

00377



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS

Análisis de la morfología foliar de tres especies de encinos mexicanos

Quercus konzattii, *Q. urbanii* y *Q. eduardii* (Fagaceae: *Lobatae*),

variación, diferenciación e hibridación.

T E S I S

Que para obtener el grado académico de:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

(ORIENTACIÓN BIOLOGÍA AMBIENTAL)

PRESENTA:

Biól. María Luisa Herrera Arroyo

Director de tesis: Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa

Morelia, Michoacán



Septiembre, 2005.

m349092



Universidad Nacional
Autónoma de México




UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

María Luisa
Herrera Arroyo
19/ Sept / 2005



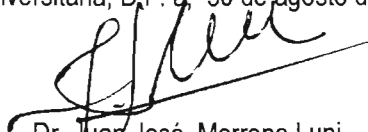
Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 13 de junio del 2005, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Ambiental) del(a) alumno(a) **Herrera Arroyo María Luisa** con número de cuenta **503005298** con la tesis titulada: "**Análisis de la morfología foliar de tres especies de encinos mexicanos Quercus conzattii, Q. urbanii y Q. eduardii (Fagaceae: Lobatae): variación, diferenciación e hibridación**", bajo la dirección del(a) **Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa**.

| | |
|-------------|--------------------------------|
| Presidente: | Dr. Juan S. Núñez Farfán |
| Vocal: | Dr. Sergio Zamudio Ruiz |
| Secretario: | Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa |
| Suplente: | Dra. Susana Valencia Ávalos |
| Suplente: | Dra. Silvia Romero Rangel |

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 30 de agosto del 2005



Dr. Juan José Morrone Lupi
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto contó con financiamiento del proyecto No. 38550-V, Biología evolutiva del género *Quercus* en México: Filogenia, hibridación y coevolución. Responsable: Dr. A. Ken Oyama N. Y apoyo de Beca CONACYT No. 172842

Agradezco a mi asesor, Dr. Ken Oyama por la formación recibida durante toda mi estancia en el Laboratorio de Ecología Genética y Molecular, por su paciencia y sus valiosos comentarios en la dirección de esta tesis.

Agradezco también a los integrantes de mi comité tutorial Drs. Silvia Romero Rangel y Sergio Zamudio Ruiz sus valiosas observaciones para la realización de esta investigación.

Al Dr. Antonio González Rodríguez, por su infinita paciencia y colaboración durante el desarrollo de mi tesis, Gracias Toño.

Indudablemente esta tesis es muestra del gran compañerismo que me acogió dentro del grupo de trabajo del Dr. Ken Oyama, ya que es producto del esfuerzo de mucha gente que colaboró conmigo para su realización, para ellos, mi agradecimiento. Entre ellos, Miguel Ángel Pérez Pérez, Antonio González y Pedro Sánchez Peña, por todo su apoyo en el trabajo de campo; Claudia Scareli Dos-Santos, por su valiosa colaboración con los análisis de microscopía electrónica; Raquel, por su paciente asistencia en la toma de datos morfológicos; Antonio González por su asesoría en el análisis estadístico, por despejar mil dudas, y mas que nada por su paciencia y disposición en n revisiones de esta tesis; Dolores Lugo, por su siempre animosa colaboración, su asistencia técnica. Gracias a todos.

A mis compañeros y amigos de Laboratorio, los de antes y los de ahora, por las enseñanzas, las buenas y las malas, que a fin de cuentas, dejan huella, Sofía Solórzano, Omar Chassin, Antonio González, Pablo Cuevas, Miguel Ángel Pérez, Rosaura Luna, Pedro Sánchez, Nidia Pérez, Irene Ávila, Claudia Scareli, Mara García, Jenny Moreno, Xochitl Galarza, Marbella Rodríguez, Dolores Uribe, Enrique Pascual, Selene Ramos, Ana Luisa Albarrán, Juan Manuel Peñaloza, Isadora Torres, Carla Chávez, en fin, espero no olvidarme de nadie, porque todos son importantes.

Importante también es mencionar el apoyo que he recibido de otras personas, entre ellos, mi inseparable Negro, Gracias por estar conmigo.

A mis padres

Mi familia

Y mi pequeña gran Alondra.

Por su comprensión y cariño.

CONTENIDO

| | |
|---|-----|
| Resumen | 1 |
| Abstract | 3 |
| INTRODUCCIÓN | |
| El género <i>Quercus</i> (Fagaceae) | 5 |
| ANTECEDENTES | |
| Sistema de estudio | 9 |
| Estructura de la tesis | 14 |
| CAPITULO I | |
| Variación morfológica e hibridación en dos especies de encinos rojos (<i>Lobatae</i>), <i>Quercus konzattii</i> y <i>Q. eduardii</i> (Fagaceae) | 16 |
| CAPITULO II | |
| Diferenciación morfológica entre dos especies estrechamente relacionadas <i>Quercus</i> <i>konzattii</i> y <i>Q. urbanii</i> (Subsección <i>Racemiflorae</i> , Fagaceae) | 52 |
| DISCUSIÓN GENERAL | 67 |
| LITERATURA CITADA | 70 |
| APÉNDICE I | 78 |
| APÉNDICE II | 87 |
| APÉNDICE III | 94 |
| APÉNDICE IV | 101 |

Resumen

Esta tesis aborda problemas sobre variación y diferenciación morfológica, así como una probable hibridación entre especies de encinos rojos mexicanos. El primer problema incluye a *Quercus conzattii* (Subsección *Racemiflorae*) y *Q. eduardii* (Subsección *Durifoliae*), dos especies poco relacionadas filogenéticamente, que presentan distribuciones geográficas contrastantes. *Quercus conzattii* posee una distribución bicéntrica, en el noroeste de la Sierra Madre Occidental y en las montañas de Oaxaca, mientras que *Q. eduardii* presenta una distribución más continua en la Sierra Madre Occidental, el Eje Neovolcánico y la Sierra Madre Oriental. Estos patrones de distribución geográfica pueden estar influyendo en los niveles de variación y diferenciación intraespecífica de ambas especies. En *Q. conzattii* es probable que exista poco flujo génico entre las poblaciones de ambos centros de distribución, mientras que la distribución continua de *Q. eduardii* permitiría suponer la existencia de flujo génico entre las poblaciones de la especie. Estudios previos sugieren que se están llevando a cabo eventos de hibridación entre estas especies en algunos sitios en donde sus distribuciones se sobreponen, a pesar de que *Q. conzattii* y *Q. eduardii* son especies filogenéticamente distantes. El objetivo de esta primera parte es analizar la variación morfológica intraespecífica que estas dos especies presentan para identificar patrones de variación, así como identificar posibles eventos de hibridación en sitios en los cuales ambas especies coexisten. El análisis de la morfología foliar en *Q. conzattii* indicó que a pesar de tener una distribución bicéntrica, las poblaciones de la región noroeste no se diferencian de las poblaciones que se encuentran en el sur, mientras que las poblaciones de *Q. eduardii*, cuya distribución es más continua, presentan una mayor diferenciación. En cuanto a la probable hibridación, se encontró que de tres sitios analizados en los

cuales ambas especies son simpátricas, solamente en un sitio se encuentran individuos con morfología intermedia.

El segundo problema que aborda esta tesis es sobre la confusión taxonómica entre *Q. conzattii* y *Q. urbanii*, dos especies estrechamente relacionadas que pertenecen a la subsección *Racemiflorae*. Debido a que estas especies presentan una morfología foliar muy similar, algunos autores las consideran como una sola especie, mientras que para otros son dos especies distintas, por lo que el objetivo de esta parte de la tesis es evaluar si existe diferenciación morfológica entre estas dos entidades taxonómicas. Un análisis detallado de la variación morfológica foliar de poblaciones de ambas especies permitió establecer que *Q. conzattii* y *Q. urbanii*, aunque se asemejan en varios caracteres morfológicos cualitativos, como hojas cóncavas, venas impresionadamente marcadas en el haz de la hoja y abundante pubescencia en el envés, entre otras, se mantienen como entidades distintas al analizar caracteres morfológicos foliares cuantitativos, como longitud, ancho máximo, altura al ancho máximo de hoja, longitud de peciolo, entre otras. Además de las diferencias observadas en la morfología foliar, estudios colaterales indican que existen diferencias a nivel de indumento en el tipo de tricomas que estas especies presentan, por lo que se confirma que se trata de dos especies distintas.

Palabras clave: *Quercus conzattii*, *Q. eduardii*, *Q. urbanii*, morfología, hibridación, diferenciación.

Abstract

This study analyzed two problems on morphological variation, differentiation and hybridization among three Mexican red oaks species. The first problem analyzed *Quercus konzattii* (Subsection *Racemiflorae*) and *Q. eduardii* (Subsection *Durifoliae*), two distantly related species, with contrasting geographic distribution. *Quercus konzattii* has a bicentric distribution, in the northeast of the Sierra Madre Occidental and in the Oaxaca mountains, while *Q. eduardii* presents a more continuous distribution in some parts of the Sierra Madre Occidental, the Eje Neovolcanico and the Sierra Madre Oriental. These patterns of geographic distribution can be influencing the intra specific variation and differentiation levels in both species. It is expected low gene flow among the populations of both distribution centers of *Q. konzattii*, while the more continuous distribution of *Q. eduardii* leads to suppose the existence of high levels of gene flow among the populations of this species. Despite *Q. konzattii* and *Q. eduardii* are morphological distinct species, previous studies suggest that these species are hybridizing in some sites where they occur in sympatry. The objective of the first part is to analyze the intra specific morphological variation of these two species and identify patterns of variation, and a possible hybridization event. The analysis of leaf morphology in *Q. konzattii* showed no differences between the populations from the northeast compared to those of the south regions, while the continuous populations of *Q. eduardii* had a higher differentiation. We found evidence of hybridization only in one place where both species occur.

The second problem analyzed in this study is the taxonomic confusion between *Q. konzattii* and *Q. urbanii* two closed related species, which belong to the subsection *Racemiflorae*. Because of the morphological similarity between these two species, some authors consider them as one species, while others consider them as different ones. The

goal of this chapter is therefore, to evaluate the existence of morphological differentiation between these two taxonomic entities. A detail analysis of the variation of leaf morphology of populations of both species indicated that *Q. conzattii* and *Q. urbanii* are very similar in many qualitative morphological traits like leaf concavity, veins strongly marked on the adaxial surface and abundance of pubescence on the abaxial surface among others. They can be considered as different entities if we analyze quantitative leaf morphology traits, as longitude, maximum width, height to the maximum width to the leaf, petiole longitude among others. In addition to the differences observed in leaf morphology, some previous studies showed differences in the type of trichomes that assess the existence of two different species.

Key words: *Quercus conzattii*, *Q. eduardii*, *Q. urbanii*, morphology, hybridization, differentiation.

INTRODUCCIÓN

El género *Quercus* (Fagaceae)

El género *Quercus* es uno de los grupos de plantas forestales más importantes a nivel mundial. Se desconoce el número exacto de especies que posee el género, pero se ha estimado que existen aproximadamente 500 especies de árboles y arbustos distribuidos en gran parte del Hemisferio Norte (Jones, 1986; Nixon, 1993; Manos *et al.*, 1999). Los encinos son elementos muy importantes de los bosques templados de Europa, Asia y América, en este último continente están ampliamente distribuidos desde el sur de Canadá hasta Colombia (Nixon, 1993).

El género *Quercus* se encuentra incluido dentro de la familia Fagaceae, orden Fagales. Un carácter importante que define a la familia Fagaceae es la presencia de una estructura leñosa que bordea la base de la flor denominada cúpula. Después de la fertilización, cada flor desarrolla un fruto unilocular, indehiscente, con una sola semilla, llamado nuez. La cúpula en forma de copa presenta escamas, y se encuentra rodeando la base del fruto. En conjunto, la cúpula y la nuez constituyen la bellota, carácter diagnóstico del género *Quercus* (Borgardt y Pigg, 1999). La polinización es por viento, el entrecruzamiento es obligado y el ciclo de vida es largo y algunas especies pueden llegar a vivir más de 400 años (Kaul, 1985)

De acuerdo a las últimas interpretaciones taxonómicas del género *Quercus*, se reconocen dos subgéneros, *Cyclobalanopsis* y *Quercus*, y en este último están contenidas cuatro secciones: *Cerris* que solo se encuentra en Eurasia, *Quercus* (encinos blancos) que se encuentra en América y Eurasia, *Lobatae* (encinos rojos) y *Protobalanus* (encinos intermedios o de cúpula dorada), que únicamente se encuentran en América (Manos *et al.*, 1999).

México es considerado un centro de diversificación del género *Quercus* para América, debido a la gran diversidad de especies y al elevado número de endemismos que se encuentran en esta región (Rzedowski, 1978; Nixon, 1993). De acuerdo con Nixon (1993), en México están representadas tres de las cuatro secciones del subgénero *Quercus*: *Quercus*, *Lobatae* y *Protobalanus*. Las estimaciones más recientes de riqueza de encinos indican que en México existen 161 especies, de las cuales 81 pertenecen a la sección *Quercus*, 76 a la sección *Lobatae*, y la sección *Protobalanus* está representada con 4 de las 5 especies que la conforman (Valencia, 2004). De éstas, 109 especies son endémicas de México, lo que equivale al 67.7 % del número total de especies, de las cuales 47 pertenecen a la sección *Quercus*, 61 a la sección *Lobatae*, y una a la sección *Protobalanus* (Valencia, 2004).

Los encinos se encuentran en gran diversidad de hábitats, exhiben gran variedad de formas de crecimiento, desde pequeños arbustos rizomatosos que crecen en zonas áridas con fuertes pendientes, o en las cimas de las montañas, hasta grandes árboles de bosques húmedos (Nixon, 1993).

Los encinos generalmente se asocian con especies del género *Pinus*, siendo ambos los principales componentes de los bosques húmedos templados. Los encinos también se encuentran en bosques de *Abies* y en bosques mesófilos de montaña así como con otras comunidades vegetales, aunque también pueden llegar a ser el elemento dominante y formar encinares puros (Rzedowski, 1978; Encina *et al.*, 2002).

El género *Quercus* presenta una gran variabilidad morfológica, tanto a nivel interespecífico como intraespecífico, quizá la mayor entre todos los géneros de la familia *Fagaceae*. Las hojas presentan un amplio margen de variación en todos los caracteres: forma, tamaño, borde, etc., además los distintos tipos de hojas no son específicos para alguna sección. Esta variabilidad foliar frecuentemente se extiende a

los niveles taxonómicos más bajos y en muchos casos, las especies presentan intergradación en las características, lo cual, probablemente sea el resultado del flujo génico que existe entre ellas (Jones, 1986).

La variación morfológica ha sido documentada en diferentes especies, y a diferentes niveles taxonómicos. Por ejemplo, en *Q. petraea*, se encontró que existe una alta diversidad fenotípica entre poblaciones, así como entre árboles de la misma población y dentro de un mismo árbol, encontrando que incluso hay mayor variación entre hojas situadas en distinta posición de la rama (dentro de árbol), que entre árboles de la misma población (Bruschi *et al.*, 2003).

Para los encinos mexicanos *Q. affinis* y *Q. laurina*, se ha detectado una considerable variación fenotípica individual a lo largo de su gradiente de distribución. Mediante un análisis de varianza anidado, se encontró que la mayor proporción de la varianza total en caracteres morfológicos foliares se explica por el factor individuo dentro de poblaciones, aunque también el factor hojas dentro de individuo explica una proporción importante de esta variación. Además, también se encontró que esta variación morfológica se incrementa en poblaciones en las que posiblemente existe hibridación entre ambas especies (Moreno, 2004; González-Rodríguez y Oyama, 2005).

La variación morfológica foliar de los encinos también ha sido estudiada con el propósito de identificar individuos con origen híbrido (Hardin, 1975; Jensen, 1993; Spellenberg, 1995; Bacon y Spellenberg, 1996), o bien, con fines taxonómicos, para diferenciar entre especies que presentan morfologías muy similares (Aguilar y Romero, 1995; Bruschi *et al.*, 2000; Romero *et al.*, 2000; Ishida *et al.*, 2003).

Los encinos constituyen un grupo de plantas en las que las barreras reproductivas que limitan la hibridación entre las diferentes especies están pobremente desarrolladas, por lo que pueden formarse híbridos entre especies que son muy

diferentes una de otra, morfológica y genéticamente (Trelease, 1924; Hardin, 1975; Whittemore y Schaal, 1991; Spellenberg, 1995; Bacillieri *et al.*, 1996a; Bacon y Spellenberg, 1996). Sin embargo, la hibridación parece estar limitada a especies que pertenecen al mismo grupo o sección dentro del género (Manos *et al.*, 1999).

A pesar de la extensa hibridación e introgresión que hay dentro de este grupo, los encinos representan un ejemplo clásico de un grupo taxonómico en el cual las distintas especies involucradas en los eventos de hibridación mantienen diferentes identidades morfológicas, ecológicas y genéticas (Burger, 1975; Whittemore y Schaal, 1991).

Debido a la extensa hibridación que ocurre en el género, se ha generado una problemática en la aplicación del concepto biológico de especie para este grupo, ya que éste descansa en el principio de una separación genética efectiva (Burger, 1975). Por lo que se ha propuesto aplicar el concepto de multiespecies, un conjunto de especies ampliamente simpátricas que intercambian genes de manera natural (Van Valen, 1976).

Probablemente la capacidad que tienen los encinos para el intercambio genético sea uno de los factores que les ha permitido ser muy competitivos en una amplia variedad de ambientes (Jones, 1986).

Los procesos de hibridación interespecífica han sido analizados en varios pares de especies, por ejemplo *Q. robur* y *Q. petraea* en Europa (Bacillieri *et al.*, 1996b; Samuel 1999; Gömöry *et al.*, 2001), *Q. suber* y *Q. ilex* en Africa (Elena-Roselló *et al.*, 1992; Belahbib *et al.*, 2001), y *Q. grisea* y *Q. gambelii* en Norteamérica (Howard *et al.*, 1997; Williams *et al.*, 2001).

En México, también se ha documentado hibridación en varios casos. Con base en análisis morfológicos, Bacon y Spellenberg (1996) reportan hibridación entre *Q. konzattii* y *Q. eduardii* debido a la presencia de individuos con caracteres intermedios.

Para *Q. affinis* y *Q. laurina*, se reporta una intergradación morfológica y genética entre ambas especies, observándose también que existe incongruencia entre la afinidad morfológica y la afinidad genética de los individuos de origen híbrido (González-Rodríguez *et al.*, 2004; Moreno, 2004). En el caso de *Q. crassipes* y *Q. cassifolia* (Tovar-Sánchez *et al.*, 2004), se reporta un proceso de introgresión entre ambas especies, la dirección de esta introgresión cambia dependiendo de la localización de la zona híbrida, cuando son cercanas a la Sierra Madre Occidental se registra introgresión unidireccional hacia *Q. crassifolia*, cuando son cercanas a la Sierra Madre Oriental, la introgresión también es unidireccional pero hacia *Q. crassipes*, mientras que las zonas híbridas de localidades intermedias muestran introgresión bidireccional.

Debido a la gran riqueza específica de encinos que México posee, su gran capacidad de hibridación e intergradación, la enorme variación inter e intraespecífica así como la importancia ecológica y económica que guardan los bosques de encinos, resulta interesante estudiar las relaciones que existen entre las diferentes especies de *Quercus*. Por lo que en este trabajo, se estudia la relación que existe entre una especie de encino, *Q. conzattii*, con otras dos especies, *Q. urbanii* con la cual está estrechamente relacionado (Subsección *Racemiflorae*) (Spellenberg y Bacon, 1996), y la otra, *Q. eduardii*, morfológicamente muy distinta (Subsección *Durifoliae*) (Trelease, 1924). Las tres especies pertenecen a la sección *Lobatae*.

ANTECEDENTES

Sistema de estudio

La subsección *Racemiflorae* (serie, de acuerdo a Trelease, 1924), cuenta con cuatro especies, *Q. conzattii*, *Q. urbanii*, *Q. radiata* y *Q. tarahumara* (Spellenberg y Bacon, 1996). Fue descrita por Trelease (1921) como árboles moderadamente grandes,

con ramillas tomentosas, yemas redondeadas, hojas pecioladas, cordadas, pandurado-
obovadas u orbiculares, cóncavas, aristadas, venas fuertemente impresas en el haz de la
hoja, frutos anuales, pequeños, en racimos elongados. Trelease (1921) describe solo tres
especies para esta subsección, *Q. urbanii*, *Q. radiata* y *Q. konzattii*. Posteriormente,
Spellenberg *et al.* (1995) describen la cuarta especie de la serie (subsección), *Q.*
tarahumara.

Trelease (1924) también describe *Q. pennivenia* y *Q. tepicana*, en la serie
Peniveniae. Posteriormente, *Q. tepicana* es reconocido como sinónimo de *Q.*
magnoliifolia (McVaugh, 1974) y *Q. pennivenia* como sinónimo de *Q. urbanii*
(Spellenberg *et al.*, 1995). Además, se generó cierta confusión taxonómica en la serie
Racemiflorae, al tratar a *Q. konzattii* como sinónimo de *Q. urbanii* (Martínez, 1966;
González, 1986).

En cuanto a la especie *Q. eduardii*, Trelease (1924) la coloca en la serie
Durifoliae, en la cual además de *Q. eduardii*, se encuentran las especies *Q. emory* y *Q.*
durifolia.

A pesar de que *Q. konzattii* y *Q. eduardii* son dos especies morfológicamente
muy distintas, se ha documentado la existencia de hibridación entre ambas especies en
el estado de Durango, México (Bacon y Spellenberg 1996). La existencia de una
población con caracteres morfológicos intermedios entre ambas especies ha sugerido
que la estructura de dicha población es producto de hibridación y subsecuente
retrocruzamiento, involucrando a *Q. konzattii* y *Q. eduardii* y a individuos de origen
híbrido de generación avanzada.

En síntesis, existe una discusión acerca del problema de diferenciación
taxonómica entre las especies *Q. konzattii* y *Q. urbanii* de la subsección *Racemiflorae*.
Por otro lado, *Q. konzattii* y *Q. eduardii*, dos especies con morfologías distintas y

distribuciones geográficas muy contrastantes. en ocasiones entran en contacto y se llevan a cabo procesos de hibridación.

Quercus conzattii: Proc. Amer. Philos. Soc. 60:33, pl. 4. 1921. Tipo: México, Oaxaca, Cuesta de Huanchilla, Distrito de Nochistlán, 2000 m. Junio, 1900. Foto del Holotipo en NMC.

Árboles de 3 a 10 m de altura o arbustos de 1 a 4 m, con ramillas gruesas (5 mm) estriadas, color gris, tomentosas, aún en el segundo año, entonces oscuras con numerosas y pequeñas lenticelas. Yemas café, ovoides, con pubescencia escasa de 3 a 5 mm o más. Hojas deciduas, obovadas a suborbiculares, ápice ampliamente obtuso-redondeado o deltoideo-aristado, base cordada, enteras, excepto por una escasa concavidad del margen entre las venas, de 7 a 19 cm longitud y de 5 a 14.5 cm de ancho, convexas, lustrosas, más o menos impresionadamente reticuladas y glabras o ligeramente pilosas a lo largo de la vena media en la parte superior, en la parte inferior densamente gris-lanosas, venas de 7 a 15 en cada lado de la hoja, las cuales frecuentemente alcanzan el margen y terminan en una arista, la mayoría anastomosándose cerca del margen. Pecíolo gris tomentoso, 0.4 a 3.5 cm de longitud. Fruto anual en racimos de 5-6 cm de longitud, densamente frutescentes. Cúpula pequeña, redonda, (escasamente 10 mm diam.). Semillas ovoides escasamente alcanzan los 10 mm, la mitad de ellas incluidas en la cúpula.

Se localiza desde los 1700 a 2600 msnm, es el primer encino rojo que se encuentra en seguida del matorral tropical xérico, en las más bajas elevaciones crece en pendientes de suelos rocosos ígneos, en pequeñas agregaciones monoespecíficas o mezclado con algunos pinos. (Trelease, 1924; Spellenberg y Bacon, 1996; Datos aquí presentados)

Quercus urbanii: Proc. Amer. Phil. Soc. 60:32. 1921. Tipo: México, Estado de Michoacán y de Guerrero, Oeste de la Sierra Madre. 20 de junio 1899. Holotipo BHU, isotipo US. *Q. pennivenia* Trel.

Árboles de 6 a 13 m de altura, con ramillas muy gruesas (5 a 7 mm o aún 10 mm) profundamente estriadas, desde densamente tomentoso-amarillento, tornándose oscuras pero persistentemente pubescentes en el segundo año. Yemas redondeadas de 3 a 7 mm de longitud, un tanto tomentosas. Hojas deciduas orbiculares, o ampliamente obovadas, cortamente acuminadas, base profundamente cordada, auriculadas, ligeramente cóncavas en los extremos de las aristas, 12 a 37 cm de largo y 9 a 31 cm de ancho, la parte convexa lustrosa e impresamente reticulada, parte superior glabra excepto a lo largo de las venas, la superficie inferior densamente cremoso-tomentosa, de 7 a 15 venas a cada lado de la hoja, terminan en arista, la mayoría anastomosándose cerca de margen. Pecíolos de 2.5 a 7.5 cm de longitud. Frutos anuales en racimos amarillos tomentosos 86-116 mm de largo, cúpula redonda, pequeña 10 mm diámetro, semillas ovoides, de 9 a 12 mm de longitud y 7 a 10 mm de ancho. Del grupo de las *Racemiflorae*, *Q. urbanii* es la especie con hojas más grandes

Se puede encontrar de los 1800 a 2200 msnm en pequeños grupos monoespecíficos o mezclado con algunos pinos y otros encinos, en suelos ígneos (Trelease, 1924; Spellenberg y Bacon, 1996; Datos aquí presentados).

Quercus eduardii: Mem. Natl. Acad. Sci. 20: 121. 1924. Tipo: México, Durango. Noviembre, 1896.

Árboles de 5-8 m de altura, o arbustos de 1.50 m de alto aproximadamente. La madera es de color rojo oscuro, la corteza de color negro, áspera. Ramillas delgadas (2mm), algunas veces estriadas o acanaladas. Yemas café claro, lustrosas, glabras, ovoides, 1.5 x 2.5 mm. Estípulas de 4.5-6 mm de largo, membranosas, pilosas,

oblanceoladas, deciduas antes que las hojas hayan alcanzado su pleno desarrollo. Hojas deciduas, ligeramente coriáceas, oblongo-elípticas, ovado-lanceoladas, ocasionalmente oblanceoladas u obovadas, mucronadas más que agudas, escasamente cordadas, enteras o serradas, con dientes aristados cortos, pequeñas (de 1.5 x 3 hasta 4 x 6 cm), lustrosas, glabras o con la vena media de la parte abaxial pubescente, volviéndose glabra después, borde plano o ligeramente revoluto. Nervaduras de 5-10 de cada lado aproximadamente, ascendentes, ramificadas y anastomosadas hacia el borde, haz glabro y lustroso, color verde oscuro o verde grisáceo, con pelos persistentes estrellados cerca de la base, envés más pálido con pequeños pelos estrellados esparcidos y con frecuencia mechones de pelos más largos en las axilas de las nervaduras principales. Pecíolos glabros, color pálido o rojizo finamente tomentosos (de 2-5 cm long). Amentos masculinos (de 1.5-3 cm de largo), raquis densamente piloso. Frutos anuales, solitarios y casi sésiles. Cúpula algunas veces turbinada, pequeña, (7-10 mm de diámetro y 5-6 mm de alto), escamas delgadas, adpresas, redondeadas y ligeramente tomentosas. Semillas ovoides o elongadas, de 6-12 mm de largo, la mitad de ellas incluida en la cúpula, pálidas o escasamente sedosas (Trelease, 1924; González, 1986; Datos aquí presentados).

Quercus eduardii posee una distribución amplia, se encuentra en la Sierra Madre Occidental, el Eje Neovolcánico Transversal y la Sierra Madre Oriental, en los estados de Durango, Zacatecas, Nayarit, Jalisco, Sinaloa, Chihuahua, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Coahuila, Tamaulipas, Nuevo León y Veracruz (Fig. 1). Se encuentra en altitudes desde los 1000 a los 2800 msnm (Datos de Herbarios: MEXU, IEB).

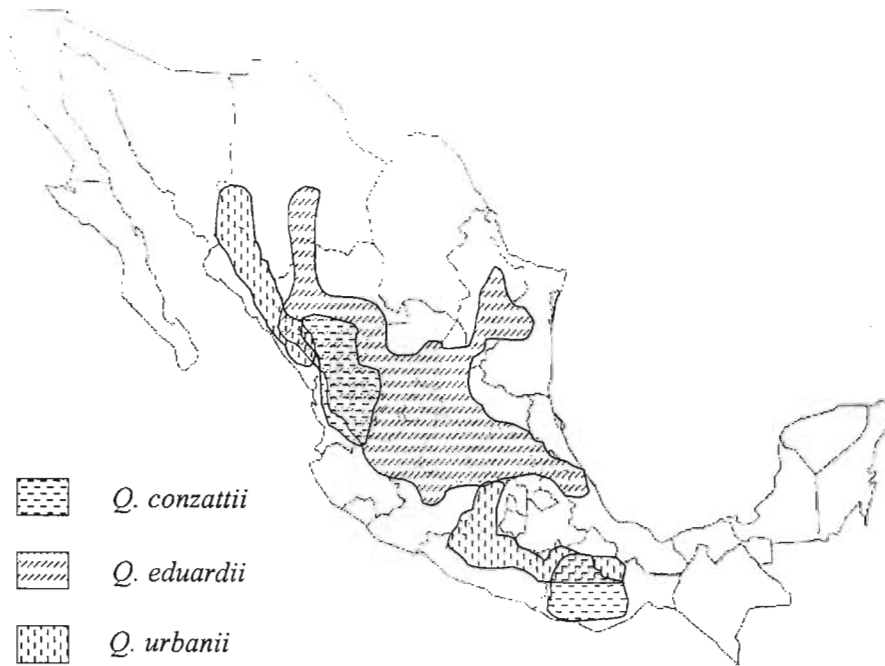


Fig. 1. Mapa de distribución geográfica de las especies *Q. conzattii*, *Q. eduardii* y *Q. urbanii*.

La finalidad de este trabajo es examinar los patrones de variación morfológica que existen entre *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, así como analizar los probables eventos de hibridación entre estas especies. Además, para las especies *Q. conzattii* y *Q. urbanii*, se pretende evaluar si existe o no diferenciación morfológica, en vías de aclarar la situación taxonómica de dichas especies en cuestión.

Estructura de la tesis.

Esta tesis está formada por dos capítulos. En el primero se analiza la variación morfológica que existe entre las especies *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, para identificar los patrones de variación que estas especies presentan a lo largo de su distribución geográfica. Debido a que *Q. conzattii* tiene una distribución bicéntrica, se espera encontrar diferenciación morfológica entre las poblaciones de la parte noroeste de México, con respecto a las poblaciones de la porción sur de la distribución. Para *Q.*

eduardii, dado que su distribución geográfica es más continua, se espera una menor diferenciación morfológica entre las poblaciones, debido a que es probable que existan mayores niveles de flujo génico que pudieran resultar en la homogenización morfológica de las poblaciones. Además, se analizan los probables eventos de hibridación que pudieran estar ocurriendo en tres sitios en los cuales ambas especies traslapan su distribución geográfica.

El segundo capítulo analiza la variación morfológica de las especies *Q. conzattii* y *Q. urbanii*. Debido a que estas dos especies presentan una morfología foliar muy parecida, frecuentemente han sido tratadas como una sola especie, por lo que este capítulo intenta determinar si existe diferenciación morfológica entre ambas especies.

CAPITULO I

Variación morfológica e hibridación en dos especies de encinos rojos
(*Lobatae*), *Quercus conzattii* y *Q. eduardii* (Fagaceae).

