --- 1,5 2,0	E- RE
<i>oleifolius</i>	X SD MIN MAX	1-2	7,4 0,8 6,0 8,0	4,6 0,5 4,0 5,0	Y	7,4 2,5 4,0 10,0	5,2 0,7 4,0 6,0	3,4 0,4 3,0 4,0	2	26,5 1,5 25,0 28,0	3,0 0,5 2,5 3,5	LF- LE	ACU- AC	A	--- --- 3,4 8,7	6,1 1,9 2,8 15,2	10,8 2,8 6,2 15,2	1,0 0,0 1,0 1,0	A	PC	PC	A	N	36 6 24 43	3,0 1,1 2,0 5,0	2,2 0,6 1,5 3,0	G	--- --- 1,5 3,0	E

Forma				Apice				Protuberancia y canal			Forma del brote		Apice de la escama del brote	
L	lanceolada	F	falcada	A C	agudo	ACU	acuminado	A	ausente		G	globoso	E	erecto
L F	lanceolada- falcada	LI	linear	A P	apiculado	LAC U	largamente acuminado	P C	presente en toda la lámina		S	esférico	RE	reflexo
L E	lanceolada- elíptica	LI E	linear-elíptica	P	puntudo	LAC	largamente agudo	P P	presente en el extremo proximal		O	ovoide	IN	incurvo
E	Elíptica	EO	elíptica- oblanceolada	M	mucronado	LAP	largamente apiculado	P D	presente en el extremo distal		C	cónico		

ANEXO 7

Claves de Identificación

Con el objeto de facilitar la identificación de taxa individuales, se construyeron 5 claves de identificación; la primera considera las 13 especies incluidas en este estudio, las cuatro restantes consideran especies de las áreas geográficas específicas de Centro América, Cuba, Jamaica y Española. Siempre que fue posible las claves se construyeron utilizando caracteres vegetativos, sin embargo, cuando se consideró relevante, también se incluyeron caracteres de etapas reproductivas los que se entregan encerrados con paréntesis cuadrados. En el anexo 4 se entrega un listado con los caracteres junto con algunas ilustraciones. Descripciones detalladas y actualizadas, junto con mapas de distribución de todos los taxa tratados en este trabajo se encuentran en Stark (2004).

Clave para las especies de *Podocarpus* del Caribe y América central

- 1a- Ápice de las hojas con un mucrón o una arista.....2
 1b- Ápice de las hojas sin mucrón o arista..... 9

- 2a- Haz de las hojas con un canal completo o en el extremo proximal.....3
 2b- Haz de las hojas sin un canal..... 4

3a- Hojas lanceoladas o lanceoladas-falcadas de 6-8cm de longitud, canal suave en presente sólo en el extremo proximal.

[conos masculinos maduros mayores a 3cm de largo; semillas mayores a 7mm de largo]

Jamaica – ***P. purdieanus***

3b- Hojas lineares-elípticas o elípticas-oblancheoladas de 3.5-6cm de largo, con un canal en todo el haz de las hojas.

[conos masculinos maduros menores a 2cm de largo; semillas menores a 6mm largo]

Española – ***P. hispaniolensis***

4a- Hojas de más de 3.5cm de longitud 5

4b- Hojas de hasta 3cm de longitud..... 6

5a- Hojas lanceoladas con una protuberancia en el extremo proximal del haz de las hojas, ápice agudo

[conos masculinos maduros de más de 1.5cm de longitud]

Jamaica – ***P. urbanii***

5b- Hojas lineares o lineal-lanceolada con protuberancias en el extremo proximal de ambos lados de las hojas, ápice pungente.

[conos masculinos maduros de más de 1.5cm de longitud]

Cuba – ***P. angustifolius***

5c- Hojas elípticas o elípticas-lanceolada sin protuberancia en el haz, ápice con una arista.

[conos masculinos maduros de hasta 1cm de longitud]

Española – ***P. buchii***

6a- Hojas de menos de 4mm de ancho; con una vena central muy gruesa y conspicuo en el envés de las hojas, márgenes revolutos.

