



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS

**“Variación morfológica foliar y genética de complejo
Quercus affinis-Quercus laurina (Fagaceae)
en un gradiente latitudinal en México”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)

PRESENTA:

BIÓL. LETICIA ISABEL VALENCIA CUEVAS

DIRECTOR DE TESIS: DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA

MÉXICO, D.F.

ABRIL 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Esta investigación obtuvo recursos de los proyectos DGAPA-PAPIIT IN229803 y SEMARNAT-CONACYT 2004-01-97. También se contó con el apoyo económico del CONACYT a través de una beca para estudios de posgrado. Asimismo se recibió apoyo del Laboratorio de Ecología genética y molecular del Centro de Investigaciones en Ecosistemas (UNAM), a través del Dr. Ken Oyama y del Laboratorio de Filogenia y Evolución del Centro de Educación Ambiental e Investigación Sierra de Huautla (CEAMISH) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, a través de la Dra. Dulce María Arias Ataide y el Dr. Oscar Dorado Ramírez.

AGRADECIMIENTOS

A los integrantes del comité tutorial: Dr. Ken Oyama (Director), Dra. Silvia Romero Rangel y Dr. Sergio Zamudio, cuya guía y sugerencias permitieron el desarrollo de esta investigación.

A los integrantes del comité de sinodales: Dra. Patricia Dávila Aranda y Dr. Oscar Dorado Ramírez por sus comentarios y sugerencias.

Al Dr. Antonio González Rodríguez por todo el apoyo en el trabajo de campo, así como por la aportación de sus invaluable conocimientos.

Al Dr. Efraín Tovar Sánchez por el tiempo dedicado al análisis y revisión de este texto.

A mis compañeros y amigos del CIEco por todo su apoyo y por las frases de aliento en los momentos difíciles, especialmente a Nidia, Luisa, Xóchitl, Jenny, Dolores, Enrique, Ana Luisa y Juan Manuel. A la Sra. Lolita por su ayuda constante y generosa.

A la Dra. Dulce María Arias Ataide por abrirme las puertas del CEAMISH y por todo el apoyo recibido, así como al Dr. Oscar Dorado por todas las facilidades y disposición durante el trabajo de laboratorio.

A mis compañeros y amigos del CEAMISH por su constante ayuda, pero sobre todo por su amistad y por haberme hecho sentir como en casa, entre ellos a Lupita, Valentina, Edgar, Esaú, Lolita, Chema, Rachel y Ana Laura.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por darme la oportunidad realizar mis estudios de maestría.

A FILI, QUIEN ME HA REGALADO LAS COSAS
MAS BELLAS. GRACIAS POR ESTAR CONMIGO
Y HACERME TAN FELIZ. A MARIA FERNANDA
POR SER MI MAYOR ILUSIÓN.

A MIS PADRES Y HERMANOS QUIENES CON
SU APOYO INCONDICIONAL HAN HECHO
POSIBLE MI FORMACIÓN PROFESIONAL Y
PERSONAL.
GRACIAS POR CONFIAR EN MÍ.

ÍNDICE DE PÁGINAS

RESUMEN	1
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	
El género <i>Quercus</i> (Fagaceae)	6
Los encinos en México	7
Hibridación y zonas híbridas	9
Herramientas para detectar hibridación	11
ANTECEDENTES	
Aportaciones de la morfología al conocimiento del género <i>Quercus</i>	13
Estudios del género <i>Quercus</i> usando marcadores moleculares	14
Origen del complejo <i>Quercus affinis</i> - <i>Quercus laurina</i>	17
JUSTIFICACIÓN	21
OBJETIVOS	22
HIPÓTESIS	23
SISTEMA DE ESTUDIO	24
ESTRUCTURA DE LA TESIS	29
RESULTADOS	30
Patrones de variación morfológica foliar y genética del complejo <i>Quercus affinis</i> - <i>Q. laurina</i> (Fagaceae) en un gradiente latitudinal en México.	
DISCUSIÓN GENERAL	72
CONCLUSIONES	79
LITERATURA GENERAL	80

Valencia-Cuevas, L. I. 2006. **Variación morfológica foliar y genética del complejo *Quercus affinis* - *Quercus laurina* (Fagaceae) en un gradiente latitudinal en México.** Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias Biológicas. Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

RESUMEN

El género *Quercus* (encinos, robles) contiene entre 400 y 500 especies a nivel mundial, siendo México la región más diversa ya que alberga 161 especies, de las que 109 son consideradas endémicas. Los encinos destacan por su alta frecuencia de hibridación natural, condición que ha sido utilizada como explicación, al menos parcial, de las dificultades taxonómicas que presenta el género. *Quercus affinis* y *Q. laurina* son dos especies provenientes de los ecosistemas templados de México que muestran un intervalo amplio de variación morfológica. Cuando estas especies se solapan en su distribución geográfica, su delimitación taxonómica es muy complicada ya que forman individuos con morfología foliar intermedia que podrían ser el resultado de intercambio genético entre las dos especies. Los objetivos de esta tesis fueron: 1) conocer los patrones de variación morfológica foliar y genética del complejo *Quercus affinis* - *Quercus laurina* a través de un gradiente latitudinal a nivel regional, 2) caracterizar la variación morfológica foliar y genética entre las poblaciones representativas de *Quercus affinis* y *Q. laurina*, 3) conocer el patrón de variación de caracteres foliares particulares en el complejo *Q. affinis*-*Q. laurina* a través del gradiente latitudinal, 4) comparar los patrones de variación morfológica foliar y genética en nueve poblaciones mixtas del complejo *Quercus affinis*-*Q. laurina* con las poblaciones representativas de cada especie progenitora y 5) establecer el patrón de relaciones entre las poblaciones del complejo *Quercus affinis*-*Q. laurina* de acuerdo a sus similitudes morfológicas y genéticas. Se colectaron 310 individuos pertenecientes a 11 poblaciones del complejo *Quercus affinis*-*Q. laurina*. Una población de cada especie progenitora fue analizada. La población representativa de *Q. laurina* se ubicó en la Sierra Madre del Sur y la de *Q. affinis* en la parte sur de la Sierra Madre Oriental. Las nueve poblaciones restantes estuvieron distribuidas en la zona de contacto entre las dos especies y se ubicaron entre las dos poblaciones representativas de las especies progenitoras. Las 11 poblaciones cubrieron un intervalo latitudinal que va de 16°10' a 20°30', distribuyéndose en la Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del Sur, Eje Neovolcánico Transversal y Sierra Norte de Oaxaca. Un total de 20 caracteres morfológicos foliares fueron medidos en 3100

hojas provenientes de 310 árboles y se analizó el ADN de 294 individuos con primers semi-diagnósticos de marcadores moleculares RAPDs (Randomly Amplified Polymorphic DNA). Los resultados mostraron que los caracteres morfológicos de tipo foliar y los marcadores moleculares no fueron concordantes. Usando la morfología de tipo foliar, un análisis de agrupamiento jerárquico (UPGMA) reveló la formación de dos grupos: un grupo sureño conformado por las poblaciones mixtas que se distribuyeron en la Sierra Madre del Sur y Sierra Norte de Oaxaca en donde la morfología foliar fue predominantemente similar a *Q. laurina* y en donde quedó incluida la población representativa de esta última, y por otro lado, un grupo norteño conformado por la población representativa de *Q. affinis* y por las poblaciones mixtas del este del Eje Neovolcánico Transversal y la Sierra Madre Oriental, en donde predominó la morfología parecida a *Q. affinis*. Además la similitud morfológica entre poblaciones estuvo correlacionada significativamente con la distancia geográfica. Estos resultados fueron asociados al efecto del flujo genético entre poblaciones cercanas. También se observaron diferencias significativas en el 80% de las variables morfológicas entre las dos poblaciones representativas de *Q. affinis* y *Q. laurina*. Asimismo, hubo diferencias significativas en el 90% de las variables morfológicas de tipo foliar analizadas entre las poblaciones del complejo *Q. affinis-Q. laurina*, en donde caracteres foliares como el número de aristas mostraron un patrón marcado de variación, lo que podría sugerir la importancia funcional de dicho carácter a través del gradiente geográfico. Un análisis de varianza anidado mostró que la mayor proporción de la variación de los 20 caracteres foliares se encuentra dentro de las poblaciones, como variación entre individuos (17-63%, dependiendo del carácter), y variación de hojas dentro de los individuos (14-68%). Sin embargo, la variación entre poblaciones (0.04-0.36%) también fue significativa. Finalmente, las diferencias entre los dos grupos de poblaciones estuvo dada por la variable número de aristas (NA) con un 55%.

En contraste, los resultados obtenidos de los RAPDs mostraron una transición gradual de las frecuencias alélicas de una población progenitora a la otra, pasando por una serie de poblaciones intermedias, lo cual sugiere que en estas localidades existe intercambio genético entre las dos especies. Además se observó que la similitud genética de las poblaciones híbridas depende de la cercanía geográfica con la población representativa de la especie progenitora. También se observó una tendencia de introgresión hacia *Q. laurina*,

(por lo menos en estas poblaciones). La incongruencia de las relaciones morfológicas y genéticas entre las poblaciones, sugiere que la introgresión ha sido considerable para los loci neutros y más restringido para los loci adaptativos.

ABSTRACT

The genus *Quercus* (oaks) include between 400 and 500 species in the world. Mexico is one of the most diverse regions with an estimated number of 161 species, of these 109 are endemics. The oaks are standing for their high frequency of natural hybridization, situation that has been used like as explanation, at least partial, for the taxonomic difficulties into the genus. *Quercus affinis* and *Q. laurina* are two species of the temperate Mexico ecosystems which have a wide range of morphological variation when these species overlap their geographical distribution, the taxonomical delimitation is complicated, because there are individuals with morphological intergradation, as a result of the genetic exchange among both species. The objectives of this study were: 1) To know the patterns of morphological and genetic variation along a latitudinal gradient at a regional level, 2) to characterize morphological and genetic variation between representative populations of *Quercus affinis* and *Q. laurina*, 3) to know the pattern of variation in particular morphological traits in the *Q. affinis* -*Q. laurina* complex along the latitudinal gradient, 4) to compare the patterns of morphological and genetic variation across nine mixed populations with parental populations and 5) to determinate the pattern of relationships among populations in *Quercus affinis* -*Q. laurina* complex according to their morphological and genetic similarities. Three hundred and ten trees belonging to 11 populations of the *Quercus affinis* - *Q. laurina* complex were sampled. The morphologically representative population of *Q. laurina* was in the Sierra Madre del Sur and the one of *Q. affinis* in the south of the Sierra Madre Oriental. The other nine populations were located along the contact zone between both species and were located between the representative parental populations. The 11 populations spanned in a latitudinal range from 16°10' to 20°30', situated in the Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del Sur, Eje Neovolcánico Transversal and Sierra Norte de Oaxaca. Twenty morphological traits were measured in 3100 leaves from 310 trees and DNA of 295 individuals was analyzed with nine semidiagnostic RAPD primers.

The results showed that the morphological and genetic variation were incongruent. Using morphological foliar traits, the UPGMA recognized two main groups of populations: a “southern” group that included the mixed populations from the Sierra Madre del Sur and Sierra Norte de Oaxaca and the representative population from *Q. laurina*. Within this group of populations the *Q. laurina*-like was the predominant morphological type. The

other was a northern group that included the mixed populations from the Eje Neovolcánico Transversal and Sierra Madre Oriental and the representative populations of *Q. affinis*, in which the predominant morphological type was *Q. affinis*-like. The morphological similarity among populations was significantly correlated to geographical distances. These results were associated to the effect of gene flow among close populations. Significant differences in 80% of morphological traits between the two representative populations of *Q. affinis* and *Q. laurina* were observed. Also, there were significant differences in 90% of morphological traits between the populations. Foliar traits like teeth number showed a marked pattern of variation, suggesting a potential functional importance of this trait along the geographic gradient. A nested analysis of variance showed the largest proportion of variation in 20 foliar traits is contained within populations, as among tree variation (17-63%, depending of the trait), and as intra-individual variation (14-68%). Inter-population variation was also significant (0.04-0.36%). Finally, differentiation between the two groups of populations was given by teeth number (NA) with 55%.

In contrast, the results of the RAPDS showed a gradual transition in the allelic frequencies from one parental population to the other, thorough for a series of intermediate populations, suggesting that in these populations there is genetic interchange between both species. The genetic results suggest that the closeness of the hybrid populations to representative parental population is related to their genetic similarity. A tendency of unidirectional introgression towards *Q. laurina* was registered. The incongruence between morphological and genetic relationships among populations suggests that the introgression of neutral loci has been considerable between the two species in the hybrid zone, while for adaptative loci has been more restricted.

INTRODUCCIÓN

El género *Quercus* (Fagaceae)

Dentro de la familia Fagaceae, es el género *Quercus* (encinos, robles) el que presenta la mayor distribución a nivel mundial (Nixon, 1993; Valencia, 2004). Se encuentra representado en casi todos los bosques templados del Hemisferio Norte, así como en algunas regiones tropicales y subtropicales del mismo (Nixon, 1993). La diversidad de especies de encinos ha sido difícil de precisar a nivel mundial, sin embargo, los especialistas han calculado que oscila entre 400 y 500 (Nixon *et al.*, 1997; Manos *et al.*, 1999). Se han reconocido dos centros de diversificación, el primero se localiza en México en donde la estimación más reciente propone la existencia de 161 especies, de las cuales 109 son consideradas endémicas (Valencia, 2004). El segundo es el suroeste de Asia con 125 especies aproximadamente (Govaerts y Frodin, 1998).

La mayoría de los grandes linajes modernos de encinos están restringidos geográficamente, lo cual indica que muy probablemente, evolucionaron localmente después de la expansión del género (Axelrod, 1983). Además, el desplazamiento de los climas secos pudo crear grupos aislados que posteriormente especiaron, principalmente en regiones de gran diversidad topográfica, de tal manera que su dominancia en los bosques templados pudo haberse dado durante el Terciario, como resultado de la sequía y la elevación de las temperaturas a bajas altitudes (Axelrod, 1983).

Los encinos han sido considerados un grupo complicado desde el punto de vista taxonómico, pues se caracterizan por tener altos niveles de plasticidad fenotípica (Tucker, 1974; Jones, 1986), lo cual se ve reflejado en un intervalo amplio de variación morfológica que aunado a la alta frecuencia de hibridación del género en condiciones naturales (Stebbins *et al.*, 1947; Whittmore y Schaal, 1991; Jensen *et al.*, 1993; Spellenberg, 1992; Manos *et al.*, 1999; Rosabelle, 1999; Bruschi *et al.*, 2000; González-Rodríguez *et al.*, 2004a; Tóvar-Sánchez y Oyama, 2004) han generado complejos patrones de variación morfológica y genética (Van Valen, 1976; Rieseberg y Wendel, 1993; Valencia, 2004), lo cual se refleja en la dificultad de los especialistas para la identificación y delimitación de las especies, así como en su marcada capacidad para adaptarse a diversos ambientes (Dodd *et al.*, 1993; Bruschi *et al.*, 2003; Dodd y Kashani, 2003).

Los encinos en México

Los bosques de *Quercus* son comunidades vegetales características de las zonas montañosas de México y junto con los bosques de pino constituyen el 20.5% de la cubierta vegetal de las áreas de clima templado y semihúmedo (Challenger, 1998). También forman parte de otras comunidades vegetales como: matorral xerófilo, bosque tropical húmedo y bosque mesófilo de montaña (Rzedowski, 1978; Challenger, 1998). Así mismo, Nixon (1993) afirma que la Sierra Madre Oriental y las montañas de las Sierras Meridionales del este y centro-sur de México, respectivamente, son centros importantes de diversidad del género *Quercus*. Sin duda, la gran diversidad topográfica y climática del territorio mexicano ha contribuido a la diversificación del mismo (Rzedowski, 1978; Nixon, 1993; Valencia, 2004).

Los encinos varían en altura de 5 a 30 m y pueden ser totalmente caducifolios a totalmente perennifolios; los bosques que forman pueden estar constituidos de una sola especie, aunque con frecuencia hay varias especies del mismo género (Rzedowski, 1978). En general, las especies de encinos mexicanos crecen en altitudes que van de 0 a 3, 500 msnm, sin embargo, la mayoría se encuentran entre 1000 y 3000 m de altitud (Valencia, 2004).

En las áreas en que el clima tiende a lo semiárido, los encinos sólo miden de 2 a 4 m de alto, tienen troncos cortos, gruesos y amplias copas; los árboles están separados por espacios anchos (Rzedowski, 1978); mientras que en los lugares templados muy húmedos, el bosque de encino puede ser alto (hasta 50 m) y en él predominan las especies perennifolias o las especies que pierden su follaje durante poco tiempo (Challenger, 1998).

La mayoría de los estudios taxonómicos sobre encinos mexicanos han sido de carácter estatal (McVaugh, 1974; González-Villarreal, 1986; Bello-González y Labat, 1987; De la Cerda, 1989; Valencia, 1995; Romero, 1993), debido a la complejidad del género. Todos estos trabajos incluyen claves, distribución geográfica, tipos de vegetación en los que ocurren, sinonimia, nombres comunes y usos (González-Rivera, 1993). Sin embargo, son muy pocos los estudios de genética de poblaciones, hibridación y especiación de encinos mexicanos.

De las zonas ecológicas de México, los bosques de pino y encino son considerados unas de las comunidades más diversas, debido a que la riqueza de especies de los estratos

herbáceos y arbustivos suele ser muy alta (Challenger, 1998). También se ha documentado que en estos bosques el endemismo específico es muy elevado, pues se ha calculado que las especies vegetales endémicas equivalen al 70% de la flora de esta zona ecológica (Rzedowski, 1993). Además, una enorme diversidad faunística ha sido asociada a los bosques de pino y encino (Challenger, 1998). Por ejemplo, Flores-Villela y Gerez (1994), proponen que el mayor número de vertebrados endémicos de Mesoamérica (excepto aves) se encuentran en estos bosques. Asimismo, Tovar-Sánchez y Oyama (2004), revelaron la alta diversidad de artrópodos asociados al dosel del complejo de encinos mexicanos *Q. crassipes* - *Q. crassifolia*. Estos bosques también tienen una gran importancia ecológica, debido a que participan en el reciclaje de nutrientes y en el balance del agua (Nixon, 1993), además muestran gran relevancia económica por su utilidad maderable, pues son fuente de celulosa y papel, artesanías y productos no maderables como frutos y fibras usadas como alimento y medicina, sin olvidar su utilidad actual, como recursos recreativos y escénicos (Bello-González y Labat, 1987).

En años recientes, algunos complejos de encinos mexicanos han sido identificados por los especialistas: *Quercus affinis* - *Q. laurina* (Valencia, 1994); *Q. clivicola*-*Q. glaucooides* (Spellenberg, 1995); *Q. conzattii*-*Q. eduardii* (Bacon y Spellenberg, 1996); *Q. lesueri*-*Q. undulata* (Spellenberg, 1998); y *Q. crassipes*-*Q. crassifolia* (Tovar-Sánchez y Oyama 2004).

Quercus affinis y *Q. laurina* constituyen uno de los complejos de encinos mexicanos que muestra un intervalo amplio de variación morfológica. En los sitios en donde dichas especies habitan en simpatria; la delimitación taxonómica es muy complicada, debido a que dentro de las zonas de traslape se han detectado individuos con morfología intermedia, y aunque las poblaciones fuera de la zona de contacto permanecen diferenciadas, son pocos los caracteres que delimitan a las dos especies a lo largo de todo su intervalo de distribución (Valencia, 1994). Debido a tal variación intraespecífica y al potencial de intercambio genético en el complejo formado por *Quercus affinis* - *Q. laurina*, éste representa un sistema ideal para el estudio de los patrones de variación morfológica foliar y genética que pueden encontrarse en zonas de hibridación.

Hibridación y zonas híbridas.

La hibridación ha sido considerada un fenómeno natural que se presenta con mayor frecuencia en plantas que en animales (Harrison, 1993) y que se puede definir como la cruce entre individuos pertenecientes a poblaciones que pueden distinguir por uno o más caracteres heredables (Arnold, 1997). De tal forma que un híbrido es un descendiente de progenitores pertenecientes a poblaciones diferenciadas en por lo menos un carácter heredado. Estas definiciones tienen la ventaja de que su aplicación no depende de ningún concepto de especie en particular y que las poblaciones de las que provienen los individuos que se hibridan no necesariamente tienen que pertenecer a una categoría taxonómica precisa (Harrison, 1993).

La hibridación, la introgresión y el mantenimiento de zonas de hibridación han recibido particular atención, por su importante contribución al entendimiento de los patrones y procesos evolutivos, como el incremento de la diversidad genética dentro de las especies mediante el proceso de divergencia evolutiva de formas nuevas a partir de formas ancestrales, la transferencia de adaptaciones genéticas y el reforzamiento de las barreras reproductivas entre grupos cercanamente relacionados, entre otros. Además, las zonas híbridas pueden ser consideradas como etapas que representan la divergencia de las poblaciones hasta el nivel de especie (Hewitt, 1988; Rand y Harrison, 1989; Futuyma y Shapiro, 1995; Petit *et al.*, 1999), por lo que esta área se ha convertido en una de las más dinámicas en la biología evolutiva y la ecología (Howard y Waring, 1991). Para el género *Quercus* la hibridación ha tenido implicaciones en la interpretación general del concepto biológico de especie (Burger, 1975; Van Valen, 1976), ya que no hay una separación genética efectiva entre especies, por lo que se ha propuesto aplicar el concepto de multiespecie a un conjunto de especies ampliamente simpátricas que intercambian genes de manera natural (Van Valen, 1976).

Una zona de hibridación ocurre donde las poblaciones genéticamente diferentes se encuentran, se cruzan y producen híbridos viables o por lo menos parcialmente fértiles (Barton y Hewitt, 1989; Hewitt, 1996). Los orígenes de las zonas híbridas han sido un enigma para los biólogos evolutivos y el problema central ha sido inferir la importancia de la historia y la ecología actual como explicación para la distribución observada de genotipos y fenotipos (Durrett *et al.*, 2000). Dos escenarios han sido propuestos: uno

considera que las zonas de hibridación son el resultado del contacto secundario entre las poblaciones que se han diferenciado en alopatria, mientras que el otro escenario supone que las zonas híbridas surgen *in situ* en respuesta a gradientes ambientales (Beckstrom-Stenberg *et al.*, 1991; Hewitt, 1999; Durrett, 2000). Sin embargo, también se ha sugerido que individuos con fenotipos intermedios no necesariamente reflejan un proceso de hibridación, sino que, pueden ser el resultado de convergencia evolutiva, sinapomorfía o sorteo filogenético. (AQUÍ) Dorado.

Varios marcos conceptuales han sido propuestos para predecir los patrones de variación en las zonas de hibridación y cada uno de ellos incorpora componentes de la selección y/o la dispersión (Arnold, 1997). En general estos modelos pueden dividirse en dos categorías: a) los independientes del ambiente que suponen que la selección es en la forma de inviabilidad híbrida y/o esterilidad debida a la disrupción de las combinaciones de los genomas de los progenitores (Barton y Hewitt, 1989) o a diferencias en el número o estructura de los cromosomas en los genomas de los parentales, trayendo como consecuencia un mal funcionamiento genético o de desarrollo en cualquier situación, independientemente de los factores externos; b) los dependientes del ambiente, los que suponen que las interacciones entre el genotipo y el ambiente determinan la estructura genética de las poblaciones (Endler, 1973; Slatkin, 1973; Harrison, 1986). Dentro de la primera categoría se puede incluir al modelo conocido como *Zona de Tensión* en donde se considera que, por causas endógenas, la selección natural tiene un efecto negativo sobre los híbridos por lo que su adecuación es reducida (Barton y Hewitt, 1985, 1989). De acuerdo a Barton y Hewitt (1985) la mayoría de las zonas híbridas se comportan como clinas mantenidas por el balance entre la dispersión y la selección en contra de los híbridos, por lo que este modelo ha podido explicar los patrones de variación morfológica y genética que se han observado en algunas zonas de hibridación bien estudiadas (Szymura y Barton, 1991; Byrd *et al.*, 1999; Duvernell *et al.*, 2003; Coleman y Abbott, 2003; Silva-Montellano y Eguiarte, 2003). Por otro lado, dentro de la segunda categoría los modelos de *Superioridad del híbrido* y *Mosaico* pueden ser considerados. *El modelo de superioridad del híbrido* (Moore, 1977), postula que las zonas híbridas son zonas usualmente estrechas y que en ellas actúa la selección a favor de los híbridos, produciendo individuos más adaptados en ciertos hábitats que cualquiera de sus progenitores. En este modelo, los factores ecológicos

son considerados la causa que determina la adecuación de los individuos (Moore, 1977), debido a que los ambientes que sufrieron algún disturbio fueron ocupados por los genotipos híbridos, los cuales, están más adaptados en los hábitats relativamente nuevos (Anderson, 1949). Por otro lado, *el modelo tipo mosaico*, es aquel en donde la zona híbrida está formada por parches de las poblaciones de especies puras y mezcladas distribuidas a través de la zona de traslape y que se forma cuando las especies progenitoras sobreviven mejor en hábitats diferentes que están distribuidos en mosaico (Howard, 1986; Howard *et al.*, 1997). Un ejemplo bien documentado es la zona híbrida tipo mosaico formada por los grillos cercanamente emparentados *Gryllus pennsylvanicus* y *G. firmus* (Howard, 1986).