Resumen.

En este capítulo se analiza la variación morfológica foliar y la probable hibridación en dos especies de encinos mexicanos, *Quercus conzattii* y *Q. eduardii* (Fagaceae: *Lobatae*), dos especies distantemente relacionadas, con patrones de distribución geográfica contrastantes. *Quercus conzattii* presenta una distribución geográfica bicéntrica con poblaciones en la parte noroeste de la Sierra Madre Occidental y en el sur, en las montañas de Oaxaca. *Quercus eduardii* posee una distribución más continua en varios estados de la Sierra Madre Occidental, el Eje Neovolcánico Transversal y la Sierra Madre Oriental. Se colectaron siete poblaciones de cada especie y una población con caracteres morfológicamente intermedios entre ambas especies. Se midieron 16 caracteres foliares para caracterizar su morfología foliar. El tratamiento estadístico incluyó un análisis de varianza de una vía y una prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer para identificar las poblaciones con promedios semejantes en los caracteres analizados, un análisis de componentes principales para identificar los patrones de agrupación de las poblaciones con base en la variación que presentan los caracteres morfológicos foliares analizados, así como un análisis de función discriminante que permitió diferenciar a los individuos en ambas especies. Las poblaciones de *Q. conzattii* tienen una morfología foliar muy homogénea, solamente una población de Oaxaca difiere en varios caracteres morfológicos del resto de las poblaciones. Para *Q. eduardii* debido al tipo de distribución continua que presenta se esperaba que sus poblaciones mantuvieran una morfología más homogénea, sin embargo, los resultados sugieren que las poblaciones se encuentran localmente muy diferenciadas ya que existe diferenciación aún en poblaciones que fueron colectadas en una misma región.

De los tres sitios analizados en los cuales ambas especies ocurren en simpatria, solamente en un sitio, Ferrería, Durango, se encontraron individuos con morfología intermedia, mientras que en los otros dos sitios analizados no fue posible distinguir formas intermedias.

Palabras clave: *Quercus conzattii*, *Q. eduardii*, variación morfológica, hibridación.

INTRODUCCIÓN

El alto grado de variación morfológica es una de las características que ha distinguido al género *Quercus*. Además, es el género con mayor variabilidad foliar dentro de la familia Fagaceae (Jones, 1986). Esta alta variabilidad morfológica foliar, frecuentemente se extiende a los niveles taxonómicos más bajos. En general, la variabilidad que existe dentro y entre especies, entre poblaciones, entre árboles dentro de poblaciones e incluso en las diferentes ramas de un mismo árbol, es considerable (Jones, 1986; Blue y Jensen, 1988; Bruschi *et al.*, 2003a).

Esta variabilidad morfológica ha sido estudiada en diferentes especies de encinos, entre ellos, *Q. robur*, *Q. petraea* y *Q. pubescens*, para tratar de diferenciar entre estas especies, las cuales presentan una morfología muy parecida (Bruschi *et al.*, 2000; Kremer *et al.*, 2002).

El género *Quercus* también se distingue por presentar altos niveles de hibridación interespecífica, lo cual ha influido en parte a generar los complejos patrones de variación morfológica intraespecífica mencionados (Trelease, 1924; Hardin, 1975; Whittmore y Schaal, 1991; Jensen *et al.*, 1993; Spellenberg, 1995; Bacillieri *et al.*, 1996a; Bacon y Spellenberg, 1996). Sin embargo, parece ser que la hibridación se limita a especies que se encuentran dentro de una misma sección. Solamente se ha reportado un probable evento de hibridación ancestral en el cual pudieron haber participado especies de distintas secciones (Manos *et al.*, 1999). A pesar de la extensa hibridación e introgresión que ocurre en el género, las especies mantienen sus identidades morfológicas, ecológicas y fisiológicas (Burger, 1975; Whittmore y Schaal, 1991).

Debido a los altos niveles de hibridación que presenta el género, resulta muy difícil la aplicación del concepto biológico de especie (Burger, 1975), ya que no hay separación genética efectiva entre las diferentes especies de encinos, por lo que se ha

propuesto aplicar el concepto de multiespecies, un conjunto de especies ampliamente simpátricas que intercambian genes de manera natural (Van Valen, 1976).

Actualmente, además del componente morfológico, las investigaciones han incorporado el componente genético a través del uso de diferentes marcadores moleculares, isoenzimas (Bacillieri *et al.*, 1996b), RAPD's (Bacillieri *et al.*, 1996a; Howard *et al.*, 1997; Samuel 1999; Williams *et al.*, 2001; González-Rodríguez *et al.*, 2004a; Tovar-Sánchez *et al.*, 2004) y RFLP's (Whittemore y Schaal, 1991; Belahbib *et al.*, 2001; González-Rodríguez *et al.*, 2004b). En todos los casos se ha encontrado que existe flujo génico entre las especies que están actuando como progenitores y que los individuos de origen intermedio comparten elementos génicos y morfológicos de los progenitores.

Quercus konzattii y *Q. eduardii* son dos especies de encinos rojos mexicanos con distribuciones geográficas contrastantes. *Quercus konzattii* tiene una distribución disyunta en dos áreas de México muy distantes entre si, en el noroeste, se encuentra en los estados de Durango, Nayarit, Zacatecas y Jalisco, y en el sur se encuentra en las montañas de Oaxaca. *Quercus eduardii* posee una distribución más amplia y continua (Fig. 1), a través de los estados de Chihuahua, Sinaloa, Durango, Nayarit, Zacatecas, Jalisco, Michoacán, Guanajuato, Aguascalientes, Querétaro, San Luis Potosi, Hidalgo, Estado de México, Tamaulipas, Nuevo León y Veracruz. La distribución de ambas especies se traslapa en muchos sitios de la Sierra Madre Occidental.



Fig. 1. Distribución geográfica de las especies *Q. conzattii* y *Q. eduardii*.

OBJETIVOS

Los objetivos de esta investigación fueron analizar los niveles de variación morfológica intraespecífica que existe en *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, así como detectar probables eventos de hibridación en algunos de los sitios donde estas especies entran en contacto, a través del análisis de caracteres foliares.

MÉTODOS

Se realizó una revisión de ejemplares de herbario (Herbario MEXU, Herbario IEB), para conocer e identificar las características de *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, así como para determinar la distribución geográfica de estas especies.

Se realizaron salidas de campo a sitios en los estados de Jalisco, Nayarit, Zacatecas, Durango, Oaxaca e Hidalgo. Las localidades se seleccionaron de modo que quedaran incluidas poblaciones alopátricas para ambas especies (poblaciones de Oaxaca

para *Q. conzattii* y para *Q. eduardii* poblaciones de Hidalgo), y poblaciones en donde *Q. conzattii* y *Q. eduardii* son simpátricas (en Durango y Jalisco).

En total se realizaron colectas de siete poblaciones de *Q. conzattii*, con aproximadamente 20 a 30 árboles en cada una, dos poblaciones son procedentes de Oaxaca, tres poblaciones provienen de sitios en simpatría con *Q. eduardii* en los estados de Durango y Jalisco y dos poblaciones provienen de sitios en donde no están en contacto pero sí son cercanas a *Q. eduardii*. Para *Q. eduardii* se colectaron otras siete poblaciones con el mismo patrón de distribución, dos poblaciones provenientes del estado de Hidalgo y dos poblaciones cercanas pero sin contacto con *Q. conzattii* y tres poblaciones provenientes de los sitios en simpatría mencionados antes para *Q. conzattii*. Además, se colectó una población con caracteres morfológicos intermedios entre las dos especies antes mencionadas (Fig. 2, Tabla 1).



Fig. 2. Localización geográfica de las poblaciones de *Quercus conzattii* y *Q. eduardii* que se colectaron.

Tabla 1. Localidades, altitud y coordenadas de las poblaciones de *Quercus conzattii* y *Q. eduardii* colectadas.

| No. Ref. | Especie | Localidad | Altitud msnm | Coordenadas geográficas | Fecha de colecta |
|----------|------------------------|------------------------|--------------|-------------------------|------------------|
| 1 | <i>Q. eduardii</i> | Carpinteros, Hgo | | 20°10.82N 98°17.1W | 05/15/2003 |
| 2 | <i>Q. eduardii</i> | San Alejo, Hgo | | 20°32.36N 98°34.2W | 05/05/2003 |
| 3 | <i>Q. eduardii</i> | Tuxpan de Bolaños, Jal | 2094 | 21°53.163N 103°50.515W | 09/11/2002 |
| 4 | <i>Q. eduardii</i> | Súchil, Dgo | 2235 | 23°35.488N 104°01.354W | 13/08/2002 |
| 5 | <i>Q. eduardii</i> | La Michilia, Dgo | 2451 | 23°23.267N 104°11.974W | 14/08/2002 |
| 6 | <i>Q. eduardii</i> | Mezquitil, Dgo | 1913 | 23°26.941N 104°21.791W | 15/08/2003 |
| 7 | <i>Q. eduardii</i> | Ferrería, Dgo | 2026 | 23°56.506N 104°41.416W | 16/08/2002 |
| 8 | <i>Taxa intermedio</i> | Ferrería, Dgo | 2026 | 23°56.506N 104°41.416W | 18/08/2002 |
| 9 | <i>Q. conzattii</i> | Ferrería, Dgo | 2026 | 23°56.506N 104°41.416W | 17/08/2002 |
| 10 | <i>Q. conzattii</i> | Km. 47, Dgo | 2035 | 23°44.16N 104°24.3W | 15/08/2003 |
| 11 | <i>Q. conzattii</i> | Boca de Mezquitil, Dgo | | 23°47.018N 104°25.244W | 11/11/2002 |
| 12 | <i>Q. conzattii</i> | Mezquitil, Dgo | 1913 | 23°26.941N 104°21.791W | 15/08/2003 |
| 13 | <i>Q. conzattii</i> | Tuxpan de Bolaños, Jal | 2094 | 21°53.163N 103°50.515W | 09/11/2002 |
| 14 | <i>Q. conzattii</i> | Tuxtepec, Oax | | | 06/08/2002 |
| 15 | <i>Q. conzattii</i> | R. Diego, Oax | | | 05/08/2002 |

De cada árbol se colectaron ramas con hojas maduras, evitando aquellas que presentaran daños por herbivoría. También se colectaron tres ejemplares de herbario por población. Todo el material botánico fue prensado y secado. En total se colectaron 325 árboles.

Para cada individuo se midieron una serie de variables sobre la morfología foliar en 10 a 20 hojas por individuo (Tabla 2). Para determinar si existe diferenciación morfológica intraespecífica en las poblaciones de *Q. conzattii* y *Q. eduardii* se realizaron análisis de varianza anidados en cada una de las especies para identificar diferencias significativas entre poblaciones, entre individuos dentro de poblaciones y al interior de los individuos (variación explicada por el error) (Sokal y Rohlf, 1999) para cada variable.

Para identificar cuales poblaciones presentan las diferencias se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer HSD. Para la especie *Q. conzattii* se realizó un análisis de varianza en donde se comparó a las poblaciones como grupos de acuerdo a las áreas de distribución a las que pertenecen, uno de ellos lo conforman

las poblaciones de la parte noroeste de la Sierra Madre Occidental (Durango y Jalisco) y el otro esta formado por las poblaciones de Oaxaca.

Para tratar de identificar posibles eventos de hibridación se realizaron varias pruebas estadísticas, las cuales incluyen una prueba de comparaciones múltiples para identificar si la población con morfología intermedia presenta diferencias con los progenitores potenciales, un análisis de varianza anidado para determinar si hay diferencias significativas entre especies, en poblaciones dentro de especies y en individuos dentro de poblaciones, y un análisis de componentes principales (JMP 3.1.6.2.) para observar los patrones de agrupación de los individuos colectados con base en la variación presentada, así como también para conocer los caracteres que aportan mayor variación. Se realizó también un análisis de función discriminante (SPSS 11.0 for Windows) que permitió identificar las características que discriminan a los individuos en ambas especies, así como clasificar a los individuos con morfología intermedia.

De igual manera se generó un dendrograma (JMP 3.1.6.2.) con base en los promedios poblacionales de todos los caracteres morfológicos, para evaluar como son las relaciones de similitud entre las poblaciones de los tres taxa estudiados.

Tabla 2. Caracteres morfométricos para el análisis morfológico.

| Variable: | |
|-----------|---|
| LL | Largo de lámina (mm) |
| LP | Largo del peciolo (mm) |
| LT | Largo total de hoja (mm) |
| AM | Ancho máximo de lámina (mm) |
| AA | Distancia del ápice al punto de la vena media que corresponde a la parte más ancha (mm) |
| 1/3 B | Ancho de la hoja al primer tercio basal (mm) |
| 1/3 A | Ancho de la hoja al primer tercio apical (mm) |
| NVI | No. de venas secundarias lado izquierdo de la lámina (adaxial) |
| NVD | No. de venas secundarias lado derecho de la lámina (adaxial) |
| AVD | Ancho de la vena media adaxial (base) (mm) |
| AVB | Ancho de la vena media abaxial (base) (mm) |
| DY | Diámetro de la yema (mm) |
| DPB | Diámetro del peciolo en su base (mm) |
| DPA | Diámetro del peciolo al inicio de la hoja (mm) |
| NAI | Número de aristas lado izquierdo |
| NAD | Número de aristas lado derecho |
| AM/LL | Ancho máximo/longitud total |
| AA/AM | Altura del ancho máximo al ápice/ancho máximo |
| AA/LL | Altura del ancho máximo al ápice/longitud total |
| LL/LT | Longitud de lámina/longitud total |

RESULTADOS

Variación morfológica intraespecífica de las especies *Quercus conzattii* y *Q.*

eduardii

Todas las poblaciones de *Q. conzattii* se diferencian morfológicamente ($P < 0.05$) (Tabla 3) en casi todas las variables analizadas, excepto en el diámetro del peciolo en su ápice (DPA) y la longitud de la lámina sobre la longitud total (LL/LT). También se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los individuos dentro de las poblaciones en todas las características analizadas (Tabla 3). En general, el porcentaje de variación explicada por el factor poblaciones es menor que la que explica el factor individuos dentro de poblaciones, sin embargo, el mayor porcentaje de variación esta siendo explicada por el error (que corresponde a la proporción de variación explicada al interior de los individuos).

Tabla 3. Resultados del análisis de varianza anidado para *Q. conzattii* en donde se muestra el porcentaje de variación explicada por los diferentes componentes de la varianza (entre poblaciones, en individuos dentro de poblaciones y el error que corresponde a la variación al interior de los individuos). ns = $P > 0.05$.

| Carácter | Componentes de la varianza | | Error |
|-----------------|----------------------------|-----------------------|---------------|
| | Población | Individuo [población] | |
| LL | 20.8 | 31.4 | 47.8 |
| LP | 17.4 | 39.3 | 43.3 |
| LT | 21.1 | 31.9 | 47.0 |
| AM | 30.5 | 30.4 | 39.1 |
| AA | 12.0 | 28.3 | 59.7 |
| I/3 B | 24.6 | 33.9 | 41.5 |
| I/3 A | 30.2 | 29.5 | 40.3 |
| NVI | 19.8 | 28.0 | 52.2 |
| NVD | 20.9 | 27.9 | 51.2 |
| AVD | 06.5 | 17.3 | 76.2 |
| AVB | 02.6 | 24.8 | 72.6 |
| DY | 12.1 | 20.1 | 67.8 |
| DPB | 03.2 | 25.6 | 71.2 |
| DPA | 03.3 ns | 37.1 | 59.6 |
| NAI | 40.0 | 29.7 | 30.3 |
| NAD | 41.1 | 29.0 | 29.9 |
| AM/LL | 18.6 | 28.9 | 52.5 |
| AA/AM | 09.6 | 16.5 | 73.9 |
| AA/LL | 03.2 | 17.8 | 79.0 |
| LL/LT | 00.6 ns | 09.2 | 90.2 |
| Promedio | 16.9 % | 26.8 % | 56.2 % |

Los resultados de la prueba de comparaciones múltiples entre los valores promedio de las diferentes poblaciones de *Q. conzattii* indican que la diferenciación morfológica entre las poblaciones de Durango y Jalisco con respecto a las de Oaxaca, no es muy consistente, ya que de las dos poblaciones de Oaxaca, solamente la población Rancho Diego, se diferencia de las demás en 8 de los 20 caracteres analizados, pero además comparte caracteres con Tuxpan de Bolaños, Jalisco, mientras que Tuxtepec, Oaxaca es diferente de las demás poblaciones en 4 de 20 caracteres por lo que es muy parecida a las poblaciones de Durango (Apéndice I).

Al comparar las poblaciones de *Q. conzattii* agrupándolas en los dos centros de distribución, Oaxaca, contra Durango y Jalisco se encontró que 15 de 20 caracteres analizados presentan diferencias significativas, sin embargo, como vemos, la

diferenciación no es completa entre las poblaciones de ambos centros de distribución (Tabla 4).

Tabla 4. Comparación de promedios, error estándar y valores de F obtenidos del Análisis de varianza de 1 vía donde se muestran los caracteres en los cuales los grupos de poblaciones de *Q. conzattii* de Durango y Jalisco versus Oaxaca presentan diferencias significativas ($ns = P > 0.05$).

| Variables | Dgo/Jal | | Oax | | F | |
|-----------|----------|--------|----------|--------|--------|----|
| | Promedio | | Promedio | | | |
| LL | 105.15 | ±1.07 | 100.70 | ±0.61 | 11.47 | |
| LP | 11.04 | ±0.24 | 10.59 | ±0.09 | 3.86 | |
| LT | 116.31 | ±1.27 | 111.31 | ±0.66 | 12.09 | |
| AM | 83.73 | ±1.01 | 73.64 | ±0.53 | 76.24 | |
| AA | 46.90 | ±0.68 | 46.32 | ±0.35 | 0.58 | ns |
| 1/3 B | 67.45 | ±0.87 | 62.67 | ±0.45 | 23.53 | |
| 1/3 A | 78.93 | ±0.97 | 68.09 | ±0.50 | 97.84 | |
| NVI | 10.35 | ±0.06 | 9.52 | ±0.03 | 131.44 | |
| NVD | 10.36 | ±0.06 | 9.57 | ±0.03 | 117.80 | |
| AVD | 1.19 | ±0.01 | 1.02 | ±0.00 | 86.89 | |
| AVB | 1.94 | ±0.01 | 1.95 | ±0.00 | 0.28 | ns |
| DY | 1.65 | ±0.03 | 2.13 | ±0.01 | 35.75 | |
| DPB | 2.83 | ±0.02 | 2.78 | ±0.01 | 3.23 | ns |
| DPA | 1.89 | ±0.01 | 1.88 | ±0.00 | 0.27 | ns |
| NAI | 10.26 | ±0.16 | 5.38 | ±0.08 | 714.52 | |
| NAD | 10.57 | ±0.16 | 5.43 | ±0.08 | 771.06 | |
| AM/LL | 0.79 | ±0.004 | 0.73 | ±0.002 | 140.51 | |
| AA/AM | 0.56 | ±0.008 | 0.64 | ±0.004 | 64.41 | |
| AA/LL | 0.44 | ±0.004 | 0.46 | ±0.002 | 7.48 | |
| LL/LT | 0.90 | ±0.010 | 0.90 | ±0.005 | 0.13 | ns |

Las poblaciones de *Q. eduardii* también presentaron diferencias significativas en todas las variables excepto en la longitud de la lámina sobre la longitud total (LL/LT). También existen diferencias significativas en todas las variables en el nivel de individuos entre poblaciones, excepto para el caso de la altura del ancho máximo al ápice sobre la longitud de lámina (AA/LL) y la longitud de la lámina sobre la longitud total de la hoja (LL/LT) (Tabla 5). También se puede observar que al igual que en *Q. conzattii*, en *Q. eduardii*, en promedio, un menor porcentaje de la variación es explicada por el factor poblaciones, mientras que individuos dentro de poblaciones explica más variación que el factor anterior. De la misma forma, de los tres componentes analizados el error está explicando el mayor porcentaje de variación.

Tabla 5. Resultados del análisis de varianza anidado para *Q. eduardii* en donde se muestra el porcentaje de variación explicado por los diferentes componentes de la varianza analizados, (entre poblaciones, en individuos dentro de poblaciones y el error que corresponde a la variación al interior de los individuos). ns = $P > 0.05$.

| Carácter | Componentes de la varianza | | |
|-----------------|----------------------------|-----------------------|---------------|
| | Población | Individuo [población] | Error |
| LL | 53.8 | 26.0 | 20.2 |
| LP | 08.8 | 49.9 | 41.3 |
| LT | 52.0 | 25.9 | 22.1 |
| AM | 40.7 | 31.6 | 27.7 |
| AA | 31.5 | 24.5 | 44.0 |
| 1/3 B | 34.0 | 36.2 | 29.8 |
| 1/3 A | 47.0 | 28.6 | 24.4 |
| NVI | 41.0 | 23.5 | 35.5 |
| NVD | 41.7 | 23.6 | 34.7 |
| AVD | 08.8 | 23.1 | 68.1 |
| AVB | 04.7 | 10.8 | 84.5 |
| DY | 08.7 | 18.7 | 72.6 |
| DPB | 09.0 | 13.6 | 77.4 |
| DPA | 03.5 | 14.0 | 82.5 |
| NAI | 13.5 | 40.5 | 46.0 |
| NAD | 13.7 | 46.2 | 40.1 |
| AM/LL | 12.6 | 13.3 | 74.1 |
| AA/AM | 30.0 | 22.3 | 47.7 |
| AA/LL | 04.7 | 06.8 ns | 88.5 |
| LL/LT | 00.2 ns | 59.0 ns | 40.8 |
| Promedio | 22.9 % | 26.9 % | 50.1 % |

El análisis de comparaciones múltiples indica que las poblaciones, de *Q. eduardii* son muy heterogéneas, ya que todas ellas presentan caracteres en los cuales difieren de las demás poblaciones. Entre las poblaciones que presentan mayores diferencias está la población de La Michilia, Durango, con nueve caracteres distintos y las poblaciones de Tuxpan, Jalisco y Súchil, Durango con ocho caracteres (Apéndice I).

Análisis morfológico de la posible hibridación entre *Quercus conzattii* y *Q. eduardii*.

Para analizar los probables eventos de hibridación que involucran a las especies *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, se encontró que existe una clara diferenciación en la morfología de las poblaciones de *Q. eduardii* con respecto a las poblaciones de *Q. conzattii*. En general, *Q. eduardii* tiene hojas y pecíolos pequeños, en comparación con

Q. conzattii cuyas hojas y peciolo son mucho más grandes. El número de venas del lado izquierdo y del lado derecho (NVI y NVD) se comportan de manera semejante en ambas especies, es decir, las diferencias no son tan marcadas como en las características de longitud y ancho de las hojas y longitud de peciolo. El número de aristas del lado derecho y lado izquierdo (NAD y NAI), se comportan de manera semejante, en *Q. eduardii* el número de aristas es muy homogéneo en todas las poblaciones, pero en *Q. conzattii*, las poblaciones de Jalisco y Oaxaca incrementan el número de aristas. Las variables de proporción del ancho máximo sobre la longitud de lámina (AM/LL), la altura del ancho máximo al ápice sobre el ancho máximo (AA/AM) y la altura del ancho máximo al ápice sobre la longitud de lámina (AA/LL) también muestran una diferenciación entre ambas especies, solamente la variable de la proporción de la longitud de la lámina sobre la longitud total (LL/LT) no presentó diferencias en ambas especies (Apéndice I).

La prueba Tukey-Kramer (comparaciones múltiples) también indicó que el taxa intermedio presenta una morfología intermedia entre ambas especies en 13 de los 20 caracteres morfológicos analizados (Apéndice I). Y solo es igual a alguna o ambas especies potencialmente progenitoras en seis caracteres, en el carácter número de venas del lado derecho y lado izquierdo (NVD y NVI), la altura del ancho máximo al ápice sobre la longitud total (AA/LT) y la longitud de la lámina sobre la longitud total (LL/LT) el taxa intermedio es muy parecido a ambas especies, en las variables número de aristas del lado derecho e izquierdo (NAD y NAI) éste tiene mayor similitud con *Q. conzattii* (Apéndice I).

Todas las variables morfométricas presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en los diferentes componentes de la varianza analizados (Tabla 6) en un análisis de varianza anidado. En el factor especie (*Q. conzattii*, *Q. eduardii* y taxa intermedio),

se encontró que solo las características que no presentan diferencias significativas entre estas especies son el número de venas del lado izquierdo (NVI), el número de venas del lado derecho (NVD) y la variable de proporción longitud de lámina sobre la longitud total (LL/LT). En el factor poblaciones anidadas dentro de especie, la única variable que no presenta diferencias significativas es la variable de la proporción de la longitud de la lámina sobre longitud total (LL/LT), mientras que en el factor individuos anidados dentro de poblaciones, las variables que no presentan diferencias significativas son la altura del ancho máximo al ápice sobre la longitud de la lámina (AA/LL), así como la longitud de la lámina sobre la longitud total (LL/LT). Como podemos observar, la variable de proporción la longitud de lámina sobre la longitud total (LL/LT), es la única variable en común en los tres factores que no presenta diferencias estadísticamente significativas.

En promedio, el mayor porcentaje de variación es explicada por el nivel de especie, el error (variación dentro de un individuo), está explicando la siguiente mayor proporción de variación, mientras que individuos dentro de poblaciones y poblaciones dentro de especies, explican muy poca variación (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de la varianza anidado donde se muestran los porcentajes de variación obtenidos por los diferentes componentes de la varianza analizados (entre especies, poblaciones dentro de especies e individuos dentro de poblaciones) para las especies *Quercus conzattii*, *Q. eduardii* y taxa con morfología intermedia (ns = $P > 0.05$).

| Carácter | Componentes de la varianza | | | | Error |
|-----------------|----------------------------|--------------------|----------------------|----|---------------|
| | Especie | Población[Especie] | Individuo[Población] | | |
| LL | 63.9 | 05.1 | 06.5 | | 24.5 |
| LP | 52.8 | 05.6 | 15.2 | | 26.4 |
| LT | 60.6 | 04.7 | 06.4 | | 28.3 |
| AM | 70.0 | 05.1 | 05.5 | | 19.4 |
| AA | 41.7 | 04.3 | 09.8 | | 44.2 |
| 1/3 B | 69.0 | 04.3 | 06.4 | | 20.3 |
| 1/3 A | 70.0 | 05.1 | 05.4 | | 19.5 |
| NVI | 13.2 | ns | 25.1 | | 42.3 |
| NVD | 13.1 | ns | 25.7 | | 42.0 |
| AVD | 47.5 | | 03.4 | | 38.9 |
| AVB | 65.5 | | 01.0 | | 28.0 |
| DY | 35.1 | | 05.3 | | 47.4 |
| DPB | 71.4 | | 00.7 | | 23.8 |
| DPA | 64.8 | | 00.0 | | 28.8 |
| NAI | 23.4 | | 24.4 | | 26.8 |
| NAD | 23.8 | | 25.0 | | 26.4 |
| AM/LL | 62.6 | | 04.1 | | 26.7 |
| AA/AM | 44.2 | | 08.0 | | 40.2 |
| AA/LL | 06.3 | | 03.1 | | 83.4 |
| LL/LT | 00.0 | ns | 00.2 | ns | 93.1 |
| Promedio | 44.9 % | | 08.0 % | | 36.5 % |

En cuanto al porcentaje de variación explicada por las variables, un análisis de componentes principales encontró que 91.42 % de la variación está siendo explicada por los cuatro primeros componentes principales, el primer componente explica el 71.26 % de la variación y las variables que están más relacionadas con esta variación son el ancho máximo (AM), el ancho al primer tercio basal (1/3 B), la longitud de la lámina (LL), la longitud total (LT) y el diámetro del pecíolo en su base (DPB). El segundo componente explica el 7.8 % y las variables que mayor variación aportan son el número de venas del lado derecho (NVD) y del lado izquierdo (NVI), así como el número de aristas del lado derecho (NAD) y del lado izquierdo (NAI). En el tercer componente se explica un 6.4 % y las variables más relacionadas son el número de aristas del lado derecho e izquierdo (NAD y NAI), seguido por el número de venas del lado izquierdo y derecho (NVI y NVD), el cuarto componente explica el 5.9 % y la variable que aporta

mayor variación es una variable de proporción, el largo de lámina sobre el largo total (LL/LT) (Tabla 7).