Cuba – ***P. ekmanii***

6b- La mayoría de las hojas de más de 4.5mm de ancho..... 7

7a- Hojas de más de 7.5mm de ancho ápice mucronato.

Cuba – ***P. victorinianus***

7b- Hojas de menos de 6mm de ancho, ápice pungente, agudo o mucronato..... 8

8a- Hojas linear-lanceoladas con la vena central protuberante en el envés, ápice pungente o mucronado.

[pedúnculo de más de 3.5mm de longitud]

Cuba – ***P. angustifolius***

8b- Hojas lanceoladas; ápice agudo o mucronado.

[pedúnculo de hasta 3mm de longitud]

Jamaica – ***P. urbanii***

9a- Hojas con un canal en el haz..... 10

9b- Hojas sin un canal en el haz..... 11

10a- Brotes terminales globosos, escamas de los brotes de hasta 5mm longitud.

México a Venezuela – ***P. oleifolius***

10b- Brotes terminales cónicos, escamas de los brotes de más de 6mm de longitud.

Costa Rica a Panamá – ***P. costaricensis***

11a- Hojas con una protuberancia conspicua en el haz, brotes terminales esféricos, escamas de los brotes de ápices obtusos.

Guatemala a Panamá – ***P. guatemalensis***

11b- Hojas sin una protuberancia, o si esta presente es suave y solo en el extremo proximal, brotes terminales no esféricos..... 12

12a- Hojas de hasta 6mm de ancho y 5cm de longitud.

[conos masculinos maduros de hasta 2cm de longitud; pedúnculos de hasta 3mm]

Jamaica – ***P. urbanii***

12b- Hojas de más de 7.5mm de ancho y de por lo menos 5cm de longitud..... 13

13a- Hojas con un canal en el envés, brotes terminales ovoides de hasta 3mm de longitud.

Trinidad & Tobago – ***P. trinitensis***

13b- Hojas sin un canal en el envés, brotes terminales de más de 4mm de largo..14

14a- Hojas de hasta 12.5cm de longitud con una protuberancia en el envés, brotes terminales ovoides.

[receptáculo con dos brácteas]

Puerto Rico y Bajas Antillas – ***P. coriaceus***

14b- Hojas de hasta 18cm de longitud con una protuberancia en el envés, brotes terminales cónicos.

[receptáculo con tres brácteas]

México a El Salvador – ***P. matudae***

Clave para los *Podocarpus* de América central

- 1a- Hojas con un canal en el haz.....2
1b- Hojas sin un canal en el haz..... 3

2a- Brotes terminales cónicos, escamas de los brotes de más de 6mm de longitud.
Hojas de hasta 12cm de longitud x 18mm de ancho.

Costa Rica a Panamá – ***P. costaricensis***

2b- Brotes terminales globosos, escamas de los brotes de hasta 5mm de longitud.
Hojas de hasta 9cm de longitud x 15mm de ancho.

México a Venezuela – ***P. oleifolius***

3a- Hojas con una protuberancia conspicua a lo largo de todo el haz, brotes terminales esféricos, escamas de los brotes de hasta 4mm de longitud.

[pedúnculos de hasta 5mm de longitud; receptáculo con dos brácteas].

México a Panamá – ***P. guatemalensis***

3b- Hojas sin una protuberancia en el haz, o si esta presente es suave y solo en el extremo proximal de la lámina, brotes terminales cónicos, escamas de los brotes de más de 5mm de longitud.

[pedúnculos de más de 1cm de largo; receptáculo con tres brácteas].

México a El Salvador – ***P. matudae***

Clave para los *Podocarpus* de la isla Española

1a- Hojas con un canal en el haz, de más de 3cm de longitud, brotes terminales de más de 2mm de longitud.

[pedúnculos de más de 6mm de longitud; conos masculinos de más de 12mm de longitud]

P. hispaniolensis

2b- Hojas sin un canal en el haz, de hasta 3cm de longitud, brotes terminales de hasta 2mm de longitud.