En la naturaleza, la hibridación interespecífica ha sido reconocida como un fenómeno común entre las plantas (Lewontin y Birch, 1966) y en particular, los encinos presentan una alta frecuencia de hibridación natural (McVaught, 1974; Whitmore y Schaal, 1991; Elena-Rosello *et al.*, 1992; Valencia, 1994; Howard *et al.*, 1997), como resultado de incipientes barreras al flujo génico, lo que ha generado patrones complejos de variación morfológica y genética a nivel intra- e inter-específico (Stebbins *et al.*, 1947; Whitmore y Schaal, 1991; Jensen *et al.*, 1993; Spellenberg, 1992; Manos *et al.*, 1999; Rosabelle, 1999; Bruschi *et al.*, 2000). La hibridación y las zonas de hibridación son un fenómeno que ha sido documentado, principalmente, en encinos europeos y norteamericanos, típicamente con base en características morfológicas (Stebbins *et al.*, 1947; Howard *et al.*, 1997; Bruschi *et al.*, 2000) y más recientemente mediante el uso de marcadores moleculares (isoenzimas, RAPDs, micosatélites y RFLPs de núcleo y ADN de cloroplasto) (Guttman y Weigt, 1989; Elena-Rosello *et al.*, 1992; Bacilieri *et al.*, 1994; Kleinschmith *et al.*, 1995; Michaud *et al.*, 1995; Zanetto y Kremer, 1995; Bacilieri *et al.*, 1996; Howard *et al.*, 1997; Dumolin-Lapègue *et al.*, 1997; Montalvo *et al.*, 1997; Petit *et al.*, 2002).

Herramientas para detectar hibridación

Tradicionalmente, las estrategias clásicas para la detección de hibridación habían sido las diferencias en caracteres morfológicos (Rieseberg y Ellstrand, 1993; Kleinschmit *et al.*, 1995; Bacon y Spellenberg, 1996; Bruschi *et al.*, 2000; Hardig *et al.*, 2000; González-Rodríguez *et al.*, 2004a; Tovar-Sánchez, 2004). Sin embargo, con la finalidad de refinar

dichos sistemas, se han ido incorporando datos nuevos como diferencias químicas (Dodd *et al.*, 1993; Byrd *et al.*, 1999; Staudt *et al.*, 2004), anatómicas (Stuessy, 1990), etológicas (Gollmann, 1984; Butlin y Hewitt, 1985) y cromosómicas (Marchant *et al.*, 1988; Sites Jr. *et al.*, 1995).

Además, desde hace 30 años se han desarrollado una serie de técnicas moleculares que han permitido estudiar la variación a nivel genético (Otero *et al.*, 1997). Los marcadores moleculares son una serie de métodos de análisis genético molecular que se basan en la detección de polimorfismos en proteínas y ADN, cuyos principios y técnicas pueden ser útiles para resolver problemas en genética y ecología de poblaciones, procesos de hibridación e introgresión, determinación de patrones biogeográficos y resolución e identificación de relaciones filogenéticas, entre otros. (Otero *et al.*, 1997). Entre las técnicas más usadas en el área de la botánica se encuentran las isoenzimas, microsatélites, polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLPs), amplificación de fragmentos de longitud polimórfica (AFLPs), polimorfismos de ADN amplificados al azar (RAPDs), entre otros (González, 1997; Martínez, 1997). Cabe señalar que la elección del marcador molecular más apropiado, frecuentemente depende de la cantidad de variación genética necesaria para entender el fenómeno que al investigador le interese estudiar (Arnold y Emms, 1998).

La gran aceptación que han tenido estas técnicas, probablemente se debe a que los marcadores moleculares expresan las características genotípicas de los organismos, al número potencialmente elevado de marcadores disponibles, al alto número de marcadores que son independientes unos de otros y porque una proporción muy elevada son neutrales (esto significa que los caracteres observados están fuera de la presión de la selección natural, por lo que no se ven afectados por el ambiente) (Hillis, 1987; Rieseberg y Ellstrand, 1993; Moritz y Hillis, 1996).

Entre las técnicas moleculares que han sido usadas para detectar hibridación están las isoenzimas (Ellena-Rosello *et al.*, 1992, Hokanson *et al.*, 1993), RAPDs (Arnold *et al.*, 1991; Dawson *et al.*, 1996; Rosabelle, 1999 Hardig, 2000; Mayer *et al.*, 2000; González-Rodríguez *et al.*, 2004a; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004), RFLPs (Behalhbib *et al.*, 2001), y microsatélites (Schaal *et al.*, 1991; Bruschi, 2000; Craft *et al.*, 2002). Sin duda, el uso de estos marcadores que utilizan el genoma directamente, se ha visto favorecido por la

tecnología de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), debido a que ha permitido la replicación de segmentos de ADN *in vitro* (Arnold y Emms, 1998; Lui, 1998), a partir de cantidades mínimas de éste (Mullis, 1990).

Sin embargo, cabe mencionar que el reconocimiento de las zonas de hibridación ha tenido más éxito cuando se ha usado una combinación de estas herramientas (Kleinschmit *et al.*, 1995; Bruschi *et al.*, 2000; Casiva *et al.*, 2002; González-Rodríguez *et al.*, 2004; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004).

ANTECEDENTES

Aportaciones de la morfología al conocimiento del género *Quercus*

Gran parte de la investigación que se ha realizado sobre la diferenciación de especies de encinos se ha enfocado en los caracteres morfológicos de tipo foliar (Stebbins *et al.*, 1947; Hardin, 1975; Jensen *et al.*, 1993; Valencia, 1994; Aguilar y Romero, 1995; Spellenberg, 1995; Bacon y Spellenberg, 1996; Kremer *et al.*, 2002), floral (Kaul, 1985) y en las microestructuras (Kleinschmit *et al.*, 1995). Por ejemplo, mucha de la información acerca de la estructura reproductiva en *Quercus* ha surgido de estudios taxonómicos, en donde se hace énfasis en caracteres de hojas y frutos (Kaul, 1985). Sin embargo, ya que son pocas las especies de encinos que se conocen bien las flores (Romero *et al.*, 2000) y frutos, las hojas han sido estructuras utilizadas para su identificación (Hardin, 1975), pues aspectos de forma, tamaño, tipo de venación, número de venas y derivados epidérmicos son utilizados para la delimitación de los encinos (Valencia, 1994). Uno de los más grandes aportes de los estudios morfológicos combinados con datos moleculares, ha sido la clasificación infragenérica para *Quercus* (Nixon, 1993; Manos *et al.*, 1999) en donde se propuso la existencia de dos grandes subgéneros: *Cyclobalanopsis* y *Quercus*. A su vez, en el subgénero *Quercus* incluyó cuatro secciones: *Cerris*, *Lobatae* (encinos rojos), *Protobalanus* (encinos intermedios) y *Quercus* (encinos blancos).

Gracias a los estudios morfológicos también se sabe que los encinos se caracterizan por una alta frecuencia de hibridación en condiciones naturales (Stebbins *et al.*, 1947; Whittmore y Schaal, 1991; Jensen *et al.*, 1993; Spellenberg, 1992; Manos *et al.*, 1999; Rosabelle, 1999; Bruschi *et al.*, 2000), que muestran altos niveles de plasticidad fenotípica

(Tucker, 1974) y que tienen una gran capacidad para adaptarse a diversas condiciones ambientales (Bruschi *et al.*, 2003).

La variabilidad en la morfología foliar observada en *Quercus* ha sido detectada en diferentes especies y a diferentes niveles taxonómicos. Por ejemplo, en *Q. affinis* y *Q. laurina* se ha detectado considerable variación fenotípica a lo largo de su distribución en México (Valencia, 1994), además de una alta variación foliar a nivel de individuo dentro de la población y de las hojas dentro de los individuos (González-Rodríguez y Oyama, 2005), así como un incremento en la variación morfológica en poblaciones en las que posiblemente existe intercambio genético entre las dos especies (González-Rodríguez y Oyama, 2005; Ibarra-Montoya, 2005); en *Q. petraea*, se encontró una alta diversidad fenotípica entre poblaciones, entre árboles de la misma población e incluso dentro de un mismo árbol (dependiendo de la posición de la rama) (Bruschi *et al.*, 2003). Esta variación morfológica en los encinos, también ha sido estudiada con fines taxonómicos, es decir, para diferenciar entre especies que presentan morfologías similares (Valencia, 1994; Aguilar y Romero, 1995; Bruschi *et al.*, 2000) y para identificar individuos con origen híbrido (Hardin, 1975; Bacon y Spellenberg, 1996, Tovar-Sánchez y Oyama, 2004).

Estudios del género *Quercus* usando marcadores moleculares

Encinos europeos y norteamericanos, han sido típicamente estudiados con base en características morfológicas (Stebbins *et al.*, 1947; Howard *et al.*, 1997; Bruschi *et al.*, 2000) y más recientemente, mediante el uso de marcadores moleculares (Tabla 1).

Actualmente, algunos complejos de encinos mexicanos han sido incluidos en la serie de análisis de este tipo, dada la importancia de este grupo en México (Tabla 1).

Tabla 1. Estudios para el género *Quercus* en donde se han utilizado diferentes marcadores moleculares. Se muestra el objetivo de la investigación, el tipo de marcador utilizado y la referencia.

Especie	Objetivo del trabajo	Tipo de marcador	Referencia
<i>Q. cerris</i> , <i>Q. coccifera</i> , <i>Q. troyana</i> , <i>Q. ilex</i> , <i>Q. suber</i> , <i>Q. macrolepis</i>	Establecer las relaciones taxonómicas	ARN ribosomal	Bellarosa <i>et al.</i> , 1990
<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i>	Documentar el estatus taxonómico de los individuos con morfología intermedia	Isoenzimas	Kleinschmit <i>et al.</i> , 1995.

<i>Q. robur</i> , <i>Q. ellipsoidalis</i>	Analizar la estructura genética y niveles de flujo génico	Isoenzimas	Hokanson <i>et al.</i> , 1993 Bacilieri <i>et al.</i> , 1994
<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i>	Analizar la estructura genética	Isoenzimas	
<i>Q. ilex</i>	Analizar los patrones espaciales de la variación genética	Aloenzimas	Micahud <i>et al.</i> , 1995
<i>Q. chrysolepis</i>	Estimar la diversidad genética dentro y entre poblaciones, establecer los límites clonales e inferir flujo génico	Isoenzimas	Montalvo <i>et al.</i> , 1997
<i>Q. petraea</i>	Describir los patrones geográficos de variación genética	Aloenzimas	Le corre <i>et al.</i> , 1998
<i>Q. alba</i>	Evaluar las relaciones entre las características ambientales y la distribución de los genotipos	Isoenzimas	Gram y Sork, 2001
<i>Q. parvula</i> , <i>Q. agrifolia</i> , <i>Q. kelloggii</i> , <i>Q. wislizeni</i>	Estudiar la estructura genética y sus relaciones filogenéticas	AFLPs	Dodd y Kashani, 2003
<i>Q. alba</i> , <i>Q. macrocarpa</i> , <i>Q. michauxii</i> , <i>Q. stellata</i> , <i>Q. virginiana</i> var. <i>fusiformis</i> .	Analizar los efectos genéticos de la hibridación	RFLPs	Whittemore y Schaal, 1991
<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> , <i>Q. pubescens</i> , <i>Q. pyrenaica</i> , <i>Q. faginea</i> , <i>Q. frainetto</i> , <i>Q. macranthera</i> , <i>Q. canariensis</i>	Analizar la estructura filogeográfica	RFLPs	Dumolin-Lapegue <i>et al.</i> , 1997
<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i>	Inferir rutas de colonización y las consecuencias de la hibridación e introgresión	RFLPs	Petit <i>et al.</i> , 1997
<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i>	Analizar la diversidad genética e inferir las rutas de colonización.	RFLPs	Kéller <i>et al.</i> , 2004
<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i>	Estudiar la tasa de hibridación y la morfología de los híbridos	RAPDs	Bacilieri <i>et al.</i> , 1996
<i>Q. gambelli</i> , <i>Q. grisea</i>	Documentar la estructura de la zona de traslape e hibridación y analizar el efecto de la hibridación en la diferenciación genética	RAPDs	Howard <i>et al.</i> , 1997
<i>Q. gambelli</i> , <i>Q. grisea</i>	Explorar el papel de las barreras reproductivas internas en el control de la presencia y abundancia de híbridos en una zona de contacto	RAPDs	Williams <i>et al.</i> , 2001
<i>Q. affinis</i> , <i>Q. laurina</i>	Analizar el patrón de variación morfológica y genética a nivel macrogeográfico.	RAPDs	González-Rodríguez <i>et al.</i> , 2004a

<i>Q. crassipes</i> , <i>Q. crassifolia</i>	Describir y comparar los patrones de variación morfológica y genética, así como documentar la estructura de la zona de hibridación.	RAPDs	Tovar-Sánchez y Oyama, 2004
<i>Q. macrocarpa</i>	Analizar la distribución espacial y el parentesco	Microsatélites	Dow y Ashley, 1996
<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i>	Estudiar la estructura genética y la diferenciación espacial asociadas al flujo génico mediado por polen o semillas.	Microsatélites	Streiff <i>et al.</i> , 1998
<i>Q. petraea</i> , <i>Q. pubescens</i>	Encontrar marcadores morfológicos y moleculares para discriminar entre especies	Microsatélites	Bruschi <i>et al.</i> , 2000
<i>Q. lobata</i> , <i>Q. douglasii</i>	Estudiar la hibridación	Microsatélites	Craft <i>et al.</i> , 2002
<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i> , <i>Q. pubescens</i> , <i>Q. frainetto</i> , <i>Q. faginea</i> , <i>Q. pyrenaica</i> , <i>Q. canariensis</i> , <i>Q. macranthera</i> .	Estudiar la filogeografía y los patrones de diversidad genética.	Microsatélites	Petit <i>et al.</i> , 2002
<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i>	Medir el nivel de diversidad y estructura genética.	Microsatélites	Cottrell <i>et al.</i> , 2003
<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i>	Inferir rutas de colonización	Secuenciación de ADN	Ferris <i>et al.</i> , 1993
<i>Q. petraea</i>	Analizar el papel del aislamiento por distancia y los patrones postglaciales en la variación nuclear	Aloenzimas, RAPDs, RFLPs	Le Corre <i>et al.</i> , 1997
<i>Q. robur</i>	Construir un mapa genético	Isoenzimas, SCARs, microsatélites, minisatélites, ADN _r 5S	Barreneche <i>et al.</i> , 1998
<i>Q. petraea</i>	Analizar la diversidad genética	AFLPs y RAPDs	De Greef <i>et al.</i> , 1998
Especies del subgénero <i>Quercus</i> sección <i>Protobalanus</i>	Inferir relaciones filogenéticas	Secuencias ITS nuclear, RFLPs	Manos <i>et al.</i> , 1999

En general, estos estudios han revelado que los encinos muestran altos niveles de variación genética intrapoblacional y baja diferenciación entre poblaciones, lo cual ha sido explicado por sus características de historia de vida como: entrecruzamiento, polinización por viento y ciclo de vida largo. Además, los estudios genéticos entre especies de encinos relacionadas han revelado bajos niveles de diferenciación entre ellas, lo que ha sido interpretado como el resultado de una alta frecuencia de intercambio genético entre las especies involucradas a través de hibridación e introgresión.

Origen del complejo *Quercus affinis* - *Quercus laurina*

En un estudio florístico preliminar en el estado de Guerrero, Valencia (1989) observó varios individuos que son difíciles de determinar y delimitar por sus características morfológicas, entre ellos destacan: *Quercus affinis* y *Q. laurina*. Retomando esta información la autora, en 1994 realizó un estudio exhaustivo de morfología foliar, anatomía de madera, ultraestructura de polen y fenología a lo largo de toda el área de distribución de las dos especies y observó que aunque existen zonas donde los individuos de las dos especies se pueden distinguir más fácilmente (Sierra Madre Oriental para *Q. affinis* y Sierra Madre del Sur para *Q. laurina*), existen otras localidades (como en la parte oriental del Eje Neovolcánico Transversal y en algunas regiones del estado de Oaxaca) en donde hay una alta variación intrapoblacional y entre poblaciones cercanas; como consecuencia, en estos sitios es difícil asignar la identidad taxonómica de los individuos. Con su estudio, Valencia concluyó que: i) son pocas las características que mantienen diferenciadas a las dos especies a través de toda su distribución geográfica, ii) que individuos intermedios morfológicamente se encuentran distribuidos en localidades en donde *Q. affinis* y *Q. laurina* tienen una distribución simpátrica (al este del Eje Neovolcánico Transversal y al norte del estado de Oaxaca), y iii) que estos individuos con morfología intermedia podrían ser el resultado del alto grado de intercambio genético entre ellas. Otros especialistas coinciden en la dificultad de delimitar entre las dos especies (Romero *et al.*, 2002).

Considerando el patrón de variación morfológica a través de la distribución geográfica del complejo, inferencias sobre los patrones biogeográficos del género en México y las reconstrucciones paleoclimáticas disponibles, Valencia (1994), propuso una hipótesis sobre el surgimiento del mismo. La autora sugiere que el grupo ancestral que le dio origen al complejo *Q. affinis* - *Q. laurina* llegó a México durante el Mioceno, utilizando como corredor las elevaciones de la Sierra Madre Oriental, la cual surgió desde Jurásico (Ferrusquilla-Villafranca, 1993). Esta hipótesis de la llegada del grupo a México por la parte oriental, se fundamenta en el hecho de que no existen poblaciones del complejo en la Sierra Madre Occidental y que los individuos de *Q. affinis* y *Q. laurina* se desarrollan mejor en sitios de clima mésico a templado-frío (Valencia, 1994), por tanto sería poco probable que hubiera llegado por el lado occidental, como ha sido sugerido por Axerold (1975) para algunas floras xerófilas. Para el Oligoceno-Mioceno la aridez y el frío afectaron

la parte norte y la porción oeste del Continente Americano, por lo que las biotas mesófilas se desplazaron hacia el sur y al este, que conservaban condiciones más favorables (Rosen, 1978). Probablemente, por las condiciones climáticas imperantes en Mioceno y utilizando la Sierra Madre Oriental como corredor, se cree que el grupo ancestral de *Quercus affinis* y *Q. laurina*, se desplazó hacia el sur, alcanzando una distribución casi continua hasta América Central (Chiapas y Guatemala) durante el Mioceno, aproximadamente hace unos 5 millones de años (Valencia, 1994). Este supuesto ha sido respaldado por el hecho que de que en el Sur de México y en el Norte de América Central, se encontraron ejemplares de *Q. acatenangensis*, que se distribuye en Chiapas y Guatemala y cuyos ejemplares presentan gran parecido con ejemplares de herbario de *Q. laurina* (Valencia, 1994). Aunque la literatura sobre el clima del Cenozoico no cita ningún incremento de temperatura prolongado en particular, se menciona que durante el Plioceno y el Pleistoceno ocurrieron condiciones climáticas cambiantes, en las que la temperatura y la precipitación aumentaron y disminuyeron (Fra-kes, 1993). Esto hace posible suponer que quizá desde principios de Plioceno, la vegetación de las montañas de sur del territorio mexicano podría haber comenzado su migración hacia el norte, utilizando la Sierra Madre del Sur como corredor (Valencia, 1994). Posiblemente, ese fue el caso del grupo ancestral de este complejo que pudo haber alcanzado la Sierra Madre del Sur por un período de incremento en la temperatura y humedad, desplazándose así hacia el norte y occidente (Valencia, 1994). Esta idea se apoya en el trabajo de Valencia (1989), en donde se encontró que el número de especies que comparte Guerrero (que comprende buena parte de la Sierra Madre del Sur) con Chiapas, es mayor (14 de 30 especies) que el que comparte con estados del centro, este y noreste del país, siendo mayor sólo en los estados en los que también se encuentra la Sierra Madre del Sur. Poco tiempo después, pudo haber ocurrido la separación de las poblaciones ancestrales, dejando por un lado, poblaciones de encinos aisladas en la Sierra Madre del Sur y que posteriormente dieron origen a *Q. laurina* y por otro lado, a poblaciones en la Sierra Madre Oriental que originaron a *Q. affinis*. El tiempo en que se dio esta separación se desconoce, pero se infiere que pudo ser en el Plioceno medio o tardío (después de que la población ancestral alcanzó una distribución amplia, hace 3.5-2 millones de años), pero antes de que las especies ya formadas volvieran a quedar en contacto (Valencia, 1994). Considerando que para el Plioceno, los principales eventos geológicos

habían terminado, es probable que una barrera de tipo climático haya sido la causa de la separación de las poblaciones (Valencia, 1994). Después de que las poblaciones que especiaron en *Quercus laurina* aumentaron su distribución, pudo darse un primer contacto secundario (contacto entre poblaciones que se diferenciaron en alopatría, pero que tuvieron un ancestro común), con las poblaciones que especiaron en *Quercus affinis* en el norte de Oaxaca, quizá a principios del Pleistoceno (1.8-1.6 millones de años, al inicio de las glaciaciones), produciéndose así poblaciones híbridas en esta zona (Valencia, 1994).

Por otro lado, cuando las poblaciones de la Sierra Madre del Sur alcanzaron las latitudes del Eje Neovolcánico Transversal formado en su porción occidental desde el Terciario Medio y durante el Plioceno en su porción central y oriental (Ferrusquilla-Villafranca, 1993) y en un período de estabilidad climática, esta cordillera pudo ser utilizada como corredor en un sentido transversal, facilitando una distribución casi continua de *Q. laurina* que se desplazó de occidente a oriente. Además, *Q. affinis* pudo haber aumentado su área de distribución por un incremento en la precipitación (Muller, 1952), lo cual permitió su desplazamiento de oriente a occidente, ya que esta especie se desarrolla mejor en condiciones de mayor precipitación (Valencia, 1994) por lo que poblaciones de la parte oriental de *Quercus affinis* y de la parte occidental de *Quercus laurina* pudieron tener un contacto secundario por segunda ocasión en esta zona (Valencia, 1994). Es probable, que estos desplazamientos favorecieron una tendencia a la especiación en el caso del aislamiento en respuesta al ambiente y un incremento en la variabilidad de las especies, en el caso del contacto, como resultado del rompimiento del aislamiento reproductivo, trayendo como consecuencia que los contactos repetidos obscurecieran las diferencias morfológicas entre las dos especies que forman el complejo y que actualmente haya problemas para diferenciar entre especies, principalmente en los sitios en donde habitan en simpatria (Valencia, 1994).

Partiendo de esta hipótesis, González y colaboradores (2004a), hicieron un estudio morfológico y genético a nivel macrogeográfico, estableciendo una zona de estudio que consideró 16 poblaciones, incluyendo el área de distribución de las dos especies progenitoras (*Q. affinis* y *Q. laurina*) y la zona de contacto. Utilizando caracteres morfológico foliares y moleculares (RAPDs), corroboraron la existencia de hibridación por contacto secundario entre *Q. affinis* y *Q. laurina*, pues encontraron algunos datos que

podrían considerarse evidencias para apoyar esta hipótesis: 1) variación espacial significativamente concordante entre algunos caracteres morfológicos y marcadores moleculares, 2) mayor variación genética en las poblaciones situadas en la probable zona de hibridación y 3) la presencia de dos haplotipos relativamente divergentes en el complejo. Además del uso de caracteres morfológicos, este complejo de encinos ha sido abordado desde el punto de vista genético con la finalidad de estimar la diversidad y la diferenciación genética entre poblaciones. Mediante el uso de RAPDs (González-Rodríguez *et al.*, en prensa) y ADN de cloroplasto (González-Rodríguez *et al.*, 2004b), se encontró una mayor proporción de variación genética intra-poblacional que entre poblaciones, como ya ha sido reportado para otras especies de encinos. Además, se encontró una mayor variación genética en las poblaciones situadas en la zona de hibridación respecto a las poblaciones progenitoras. Por otro lado, el uso del ADN de cloroplasto reveló la presencia de seis haplotipos (secuencia determinada de alelos) en 39 poblaciones del complejo, de los cuales dos tuvieron la mayor frecuencia y mostraron una débil asociación con la variación morfológica y genética (nuclear) de las poblaciones representativas de *Q. affinis* y *Q. laurina*. En general, una conclusión obtenida de estos trabajos es que el patrón de similitud morfológica entre las poblaciones estudiadas es incongruente con el patrón de las similitudes genéticas, condición que fue explicada considerando evidencias que indican que cuando ocurre hibridación, algunas porciones del genoma cruzan más fácilmente la barrera específica, mientras que otras lo hacen en grado mínimo (Rieseberg *et al.*, 1996; Martinsen *et al.*, 2001).

JUSTIFICACIÓN

El estudio de los encinos mexicanos cobra relevancia al considerar la extensa área que ocupan los bosques de encino y de pino-encino dentro del territorio mexicano, por la alta riqueza de especies del género en el país, por su alto grado de endemismo, así como por la enorme importancia ecológica y económica que tiene el grupo.

Además se considera un grupo interesante por la alta frecuencia de hibridación entre las especies del género y que ha sido considerado un proceso clave para la explicación de los patrones complejos de variación morfológica y genética,

En particular, los encinos mexicanos *Quercus affinis* y *Q. laurina* muestran un intervalo amplio de variación morfológica y en los sitios en donde habitan en simpatria, la delimitación taxonómica es muy complicada, pues dentro de las zonas de traslape se han detectado individuos con morfología intermedia que se presume, podrían ser el resultado de intercambio genético entre las dos especies. Por lo tanto, se ha considerado que el complejo formado por *Q. affinis* - *Q. laurina* representa un sistema ideal para el estudio de los patrones de variación morfológica foliar y genética que pueden encontrarse en las zonas de hibridación a través de un gradiente geográfico. En los trabajos previos se ha reconocido el fenómeno de la hibridación entre *Q. affinis* y *Q. laurina* y se ha abordado la variación y la diferenciación morfológica y genética a través de un gradiente a una escala geográfica amplia, sin embargo este estudio tuvo la finalidad de analizar los patrones de variación a través de un gradiente latitudinal a una escala regional y a través de poblaciones que no se habían incluido en los trabajos previos de este complejo.

OBJETIVO GENERAL

Conocer los patrones de variación morfológica foliar y genética del complejo *Quercus affinis* - *Quercus laurina*, a través de un gradiente latitudinal a nivel regional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- * Estudiar la variación morfológica foliar y genética entre poblaciones representativas de *Quercus affinis* y *Q. laurina*.
- * Comparar los patrones de variación morfológica foliar y genética en nueve poblaciones mixtas del complejo *Quercus affinis* - *Q. laurina*, con las poblaciones representativas de cada especie progenitora.
- * Conocer el patrón variación de caracteres foliares particulares en el complejo *Q. affinis*-*Q. laurina*, a través del gradiente latitudinal.
- * Establecer el patrón de relaciones entre las poblaciones del complejo *Quercus affinis* - *Q. laurina*, de acuerdo a sus similitudes morfológicas y genéticas.