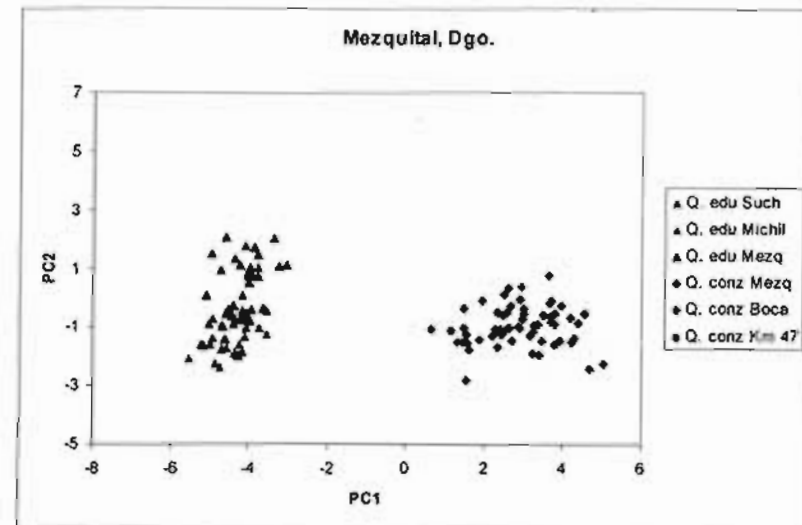
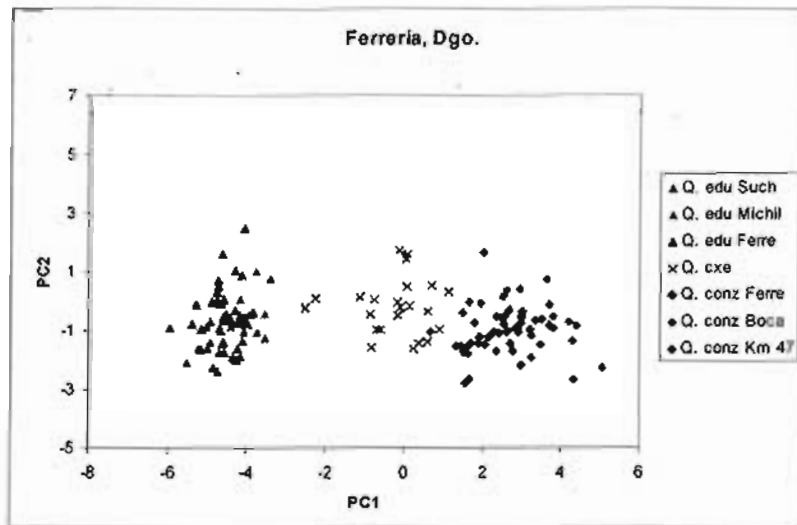
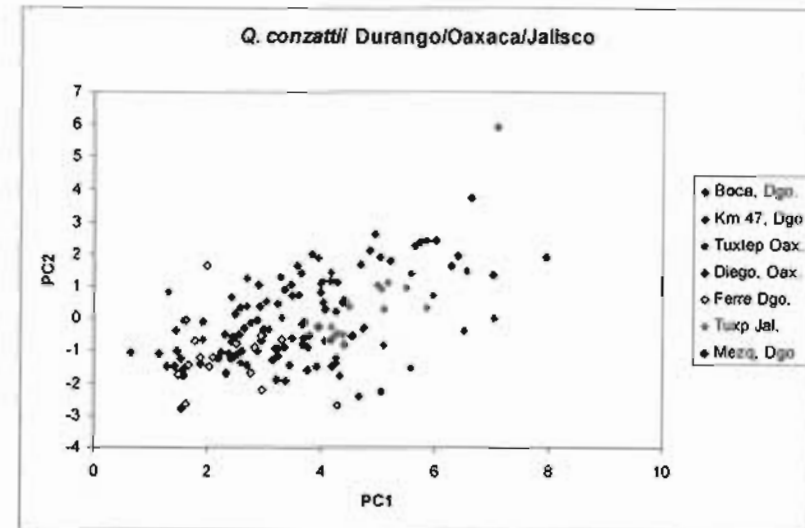
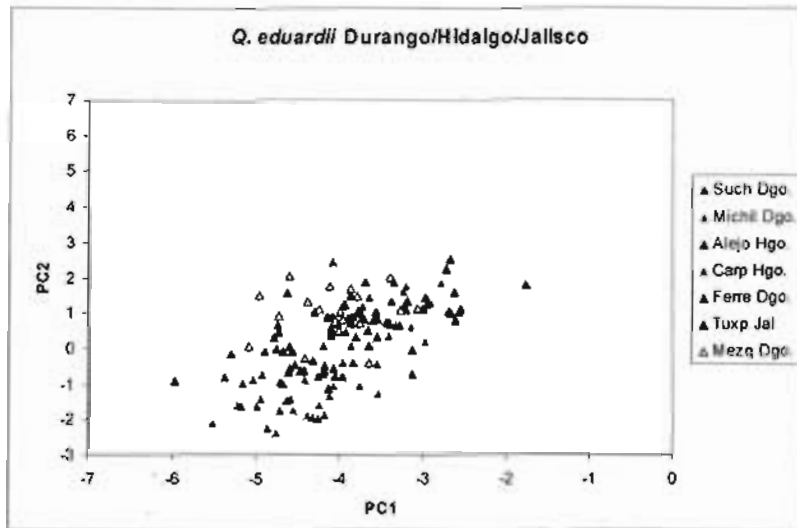
Tabla 7. Resultados del análisis de componentes principales, muestra los cuatro eigen vectores cuyo eigen valor es mayor a 1.

| Componentes principales | | | | |
|-------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Eigen Valor: | 14.254 | 1.5619 | 1.282 | 1.187 |
| Porcentaje: | 71.2699 | 7.8097 | 6.4102 | 5.9352 |
| Porcentaje acumulado: | 71.2699 | 79.0796 | 85.4898 | 91.425 |
| Eigen vectores: | | | | |
| LL | 0.25806 | -0.00537 | 0.07525 | 0.08092 |
| LP | 0.22607 | -0.09029 | 0.21384 | -0.30358 |
| LT | 0.25862 | -0.01483 | 0.09451 | 0.03606 |
| AM | 0.26041 | -0.01388 | 0.00267 | 0.00713 |
| AA | 0.24647 | 0.01244 | 0.15116 | 0.05421 |
| I3 B | 0.25915 | -0.03219 | 0.0242 | 0.01312 |
| I3 A | 0.26041 | -0.01282 | -0.01233 | 0.00874 |
| NVI | 0.16374 | 0.48305 | 0.4045 | 0.08285 |
| NVD | 0.16364 | 0.48389 | 0.40426 | 0.07261 |
| AVD | 0.23937 | -0.06199 | -0.13207 | -0.03273 |
| AVB | 0.24865 | -0.17176 | -0.00876 | 0.03393 |
| DY | 0.20532 | -0.26738 | 0.15175 | 0.15607 |
| DPB | 0.25653 | -0.12153 | -0.00402 | 0.06093 |
| DPA | 0.24947 | -0.13805 | -0.03266 | 0.13277 |
| NAJ | 0.17117 | 0.38211 | -0.42534 | -0.27908 |
| NAD | 0.17259 | 0.38387 | -0.4254 | -0.27705 |
| AM/LL | 0.24807 | -0.10394 | -0.12424 | -0.08359 |
| AA/AM | -0.23376 | 0.14083 | 0.19425 | -0.03505 |
| AA/LL | -0.18186 | 0.05166 | 0.21247 | -0.21123 |
| LL/LT | -0.02472 | 0.23924 | -0.29532 | 0.79323 |

Posteriormente se graficaron los valores que obtuvieron los individuos en los primeros cuatro componentes principales. Los componentes principales 1 y 2 (Fig. 3), 1 y 3 (Fig. 4) y 1 y 4 (Fig. 5) separan las poblaciones analizadas en grupos diferentes, uno de ellos formado por los individuos de *Q. conzattii*, otro con los individuos de *Q. eduardii* y además se pueden distinguir individuos intermedios entre estos grupos.

El grupo formado por las poblaciones de *Q. eduardii* se agrupan muy bien y esta distribución está mayormente influida por el componente principal 1. *Quercus conzattii* se agrupa un poco más disperso, siendo los individuos de las poblaciones de Tuxpan de Bolaños, Jalisco y Rancho Diego, Oaxaca los que se observan más separados.

En los tres sitios en los cuales las dos especies se encuentran en simpatria, Ferrería, Durango, Mezquital, Durango y Tuxpan de Bolaños, Jalisco, se observa una clara diferenciación entre ambas especies. Solamente en el sitio Ferrería, Durango se distinguen individuos intermedios entre estas dos especies, para los otros dos sitios, Mezquital, Durango y Tuxpan de Bolaños, Jalisco los gráficos no muestran individuos intermedios.



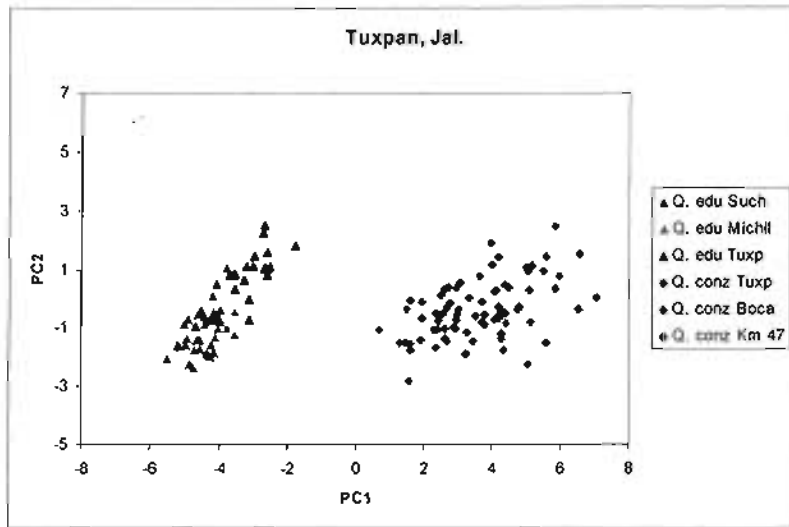
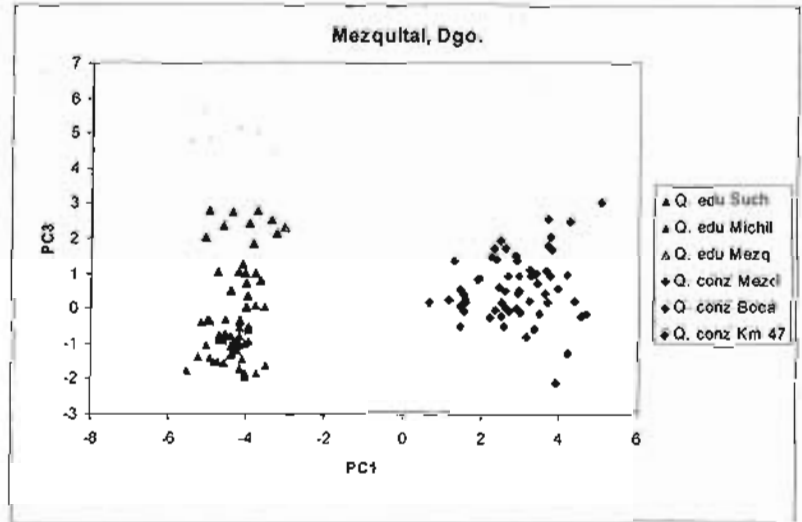
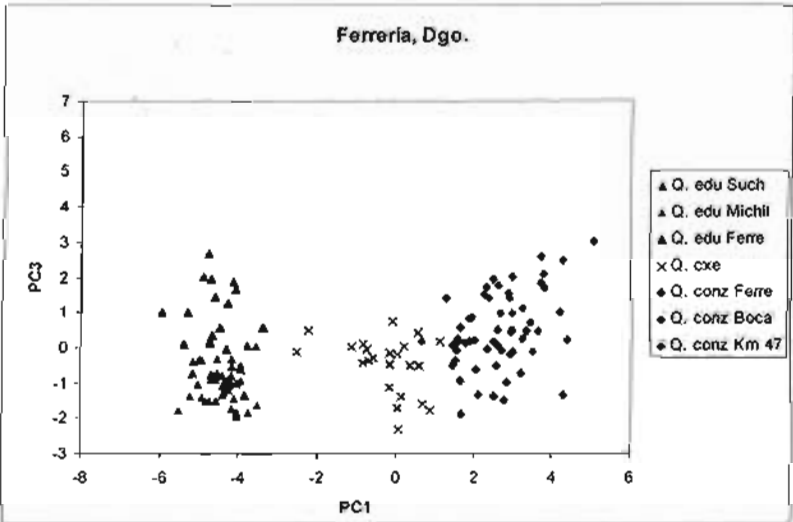
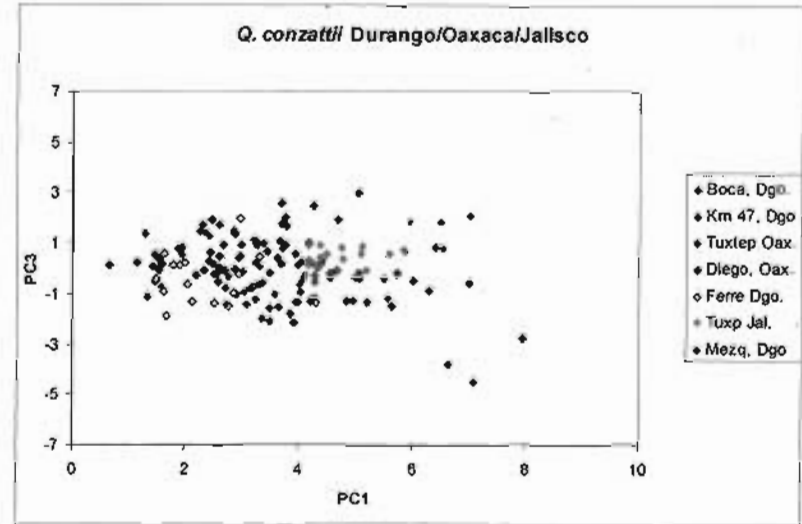
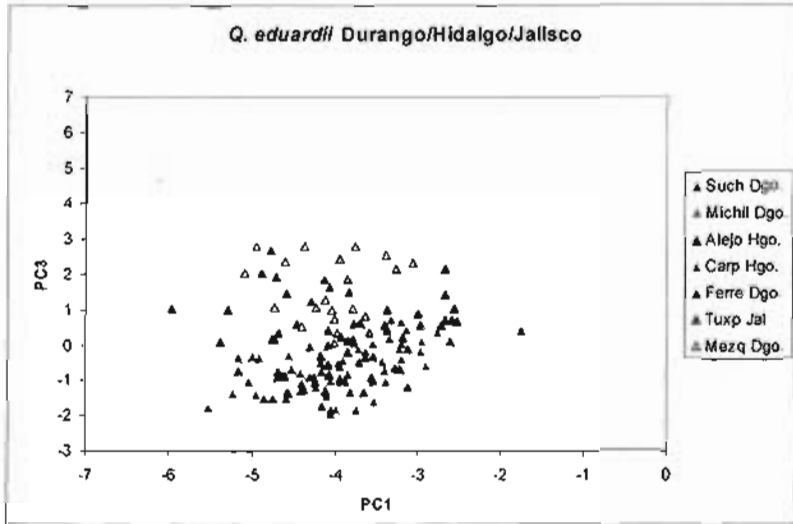


Fig. 3. Gráficos de los valores individuales (scores) del componente principal 1 y componente principal 2, para *Q. eduardii*, *Q. conzattii* y para los sitios en los cuales se encuentran en simpatria ambas especies.



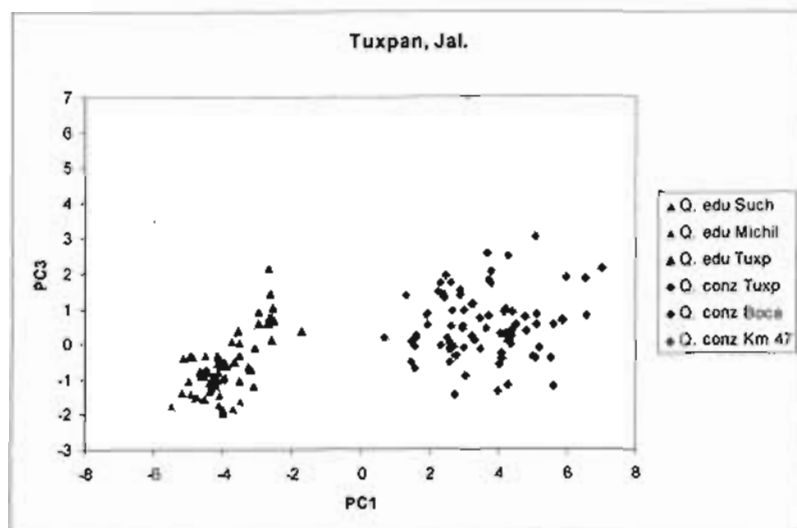
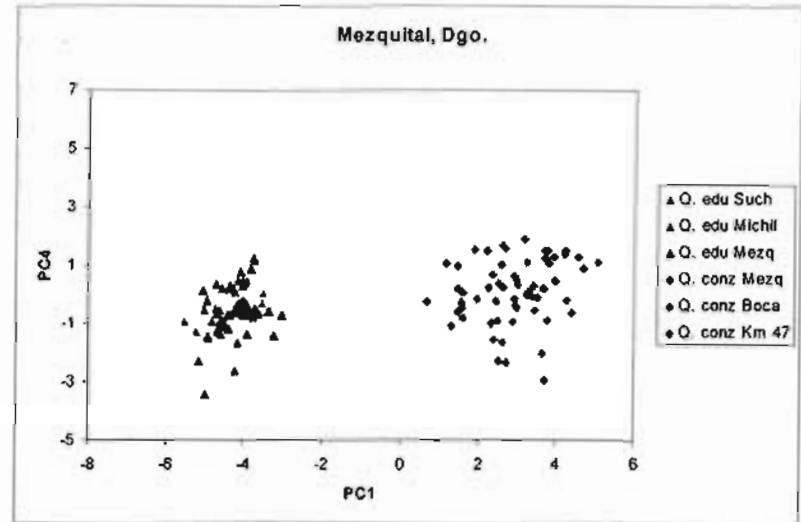
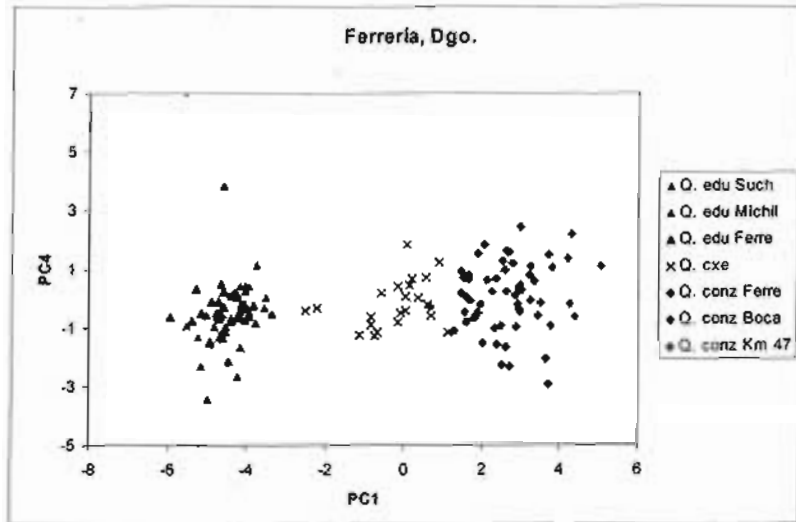
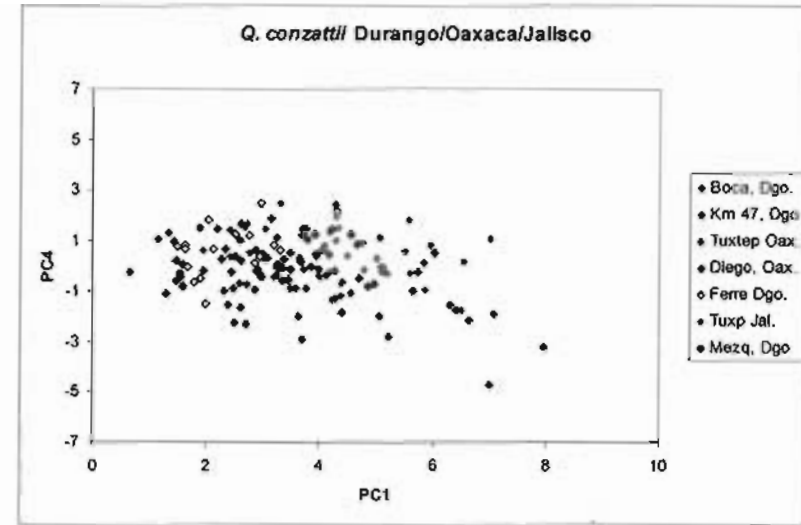
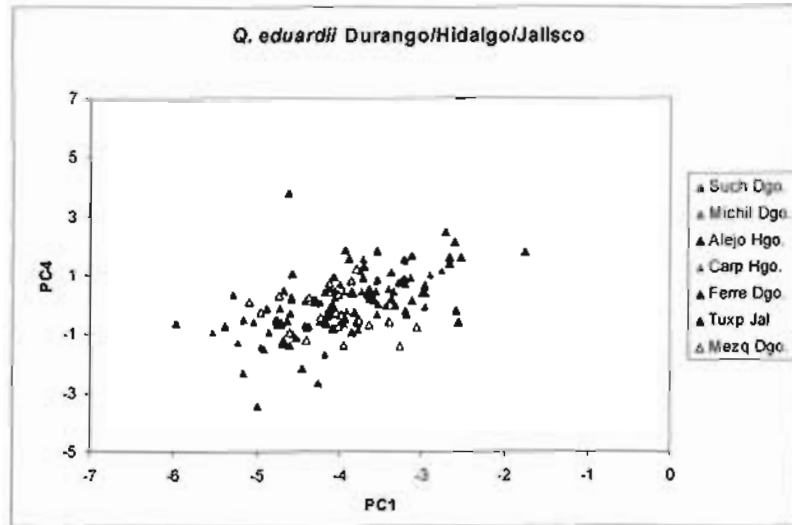


Fig. 4. Gráficos de los valores individuales (scores) del componente principal 1 y componente principal 3, para *Q. eduardii*, *Q. conzattii* y para los sitios en los cuales se encuentran en simpatria ambas especies.



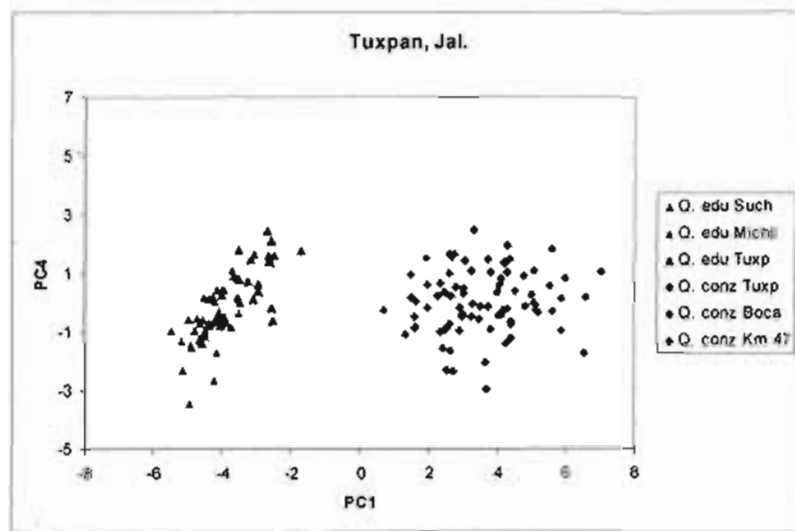


Fig. 5. Gráficos de los valores individuales (scores) del componente principal 1 y componente principal 4, para *Q. eduardii*, *Q. conzattii* y para los sitios en los cuales se encuentran en simpatria ambas especies.

Para el análisis de función discriminante, se graficaron las frecuencias de los valores individuales generados por la función discriminante para ver la distribución que obtienen los individuos en las diferentes poblaciones, podemos observar que al igual que en el análisis de componentes principales, las especies *Q. conzattii* y *Q. eduardii* toman valores opuestos en el eje de las x (Figs. 6 y 7) y solamente en un sitio, Ferrería, Durango, de los tres en los cuales las especies se encuentran en simpatria, los valores individuales presentan una distribución continua en el eje de las x, mientras que en los otros sitios Mezquital, Durango y Tuxpan, Jalisco *Q. conzattii* y *Q. eduardii* mantienen una distribución bimodal (Fig. 8). Los coeficientes de la función canónica estandarizada (Tabla 8) nos muestran que la variable más importante para realizar esta discriminación entre ambas especies es la longitud de la lámina (LL), posteriormente la longitud total (LT) y la variable de proporción ancho máximo de la lámina sobre la longitud de la lámina (AM/LL).

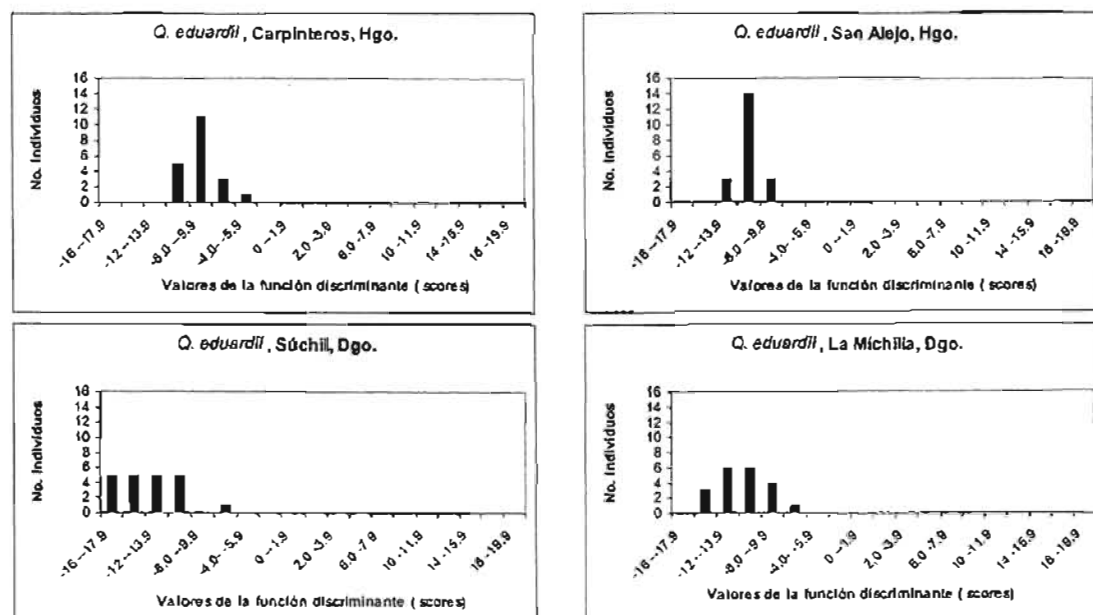


Fig. 6. Distribución de las frecuencias obtenidas por los valores individuales de la función discriminante, en las diferentes poblaciones de *Q. eduardii*.

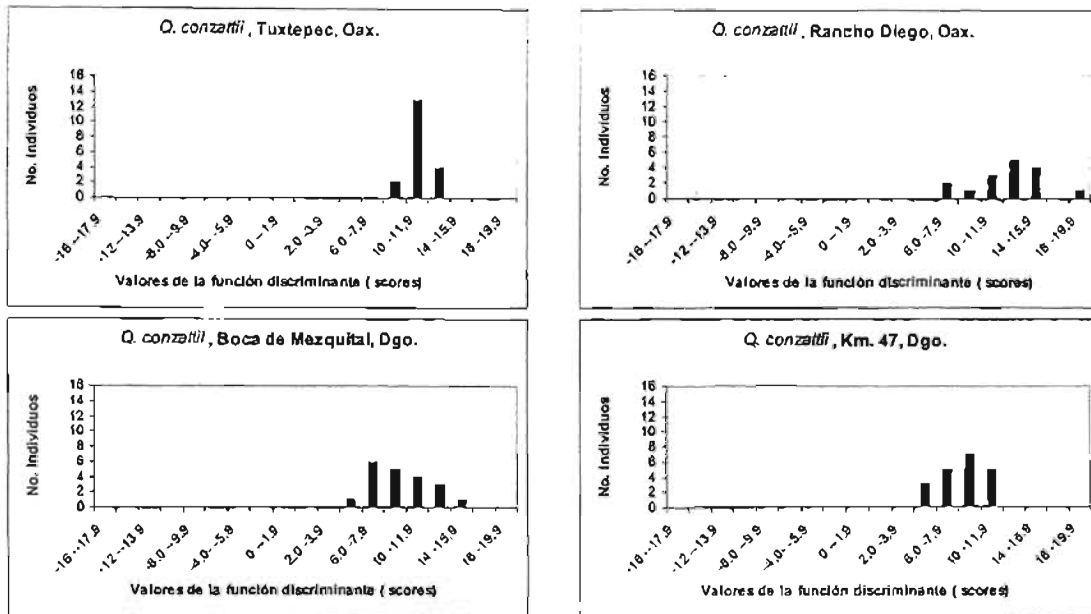


Fig. 7. Distribución de las frecuencias obtenidas por los valores individuales de la función discriminante, en las diferentes poblaciones de *Q. conzattii*.

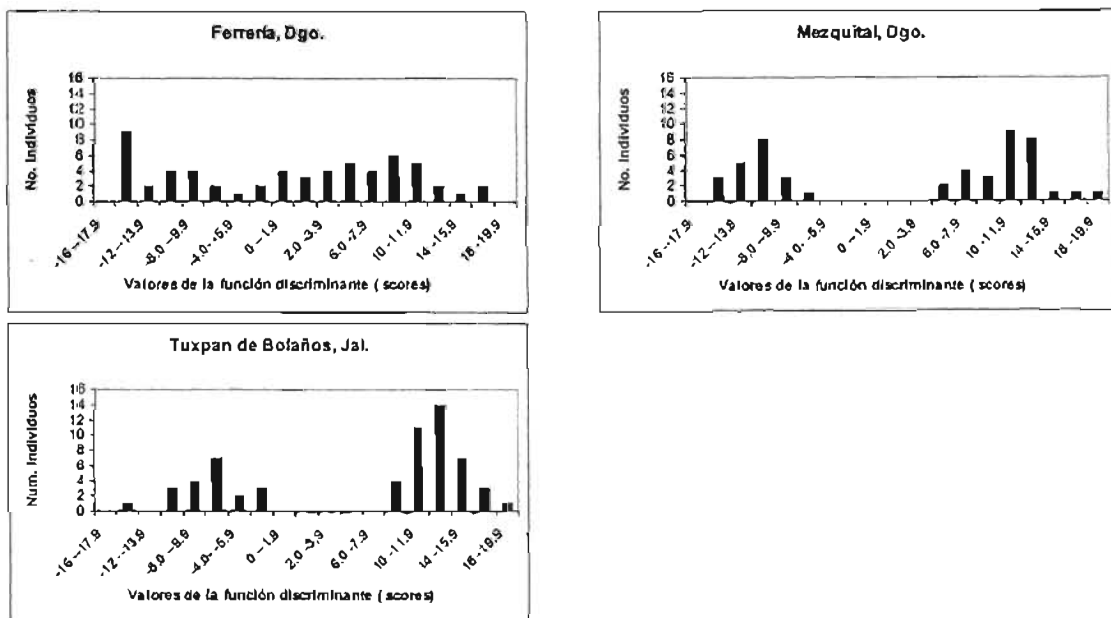


Fig. 8. Distribución de las frecuencias obtenidas por los valores individuales de la función discriminante, en las diferentes localidades donde *Q. eduardii* y *Q. conzattii* se encuentran en simpatria.

Tabla .8 Coeficientes de la función canónica estandarizada.

| | Función I |
|-------|-----------|
| LL | 12.001 |
| LP | 0.626 |
| LT | -6.182 |
| AM | -3.791 |
| AA | -0.626 |
| 1/3 B | 1.009 |
| 1/3 A | -2.427 |
| AM/LL | 4.554 |
| AA/AM | 2.093 |
| AA/LL | -2.645 |
| LL/LT | 0.161 |
| NVI | 0.28 |
| NVD | -0.411 |
| AVD | 0.447 |
| AVB | 0.453 |
| DY | 0.234 |
| DPB | 0.115 |
| DPA | -0.94 |

El análisis de clusters con base en similitud de promedios mostró que las poblaciones estudiadas forman dos grandes grupos, uno de ellos conformado por las poblaciones de *Q. eduardii* y el taxa con morfología intermedia y el otro grupo formado por las poblaciones de *Q. conzattii*. A su vez en el grupo de *Q. eduardii* se distingue un grupo conformado por la población de Carpinteros, Hidalgo y la población de Tuxpan de Bolaños, Jalisco, mientras que la población de San Alejo, Hidalgo se agrupa con las de Durango, el taxa con morfología intermedia se encuentra dentro del grupo, pero en una rama distinta, que además es una rama muy larga, (distancia entre ellos es muy grande), lo cual indica que aunque está dentro del grupo de *Q. eduardii*, es un tanto diferente a éstos. En cuanto al grupo de *Q. conzattii*, la población de Tuxpan de Bolaños, Jalisco y la de Rancho Diego, Oaxaca se juntan en un grupo, mientras que Tuxtepec, Oaxaca se une al grupo de las poblaciones de Durango (Fig. 9).

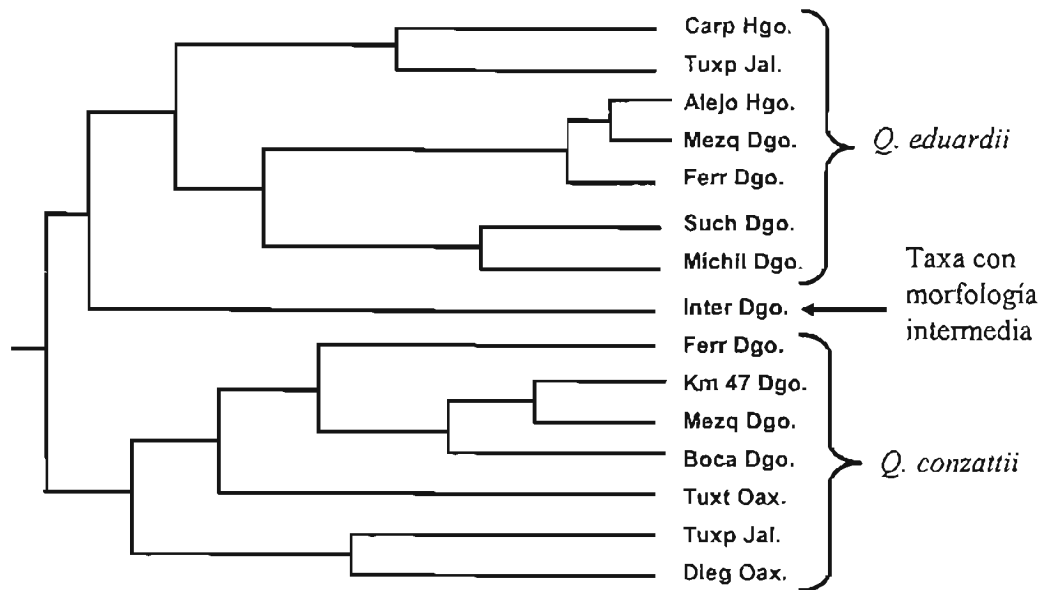


Fig. 9. Dendrograma que muestra las relaciones de similitud morfológica entre las especies *Q. conzattii*, *Q. eduardii* y el taxa con morfología intermedia.