[pedúnculos de hasta 4mm de longitud; conos masculinos de hasta 10mm de longitud]

P. buchii

Clave para los *Podocarpus* de Cuba

1a- Hojas de más de 4.5cm de longitud x 6mm de ancho, ápice con una arista.

[pedúnculos de 2 a 4mm de longitud; receptáculo de más de 6mm de longitud]

P. victorinianus

1b- Hojas de hasta 4.5cm de longitud x 5mm de ancho, ápice mucronado..... 2

2a- Hojas de más de 3cm de longitud, vena central angosta y no conspicua.
[pedúnculos de más de 2.5mm de longitud; receptáculo de mas de 4mm de longitud, conos masculinos maduros de más de 13mm de longitud]

P. angustifolius

2b- Hojas de hasta 3cm de largo con una vena central gruesa y conspicua en el envés.

[pedúnculos de hasta 0.5mm de longitud; receptáculo de hasta 3mm de longitud; conos masculinos maduros de hasta 12mm de largo]

P. ekmanii

Clave para los *Podocarpus* de Jamaica

1- Hojas de más de 5cm x 5mm, planas o con un canal suave en el haz, siempre con ápice mucronado.

[semillas de más de 7.5mm de largo; conos masculinos de más de 3cm de largo]

P. purdieanus

2- Hojas de hasta 6cm x 6mm, con una protuberancia en el extremo proximal, algunas hojas mucronadas otras no.

[semillas de hasta 6mm de longitud; conos masculinos de hasta 2cm de longitud]

P. urbanii

ANEXO 8

Lista exicata

El siguiente formato es utilizado: **Nombre del colector** (Número de colección) [Herbario] {**taxón**}. La siguiente abreviaciones son utilizadas en los nombres de las taxa; **P.a** = *P. angustifolius*; **P.b** = *P. buchii*; **P.c** = *P. coriaceus*; **P.co** = *P. costaricensis*; **P.e** = *P. ekmanii*; **P.g** = *P. guatemalensis*; **P.h** = *P. hispaniolensis*; **P.m** = *P. matudae*; **P.o** = *P. oleifolius*; **P.p** = *P. purdieanus*; **P.t** = *P. trinitensis*; **P.u** = *P. urbanii*; **P.v** = *P. victorinianus*. Las abreviaturas de los nombres herbarios están de acuerdo a la nomenclatura internacional.

A

Alain (3739) [A] {**P.e**}; (6328) [A] {**P.a**}.
Alain, J., Acuna & Figueiras, L. (5645; 5807) [A] {**P.e**}.
Alain & Liogier (11362; 15479; 21553; 24946; 26815) [NY] (15479) [A] {**P.b**}; (11879; 12009) [NY] {**P.h**}.
Allen, P. H. (3970) [MO] {**P.g**}.
Allen, P. H. & Mario Lewy van Severen (7116) [A] {**P.m**}.
Anderson and Sternberg (3126) [MO] {**P.u**}.
Atwood, J. T. & Neill, D. A. (AN24) [NY] {**P.o**}.

B

Bartlett, H. H. (13109, Isotipo variedad *pinetorum* (Bart.) Buchh. & Gray) [NY] {**P.g**}.
Beard, P. (1182) [A] {**P.c**}.
Becquer, E., Bennel, C., A., Deber, J. & Gardner, M (1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 13) [E] {**P.a**}.
Becquer, E., Gardner, M. & Metos, A. (7005; 7006) [E] {**P.a**}; (7002; 7003; 7007; 7008; 7009; 7010; 7011; 7012; 7014; 7015; 7016; 7017; 7020) [E] {**P.e**}.
Bowers (731) [NY] {**P.b**}.
Breedlove, D. E. (34829) [MO], (35269) [NY] {**P.m**}; (25367) [MO] {**P.o**}.
Brenes, A. M. (5653) [A; F] {**P.o**}.
Britton, N. L. (130) [NY] {**P.u**}.
Britton, N. L., Hazen, E. T. & Mendelson, W. (1246) [NY & A] {**P.t**}.
Britton, N. L. & Hollick (2798) [F] {**P.p**}.
Broadway (7151) [type MO], (7277) [MO]. {**P.t**}.