HIPÓTESIS

- a) Si los encinos se caracterizan por tener altos niveles de plasticidad fenotípica que se ve reflejado en un intervalo amplio de variación morfológica, se espera encontrar gran variabilidad de los caracteres individuales estudiados a lo largo del gradiente geográfico en las poblaciones del complejo *Quercus affinis* -*Q. laurina*.
- b) Si el flujo genético puede tener un efecto homogeneizador entre poblaciones cercanas, se espera que los patrones de similitud morfológica y genética entre las poblaciones muestren relación con la distancia geográfica, de manera que se esperaría que las poblaciones más cercanas sean más similares en su morfología y genética que las más distantes.
- c) Considerando que *Q. laurina* se diferenció en la Sierra Madre del Sur y *Q. affinis* en la Sierra Madre Oriental (Valencia, 1994), se espera que mientras más cercana este la población híbrida al sitio en donde la especie progenitora tiene una distribución alopátrica tenga más similitud genética y morfológica con está y viceversa.

SISTEMA DE ESTUDIO

De acuerdo con la clasificación más reciente propuesta por Nixon (1993), los encinos mexicanos *Quercus affinis* y *Q. laurina* pertenecen a la sección *Lobatae* (encinos rojos) del subgénero *Quercus*. En 1994, una revisión hecha por Valencia reveló que 25 nombres aplicados a especies y variedades han sido considerados sinónimos de *Q. laurina*, mientras que otros nueve sinónimos se han usado para nombrar a *Q. affinis*, condición que hace suponer la gran variación que se presenta en los caracteres morfológicos de dichas especies.

Aunque no se han encontrado los suficientes caracteres para diferenciar claramente entre las dos especies, Valencia (1994) sugiere que en general, estas especies se pueden diferenciar en condiciones naturales ya que *Q. laurina* tienen hojas más largas (6-15.5 cm.) y anchas (3.5-6.5 cm.), los pecíolos son más largos (3.6-36 mm), el envés de las hojas presenta pubescencia restringida a las axilas de las nervaduras, las yemas son ovoides, la base de la hoja es atenuada o redondeada y las nervaduras son elevadas. Sus poblaciones representativas se encuentran en un intervalo altitudinal que va de 2440 a 3065 m a lo largo de la Sierra Madre del Sur y al oeste del Eje Neovolcánico Transversal (Fig. 1) (Valencia, 1994).

Por su parte, *Q. affinis* se distingue de *Q. laurina* por la presencia de hojas más pequeñas (3-13.5 cm.) y angostas (0.7-4.5 cm.), los pecíolos más cortos (3-20 mm), el envés de la hoja liso con venas poco notorias y con escasos pelos fasciculados y estipitados en las axilas de las venas y carece de pelos glandulares vermiformes. Sus yemas son conoidales y lustrosas (Tabla 2). Su distribución geográfica es principalmente en la Sierra Madre Oriental, Sierra de Oaxaca y parte del Eje Neovolcánico Transversal en altitudes que van de los 1600 a los 2800 m (Valencia, 1994) (Fig. 2).

Sin embargo, las dificultades para realizar la asignación taxonómica se incrementa hacia el este del Eje Neovolcánico Transversal y el norte de Oaxaca, en donde ambas especies tienen una distribución simpátrica y en donde se ha detectado la presencia de individuos con diferentes grados de intergradación morfológica (Valencia, 1994). (Fig. 3).

Tabla 2. Caracteres morfológicos que diferencian a *Q. affinis* y *Q. laurina* (Valencia, 1994).

Carácter	Especie	
	<i>Q. affinis</i>	<i>Q. laurina</i>
Ramillas	De 1-2.5(-2.8) mm de diámetro, laxamente pubescente a casi glabras	De 0.9-2(-3.7) mm de diámetro, pubescente o glabrescentes
Yemas	Generalmente conoidales, ovoideas, 2-4(-5.5) mm de largo, (0.05-)1-1.5 (-2)mm de diámetro	En su mayoría ovoideas o globosas rara vez conoidales, de (-1)1-3.5 (-4) mm de largo, 1-2 (-2.5) mm de diámetro
Hojas maduras	Angostamente lanceoladas, elípticas o elíptico-lanceoladas, 3.12-3.56 veces más largas que anchas	Lanceoladas u ovoidolanceoladas, elípticas o elíptico-lanceoladas, en su mayoría 2.67-3.11 veces más largas que anchas
Grosor de la vena media	Moderado con relación al ancho de la hoja	Delgado con relación al ancho de la hoja
Ángulo de divergencia de las venas secundarias	Agudo-estrecho a moderado	Agudo-amplio
Curso de las venas	Recto u ocasionalmente curvo abrupto	Curvo uniforme
Glándulas	Sin pelos glandulares vermiformes	Ocasionalmente con pelos glandulares vermiformes
Nervaduras en el envés	Nervaduras secundarias y terciarias planas e inconspicuas	Nervaduras secundarias y terciarias formando un retículo mas o menos conspicuo
Tricomas	Número de radios promedio por pelo fasciculado estipitado: 13.7 (7-26)	Número de radios promedio por pelo fasciculado estipitado: 10.7 (7-16)



Fig. 1 Distribución geográfica (Valencia, 1994) y morfología foliar representativa de *Quercus affinis*

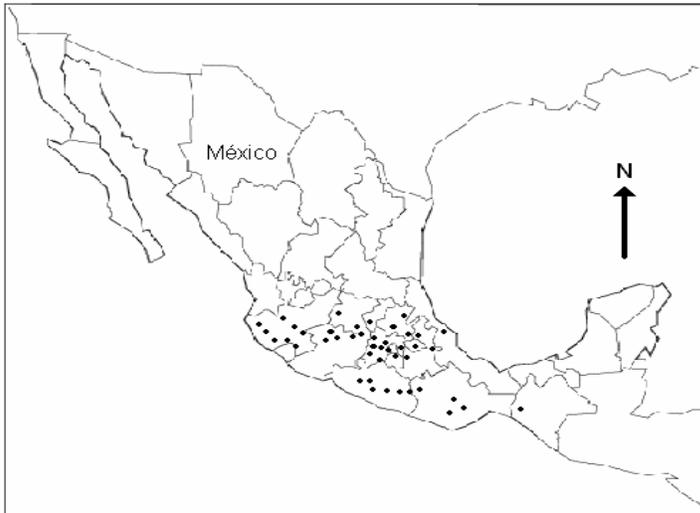


Fig. 2 Distribución geográfica (Valencia, 1994) y morfología foliar representativa de *Quercus laurina*



Fig. 3 Distribución geográfica del complejo *Quercus affinis* x *Q. laurina* (Valencia, 1994) y morfología foliar del híbrido

Estructura de la tesis

Este trabajo está conformado por un capítulo en donde se presenta un análisis de los patrones de variación morfológica foliar y genética del complejo *Q. affinis* -*Q. laurina*, a través de un gradiente latitudinal a nivel regional. Para ello, se midieron caracteres foliares para caracterizar la diferenciación morfológica entre las poblaciones morfológicamente representativas de *Q. affinis* y *Q. laurina* ubicadas fuera de la zona de contacto y también se usaron marcadores de RAPDs que habían sido previamente identificados como útiles para diferenciar entre las dos especies. Posteriormente, ambos tipos de caracteres se utilizaron para comparar los patrones de variación morfológica y genética en nueve poblaciones ubicadas en la zona de contacto. Con los resultados morfológicos se establecieron las relaciones de similitud entre poblaciones, su asociación con la distancia geográfica, y se cuantificó cómo se encuentra repartida la variación morfológica entre los diferentes niveles incluyendo especies, poblaciones, individuos y hojas. Finalmente, también se analizó el patrón de variación de caracteres particulares a través de un gradiente latitudinal a nivel regional. Por otra parte con los datos moleculares, se estableció el patrón de similitud genética entre las poblaciones y se determinó si aquellas con un posible origen híbrido compartían mayor similitud genética con la población con distribución alopátrica de la especie progenitora más cercana.

Patrones de variación morfológica foliar y genética del complejo *Quercus affinis* -*Q. laurina* (Fagaceae) en un gradiente latitudinal en México

RESUMEN

Quercus affinis y *Q. laurina* (Sección *Lobatae*) son dos especies de encino que habitan en los bosques de clima templado de México. Cuando estas especies se traslapan en su distribución geográfica hibridizan y forman individuos con morfología foliar intermedia. El objetivo de este estudio fue conocer los patrones de variación morfológica foliar y genética a lo largo de un gradiente latitudinal a nivel regional, que incluyó poblaciones de la Sierra Madre del Sur, Sierra Norte de Oaxaca, Eje Neovolcánico Transversal y Sierra Madre Oriental. En este gradiente se analizaron dos poblaciones representativas (una de cada especie progenitora) con distribución alopátrica y nueve poblaciones simpátricas. Se midieron 20 caracteres morfológico-foliales de 310 árboles y se extrajo ADN total de 294 individuos el cual fue analizado con siete primers semi-diagnósticos de RAPD. Los resultados mostraron diferenciación en el 80% de las variables entre las especies y en el 90% entre las poblaciones, así como la formación de dos grupos de poblaciones en términos de su similitud morfológica foliar y su cercanía geográfica. Los marcadores moleculares revelaron que la proximidad de una población híbrida a la población alopátrica incrementa su similitud genética con esa especie progenitora, que existe una transición gradual en las frecuencias alélicas de una población progenitora a la otra y una tendencia hacia un patrón de introgresión unidireccional hacia *Q. laurina*. La incongruencia entre la formación de dos grupos morfológicos por un lado, y una transición en las frecuencias alélicas de una especie a la otra a través de una serie de poblaciones intermedias por el otro, sugiere que los loci adaptativos podrían estar experimentando introgresión restringida a pesar del flujo génico interespecífico e intercambio de loci neutrales entre estas especies.

PALABRAS CLAVE: *Quercus affinis*, *Q. laurina*, morfología foliar, plasticidad fenotípica, hibridación, RAPDs.

INTRODUCCIÓN

El género *Quercus* (encinos, robles) contienen entre 400 y 500 especies a nivel mundial (Nixon *et al.*, 1997; Manos *et al.*, 1999), siendo México el centro de diversidad más importante para el género en el Hemisferio occidental, pues de las 225 especies de encinos que existen en América, la estimación más reciente propone la existencia de 161 especies, de las cuales 109 son consideradas endémicas (Valencia, 2004). Los bosques de encino son comunidades vegetales muy características de las zonas montañosas de México y junto con los bosques de pino constituyen el 20.5% de la cubierta vegetal de las áreas de clima templado y semihúmedo (Challenger, 1998). Además, los encinos forman parte de comunidades vegetales como matorrales xerófilos, bosques tropicales húmedos y bosques mesófilos de montaña (Rzedowski, 1978; Challenger, 1998). Sin duda, México posee una gran diversidad topográfica y climática que es el resultado de la presencia de grandes sistemas orográficos, entre los que destacan la Sierra Madre Oriental, el Eje Neovolcánico Transversal, la Sierra Madre del Sur y la Sierra Norte de Oaxaca (Challenger, 1998). Cada uno de estos sistemas montañosos tiene una historia particular, lo que ha dado como resultado un escenario físico y geográfico muy heterogéneo.

Los encinos se caracterizan por tener altos niveles de plasticidad fenotípica foliar (Tucker, 1974; Jones, 1986), una alta frecuencia de hibridación en condiciones naturales (Stebbins *et al.*, 1947; Whittemore y Schaal, 1991; Jensen *et al.*, 1993; Spellenberg, 1992; Manos *et al.*, 1999; Rosabelle, 1999; Bruschi *et al.*, 2000; González-Rodríguez *et al.*, 2004a; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004) debido a sus incipientes barreras al flujo genético (Whittemores y Schaal, 1991; Bacilieri *et al.*, 1996; Dumolin-Lapègue *et al.*, 1997), y una alta variabilidad genética (Valencia, 1994). Estas características han contribuido a su marcada capacidad para adaptarse a diversos ambientes (Dodd *et al.*, 1993; Bruschi *et al.*, 2003; Dodd y Kashani, 2003) y a generar complejos patrones de variación morfológica y genética (Van Valen, 1976; Rieseberg y Wendel, 1993; Valencia, 2004), lo que se ha visto reflejado en la dificultad para la determinación y delimitación de las especies.

Los altos niveles de variabilidad en la morfología foliar dentro del género, han motivado a los investigadores a tratar de explicar dicha complejidad, por lo que se han realizado estudios con varias especies de encinos que han demostrado que existe diferenciación entre las poblaciones, entre los árboles dentro de las poblaciones y entre las

diferentes ramas de un mismo árbol (Gratai *et al.*, 1992; Jensen, 1993; Bruschi *et al.*, 2003). Además, se han detectado cambios ontogénicos (Kleinschmit *et al.*, 1995) y estacionales (Blue y Jensen, 1988). Aunado a la capacidad de las hojas de los encinos para ajustarse a diferentes condiciones ambientales, como ha quedado de manifiesto con los resultados de las investigaciones antes mencionadas, la alta frecuencia de hibridación natural en *Quercus* ha sido considerada otro factor que podría estar incorporando variación morfológica y genética (Hardin, 1975; Valencia, 1994) debido a que las especies de encino son interfértiles en muchas combinaciones, formando híbridos incluso entre especies bien diferenciadas en su morfología y fisiología (Grant, 1981; Hardin, 1975; Valencia, 1994; Bacon y Spellenberg, 1996). Por tal motivo, también se han realizado estudios con varios complejos de encinos con la finalidad de analizar el efecto de la hibridación en los patrones de diversidad fenotípica y genética (Bacilieri *et al.*, 1994, 1996; Howard *et al.*, 1997; Craft *et al.*, 2002; González-Rodríguez *et al.*, 2004a, Tovar-Sánchez y Oyama, 2004). Por ejemplo, Craft y colaboradores (2002) estudiaron una localidad de California en donde *Q. lobata* y *Q. douglasii* habitan en simpatría y encontraron que, de cuatro individuos con alta probabilidad de tener un origen híbrido, sólo uno fue identificado en apariencia como intermedio, lo cual podría indicar que los fenotipos intermedios no son necesariamente híbridos y que en estos casos, el ambiente juega un papel fundamental en la expresión del fenotipo. Resultados similares han sido reportados en México por González-Rodríguez *et al.* (2004a), quienes analizaron la variación foliar y genética a lo largo de 16 poblaciones del complejo *Q. affinis* -*Q. laurina* encontrando que la variación en la morfología foliar fue parcialmente congruente con la variación genética, pues el número de individuos morfológicamente intermedios fue menor que el número de individuos genéticamente intermedios. Así mismo, en el complejo de encinos europeos *Q. petraea* -*Q. robur* se ha encontrado que los individuos morfológicamente intermedios son poco frecuentes, a pesar de la existencia de flujo genético entre dichas especies (Bacilieri *et al.*, 1996; Kremer *et al.*, 2002). Por su parte, Tovar-Sánchez y Oyama (2004) estudiando los patrones de variación morfológica y genética del complejo *Q. crassipes* -*Q. crassifolia* en México, sugirieron que la cercanía de los individuos híbridos a una población con distribución alopátrica incrementó su similitud morfológica y genética con ésta (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004).

En un estudio florístico para Guerrero en México, se reveló que existen varios grupos de encinos que son difíciles de determinar y delimitar por sus características morfológicas, destacando entre ellos: *Quercus affinis* y *laurina* (Valencia, 1986), y a pesar de que no han dejado de ser consideradas especies válidas su delimitación taxonómica no es clara. Con la finalidad de resolver dicha complejidad, Valencia (1994) realizó un estudio mediante un análisis de fenología, anatomía de madera, arquitectura foliar y polen. Sus resultados sugieren que son pocos los caracteres morfológicos que permiten diferenciar entre ambas especies, pero que en general, los individuos de *Q. laurina* procedentes de la Sierra Madre del Sur son fácilmente distinguibles de los individuos de *Q. affinis* de la Sierra Madre Oriental, sin embargo, la delimitación taxonómica se complica hacia el este del Eje Neovolcánico Transversal y al norte de Oaxaca. Con estos datos la autora concluyó que: i) son pocas las características morfológicas que mantienen diferenciadas a las dos especies a través de toda su distribución geográfica, ii) que los individuos intermedios morfológicamente se encuentran distribuidos en las localidades en donde *Q. affinis* y *Q. laurina* tienen una distribución simpátrica y iii) que estos individuos con morfología intermedia, podrían ser el resultado del alto grado de intercambio genético entre estas especies.

Valencia (1994) propuso un escenario histórico sobre el origen del complejo, basándose en las inferencias sobre los patrones biogeográficos del género *Quercus* en México, la distribución geográfica de la morfología foliar del complejo *Q. affinis* -*Q. laurina* en toda su área de distribución y en las reconstrucciones paleoclimáticas disponibles. La hipótesis sugiere que *Q. affinis* y *Q. laurina* son dos especies cercanamente relacionadas que pueden haber divergido en aislamiento (*Q. affinis* en la Sierra Madre Oriental y *Q. laurina* en la Sierra Madre del Sur), probablemente durante el Plioceno medio o tardío y que después de un período de expansión de su distribución, favorecido por las condiciones climáticas de principios del Pleistoceno, entraron en contacto secundario en el norte del estado de Oaxaca y la parte este del Eje Neovolcánico Transversal. Los cambios climáticos ocurridos durante el Pleistoceno, probablemente facilitaron períodos de contacto secundario y de aislamiento, favoreciendo una tendencia a la especiación en el caso del aislamiento en respuesta al ambiente y un incremento en la variabilidad de las especies, en el caso del contacto (Valencia, 1994). Por lo tanto, esta hipótesis sugiere que el complejo

Q. affinis -*Q. laurina* se originó como resultado de frecuentes eventos de hibridación e introgresión durante los períodos de contacto secundario. Esta hipótesis fue puesta a prueba por González-Rodríguez y colaboradores (2004a, 2005) con la ayuda de caracteres morfológicos y marcadores moleculares de RAPD y ADN de cloroplasto. Los resultados que se consideraron evidencias para apoyar la hipótesis de Valencia (1994) fueron: 1) la variación espacial significativamente concordante entre los caracteres morfológicos y moleculares; 2) la mayor variación morfológica y genética en las poblaciones situadas en la probable zona de hibridación; 3) la presencia de dos haplotipos aparentemente divergentes en el complejo.

Por todo lo anterior, el complejo formado por *Q. affinis* y *Q. laurina* representa un sistema ideal para el estudio de los patrones de variación morfológica foliar que pueden encontrarse en zonas de hibridación a través de un gradiente latitudinal. En este trabajo se planteo el siguiente objetivo: 1) Conocer los patrones de variación morfológica foliar y genética del complejo *Quercus affinis* -*Quercus laurina*, a través de un gradiente latitudinal a nivel regional. Para ello se analizó el patrón de variación de los caracteres morfológicos individuales a través del gradiente latitudinal, se estudió la variación morfológica foliar y genética de las poblaciones representativas de *Quercus affinis* y *Q. laurina*, para compararla con los patrones de variación morfológica foliar y genética en nueve poblaciones de la zona de traslape, y finalmente, se estableció el patrón de relaciones entre las poblaciones de acuerdo a sus similitudes morfológicas y genéticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de estudio

Q. affinis se distribuye, principalmente, en las elevaciones de la Sierra Madre Oriental y en el Eje Neovolcánico Transversal, mientras que *Q. laurina* se presenta a lo largo de la Sierra Madre del Sur y el Eje Neovolcánico Transversal (Valencia, 1994). Sin embargo, ambas especies tienen una distribución simpátrica en localidades del norte de Oaxaca y el este del Eje Neovolcánico Transversal, en donde se ha detectado la presencia de individuos con diferentes grados de intergradación morfológica (Valencia, 1994). Por lo tanto, para este estudio una población morfológicamente representativa de *Q. affinis* y una de *Q. laurina* respectivamente, fueron colectadas en sitios en donde estaban presentes de manera

dominante y fuera de la zona de contacto. La población representativa de *Q. laurina* (Xuchitepec) se colectó en la Sierra Madre del Sur y la de *Q. affinis* (Huayacocotla) en la parte sur de la Sierra Madre Oriental. Las nueve poblaciones restantes (Lachao, Ayutla, Comaltepec, Papalo, Zoquitlán, Tonayán, Tetela, Huachinango y Zacatlán), fueron colectadas con base a la descripción de la zona de hibridación hecha por Valencia (1994), en donde las dos especies se traslapan en su distribución y a lo largo de un transecto ubicado entre las poblaciones morfológicamente representativas. Las 11 poblaciones cubrieron un intervalo que va de 16°10' (Xuchitepec) a los 20°30' de latitud norte (Huayacocotla), distribuyéndose por los estados de Oaxaca, Puebla y Veracruz. A cada población se le asignó un número que refleja su posición en el gradiente geográfico sur-norte basado en la longitud y latitud (Fig. 1).

Los datos de latitud y longitud también fueron usados para calcular la distancia geográfica en kilómetros entre los 11 sitios de colecta (Tabla 1), considerando a la población alopátrica de *Q. laurina* (Xuchitepec) como la posición cero. Cabe destacar que la distancia promedio entre las poblaciones es de 42.1 km., sin embargo, aquellas que están más distantes son Zoquitlán y Tonayán, las cuales están separadas por 160 km. Las poblaciones de Xuchitepec y Lachao quedaron incluidas en la región de la Sierra Madre del Sur, Ayutla, Comaltepec, Papalo y Zoquitlán en la Sierra Norte de Oaxaca, Tonayán y Tetela en el Eje Neovolcánico Transversal y Huachinango, Zacatlán y Huayacocotla en la Sierra Madre Oriental. A los once sitios de colecta se les denominó como “poblaciones” estuvieran o no dentro de la zona de contacto.

Morfología foliar

En total se muestrearon 310 individuos pertenecientes a 11 poblaciones del complejo *Quercus affinis* -*Q. laurina* (Tabla 1; Fig. 1). Para el estudio de la morfología foliar se colectaron dos ramas de la parte basal de cada individuo y después, se eligieron de forma aleatoria 10 hojas maduras de cada árbol sin daño mecánico.

Posteriormente, se midieron 20 caracteres morfológico-foliares (Tabla 2), los cuales fueron elegidos con base en los trabajos de Valencia (1994) y González-Rodríguez y Oyama (2005), en donde se proponen diferentes caracteres morfológico-foliares que han sido de utilidad para distinguir entre *Q. affinis* y *Q. laurina*.

Datos moleculares

Se colectaron en nitrógeno líquido y almacenaron hojas jóvenes sin daño aparente de 294 individuos pertenecientes a once poblaciones, para analizar los patrones de variación genética mediante la técnica conocida como RAPDs (Williams *et al.*, 1990). El ADN fue aislado usando el protocolo propuesto por Lefort y Douglas (1999) y almacenado en agua desionizada estéril. La concentración de las muestras de ADN fue cuantificada con un espectrofotómetro (Gene Quant *pro* RNA/DNA calculador, Biotech Inc., San Francisco, California, USA) y posteriormente, fueron diluidas con buffer TE a una concentración de 25 ng/μl.

En un estudio previo con 131 oligonucleótidos de 10 pb (González-Rodríguez *et al.*, 2004a), se identificaron siete que generaron nueve bandas que mostraron diferencias importantes en su frecuencia entre las dos especies. Estos siete oligonucleótidos (OP-A05, OP-A7, OP-A10, OP-B17, OP-C9, OP-G19 y OP-I7) (Operon Technologies, Inc., Alameda, California, USA) fueron usados en este estudio para caracterizar a las dos poblaciones de las especies progenitoras, así como, a las nueve poblaciones distribuidas en la zona de contacto.

Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en una mezcla de 25 μl que contenía 6 μl de solución maestra (KCl 50mM, Buffer 10X, 0.1 mM de cada dNTP, H₂O bidestilada), 1 μl de primer, 1 μl de ADN (25 ng) y Taq polimerasa, mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) usando un termociclador. El programa consistió de 45 ciclos. La reacción se inicia con un incremento en la temperatura a 94° C con la finalidad de desnaturalizar el ADN por calor, seguida de una disminución de la temperatura hasta 37° C para la alineación de los oligonucleótidos (primers) a uno a varios sitios homólogos en la cadena de ADN desnaturalizada. Finalmente se mantiene la temperatura óptima para la enzima (72° C) y así comienza la fase de replicación. Una extensión final a 72°C por 7 minutos fue incluida. Los productos de PCR se corrieron en geles de agarosa y fueron teñidos con Bromuro de Etidio. Los geles con fragmentos amplificados se visualizaron y fotografiaron bajo luz ultravioleta, y el peso molecular de las bandas fue estimado usando como referencia un marcador de peso molecular conocido (Fig.3). La reproducibilidad de los productos del PCR fueron analizados al amplificar de manera independiente, en dos ocasiones, 10 individuos al azar de cada población y con cada primer.

Análisis morfológicos

Para identificar y comparar los patrones de variación en los caracteres individuales entre las especies y entre las poblaciones a través del gradiente geográfico, se realizaron los análisis de varianza (ANOVA). Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza fueron probados y confirmados para cada variable (Zar, 1999). Los datos de porcentajes fueron transformados como $X = \arcsen (\%)^{1/2}$ y los datos no continuos se transformaron como $X = \log X$ (Zar, 1999). Los análisis se realizaron con el paquete estadístico STATISTICA 6.0 para Windows (Statsoft, 1998). Para determinar las relaciones morfológicas entre las poblaciones, se realizó un análisis de cluster con distancia Euclidiana (Sneath y Sokal, 1973) usando las medias poblacionales de veinte caracteres foliares (Tabla 2). Una vez que fueron obtenidas las subdivisiones morfológicas entre las poblaciones a través del análisis de cluster, se realizó un análisis de varianza anidada (ANOVA) para obtener la distribución de la variación morfológica foliar en los diferentes niveles jerárquicos: grupos de poblaciones, poblaciones dentro de los grupos, individuos dentro de las poblaciones y hojas dentro de los individuos. Este último nivel representó el error en el modelo (Sokal y Rohlf, 1995). Los individuos y las poblaciones fueron considerados como los factores de anidamiento aleatorios dentro de los grupos. Este análisis fue realizado usando el paquete estadístico JMP (SAS, 1995).