A partir de la información fenológica recopilada en los diferentes recorridos realizados durante el periodo de agosto del 2002 a agosto del 2003, fue posible observar que en el sitio Ferrería, Durango la floración de *Q. conzattii*, *Q. eduardii* y el taxa con probable origen híbrido se traslapan temporalmente, por lo que es posible que pueda llevarse a cabo la hibridación e incluso retrocruzamiento. Sin embargo, en los otros sitios en donde las dos especies se encuentran en simpatria, Mezquital, Durango y Tuxpan de Bolaños Jalisco, no fue posible determinar si los periodos de floración coinciden debido a que durante las visitas realizadas no hubo floración. Las poblaciones de *Q. eduardii* y *Q. conzattii* que se encuentran en Hidalgo y Oaxaca aparentemente no produjeron flores en el periodo en que se realizaron las visitas.

DISCUSIÓN

Variación morfológica intraespecífica en *Quercus conzattii* y *Q. eduardii*

El género *Quercus* se caracteriza por presentar una gran variabilidad morfológica (Jones, 1986), parte de esta variabilidad está expresada en las hojas, las cuales presentan amplios patrones de variación. Para el caso de *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, se encontró que en ambas especies existe variación significativa en todos los factores analizados, entre poblaciones, en individuos dentro de poblaciones, así como al interior del individuo (término error), en casi todas las características morfológico-foliare, de hecho, para ambas especies, se encontró que la mayor proporción de la variación está siendo explicada al interior de los individuos, lo cual concuerda con los resultados obtenidos para *Q. petraea*, en Italia (Bruschi *et al.*, 2003a), solo que para *Q. petraea*, los siguientes componentes que explican mayor proporción de la variación es entre poblaciones, seguido de individuos dentro de poblaciones, y en nuestro caso es de manera inversa.

Para las poblaciones de *Q. conzattii* provenientes de Oaxaca, se encontró que la población de Rancho Diego, se diferencia de las demás poblaciones colectadas, en 8 de los 20 caracteres morfológicos analizados. Sin embargo, la población de Tuxtepec solo es diferente de las demás en 4 de estos 20 caracteres, lo cual indica que ésta última es muy parecida a las poblaciones de *Q. conzattii* de la parte noroeste de la distribución, y en el dendrograma generado con base en similitud de promedios, la población de Tuxtepec, Oaxaca muestra claramente su afinidad morfológica con las poblaciones de Durango, mientras que Rancho Diego, Oaxaca no se asocia con las poblaciones de Durango, pero si con Tuxpan de Bolaños, Jalisco. Sin embargo, en el análisis en el cual se comparan como grupos a las poblaciones de Durango y las de Oaxaca, 15 caracteres mostraron diferencias significativas.

De acuerdo con la distribución bicéntrica que esta especie presenta (Spellenberg y Bacon, 1996), se esperaba que las poblaciones de ambas áreas de distribución presentaran mayor diferenciación debido a las bajas probabilidades de que exista flujo génico entre ellas. Sin embargo, no podemos dejar de lado, la posibilidad de que estos caracteres morfológicos estén siendo respondiendo a factores ambientales, lo cual podría generar patrones morfológicos parecidos en áreas de distribución muy alejadas.

El hecho de que gran parte de los caracteres morfológicos examinados se encuentren compartidos entre estas poblaciones, también puede estar reflejando la presencia de genes relictuales presentes en el acervo genético antes de la divergencia de las mismas (Bruschi *et al.*, 2000; Bruschi *et al.*, 2003b).

Para *Q. eduardii*, la variación morfológica observada en las características analizadas, muestra que es una especie ampliamente variable. Sin embargo, también es posible observar un patrón geográfico en el que las poblaciones de Durango presentan mayor afinidad morfológica y que a su vez las poblaciones de Hidalgo y la de Jalisco guardan cierta correspondencia en caracteres de longitud y ancho de hoja, así como en el número de venas en ambos lados de la hoja. Este patrón morfológico también es posible observarlo en el dendrograma (similitud de promedios), en donde se agrupa por un lado Carpinteros, Hidalgo con Tuxpan de Bolaños, Jalisco, mientras que San Alejo, Hidalgo se une al grupo de las poblaciones de Durango.

Se ha sugerido que la variación fenotípica está sujeta a selección natural y aparentemente es el resultado de una respuesta adaptativa a diferentes condiciones ambientales, lo cual puede llegar a expresarse en una estructura geográfica de ciertos caracteres morfológicos (Bruschi *et al.*, 2003b; González-Rodríguez y Oyama, 2005).

Para las dos especies analizadas en este capítulo, se encontró que la mayor parte de la variación se encuentra al interior de los individuos, enseguida al interior de las poblaciones y una menor parte de la variación es explicada entre poblaciones.

Cuando gran parte de la variación fenotípica se explica a nivel intra individual, se sugiere que este patrón puede ser resultado de inestabilidad del desarrollo o bien de plasticidad fenotípica (Valladares *et al.*, 2002; González-Rodríguez y Oyama, 2005).

Como hemos visto, mientras *Q. conzattii* tiene una distribución un tanto restringida, *Q. eduardii* presenta una distribución geográfica continua, sin embargo, estas especies poseen tamaños poblacionales muy pequeños (Bacon y Spellenberg, 1996, M. L. Herrera, obs. pers.) lo cual probablemente también está contribuyendo a integrar una estructura muy local (a nivel de poblaciones), que se ve reflejado en el hecho de que gran parte de la proporción de la variación se explique al interior de las poblaciones.

Hibridación entre *Quercus conzattii* y *Q. eduardii*.

La hibridación interespecífica es un proceso importante en la evolución y especiación de las plantas, ya que ésta puede promover la evolución en diferentes formas (Rieseberg y Ellstrand 1993).

Debido a que la hibridación es una forma de recombinación genética, ésta genera nuevos genotipos que pueden exhibir heterocigosis, lo cual incrementa los niveles de diversidad genética (Rieseberg y Ellstrand 1993; Martinsen *et al.*, 2001).

En las especies aquí estudiadas, *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, se encontró que únicamente existe evidencia morfológica de hibridación en un sitio (Ferrería, Durango) de los tres que fueron muestreados en los que las especies *Q. conzattii* y *Q. eduardii* se encuentran juntas. En este sitio, los análisis estadísticos nos muestran claramente un conjunto de individuos que presentan características morfológicas intermedias entre

ambas especies, mientras que en los otros dos sitios, Mezquital, Durango y Tuxpan de Bolaños, Jalisco, las poblaciones se muestran como grupos separados, sin que logren distinguirse individuos con morfologías intermedias.

En una investigación reciente, González-Rodríguez *et al.* (2004a), encontraron que fenotípicamente es posible distinguir menor número de individuos con caracteres intermedios, ya que al realizar el análisis molecular de los mismos individuos, éste les permitió distinguir un mayor número de individuos de origen híbrido.

Por otro lado, también es probable que en los sitios en los que no se detectaron árboles con morfologías intermedias (Mezquital, Durango y Tuxpan de Bolaños, Jalisco) se estén llevando a cabo procesos de selección exógena negativa (ambiente-dependiente), lo cuales están actuando en contra de los genotipos híbridos (Arnold, 1997), y que en Ferrería no esté actuando este proceso, lo cual se vería reflejado en la sobrevivencia diferencial de genotipos híbridos en estos tres sitios.

También es posible que en Ferrería se haya roto el aislamiento reproductivo entre ambas especies, mientras que esto tal vez no ocurre en los otros sitios. El rompimiento de las barreras reproductivas entre especies se puede llevar a cabo cuando se alteran las condiciones naturales de los hábitats de las especies por alguna causa, entre ellas la perturbación, ya sea originada por el hombre o por fenómenos naturales, creándose así nuevos hábitats, los cuales son propicios para ser colonizados por individuos híbridos (Anderson, 1968).

El estrés ambiental, la disponibilidad de recursos, la herbivoría y otros factores pueden afectar la reproducción sexual a través de la reducción de la función masculina, femenina o ambas (Delph *et al.*, 1997; Williams *et al.*, 2001).

Williams *et al.*, (2001) proponen una hipótesis para *Q. gambelii* y *Q. grisea*, en la cual sugieren que la formación de zonas híbridas en este complejo, en algunos sitios,

es el resultado de la disminución de la función masculina en *Q. gambelii*, originada muy probablemente por estrés ambiental.

Tomando en cuenta que *Q. conzattii*, en su distribución noroeste del país, casi siempre se encuentra asociado a *Q. eduardii* (J. R. Bacon, com. pers.; M.L. Herrera, obs. pers.) es muy probable que, dado que en uno de estos sitios existe evidencia de hibridación (Spellenberg y Bacon, 1996 y datos aquí presentados), es probable que en otros sitios en los que se traslapen sus distribuciones también se esté llevando a cabo un intercambio de genes vía hibridación, por lo que es recomendable realizar un muestreo más extensivo para cada uno de estos sitios de contacto geográfico entre estas especies, así como también identificar si hay un solapamiento de los periodos de floración, proceso fundamental para que exista la hibridación, como ya lo vimos, para el sitio Ferrería, Durango, los periodos de floración de los tres taxa coinciden.

Además de la evidencia morfológico-foliar encontrada en esta investigación, la cual apoya la hipótesis de hibridación entre las especies *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, resultados semejantes fueron obtenidos para estas mismas especies, a partir de datos micromorfológicos (tricomas, ceras y estomas) (Scareli-Santos *et al.*, en prep.), los cuales revelan que el taxa que presenta morfología intermedia posee caracteres que se encuentran en ambas especies progenitoras, *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, como son el tipo de tricomas, ceras y estomas.

En la superficie abaxial (envez) *Q. conzattii* y el taxa con morfología intermedia poseen tricomas estipitados y cera tipo película, la cera de la hoja es tipo costra y los estomas están situados arriba del nivel de la hoja, en la superficie adaxial (haz) la cera de los tricomas simples es del tipo película en *Q. conzattii* y el taxa intermedio.

Además, el taxa con morfología intermedia presenta caracteres novedosos que no se encuentran en las especies progenitoras, lo que probablemente esté dando indicios

de una segregación transgresiva, (generación de caracteres extremos o novedosos a partir de la recombinación de dos líneas parentales vía procesos de hibridación), tales caracteres son, la cera de los estomas, que en el taxa intermedio es del tipo costra, mientras que para *Q. conzattii* y *Q. eduardii* es del tipo película en el envez, y en el haz la cera de los tricomas estrellados es del tipo película, distinta a las otras dos especies, que poseen cera tipo costra, de igual forma, la cera epicuticular de la hoja en el taxa intermedio es de tipo placas, mientras que en *Q. conzattii* y *Q. eduardii* es tipo costra y tipo película respectivamente (Apéndice II).

La hibridación transgresiva tiene un importante papel evolutivo, debido a que dichas adaptaciones extremas o novedosas podrían conferir ventajas adaptativas a los individuos transgresivos (Rieseberg *et al.*, 1999).

Las zonas híbridas raramente representan una sola generación, por lo general incluyen generaciones avanzadas de híbridos, retocruzas así como especies parentales. (Rieseberg y Ellstrand, 1993). El grupo de individuos con morfología intermedia presentan características afines con *Q. conzattii* y con *Q. eduardii*. De acuerdo al análisis de componentes principales predomina la afinidad de estos individuos con respecto hacia *Q. conzattii*. Scareli-Santos y colaboradores (en prep.) encuentran el mismo patrón en cuanto a tricomas, ceras y estomas. En contraste, el análisis de clusters, indica que los individuos con morfología intermedia tienen mayor afinidad con *Q. eduardii*, estas diferencias probablemente se deban a que, este último análisis además se generó con base en promedios poblacionales, y les da el mismo peso a todas las variables, mientras que en el análisis de componentes principales, está basado en valores individuales y algunas de las variables morfológicas están mas correlacionadas con la nueva variable generada (eigen vector).

De acuerdo a lo anterior podemos inferir que estos individuos con morfología intermedia son producto de eventos de hibridación, así como de retrocruzamiento con *Q. conzattii* y *Q. eduardii*.

A pesar de que los encinos son un grupo taxonómico en el que los eventos de hibridación son comunes, pocos son los trabajos que se han realizado para especies que no están estrechamente relacionadas, tal es el caso de *Q. suber* y *Q. ilex* en Marruecos (Belabbib, 2001), en las cuales se ha detectado un claro flujo génico a nivel de cloroplasto y mitocondria. En el caso de *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, dos especies de encinos mexicanos distantemente relacionadas, a partir de estudios morfológicos se demuestra la ocurrencia de hibridación (Bacon y Spellenberg, 1996 y datos aquí presentados), lo cual puede ser evidencia de que el sitio Ferrería, Durango, representa una zona de hibridación para estas especies.

Esta investigación aporta nuevos elementos en la evaluación tanto de la diversidad morfológica, como de la hibridación de *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, examinando 15 poblaciones, incluyendo individuos con morfología intermedia, así como también poblaciones de las diferentes áreas de distribución, tanto para *Q. conzattii*, como para *Q. eduardii*. Respecto a la diversidad morfológica encuentra que aunque son dos especies ampliamente variables, la mayor parte de esta diversidad se concentra al interior de las poblaciones, este patrón, probablemente es influido por el reducido tamaño poblacional de estas especies. En cuanto a la hibridación, se reportan nuevos caracteres micromorfológicos (tricomos, ceras y estomas), estos incluyen tanto compartidos, como únicos para el taxa con morfología intermedia.

Sin lugar a dudas, se requiere realizar estudios con marcadores genéticos para poder explicar mejor los patrones de variación geográfica e hibridación entre las dos

especies estudiadas. Actualmente, se vienen realizando investigaciones en este sentido, cuyos resultados preliminares se presentan en el Apéndice III.

CAPITULO II

Diferenciación morfológica entre dos especies estrechamente relacionadas, *Quercus conzattii* y *Quercus urbanii* (Subsección *Racemiflorae*, Fagaceae).

Resumen

Quercus conzattii y *Q. urbanii* (Sección *Lobatae*, subsección *Racemiflorae*) frecuentemente han sido tomados como una sola especie debido a la gran similitud morfológica que presentan. Sin embargo, existen algunas diferencias con base en las que se han distinguido como dos especies. *Q. urbanii* posee hojas muy grandes (más de 15 cm), las venas principal y secundarias son marcadamente impresas, las infrutescencias son muy largas (4-18 cm long.) y tienen de 8 a 20 bellotas. *Q. conzattii* posee hojas de menor tamaño (15 cm o menos), las venas principales y secundarias están menos marcadas en el haz de las hojas, las infrutescencias son más cortas (0.5 -6 cm long) y tienen de 1 a 8 bellotas. Ambas especies tienen una distribución bicéntrica, *Q. urbanii* se encuentra en los estados de Sinaloa, Durango, Estado de México y Guerrero, de los 1800 a 2200 m. *Q. conzattii* se encuentra en los estados de Durango, Zacatecas, Nayarit, Jalisco y Oaxaca de los 1700 a 2600 msnm.

El objetivo de este estudio es contribuir a aclarar si existe una diferenciación entre estas dos entidades taxonómicas con base en caracteres morfológicos de las hojas. Para lo cual se colectaron seis poblaciones de *Q. conzattii* y tres poblaciones de *Q. urbanii*, se tomaron al azar 20 árboles adultos de cada una de ellas, para cada árbol se midieron varios caracteres en 10 hojas. Para determinar si existen diferencias estadísticas entre estas dos especies, se realizó un análisis de varianza, así como un análisis de Componentes Principales para identificar el patrón de agrupamiento de los individuos de acuerdo a la variación que presentan, también se realizó un análisis de Función Discriminante en el cual se puede distinguir entre una especie y otra, además un Análisis de agrupamiento Jerárquico con base a similitud morfológica de promedios poblacionales, encontrando que existen diferencias significativas en todos los caracteres morfológicos analizados para las dos especies, además se forman dos grupos bien

diferenciados con base en la afinidad morfológica, uno de los cuales pertenece a *Q. urbanii* y el otro a *Q. conzattii*.

De acuerdo con las diferencias observadas en la morfología de las hojas, se confirma que se trata de dos especies distintas; sin embargo, es importante analizar otros criterios que aporten información adicional a esta discusión, entre ellos, examinar la morfología de los amentos así como de las infrutescencias y de las bellotas.

Palabras clave: *Quercus conzattii*, *Q. urbanii*, variación morfológica, diferenciación.

INTRODUCCIÓN

El género *Quercus* (Fagaceae) comprende aproximadamente 500 especies de árboles y arbustos distribuidos en todo el Hemisferio Norte (Nixon, 1993). El género *Quercus* cuenta con dos subgéneros, *Cyclobalanopsis* y *Quercus*, y este último se divide en cuatro secciones: *Lobatae*, (encinos rojos), *Protobalanus* (encinos intermedios o de cúpula dorada), *Quercus* (encinos blancos) y *Cerris* (Manos *et al.*, 1999).

Dentro del género *Quercus*, existen varios grupos taxonómicos que se distinguen por presentar complejos patrones de variación, lo cual lleva a problemas en la identificación de taxa a nivel de especie (Burger, 1975). En los encinos europeos *Q. robur*, *Q. petraea* y *Q. pubescens*, existen grandes problemas de discriminación taxonómica debido a la gran proporción de caracteres morfológicos y genéticos que comparten. *Q. petraea* y *Q. robur* normalmente se distinguen por la morfología de hojas y bellotas, pero para *Q. petraea* y *Q. pubescens*, no hay caracteres morfológicos que sean verdaderamente diagnósticos para separarlas con certeza, ya que estas especies tienden a formar un continuo morfológico sin separación evidente. (Bruschi *et al.*, 2000; Gömöry *et al.*, 2001; Coart *et al.*, 2002). Comúnmente *Q. robur* y *Q. petraea* se distinguen debido a que los primeros poseen bellotas pedunculadas y las de los segundos son sésiles. Para *Q. petraea* y *Q. pubescens* se encontró que algunos caracteres micromorfológicos pueden auxiliar en la separación correcta de estas especies, tales caracteres son el ancho de la apertura estomática, número de tricomas glandulares y la longitud de los brazos de los tricomas estrellados (Bruschi *et al.*, 2000).

En México, dentro de la sección *Lobatae*, en la subsección *Racemiflorae* se encuentran cuatro especies de encinos, *Q. conzattii*, *Q. radiata*, *Q. tarahumara* y *Q. urbanii* (Spellenberg y Bacon, 1996), los cuales presentan una gran similitud en

caracteres morfológico foliares, pero también existen algunos caracteres que hacen que estas entidades se ubiquen como especies distintas.

Quercus urbanii se caracteriza por poseer hojas de más de 15 cm de longitud, con las venas fuertemente impresas en la parte adaxial de la hoja, las infrutescencias son muy largas, de 4 a 18 cm de longitud y tienen de 8 a 20 bellotas, mientras que *Q. conzattii* posee hojas más pequeñas, menores de 15 cm de longitud, las venas están menos marcadas en el haz de las hojas, y las infrutescencias son mas pequeñas, de 0.5 a 6 cm de longitud y poseen de 1 a 8 bellotas.

Trelease (1921) describe tres de las especies de la serie *Racemiflorae*, *Q. conzattii*, *Q. radiata* y *Q. urbanii*. Camus (1952-1954) y Trelease (1924) colocaron a *Racemiflorae* en la secuencia de encinos negros, en seguida de la serie *Crassifolia* dicha asociación es debida a los caracteres morfológico foliares que comparten estas dos subsecciones, como son hojas muy coriáceas, rugosas, con superficies abaxiales tomentosas.

Trelease (1924) describió *Q. pennivenia* Trel. y *Q. tepicana* Trel. colocando estas dos especies en el grupo *Pennivenia*. Martínez (1966) coloca a *Q. conzattii* como sinónimo de *Q. urbanii* argumentando que la característica de longitud del pecíolo que señala Trelease (1924) como diferencia entre ambas especies, no justifica la categoría de especie por lo que Martínez (1966) considera a *Q. conzattii* como *Q. urbanii* forma *parvifolia*. Spellenberg *et al.* (1995) mostraron que *Q. pennivenia* es sinónimo de *Q. urbanii* debido a que el tipo de *Q. pennivenia* está basado en una colección hecha por B. Seemann en 1849 en la parte oeste de la Sierra Madre Occidental, entre Mazatlán y Durango, lo que probablemente corresponde a la actual carretera federal 40 Mazatlán-Durango, que es parte de la zona donde se distribuye *Q. urbanii*. Además los ejemplares colectados por Seemann en 1849 coinciden con la descripción de *Q. urbanii*, debido a lo

anterior, *Q. pennivenia* es catalogado como sinónimo de *Q. urbanii* (Spellenberg *et al.*, 1995).

Spellenberg *et al.* (1995) describen la cuarta especie de la subsección *Racemiflorae*, *Q. tarahumara*, y Spellenberg y Bacon (1996) examinan nuevamente esta subsección (*Racemiflorae*), y señalan como caracteres diagnósticos entre *Q. conzattii* y *Q. urbanii* la longitud de las hojas así como el diámetro y longitud de las infrutescencias. También indican que la distribución de *Q. conzattii* no está restringida a Oaxaca, como anteriormente se pensaba, sino que también se encuentra distribuida en Durango, Jalisco y parte de Zacatecas. Por su parte, *Q. urbanii* presenta una distribución bicéntrica en el sur, en los estados de Guerrero y México, y en la parte oeste de la Sierra Madre Occidental, en los estados de Durango, Sonora y Sinaloa.

Como podemos observar son varios los autores que han integrado a *Q. conzattii* y *Q. urbanii*, como una sola especie, *Q. urbanii* (Martínez, 1966; McVaugh, 1974; González, 1986). Sin embargo, otros autores consideran que estas especies en cuestión corresponden a entidades distintas (Spellenberg *et al.*, 1995; Spellenberg y Bacon 1996). Ambas especies presentan gran similitud en gran parte de los caracteres morfológicos que las definen. Sin embargo, también presentan caracteres diagnósticos que las distinguen como especies distintas, entre ellos se encuentran la longitud de las hojas así como la longitud de las infrutescencias y el número de bellotas que poseen estas infrutescencias (Spellenberg y Bacon, 1996).

OBJETIVOS

De acuerdo con estos antecedentes, se planteó la presente investigación cuyo objetivo es evaluar el grado de diferenciación morfológica entre *Quercus conzattii* y *Q. urbanii*.

MÉTODOS

Se colectaron seis poblaciones de *Q. conzattii*, dos del estado de Oaxaca, tres de Durango y una de Jalisco, y tres poblaciones de *Q. urbanii*, dos del estado de Sinaloa y una de Guerrero (Fig. 1) en total se colectaron 144 árboles de *Q. conzattii* y 58 árboles de *Q. urbanii*. Las muestras fueron obtenidas de la parte baja en el caso de árboles altos (más de 5 m de altura), para el caso de árboles pequeños, se colectaron de la parte media del árbol, evitando coleccionar hojas que tuvieran daños, posteriormente se prensaron, se secaron y se midieron 10 hojas maduras de cada árbol para obtener una serie de datos morfométricos (Tabla 1).

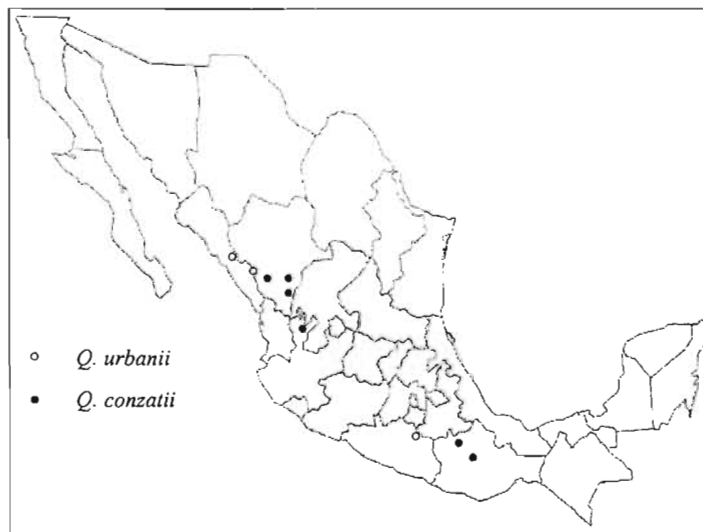


Fig. 1. Localización geográfica de las poblaciones de *Q. conzattii* y *Q. urbanii* colectadas.

Tabla 1. Caracteres morfológicas analizados para *Q. conzattii* y *Q. urbanii*.

| Caracter: | |
|-----------|---|
| LL | Largo de lámina (mm) |
| LP | Largo del pecíolo (mm) |
| LT | Largo total de hoja (mm) |
| AM | Ancho máximo de lámina (mm) |
| AA | Distancia del ápice al punto de la vena media que corresponde a la parte más ancha (mm) |
| 1/3 B | Ancho de la hoja al primer tercio basal (mm) |
| 1/3 A | Ancho de la hoja al primer tercio apical (mm) |
| NVI | No. de venas secundarias lado izquierdo de la lámina (adaxial) |
| NVD | No. de venas secundarias lado derecho de la lámina (adaxial) |
| AVD | Ancho de la vena media adaxial (base) (mm) |
| AVB | Ancho de la vena media abaxial (base) (mm) |
| DY | Diámetro de la yema (mm) |
| DPB | Diámetro del pecíolo en su base (mm) |
| DPA | Diámetro del pecíolo al inicio de la hoja (mm) |
| NAI | Número de aristas lado izquierdo |
| NAD | Número de aristas lado derecho |
| AM/LL | Ancho máximo/longitud total |
| AA/AM | Altura del ancho máximo al ápice/ancho máximo |
| AA/LL | Altura del ancho máximo al ápice/longitud total |
| LL/LT | Longitud de lámina/longitud total |

Se realizaron diferentes pruebas estadísticas para definir si lo que se está identificando *a priori* como *Q. conzattii* se diferencia morfológicamente de *Q. urbanii*. Estos análisis comprendieron un Análisis de Varianza para ver si hay diferencias significativas entre ambas especies y un análisis de Componentes Principales (JMP 3.1.6.2.) para observar los patrones de variación entre las poblaciones para cada especie. Para conocer los caracteres que aportan mayor variación, se realizó también un análisis de Función Discriminante (SPSS 11.0 for Windows) que permite distinguir a los individuos en ambas especies. Se realizó también un análisis de agrupamiento jerárquico, el cual proporciona un dendrograma con base en la similitud morfológica de las especies, con el método de agrupamiento “average linkage distance”, el cual toma en cuenta las distancias entre pares de puntos, en este caso, de poblaciones (JMP 3.1.6.2.).

RESULTADOS

Todas las características foliares analizadas (Tabla 1) mostraron diferencias significativas ($P < 0.001$) (Tabla 2), lo cual nos indica que las poblaciones de *Q. conzattii* que fueron analizadas son diferentes morfológicamente de *Q. urbanii*. Aún cuando todas las características presentaron diferencias significativas, el promedio en el tamaño de las hojas (LL), la longitud (LP) y el diámetro de los pecíolos (DPB y DPA), el ancho máximo (AM), así como el diámetro de la yema (DY), son variables muy contrastantes entre ambas especies.

Tabla 2. Comparación de promedios, error estándar y valores de F obtenidos en el ANOVA, para las características morfológicas analizadas de *Quercus conzattii* y *Q. urbanii*, (todos los caracteres son significativos, $P < .001$).

| Variables | <i>Q. conzattii</i> | | <i>Q. urbanii</i> | | F |
|-----------|---------------------|--------|-------------------|--------|---------|
| | Promedio | | Promedio | | |
| LL | 103.58 | ±1.83 | 190.39 | ±2.88 | 646.11 |
| LP | 11.12 | ±0.45 | 37.76 | ±0.70 | 1005.36 |
| LT | 114.65 | ±2.00 | 226.87 | ±3.16 | 896.51 |
| AM | 77.63 | ±1.66 | 172.22 | ±2.62 | 925.86 |
| AA | 47.1 | ±1.05 | 94.13 | ±1.65 | 574.57 |
| 1/3 B | 65.1 | ±1.52 | 153.84 | ±2.39 | 978.46 |
| 1/3 A | 72.31 | ±1.54 | 155.96 | ±2.44 | 837.06 |
| NVI | 9.8 | ±0.07 | 11.75 | ±0.11 | 200.9 |
| NVD | 9.85 | ±0.07 | 11.8 | ±0.11 | 196.46 |
| AVD | 1.06 | ±0.02 | 1.93 | ±0.03 | 476.92 |
| AVB | 1.95 | ±0.02 | 3.23 | ±0.03 | 994.31 |
| DY | 2.01 | ±0.05 | 2.9 | ±0.09 | 66.22 |
| DPB | 2.8 | ±0.04 | 5.54 | ±0.06 | 1188.88 |
| DPA | 1.88 | ±0.02 | 3.39 | ±0.04 | 762.69 |
| NAI | 6.52 | ±0.31 | 8.88 | ±0.49 | 16.41 |
| NAD | 6.61 | ±0.32 | 9.01 | ±0.50 | 15.97 |
| AM/LL | 0.75 | ±0.005 | 0.91 | ±0.009 | 214.98 |
| AA/AM | 0.62 | ±0.006 | 0.55 | ±0.010 | 32.87 |
| AA/AL | 0.46 | ±0.004 | 0.49 | ±0.006 | 20.37 |
| LL/LT | 0.9 | ±0.002 | 0.84 | ±0.003 | 205.67 |

El análisis de componentes principales mostró que el 82.35 % de la variación es explicada por los tres primeros componentes (Tabla 3). El primer componente explica el 65 %, y las variables que más están correlacionadas con esta variación son medidas de ancho de la hoja así como de longitud. El segundo componente, explica el 11.19% de la variación y las variables que están más correlacionadas son el número de aristas y la

variable de proporción altura del ancho máximo al ápice/ancho máximo. El tercer componente explica el 6.52% de la variación, y las variables más correlacionadas en este caso son las variables de proporción altura del ancho máximo al ápice/longitud total, altura del ancho máximo al ápice/ancho máximo y el número de aristas.

Tabla 3. Tabla de componentes principales en donde se muestra el porcentaje de variación obtenido para *Q. urbanii* y *Q. conzattii*.

| Componentes Principales | | | |
|-------------------------|----------|----------|----------|
| EigenValue: | 13.0223 | 2.2382 | 1.3059 |
| Porcentaje | 65.1116 | 11.1911 | 6.5295 |
| Porcentaje acumulado | 65.1116 | 76.3027 | 82.8321 |
| Eigenvectors: | | | |
| LL | 0.26487 | -0.06954 | -0.00334 |
| LP | 0.25017 | -0.10639 | -0.10266 |
| LT | 0.26882 | -0.08087 | -0.03027 |
| AM | 0.27298 | -0.02837 | -0.029 |
| AA | 0.26125 | -0.13406 | 0.14657 |
| 13 B | 0.2709 | -0.07885 | -0.00772 |
| 13 A | 0.2711 | -0.00625 | -0.0667 |
| NVI | 0.21964 | 0.16648 | 0.16385 |
| NVD | 0.21809 | 0.1723 | 0.16076 |
| AVB | 0.25883 | -0.07685 | -0.05267 |
| AVB | 0.25883 | -0.07685 | -0.05267 |
| DY | 0.14165 | -0.13277 | -0.05747 |
| DPB | 0.25639 | -0.08678 | -0.09823 |
| DPA | 0.24994 | -0.11446 | -0.05144 |
| NAI | 0.1083 | 0.5519 | 0.27099 |
| NAD | 0.10779 | 0.55421 | 0.26459 |
| AM LL | 0.21994 | 0.15083 | -0.09237 |
| AA AM | -0.1184 | -0.37003 | 0.58218 |
| AA LL | 0.11436 | -0.2604 | 0.61397 |
| LL LT | -0.17906 | 0.10715 | 0.15078 |

Una vez que se graficaron los valores obtenidos por cada individuo, se encontró que las poblaciones de *Q. conzattii* se agrupan separadamente a las de *Q. urbanii* (Fig. 2), tanto en el componente principal 1 contra el componente principal 2 como en componente principal 1 contra el componente principal 3, la separación es completa.