C

Churchill, H. W., Liese, A., D'Arcy, W. & Todzia, C. (5947) [MO] {**P.g**}.
Clemente, L. (4434) [A] {**P.e**}.
Clemente, L. & Alain (22553) [A] {**P.e**}
Cowan, R. S. (1514) [A] {**P.t**}.

D

David & Herrera (29376) [MO] {**P.o**}.
de Laubenfels (810) [holotype, MO] {**P.co**}.
DeWolf, G. P. (1920) [A] {**P.c**}.

E

Ekman (12666) [A], (12666; 18628) [NY] {**P.a**}; (1403) [A], (3465) [NY] {**P.b**}; (15973) [NY] {**P.e**}.
Elbert, L. L. (21609) [A] {**P.c**}.
Evans (178) [MO & NY] {**P.p**}.

F

Folsom Collins (1787) [MO] {**P.o**}.
Fosberg (42866) [NY] {**P.u**}.
Fre. León (12192; 12193) [NY] {**P.v**}.

G

Garcia, Peláez & Gil (1190) [NY] {**P.b**}.

Gardner, M. (7022) [E] {P.m}; (7023) [E] {P.o}.
 Gardner, M. & Knees, S. (6327; 6328; 6329; 6330; 6331) [E] {P.u}; (6374; 6376) [E] {P.p}.
 Gardner, M., Knees, S. & Jiménez, F. (7024) [E] {P.h}.
 Gardner, M., Knees, S. & Johnson, W. (6621; 6624; 6626) [E] {P.t}.
 Gardner, M., Knees, S. & Oberli, A. (6345; 6346; 6347; 6348) [E] {P.u}.
 Gardner, M., Knees, S., Oberli, A. & Johnstone, V. (6310; 6311; 6312) [E] {P.p}.
 George, R. P. (24486) [NY] {P.p}.
 Gentle, P. H. (8880) [MO] {P.g}.
 Gentry and Kapos (28345) [NY] {P.u}.
 Gómez, A. P. (1151; 1814) [A] {P.m}.
 Gómez, L. D. (19810) [MO] {P.g}.
 Grijalva, A. (351) [MO] {P.o}.
 Gutierrez, C. B. (4080) [NY] {P.m}.

H

Haber, W., Zuchowski, W. & de Laubenfels (8525) [F] {P.o}.
 Harris, W. (8305) [F, NY], (7798) [NY], (11117) [F] {P.u}; (8716; 8828; 8989) [F] {P.p}.
 Hartley, T. G. (13347) [A] {P.c}.
 Hatheway, W. H. (1404) [A; NY] {P.o}.
 Hawkins, T., Allen, B. & Evans, R. (587) [MO] {P.o}.
 Hernández, H. G. (2231) [MO] {P.g}.
 Herrera, G. (1556) [A] {P.g}; (7736; 7738) [F] {P.co}.
 Holdrige (1252) [A; NY] {P.b}.
 Howard, R. A. (11916; 11940; 19379; 19663) [A] {P.c}.
 Howard, R. A. & Nevling L. I. (15355; 16887) [A] {P.c}.
 Howard, R. A. & Taylor, G. (15728) [A] {P.c}.

J

Jimenez, A. (278) [F] {P.o}.
 Jimenez, Q., de Laubenfels, D. & Chacón, R. (597) [Isotype, NY] {P.co},
 Jiménez, Q., Morales, F., Lépiz, E., Urena, E. & Ramirez, V. (1313) [MO] {P.g}.
 Judd, W. S. (4852) [A] {P.b}.
 Judd, W. S., Gentry & Zanoni (50531) [MO] {P.h}.
 Judd, W. S., Slean & Castillo (6636) [NY] {P.h}.

L

LaFrankie, J. V. (1099) [A] {P.m}.
 Lépiz, E., Jiménez, Q., Jiménez, J. & Ramirez, V. H. (293) [MO] {P.co}.
 Liesner, R. L. (934) [MO] {P.g}.
 López Figueiras (2532) [Cuba] {P.v}.
 López, R. L. (0241) [MO] {P.o}.