Para analizar la correlación entre la distancia geográfica y la similitud morfológica de las once poblaciones, se corrió una prueba de Mantel (Sokal y Rohlf, 1995). Para ello, se construyó una matriz de distancia geográfica (considerando la latitud y longitud de cada población) y otra de similitud morfológica (que se obtuvo del análisis de cluster) usando el paquete TFPGA versión 1.3 (Miller, 1997).

Con la finalidad de identificar los patrones de variación en la morfología foliar del complejo *Q. affinis* -*Q. laurina* en el gradiente latitudinal, se aplicaron análisis de regresión para determinar relaciones entre variables morfológicas foliares y datos geográficos. Cada una de las veinte variables morfológicas se analizaron a través del gradiente latitudinal. Este análisis se realizó con STATISTICA 6.0 para Windows (Statsoft, 1998).

Análisis moleculares

Para el análisis de los datos moleculares se construyó una matriz de presencia-ausencia, asignándose el valor de “1” cuando el fragmento amplificado estuvo presente, el valor de “0” cuando estuvo ausente y “N” cuando se desconocía. Para cada fragmento, la presencia de la banda fue considerada como la expresión del alelo dominante de un locus único, mientras que la condición de ausencia fue considerada la expresión del alelo recesivo (en condición homocigótica) (Lynch y Milligan, 1994). Con la finalidad de identificar la constitución genética de todos los individuos, se utilizó esta matriz binaria para calcular un índice de hibridación de máxima probabilidad, el cual se obtuvo mediante el software Hardig-Hybrid (Hardig *et al.*, 2000). Los resultados se representaron en un histograma de frecuencias para cada sitio de las especies progenitoras y para los sitios mixtos.

RESULTADOS

Análisis de morfología foliar.

En total se midieron 20 caracteres de 3200 hojas pertenecientes a once poblaciones de *Quercus affinis* y *Q. laurina*. El 80% de los caracteres foliares difirieron significativamente entre las especies, mientras que algunas variables tales como longitud de la lámina (LL), ancho máximo (AM), distancia de la base al punto del ancho máximo (DAM) y longitud de la lámina/ altura al ancho máximo (OB), no mostraron diferencias. Entre las poblaciones, el 90% de los caracteres morfológicos foliares también difirieron significativamente, excepto en variables tales como el diámetro del pecíolo en la base (DPB) y el diámetro del pecíolo al inicio de la hoja (DPIH) (Tablas 2, 3).

Además, se detectó una tendencia general que mostró que conforme se incrementa la distancia geográfica se incrementa la disimilitud morfológica entre las poblaciones (Mantel $r = 0.629$; $P < 0.001$), lo cual sugiere que las más cercanas geográficamente tienden a ser en lo general más parecidas morfológicamente, aunque el análisis de agrupamiento basado en los caracteres morfológicos de tipo foliar de las 11 poblaciones no mostró exactamente la misma tendencia. Sin embargo el UPGMA reveló la formación de dos grupos claramente diferenciados (Fig. 2). El primer grupo incluyó a las poblaciones localizadas al sur del gradiente latitudinal estudiado (poblaciones 1 a la 6; Tabla 1). En este

grupo de poblaciones, el tipo morfológico predominante fue el de *Q. laurina* (Valencia, 1994), incluyendo a la propia población con distribución alopátrica de *Q. laurina* (Xuchitepec) (Fig. 2). El segundo grupo incluyó a las poblaciones con una distribución más norteña (población de la 7 a la 11; Tabla 1), siendo el tipo morfológico predominante el de *Q. affinis* y en donde la población con distribución alopátrica de esta especie (Huayacocotla) también se mantuvo unida a las poblaciones simpátricas con este tipo morfológico (Fig. 2). Con estos resultados, se muestra que las poblaciones se agrupan en términos de su similitud morfológica foliar.

Por otro lado, el análisis de varianza anidado mostró que todos los niveles jerárquicos (grupos de poblaciones, poblaciones dentro de los grupos e individuos dentro de las poblaciones) contribuyeron de manera significativa a la variación foliar en el complejo *Q. affinis* -*Q. laurina* (Tabla 4). La mayor proporción de la variación de los 20 caracteres foliares se encuentra dentro de las poblaciones, como la variación entre los individuos (17-63%, dependiendo del carácter), y la variación de las hojas dentro de los individuos (14-68%), así como entre poblaciones (0.04-0.36%). Finalmente, sólo el número de aristas (NA) contribuyó de manera significativa (55%), a la diferenciación de los dos grupos de poblaciones obtenidos mediante el análisis, pues se observó que las poblaciones del grupo sureño mostraron un número menor de aristas que el grupo formado por las poblaciones del norte.

Los análisis de regresión mostraron que seis de las veinte variables morfológicas presentaron una relación linear significativa con respecto a la latitud (Tabla 5). Sin embargo, sólo el número de aristas (NA) tuvo un índice de determinación considerable ($r^2 = 0.41$; $P < 0.001$) Tabla 5.

Análisis genético con el uso de marcadores RAPDs

Se usaron siete oligonucleótidos para determinar la identidad genética de todos los individuos muestreados pertenecientes a cada una de las poblaciones con distribución alopátrica de *Q. affinis* y *Q. laurina*, así como de las nueve poblaciones mixtas. Estos primers produjeron 123 bandas, de ellas 51 fueron polimórficas, de las cuales sólo nueve mostraron diferencias en las frecuencias entre las poblaciones representativas de las dos especies. El análisis del índice híbrido de máxima probabilidad a partir de estos nueve

marcadores semi-diagnósticos mostró que el puntaje para la población representativa de *Q. affinis* (Huayacocotla) fue de 0.0 a 0.14, con una media de 0.06 (e.e. 0.006). Para la población representativa de *Q. laurina* (Xuchitepec), el puntaje fue de 1.0 a 0.88, con una media de 0.94 (e.e 0.008). Por último, para las poblaciones híbridas fue intermedia entre las poblaciones de Huayacocotla y Xuchitepec, con un puntaje promedio de 0.59 (e.e 0.01). En la Fig. 3, partiendo de la izquierda de la gráfica se observa una transición de las frecuencias alélicas de la población representativa de *Q. laurina* colectada en la Sierra Madre del Sur, seguida de distribuciones más intermedias en poblaciones colectadas en la zona de contacto en la Sierra Norte de Oaxaca y hacia el este del Eje Neovolcánico Transversal, hasta llegar al extremo derecho de la gráfica que representa a la población representativa de *Q. affinis* en la Sierra Madre Oriental. La distribución de la frecuencia de los valores resultantes del índice de hibridación también reveló que en general, las poblaciones híbridas más cercanas a la población representativa de *Q. affinis* tiene mayor similitud genética con ella y lo mismo sucede con las poblaciones híbridas más cercanas a *Q. laurina* (Fig. 4). De tal manera que las poblaciones distribuidas en la Sierra Madre del Sur y Sierra Norte de Oaxaca tuvieron una mayor similitud genética a *Q. laurina*, mientras que las de la Sierra Madre Oriental mostraron una mayor similitud genética a *Q. affinis*. Sin embargo, se observó una tendencia de introgresión hacia *Q. laurina* en aquellas poblaciones híbridas distribuidas en la Sierra Madre del Sur, Norte de Oaxaca y el Eje Neovolcánico Transversal.

DISCUSIÓN

Los encinos han sido considerados un grupo complicado taxonómicamente, pues se caracterizan por tener altos niveles de plasticidad fenotípica (Tucker, 1974, Jones, 1986). *Quercus affinis* y *Q. laurina* no son la excepción, pues tales especies constituyen uno de los complejos de encinos mexicanos que muestra un intervalo amplio de variación morfológica, ya que, por ejemplo, se han encontrado 25 nombres que han sido aplicados como sinónimos de *Q. laurina* y 9 para *Q. affinis* (Valencia, 1994), además existen localidades (como en la parte oriental del Eje Neovolcánico Transversal y en algunas regiones del estado de Oaxaca) en donde hay una alta variación intrapoblacional y entre poblaciones cercanas; como consecuencia, en estos sitios es difícil asignar la identidad

taxonómica de los individuos. Tal complejidad, ha sido previamente interpretada, como el producto de intercambio genético entre estas especies (Valencia, 1994; González-Rodríguez *et al.*, 2004a). En el presente estudio los resultados mostraron que las poblaciones que representan a *Q. affinis* y *Q. laurina* difieren en el 80% de los caracteres morfológicos analizados. En general, se observó que las variables de tamaño fueron mayores en la población representativa de *Q. laurina* con respecto a la de *Q. affinis*. Esta información coincide con los resultados obtenidos por Valencia (1994), quien reporta que las hojas de mayor talla y más anchas parecidas a *Q. laurina* se distribuyen en la Sierra Madre del Sur y el Eje Neovolcánico Transversal, mientras que las formas más pequeñas y delgadas parecidas a *Q. affinis*, se distribuyen hacia el este del territorio nacional, desde Nuevo León hasta Oaxaca. Valencia (1994) también sugiere que las diferencias en el tamaño y forma de las hojas se pueden correlacionar con las condiciones ambientales, pues los individuos de *Q. affinis* que muestran hojas más pequeñas, angostas y lanceoladas, se desarrollan en sitios húmedos y protegidos como los valles y las barrancas, mientras que los de *Q. laurina* que muestran hojas más grandes, anchas y oblongas, ocupan los lugares menos protegidos y secos, tales como cañadas, laderas y cimas. Tales observaciones hacen suponer que la adaptación a hábitats particulares puede tener un papel importante en la morfología foliar de estas especies y aunque en este trabajo no se realizó un análisis de los factores ambientales entre localidades, en otros estudios ya se han reportado patrones de asociación de hábitat para otros complejos de encinos (Kleinschmit *et al.*, 1995; Howard *et al.*, 1997; Bruschi *et al.*, 2003).

También se observó que hubo diferencias significativas en el 90% de las variables morfológicas analizadas entre las poblaciones del complejo *Q. affinis* -*Q. laurina*, a través del gradiente geográfico. Sin embargo, la variable que mostró mayor diferenciación entre las poblaciones y una correlación positiva y significativa con la latitud fue el número de aristas (NA), ya que se observó un incremento de este carácter de sur a norte. En particular, esta variable tiene una importancia funcional conocida. Se ha visto que las especies de árboles con márgenes lobados o dentados, aumentan a lo largo de un gradiente latitudinal en el que disminuye la temperatura media anual y en donde la estacionalidad es más marcada (Givnish, 1987). Así se ha supuesto que las aristas representan adaptaciones encaminadas a hacer más eficiente la fotosíntesis en estadios tempranos del desarrollo foliar

(Baker-Brush y Peet, 1997). Esta condición ha sido observada en especies templadas (incluyendo encinos) hacia latitudes mayores, donde la condición decidua es importante y en donde tener una estructura fotosintética precoz podría ser ventajosa, debido a que el proceso fotosintético puede comenzar antes de que disminuya la cantidad de luz que entra a través del dosel por efecto del desarrollo del follaje de otras plantas (Baker-Brush y Peet, 1997). Con esta información se podría suponer que la variación encontrada en esta variable a través del gradiente geográfico de las poblaciones del complejo *Q. affinis* -*Q. laurina* estudiadas, podrían estar relacionadas a las condiciones ambientales resultantes de los cambios latitudinales que se presentan en el territorio mexicano (Mosiño-Alemán y García, 1974), ya que el efecto de la latitud sobre la morfología foliar ya ha sido reportado en México para otras especies de plantas. Por ejemplo, Rico-Gray y Palacios-Ríos (1996), encontraron que el área de la hoja de *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae) tiene una disminución significativa hacia latitudes mayores, donde disminuye la precipitación anual y la temperatura (Grubb, 1977, Körner *et al.*, 1986; Geeske *et al.*, 1994), pues en las regiones semiáridas las hojas tienden a ser pequeñas, mientras que en regiones muy húmedas tienden a ser de mayor tamaño (Challenger, 1998).

Considerando la hipótesis del flujo genético, se podría predecir que existe una correlación entre la morfología foliar y la distancia geográfica que separa a las diferentes poblaciones, ya que las localidades geográficamente más cercanas tendrían mayor similitud morfológica. Este supuesto fue respaldado por el resultado obtenido con la prueba de Mantel, el cual sugiere una tendencia general entre las poblaciones, es decir, las más cercanas geográficamente tienden a ser más parecidas en su morfología foliar entre sí, aunque en el análisis de agrupamiento jerárquico este patrón no fue consistente entre todas las poblaciones, ya que algunas más lejanas quedaron ordenadas juntas y viceversa. Sin embargo, cabe mencionar que al comparar pares de poblaciones contiguas geográficamente hay menos variables que muestren diferencias significativas que entre las más lejanas geográficamente, lo que hace suponer la influencia que el flujo genético ha tenido sobre la morfología foliar de este complejo. Aun que sin duda, estos resultados muestran la gran complejidad de la morfología foliar característica del género.

Por otro lado, también es probable que la similitud morfológica entre las poblaciones cercanas pueda haber sido el resultado de haber estado expuestas a factores

ambientales e históricos más similares, lo que a través del tiempo pudo haber dado como resultado los fenotipos más similares (Endler, 1977). Este escenario también podría ser la explicación al hecho de que las poblaciones ubicadas dentro de regiones geográficas más cercanas hayan quedado agrupadas en términos de su similitud morfológica, por un lado las de la Sierra Madre del Sur y la Sierra Norte del estado de Oaxaca, y por el otro, las de la Sierra Madre Oriental y la parte Noreste del Eje Neovolcánico Transversal (Fig. 2).

Como ya se mencionó el análisis de agrupamiento (UPGMA), reveló la formación de dos grupos de poblaciones en términos de su similitud morfológica, pero también por su cercanía geográfica, ya que todas las poblaciones que se distribuyen en la Sierra Madre del Sur y en la Sierra de Oaxaca (de la población 1-6) (ver Tabla 1 y Fig. 2) quedaron congregadas, formando un grupo “sureño” en donde el tipo morfológico fue predominantemente similar a *Q. laurina*; mientras que las que se encuentran en la Sierra Madre Oriental y el este del Eje Neovolcánico Transversal (de la población 7-11) (ver Tabla 1 y Fig. 2), formaron un grupo “norteño” en donde predominó la morfología foliar similar a *Q. affinis*. La diferenciación en estos dos grupos de poblaciones podría ser explicada por la presencia del Eje Neovolcánico Transversal, que es una franja alargada de origen volcánico que corre unos 900 Km. de oeste a este, considerado geológicamente el sistema montañoso más joven y en el que se localizan los picos más altos del país (Ferrusquilla y Villafranca, 1993). Probablemente, esta gran cadena montañosa ha establecido un límite biogeográfico, geológico y climático (Ferrusquilla-Villafranca, 1993; Rzedowski, 1996; Aguilar, 2000) entre estas poblaciones, lo cual ha tenido influencia sobre la morfología foliar. Por lo tanto, los resultados sugieren que la diferenciación de las poblaciones en estos dos grupos morfológicos podría ser el resultado de la separación geográfica y de las diferencias entre los factores ambientales e históricos (Ferrusquilla-Villafranca, 1993) de las regiones en donde se encuentran distribuidas las poblaciones.

Por otro lado, los resultados del análisis de anova anidado mostraron que todos los niveles jerárquicos (grupo, población, individuo y hoja), contribuyeron de manera significativa en la variación foliar del complejo *Q. affinis* -*Q. laurina* (Tabla 4). De los veinte caracteres morfológicos foliares analizados sólo el número de aristas (NA), contribuyó de manera significativa a la diferenciación de los dos grupos de poblaciones obtenidos mediante el análisis. Este resultado podría sugerir la idea de que pudo haber

ocurrido diferenciación adaptativa de la morfología foliar durante el proceso de divergencia de estas especies en áreas geográficas diferentes (*Q. affinis* en la Sierra Madre Oriental y *Q. laurina* en la Sierra Madre del Sur) y que el número de aristas representa una característica adaptativa que se da a través del gradiente tropical templado (sur-norte) hacia donde aumenta la estacionalidad y disminuye la precipitación (Givnish, 1987).

La gran variación encontrada entre las poblaciones podría ser el resultado de diferencias ambientales entre las localidades y la plasticidad fenotípica, sin embargo, el patrón de mayor similitud morfológica encontrado entre las poblaciones geográficamente más cercanas sugiere también la acción del flujo genético. Considerando que el fenotipo observado también puede estar influenciado por el nivel de flujo genético y que en los encinos es alto (vía polen) (Zanetto y Kremer, 1995; Le Corre et al., 1997), ya que la polinización se da a través del viento (Loveless y Hamrick, 1984; Hamrick *et al.*, 1992), se esperaría que un flujo genético extensivo homogeneizó a las poblaciones (Slatkin, 1985; 1994). Se sabe que el polen de los encinos puede ser dispersado largas distancias, pues existen trabajos que han revelado que éste puede viajar varios kilómetros (Lahtinen *et al.*, 1996). Esta observación que ha sido confirmada en estudios de paternidad en encinos europeos (Streiff *et al.*, 1999) y americanos (Dow y Ashley, 1996). Sin embargo, aunque el complejo *Q. affinis* -*Q. laurina* tiene este sistema de polinización y que se ha documentado que existe flujo genético entre sus poblaciones (González-Rodríguez et al., 2004a), la diferenciación morfológica reportada entre las poblaciones sugiere que éste no ha sido suficiente para prevenir la diferenciación entre ellas y que los factores ambientales locales y regionales pueden estar jugando un papel importante. Recordemos la gran diversidad topográfica y climática que caracteriza a las regiones montañosas de México (Rzedowski, 1978), lo cual ha generado la disponibilidad de hábitats adecuados para ser ocupados por diferentes poblaciones de encinos (Challenger, 1998; Valencia, 2004).

Los resultados también mostraron que el resto de la variación estuvo contenida principalmente a nivel de los individuos dentro de las poblaciones, lo que puede ser el resultado de la plasticidad fenotípica debido a las condiciones microambientales a las que pueden estar sometidos los diferentes individuos (Roth, 1984; Bull, 1987; Bruschi *et al.*, 2003), pero también como resultado de diferencias genéticas, lo cual es el patrón de variación intraespecífico esperado para especies con un ciclo de vida largo,

entrecruzamiento obligado y polinización por viento (Loveless y Hamrick, 1984; Bacilieri *et al.*, 1994). En general, se ha revelado una baja diferenciación genética poblacional en las especies de encino, lo cual sugiere altas cantidades de flujo genético intrapoblacional (vía polen) (Zanetto y Kremer, 1995; Le Corre *et al.*, 1997). Por tal motivo, se esperaría que una gran proporción de la variación fenotípica tuviera una base genética entre los individuos, sin embargo, los caracteres morfológicos pueden estar sujetos a limitantes ambientales y de desarrollo que pueden afectar la cantidad y la dirección de la variación expresada (González-Rodríguez *et al.*, 2005), mientras que los caracteres neutrales no lo hacen (Endler, 1977). En el caso de poblaciones que se originan por flujo genético entre diferentes especies, se espera encontrar una mayor diversidad de combinaciones genéticas y por ello, un incremento en la variación de los caracteres cuantitativos resultado del desequilibrio de ligamiento y alta heterocigocidad (Harrison, 1990). Aunque este supuesto no se puso a prueba directamente en este trabajo, González-Rodríguez y colaboradores (2005) encontraron que en general, el coeficiente de variación de seis variables morfológico-foliales a través de 16 poblaciones del complejo *Q. affinis* -*Q. laurina*, fue mayor en las poblaciones híbridas respecto a las poblaciones progenitoras. En este mismo sentido, pero a escala local Ibarra-Montoya (2005) encontró un alto grado de variabilidad morfológica en dos zonas de traslape geográfico entre *Q. affinis* y *Q. laurina*, condición que fue atribuida (al menos en parte) al intercambio genético entre las dos especies. Ambos resultados sugieren la relevancia del flujo genético interespecífico sobre la variación morfológica foliar.

Por otro lado, los resultados genéticos de este estudio muestran que las poblaciones en donde las especies progenitoras están separadas (en Xuchitepec *Q. laurina* y en Huayacocotla *Q. affinis*) están diferenciadas genéticamente y que en las poblaciones hay una transición gradual de las frecuencias alélicas de una especie progenitora a la otra, a través de una serie de poblaciones híbridas intermedias.

Por su parte González-Rodríguez y colaboradores (2004) al estudiar 16 poblaciones de este mismo complejo también encontraron un cambio gradual de la población aislada de *Q. affinis* a la población aislada de *Q. laurina* con una serie de poblaciones más o menos intermedias. Este resultado sugiere un patrón de variación clinal en la zona de hibridación. La transición de las frecuencias alélicas de una población progenitora a la otra, encontrada

en este trabajo, podría ser explicada por un flujo genético entre una población y otra, considerando la cercanía geográfica de la población híbrida con respecto a de la especie progenitora. Es decir, lo que se observa es que las poblaciones híbridas más cercanas a la población típica de *Q. laurina* se parecen más genéticamente a ésta que a las poblaciones híbridas más cercanas a la población con distribución alopatrica de *Q. affinis*. Este mismo patrón parece estar operando en el complejo de encinos mexicanos *Q. crassipes* -*Q. crassifolia* (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004), ya que se observó que los híbridos más cercanos a las poblaciones con distribución alopatrica de *Q. crassipes* se parecen más a ella que a la población con distribución alopatrica de *Q. crassifolia* y viceversa. Este patrón de similitud genética también podría ser analizado considerando las densidades relativas de las dos especies a lo largo del gradiente geográfico, pues una densidad menor en una especie, podría estar relacionada con un menor número de donadores de polen efectivos de la misma (Sork *et al.*, 2002), por lo que es más probable que un híbrido sea polinizado por la especie progenitora numéricamente superior. Así, si la densidad de *Q. laurina* aumenta conforme las poblaciones híbridas se acercan geográficamente a la población con distribución alopatrica de *Q. laurina* (L. Valencia, obs. pers.), se esperaría que los híbridos de las poblaciones más cercanas a este sitio tuvieran más probabilidad de ser polinizados por individuos de esta especie, y por lo tanto ser genéticamente más parecidas. De la misma forma explica la tendencia de mayor similitud genética de las poblaciones híbridas más cercanas a la población de *Q. affinis*. Esta hipótesis de flujo génico dependiente de la densidad ha sido considerada para explicar el patrón de introgresión en una zona híbrida entre *Iris fulva* e *I. hexagona* en el sur de Luisiana (Nason *et al.*, 1992).

Los resultados también mostraron una tendencia de introgresión unidireccional en *Q. laurina*, principalmente en aquellas poblaciones híbridas que se encuentran distribuidas en la Sierra Madre del Sur y Norte de Oaxaca (Ayutla, Comaltepec, Papalo y Zoquitlán) e incluso la tendencia se mantiene hacia las poblaciones del este del Eje Neovolcánico Transversal (Tonayán y Tetela), las cuales muestran una separación de 160 km con las poblaciones de la Sierra Norte de Oaxaca. En contraste, en las poblaciones híbridas más cercanas a la Sierra Madre Oriental (Huachinango y Zacatlán) que mostraron una mayor similitud genética con *Q. affinis*, la tendencia no sugiere un proceso de introgresión hacia esta especie (Fig. 4). La dinámica de la introgresión depende de la estructura genética de la

especie, así como del ambiente al que está expuesta y puede ser unidireccional (la incorporación de genes se da hacia una sola especie) o bidireccional (la incorporación de genes se da hacia las dos especies) (Rieseberg y Wendel, 1993). Esta tendencia de introgresión unidireccional no es un caso excepcional en encinos, pues ya ha sido documentado en otras especies estudiadas del género (Dumolin-Lapègue *et al.*, 1999; Balahib *et al.*, 2001; Petit *et al.*, 2002; Petit *et al.*, 2003). Existen dos probables hipótesis para explicar la posible dominancia de genes de *Q. laurina* en este complejo. Por un lado, sería posible que esta asimetría fuera generada por la floración diferencial de los genotipos (precocidad y duración) (Bacilieri *et al.*, 1996; Belahbib *et al.*, 2001) o bien que dentro del complejo hubiera un proceso de apareamiento preferencial, es decir, que las cruzas compatibles más frecuentes se presentaran entre determinados genotipos y en cierta dirección (Bacilieri *et al.*, 1996) [ej. *Q. affinis* (óvulo) × *Q. laurina* (polen)]. La única información que se tiene hasta el momento sobre la fenología en el complejo *Q. affinis* - *Q. laurina*, son los resultados de Valencia (1994), quien documentó por poco más de un año que la floración en estas especies comienza desde la segunda quincena de febrero y permanece casi todo marzo, período que coincide con la estación más seca y de mayores vientos, lo cual favorece la dispersión del polen y con ello, la polinización anemófila. Aunque no hay estudios del sistema de apareamiento en este complejo, en otros encinos como *Q. robur* y *Q. petraea*, los resultados de cruzas controladas han revelado que pueden existir diferencias en el éxito del apareamiento entre diferentes genotipos (Steinhoff, 1993). Otro ejemplo, son los resultados obtenidos por Belahbib y colaboradores (2001), quienes encontraron que entre *Q. ilex* y *Q. suber* son más frecuentes los eventos de introgresión en la dirección *Q. ilex* (óvulo) × *Q. suber* (polen), por lo que sugieren que esta asimetría pudo haber favorecido la dispersión de la segunda especie, en regiones ya colonizadas por la primera. Por tanto, es necesario obtener más datos sobre la fenología de la floración, así como del sistema de apareamiento en estas especies, lo cual sería de gran utilidad para tener datos más sólidos sobre los patrones de diversidad genética encontrados en este complejo. Otro escenario posible es que se trate de polimorfismos ancestrales, por lo tanto la dominancia de genes de *Q. laurina* en la mayoría de las poblaciones híbridas podrían ser relictos de la combinación de los genomas de las dos especies durante los contactos y que han permanecido en las poblaciones descendientes. Sin embargo, cabe señalar, que estas

discusión pone en evidencia lo complicado que puede ser el distinguir cuál de varias interpretaciones posibles es mejor y que aún están sujetas a debate.