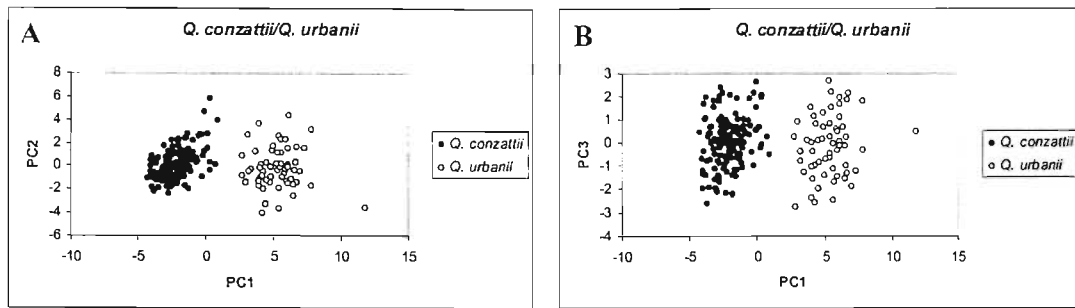


Fig.2. Gráficos obtenidos con los valores individuales (scores) en el análisis de componentes principales, en donde se muestran dos grupos, uno de ellos corresponde a los individuos con afinidad morfológica a *Q. conzattii* y el otro a individuos con afinidad a *Q. urbanii*. A, componente principal 1 vs componente principal 2, B, componente principal 2 vs componente principal 3.

En el análisis de función discriminante, el coeficiente estandarizado de la función canónica (Tabla 4) muestra el peso que tiene cada característica en la separación entre ambas especies, indicando que la más importante es la longitud total (LT), seguida por el ancho máximo (AM). Al graficar la distribución de frecuencias de los puntajes individuales (scores) (Fig. 3) se encontró que es posible distinguir muy bien entre ambas especies, ya que mientras *Q. conzattii* ocupa el extremo derecho del gráfico, *Q. urbanii* se ubica en el extremo izquierdo, traslapándose solamente unos cuantos valores que corresponden a los individuos que poseen las hojas más pequeñas de *Q. urbanii* y los individuos que poseen las hojas más grandes de *Q. conzattii*. Sin embargo, se observa claramente que presentan distribución diferente.

Tabla 4. Coeficiente estandarizado de la función canónica.

| Variables | Función 1 |
|-----------|-----------|
| LL | -1.544 |
| LP | -0.136 |
| LT | 3.476 |
| AM | -3.332 |
| AA | 1.929 |
| 1/3 B | -1.327 |
| 1/3 A | 0.853 |
| NVI | 1.037 |
| NVD | -1.825 |
| AVD | 0.567 |
| AVB | -0.609 |
| DY | -1.065 |
| DPB | 0.8 |
| DPA | -1.352 |
| NAI | 0.765 |
| NAD | -0.917 |
| AM/LL | 1.828 |
| AA/AM | -0.758 |
| AA/LL | -0.463 |
| LL/LT | 2.747 |

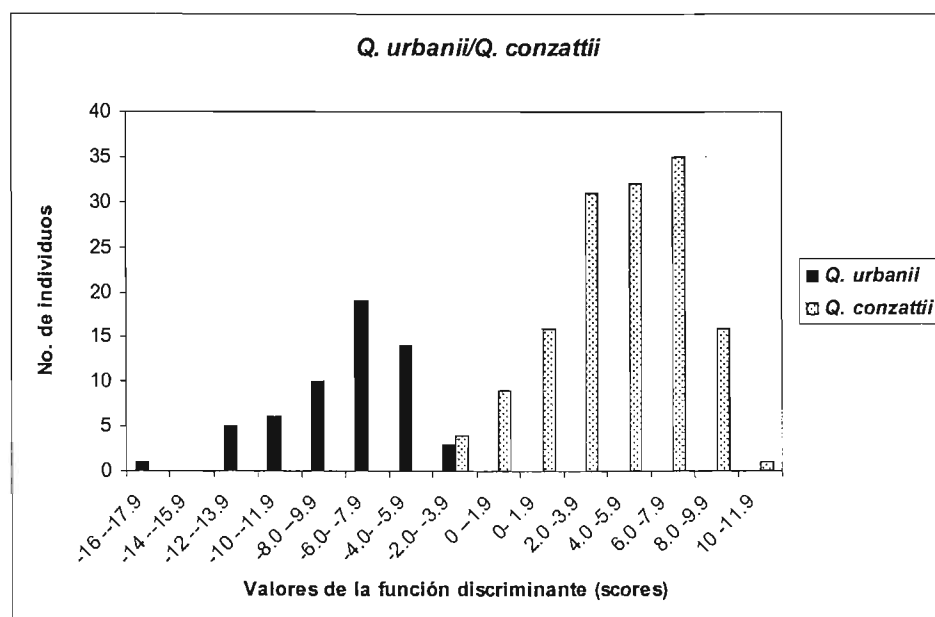


Fig. 3. Gráfico de las frecuencias de los valores individuales (scores) obtenidos en el análisis discriminante para *Q. conzattii* y *Q. urbanii*.

En cuanto al análisis de clusters, éste generó un dendrograma en el cual se definen muy bien dos grupos o ramas (Fig. 4), una de las cuales contiene a las poblaciones con afinidad morfológica de *Q. conzattii* (Tuxpan, Jalisco, Diego, Oaxaca,

Km. 47, Durango, Mezquital, Durango, Boca, Durango. y Tuxtepec, Oax.), y la otra rama formada por las poblaciones con afinidad morfológica hacia *Q. urbanii* (Surutato, Sinaloa., Huixteco, Guerrero y Loberas, Sinaloa).

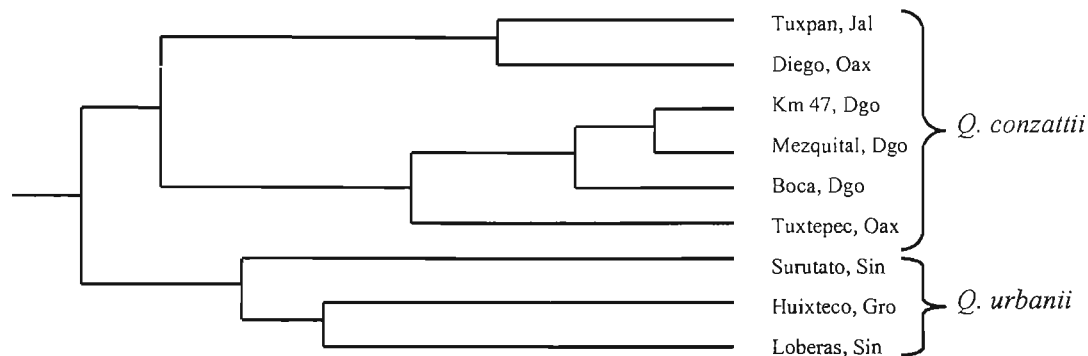


Fig. 4. Dendrograma que muestra las relaciones de similitud morfológica entre las especies *Quercus konzattii* (líneas azules) y *Q. urbanii* (líneas café).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El análisis de la morfología foliar que se llevó a cabo en esta investigación indica que *Q. konzattii* y *Q. urbanii* son dos especies completamente diferentes.

Además de las diferencias observadas en todas las características morfológico foliares que aquí se analizan, una investigación reciente encontró que existen otros caracteres en los cuales estas especies también difieren estos caracteres son el tipo de tricomas y el tipo de cera de los tricomas que se localizan en las hojas (Scareli-Santos *et al.* en preparación). *Quercus konzattii* posee tricomas estipitado fasciculados, simples y estrellados con cera tipo película en la superficie abaxial, y del tipo multirradiado y simple con cera tipo película en la superficie adaxial. *Quercus urbanii* posee tricomas estipitado fasciculados y simples y cera tipo película en la superficie abaxial, y del tipo simple y estrellado fundido, con cera tipo costra y película en la superficie adaxial.

Como podemos observar, a nivel de indumento también se presentan diferencias entre ambas especies, lo cual apoya los resultados aquí obtenidos (Apéndice IV).

Es importante mencionar que además de las diferencias morfológicas observadas en estas especies también existen diferencias ecológicas, estas se manifiestan en el tipo de hábitats en el cual se encuentran. *Quercus konzattii* se encuentra distribuido en pequeños agregaciones en bosques con climas secos, en matorrales subtropicales (Bacon y Spellenberg, 1996), en suelos con pendientes o laderas un tanto pedregosas, mientras que *Q. urbanii* prefiere hábitat más bien húmedos, encontrándose también en agregaciones pequeñas (más pequeñas que las de *Q. konzattii*), en bosques de pino-encino (Spellenberg y Bacon, 1995; M. L. Herrera, observaciones personales).

Martínez (1966) considera que el criterio de longitud del pecíolo que menciona Trelease (1924) no es suficiente para separar como dos especies distintas a *Q. konzattii* y *Q. urbanii*. Sin embargo, en esta investigación se obtuvieron diferencias significativas en todas las características analizadas lo cual indica que las diferencias no solamente se encuentran en el tamaño del pecíolo sino también en un gran número de atributos foliares.

Spellenberg y Bacon (1996) elaboraron una clave dicotómica para las especies de la subsección *Racemiflorae*, en donde la diferencia entre *Q. konzattii* y *Q. urbanii*, se encuentra en la longitud de las hojas, el diámetro de los grupos de bellotas y la longitud de los pedúnculos. Estas diferencias cuantitativas no permiten discriminar tajantemente a estas dos especies ya que ambas especies presentan muchos caracteres morfológicos con un amplio rango de variación que puede estar determinado por factores ambientales (Tucker, 1974). Sin embargo, todos los análisis aquí empleados arrojaron resultados semejantes para todas las variables evaluadas en la separación de estas dos especies, por lo que podemos confirmar que *Q. konzattii* y *Q. urbanii* son dos especies

completamente diferentes con base en los caracteres morfológicos cuantitativos aquí analizados, así como también por el tipo de tricomas y cera de los tricomas que presentan.

De acuerdo a esto, la diagnosis de estas especies no solo descansa en criterios de longitud de hojas y pedúnculos, mas bien son distintas variables las que intervienen en su separación taxonómica, entre ellas, medidas de longitud y ancho de hojas, longitud y diámetro de pecíolos, número de venas y aristas, diámetro de las yemas las cuales mostraron ser significativamente diferentes para las dos especies.

A pesar de la diferenciación morfológica obtenida entre estas dos especies en esta investigación, se recomienda realizar una evaluación de la diferenciación morfológica, (incluyendo análisis de estructuras reproductoras, así como de las bellotas) y genética para todas las especies de la subsección *Racemiflorae* (*Q. conzattii*, *Q. urbanii*, *Q. radiata*, y *Q. tarahumara*) y de ésta manera dejar claras las relaciones entre estas especies.

DISCUSIÓN GENERAL

Como hemos podido observar en los capítulos anteriores los encinos son un grupo de plantas que presentan una gran variación morfológica a todos los niveles, entre especies, entre y dentro de poblaciones y aun dentro de un mismo individuo, y es quizá esta variación lo que ha llevado a algunos autores a interpretar a especies distintas como diferentes fenotipos de un solo taxón (especie). Otra de las características importantes de este grupo, ha sido la constante hibridación y retrocruzamiento que se lleva a cabo dentro de las distintas secciones del género, lo que hace que sea un grupo bastante peculiar, en el que inclusive es difícil aplicar un concepto de especie, dado el panorama reproductivo que se presenta entre las diferentes especies.

Quercus conzattii y *Q. eduardii*, dos especies que frecuentemente traslapan su distribución espacial, presentan gran variación morfológica foliar, así mismo en algunos de los sitios en los cuales traslapan sus distribuciones se encuentra evidencia morfológica de que se están llevando a cabo eventos de hibridación y probables retrocruzamientos con las especies progenitoras, de esta manera, individuos con morfologías intermedias son observados, sin embargo, es probable que estos eventos no se estén llevando a cabo en todos los sitios en los cuales se traslapan las distribuciones de las especies, lo cual puede ser el producto de una gran cantidad de factores, desde presiones de selección ambiental que impidan la sobrevivencia de los individuos de origen híbrido, o bien que por alguna causa solamente en algunas zonas se hayan roto las barreras de aislamiento reproductivo.

En uno de los sitios en donde *Quercus conzattii* y *Q. eduardii* coinciden espacialmente y además se encuentran individuos con morfología intermedia (Ferrería, Dgo.), se pudo observar que los periodos de floración también coinciden, lo cual hace posible que el polen de una especie pueda fertilizar a la otra, facilitando así la

hibridación, e incluso el retrocruzamiento, sin embargo, en los otros sitios en los cuales las especies traslapan sus distribuciones (Mezquital, Dgo. y Tuxpan de Bolaños, Jal.), no fue posible determinar si los periodos de floración se traslapan, lo cual es un punto de inicio muy importante para la hibridación, por lo que una de las perspectivas de esta investigación es la determinación de la fenología de ambas especies, sobre todo cuando vemos que están traslapando sus distribuciones.

Los análisis de los individuos con probable origen híbrido muestran claramente su carácter intermedio a nivel macro y micro morfológico entre las dos especies progenitoras, pero además se detectaron caracteres micro morfológicos que no están presentes en las otras dos especies, lo cual nos habla que a través de hibridación transgresiva se están formando nuevas recombinaciones que a su vez se traducen en nuevos caracteres que incrementan la variabilidad natural de las especies.

Por otro lado, *Q. conzattii* y *Q. urbanii* frecuentemente han sido considerados como una sola especie con base en criterios de similitud morfológica en la mayor parte de sus caracteres, lo cual, aparentemente no ameritaba considerarlas como dos especies distintas. Sin embargo, resultados de análisis macro y micro morfológicos obtenidos en esta investigación indican claramente que se trata de dos taxa distintos, y que de hecho su separación morfológica no está basada en unos cuantos caracteres morfológicos, ya que los 20 caracteres de morfología foliar que se analizaron aquí presentaron diferencias significativas entre ambas especies. De manera similar, estas especies también presentaron diferenciación al analizar caracteres micro morfológicos, ceras y tricomas. Por lo que un análisis integrado de estos caracteres como el que se realizó en esta investigación, puede contribuir de manera significativa a resolver problemas taxonómicos de delimitación de especies a nivel morfológico.

Obviamente tampoco podemos dejar de lado los análisis con marcadores moleculares, que sin lugar a dudas, representan la respuesta mas precisa a este tipo de problemas.

La presente investigación aporta entonces importantes elementos en el reconocimiento de *Q. conzattii* y *Q. urbanii* como dos entidades taxonómicas distintas, así como en patrones de variación morfológica y procesos de hibridación entre *Q. conzattii* y *Q. eduardii*, de manera similar, da la pauta para futuras investigaciones que apunten hacia un análisis mas intensivo en toda la distribución de las especies evaluadas, en donde se integren elementos morfológicos (macro y micro morfológicos), ecológicos (descripción del hábitat, tipos de suelos, nutrientes, etc.) así como el uso de marcadores moleculares que nos permitan integrar con mayor resolución las respuestas a todos estos procesos.

LITERATURA CITADA

- Aguilar, E. M. L. y Romero, R. S. 1995. Estudio taxonómico de cuatro especies de encino (*Quercus*) descritas por Warburg. Acta Botánica Mexicana 31: 63-71.
- Arnold, M. L. 1997. Natural hybridization and evolution. Oxford University Press. New York. Pp 215.
- Anderson, E. 1968. Introgressive hybridization. Hafner publishing company. New York and London. Pp.109.
- Bacillieri, R., Ducouso, A. y Kremer, A. 1996a. Comparison of morphological characters and molecular markers for the analysis of hybridization in sessile and pedunculate oak. Annales des Sciences Forestières 53: 79-91.
- Bacillieri, R., Ducouso, A., Petit, R. J. y Kremer, A. 1996b. Mating system and asymmetric hybridization in a mixed stand of European Oaks. Evolution 50: 900-908.
- Bacon, R. J. y Sellenberg, R. 1996. Hybridization in two distantly related Mexican black oaks, *Quercus konzattii* y *Quercus eduardii* (Fagaceae: *Quercus*: section *Lobatae*). Sida 17: 17-41.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Theisen, I. y Wilhelmi, H. 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. Botanical Journal of the Linnean Society 126: 237-260.
- Belahbib, N., Pemonge, M. H., Ouassou, A., Sbay, H., Kremer, S. A. y Petit, R. J. 2001. Frequent cytoplasmic exchanges between oaks species are not closely related: *Quercus suber* y *Q. ilex* in Morocco. Molecular Ecology 10: 2003-2012.
- Black, W. C. 1995. FORTRAN programs for the analysis of RAPD PCR markers in populations. Colorado State University, Ft. Collins.

- Blue, M. P. y Jensen, R. J. 1988. Positional and seasonal variation in oak (*Quercus*: Fagaceae) leaf morphology. *American Journal of Botany* 75: 939-947.
- Borgardt, J. S. y Pigg, B. K. 1999. Anatomical and developmental study of petrified *Quercus* (Fagaceae) fruits from the middle miocene, Yakima Canyon, Washington, USA. *American Journal of Botany* 86: 307-325.
- Bruschi, P., Venderamin, G. G., Bussotti, F. y Grossoni, P. 2000. Morphological and molecular differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. y *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) in Northern and central Italy. *Annals of Botany* 85: 325-333.
- Bruschi, P., Grossoni, P. y Bussotti, F. 2003a. Within- and among tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt) Liebl. In natural populations. *Trees* 17: 164-172.
- Bruschi, P., Vendramin, G. G., Bussotti, F. y Grossoni, P. 2003b. Morphological and molecular diversity among Italian populations of *Quercus petraea* (Fagaceae). *Annals of Botany* 91: 707-717.
- Burger, W. C. 1975. The species concept in *Quercus*. *Taxon* 24: 45-50.
- Camus, A. 1952-1954. Les Chenes: Monographie du genre *Quercus*. Tome III: Genre *Quercus* sous-genre *Euquercus* (Sections *Protobalanus* et *Erythrobalanus*): In *Encyclopedie Economique de Sylviculture VII*. Paul Lechevalier, Editeur, Paris, France.
- Coart, E., Lamote, V., De Loose, M., Van Bockstaele, E., Lootens, P. y Roldán-Ruiz, I. 2002. AFLP markers demonstrate local genetic differentiation between two indigenous oak species [*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl] in Flemish populations. *Theoretical and Applied Genetics* 105:431-439.

- Delph, L. F., Johannsson, M. H. y Stephenson, A. G. 1997. How environmental factors affect pollen performance: ecological and evolutionary perspectives. *Ecology* 78: 1632-1639.
- Elena-Rosselló, J. A., Lumaret, R., Cabrera, E. y Michaud, H. 1992. Evidence of hybridization between sympatric holm-oak and cork-oak in Spain base on diagnostic enzyme markers. *Vegetatio* 99 :115-118.
- Encina, D. J. A. y Villarreal, J. A. 2002. Distribución y aspectos ecológicos del género *Quercus* (Fagaceae) en el estado de Coahuila, México. *Polibotánica* 13:1-23.
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) v.3.5c. Department of Genetics, University of Washington. Seattle, WA.
- Gömory, D., Yakovlev, I., Zhelev, P., Jedinakova, J. y Paule, L. 2001. Genetic differentiation of oak populations within the *Quercus robur/Quercus petraea* complex in central and eastern Europe. *Heredity* 86: 557-563.
- González-Rodríguez, A., Arias, D. M., Valencia, S. y Oyama, K. 2004a. Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Quercus affinis* y *Q. laurina* (Fagaceae) two Mexican red oaks. *American Journal of Botany* 91: 401-409.
- González-Rodríguez, A., Bain, J. F., Golden, J. L. y Oyama, K. 2004b. Chloroplast DNA variation in the *Quercus affinis-Q. laurina* complex in Mexico: geographic structure and associations with nuclear and morphological variation. *Molecular Ecology* 13: 3467-3476.
- González-Rodríguez, A. y Oyama, K. 2005. Leaf morphometric variation in *Quercus affinis* y *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing red oaks. *Botanical Journal of the Linnean Society* 147: 427-435.

- González, V. L. M. 1986. Contribución al conocimiento del género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de Jalisco. Instituto de Botánica. Universidad de Guadalajara. México. Pp 240.
- Hardin, J. W. 1975. Hybridization and introgression in *Quercus alba*. Journal of the Arnold Arboretum 56: 336-363.
- Hardin, J. W. 1976. Terminology and classification of *Quercus* trichomes. The Journal of the Mitchell Society 92: 151-161.
- Hardin, J. W. 1979. Atlas of foliar features in woody plants. I. Vestiture and trichome types of Eastern North American *Quercus*. Bulletin of the Torrey Botanical Club 106: 313-325.
- Hayat, M. A. 1983. Principles and techniques of scanning electron microscopy. Biological applications. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Howard, D. J., Preszler, R. W., Williams, J., Fenchel, S. y Boecklen, W. J. 1997. How discrete are oak species? Insights from a hybrid zone between *Quercus grisea* and *Quercus gambelii*. Evolution 51: 747-755.
- Ishida, A. T., Hattori, K., Sato, H. y Kimura, T. M. 2003. Differentiation and hybridization between *Quercus crispula* and *Q. dentate* (Fagaceae): insights from morphological traits, amplified fragment length polymorphism markers and leafminer composition. American Journal of Botany. 90: 769-776.
- Jensen, R. J., Hokanson, S. T. Isebrands, J. G. y Hancock, J. F. 1993. Morphometric variation in oaks of the Apostle Islands in Wisconsin: evidence of hybridization between *Quercus rubra* y *Q. ellipsoidalis* (Fagaceae). American Journal of Botany 80: 1358-1366.
- Jones, J. H. 1986. Fagaceae evolution. Annales of the Missouri Botanical Garden 73: 246-259.

- Kaul, B. R. 1985. Reproductive morphology of *Quercus* (Fagaceae). American Journal of Botany 72: 1962-1977.
- Kremer, A., Dupouey, J. L., Deans, J. D., Cotrell, J., Csaikl, U., Finkeldey, R., Espinel, S., Jensen, J., Kleinschmit, J., Van Dam, B., Ducouso, A., Forrest, I., Lopez de Heredia, U., Lowe, A. J., Tutkova, M., Munro, R. C., Steinhoff, S. y Badeau, V. 2002. Leaf morphology differentiation between *Quercus robur* and *Quercus petraea* is stable across western European mixed oak stand. Annals of Forest Science 59: 777-787.
- Lefort, F. y Douglas, G. C. 1999. An efficient micro-method of DNA isolation from mature leaves of four hardwood tree species *Acer*, *Fraxinus*, *Prunus* and *Quercus*. Annales of Forestry Sciences 56:259-263.
- Manos, P. S., Doyle, J. J. y Nixon, K. 1999. Phylogeny, biogeography and processes of molecular differentiation in *Quercus* Subgenus *Quercus* (Fagaceae). Molecular Phylogenetics and Evolution 12: 333-349.
- Martínez, M. 1966. Los encinos de México. XIV. Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México 37: 81-95.
- Martinsen, G. D., Whitham, T. G., Turek, R. J. y Keim, P. 2001. Hybrid population selectively filter gene introgression between species. Evolution 55: 1325-1335.
- McVaugh, R. 1974. Fagaceae. Flora Novo-Galicina. Contributions from the. University of Michigan Herbarium 12:1-93.
- Moreno, M. J. 2004. Variación morfológica foliar del complejo *Quercus affinis* Scheiwiter y *Q. laurina* Humboldt y Bonpland, en Puerto Aire, Ver. México. Tesis de Licenciatura, Fac. de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich., México.

- Nixon, K. C. 1993. The genus *Quercus* in Mexico. En Ramamoorthy T. P., R. Bye, A. Lot, y J. Fa. (Eds.) Biological diversity of Mexico: Origins and distribution. Oxford University Press, E.U.A. Pp 447-458.
- Rieseberg, L. H. y Ellstrand, N. C. 1993. What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization. *Critical Reviews in Plant Science* 12: 213-141.
- Rieseberg, L. H., Archer, M. A. y Wayne, R. K. 1999. Transgressive segregation, adaptation and speciation. *Heredity* 83: 363-372.
- Romero, S., Lira, R. y Dávila, P. 2000. A phenetic study of the taxonomic delimitation of *Quercus acutifolia* and *Q. conspersa* (Fagaceae). *Brittonia* 52: 177-187.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Ed. Limusa. México. Pp 432.
- Samuel, R. 1999. Identification of hybrids between *Quercus petraea* and *Q. robur* (Fagaceae): results obtained with RAPD markers confirm allozyme studies based on the *Got-2* locus. *Plant Systematics and Evolution* 217: 137-146.
- Scareli-Santos, C., Herrera-Arroyo, M. L., Mondragón, M. L. S., González-Rodríguez, A. y Oyama, K. Comparación estructural de la micromorfología del complejo *Quercus konzattii* Trel. y *Q. eduardii* Trel. (Fagaceae) en México. En preparación.
- Scareli-Santos, C., Mondragón, M. L. S. y Oyama, K. Los encinos mexicanos (*Quercus* L., Fagaceae): caracterización de la micromorfología de las superficies de hojas con el uso de microscopia electrónica de barrido. En preparación.
- Sokal, R. R. y Rohlf, F. J. 1999. Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación Biológica. H. Blume Ediciones. Madrid. Pp 830.

- Schneider, S., Roessli, D. y Excoffier., L. 2000. ARLEQUIN Versión 2000: a Software for Populations Genetics Data Analysis. Genetics and Biometry Laboratory. Department of Ecology and Antropology, University of Geneva, Switzerland.
- Spellenberg, R. 1995. On the hybrid nature of *Quercus basaseachisensis* (Fagaceae, Sect. *Quercus*). Sida 16: 427-437.
- Spellenberg, R., Bacon, J. R. y Breedlove, D. E. 1995. A new species of *Quercus* (Fagaceae, sect. *Lobatae*, group *Racemiflorae*) from the Sierra Madre Occidental, México. Madroño 42: 23-26.
- Spellenberg, R. y Bacon, J. R. 1996. Taxonomy and distribution of a natural group of black oaks of Mexico. (*Quercus*, section *Lobatae*, subsection *Racemiflorae*). Systematic Botany 2: 85-99.
- Tovar-Sanchez, E. y Oyama, K. 2004. Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. American Journal of Botany 91: 1352-1363.
- Trelease, W. 1921. A natural group of unusual black oaks. Proceedings of American Philosophical Society 60: 31-33.
- Trelease, W. 1924. The American oaks. Memoirs National Academy of Sciences 20: 1-255.
- Tucker, J. M. 1974. Patterns of parallel evolution of leaf form en new world oaks. Taxon 23: 129-154.
- Valencia, A. S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 75: 33-53.
- Valladares, F., Balaguer, L., Martínez-Ferri, A., Pérez-Corona, E. y Manrique, E. 2002. Plasticity, instability and canalization: is the phenotypic variation in seedlings of

sclerophyll oaks consistent with the environmental unpredictability of
Mediterranean ecosystems? *New Phytologist* 156: 457-467.

Van Valen, L. 1976. Ecological species, multispecies, and oaks. *Taxon* 25: 323-339.

Whittemore, A. T. y Schaal, B. A. 1991. Interspecific gene flow in sympatric oaks.
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 88: 2540-2544.

Williams, J. H., Boecklen, W. J y Howard, D. J. 2001. Reproductive processes in two
oak (*Quercus*) contact zones with different level of hybridization. *Heredity* 87:
680-690.

APÉNDICE I

Análisis de varianza y pruebas de comparaciones múltiples para las especies *Q.*

conzattii, *Q. eduardii* y taxa con morfología intermedia.

Tabla I. Análisis de varianza de I vía donde se muestran los valores promedio y el estadístico *F* para las poblaciones de *Quercus conzattii* (ns = $P > 0.05$).

| Variable | Ferrería, Dgo. | Km. 47, Dgo. | B. Mez, Dgo. | Mezquit al, Dgo. | T. de Bol. Jal. | Tuxtepe c. Oax. | R. Diego Oax. | <i>F</i> | <i>F</i> Dgo/Oax |
|----------|-------------------|------------------|------------------|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|----------|---------------------|
| LL | 88.97 (1.48) | 91.86 (1.40) | 99.05 (1.41) | 96.85 (1.16) | 113.38 (0.979) | 98.58 (1.45) | 112.98 (1.58) | 57.67 | 11.47 |
| LP | 8.28 (0.26) | 12.50 (0.25) | 11.02 (0.25) | 10.19 (0.20) | 10.75 (0.17) | 8.83 (0.25) | 13.68 (0.28) | 53.39 | 3.86 |
| LT | 97.37 (2.00) | 104.35 (1.90) | 109.98 (1.92) | 106.79 (1.58) | 125.51 (1.31) | 107.68 (1.96) | 126.43 (2.14) | 40.00 | 12.09 |
| AM | 62.04 (1.23) | 67.37 (1.17) | 66.90 (1.18) | 70.13 (0.97) | 87.22 (0.81) | 75.75 (1.21) | 93.23 (1.32) | 107.20 | 76.24 |
| AA | 42.48 (0.90) | 43.76 (0.85) | 46.23 (0.86) | 42.28 (0.70) | 52.03 (0.59) | 43.88 (0.88) | 50.51 (0.96) | 30.32 | 0.58 ns |
| I/3 B | 54.46 (1.08) | 57.08 (1.02) | 58.31 (1.03) | 58.91 (0.85) | 73.50 (0.70) | 60.80 (1.05) | 75.38 (1.15) | 79.88 | 23.53 |
| I/3 A | 57.06 (1.18) | 60.79 (1.12) | 62.31 (1.13) | 65.89 (0.93) | 80.55 (0.77) | 71.64 (1.15) | 87.61 (1.26) | 106.60 | 97.84 |
| NVI | 8.85 (0.08) | 9.55 (0.08) | 9.54 (0.08) | 9.26 (0.07) | 9.98 (0.06) | 10.01 (0.08) | 10.77 (0.09) | 55.05 | 131.44 |
| NVD | 8.84 (0.08) | 9.61 (0.08) | 9.63 (0.08) | 9.32 (0.07) | 10.03 (0.05) | 10.00 (0.08) | 10.79 (0.09) | 56.26 | 117.80 |
| AVD | 1.08 (0.02) | 0.94 (0.02) | 1.02 (0.02) | 0.99 (0.02) | 1.06 (0.01) | 1.16 (0.02) | 1.23 (0.02) | 20.69 | 86.89 |
| AVB | 2.04 (0.02) | 1.89 (0.02) | 1.96 (0.02) | 1.93 (0.02) | 1.96 (0.01) | 1.92 (0.02) | 1.97 (0.02) | 4.94 | 0.28 ns |
| DY | 2.26 (0.05) | 1.99 (0.05) | 2.47 (0.05) | 2.08 (0.04) | 2.03 (0.03) | 1.64 (0.05) | 1.68 (0.05) | 36.83 | 35.75 |
| DPB | 2.80 (0.03) | 2.64 (0.03) | 2.74 (0.03) | 2.74 (0.039) | 2.91 (0.02) | 2.84 (0.03) | 2.84 (0.04) | 9.60 | 3.23 ns |
| DPA | 1.97 (0.02) | 1.78 (0.02) | 1.94 (0.02) | 1.85 (0.02) | 1.91 (0.02) | 1.90 (0.02) | 1.89 (0.02) | 8.24 | 0.27 ns |
| NAI | 5.56 (0.21) | 4.90 (0.20) | 4.42 (0.20) | 4.42 (0.16) | 6.67 (0.14) | 8.90 (0.20) | 11.89 (0.22) | 178.59 | 714.52 |
| NAD | 5.55 (0.21) | 4.75 (0.20) | 4.36 (0.20) | 4.48 (0.17) | 6.84 (0.14) | 9.39 (0.21) | 11.97 (0.23) | 187.93 | 771.06 |
| AM/LL | 0.70 (0.01) | 0.73 (0.01) | 0.68 (0.01) | 0.72 (0.01) | 0.77 (0.00) | 0.77 (0.01) | 0.82 (0.01) | 66.03 | 140.51 |
| AA/AM | 0.71 (0.01) | 0.65 (0.01) | 0.70 (0.01) | 0.61 (0.01) | 0.60 (0.01) | 0.58 (0.01) | 0.55 (0.01) | 30.56 | 64.41 |
| AA/LL | 0.48 (0.01) | 0.48 (0.01) | 0.47 (0.01) | 0.44 (0.00) | 0.46 (0.00) | 0.45 (0.01) | 0.45 (0.01) | 9.21 | 7.48 |
| LL/LT | 0.91 (0.03) | 0.88 (0.03) | 0.98 (0.03) | 0.94 (0.02) | 0.93 (0.02) | 0.92 (0.03) | 0.90 (0.03) | 0.81 ns | 0.13 ns |

Los números entre paréntesis indican el error estándar.