M

Maas, P. J. M. & Dressler, R. L. (4886) [NY] {P.o}.
 Madriz, A. V. (AMV-32) [F] {P.o}.
 Mart (6856) [A] {P.o}.
 Matuda (698, isotipos) [NY; A]; (0956, isotipo de la variedad *macrocarpus*; 1847) [A]; sin número [A, F] {P.m}.
 McPherson, G. (10338) [MO] {P.g}.
 McVaugh, R. (23447) [NY] {P.m}.
 Mejia & Pimentel (444) [type NY] {P.h}.
 Mejia, Pimentel & Garcia (990) [A], (991) [NY] {P.h}.
 Mejia & Zanoni (8712) [NY] {P.b}.
 Merello, M, Miller, A. & Wong, B. (2736) [MO] {P.g}.
 Molina (760; 8811) [A] {P.o}.
 Monro, A. K. & Cafferty, S. (2728) [MO] {P.g}.

Mori Bolten (7570) [MO] {P.o}.

N

Nash, G. N. & Taylor (1715) [NY] {P.h}.

Nee, M., Diggs, G. & Ramirez, F. R. (24993) [MO] {P.o}.

Neill, D. (1837) [MO] {P.o}.

Nicolson, D. H. (1927) [A] {P.c}.

P

Percy (3159) [A] {P.g}.

Philipson (828) [MO] {P.u}.

Pittier (2052) [A] {P.o}.

Proctor, R. G. (23218) [NY] {P.u}; (33818; 34113) [A] {P.p}; (17993; 18013; 18957) [A] {P.c}.

Proctor, R. G. & Howard (13598) [A] {P.p}.

Proctor, R. G., Grady, L. & Webster (5628) [A] {P.p}.

R

Reyna, M. L. (MLR01407) [F] {P.o}.

Reznicek, A. A. & Naczi, R. F. C. (8472) [NY] {P.m}.

Rossbach (3437) [A] {P.o}.

Rzedowski, J. (32413) [NY] {P.m}.

S

Shafer (4086; 8058) [A] {P.e}; (8785) [A] {P.v}.

Standley, P. C. (25090, Isotype) [A] {P.g}.

Steyermark, J. A. (42513) [F] {P.o}.

Sytsma, K., D'Arcy, W. G. (3730) [MO] {P.g}.

W

Wadsworth, R. K. (660) [A] {P.c}.

Wadsworth, R. K., Richard A. & Howard, R. A. (512) [A] {P.c}.

Wagner, R. J. (1036) [A] {P.c}.

Warren, D. S. Krukoff, B. A. (6724) [MO] {P.o}.

Webster, G., Ellis, J. & Miller, K. (9012) [A] {P.c}.

Webster, G., Miller, K. & Miller, L. (12250) [A] {P.o}.

W. H. & Hodge, T. B. (1655; 1909; 2834) [A] {P.c}.

Williams, O. & Molina (12104; 3771; 18908) [A] {P.o}.

William, R. S. (1270) [A] {P.c}.

Winters (582) [A] {P.c}.

Wright (3188) [Isotipo, MO, NY, B 'foto' & A] {P.a}; (1461) [G-BOIS; NY; B 'foto', Isotipo] {P.v}.

Y

Yuncker (17695) [F, NY] {P.u}.

Z

Zanoni (32997) [NY] {P.b}.

Zanoni & Adams (11255; 11256) [NY] {P.b}.

Zanoni, Buck & Harris (38027) [NY] {P.b}.

Zanoni & Mejia (16621) [NY] {P.b}; (5151) [NY] {P.h}.

Zanoni, Mejia & Garcia (29823; 36373) [NY] {P.h}.

Zanoni, Mejia & Pimentel (22819; 28975) [NY] {P.b}; (20009; 22739) [NY], (22498; 31446) [A] {P.h}.

Zanoni, Mejia, Pimentel & Garcia (33936; 33726) [NY] {P.b}.