Los datos obtenidos en la presente investigación hacen suponer que estas localidades podrían estar actuando como un corredor, en donde la proximidad geográfica a una población típica, favorece una mayor similitud genética de los híbridos con las especies progenitoras, lo que probablemente dará como resultado que las poblaciones híbridas más próximas a un sitio con distribución alopátrica se parezcan cada vez más a la población de la especie parental de ese sitio, y al mismo tiempo, incrementen su variabilidad genética (Grant, 1981). De acuerdo a ello, la tendencia de introgresión detectada en *Q. laurina* y no hacia *Q. affinis* en las poblaciones híbridas, sugiere que podrían existir diferencias en la “eficacia” de las barreras reproductivas entre ambas especies. Es decir, se podría sugerir que *Q. affinis* podría ser un linaje genéticamente más diferenciado, que al parecer sólo hibridiza con *Q. laurina* (Valencia, 1994), además de que se podría suponer que su acervo genético no se está viendo alterado por el proceso de introgresión, ya que no está habiendo una transferencia de genes de *Q. laurina* hacia *Q. affinis*. Para el caso de *Q. laurina*, existen datos que sugieren que se trata de un linaje con barreras reproductivas menos desarrolladas, entre los que destacan i) su capacidad de hibridizar con cuatro especies más de encinos, *Q. crassipes*, *Q. crassifolia*, *Q. rubramenta* y *Q. mexicana*, además de *Q. affinis*, (Valencia, 1994), ii) su gran espectro de variación morfológica reportado y iii) las dificultades taxonómicas que presenta, pues se han descrito 25 nombres que se consideran sinónimos de esta especie (Valencia, 1994). Dicha información podría ser indicio de que *Q. laurina* es un linaje heterogéneo que a lo largo de su historia evolutiva ha adquirido diversidad genética y desarrollado las adaptaciones que le han permitido colonizar nuevos ambientes a través de los procesos de hibridación e introgresión. Considerando la posibilidad de que exista un proceso de introgresión hacia *Q. laurina* y que este se ha definido como la incorporación de genes de una especie a otra por la retrocruza repetida de híbridos con las especies parentales (Rieseberg y Soltis, 1991), condición que promueve el incremento en la diversidad genética y el desarrollo de nuevas adaptaciones debido al número de combinaciones genéticas (Grant, 1981), se podría suponer que para *Q. laurina* la hibridación ha sido un mecanismo para la colonización de nuevos hábitats, muy probablemente, los ocupados por alguna de las especies con las que puede hibridizar.

Además este modelo ha sido propuesto como la explicación del alto grado en que las poblaciones de este complejo comparten los haplotipos del ADN de cloroplasto (González-Rodríguez *et al.*, 2004b). Esta visión del proceso de hibridación como mecanismo de colonización, ha sido sugerida en encinos europeos (Petit *et al.*, 2003), en eucaliptos (Potts y Reid, 1988) y en girasoles (Dorado *et al.*, 1992).

El hecho de que los caracteres morfológicos hayan revelado la formación de dos grupos con morfología foliar predominantemente de tipo parental (al sur similar a *Q. laurina* y al norte similar a *Q. affinis*), sugiere que los individuos con morfología foliar intermedia son poco frecuentes (Bacilieri *et al.*, 1996; Kremer *et al.*, 2002). Las explicaciones que se han dado indican que los híbridos pueden ser más similares a la especie que actúa como progenitor materno (efecto materno) o al efecto de la selección en contra de las formas intermedias (Bacilieri *et al.*, 1996; Kremer *et al.*, 2002). Resultados similares han sido encontrados por Craft y colaboradores (2002), quienes estudiaron una localidad de California en donde *Q. lobata* y *Q. douglasii* habitan en simpatria y encontraron que de cuatro individuos con alta probabilidad de tener un origen híbrido, sólo uno fue identificado en apariencia como intermedio, lo cual podría indicar que los fenotipos intermedios no son necesariamente híbridos y que el ambiente juega un papel fundamental en la expresión del fenotipo.

En contraste, los resultados moleculares indican una transición gradual en las frecuencias alélicas de una especie a la otra pasando por una serie de poblaciones intermedias. Esta incongruencia podría indicar que los caracteres moleculares neutros han experimentado una introgresión considerable entre ambas especies en la zona de hibridación, mientras que la morfología foliar ha permanecido comparativamente estable. En general, es común que en zonas híbridas la introgresión de loci adaptativos sea más restringida que la introgresión de los loci neutrales (Rieseberg y Wendell, 1993). Este tipo de introgresión diferencial ha sido explicado bajo el argumento de que la recombinación de los caracteres morfológicos y fisiológicos importantes desde un punto de vista adaptativo, puede dar origen a individuos con fenotipos poco exitosos, mientras que no se espera lo mismo en individuos que combinan los loci neutrales de diferentes especies (Shoemaker *et al.*, 1996).

Un ejemplo de este tipo de incongruencias entre la morfología y la composición genética de los individuos, fueron encontradas en una población híbrida entre *Helianthus annuus* y *H. bolanderi* en donde se observaron una gran cantidad de individuos morfológicamente similares a *H. annuus*, pero que tuvieron una alta proporción de los marcadores de la otra especie, lo cual fue interpretado en el sentido de que los híbridos podrían estar experimentando selección ecológica a favor de los caracteres morfológicos de dicha especie (Carney et al., 2000). Sin embargo, la incongruencia entre los diferentes tipos de marcadores no es exclusiva de este complejo, pues datos similares se han reportado para otros complejos de encinos (Bacilieri et al., 1996; Howard et al., 1997), y ha sido interpretada como indicio de que los diferentes taxa no están bien diferenciados, ya que su divergencia se dio rápida y recientemente, a partir de eventos frecuentes de hibridación e introgresión, o a ambos factores.

Las técnicas morfológicas y moleculares utilizadas en este estudio sugieren que es necesaria la combinación de estas técnicas para obtener un mejor reconocimiento de las zonas híbridas, así como de los procesos de hibridación e introgresión, debido a las incongruencias que se pueden presentar entre este tipo de datos. Además, aunque el uso de RAPDs en la detección de hibridación interespecífica, ha sido muy criticado, debido a que se heredan como dominantes (Williams et al., 1990), en este estudio ofrecieron evidencias sobre los procesos de hibridación e introgresión en el complejo *Q. affinis* -*Q. laurina*.

LITERATURA CITADA

- Abrams M. D., B. D. Kloeppel y M. E. Kubiske. 1992. Ecophysiological and morphological responses to shade and drought in two contrasting ecotypes of *Prunus serotina*. *Tree Physiol.* 10: 343-355.
- Abrams M. D. 1994. Genotypic and phenotypic variation as stress adaptation in temperate tree species: a review of several case studies. *Tree Physiol.* 14: 833-842.
- Aguilar S. 2000. Cartas del medio físico, biológico y humano. En: Rueda, R. (Coord.). *Atlas de Morelos*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México.

- Arnold M. L. 1997. *Natural hybridization and evolution*. Oxford University Press, New York, NY.
- Bacon J. R. y R. Spellenberg. 1996. Hybridization in two distantly related Mexican black oaks: *Quercus konzattii* and *Quercus eduardii* (Fagaceae: *Quercus*: section *Lobatae*). *Sida* 17: 17-41.
- Bacilieri R. T. y A. Kremer. 1994. Intraespecific genetic structure in a mixed population of *Quercus petrae* (Matt) Liebl and *Q. robur* L. *Heredity* 73: 130-141.
- Bacilieri R., A. Ducousso y A. Kremer. 1996. Comparasion of morphological characters and molecular markers for the analysis of hibridization in sessile and pedunculate oak. *Ann. Sci. For.* 53:79-91.
- Baker-Brosh K. F. y R. K. Peet. 1997. The ecological significance of lobed and toothed leaves in temperate forest trees. *Ecology* 78: 1250-1255.
- Barton N. H. y G. M. Hewitt. 1985. Analysis of hybrid zones. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16: 13-148.
- Belahbib, N. M. H. Pemonge, A. Oasussou, H. Sbay, S. A. Kremer y R. J. Petit. 2001. Frequent cytoplasmatic exchanges between oak species that are not closely related: *Quercus suber* and *Q. ilex* in Morocco. *Mol. Ecol.* 10: 2003-2012.
- Blue P. M. y R. J. Jensen. 1988. Positional and seasonal variation in oak (*Quercus*; Fagaceae) leaf morphology. *Am. J. Bot.* 75: 939-947.
- Bruschi P., G. G. Vendramin, F. Bussotti y P. Grossoni. 2000. Morphological and molecular differentiation between *Quercus petrae* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) in Northern and Central Italy. *Ann. Bot.* 85: 325-333.
- Bruschi P., P. Grossini y F. Bussotti. 2003. Within- and among-tree variation in leaf morphology of *Quercus patraea* (Matt.) Liebl. natural populations. *Trees* 17: 164-172.
- Bull J. J. 1987. Evolution of phenotypic variance. *Evolution*. 41: 303-315.
- Carney, S. E., K. A. Gardner, y L. H. Rieseberg. 2000. Evolutionary changes over the fifty-year history of a hybrid population of sunflowers (*Heliantus*). *Evolution* 54: 462-474.
- Challenger, A. 1998. *Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: Pasado, presente y futuro*. Instituto de Biología y CONABIO. México.

- Craft K. J., M. V. Ashley y W. D. Koenig. 2002. Limited hybridization between *Quercus lobata* and *Quercus douglasii* (Fagaceae) in a mixed stand in Central Coastal California. *Am. J. Bot.* 89: 1792-1798.
- Cunningham S. A., B. Summerhayes y M. Westoby. 1999. Evolutionary divergences in leaf structure and chemistry, comparing rainfall and soil nutrient gradients. *Ecology* 69: 569-588.
- Dodd R. S., Z. A. Raffi y S. Bojovic. 1993. Chemosystematic variation in acorn fatty acids of Californian live oaks (*Q. agrifolia* and *Q. wislizeni*). *Biochem. Syst. Ecol.* 21: 279-285.
- Dodd R. S. y N. Kashani. 2003. Molecular differentiation and diversity among the Californian red oaks (Fagaceae; *Quercus* section Lobatae). *Theor. Appl. Genet* 107: 884-892.
- Domínguez C. A., L. E. Eguiarte, J. Nuñez-Farfán y R. Dirzo. 1998. Flower morphometry of *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): geographical variation in Mexican populations. *Am. J. Bot.* 85: 637-643.
- Dorado, O., L. H. Rieseberg y D. M. Arías. 1992. Chloroplast DNA introgression in southern California sunflowers. *Evolution* 46: 566-572.
- Dumolin-Lapègue S., A. Kremer y R. J. Petit. 1999. Are chloroplast and mitochondrial DNA variation species independent in oaks? *Evolution* 53: 1406-1413.
- Endler, J. 1977. *Geographic variation, speciation and clines*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Ferrusquilla-Villafranca, I. 1993. Geology of Mexico: A Synopsis. En : Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot y J. Fa. (Eds.). *Biological diversity of Mexico Origins and distribution*. 3-107. Oxford University Press. New York. NY.
- Futuyma D. J. y L. H. Shapiro. 1995. Hybrid zones. *Evolution* 49: 222-226.
- Floret C., M. J. Galan, E. LeFloc'h, G. Orshan y F. Romane. 1990. Growth forms and phenomorphology traits along an environmental gradient: tools for studying vegetation?. *J. Veg. Sci.* 1: 71-80.
- Geeske J., G. Aplet y P. M. Vitousek. 1994. Leaf morphology along environmental gradients in Hawaiian *Metrosideros polymorpha*. *Biotropica* 26: 17-22.

- Givnish T. J. 1987. Comparative studies of leaf form: assessing the roles of selective pressures and phylogenetic constraints. *New Phytol.* 106: 131-160.
- González-Rodríguez A., D. M. Arías, S. Valencia y K. Oyama. 2004a. Morphological and RAPD analysis between *Quercus affinis* and *Quercus laurina* (Fagaceae), two mexican red oaks. *Am. J. Bot.* 3: 401-409.
- González-Rodríguez A., J. B. Bain, J. L. Golden y K. Oyama. 2004 b. Chloroplast DNA variation in the *Quercus affinis*- *Q.laurina* complex in Mexico: geographical structure and associations with nuclear and morphological variation. *Mol. Ecol.* 13: 3467-3476.
- González-Rodríguez A. y K. Oyama. 2005. Leaf morphometric variation in *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing red oaks. *Bot. J. Linnean Soc.* 147: 427-435.
- Graham J. H. y J. D. Felley. 1985. Genomic coadaptation and developmental stability within introgressed populations of *Enneacanthus gloriosus* and *E. Obesus* (Pisces, Centrarchidae). *Evolution.* 39: 104-114.
- Gram W. K. y V. L. Sork. 2001. Association between environmental and genetic heterogeneity in forest tree populations. *Ecology.* 82: 2012-2021.
- Grant V. 1981. *Plant speciation*. Columbia University Press. New York. N.Y.
- Gratani L., P. Marzi y F. Crescente. 1992. Morphological adaptations of *Quercus ilex* leaves in the Castelporziano forest. *Vegetatio* 99-100: 155-162.
- Grubb P. J. 1977. Control of forest growth and distribution on wet tropical mountains with specific reference to mineral nutrition. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 8: 83-107.
- Hamrick J. L., M. W. Godt y S. L. Sherman-Broyles. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New For.* 6: 95-124.
- Hardig T. M., S. J. Brunsfeld, R. S., Fritz, M. Morgan y C. M. Orians. 2000. Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. *Mol. Ecol.* 9: 9-24.

- Hardin J. 1975. Hybridization and introgression in *Quercus alba*. *J. Arnold Arb.* 56: 336-363.
- Hewitt G. M. 1999. Hybrid zones. In: Nature Encyclopedia of Life. Sciences. London: Nature Publishing Group. <http://www.els.net>.
- Holman J. E., J. Hughes y R. J. Fensham. 2003. A morphological cline in *Eucalyptus*: a genetic perspective. *Mol. Ecol.* 12: 3013-3025.
- Howard D. J., y G. L. Waring. 1991. Topographic diversity, zone width, and the strength of reproductive isolation in a zone of overlap and hibridization. *Evolution* 45: 1120-1135.
- Howard D. J., R. W. Preszler, J. Williams, S. Frenchel y W. J. Boecklen. 1997. How discrete are oak species? Insights from a hybrid zone between *Quercus grisea* and *Quercus gambelli*. *Evolution* 51: 747-755.
- Jensen R. J., S. C. Hokanson, J. G., Isebrands y J. F. Hancock. 1993. Morphometric variation in oaks of The Apostle Islands in Wisconsin: evidence of hybridization between *Quercus rubra* and *Q. ellipsoidalis* (Fagaceae). *Am. J. Bot.* 80:1358-1366.
- Jonas C. y M. Geber. 1999. Variation among populations of *Clarkia unguiculata* (Onagraceae) along altitudinal and latitudinal gradients. *Am. J. Bot.* 86: 333-343
- Jones J. H. 1986. Fagaceae evolution. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 62: 538-589.
- King D. A. y J. H. Maindonald. 1999. Tree architecture in relation to leaf dimensions and tree stature in temperate and tropical rain forests. *J. Ecol.* 87: 1012-1024.
- Kleinschmit J. R. G., R. Bacilieri, A. Kremer y A. Roloff. 1995. Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Q. rubur* L.) and sessiles oak (*Q. petraea* (Matt) Liebl.). *Silvae Gen.* 44: 256-268.
- Knops J. M. H. y W. D. Koenig. 1997. Site fertility and leaf nutrients of sympatric evergreen and deciduos species of *Quercus* in central coastal California. *Plant Ecol.* 130: 121-131.

- Körner CH., P. Bannister y A. F. Mark. 1986. Altitudinal variation in stomatal conductance, nitrogen content and leaf anatomy in different plant life forms in New Zealand. *Oecologia* 69: 577-588.
- Kremer A., J. L. Dupouey, J. D. Deans, J. Cotrell, U. Csaikl, R. Finkeldey, S. Espinel, J. Jensen, J. Kleinschmit, B. Van Dam, A. Ducouso, I. Forrest, U. Lopez de Heredia, J. Lowe, M. Tutkova, R. C. Munro, S. Steinhoff y V. Badeau. 2002. Leaf morphological differentiation between *Quercus robur* and *Quercus petraea* is stable across western European mixed oaks stand. *Ann. For. Sci.* 59: 777-787.
- Kubiske M. E. y M. D. Abrams. 1992. Photosynthesis, water relations and leaf morphology in xeric versus mesic *Quercus rubra* ecotypes in central Pennsylvania in relation to moisture stress. *Can. J. For. Res.* 22: 1402-1407.
- Le Corre V., G. Roussel, A. Zanetto y A. Kremer. 1998. Geographical structure of gene diversity in *Quercus petraea* (Matt) Liebl. III. Patterns of variation identified by geostatistical analyses. *Heredity* 80: 464-473.
- Lefort F. y C. Douglas. 1999. An efficient micro-method of DNA isolation from mature leaves of four hardwood tree species *Hacer*, *Fraxinus*, *Prunus* and *Quercus*. *Ann. Sci. For* 56: 259-263.
- Loveless M. D. y J. L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 65-95.
- Lynch M., y G. Milligan. 1994. Analisis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol* 3: 91-99.
- McDonald P. G. M., C. R. Fonseca, McC. Overton y M. Westoby. 2003. Leaf-size divergente along rainfall and soil-nutrient gradients: is the method of size reduction common among clades? *Fun. Ecol.* 50-57.
- McVaugh R. 1974. Flora Novo-Galiciana. Contr. Univ. Michigan Herb. 12, I: 1-93.

- Manos P. S., J. J. Doyle y K. C. Nixon. 1999. Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Mol. Phyl. Evol.* 12:333-349.
- Max N. K., S. K. Mouchaty y K. E. Schwaegerle. 1999. Allozyme and morphological variation in two subspecies of *Dryas octopetala* (Rosaceae) in Alaska. *Am. J. Bot.* 86: 1637-1644.
- Miller M. P. 1997. Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA) 1. 3: a windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by the author.
- Mosiño-Alemán, P. A. y E. García. 1974. The climate of Mexico. En: Bryson, R. A., F. K., Hare (eds). *World survey of climatology Vol. II. The climates of North America*.
- Nason J. D., N. C. Ellstrand y M. L. Arnold. 1992. Patterns of hibridization and introgression in populations of oaks, manzanitas and irises. *Am. J. Bot.* 79: 101-111.
- Niinemets U., N. A. Afas, A. Cescatii, A. Pellis y R. Ceulmans. 2004. Petiole length and biomass investment in support modify light-interception efficiency in dense poplar plantations. *Tree Phys.* 24: 141-154.
- Nixon K. C. 1993. Infrageneric clasificacion of *Quercus* (Fagaceae) and tipificacion of sectional names. *Ann. Sci. For.* 50 (Supplement 1): 255-235.
- Nixon C. K., R. J. Jensen, P. Manos y C. H. Muller. 1997. Flora of North America, North of Mexico. Vol. 3 *Magnoliophyta: Magnoliidae and Hammammelidae*. Oxford University Press, Nueva York. N. Y.
- Nunney L. 2001. Population structure. In: Fox, C.W., D. A. Rolf y D. J. Fairbairn (eds). *Evolutionary ecology. Concepts and case of studes*. Oxford University Press. New York. N.Y.
- Parkhust D. F. y O. L. Loucks. 1972. Optimal leaf size in relation to environment. *J. Ecol.* 60: 505-537.
- Petit C., F. Bretagnolle y F. Felber. 1999. Evolutionary consequences of diploid-polyploid hybrid zones in wild species. *Tree* 14: 306-311.

- Petit, R. J., U. M. Csaikl, S. Bordács *et al.* 2002. Chloroplast DNA variation in European white oaks : phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *For. Ecol. Manage.* 156: 5-26.
- Petit R. J., C. Bodénès, A. Ducouso, G. Roussel y A. Kremer. 2003. Hybridization as a mechanism of invasion in oaks. *New Phyt.* 161: 151-154.
- Potts B. M. y Reid, J. B. 1988. Hybridization as a dispersal mechanism. *Evolution* 42: 1245-1255.
- Rand M. D. y R. G. Harrison. 1989. Ecological genetics of a mosaic hybrid zone: mitochondrial, nuclear and reproductive differentiation of crickets by soil type. *Evolution* 43: 432-449.
- Richardson A. D., G. P. Berlyn, P. M. S. Ashton, R. Thadani y I. R. Cameron. 1999. Foliar plasticity of hybrid spruce in relation to crown position and stand age. *Can. J. Bot.* 78: 305-317.
- Rico-Gray V. y M. Palacios-Ríos. 1996. Leaf area variación in *Rhizophora mangle* L. (Rizophoraceae) along a latitudinal gradient in Mexico. *Global Ecol. Biogeogr. L.* 5: 30-35.
- Rieseberg L. H. y J. F. Wendel. 1993. Introgression and its consequences in plants. En: R. G. Harrison (ed.), *Hybrid zones and the evolutionary process*. Oxford University Press, New York, N.Y.
- Rosabelle S. 1999. Identification of hybrids between *Quercus petraea* y *Q. rubur* (Fagaceae): results obtained with RAPD markers confirm allozyme studies based on the Got-2 locus. *Plant Syst. Evol.* 217: 137-146.
- Roth I. 1984. *Stratification of tropical forests as seen in leaf structure*. W. Junk Publishers. The Netherlands.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México. 432 pp.
- Rzedowski, J. 1996. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. En: Llorente, B. J., A. N. G. Aldrete y E. G. Soriano (Eds.). Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: hacia una síntesis de su conocimiento. UNAM. México.

- SAS Institute. 1995. *JMP. Statistics and graphics guide, Versión 3. 1*. SAS Institute Inc. Carey, North Carolina
- Schoemaker D. D., K. G. Ross y M. L. Arnold. 1996. Genetic structure and evolution of a fire ant hybrid zone. *Evolution*. 50: 1958-1976.
- Schoettle A. W. y S. G. Rochelle. 2000. Morphological variation of *Pinus flexilis* (Pinaceae), a bird-dispersed pine, across a range of elevations. *Am. J. Bot.* 87: 1797-1806.
- Silva-Montellano A. y L. E. Eguiarte. 2003. Geographic patterns in the reproductive ecology of *Agave lechuguilla* (Agavaceae) in The Chihuahua desert. I. Floral characteristics, visitors, and fecundity. *Am. J. Bot.* 90: 377-387.
- Slatkin M. 1985. Gene flow in natural populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16: 393-430
- Slatkin M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non- equilibrium populations. *Evolution* 47: 264-279.
- Slatkin M. 1994. Gene flow and population structure. En: L. A. Real (ed.). *Ecological Genetics*. 3-34. Princeton University Press.
- Slentz S., A. E. Boyd and L. A. McDade. 1999. Morphological differentiation among Madrean sky island populations of *Castilleja austromontana* (Scrophulariaceae). *Madroño* 46: 100-101.
- Smith J. F., C. C. Burke y W. L. Wagner. 1996. Interspecific hybridization in natural populations of *Cyrtandra* (Gesneriaceae) on the Hawaiian Islands: evidence from RAPD markers. *Plant Syst. Evol.* 200: 61-77.
- Sokal R. R., T. J. Crovello y R. S. Unnasch. 1986. Geographic variation of vegetative characters of *Populus deltoides*. *Syst. Bot.* 11: 419-432.
- Sokal R. R. and F. J. Rohlf. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistical in biological research*. W. H. Freeman y Co. New York. N.Y.
- Soulé M. y B. Baker. 1967. Phenetics of natural populations. II. Asymmetry and evolution in a lizard. *Am. Nat.* 101: 141-160.
- Sork, V. L., F. W. Davis, P. E. Smouse, V. J. Apsit, R. J. Dyer, J. F. Fernandez-M y B. Kuhn. 2002. Pollen movement in declining populations of California Valley oak, *Quercus lobata*: where have all the fathers gone? *Mol. Ecol.* 11: 1657-1668.

- Spellenberg R. 1992. A new species of black oak (*Quercus*, Subg. Erythrobalanus, Fagaceae) from the Sierra Madre occidental, Mexico. *Am. J. Bot.* 79: 1200-1206.
- Sneath P. H.A. y R. R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification. W. H. Freeman. San Francisco, Ca.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the genetic structure of natural populations. *Science* 236: 787-792.
- Statsoft. 1998. STATISTICA for Windows. Versión 6.0. Statsoft, Tulsa, Oklahoma, USA.
- Stebbins G. I., Jr. E. B. Matzke y C. Epling. 1947. Hibridization in a population of *Quercus marilandica* and *Quercus ilicifolia*. *Evolution* 1: 79-88.
- Strauss S. H. 1987. Heterozygosity and developmental stability under inbreeding and crossbreeding in *Pinus attenuata*. *Evolution*. 41: 331-339.
- Tang, C. Q. y M. Ohsawa. 1999. Altitudinal distribution of evergreen broad-leaved trees and their leaf-size pattern on humid subtropical mountain, Mt. Emei, Sichuan, China. *Plant Ecol.* 145: 221-233.
- Thompson, J. N. Jr. y R. C. Woodruff. 1978. Mutator genes-pacemakers of evolution. *Nature* 274: 317-321.
- Tovar-Sánchez E. y K. Oyama. 2004. Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. *Am. J. Bot.* 91: 1352-1363.
- Tucker J. M. 1974. Patterns of parallel evolution of leaf form in new world oaks. *Taxon* 23: 129-154.
- Valencia S. 1994. Contribución a la delimitación taxonómica de 3 especies del género *Quercus* Sub. Erythrobalanus. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F. 174pp.
- Valencia S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 75: 33-53.
- Valladares F., L. Balaguer, E. Martínez-Ferri, E. Pérez-Corona y E. Manrique. 2002. Plasticity, instability and canalization: is the phenotypic variation in seedlings of sclerophyll oaks consistent with the environmental unpredictability of Mediterranean ecosystems? *New. Phyt.* 156: 457-467.