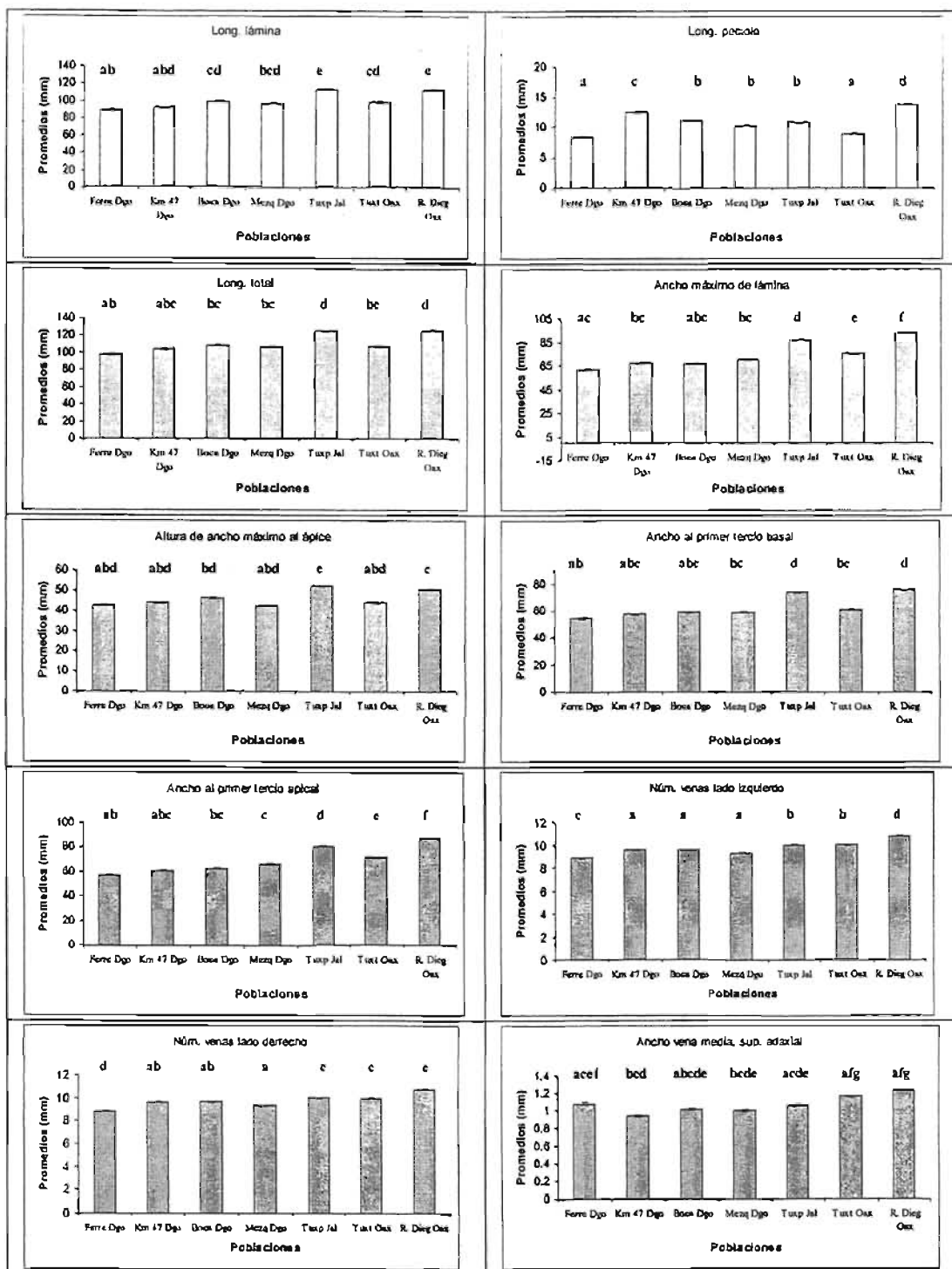


Fig. 1. Gráficos de promedios de las variables morfométricas para la especie *Q. conzatti*. Las letras en la parte superior de cada columna indican los resultados de la prueba de comparaciones múltiples Tukey-Kramer HSD, letras iguales indican que las poblaciones son similares, letras distintas indican que las poblaciones son significativamente diferentes.

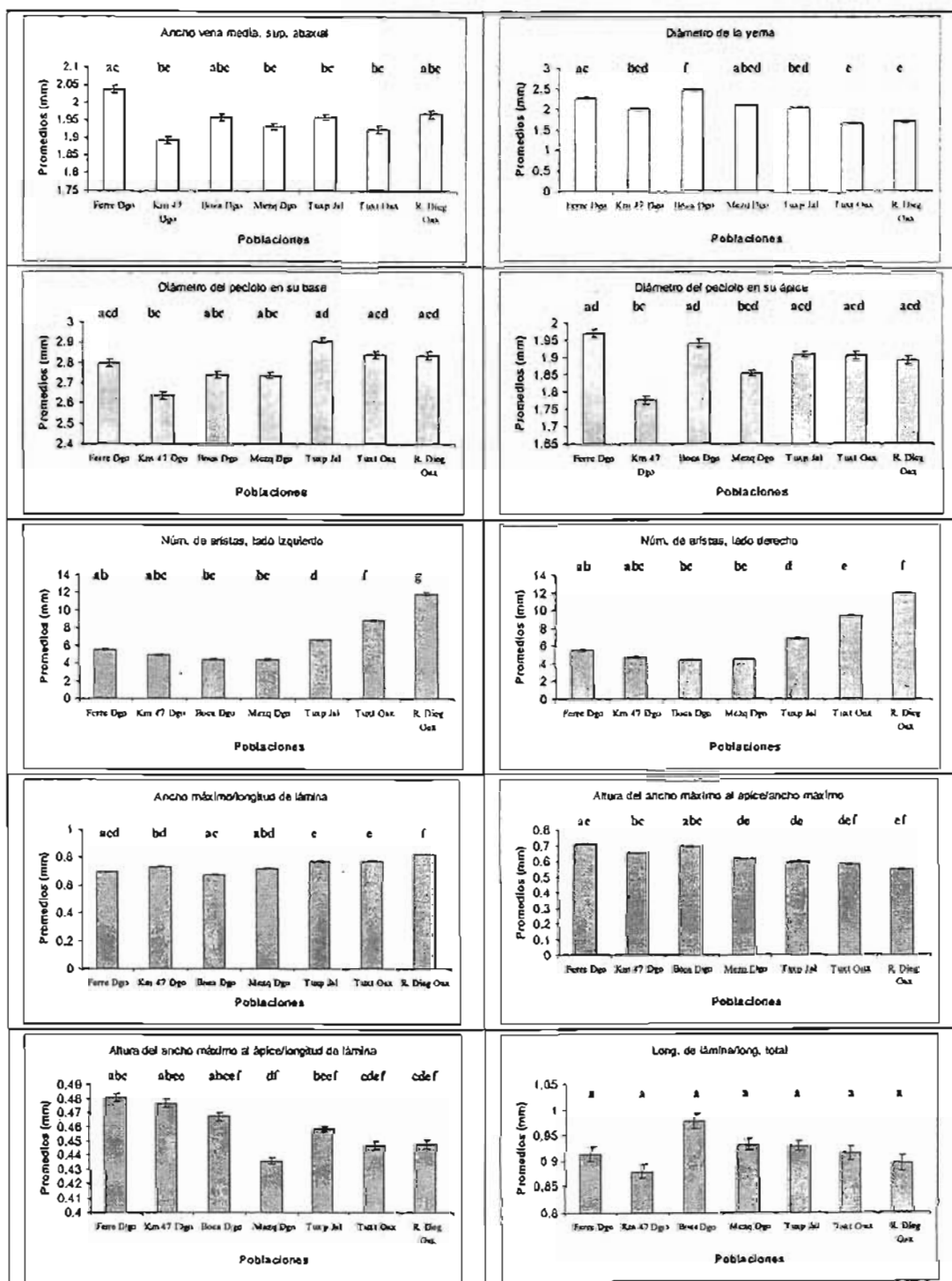


Fig. 1 (Cont.). Gráficos de promedios de las variables morfométricas para la especie *Q. conzattii*. Las letras en la parte superior de cada columna indican los resultados de la prueba de comparaciones múltiples Tukey-Kramer HSD, letras iguales indican que las poblaciones son similares, letras distintas indican que las poblaciones son significativamente diferentes.

Tabla 2. Resultados del análisis de varianza de 1 vía donde se muestran los valores promedio y el estadístico *F* para las poblaciones de *Q. eduardii* (ns = $P > 0.05$).

| Variable | Carpintero s Hgo. | Alejo. Hgo. | Tuxpan de Bol. Jal. | Súchil, Dgo. | Michilia, Dgo. | Mezquital, Dgo. | Ferrería, Dgo. | <i>F</i> |
|----------|----------------------|-----------------|------------------------|-----------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------|
| LL | 44.13 (0.43) | 39.72 (0.43) | 49.77 (0.43) | 28.11 (0.28) | 33.22 (0.30) | 39.53 (0.43) | 36.35 (0.32) | 395.11 |
| LP | 3.56 (0.06) | 3.43 (0.06) | 3.63 (0.06) | 3.36 (0.04) | 3.55 (0.04) | 4.34 (0.06) | 3.77 (0.05) | 31.55 |
| LT | 47.66 (0.46) | 43.12 (0.46) | 53.43 (0.46) | 31.44 (0.31) | 36.56 (0.33) | 43.92 (0.46) | 40.03 (0.35) | 352.73 |
| AM | 18.97 (0.20) | 17.06 (0.20) | 20.96 (0.20) | 13.30 (0.14) | 15.02 (0.14) | 15.05 (0.20) | 13.94 (0.15) | 241.90 |
| AA | 22.19 (0.32) | 20.93 (0.32) | 25.08 (0.32) | 16.12 (0.21) | 18.48 (0.23) | 24.32 (0.32) | 22.77 (0.24) | 161.79 |
| 1/3 B | 17.15 (0.19) | 15.50 (0.19) | 18.74 (0.19) | 12.50 (0.12) | 14.11 (0.13) | 14.31 (0.19) | 13.42 (0.14) | 181.17 |
| 1/3 A | 17.02 (0.19) | 14.70 (0.19) | 18.44 (0.19) | 10.78 (0.13) | 12.91 (0.14) | 12.05 (0.19) | 10.84 (0.14) | 314.53 |
| NVI | 8.91 (0.09) | 8.75 (0.09) | 9.28 (0.09) | 6.98 (0.06) | 6.61 (0.06) | 9.57 (0.09) | 8.32 (0.07) | 242.13 |
| NVD | 9.05 (0.09) | 8.81 (0.09) | 9.31 (0.09) | 6.99 (0.06) | 6.66 (0.06) | 9.57 (0.09) | 8.32 (0.07) | 249.19 |
| AVD | 0.57 (0.01) | 0.50 (0.01) | 0.55 (0.01) | 0.63 (0.01) | 0.62 (0.01) | 0.54 (0.01) | 0.51 (0.01) | 34.52 |
| AVB | 0.91 (0.02) | 0.86 (0.02) | 0.85 (0.02) | 0.98 (0.01) | 1.05 (0.02) | 0.97 (0.02) | 1.01 (0.02) | 16.62 |
| DY | 0.92 (0.03) | 0.92 (0.03) | 1.28 (0.03) | 0.91 (0.02) | 1.06 (0.02) | 1.05 (0.03) | 0.93 (0.02) | 33.20 |
| DPB | 1.04 (0.01) | 0.96 (0.01) | 1.27 (0.01) | 1.04 (0.01) | 1.03 (0.01) | 1.06 (0.01) | 1.00 (0.01) | 33.17 |
| DPA | 0.85 (0.02) | 0.80 (0.02) | 0.96 (0.02) | 0.84 (0.01) | 0.87 (0.01) | 0.80 (0.02) | 0.81 (0.01) | 11.99 |
| NAI | 4.07 (0.11) | 3.79 (0.11) | 3.67 (0.11) | 3.54 (0.07) | 3.19 (0.08) | 2.53 (0.11) | 2.48 (0.08) | 43.34 |
| NAD | 3.99 (0.10) | 3.86 (0.10) | 3.69 (0.10) | 3.54 (0.06) | 3.18 (0.07) | 2.63 (0.10) | 2.42 (0.07) | 53.92 |
| AM/LL | 0.43 (0.01) | 0.43 (0.01) | 0.43 (0.01) | 0.48 (0.00) | 0.46 (0.00) | 0.38 (0.01) | 0.39 (0.00) | 50.69 |
| AA/AM | 1.18 (0.02) | 1.24 (0.02) | 1.21 (0.02) | 1.23 (0.01) | 1.25 (0.01) | 1.64 (0.02) | 1.66 (0.01) | 155.95 |
| AA/LL | 0.50 (0.01) | 0.53 (0.01) | 0.51 (0.01) | 0.59 (0.01) | 0.56 (0.01) | 0.62 (0.01) | 0.63 (0.01) | 16.99 |
| LL/LT | 0.93 (0.03) | 0.92 (0.03) | 0.93 (0.03) | 0.93 (0.02) | 0.94 (0.02) | 0.90 (0.03) | 0.91 (0.02) | 0.42 ns |

Los números entre paréntesis indican el error estándar.

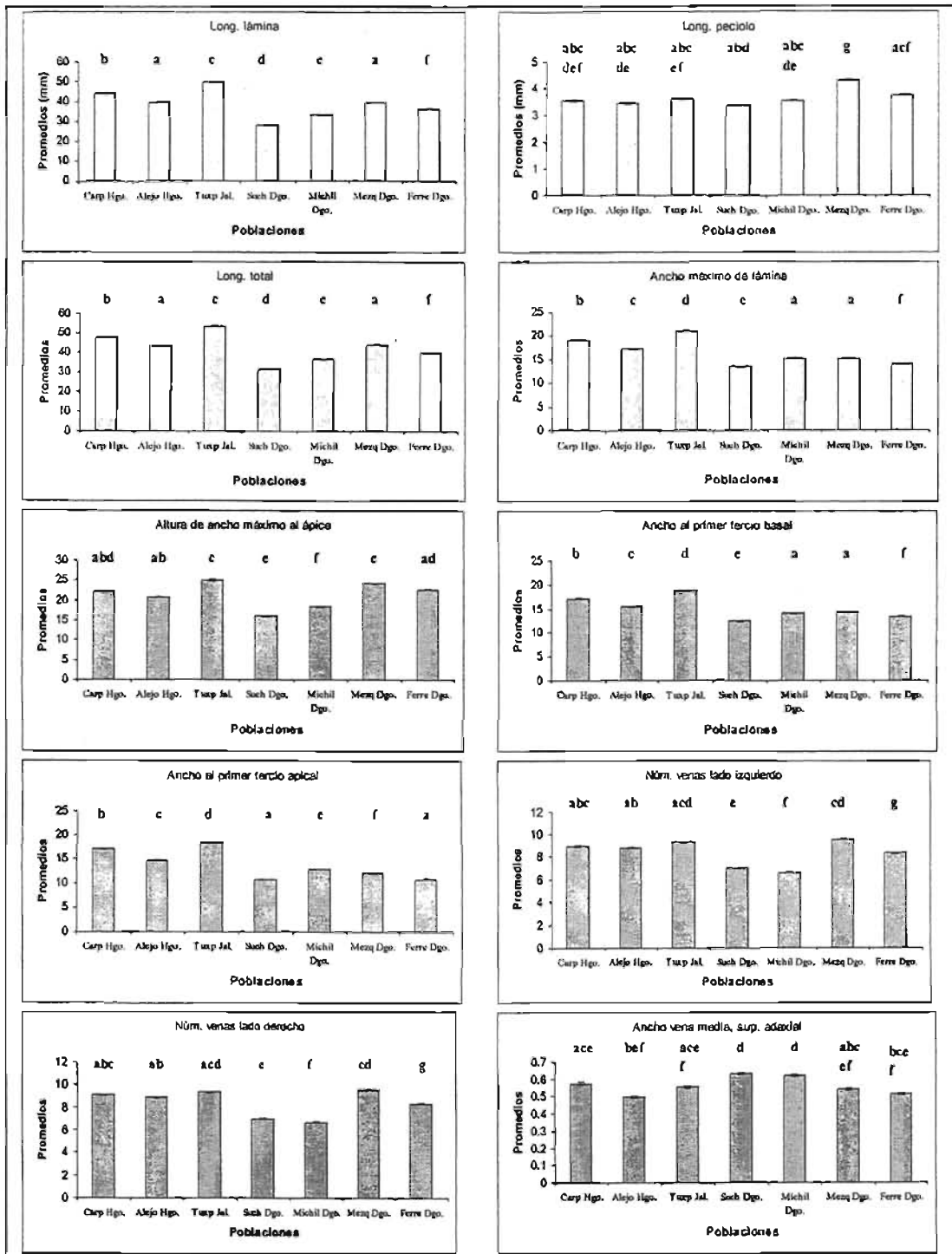


Fig. 2. Gráficos de promedios de las variables morfométricas para la especie *Q. eduardii*. Las letras en la parte superior de cada columna indican los resultados de la prueba de comparaciones múltiples Tukey-Kramer HSD, letras iguales indican que las poblaciones son similares, letras distintas indican que las poblaciones son significativamente diferentes.

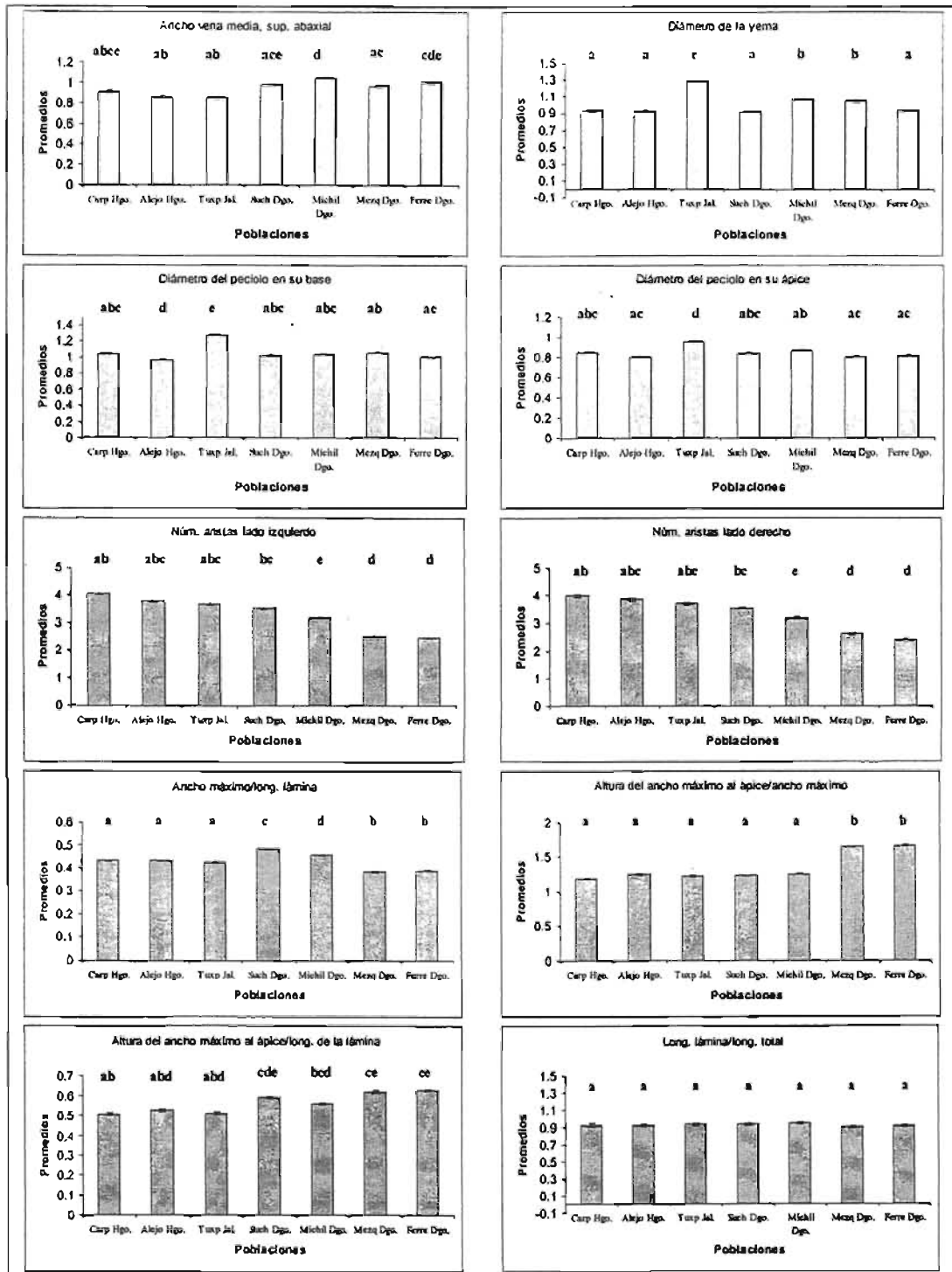


Fig. 2 (Cont.). Gráficos de promedios de las variables morfométricas para la especie *Q. eduardii*. Las letras en la parte superior de cada columna indican los resultados de la prueba de comparaciones múltiples Tukey-Kramer HSD, letras iguales indican que las poblaciones son similares, letras distintas indican que las poblaciones son significativamente diferentes.

Tabla 3. Análisis de varianza de 1 vía donde se muestran los valores promedio y el estadístico *F* para las poblaciones de *Q. conzattii* y *Q. eduardii* (ns = $P > 0.05$).

| Caracter | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | F |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---------|
| LL | 44.13 (0.98) | 39.72 (0.98) | 49.77 (0.98) | 28.11 (0.659) | 33.22 (0.70) | 39.53 (0.989) | 36.35 (0.73) | 64.52 (0.68) | 88.07 (1.03) | 91.86 (0.98) | 99.05 (0.98) | 76.85 (0.81) | 113.28 (0.67) | 98.58 (1.01) | 112.98 (1.10) | 1507.51 |
| LP | 3.56 (0.18) | 3.43 (0.18) | 3.63 (0.18) | 3.36 (0.12) | 3.55 (0.13) | 4.34 (0.18) | 3.77 (0.14) | 7.26 (0.13) | 8.28 (0.19) | 12.50 (0.18) | 11.02 (0.18) | 10.19 (0.15) | 10.75 (0.13) | 8.83 (0.19) | 13.68 (0.20) | 529.68 |
| LT | 47.66 (1.29) | 43.12 (1.29) | 53.43 (1.29) | 31.44 (0.85) | 36.56 (0.92) | 43.93 (1.29) | 40.03 (0.96) | 71.31 (0.89) | 97.17 (1.35) | 104.35 (1.29) | 109.55 (1.29) | 106.79 (1.07) | 125.51 (0.89) | 107.68 (1.33) | 126.43 (1.45) | 1085.85 |
| AM | 18.97 (0.79) | 17.06 (0.79) | 20.96 (0.79) | 13.30 (0.52) | 15.02 (0.56) | 15.05 (0.79) | 13.94 (0.59) | 39.36 (0.55) | 62.04 (0.83) | 67.37 (0.79) | 66.90 (0.79) | 70.13 (0.65) | 87.22 (0.54) | 75.75 (0.81) | 92.23 (0.89) | 1983.75 |
| AA | 21.19 (0.80) | 20.93 (0.80) | 25.08 (0.80) | 16.12 (0.53) | 18.48 (0.57) | 24.32 (0.809) | 22.77 (0.60) | 32.47 (0.55) | 42.48 (0.84) | 43.76 (0.80) | 46.23 (0.81) | 42.28 (0.66) | 52.03 (0.55) | 43.88 (0.82) | 50.51 (0.90) | 362.32 |
| I3 B | 17.15 (0.68) | 15.50 (0.69) | 18.74 (0.68) | 12.50 (0.45) | 14.11 (0.49) | 14.31 (0.689) | 13.42 (0.51) | 35.03 (0.47) | 54.46 (0.72) | 57.08 (0.68) | 58.31 (0.69) | 58.91 (0.57) | 73.50 (0.47) | 60.80 (0.71) | 75.38 (0.77) | 1742.63 |
| I3 A | 17.02 (0.75) | 14.70 (0.76) | 18.44 (0.75) | 10.78 (0.50) | 12.91 (0.54) | 12.05 (0.75) | 10.84 (0.56) | 35.55 (0.52) | 57.06 (0.79) | 60.79 (0.75) | 62.31 (0.76) | 65.89 (0.62) | 80.55 (0.52) | 71.64 (0.78) | 87.61 (0.85) | 1975.21 |
| NV1 | 8.91 (0.08) | 8.75 (0.08) | 9.28 (0.08) | 6.98 (0.06) | 6.81 (0.06) | 9.57 (0.08) | 8.32 (0.06) | 8.80 (0.06) | 8.85 (0.09) | 9.55 (0.08) | 9.54 (0.08) | 9.26 (0.07) | 9.98 (0.06) | 10.01 (0.09) | 10.77 (0.09) | 270.69 |
| NVD | 9.05 (0.08) | 8.81 (0.08) | 9.31 (0.08) | 6.99 (0.06) | 6.66 (0.06) | 9.57 (0.08) | 8.32 (0.06) | 8.85 (0.06) | 8.84 (0.09) | 9.61 (0.08) | 9.63 (0.08) | 9.32 (0.07) | 10.03 (0.06) | 10.00 (0.09) | 10.79 (0.09) | 278.57 |
| AVD | 0.57 (0.02) | 0.50 (0.02) | 0.55 (0.02) | 0.63 (0.01) | 0.62 (0.01) | 0.54 (0.02) | 0.51 (0.01) | 0.87 (0.01) | 1.08 (0.02) | 0.94 (0.02) | 1.02 (0.02) | 0.99 (0.01) | 1.06 (0.01) | 1.16 (0.02) | 1.23 (0.02) | 319.02 |
| AVB | 0.91 (0.02) | 0.86 (0.02) | 0.88 (0.02) | 0.98 (0.01) | 1.05 (0.01) | 0.97 (0.02) | 1.01 (0.02) | 1.49 (0.01) | 2.04 (0.02) | 1.89 (0.02) | 1.96 (0.02) | 1.93 (0.02) | 1.96 (0.01) | 1.92 (0.02) | 1.97 (0.02) | 749.39 |
| DY | 0.92 (0.04) | 0.92 (0.04) | 1.28 (0.04) | 0.91 (0.03) | 1.06 (0.03) | 1.05 (0.04) | 0.93 (0.03) | 1.22 (0.03) | 2.16 (0.04) | 1.99 (0.04) | 2.47 (0.04) | 2.08 (0.03) | 2.03 (0.03) | 1.64 (0.04) | 1.68 (0.04) | 267.47 |
| DPB | 1.04 (0.45) | 0.96 (0.46) | 1.27 (0.45) | 1.04 (0.38) | 1.04 (0.32) | 1.06 (0.45) | 1.00 (0.34) | 2.06 (0.21) | 2.80 (0.48) | 2.64 (0.45) | 2.74 (0.46) | 2.74 (0.28) | 2.91 (0.21) | 2.84 (0.47) | 2.84 (0.51) | 1516.30 |
| DPA | 0.85 (0.02) | 0.80 (0.02) | 0.96 (0.02) | 0.84 (0.01) | 0.87 (0.01) | 0.80 (0.02) | 0.81 (0.02) | 1.48 (0.01) | 1.97 (0.02) | 1.78 (0.02) | 1.94 (0.02) | 1.85 (0.02) | 1.91 (0.01) | 1.90 (0.02) | 1.89 (0.02) | 829.58 |
| NA1 | 4.07 (0.15) | 3.79 (0.15) | 3.67 (0.15) | 3.54 (0.10) | 3.19 (0.11) | 2.53 (0.15) | 2.48 (0.11) | 5.23 (0.11) | 5.56 (0.16) | 4.90 (0.15) | 4.42 (0.15) | 4.42 (0.13) | 6.67 (0.11) | 8.90 (0.16) | 11.89 (0.17) | 273.44 |
| NAD | 3.99 (0.15) | 3.86 (0.15) | 3.69 (0.15) | 3.54 (0.10) | 3.18 (0.11) | 2.63 (0.15) | 2.42 (0.11) | 5.21 (0.11) | 5.55 (0.16) | 4.75 (0.15) | 4.36 (0.15) | 4.48 (0.13) | 6.84 (0.10) | 9.39 (0.16) | 11.97 (0.17) | 300.20 |
| AM/LL | 0.43 (0.01) | 0.43 (0.01) | 0.43 (0.01) | 0.48 (0.00) | 0.46 (0.00) | 0.38 (0.01) | 0.29 (0.00) | 0.61 (0.00) | 0.70 (0.01) | 0.73 (0.01) | 0.68 (0.01) | 0.72 (0.01) | 0.77 (0.00) | 0.77 (0.01) | 0.82 (0.01) | 792.86 |
| AA/AM | 1.18 (0.01) | 1.24 (0.01) | 1.21 (0.01) | 1.23 (0.00) | 1.25 (0.00) | 1.64 (0.01) | 1.66 (0.00) | 0.87 (0.00) | 0.71 (0.01) | 0.65 (0.01) | 0.70 (0.01) | 0.61 (0.01) | 0.60 (0.00) | 0.58 (0.01) | 0.55 (0.01) | 432.36 |
| AA/LL | 0.50 (0.01) | 0.53 (0.01) | 0.51 (0.01) | 0.59 (0.01) | 0.56 (0.01) | 0.62 (0.01) | 0.63 (0.01) | 0.50 (0.01) | 0.48 (0.01) | 0.48 (0.01) | 0.47 (0.01) | 0.44 (0.01) | 0.46 (0.01) | 0.45 (0.01) | 0.45 (0.01) | 40.09 |
| LL/LT | 0.93 (0.03) | 0.92 (0.03) | 0.93 (0.03) | 0.93 (0.02) | 0.94 (0.02) | 0.90 (0.03) | 0.91 (0.02) | 0.91 (0.02) | 0.91 (0.03) | 0.88 (0.03) | 0.94 (0.03) | 0.93 (0.02) | 0.93 (0.02) | 0.92 (0.03) | 0.90 (0.03) | 0.64 ns |

1 y 2: *Q. eduardii*, Hgo, 3: *Q. eduardii*, Jal, 4, 5, 6 y 7: *Q. eduardii* Dgo, 8: Taxa intermedio, Dgo, 9, 10, 11 y 12: *Q. conzattii*, Dgo, 13: *Q. conzattii*, Jal, 14 y 15: *Q. conzattii*, Oax.. Los números en paréntesis indican error estándar

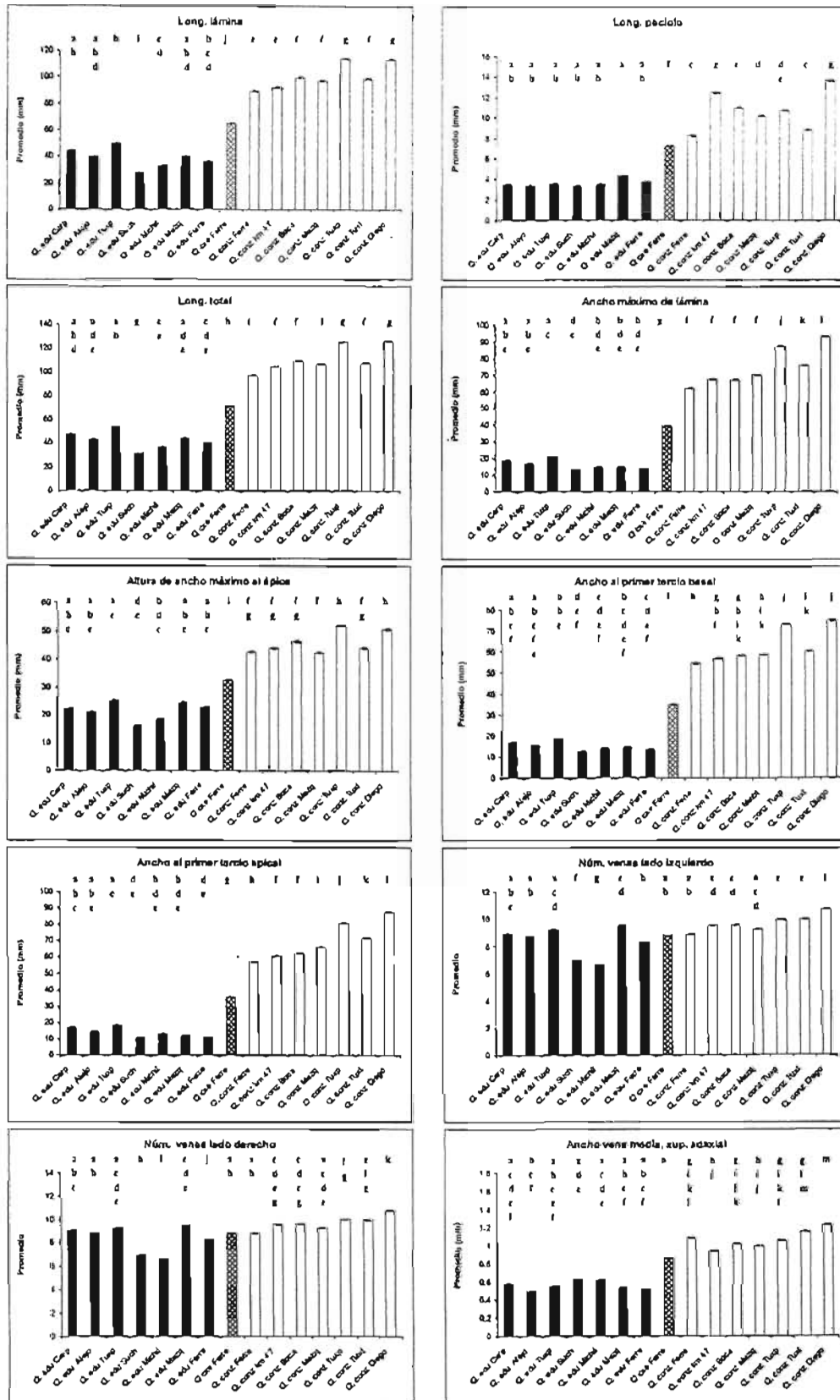


Fig. 3. Gráficos de promedios de las variables morfométricas para *Q. conzattii* y *Q. eduardii*. Las letras en la parte superior de cada columna indican los resultados de la prueba de comparaciones múltiples Tukey-Kramer HSD, letras iguales indican que las poblaciones son similares, letras distintas indican que las poblaciones son significativamente diferentes.

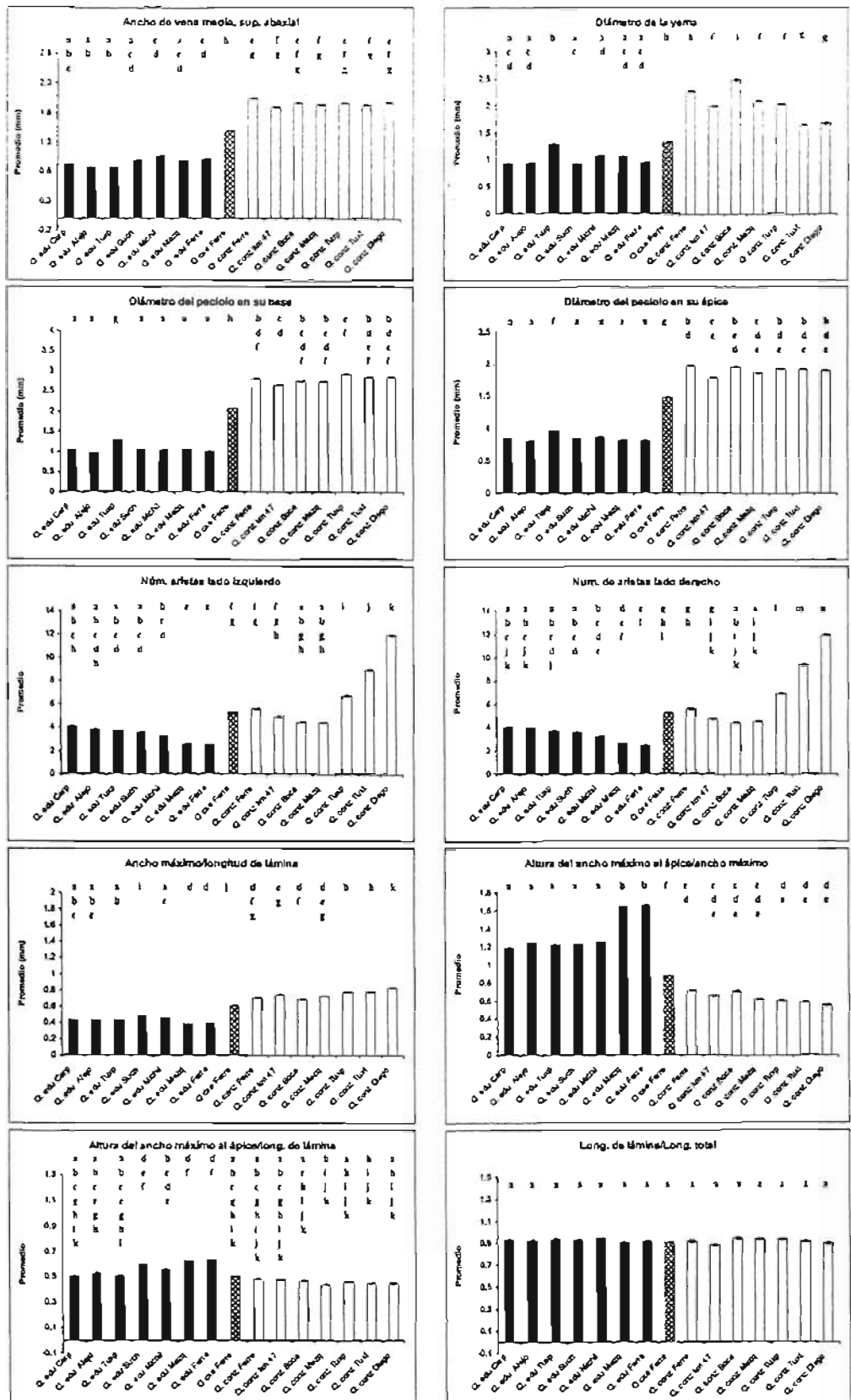


Fig. 3 (Cont.). Gráficos de promedios de las variables morfológicas para *Q. conzattii* y *Q. eduardii*. Las letras en la parte superior de cada columna indican los resultados de la prueba de comparaciones múltiples Tukey-Kramer HSD, letras iguales indican que las poblaciones son similares, letras distintas indican que las poblaciones son significativamente diferentes.

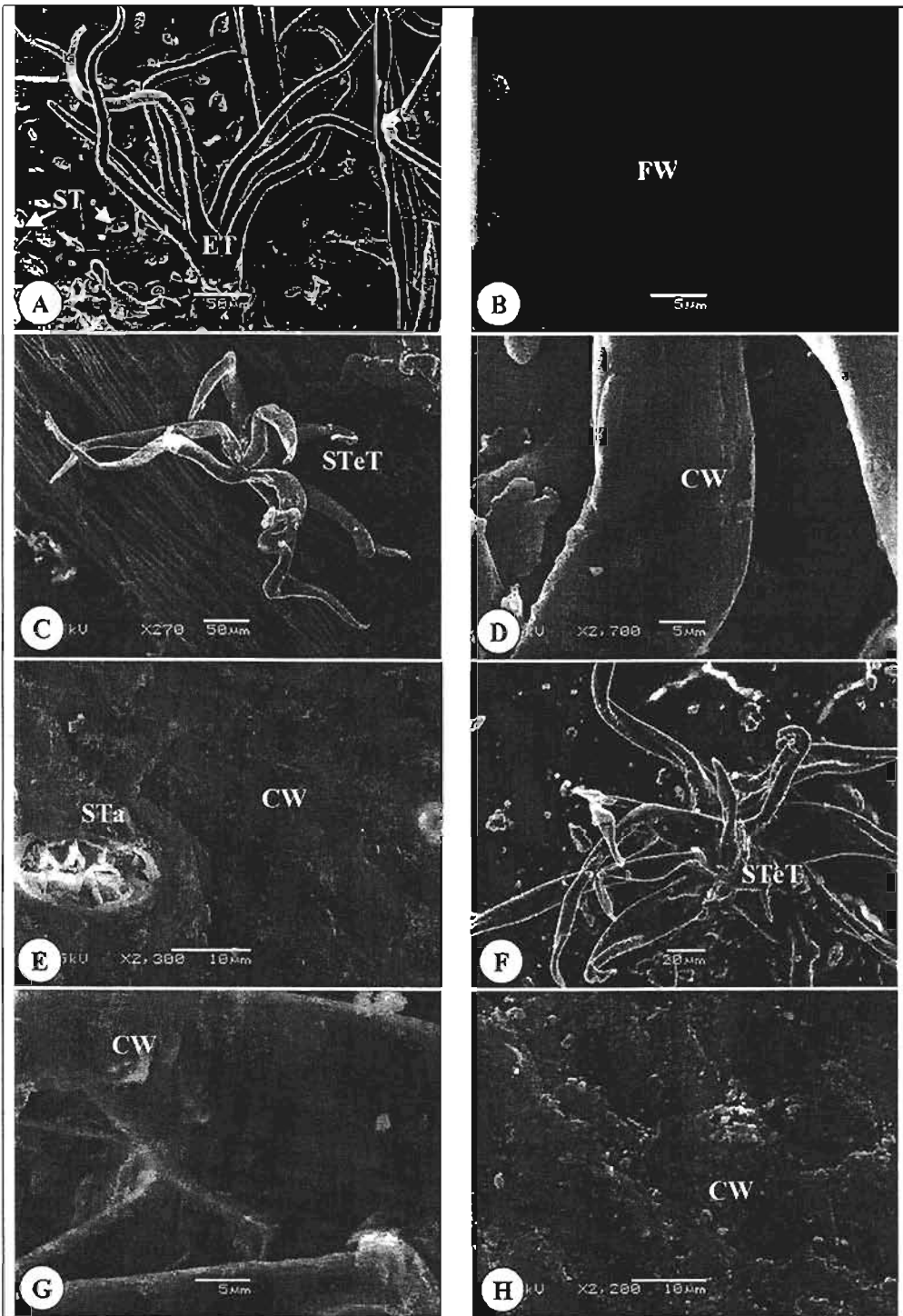
APÉNDICE II.

Caracterización micromorfológica de las especies *Q. conzattii*, *Q. eduardii* y taxa con morfología intermedia a través de microscopía electrónica de barrido.

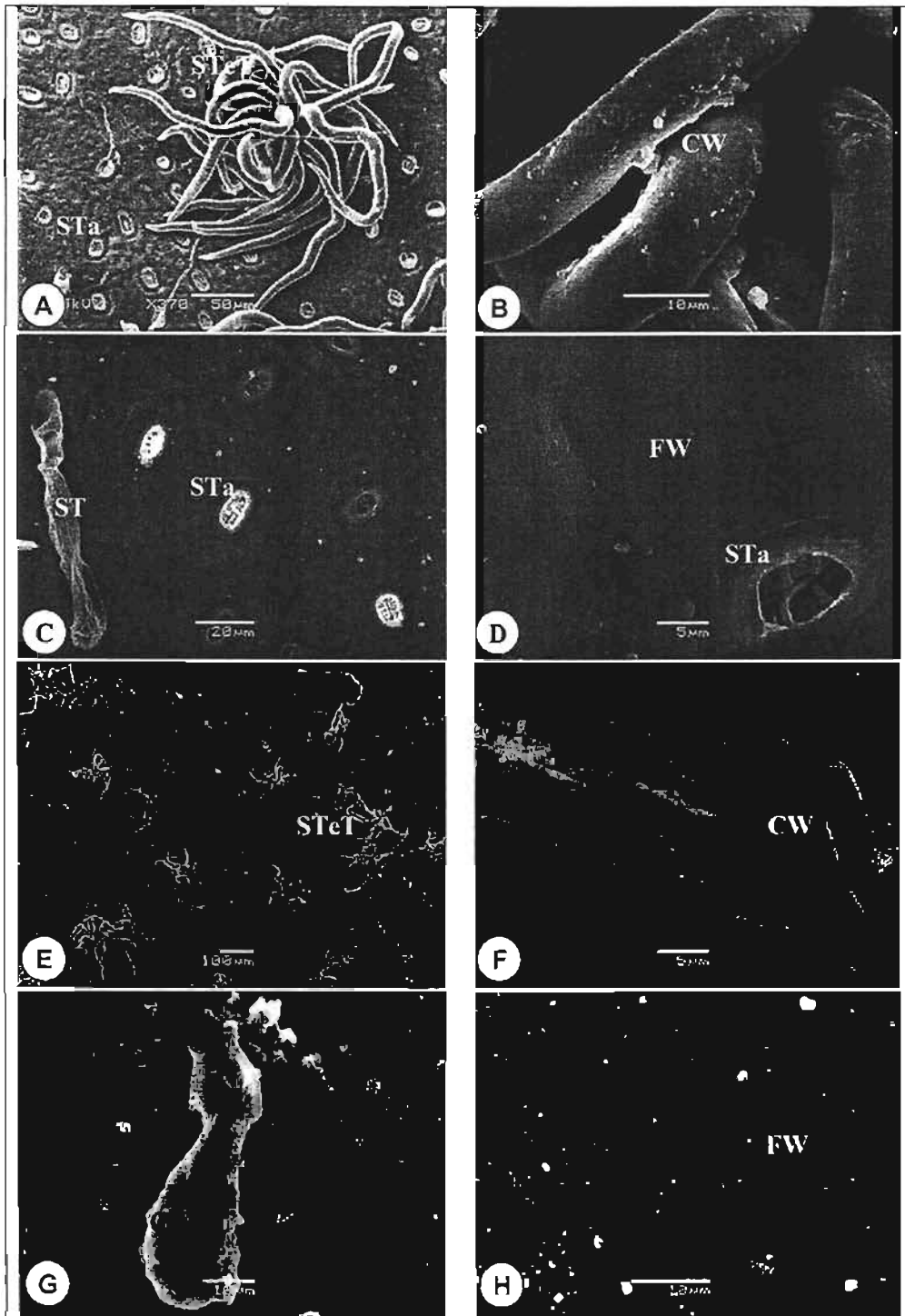
Métodos

Se realizaron análisis micro-morfológicos de hojas para las especies *Q. conzattii*, *Q. eduardii* y taxa con morfología intermedia de acuerdo al método de Hayat (1983) con algunas modificaciones. Se colectaron hojas maduras de ambas especies, se almacenaron en bolsas de papel y se secaron a temperatura ambiente a la sombra. Para su observación en el microscopio, las hojas se cortaron en rectángulos de 6 x 4 milímetros (24 mm², de la zona inter-nervadura de cada hoja) utilizando microscopio estereoscópico, estos rectángulos se adhirieron a soportes de aluminio (stubs) utilizando cinta de carbono conductora, posteriormente se pulverizó con oro por 44 segundos, (Sputter coater Bal-Tec SCD 050). Las imágenes fueron analizadas en microscopio electrónico de barrido Jeol (5610LV) con una velocidad de aceleración de 15 KV (Hayat, 1983). Fue utilizada la clasificación de Barthlott *et al.* (1996) para las ceras epicuticulares y para los tricomas fue utilizado la clasificación de Hardin (1976, 1979).

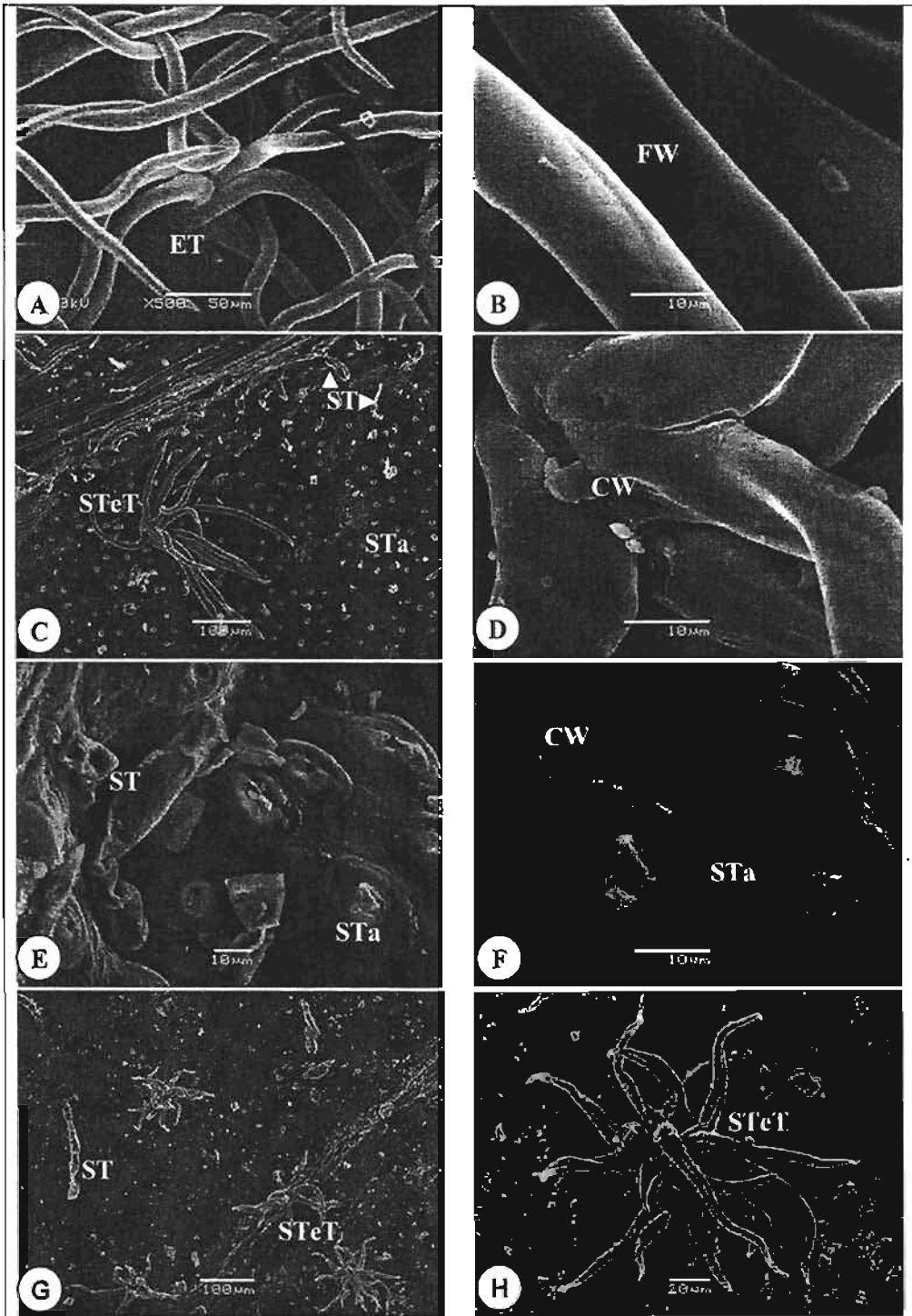
Los resultados de estos análisis se muestran en las siguientes láminas, y al final se presenta un cuadro comparativo (Tabla 1) de las estructuras observadas en los taxa examinados, en donde los caracteres subrayados están indicando estructuras con afinidad hacia *Q. conzattii* y en negrillas, se señalan caracteres novedosos, se presenta también una lámina con un resumen de diferencias observadas en ceras, estomas y tricomas.

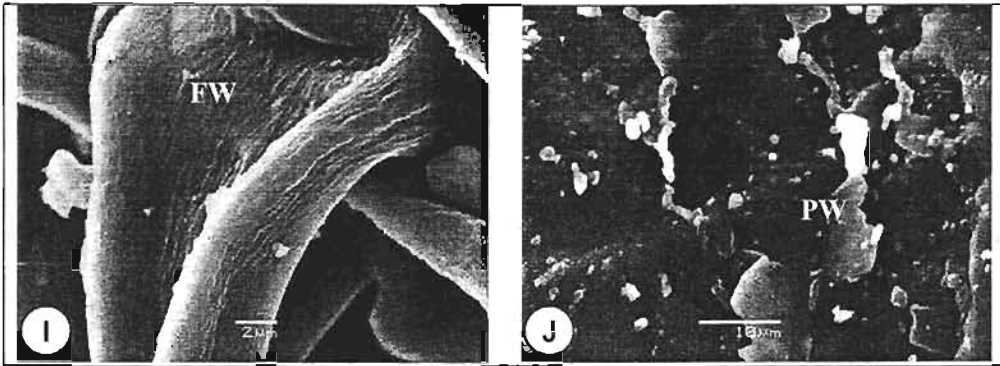


Microscopia electrónica de barrido (MEB) de hojas de *Q. conzattii* (Fagaceae). Superficie abaxial A tricomas estipitado (ET) y simples (ST); B cera tipo película del tricoma estipitado (FW); C tricoma estrellado (SteT); D cera tipo costra del tricoma estrellado (FW); E cera de la hoja tipo costra (CW) y estoma (STa). Superficie adaxial; F tricoma estrellado (SteT), G cera tipo costra del tricoma estrellado (CW); H cera de la hoja del tipo costra (CW).



Microscopía electrónica de barrido (MEB) de hojas de *Q. eduardii* (Fagaceae). Superficie abaxial A tricoma estrellado (STeT) y estomas (STa); B cera tipo costra del tricoma estrellado (CW); C estomas (STa) y tricoma simples (ST); D detalle del estoma (STa) y cera tipo película del la hoja (FW). Superficie adaxial E tricomas estrellados (STeT); F cera tipo costra (CW) del tricoma estrellado (ST); G cera tipo costra del tricoma simple (FW); H cera epicuticular, de la hoja, del tipo película (FW).



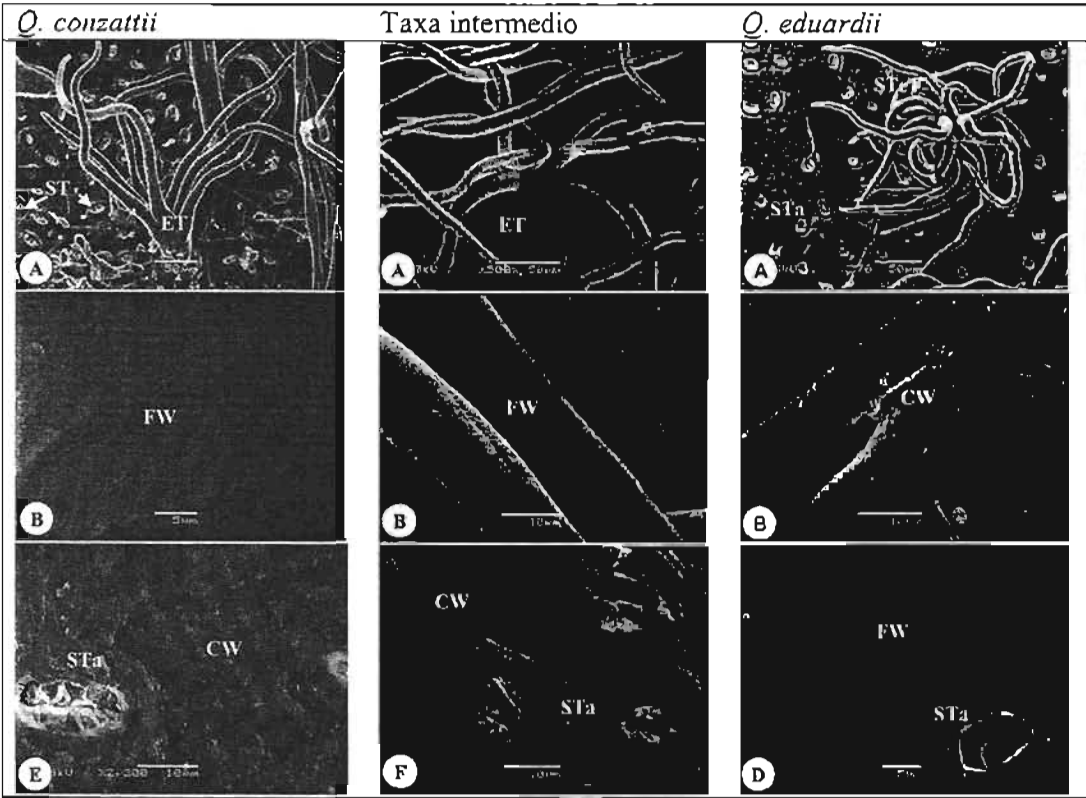


Microscopía electrónica de barrido de hojas (MEB) de taxa con morfología intermedia. **Superficie abaxial** A tricoma estipitado (ET); B cera tipo película del tricoma estipitado (FW), C estomas (STa) y tricomas estrellado (STeT) y simples (ST); D cera tipo costra del tricoma estrellado (CW); E estomas (STa) y tricoma simples (ST); F estomas y cera epicuticular, de la hoja, tipo costra (CW). **Superficie adaxial** G tricomas simples (ST) y estrellados (STeT); H detalle del tricoma estrellado (STeT); I cera tipo película del tricoma estrellado (FW); J cera epicuticular, de la hoja, del tipo placas (PW).

Tabla 1. Características micromorfológicas de las especies *Quercus conzattii*, *Q. eduardii* y taxa con morfología intermedia.

| <i>Q. conzattii</i> | Taxa intermedio | <i>Q. eduardii</i> |
|---|--|---|
| Superficie abaxial | | |
| <u>Tricoma estipitado, cera tipo película</u> | <u>Tricoma estipitado, cera tipo película</u> | |
| Tricoma estrellado, cera tipo costra | Tricoma estrellado, cera tipo costra | Tricoma estrellado, cera tipo costra |
| Tricoma simple, cera tipo película | Tricoma simple, cera tipo película | Tricoma simple, cera tipo película |
| <u>Estomas arriba del nivel de la hoja, cera tipo película</u> | <u>Estomas arriba del nivel de la hoja, cera tipo costra</u> | Estomas al mismo nivel de la hoja, cera tipo película |
| <u>Cera de la hoja tipo costra</u> | <u>Cera de la hoja tipo costra</u> | Cera de la hoja tipo película |
| Superficie adaxial | | |
| Tricoma estrellado, cera tipo costra | Tricoma estrellado, cera tipo película | Tricoma estrellado, cera tipo costra |
| Tricoma simple, <u>cera tipo película</u> | Tricoma simple, <u>cera tipo película</u> | Tricoma simple, cera tipo costra |
| Cera epicuticular de la hoja tipo costra | Cera epicuticular de la hoja tipo placas | Cera epicuticular de la hoja tipo película |
| No hay estomas | No hay estomas | No hay estomas |
| Subrayado indica caracteres que son compartidos con algún progenitor, negrillas indican caracteres novedosos. | | |

Resumen de diferencias (ver terminología en tablas anteriores)



APÉNDICE III

Análisis genéticos con el marcador molecular RAPDs (Randomly amplified polymorphic DNA) para las especies *Q. conzattii* y *Q. eduardii*.

Se realizaron las extracciones de ADN total de acuerdo al protocolo de extracción de Lefort y Douglas (1999). Una vez realizada la extracción, se cuantificó el ADN total obtenido mediante fluorimetría (DyNA quand 200Hofer Pharmacia Biotech). A partir de estas concentraciones se hicieron diluciones para obtener alícuotas de DNA a una concentración de 10ng/ μ l. que fueron utilizadas para realizar las amplificaciones con el marcador RAPD.

Posteriormente se probaron 51 oligonucleótidos de 10 pares de bases cada uno del marcador RAPD de las series Operón A, B, C, F, G, I. De éstos se seleccionaron 6, los cuales produjeron bandas que presentaban diferencias en frecuencias en ambas especies, así como claridad y reproducibilidad en las bandas.

Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador MJ Research, Inc. con un volumen total por reacción de 25 μ l. Dicho volumen contenía 2 μ l de ADN a una concentración de 10 ng/ μ l, y 24 μ l de una solución que contiene: H₂O, Buffer 10X, MgCl₂ 50mM, dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 10mM, oligonucleótido (10 mM) suero de albúmina de bovino y Taq polimerasa.

El programa del termociclador que se utilizó para generar las amplificaciones por medio de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), se compone de 44 ciclos, cada uno consiste de 1 minuto a 94° C para desnaturalizar la cadena de ADN, 1 minuto a 36° C para alinear el oligonucleótido a uno o varios sitios homólogos en las cadenas sencillas de ADN, 2 minutos a 72° C para replicación de la cadena complementaria, y una extensión final a 72° C por 7 minutos.

Los productos de amplificación fueron separados por medio de electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1.5%, utilizando una solución buffer 0.5 X TBE, aplicando un voltaje de 200 V, durante 2 horas. Cada gel incluye un carril con marcador de peso molecular (123 pb) como referencia del peso de las bandas amplificadas, la tinción se realizó con bromuro de etidio y las bandas de las amplificaciones fueron visualizadas en luz ultra violeta.

Registro de datos:

Cada banda (producto de amplificación) representa dos alelos por locus. Con esta técnica no es posible distinguir homocigos dominantes de heterocigos, para un fragmento particular. Es por esto que los RAPDs se conocen como marcadores dominantes ya que el carácter que obtienen es la presencia/ausencia de una secuencia amplificada de DNA y por lo tanto los términos dominante y recesivo se refieren solo a la amplificación o no amplificación de un fragmento durante la PCR (Otero, *et al.*, 1997).

Por lo tanto, a cada banda (fragmento amplificado) se le asigna el valor de 1 (homocigo dominante o heterocigo) mientras que su ausencia se registra como 0 (homocigo recesivo)

Se realizaron análisis de diversidad molecular para cada población mediante el cálculo del porcentaje de loci polimórficos y el índice de diversidad de Shannon, mediante el programa POPGENE versión 1.31 (Yeah *et al.*, 1999).