- Van Valen L. 1976. Ecological species, multispecies and oaks. *Taxon* 25: 233-239.
- Velázquez-Rosas N. 1997. Características foliares de los árboles de bosques húmedos de montaña en la región de La Chinantla, Sierra Norte de Oaxaca. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM., México, D. F. 89 pp.
- Velázquez-Rosas N., J. Meave y S. Vázquez-Santana. 2002. Elevational variation of leaf traits in Montane rain forest tree species at La Chinantla, Southern Mexico. *Biotropica* 34: 534-546.
- Whittemore, A. T. y B. A. Schaal. 1991. Inter-specific gene flow in sympatric oaks. *Pro. Nat. Acad. Sci.* 88: 2540-2544.
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, K. L. Livak, J. A. Rafalski y S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetics markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
- Zar, J. H. 1999. Bioestadistical analysis. Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey, USA.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica de los sitios de colecta del complejo *Quercus affinis* - *Q. laurina*. Población alopátrida de *Quercus laurina* (●), población alopátrida de *Q. affinis* (○), poblaciones simpátricas (◼).

Figura 2. Fenógrama UPGMA de 11 poblaciones del complejo *Q. affinis* - *Q. laurina* en un gradiente geográfico latitudinal basado en las distancias Euclidianas de la morfología foliar.

Figura 3. Productos de PCR que se corrieron en gel de agarosa y fueron teñidos con Bromuro de Etidio (Primer A-7).

Figura 4. Valores de medias y error estándar para dos poblaciones alopátricas y nueve poblaciones simpátricas del complejo *Q. affinis* - *Q. laurina* obtenidas mediante el índice de hibridación de Hardig usando siete oligonucleótidos de RAPDs.

Tabla 1. Nombre de la localidad, estado, tamaño de la muestra, coordenadas geográficas y distancia entre poblaciones.

Clave	Localidad	Estado	Número de individuos	Longitud/Latitud	Distancia en Km
	Población alopátrica <i>Q. laurina</i>				
1	Xuchitepec	Oaxaca	21	16°10'/96°31'	0
	Poblaciones simpátricas				
2	Lachao	Oaxaca	14	16°15'/97°10'	69.9
3	Ayutla	Oaxaca	29	17°01'/96°03'	103.3
4	Comaltepec	Oaxaca	38	17°43'/96°30'	164.8
5	Papalo	Oaxaca	34	17°50'/96°49'	180
6	Zoquitlán	Puebla	30	18°17'/97°03'	231.7
7	Tonayán	Veracruz	33	19°51'/96°55'	391.5
8	Tetela	Puebla	30	19°45'/97°56'	407.3
9	Huauchinango	Puebla	28	20°05'/98°07'	446.8
10	Zacatlán	Puebla	34	20°12'/98°03'	455.5
	Población alopátrica <i>Q. affinis</i>				
11	Huayacocotla	Veracruz	25	20°30'/98°32'	504.2

Tabla 2. Lista de los caracteres morfológicos foliares examinados para el complejo *Quercus affinis* -*Q. laurina* en México.

Abreviaturas	Unidades	Descripción
Caracteres morfológicos		
LTH	cm	Longitud de la hoja
LL	cm	Longitud de la lámina
LP	cm	Longitud del pecíolo
LAM	cm	Longitud del ancho máximo
DAM	cm	Distancia de la base al punto del ancho máximo
VI	#	Número de venas del lado izquierdo (abaxial)
VD	#	Número de venas del lado derecho (abaxial)
VT	#	Número de venas de lado derecho + número de venas del lado izquierdo
NA	#	Número de aristas
A1/3B	cm	Ancho al primer tercio basal
A1/3AP	cm	Ancho al primer tercio apical
GVAD	cm	Grosor de la vena media (adaxial)
GVAB	cm	Grosor de la vena media (abaxial)
DY	cm	Diámetro de la yema
LY	cm	Longitud de la yema
DPB	cm	Diámetro del pecíolo en la base
Caracteres combinados		
DPIH	%	Diámetro del pecíolo al inicio de la lámina
PROPHO	%	Proporción de la lámina = ancho de la lámina/ longitud de la lámina
PROPE	%	Proporción del pecíolo = longitud del pecíolo/longitud de la lámina
OB	%	Forma de la hoja = longitud de la lámina/ altura al ancho máximo

Tabla 3. Valores de medias \pm error estándar y resultados (F estadística) de ANOVAs para todos los caracteres de *Quercus affinis* y *Q. laurina* en poblaciones alopátridas. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; n.s. = diferencias no significativas. (Clave de los caracteres morfológicos, Tabla 2).

Carácter	Unidad	Especie ($F_{1,458}$)	Población ($F_{10,3109}$)	<i>Q. affinis</i> (promedio \pm e.e)	<i>Q. laurina</i> (promedio \pm e.e)
Caracteres morfológicos					
LTH	cm	15.21 ***	50.93***	7.68 \pm 0.09	8.26 \pm 0.12
LL	cm	3.45 ns	50.52***	7.21 \pm 0.08	7.48 \pm 0.12
LP	cm	216.14 ***	51.95***	0.46 \pm 0.01	0.83 \pm 0.02
LAM	cm	1.85 ns	55.38***	2.22 \pm 0.03	2.15 \pm 0.04
DAM	cm	0.02 ns	53.91***	3.520 \pm 0.07	3.53 \pm 0.07
VI	#	110.34 ***	120.37***	9.92 \pm 0.12	11.55 \pm 0.10
VD	#	119.16 ***	152.05***	9.85 \pm 0.13	11.58 \pm 0.10
VT	#	1322.07 ***	368.29***	19.76 \pm 0.24	23.12 \pm 0.18
NA	#	1431.57***	430.43 ***	6.29 \pm 0.17	1.14 \pm 0.04
A1/3B	cm	4.24 *	45.44***	1.98 \pm 0.03	2.08 \pm 0.05
A1/3A	cm	3.88 *	73.83***	1.91 \pm 0.03	2.00 \pm 0.03
GVAD	cm	72.82 ***	2.70**	0.03 \pm 0.00	0.04 \pm 0.00
GVAB	cm	28.47 ***	53.35***	0.06 \pm 0.00	0.07 \pm 0.00
DY	cm	181.01 ***	57.64***	0.11 \pm 0.00	0.16 \pm 0.00
DPB	cm	8.09 **	0.66 ns	0.12 \pm 0.00	0.13 \pm 0.00
DPIH	cm	27.20 ***	1.28 ns	0.12 \pm 0.00	0.13 \pm 0.00
LY	cm	591.65 ***	346.29***	0.16 \pm 0.00	0.32 \pm 0.00
Caracteres combinados					
PROHO	%	20.54 ***	76.51***	30.85 \pm 0.28	29.01 \pm 0.29
PROPE	%	247.31 ***	60.43***	6.00 \pm 0.14	10.00 \pm 0.22
OB	%	0.08 ns	50.35***	21.99 \pm 4.33	21.95 \pm 3.07

Tabla 4. Varianza por nivel jerárquico para 20 caracteres foliares en el complejo *Quercus affinis* -*Q. laurina*. Los componentes de varianza y los niveles de significancia fueron determinados mediante una ANOVA anidada. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; n.s. = diferencias no significativas. (Clave de los caracteres morfológicos, Tabla 2).

Carácter	Nivel			
	Grupo	Población [Grupo]	Individuo [Población, Grupo]	Hojas [Grupo, Población, Individuo]
LTH	0.0001 n.s.	0.14 ***	0.53 ***	0.33
LL	0.001 n.s.	0.14 ***	0.51 ***	0.34
LP	0.01 n.s.	0.13 ***	0.62 ***	0.24
LAM	0.004 n.s.	0.15 ***	0.49 ***	0.36
DAM	0.002 n.s.	0.14 ***	0.43 ***	0.42
VI	0.01 n.s.	0.30 ***	0.34 ***	0.35
VD	0.02 n.s.	0.28 ***	0.34 ***	0.31
VT	0.02 n.s.	0.32 ***	0.35 ***	0.31
NA	0.55 ***	0.04 ***	0.27 ***	0.14
A1/3B	0.02 n.s.	0.18 ***	0.47 ***	0.33
A1/AP	0.0 n.s.	0.01 n.s.	0.48 ***	0.39
GVAD	0.0 n.s.	0.01 n.s.	0.10 n.s.	0.89
GVAB	0.01 n.s.	0.13 ***	0.33 ***	0.53
DY	0.05 n.s.	0.11 ***	0.17 ***	0.67
LY	0.17 n.s.	0.36 ***	0.20 ***	0.27
DPB	0.0 n.s.	0.0 n.s.	0.1 n.s.	0.9
DPIH	0.05 n.s.	0.005 n.s.	0.1 n.s.	0.89
PROPHO	0.02 n.s.	0.19 ***	0.31 ***	0.48
PROPE	0.03 n.s.	0.13 ***	0.63 ***	0.21
OB	0.02 n.s.	0.12 ***	0.31 ***	0.55

Tabla 5. Correlación de variables morfológicas foliares del complejo *Quercus affinis* -*Q. laurina* con la latitud.

Variable	<i>r</i>	<i>r</i> ²	<i>F</i>	<i>P</i>
NA	0.64	0.41	2195.63	<0.001
LY	-0.28	0.08	275.48	<0.001
DY	-0.15	0.02	68.69	<0.001
LP	-0.13	0.02	56.32	<0.001
PROPE	-0.14	0.02	64.21	<0.001
VT	-0.11	0.01	41.26	<0.001

Fig.1

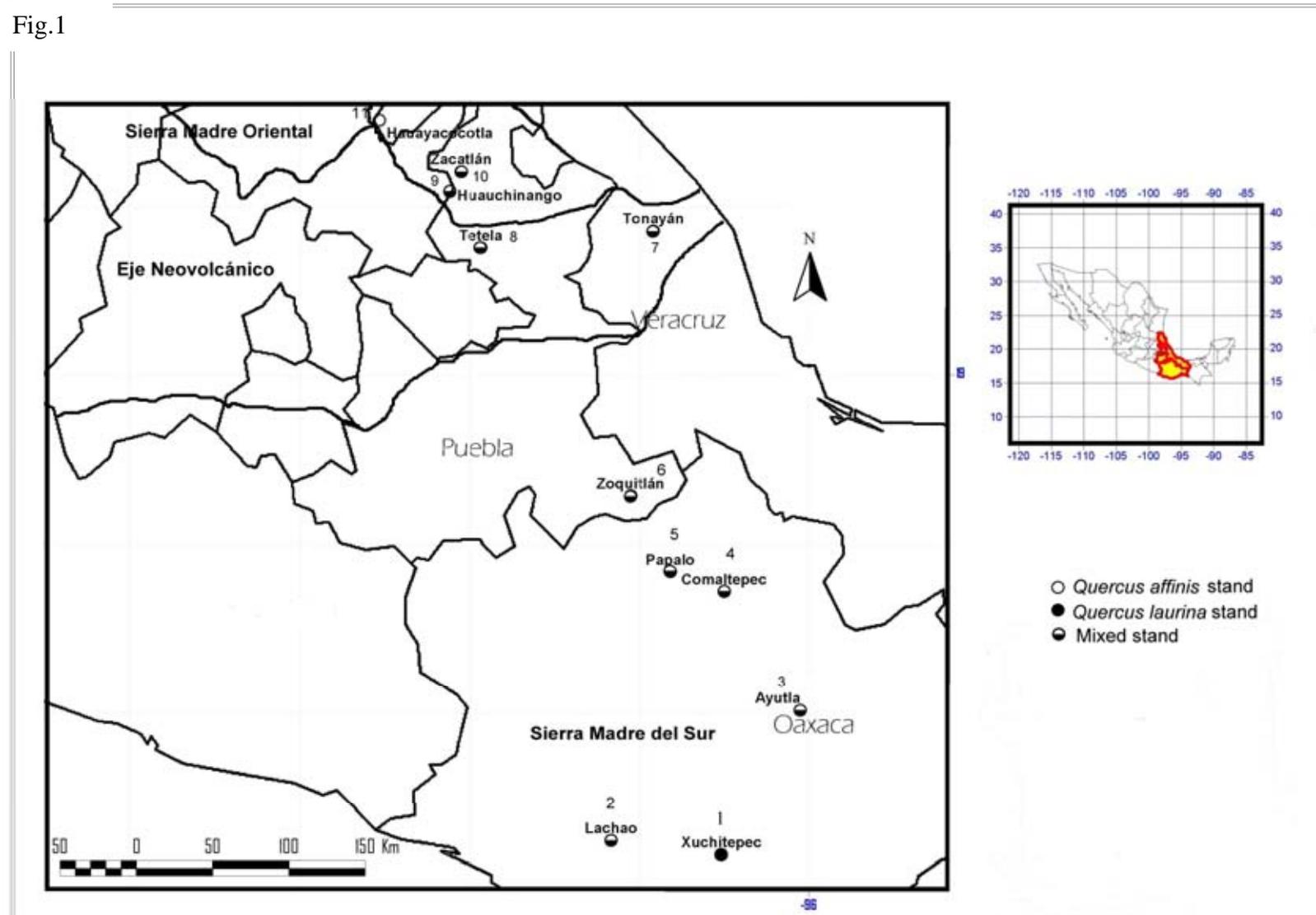


Figura 2

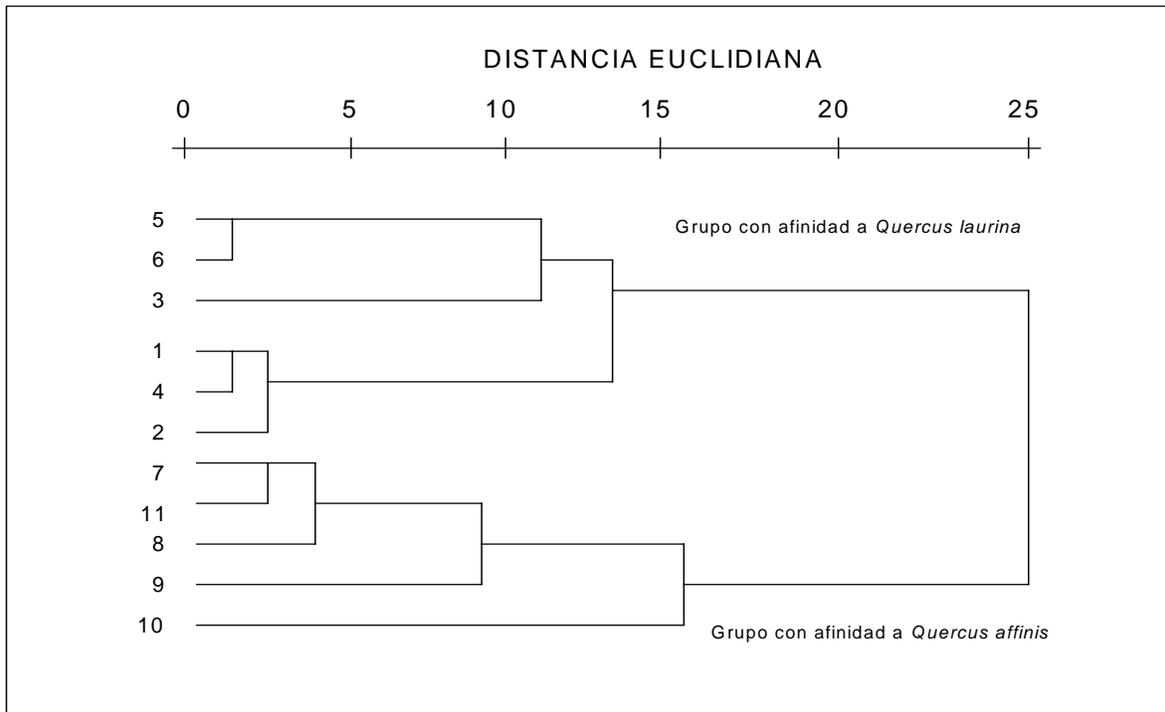


Fig. 3

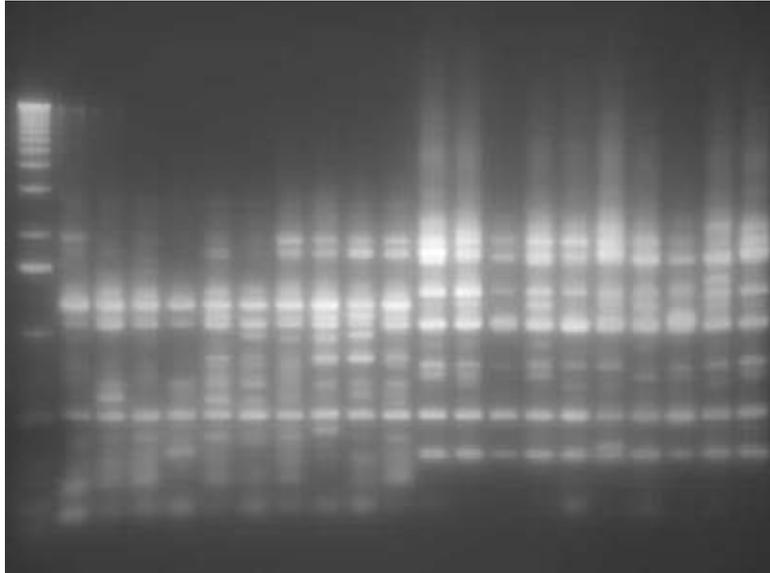
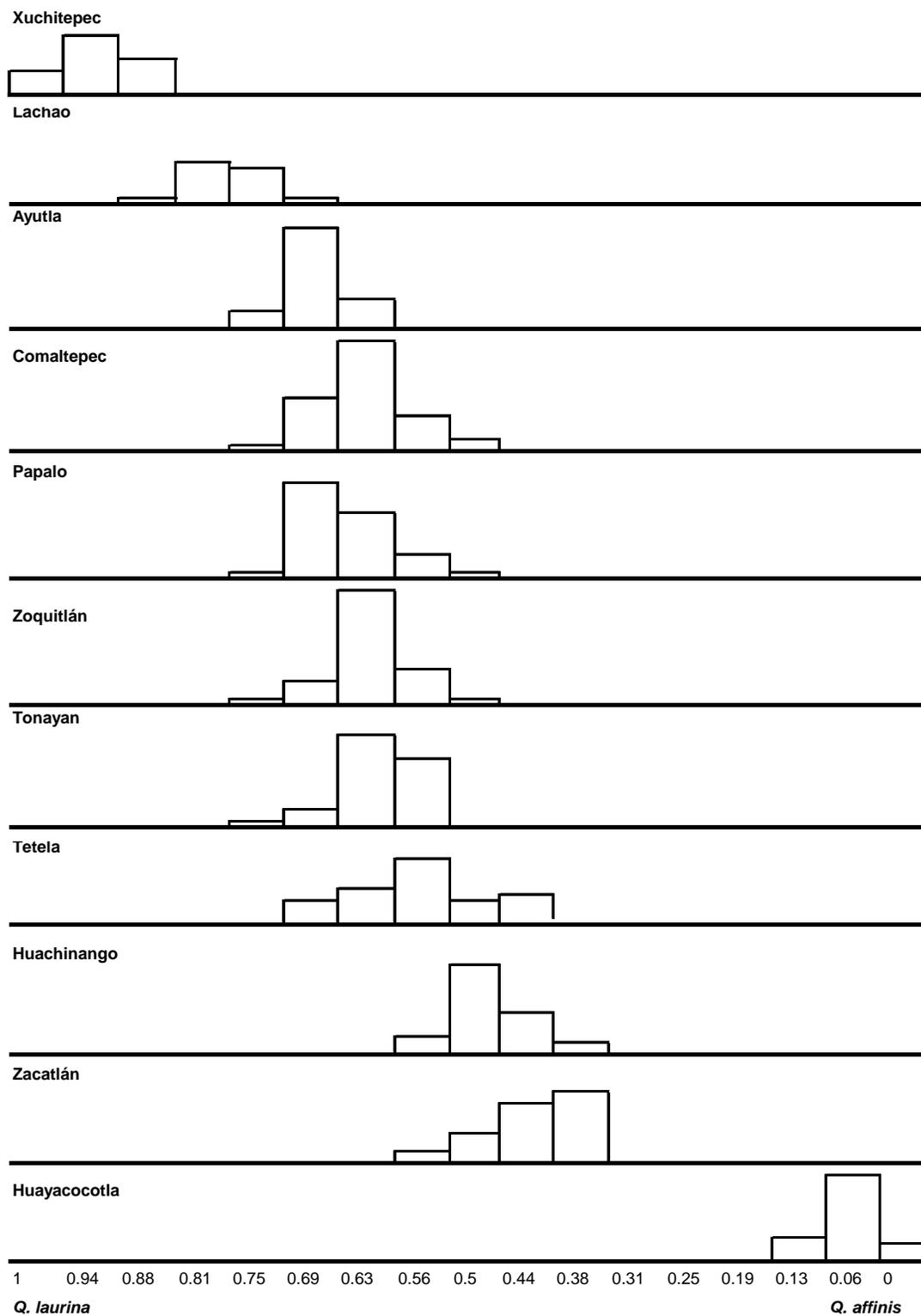


Fig.4



DISCUSIÓN GENERAL

Importancia de las cadenas montañosas de México en los patrones de diversidad de los encinos del complejo *Q. affinis* -*Q. laurina*.

Quercus laurina se distribuye sobre la Sierra Madre del Sur y al Oeste del Eje Neovolcánico Transversal; sin embargo, es en la región oriente de esta última cadena montañosa y en el norte del estado de Oaxaca donde su distribución se sobrepone con la de *Q. affinis* produciendo zonas híbridas. Sin duda, México posee una gran diversidad topográfica y climática que ha sido el resultado de la presencia de grandes sistemas orográficos, entre los que destacan la Sierra Madre Oriental, Eje Neovolcánico Transversal, la Sierra Madre del Sur y Sierra Norte de Oaxaca (Challenger, 1998). Cada uno de estos sistemas montañosos tiene una historia particular, lo que ha dado como resultado un escenario físico y geográfico heterogéneo. Por ejemplo, la historia geológica de la Sierra Madre Oriental sugiere su formación a través de la sedimentación de origen continental que se dio por procesos fluviolacustres, que al quedar expuestos con el levantamiento continental de México (Cretácico Tardío), experimentaron plegamientos y fallamientos, dando origen a las crestas y las cordilleras que se han venido erosionando y formando depósitos fluviolacustres hasta la actualidad (Ferrusquilla-Villafranca, 1993). Por su parte, el Eje Neovolcánico Transversal es considerado geológicamente como el sistema montañoso más joven en el país, en él se encuentran los picos montañosos más elevados y se ha caracterizado por una intensa actividad volcánica desde el Mioceno (Granham, 1993). Al parecer su evolución comenzó durante el Terciario Medio con la formación de la porción occidental, seguida de la porción central y oriental durante el Plioceno-Cuaternario (Ferrusquilla-Villafranca, 1993). Por otro lado, los estudios geológicos y de historia geológica de la Sierra Madre del Sur han mostrado la presencia de sedimentos marinos y de lavas del Cretácico, por lo que se ha sugerido su origen como resultado de la colisión tectónica de un arco de islas oceánicas con el continente (Ferrusquilla-Villafranca, 1993). Finalmente, la Sierra Norte de Oaxaca se compone de sedimentos marinos y continentales, con un relieve muy accidentado (Challenger, 1998). En general, estos sistemas orográficos han tenido una influencia marcada en la diversidad biológica y en la biogeografía del país, ya que pueden funcionar como barreras para la dispersión de especies, sobre todo de la

flora y fauna tropical que no es capaz de adaptarse a los climas templados de estas regiones montañosas (Robles *et al.*, 1993); y otras veces, las montañas han fungido como corredores por donde se dispersan las especies, como en el caso de las plantas neotropicales con afinidad andina, encontradas en los bosques mesófilos de montaña (Rzedowski, 1978). Considerando que los cambios climáticos asociados a las glaciaciones han tenido influencia sobre los patrones de distribución de las biotas (Hewitt, 1996) provocando desplazamientos, fragmentaciones y contactos (Jones, 1986), se ha estimado que en México la colonización de las coníferas de los ambientes templados y géneros de especies latifoliadas como *Quercus*, *Carpinus*, *Ostrya* y *Liquidambar* se dio de norte a sur utilizando como corredores a las cordilleras que se localizan paralelas a lo largo del continente americano en su porción boreal (Fra-kes *et al.*, 1992), obedeciendo al enfriamiento progresivo registrado durante el Mioceno y que culminó en el Cuaternario. De hecho, los registros de hojas fósiles de *Quercus* encontradas en Texas y que datan del Oligoceno, muestran mucha semejanza con los encinos mexicanos modernos (Daghlian y Crepet, 1983), lo cual ha hecho suponer que la ruta de ingreso del género *Quercus* a México fue por la Sierra Madre Oriental, procedente del oriente de los Estados Unidos (Martin y Harrell, 1975). Posteriormente, quizá desde el inicio del Plioceno, un incremento de la temperatura y precipitación (Fra-kes *et al.*, 1992) pudo favorecer la migración de la vegetación de las montañas del sur hacia el norte de México (Valencia, 1994). Probablemente, estos cambios climáticos frecuentes, aunados a la fisiografía tan accidentada resultante de la diversidad topográfica ya descrita, han sido procesos clave en la disponibilidad de hábitats adecuados para ser ocupados por diferentes poblaciones de encinos presentes en el territorio mexicano (Rzedowski, 1978, Nixon, 1993; Valencia, 2004) y en parte, podrían ser la explicación de la gran variabilidad morfológica que se ha detectado en diferentes especies de encino, incluyendo el complejo formado por *Q. affinis* y *Q. laurina*. Además, los datos obtenidos en el presente estudio sugieren que la presencia del Eje Neovolcánico Transversal, posiblemente ha tenido influencia sobre los patrones geográficos de variación morfológica de tipo foliar de este complejo, pues los resultados mostraron la formación de dos grupos, los cuales podrían estar influenciados por la presencia de este sistema montañoso, ya que todas las poblaciones ubicadas antes de éste (distribuidas en la Sierra Madre del Sur y la Sierra Norte de Oaxaca) son más similares entre sí, que aquellas que se ubican en la parte

oriental del Eje Neovolcánico Transversal y en la Sierra Madre Oriental, lo que nos hace suponer que este sistema montañoso puede estar representando un límite biogeográfico, geológico y climático (Aguilar, 2000). Al parecer, también el flujo genético entre las poblaciones que conforman cada grupo está jugando un papel importante, ya que las más cercanas muestran mayor similitud morfológica, además de que quizá presiones selectivas entre poblaciones cercanas, hayan contribuido a generar fenotipos similares por estar en ambientes más parecidos. Así las poblaciones de la Sierra Madre del Sur son más similares a las poblaciones de la Sierra Norte de Oaxaca, en comparación con el otro grupo, conformado por las poblaciones del este del eje Neovolcánico Transversal y el sur de la Sierra Madre Oriental.