Para determinar las relaciones genéticas entre las poblaciones se realizó una matriz de pares de distancias Manhattan (basadas en la frecuencia de la presencia o ausencia de bandas y no asume equilibrio Hardy-Weinberg) con el programa RAPDIST (Black, 1995), además se elaboró un dendrograma basado en esta matriz de distancias

con el procedimiento NEIGHBOR en el paquete PHYLIP 3.5 (Felsenstein, 1993) utilizando método UPGMA.

Se llevó a cabo un análisis de varianza molecular para investigar como es la partición de la varianza molecular entre poblaciones, y dentro de poblaciones. Este análisis se llevó a cabo utilizando el programa ARLEQUIN versión 2000 (Schneider *et al.*, 2000)

Se realizaron análisis de escalamiento multidimensional con el paquete estadístico SPSS Versión 10, a partir de matrices de distancias genéticas entre individuos, obtenidas con el programa RAPDLOT, y se hicieron los gráficos con los valores individuales obtenidos, contrastando las diferentes poblaciones analizadas.

Resultados

A partir de los 6 oligonucleótidos utilizados en los 325 individuos de las especies *Quercus conzattii*, *Q. eduardii* y taxa con morfología intermedia analizados se generaron un total 68 loci.

Con base en análisis estadísticos preliminares (matriz de distancias genéticas) se decidió retirar la población de *Q. conzattii* de Tuxpan, Jal., para un análisis taxnómico más detallado, debido a que esta población mostró ser muy distinta de las demás poblaciones de *Q. conzattii*.

Los menores valores del porcentaje de loci polimórficos (% P) y el Índice de Shannon fueron obtenidos por la población de *Q. eduardii*, de Carpinteros Hgo., con un valor de 16.18 % y 0.1022 respectivamente; los valores mayores fueron obtenido por la población también de *Q. eduardii*, de La Michilia, Dgo., con 41.18 % y 0.2438 respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de diversidad genética: porcentaje de loci polimórficos e Índice de diversidad de Shannon (desviación estándar, entre paréntesis) obtenidos para *Quercus conzattii*, *Q. eduardii* y taxa intermedio.

| Especie | Localidad | Coordenadas geográficas | (% P) | Índice de Shannon | |
|---------------------|-------------------------|---------------------------|-------|-------------------|--------|
| <i>Q. eduardii</i> | Carpinteros, Hgo | 20°10.82N 98°17.1W | 16.18 | 0.1022 | (0.23) |
| <i>Q. eduardii</i> | San Alejo, Hgo | 20°32.36N 98°34.2W | 33.82 | 0.2136 | (0.30) |
| <i>Q. eduardii</i> | Tuxpan de Bolaños, Jal | 21°53.163N 103°50.515W | 35.29 | 0.2218 | (0.30) |
| <i>Q. eduardii</i> | Súchil, Dgo | 23°35.488N 104°01.354W | 26.47 | 0.1653 | (0.28) |
| <i>Q. eduardii</i> | La Michilia, Dgo | 23°23.267N 104°11.974W | 41.18 | 0.2438 | (0.29) |
| <i>Q. eduardii</i> | Mezquital-Michilia, Dgo | 23°26.941N 104°21.791W | 20.59 | 0.1298 | (0.25) |
| <i>Q. eduardii</i> | Ferrería, Dgo | 23°56.506N 104°41.416W | 30.88 | 0.205 | (0.30) |
| Taxa intermedio | Ferrería, Dgo | 23°56.506N 104°41.416W | 35.29 | 0.2211 | (0.30) |
| <i>Q. conzattii</i> | Ferrería, Dgo | 23°56.506N 104°41.416W | 29.41 | 0.1825 | (0.28) |
| <i>Q. conzattii</i> | Km. 47, Dgo | 23°44.16N 104°24.3W | 32.35 | 0.1848 | (0.27) |
| <i>Q. conzattii</i> | Boca de Mezquital, Dgo | 23°47.018N 104°25.244W | 25 | 0.1524 | (0.26) |
| <i>Q. conzattii</i> | Mezquital-Michilia, Dgo | 23°26.941N 104°21.791W | 30.88 | 0.1738 | (0.26) |
| <i>Q. conzattii</i> | Tuxtepec, Oax | | 25 | 0.1632 | (0.28) |
| <i>Q. conzattii</i> | R. Diego, Oax | | 23.53 | 0.1423 | (0.25) |

El dendrograma UPGMA generado (Fig. 1) a partir de la matriz de distancias no resuelve las relaciones entre las especies *Q. conzattii*, *Q. eduardii* y el taxa con morfología intermedia, ya que como se puede observar, ambas especies se encuentran mezcladas en las diferentes ramas de dendrograma.

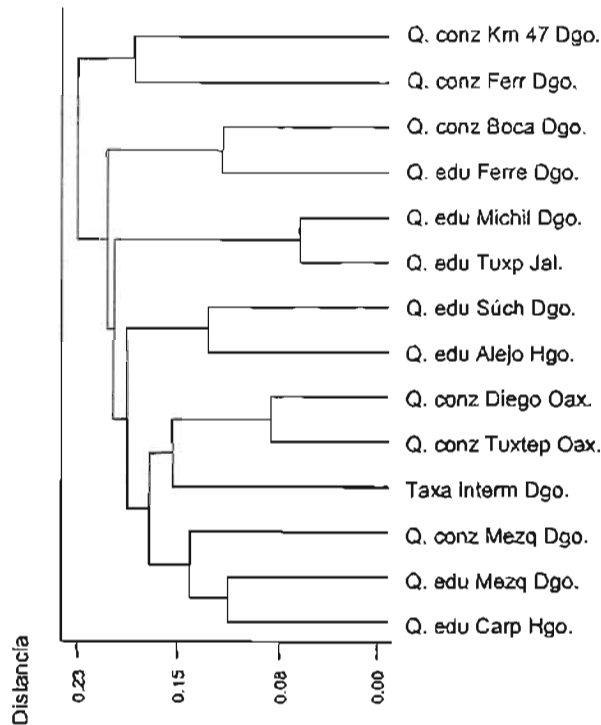


Fig. 1. Dendrograma UPGMA basado en la matriz de distancias entre pares de poblaciones de *Quercus conzattii*, *Q. eduardii* y taxa intermedio.

El análisis de varianza molecular encontró que las poblaciones poseen una diferenciación muy alta, $F_{st} = 0.69$, así como también, el mayor porcentaje de variación se encuentra entre poblaciones (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis de varianza molecular y Coeficiente de diferenciación (F_{st}) para las poblaciones de *Quercus conzattii* y *Q. eduardii*.

| Fuente de variación | d.f. | suma de cuadrados | Componentes de varianza | Porcentaje de variación | P |
|------------------------|---------|-------------------|-------------------------|-------------------------|--------|
| Entre poblaciones | 13 | 1047.619 | 3.9266 | 69.33 | <0.001 |
| Dentro de poblaciones | 268 | 465.466 | 1.7368 | 30.67 | <0.001 |
| Total | 281 | 1523.085 | 5.6634 | | |
| Indice de Fijación FST | 0.69333 | | | | |

El análisis de escalamiento multidimensional basado en la matriz de distancias (Fig. 2) entre individuos muestra que el agrupamiento de las poblaciones de *Q. conzattii* es un tanto congruente, es decir, se forman grupos bien definidos, y a excepción de la población de Boca de Mezquital, Dgo. que se aleja un poco de los grupos de *Q.*

conzattii, las demás poblaciones se agrupan muy cercanas en los gráficos. Para el caso de *Q. eduardii*, solamente la población de Tuxpan, Jal. y La Michilia, Dgo. son las que se agrupa mas cerca, las demás poblaciones se agrupan de manera intermedia o muy cercanas a *Q. conzattii*.

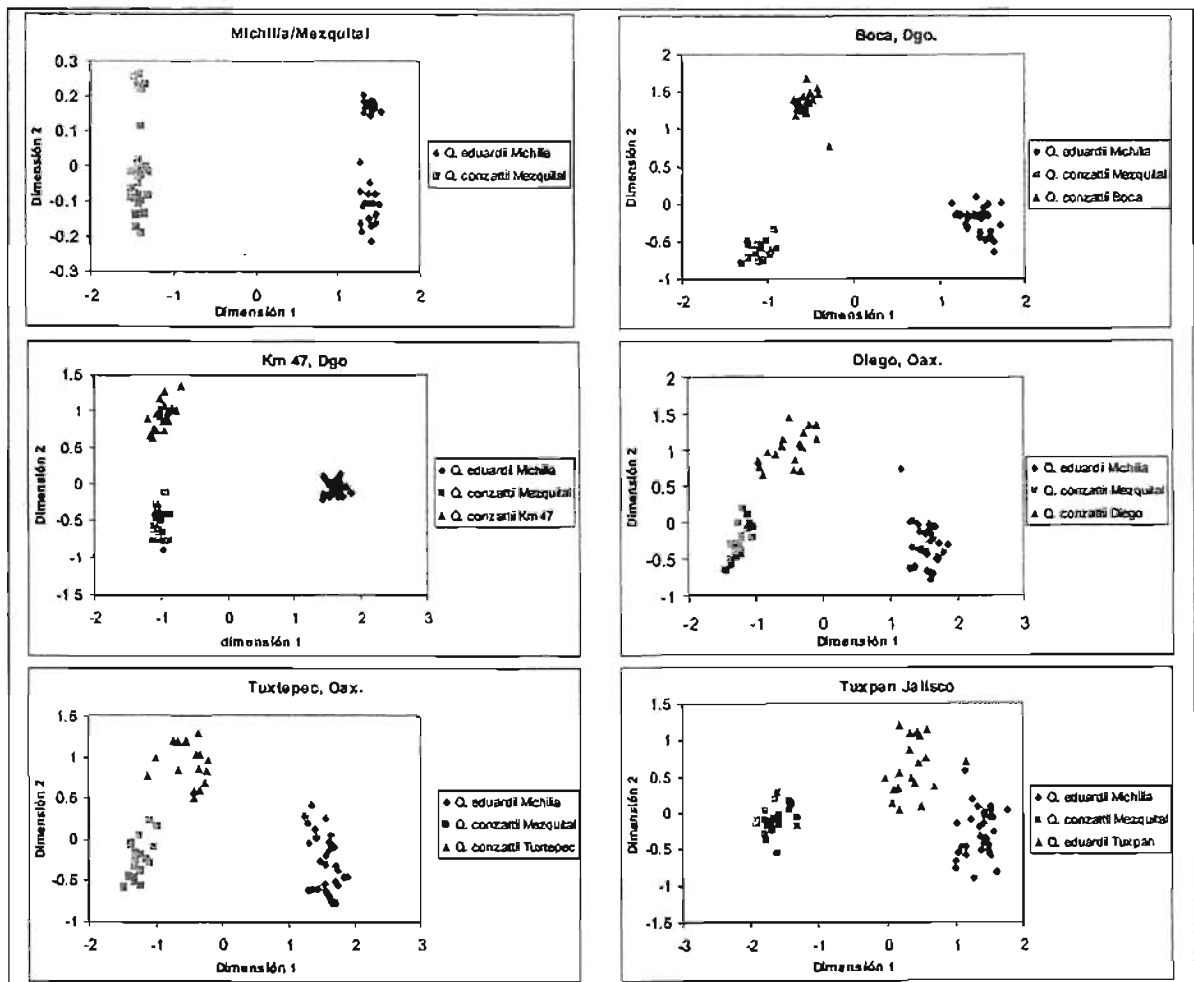


Fig. 2. Gráficos del análisis de escalamiento multidimensional, donde se muestran la agrupación de los individuos en las diferentes poblaciones de *Q. conzattii*, *Q. eduardii* y el taxa intermedio.

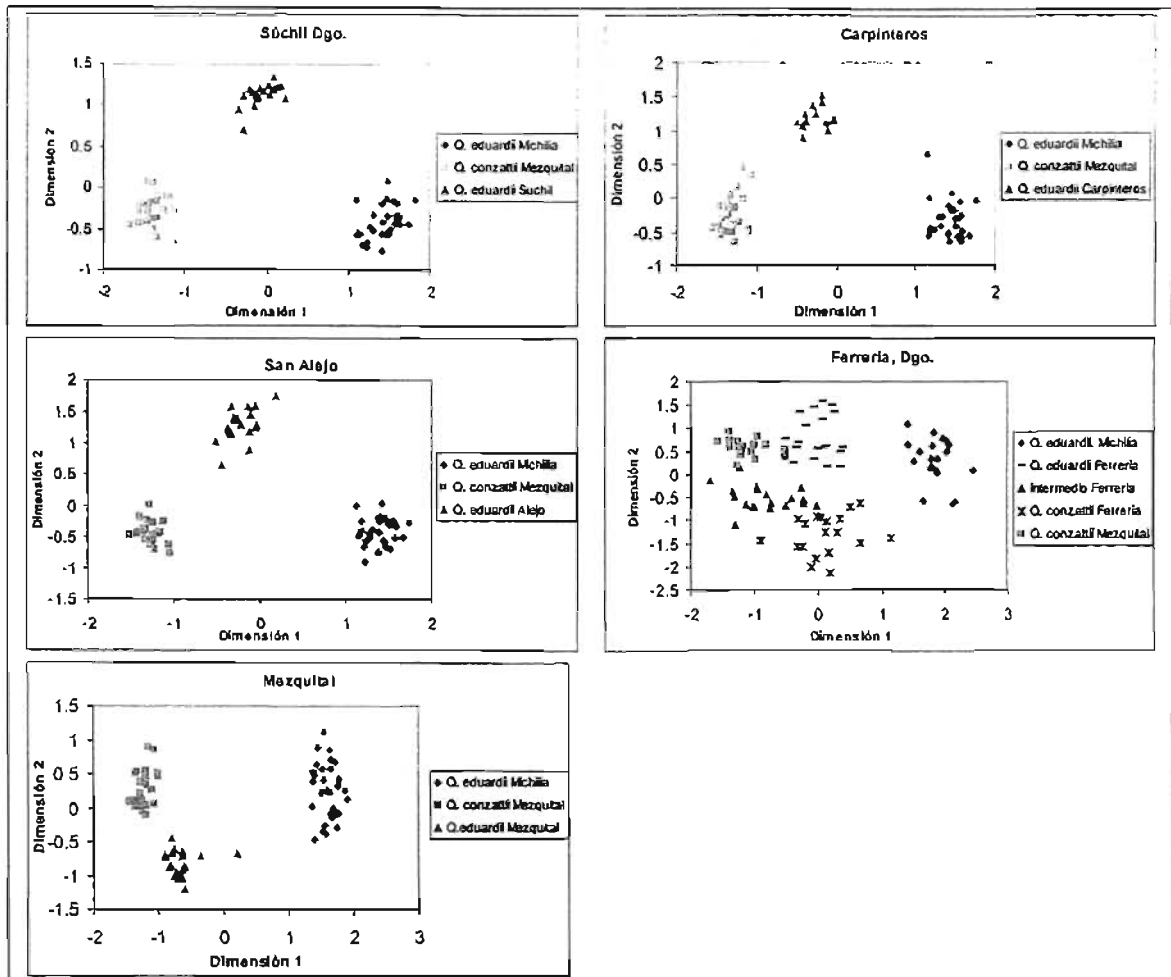


Fig. 2 (cont.). Gráficos del análisis de escalamiento multidimensional, donde se muestran la agrupación de los individuos en las diferentes poblaciones de *Q. conzattii*, *Q. eduardii* y el taxa intermedio.

Como podemos ver, los resultados obtenidos a partir de las amplificaciones de 6 oligonucleótidos del marcador RAPDs no muestran suficiente resolución para poder establecer claramente las relaciones entre las especies en cuestión. Debido a ello, se están haciendo pruebas con otro marcador molecular, PCR-RFLPs, para verificar, si los resultados que están mostrando los RAPDs son parte de la variación natural de estas especies de encinos, o bien, es resultado de que se trabajó con marcadores semidiagnósticos, y las diferencias en las frecuencia de las bandas no fue suficiente para que los resultados muestren congruencia.

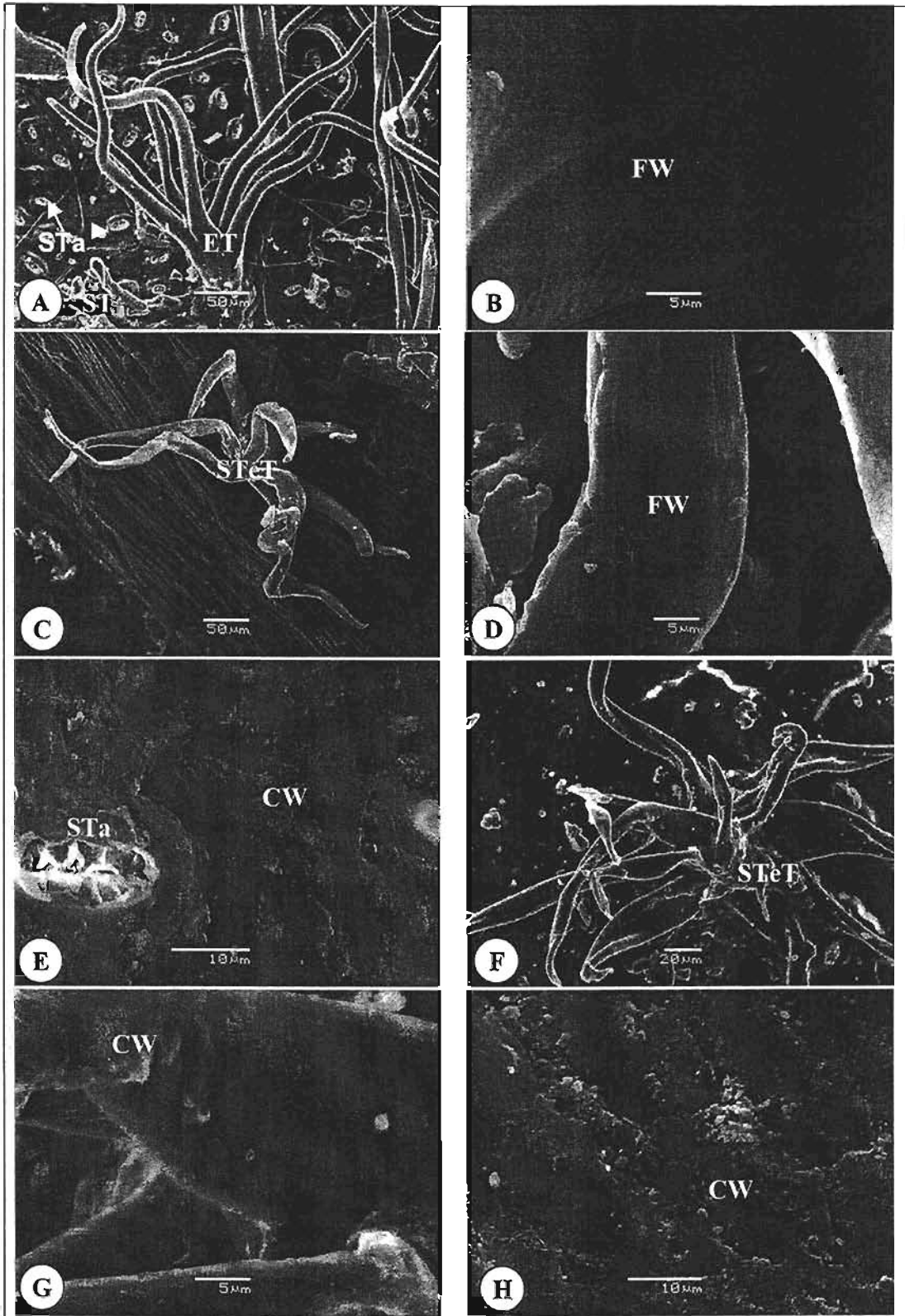
APÉNDICE IV.

Caracterización micromorfológica de las especies *Q. conzattii* y *Q. urbanii* a través de microscopía electrónica de barrido.

Métodos

Se realizaron análisis micro-morfológicos de hojas para las especies *Q. conzattii* y *Q. urbanii* de acuerdo al método de Hayat (1983) con algunas modificaciones. Se colectaron hojas maduras de ambas especies, se almacenaron en bolsas de papel y se secaron a temperatura ambiente a la sombra. Para su observación en el microscopio, las hojas se cortaron en rectángulos de 6 x 4 milímetros (24 mm², de la zona internervadura de cada hoja) utilizando microscopio estereoscópico, estos rectángulos se adhirieron a soportes de aluminio (stubs) utilizando cinta de carbono conductora, posteriormente se pulverizó con oro por 44 segundos, (Spulter coater Bal-Tec SCD 050). Las imágenes fueron analizadas en microscopio electrónico de barrido Jeol (5610LV) con una velocidad de aceleración de 15 KV (Hayat, 1983). Fue utilizada la clasificación de Barthlott *et al.* (1996) para las ceras epicuticulares y para los tricomas fue utilizado la clasificación de Hardin (1976 y 1979).

Los resultados de estos análisis se muestran en las siguientes láminas, y al final se presenta un cuadro comparativo (Tabla 1) de las estructuras observadas en ambas especies, en donde los asteriscos están indicando las estructuras en las cuales estas especies son diferentes. Se presenta también una lámina con fotografías de las diferencias observadas en ceras, estomas y tricomas.



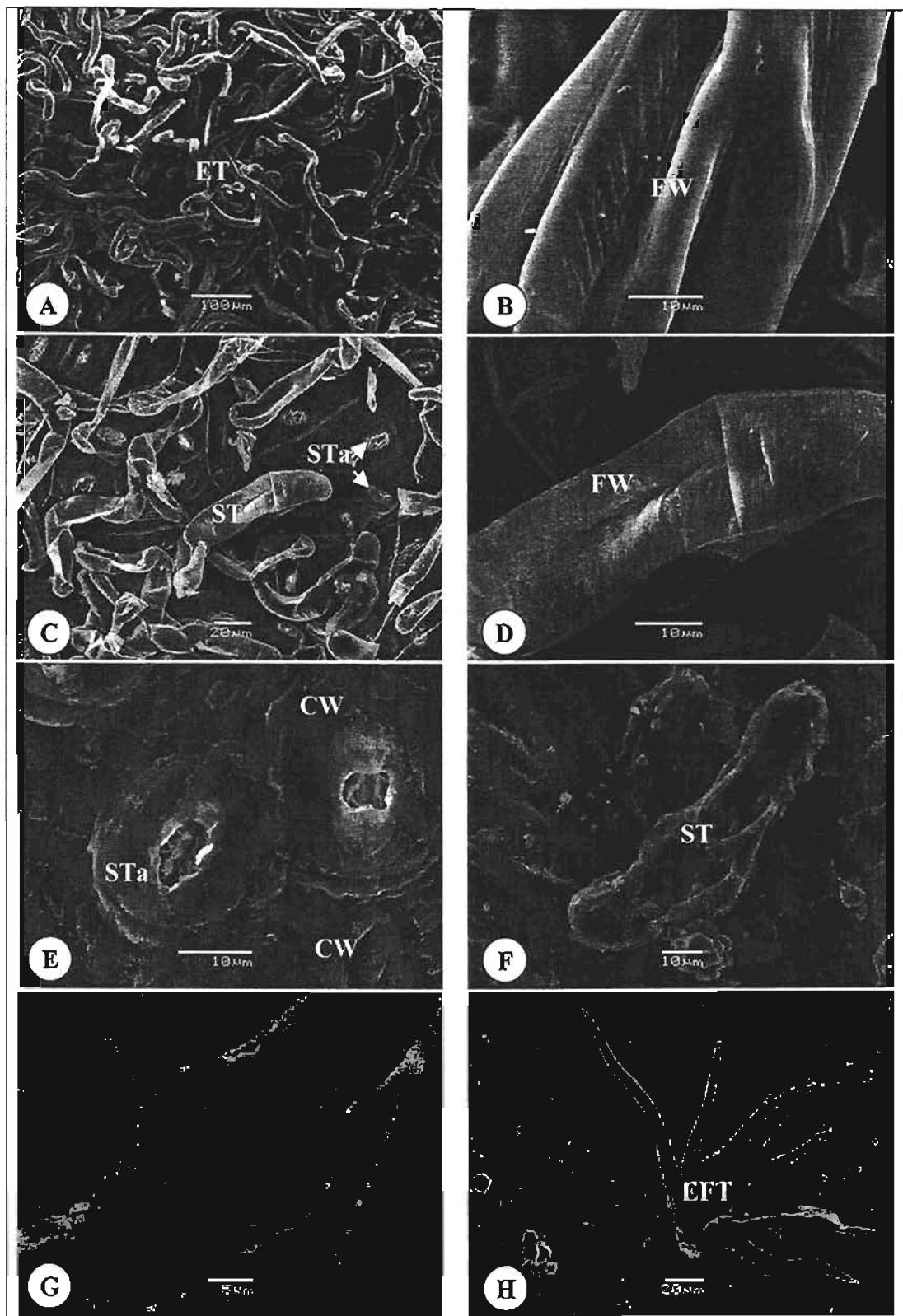
Fotografías de microscopía electrónica de barrido (MEB) de hojas de *Q. conzattii*
(Fagaceae: *Lobatae*).

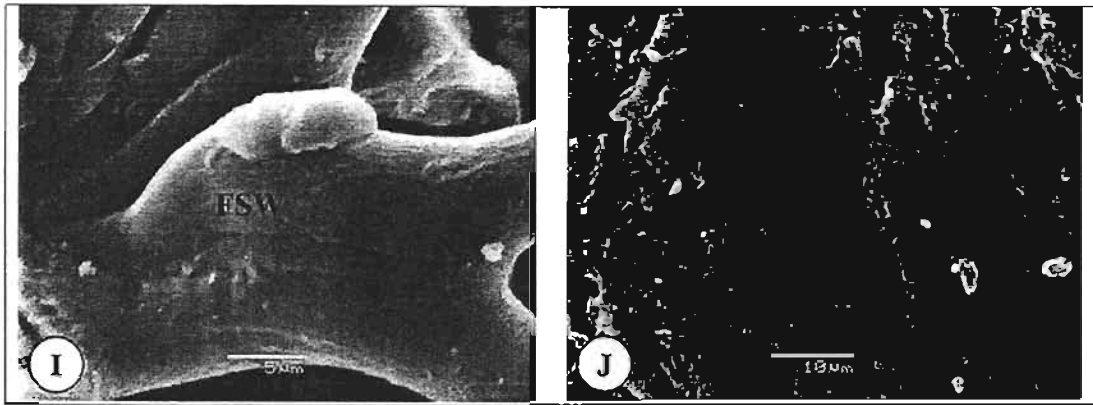
Superficie abaxial

A tricomas estipitado (ET) y simples (ST); **B** cera tipo película del tricoma estipitado (FW); **C** tricoma estrellado (SteT); **D** cera tipo película del tricoma estrellado (FW); **E** cera de la hoja tipo costra (CW) y estoma (STa).

Superficie adaxial

F tricoma estrellado (SteT); **G** cera tipo costra del tricoma estrellado (CW); **H** cera de la hoja del tipo costra (CW).





Fotografías de microscopía electrónica de barrido (MEB) de hojas de *Q. urbanii*

(Fagaceae: *Lobatae*).

Superficie abaxial

A Vista general de tricomas estipitado fasciculados (ET); B Cera tipo película del tricoma estipitado fasciculado; C Tricomas simples (ST) y estomas (STa); D Cera tipo película del tricoma simple (FW); E Estoma (STa) y cera tipo costra de la hoja (CW).

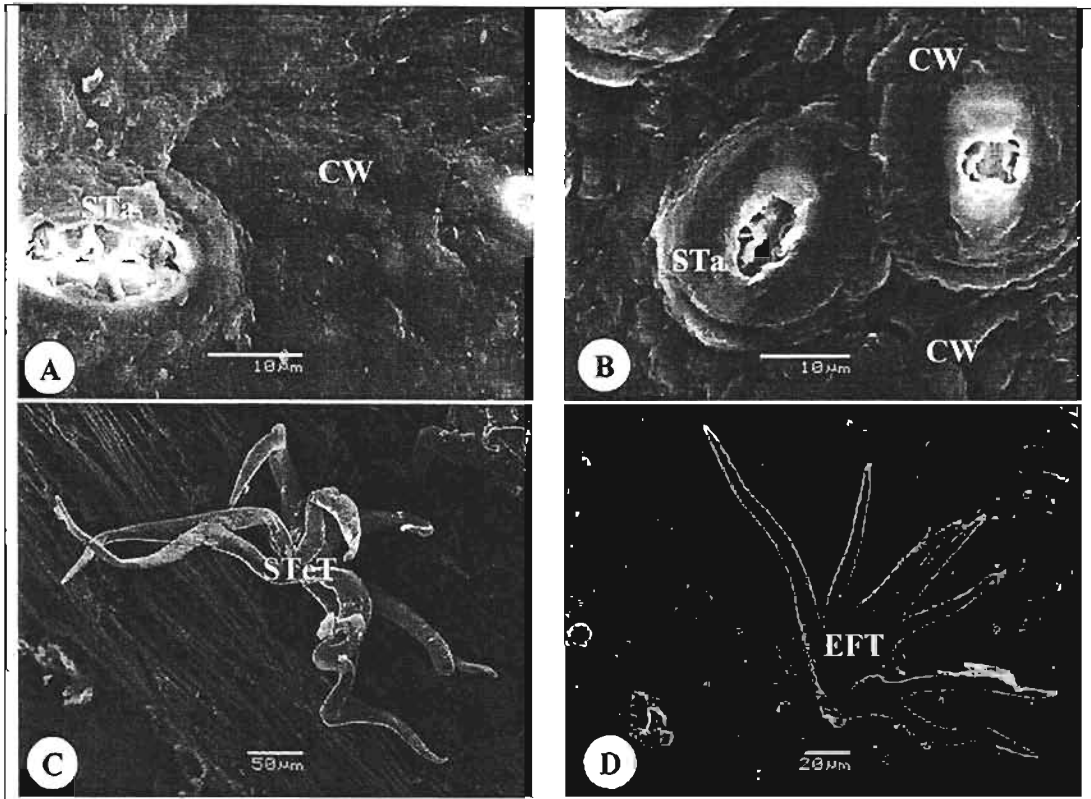
Superficie adaxial

F Tricoma simple (ST); G Cera tipo película del tricoma simple (FSW); H Tricoma estrellado fundido (EFT); I Cera tipo costra del tricoma estrellado fundido (FSW); J Cera de las hojas tipo costra (CW).

Tabla 1. Resumen de la micromorfología de hojas en *Quercus conzattii* y *Q. urbanii*, obtenida por medio de microscopía electrónica de barrido. * indica las características en las cuales estas especies difieren.

| Microestructuras en superficie abaxial | <i>Q. conzattii</i> | <i>Q. urbanii</i> |
|--|--|--|
| Cera de la hoja | tipo costra | tipo costra |
| Tipos de tricomas | Estrellados*, simple y estipitados fasciculado del tipo costra | Estipitado fasciculado y simple |
| Cera de tricoma estrellado | | ----- |
| Cera de tricoma simple | tipo película | tipo película |
| Cera de tricoma estipitado fasciculado | tipo película | tipo película |
| estomas | Ubicados en el mismo nivel de la hoja* | Ubicados en relieve de la superficie foliar* |
| Cera de los estomas | tipo película* | tipo costra* |

| Microestructuras en superficie adaxial | | |
|--|----------------------|------------------------------|
| Cera de la hoja | tipo costra | tipo costra |
| Tipos de tricomas | Estrellado* y simple | Estrellado fundido* y simple |
| Cera del tricoma estrellado | tipo costra | ----- |
| Cera del tricoma simple | tipo película | tipo película con estrías |
| Cera del tricoma estrellado fundido | ----- | tipo costra |



Diferencias en la micromorfología de las especies *Quercus conzattii* y *Q. urbanii*.

Quercus conzattii

A estomas (STa) ubicados al nivel de la hoja y cera de los estomas tipo película; **C** Tricoma estrellado (STeT).

Quercus urbanii

B estomas (STa) ubicados en relieve en la superficie foliar; **D** Tricoma estrellado fundido (EFT).