Por otra parte, los resultados genéticos de RAPD (ADN total) indican que las poblaciones simpátricas ubicadas en la Sierra Madre del Sur y la Sierra Norte de Oaxaca mostraron mayor similitud genética con *Q. laurina*, mientras que las del este del Eje Neovolcánico y la Sierra Madre Oriental fueron más similares a *Q. affinis*. Estos resultados sugieren que la cercanía de las poblaciones híbridas a una población alopátrica de una especie progenitora está relacionada con su similitud genética, lo cual hace suponer que estas cadenas montañosas han servido como un corredor en donde la proximidad de una población híbrida a una población típica incrementa su similitud genética con esa especie progenitora. Resultados similares han sido encontrados en el complejo *Q. crassipes*-*Q. crassifolia* (Tóvar-Sánchez y Oyama, 2004)

Estos resultados nos hacen suponer que a pesar de que las poblaciones del área de traslape entre las dos especies estén cercanas geográficamente y que hay flujo de loci neutrales, éstas han permanecido diferentes morfológicamente para ser clasificadas en dos grupos distintos como lo reveló el UPGMA. Resultados similares fueron obtenidos por González-Rodríguez y colaboradores (2004a), quienes estudiaron este mismo complejo de encinos mexicanos. Ellos también encontraron dos grupos de poblaciones diferenciados morfológicamente, hacia el suroeste el tipo *laurina* y hacia el noreste el tipo *affinis*, a pesar de su cercanía geográfica e introgresión de loci neutrales. De acuerdo a Campbell (2003), las características ambientales del hábitat, por efecto de la selección natural, pueden promover las adaptaciones fisiológicas que pueden contribuir a mantener las diferencias entre las especies. De tal manera que se piensa que los pares de especies de *Quercus* que

hibridizan han permanecido distintas, como resultado de la divergencia ecológica entre las especies progenitoras más que por incompatibilidad genética (Kleinschmit *et al.*, 1995; Howard *et al.*, 1997; Bruschi *et al.*, 2000; Jiggins y Mallet 2000). Además, se ha sugerido que las dos especies pueden mantener su identidad, aunque experimenten flujo génico entre ellas si la selección natural opera efectivamente en contra del intercambio de aquellos genes que determinan la base funcional de su divergencia adaptativa (Wu, 2001). Esta información ha sido considerada como una posible explicación de la diferenciación morfológica que se presenta entre *Q. affinis* y *Q. laurina* aunque habiten en simpatria (González-Rodríguez *et al.*, 2005).

En general, se ha documentado que la introgresión de loci adaptativos es más restringida que la introgresión de loci neutrales (Rieseberg y Wendell, 1993) lo cual se ha observado comúnmente en las zonas híbridas de plantas (Rieseberg y Ellstrand, 1993). Esta introgresión diferencial ya ha sido reportada en encinos (Bacilieri *et al.*, 1996; Kremer *et al.*, 2002; González-Rodríguez *et al.*, 2004). Los resultados de estos trabajos han revelado que los individuos con morfología intermedia son poco frecuentes, fenómeno que ha sido atribuido a un probable efecto materno (los híbridos pueden ser más similares a su parental materno) o al efecto de la selección natural en contra de formas intermedias (Bacilieri *et al.*, 1996; Kremer *et al.*, 2002). Este tipo de introgresión diferencial ha sido explicado bajo el argumento de que la recombinación de los loci que determinan la expresión de los caracteres morfológicos y fisiológicos importantes desde un punto de vista adaptativo, puede dar origen a individuos con fenotipos poco exitosos, mientras que no se espera lo mismo en individuos que combinan loci neutrales de diferentes especies (Shoemaker *et al.*, 1996).

Conservación de los Bosques de Encino y zonas de hibridación

La meta de la biología de la conservación es brindar datos y conceptos científicos que sean útiles para el diseño de acciones de conservación y manejo, los cuales serán más exitosas si están basadas en el conocimiento detallado de las características de historia de vida y de los requerimientos del hábitat de las especies (Soulé y Orians, 2001). Actualmente, una de las herramientas útiles para la evaluación de tales procesos y el desarrollo de estrategias de manejo han sido las técnicas moleculares (Soulé y Orians, 2001). Por ejemplo, cuando se

planean estrategias para restauración de hábitat y conservación, la información acerca de la diversidad genética en poblaciones naturales y su patrón espacial pueden ser usadas para evitar prácticas que puedan degradar el potencial evolutivo de las poblaciones (Montalvo *et al.*, 1997).

A pesar de las controversias que rodean al tema de la hibridación e introgresión entre los especialistas en conservación (O'Brien y Mayr, 1991), principalmente cuando se trata de especies raras (Avice, 1994; Arnold, 1997), la hibridación interespecífica puede ser considerada una fuerza creativa (Abbott, 1992, Arnold, 1997) y un proceso importante en la evolución de las plantas (Rieseberg y Ellstrand, 1993, Martinsen, 2001; Petit *et al.*, 2003) pues se ha estimado que un 50 a 70% de todas las angiospermas han surgido por hibridación (Stace, 1987). La hibridación natural es común en muchos de los taxa más exitosos del mundo (encinos, pinos, eucaliptos), lo cual sugiere que este fenómeno ha tenido un papel importante en su éxito evolutivo más que un papel perjudicial (Martinsen *et al.*, 2001). Por tal motivo, las zonas híbridas deberían ser conservadas como un centro de evolución de plantas, así como un recurso de variedad de plantas importantes económicamente y como agentes de biocontrol (Whitham, 1989; Whitham *et al.*, 1991).

También, existen estudios que han mostrado que las plantas híbridas que actúan como hábitat de otras especies pueden operar como un centro de riqueza de especies, pues los cambios en las características de las plantas por el proceso de hibridación pueden representar hábitats con una arquitectura más diversa (Martinsen y Whitham, 1994; Bangert *et al.*, 2005). Por ejemplo, un estudio en una zona híbrida entre *Populus fremontii* y *P. angustifolia* reveló que hay un aumento significativo en la densidad de anidación de aves en relación a las especies progenitoras (Martinsen y Whitham, 1994). Otro estudio, realizado por Tovar-Sánchez y Oyama (datos sin publicar), mostró que los individuos de *Quercus dysophila* (híbrido resultado de la cruce de *Q. crassifolia* y *Q. crassipes*) acumulan artrópodos de ambas especies progenitoras así como de diferentes especies, incluyendo algunas consideradas como raras.

Cabe recordar, que las regiones templadas de México son consideradas como el centro de diversidad de pinos (Styles, 1993) y encinos (Nixon, 1993), por lo que estos géneros son un componente muy importante de los bosques mexicanos (Rzedowski, 1978). Según Rzedowski (1993), estos bosques albergan en total un conjunto de especies vegetales

(aproximadamente 7000) más diverso que el de cualquier otra zona. Por otro lado, Flores-Villela y Gerez (1994), señalan que el mayor número de especies de vertebrados (excepto aves) endémicos de Mesoamérica, así como el mayor número de estos vertebrados con distribución ecológicamente restringida, se encuentran en México a más de 2000 msnm. Considerando que los bosques de encinos se encuentran típicamente por encima de esta cota altitudinal, es de esperarse que alberguen una diversidad de vertebrados endémicos muy importante, lo que hace de la misma una de las zonas ecológicas más diversas de México (Challenger, 1998).

Sin embargo, los bosques de encinos se encuentran entre los tipos de vegetación más afectados por el asentamiento y actividades humanas (Challenger, 1998), como resultado de ello, desde hace mucho tiempo estos bosques se vienen destruyendo en gran parte de su distribución natural (Rzedowski, 1978). La deforestación ha sido una de las principales causas de dicha destrucción, pues se tienen reportes de que México ha sufrido una de las tasas de deforestación más altas del mundo (Peña y Neyra, 1998). Específicamente, los bosques de encino y las asociaciones encino-pino (que constituyen la tercera parte de las áreas boscosas del país), sufrieron una gran deforestación durante las décadas de los 80's y 90's pues la tala de estos bosques llegó a ser de 163, 000 ha/año (Masera *et al.*, 1990).

Por todo lo anterior, se hace necesario conservar la mayor extensión posible de los bosques templados, para garantizar la conservación de la gran diversidad de especies que están asociados a los mismos.

Perspectivas futuras

Hasta el momento, los patrones de variación morfológica y genética del complejo *Q. affinis* - *Q. laurina* han sido abordados mediante el análisis de la morfología foliar (Valencia, 1994; González-Rodríguez *et al.*, 2004a), variación genética nuclear (González-Rodríguez *et al.*, 2004a) y ADN de cloroplasto (González-Rodríguez *et al.*, 2004b). Sin embargo, la complejidad de dichos patrones ha hecho evidente que una historia extremadamente complicada los ha modelado. Por lo tanto, aún se requiere información de tipo ecológico y genético para obtener conclusiones más sólidas sobre la historia y las rutas de colonización de éstas especies a través del territorio mexicano. Por otro lado, considerando que existen

trabajos que han propuesto que las zonas híbridas pueden ser consideradas centros de biodiversidad (Martinsen y Whitham, 1994; Bangert *et al.*, 2005; Tóvar-Sánchez y Oyama, datos sin publicar), sería interesante estudiar si las zonas híbridas del complejo *Q. affinis* - *Q. laurina* también muestran esta condición, sin olvidar que *Q. laurina* no sólo hibridiza con *Q. affinis*, sino que también lo hace con otras cuatro especies de encinos más. Por lo tanto, esta línea de investigación sería de gran interés en el área de la biología de la conservación.

CONCLUSIONES

- 1) El flujo genético entre las poblaciones del complejo *Q. affinis* - *Q. laurina* ha jugado un papel importante en los patrones de variación morfológica y genética a través del gradiente geográfico.
- 2) La presencia del Eje Neovolcánico Transversal ha tenido influencia sobre los patrones geográficos de variación morfológica de tipo foliar del complejo *Q. affinis* - *Q. laurina*, pues la diferenciación de las poblaciones en dos grupos morfológicos podría ser el resultado del límite biogeográfico, climático y edáfico que este sistema montañoso representa.
- 3) El grado de similitud morfológica y genética de una población híbrida con respecto a la población de la especie progenitora esta relacionada con la distancia a ella.
- 4) La incongruencia entre la variación morfológica foliar y genética de las poblaciones sugiere un proceso de introgresión diferencial, en donde los loci adaptativos han experimentado introgresión restringida a pesar del flujo génico interespecífico e intercambio de loci neutrales entre estas especies.

LITERATURA GENERAL

- Abbott, R. J. 1992. Plant invasions, interespecific hybridization and the evolution of new plant taxa. *Trends Ecol. Evol.* 7: 401-405.
- Aguilar, E. M. L. y S. Romero. 1995. Estudio taxonómico de cuatro especies de encino (*Quercus*) descritas por Warbug. *Acta. Bot. Mex.* 31: 63-71.
- Aguilar S. 2000. Cartas del medio físico, biológico y humano. En: Rueda, R. (Coord.). *Atlas de Morelos*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México.
- Anderson, E. y L. Hubricht. 1938. Hybridization in *Tradescantia*. III. The evidence for introgressive hybridization. *Am. J. Bot.* 25: 396-402.
- Anderson, E. 1949. *Introgressive Hybridization*. Wiley. New York.
- Anderson, E. y G. L. Stebbins. Hybridization as an evolutionary stimulus. 1954. *Evolution* 8: 378-388.
- Arnold, M. L., C. M. Buckner y J. Robinson. 1991. Pollen-mediated introgression and hybrid speciation in Louisiana irises. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 80: 1398-1402.
- Arnold, M. L. 1992. Natural hibridization as an evolutionary process. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 23: 237-261.
- Arnold, M. L. 1997. *Natural hybridization and evolution*. Oxford University Press, New York, N.Y.
- Arnold, M. L. y S. K. Emms. 1998. Molecular markers, gene flow, and natural selection. En: Solstis, E. D., P. S. Solstis y J. J. Doyle (eds.), *Molecular systematics of plants II. DNA sequencing*. 442-448. Kluwer Academic Publishers Group. USA.
- Avers, C. J. 1989. *Process and Pattern in Evolution*. Oxford University Press. USA.
- Avise, J. C. 1994. *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman and Hall New York, N.Y.
- Ayala, F. J. y Kiger, Jr. J. A. 1980. *Modern Genetics*. The Benjamin/Cummings Publishing Co.Inc.USA.
- Axerold, D. L. 1975. Evolution and biogeography of Mediean-Tethyan sclerophyll vegetation. *Ann. Missouri. Bot. Gard.* 62: 280-334.
- Axerold, D. L. 1983. Biogeography of oaks in the Arcto-Tertiary province. *Ann. Missouri. Bot. Gard.* 70: 629-657.
- Bacon, J. R., y R. Spellenberg. 1996. Hibridization in two distantly related Mexican black

- oaks *Quercus conzattii* y *Quercus eduardii* (Fagaceae: *Quercus*: Section *Lobatae*). *Sida* 17: 17-41.
- Bacilieri, R. T. and A. Kremer. 1994. Intraespecific genetic structure in a mixed population of *Quercus petrae* (Matt) Leibl and *Q. robur* L. *Heredity* 73: 130-141.
- Bacilieri, R., A. Ducouso y A. Kremer. 1996. Comparasion of morphological characters and molecular markers for the analysis of hibridization in sessile and pedunculate oak. *Ann. Sci. For.* 53:79-91.
- Baker-Brosh, K. F. and R. K. Peet. 1997. The ecological significance of lobed and toothed leaves in temperate forest trees. *Ecology* 78: 1250-1255.
- Bangert, K. R., R. J. Turek, G. D. Martinsen, G. M. Wimp, J. K. Bailey y T. G. Whitham. 2005. Benefits of Conservation of plant Genetic Diversity to Arthropod Diversity. *Conserv. Biol.* 379-390.
- Barreneche, T., C. Bodenes, C. Lexer, J. F. Trontin, S. Fluch, R. Streiff, C. Plomion, G. Roussel, H. Steinkellner, K. Burg, J.M. Favre y J. Glossl, A. Kremer. 1998. A genetic linkage map of *Quercus robur* L. (pedunculate oak) based on RAPD, SCAR, microsatellite, minisatellite, isozyme and 5S rDNA markers. *Theor. Appl. Genet.* 97: 1090-1103.
- Barton, N. H., y M. Hewitt. 1985. Analysis if hybrid zones. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16: 113-148.
- Barton, N. H., y M. Hewitt. 1989. Adaptation, speciation and hybrid zones. *Nature* 341: 497-503.
- Barton, N. H., y K. S. Gale. Genetic Analysis of hybrid Zones. En: R. G. Harrison. (ed). *Hybrid zones and the Evolutionary Process*. Oxford University Press.
- Beckstrom-Stenberg, S. M. L., H. Rieseberg y K. Doan. 1991. Gene lineage analysis in populations of *Heliantus niveus* and *H. petiolaris* (Asteraceae). *Plant. Sys. Evol.* 175: 125-138.
- Belahbib, N. , M. H. Pemonge, A. Oasussou, H. Sbay, S. A. Kremer y R. J. Petit. 2001. Frequent cytoplasmatic exchanges between oak species that are not closely related: *Quercus suber* and *Q. ilex* in Morocco. *Mol. Ecol.* 10: 2003-2012.
- Bellarosa, R., V. Delre, B. Schirone y F. Maggini. 1990. Ribosomal RNA genes in

- Quercus* spp. (Fagaceae). *Pl. Syst. Evol.* 172: 127-139.
- Bello-González, M. A. y J. L. Labat. 1987. Los encinos (*Quercus*) del estado de Michoacán. Secretaria de Recursos Hidráulicos. México, D. F.
- Bold, H. C. 1980. *Morphology plants*. Harper and Row. New York. N.Y.
- Bruschi, P., G. G. Vendramin, F. Bussotti y P. Grossoni. 2000. Morphological and molecular differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) in Northern and Central Italy. *Ann. Bot.* 85: 325-333.
- Bruschi, P., P. Grossini y F. Bussotti. 2003. Within- and among-tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. natural populations. *Trees* 17: 164-172.
- Burger, W. 1975. The species concept in *Quercus*. *Taxon* 24: 45-50.
- Burtlin, R. K. y G. M. Hewitt. 1985. A hybrid zone between *Chorthippus parallelus* and *P. erythropus* (Orthoptera: Acrididae): morphological characters. *Biol. J. Linn. Soc.* 18: 1-10.
- Byrd, W. D., E. D. McArthur, H. Wang, J. H. Graham y D. C. Freeman. 1999. Narrow hybrid zone between two subspecies of big sagebrush, *Artemisa tridentata* (Asteraceae). VIII. Spatial and temporal pattern of terpenes. *Biochem. Systematic Ecol.* 27: 11-25.
- Casiva, V. P., B. O. Saidman, J. C. Vilardi y A. M. Cialdella. 2002. First comparative phenetic studies of Argentinean species of *Acacia* (Fabaceae), using morphometric, isozymal, and RAPD approaches. *Am. J. Bot.* 89: 843-853.
- Castro-Díez, P. Villar-Salvador, C. Pérez-Rontomé, M. Maestro-Martínez y G. Montserrat-Martí. 1997. Leaf morphology and leaf chemical composition in three *Quercus* (Fagaceae) species along a rainfall gradient in NE Spain. *Tree*. 11: 127-134.
- Challenger, A. 1998. *Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: Pasado, presente y futuro*. Instituto de Biología y CONABIO. México.
- Chapin, F. S. 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 11: 233-260.
- Coart, E., V. Lamote, M. De Loose, E. Van Bockstaele, P. Lootens y I. Roldán-Ruíz. 2002. AFLP markers demonstrate local genetic differentiation between two indigenous oak species [*Quercus rubor* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl.] in Flemish populations. *Theor. Appl. Genet* 105: 431-439.

- Coleman, M. N., S. K. Mouchaty y K. E. Schwaegerle. 1999. Allozyme and morphological variation in two subspecies of *Dryas octopetala* (Rosaceae) in Alaska. *Am. J. Bot.* 86: 1637-1644.
- Coleman, M. y R. J. Abbott. 2003. Possible causes of morphological variation in an endemic Moroccan groundsel (*Senecio leucanthemifolius* var. *casablancae*): evidence from chloroplast DNA and random amplified polymorphic DNA markers.
- Collignon, A. M. y J. M. Favre. 2000. Contribution to the postglacial history at the western margin of *Picea abies*. Natural area using RAPD markers. *Ann. Bot.* 85: 713-722.
- Cottrell, J. E., R. C. Munro, H. E., Tabbener, A. D. Milner, G. I. Forrest y A. J. Lowe. 2003. Comparison of fine-scale genetic structure using nuclear microsatellites within two British oakwoods differing in population history. *For. Ecol. Manage.* 176: 287-303.
- Craft, K. J., M. V. Ashley y W. D. Koenig. 2002. Limited hybridization between *Quercus lobata* and *Quercus douglasii* (Fagaceae) in a mixed stand in Central Coastal California. *Am. J. Bot.* 89: 1792-1798.
- Damayanthi, A. P., L. Triest, B. De Greef, N. Koedam y S. Hettiarachi. 2000. Genetic and geographic variation of the mangrove tree *Bruguiera* in Sri Lanka. *Aqua. Bot.* 67: 131-141.
- Dasmahapatra, K. K., M. J. Blum, A. Aiello, S. Hackwell, N. Davies, E. P. Birmingham y J. Mallet. 2002. Inferences from a rapidly moving hybrid zone. *Evolution*: 741-753.
- Daubree, J. B. y Kremer, A. 1993. Genetic and phenological differentiation between introduced and natural populations of *Quercus rubra* L. *Ann. Sci. For.* 50: 271-280.
- Dawson, I. K., A. J. Simons, R. Waugh y W. Powell. 1996. Detection and pattern of interspecific hybridization between *Glicidia sepium* and *G. maculate* in Meso-America revealed by PCR-based assays. *Mol. Ecol.* 5: 89-98.
- De la Cerda. M. 1989. Encinos de Aguascalientes. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes.
- DeWayne, S. A., K. G. Ross y M. L. Arnold. 1996. Genetic structure and evolution of a fire ant hybrid zone. *Evolution* 50: 1958-1976.
- Dodd, R. S., Z. A. Ruff y S. Bojovic. 1993. Chemosystematic Study of Hybridization in California Live Oak: Acorn Steroids. *Bioch. Syst. Ecol.* 21: 467-473.

- Dodd, R. S. y N. Kashani. 2003. Molecular differentiation and diversity among the Californian red oaks (Fagaceae; *Quercus* section Lobatae). *Theor. Appl. Genet* 107: 884-892.
- Dolph, G. E. y D. L. Dilcher. 1980. Variation in leaf size with respect to climate in Costa Rica. *Biotropica* 12: 91-99.
- Domínguez, C. A., L. E. Eguiarte, J. Nuñez-Farfán y R. Dirzo. 1998. Flower morphometry of *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): geographical variation in mexican populations. *Am. J. Bot.* 85: 637-643.
- Dow, B. D. y M. V. Ashley. 1996. Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of sapling in bur oak, *Quercus macrocarpa*. *Mol. Ecol.* 5: 615-627.
- Dumolin-Lapègue, S., B. Demesure, S. Fineschi, V. Le Corre y R. J. Petit. 1997. Phylogeographic structure of white oaks throughout the European Continent. *Genetics* 146: 1475-1487.
- Dumolin-Lapègue, S., A. Kremer y R. J. Petit. 1999. Are chloroplast and mitochondrial DNA variation species independent in oaks? *Evolution* 53: 1406-1413.
- Durrett, R., L. Buttel y R. Harrison. 2000. Spatial models for hybrid zones. *Heredity* 84: 9-19.
- Duvernell, D. D., P. L. Schmidt y W. F. Eanes. 2003. Clines and adaptative evolution in the *methuselah* gene region in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Ecol.* 12: 1277-1285.
- Endler, J. A. 1973. Gene flow and population differentiation. *Science* 179: 243-250.
- Ellena-Rossello, J. A., R. Lumaret, E. Cabrera y H. Michaud. 1992. Evidence for hybridization between sympatric holm-oak and cork-oak in Spain based on diagnostic enzyme markers. *Vegetatio* 99-100: 115-118.
- Ferris, C., R. P. Oliver, A. J. Davy y G. M. Hewitt. 1993. Native oak chloroplasts reveals an ancient divide across Europe. *Mol. Ecol.* 2: 337-344.
- Ferrusquilla-Villafranca, I. 1993. Geology of Mexico: A Synopsis. En : Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot y J. Fa. (Eds.). *Biological diversity of Mexico Origins and distribution*. 3-107. Oxford University Press. New York. NY.
- Flores-Villela, O. y P. Gerez. 1994. Biodiversidad y conservación en México: Vertebrados, vegetación y uso de suelo. CONABIO y UNAM. México.
- Fonseca, C. R., J. M. Overton, B. Collins y M. Westoby. 2000. Shifts in trait-combinations

- along rainfall and phosphorus gradients. *J. Ecol.* 88: 964-977.
- Futuyma, D. J. and L. H. Shapiro. 1995. Hybrid zones. *Evolution* 49: 222-226.
- Givnish, T. J. 1987. Comparative studies of leaf form: assessing the roles of selective pressures and phylogenetic constraints. *New Phytol.* 106: 131-160.
- Gollmann, G. 1984. Allozyme and morphological variation in the hybrid zone between *Bombina bombina* and *B. variegata* (Anura: Discoglossidae) in northeastern Austria. *Z. Zool. Syst. Evol.* 22: 223-233.
- González, D. 1997. El uso de secuencias génicas para estudios taxonómicos. *Bol. Soc. Bot. México.* 60: 137-157.
- González, R. R. 1993. La diversidad de los encinos mexicanos. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat* (XLIV): 125-142.
- González-Rodríguez, A, D. M. Arías, S. Valencia y K. Oyama. 2004a. Morphological and RAPD analysis between *Quercus affinis* and *Quercus laurina* (Fagaceae), two mexican red oaks. *Am. J. Bot.* 3: 401-409.
- González-Rodríguez, A., J. B. Bain, J. L. Goleen and K. Oyama. 2004 b. Chloroplast DNA variation in the *Quercus affinis*- *Q. laurina* complex in Mexico: geographical structure and associations with nuclear and morphological variation. *Mol. Ecol.* 13: 3467-3476.
- González-Villareal, L. M. 1986. Contribución al conocimiento del género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de Jalisco. Instituto de Botánica. Colección Flora de Jalisco, Universidad de Guadalajara, México.
- Gottlieb, L. D. 1984. Genetics and morphological evolution in plants. *Am. Nat.* 123: 681-709.
- Grace J. y D. A. Norton. 1990. Climate and grow of *Pinus sylvestris* at its upper altitudinal limit in Scotland: evidence from tree grow-rings. *J. Ecol.* 78: 601-610.
- Gram, W. K. y V. L. Sork. 2001. Association between environmental and genetic heterogeneity in forest tree populations. *Ecology* 82: 2012-2021.
- Grant, V. 1981. *Plant speciation*. Columbia University Press. New York. N.Y.
- Guttman, S. I., y L. A. Weigt. 1989. Electrophoretic evidence of relationships among

- Quercus* (oaks) of eastern North America. *Can. J. Bot* 67: 339-351.
- Hamrick, J. L., Y. B. Linhart y J. B. Mitton. 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 10: 173-200.
- Hamrick, J. L., M. W. Godt y S. L. Sherman-Broyles. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New For.* 6: 95-124.
- Hansen-Bristow, K. 1986. Influence of increasing elevation on growth characteristics at timberline. *Can. J. Bot.* 64: 2517-2523.
- Hardig, T. M., S. J. Brunsfeld, R. S., Fritz, M. Morgan y C. M. Orians. 2000. Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. *Mol. Ecol.* 9: 9-24.
- Hardin, J. 1975. Hybridization and introgression in *Quercus alba*. *J. Arnold Arb.* 56: 336-363.
- Harrison, R. G. 1986. Pattern and process in a narrow hybrid zone. *Heredity* 56: 337-349.
- Harrison, R. G. 1993. Hybrids and hybrid zones: Historical perspective. En: R. G. Harrison (ed.) *Hybrid zones and the Evolutionary Process*. Oxford University Press.
- Harwood, J. y W. Amos. 1999. Genetic diversity in natural populations. En: Magurran, E. A. y R. M. May (eds). *Evolution of Biological Diversity*. 56-69.
- Hewitt, G. M. 1988. Hybrid zones – natural laboratories for evolutionary studies. *Trends Ecol. Syst.* 3: 158-167.
- Hewitt, G. M. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biol. J. Linn. Soc.* 58: 247-276.
- Hewitt, G. M. 1999. Hybrid zones. In: *Nature Encyclopedia of Life. Sciences*. London: Nature Publishing Group. <http://www.els.net>.
- Hillis, D. M. 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 23-42.

- Hokanson, S. C., J. G. Isebrands, R. J. Jensen y J. F. Hancock. 1993. Isozyme variation in oaks of the Apostle Islands in Wisconsin: Genetic structure and levels of inbreeding in *Quercus rubra* and *Q. ellipsoidalis* (Fagaceae). *Am. J. Bot.* 80: 1349-1357.
- Holman, J. E., J. Hughes y R. J. Fensham. 2003. A morphological cline in *Eucalyptus*: a genetic perspective. *Mol. Ecol.* 12: 3013-3025.
- Howard, D. J. 1986. A zone of overlap and hybridization between two ground cricket species. *Evolution* 40: 34-43.
- Howard, D. J., y G. L. Waring. 1991. Topographic diversity, zone width, and the strength of reproductive isolation in a zone of overlap and hybridization. *Evolution* 45: 1120-1135.
- Howard, D. J., R. W. Preszler, J. Williams, S. Frenchel y W. J. Boecklen. 1997. How discrete are oak species? Insights from a hybrid zone between *Quercus grisea* and *Quercus gambelli*. *Evolution* 51: 747-755.
- Ibarra-Montoya, J.L. 2005. Análisis morfológico de encinos híbridos de *Quercus affinis* × *Q. laurina* en Tequila y Puerto Aire Veracruz, México. Tesis de Maestría. UNAM.
- Jensen, R. J., S. C. Hokanson, J. G., Isebrands y J. F. Hancock. 1993. Morphometric variation in oaks of The Apostle Islands in Wisconsin: evidence of hybridization between *Quercus rubra* and *Q. ellipsoidalis* (Fagaceae). *Am. J. Bot.* 80:1358-1366.
- Jonas, C. y M. Geber. 1999. Variation among populations of *Clarkia unguiculata* (Onagraceae) along altitudinal and latitudinal gradients. *Am. J. Bot.* 86: 333-343.
- Jones, J. H. 1986. Fagaceae evolution. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 62: 538-589.
- Jongman, R. H. C., J. F. Ter Braak y O. F. R. Van Tongeren. 1999. Data analysis in community and landscape ecology. Cambridge University Press. New, York. N.Y.
- Jordan, J. G. y R. S. Hill. 1994. Past and present variability in leaf length of evergreen members of *Nothofagus* subgenus *Lophozonia* related to ecology and population dynamics. *New. Phytol.* 127: 377-390.
- Kajimoto, T. 1993. Shoot dynamics of *Pinus pumila* in relation to altitudinal and wind exposure gradients on the Kiso mountain range, central Japan. *Tree Phys.* 13: 41-53.
- Kaul, R. B. 1985. Reproductive morphology of *Quercus* (Fagaceae). *Am. J. Bot.* 12: 1962-1977.

- King, D. A. and J. H. Maindonald. 1999. Tree architecture in relation to leaf dimensions and tree stature in temperate and tropical rain forests. *J. Ecol.* 87: 1012-1024.
- Knight, T. M. y T. M. Miller. 2004. Local adaptation within a population of *Hydrocotyle bonariensis*. *Evol. Ecol. Res.* 6: 103-114.
- Kleinschmit, J. R. G., R. Bacilieri, A. Kremer y A. Roloff. 1995. Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Q. robur* L.) and sessiles oak (*Q. petraea* (Matt) Liebl.). *Silvae. Gen.* 44: 256-268.
- Körner, Ch., Bannister, P. y A. F. Mark. 1986. Altitudinal variation in stomatal conductance, nitrogen content and leaf anatomy in different plant life forms in New Zealand. *Oecologia* 69: 577-588.
- Kremer, A., J. Kleinschmit, J. Cotrell, E. P. Cundall, J. D. Deans, A. Ducousso, A. O. König, A. J. Lowe, R. C. Munro, R. J. Petit y B. R. Stephan. 2002. Is there correlation between chloroplastic and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oaks?. *For. Ecol. Manage.* 156: 75-87.
- Kremer, A., J. L. Dupouey, J. D. Deans, J. Cotrell, U. Csaikl, R. Finkeldey, S. Espinel, J. Jensen, J. Kleinschmit, B. Van Dam, A. Ducousso, I. Forrest, U. Lopez de Heredia, J. Lowe, M. Tutkova, R. C. Munro, S. Steinhoff and V. Badeau. 2002. Leaf morphological differentiation between *Quercus robur* and *Quercus petraea* is stable across western European mixed oaks stand. *Ann. For. Sci.* 59: 777-787.
- Lahtinen, M. J., P. Pulkkinen y M. L. Helander. 1996. Potential gene flow by pollen between English oak (*Quercus robur* L.) stands in Finland. *For. Stud.* 28: 47-50.
- Le Corre, S. Dumolin-Lapégue y A. Kremer. 1997. Genetic variation at allozyme and RAPD loci in sessile oak *Quercus petraea* (Matt) Liebl.: the role of history and geography. *Mol. Ecol.* 6: 519-529.
- Le Corre, V., G. Roussel, A. Zanetto y A. Kremer. 1998. Geographical structure of gene diversity in *Quercus patraea* (Matt) Liebl. III. Patterns of variation identified by geostatistical analyses. *Heredity* 80: 464-473.

- Lefort, F., y C. Douglas. 1999. An efficient micro-method of DNA isolation from mature leaves of four hardwood tree species *Hacer*, *Fraxinus*, *Prunus* and *Quercus*. *Ann. Sci. For* 56: 259-263.
- Loveless, M. D. y J. L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 65-95.
- Loveless, M. D., J. L. Hamrick y R. B. Foster. 1998. Population structure and mating system in *Tachigali versicolor*, a monocarpic neotropical tree. *Heredity* 81: 134-143.
- Lui, B. H. 1998. Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis. CRS Press. USA.
- Lynch, M., y G. Milligan. 1994. Analisis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol* 3: 91-99.
- Lynch, M. y B. Walsh. 1998. *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sinauer Associates Inc. Publishers. USA.
- Mallet, J. 2001. The genetics of biological diversity: from varieties to species. En: Gaston, J. K. (ed.), *Biodiversity. A biological of numbers and difference*. 14-47. Blackwell Science. USA.
- Manos, P. S., J. J. Doyle y K. C. Nixon. 1999. Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Mol. Phyl. Evol.* 12:333-349.
- Marchant, A. D., Arnold, M. L. y Wilkinson, P. 1988. Gene flow across across a chromosomal tension zone. I. Relicts of ancient hybridization. *Heredity* 61. 321-328.
- Martínez-Hernández, E. 1992. La vegetación y el clima de México. *Ciencia* 43: 69-72.
- Martínez, M. 1997. Sistemática molecular: comparación entre diferentes métodos y sus aplicaciones. *Bol. Soc. Bot. México* 60: 123-136.
- Martinsen, G. D., T. G. Whitham, R. J. Turek y P. Keim. 2001. Hybrid populations selectively filter gene introgression between species. *Evolution* 55: 1325-1335.

- Masera, O., M. J. Ordoñez y R. Dirzo. 1990. Emisiones de carbono producto de la deforestación en México, situación actual y escenario a largo plazo. Ponencia presentada en el Simposio sobre Conservación y Manejo de los Recursos Naturales en América Latina, del 2 al 4 de diciembre de 1990. UNAM. México.
- Max, N. K., S. K. Mouchaty and K. E. Schwaegerle. 1999. Allozyme and morphological variation in two subspecies of *Dryas octopetala* (Rosaceae) in Alaska. *Am. J. Bot.* 86: 1637-1644.
- Mayer, M. S., L. M. Williams y J. P. Rebman. 2000. Molecular evidence for the Hybrid origin of *Opuntia prolifera* (Cactaceae). *Madroño* 47: 109-115.
- M^cDonald, P. G., C. R. Fonseca, J. M^c C. Overton y M. Westony. 2003. Leaf-size divergence along rainfall and soil nutrient gradients: is the method of size reduction common among clades?. *Fun. Ecol.* 17: 50-57.
- McVaugh, R. 1974. Fagaceae. Flora Novo-Galiciana. Contr. Univ. Michigan Herb. 12 (I): 1-93.
- Merell, D. J. 1981. *Ecological Genetics*. University of Minnesota Press.
- Michaud, H., L. Toumi, R. Lumaret, T. X. Li, F. Romane y F. Di. Giusto. 1995. Effect of geographical discontinuity on genetic variation in *Quercus ilex* L. (holm oak). Evidence from enzyme polymorphism. *Heredity* 74: 590-606.
- Montalvo, A. M., S. G. Conard, M. T. Conkle y P. D. Hodgskiss. 1997. Population structure, genetic diversity, and clone formation in *Quercus chrysolepis* (Fagaceae). *Am. J. Bot.* 84: 1553-1564.
- Moore, W. S. 1977. An evaluation of narrow hybrid zones in vertebrates. *Quarterly Rev. Biol.* 52: 263-277.
- Moritz, C. y D. M. Hillis. 1996. Molecular Systematics: Context and Controversies. En: Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable (eds.). *Molecular Systematics*. Sinauer. Canada.
- Murdy, W. H. y M. E. Brown Carter. 1985. Electrophoretic study of the allopolyploid origin of *Talinum teretifolium* and the specific status of *T. appalachianum* (Portulacaceae). *Am. J. Bot.* 76: 1136-1151.

- Nason, J. D., N. C. Ellstrand y M. L. Arnold. 1992. Patterns of hibridization and introgression in populations of oaks, manzanitas and irises. *Am. J.Bot.* 79: 101-111.
- Nason, J. D. 2002. La estructura genética de las poblaciones de árboles. 299-327. En: Guariguata, M.R., y G. H. Catan (compiladores). *Ecología y conservación de bosques neotropicales*. Ediciones LUR. Costa Rica.
- Niinemets, U. y S. Fleck. 2002. Petiole mechanics, leaf inclination, morphology and investment support in relation to light availability in the canopy of *Liriodendron tupilifera*. *Oecologia* 132: 21-33.
- Niinemets, U., N. A. Afas, A. Cescatii, A. Pellis and R. Ceulmans. 2004. Petiole length and biomass investment in support modify light-interception efficiency in dense poplar plantations. *Tree Phys.* 24: 141-154.
- Nixon, K. C. 1993. Infrageneric clasificación of *Quercus* (Fagaceae) and tipificación of sectional names. *Ann. Sci. For.* 50 (Supplement 1): 255-235.
- Nixon, C. K., R. J. Jensen, P. Manos y C. H. Muller. 1997. Flora of North America, North of Mexico. Vol. 3 *Magnoliophyta: Magnoliidae and Hammamelidae*. Oxford University Press. New York. N.Y.
- Nunney, L. 2001. Population structure. En: Fox, C.W., D. A. Rolf y D. J. Fairbairn (eds). *Evolutionary ecology. Concepts and case of studes*. 70-83. Oxford University Press. New York. N.Y.
- Núñez-Olivera, E., J. Martínez-Abigail y J. C. Escudero. 1996. Adaptability of leaves of *Cistus ladanifer* to widely varying environmental conditions. *Functional Ecol.* 10: 636-646.
- O'Brien, S. J. y E. Mayr. 1991. Bureaucratic mischief: recognizing endangered species and subspecies. *Science* 251: 1187-1188.
- Otero, A., M. De la Cruz y K. Oyama. 1997. El uso de RAPDs como marcadores moleculares en plantas. *Bol. Soc. Bot. México* 60:85-177.
- Parkhurst, D. F. y O. L. Loucks. 1972. Optimal leaf size in relation to environment. *J. Ecol.* 60: 505-537.
- Pérez, J. A. y L. G. Neyra. 1998. Amenazas a la biodiversidad. En: CONABIO. *La diversidad biológica de México: estudio de país*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.

- Pérez-Nasser, N. y D. Piñero. 1997. Isoenzimas. *Bol. Soc. Bot. México* 60: 77-84.
- Petit, R. J., A. Kremer y D. B. Wagner. 1993. Geographic structure of chloroplast DNA polymorphism in European oaks. *Theor. Appl. Genet.* 87: 122-128.
- Petit, R. J., E. Pineau, B. Demesure, R. Bacilieri, A. Ducouso y A. Kremer. 1997. Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonization by oaks. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 94: 9996- 10001.
- Petit, C., F. Bretagnolle y F. Felber. 1999. Evolutionary consequences of diploid-polyloid hybrid zones in wild species. *Tree* 14: 306-311.
- Petit, R. J., U. M. Csaikl, S. Bordács *et al.* 2002. Chloroplast DNA variation in European white oaks : phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *For. Ecol. Manage.* 156: 5-26.
- Petit, R. J., C. Bodénès, A. Ducouso, G. Roussel y A. Kremer. 2003. Hybridization as a mechanism of invasion in oaks. *New Phytol.* 161: 151-154.
- Pierce, B. A. 2003. *Genetics a conceptual approach*. W. H. Freeman Co. New York, N.Y.
- Rand, M. D. y R. G. Harrison. 1989. Ecological genetics of a mosaic hybrid zone: mitochondrial, nuclear and reproductive differentiation of crickets by soil type. *Evolution* 43: 432-449.
- Rico-Gray, V. y M. Palacios-Ríos. 1996. Leaf area variación in *Rhizophora mangle* L. (Rizophoraceae) along a latitudinal gradient in Mexico. *Global. Ecol. Biogeogr. J.* 5: 30-35.
- Rieseberg, L. H. y J. F. Wendel. 1993. Introgression and its consequences in plants. En: R. G. Harrison, (ed.), *Hybrid zones and the Evolutionary Process*. 70-109. Oxford University Press. New York, N.Y.
- Rieseberg, L. H. y N. C. Ellstrand. 1993. What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization? *Crit. Rev. Plant Sci.* 12: 213-241.
- Rieseberg, L. H. 1995. The role of hybridization in evolution: old wine in new skins. *Am. J. Bot.* 82: 944-953.
- Rieseberg, L. H. 1997. Hybrid origins of plant species. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 28: 359-389.
- Rieseberg, L. H. 1999. Hybrid speciation. In: *Nature Encyclopedia of Life Sciences*. London: Nature Publishing Group: <http://www.els.net>.

- Rodríguez, D., W. G. Keltjens y J. Goudriaan. 1998. Plant leaf area expansion and assimilate production in wheat (*Triticum aestivum* L.) growing under low phosphorus conditions. *Plant and Soil* 200: 227-240.
- Romero, R. S. 1993. El género *Quercus* (Fagaceae) en el estado de México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Romero, R. S., E. C. R. Zenteno y S. Gómez. 2000. Flores hermafroditas de *Quercus laucooides* Mart & Gal. (Fagaceae) en el estado de Michoacán, México. *Acta Bot. Mex.* 52: 49-54.
- Romero, R. S., E. C. R. Zenteno y M. L. A. Enriquez. 2002. El género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 89: 551-593.
- Rosabelle, S. 1999. Identification of hybrids between *Quercus petraea* y *Q. robur* (Fagaceae): results obtained with RAPD markers confirm allozyme studies based on the Got-2 locus. *Pl. Syst. Evol.* 217: 137-146.
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México.
- Rzedowski, J. 1993. Diversity and originis of the fanerogamic flora of México. En: Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa. (Eds.). *Biological diversity of Mexico: Origins and distribution*. Oxford University Press, Nueva York.
- Sattler, R. y R. Rutishauser. 1997. The fundamental relevance of morphology and morphogenesis to plant research. *Ann. Bot.* 80: 570-582.
- Schaal, B. A. y W. G. Smith. 1980. The apportionment of genetic variation within and among populations of *Desmodium nudiflorum*. *Evolution.* 234: 214-221.
- Schaal, B. A., D. A. Hayworth, K. M. Olsen, J. T. Rausher y W. A. Smith. 1998. Phylogeographics studies in plants: problems and prospects. *Mol. Ecol.* 7: 465-474.
- Schaw, A. J. y R. E., Schneider. 1995. Genetic biogeography of the rare "copper moss", *Mielichhoferia elongata* (Bryaceae). *Am. J. Bot.* 82: 8-17.
- Schoemaker, D. D., K. G. Ross y M. L. Arnold. 1994. Development of RAPD markers in two introduced fire ants, *Solenopsis invicata* and *S. richteri*, and their application to the study of a hybrid zone. *Mol. Ecol.* 3: 531-539.
- Schoemaker, D. D., K. G. Ross y M. L. Arnold. 1996. Genetic structure and evolution of a fire ant hybrid zone. *Evolution.* 50: 1958-1976.

- Schoettle, A. W. 1990. The interaction between leaf longevity and shoot structure and foliar biomass per shoot in *Pinus contorta* at two elevations. *Tree. Phys.* 7: 209-214.
- Schoettle, A. W. y S. G. Rochelle. 2000. Morphological variation of *Pinus flexilis* (Pinaceae), a bird-dispersed pine, across a range of elevations. *Am. J. Bot.* 87: 1797-1806.
- Silva-Montellano, A. y L. E. Eguiarte. 2003. Geographic patterns in the reproductive ecology of *Agave lechuguilla* (Agavaceae) in The Chihuahua desert. I. Floral characteristics, visitors, and fecundity. *Am. J. Bot.* 90: 377-387.
- Sites Jr. J. W., N. H. Barton y K. M. Reed. 1995. The genetic structure of a hybrid zone between two chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Sauria, Phrynosomatidae) in Central Mexico. *Evolution* 49: 9-36.
- Slatkin, M. 1973. Gene flow and selection in a cline. *Genetics* 75: 733-756.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16: 393-430.
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47: 264-279.
- Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. En: L. A. Real (ed.). *Ecological Genetics*. 3-34. Princeton University Press. New York. N.Y.
- Slentz, S., A. E. Boyd y L. A. McDade. 1999. Morphological differentiation among Madrean sky island populations of *Castilleja austromontana* (Scrophulariaceae). *Madroño* 46: 100-101.
- Smith, J. F., C. C. Burke and W. L. Wagner. 1996. Interspecific hybridization in natural populations of *Cyrtandra* (Gesneriaceae) on the Hawaiian Islands: evidence from RAPD markers. *Plant Syst. Evol.* 200: 61-77.
- Sneath, P. H. A. y R. R. Sokal. 1973. *Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification*. W. H. Freeman y Colaboradores. San Francisco. Ca.
- Simpson, J. 1997. Molecular markers. *Bol. Soc. Bot. México*. 60: 73-76.
- Sokal, R. R., T. J. Crovello y R. S. Unnasch. 1986. Geographic variation of vegetative characters of *Populus deltoides*. *Syst. Bot.* 11: 419-432.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistical in biological research*. W. H. Freeman and Co. New York. N.Y.

- Sork, V. L., K. A. Stowe y C. Hochwender. 1993. Evidence for local adaptation in closely adjacent subpopulations of northern red oak (*Quercus rubra* L.) expressed as resistance to leaf herbivores. *Am. Nat.* 142: 928-936.
- Sork, V. L., F. W. Davis, P. E. Smouse, V. J. Apsit, R. J. Dyer, J. F. Fernandez-M y B. Kuhn. 2002. Pollen movement in declining populations of California Valley oak, *Quercus lobata*: where have all the fathers gone?. *Mol. Ecol.* 11: 1657-1668.
- Soulé, M. E. y G. H. Orians. 2001. Conservation Biology Research. Its Challenges and Contexts. En: Soulé, M. E. y G. H. Orians (eds.), *Conservation biology : research priorities for the next decade.* 271-285. Island Press. USA.
- Spellenberg, R. 1992. A new species of black oak (*Quercus*, Subg. *Erythrobalanus*, Fagaceae) from the Sierra Madre occidental, Mexico. *Am. J. Bot.* 79: 1200-1206.
- Spellenberg, R. 1995. On the hybrid nature of *Quercus basaseachicensis* (Fagaceae, sect. *Quercus*). *Sida* 16: 427-434.
- Spellenberg, R. 1998. *Quercus lesueri*, un miembro meridional del complejo de *Q. undulata* (Fagaceae, sect. *Quercus*). *Acta Botánica Mexicana* 42: 25-33.
- Stace, C. A. 1987. Hybridization and the plant species. En: Urbanska, K. M (ed.). *Differentiation patterns in higher plants.* 115-127. Academic Press. New York.
- Staudt, M., C. Mir, R. Joffre, S. Rambal, A. Bonin, D. Landais y R. Lumaret. 2004. Isoprenoid emissions of *Quercus* spp. (*Q. suber* and *Q. ilex*) in mixed stands contrasting in interspecific genetic introgression. *New. Phytol.* 163: 573-584.
- Stebbins, G. I., Jr. E. B. Matzke y C. Epling. 1947. Hybridization in a population of *Quercus marilandica* y *Quercus ilicifolia*. *Evolution* 1: 79-88.
- Stebbins, G. L. 1959. The role of hybridization in evolution. *Proc. Am. Phil. Soc.* 103: 231-251.
- Steinhoff, S. 1993. Results of species hybridization with *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl. *Ann. Sci. For.* 50: 137-143.
- Stuessy, T. F. 1990. Plant Taxonomy. *The Systematic Evaluation of Comparative Data.* Columbia University Press, New York. N.Y.
- Streiff, R., T. Labbe, R. Bacilieri. H. Steinkellner, J. Glossl y A. Kremer. 1998. Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. asses with isozymes and microsatellites. *Mol. Ecol.* 7: 317-328.

- Streiff, R., Ducouso, A., Lexer, C., Steinkellner, H. Gloessl, J. Kremer. 1999. Pollen dispersal inferred from paternity analysis in a mixed oak stand of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl. *Mol. Ecol.* 8: 831-841.
- Styles, B. T. 1993. Genus Pinus: A Mexican Perview. En: Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot y J. Fa. (Eds.). *Biological Diversity of Mexico Origins and Distribution*. 394-420. Oxford University Press, New York USA.
- Szymura, J. M. y N. H. Barton. 1991. The genetic structure of the hybridid zone between the Fire-bellied toads *Bombina bombina* and *B. variegata*: comparisons between transects and between loci. *Evolution* 45: 237-261.
- Toledo, V. M. 1982. Pleistocene changes of vegetation in tropical Mexico. En: G. Prance (Ed.). *Biological diversification in the tropics*. Columbia University Press, New York. N.Y.
- Tovar-Sánchez, E. y K. Oyama. 2004. Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. *Am. J. Bot.* 91: 1352-1363
- Tucker, J. M. 1974. Patterns of parallel evolution of leaf form in new world oaks. *Taxon* 23: 129-154.
- Valencia, A. S. 1989. Contribución al conocimiento del género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de Guerrero, México. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 183 pp.
- Valencia, S. 1994. Contribución a la delimitación taxonómica de 3 especies del género *Quercus* Sub. *Erythrobalanus*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F. 174pp.
- Valencia, S. 1995. Contribución al conocimiento del género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de Guerrero, México. Contribuciones al Herbario de la Facultad de Ciencias. UNAM. 154 pp.
- Valencia, S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 75: 33-53.
- Van Valen, L. 1976. Ecological species, multispecies and oaks. *Taxon* 25: 233-239.
- Whitham, T. G. 1989. Plant hybrid zones as links for pests. *Science* 244: 1490-1493.

- Whitham, T. G., P. A. Morrow y B. M. Potts. 1991. Conservation of hybrid plants. *Science* 254: 779-780.
- Whittemore, A. T. y B. A. Schaal. 1991. Interespecific gene flow in sympatric oaks. *Pro. Nat. Acad. Sci* 88: 2540-2544.
- Winn, A. y L. Gross. 1993. Latitudinal variation in seed weight and flower number in *Prunella vulgaris*. *Oecología* 93: 55-62.
- Wu, C. I. 2001. The genetic view of the process of speciation. *J. Evol. Biol.* 14: 851-865.
- Zanetto, A. y A. Kremer. 1995. Geographical structure of gene diversity in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. I. Monolocus patterns of variation. *Heredity* 75: 506-517.
- Zar, J. H. 1999. Bioestatistical analysis. Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey, USA.