



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA Y MANEJO INTEGRAL DE ECOSISTEMAS

**DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *QUERCUS CASTANEA* (FAGACEAE)
EN EL EJE VOLCÁNICO TRANSMEXICANO Y SU EFECTO SOBRE LA
COMUNIDAD DE INSECTOS ENDÓFAGOS DEL DOSEL**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. EN C. LETICIA ISABEL VALENCIA CUEVAS

TUTOR PRINCIPAL: DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ. INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DR. DANIEL PIÑERO DALMAU. INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM.

DR. ZENÓN CANO SANTANA. FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

MÉXICO, D.F. MAYO, 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA Y MANEJO INTEGRAL DE ECOSISTEMAS

**DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *QUERCUS CASTANEA* (FAGACEAE)
EN EL EJE VOLCÁNICO TRANSMEXICANO Y SU EFECTO SOBRE LA
COMUNIDAD DE INSECTOS ENDÓFAGOS DEL DOSEL**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. EN C. LETICIA ISABEL VALENCIA CUEVAS

TUTOR PRINCIPAL: DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ. INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DR. DANIEL PIÑERO DALMAU. INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM.

DR. ZENÓN CANO SANTANA. FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

MÉXICO, D.F. MAYO, 2014

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, en su sesión ordinaria del día 03 de marzo de 2014 aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de DOCTORA EN CIENCIAS de la alumna VALENCIA CUEVAS LETICIA ISABEL con número de cuenta 503006178 con la tesis titulada: "DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE QUERCUS CASTANEA (FAGACEAE) EN EL EJE VOLCÁNICO TRANSMEXICANO Y SU EFECTO SOBRE LA COMUNIDAD DE INSECTOS ENDÓFAGOS DEL DOSEL", bajo la dirección del DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ:

| | |
|-------------|-------------------------------------|
| Presidente: | DRA. PATRICIA DOLORES DÁVILA ARANDA |
| Vocal: | DRA. SUSANA VALENCIA ÁVALOS |
| Secretario: | DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU |
| Suplente: | DR. SANTIAGO ZARAGOZA CABALLERO |
| Suplente | DR. ZENÓN CANO SANTANA |

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 14 de mayo de 2014.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

Al **Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM** por darme la oportunidad de formarme como Doctora en Ciencias.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por el apoyo económico a través de una beca para cursar mis estudios de Doctorado.

Agradezco a los miembros del **Comité Tutorial** quienes desde el inicio de este proyecto mostraron interés, entusiasmo y disposición:

Al **Dr. Efraín Tovar Sánchez (Tutor principal)** por darme la oportunidad de formar parte de tu equipo, por el impulso y la confianza para realizar este proyecto de investigación y por apoyar esta etapa formativa de mi vida. Gracias por las enseñanzas y el buen trato, por la permanente disposición para discutir y resolver mis dudas y porque siempre hubo forma de resolver las situaciones cotidianas. Gracias por guiar mis pasos en este camino. Mi más sincero agradecimiento Efraín.

Al **Dr. Daniel Piñero** por sus comentarios para mejorar el proyecto, por su disposición para resolver mis dudas, por la confianza, la comprensión y el apoyo para la culminación de este trabajo. Muchas gracias.

Al **Dr. Zenón Cano** por su interés en el proyecto, por sus excelentes comentarios, por su confianza, comprensión y apoyo para que esta proyecto llegara a buen fin. Gracias por la minuciosa revisión del escrito de tesis. Muchas gracias.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A los miembros del jurado, **Dra. Patricia Dávila Aranda**, **Dr. Daniel Piñero Dalmau**, **Dra. Susana Valencia Ávalos**, **Dr. Zenón Cano Santana** y **Dr. Santiago Zaragoza Caballero** por la disposición y el tiempo para revisar este trabajo y por sus excelentes comentarios para mejorarlo. Muchas gracias.

A la **Dra. Patricia Mussali Galante** por ser una gran ser humano y una investigadora brillante. Gracias por el camino recorrido juntas, los comentarios, las enseñanzas, por tu sinceridad y por tu ejemplo. Pero sobre todo Paty, gracias por tu amistad.

A la **Dra. Susana Valencia Ávalos** por su entusiasmo e interés en el proyecto desde sus inicios y por su apoyo en la identificación de los encinos.

A la **Dra. Gabriela Castaño Meneses** y a la **Dra. Alicia Callejas** que han sido parte de varios momentos importantes en este proceso. Gracias por su disposición y excelentes comentarios.

Al **Dr. Ken Oyama** por la oportunidad de incursionar en el fascinante mundo de los encinos en mis estudios de Maestría y por ser la plataforma para seguir estudiándolos en el Doctorado.

Al **Dr. Rolando Ramírez Rodríguez** por tu interés en los avances de este trabajo y por la energía positiva que transmites siempre.

A la **M. en C. Laura Márquez** por todo su apoyo en las cuestiones técnicas de los microsatelites.

Al **Dr. Armando Equihua Martínez**, por su entusiasmo para participar en la última etapa de este proyecto

Al **Dr. Juli Pujade Villar** por su disposición y colaboración en la identificación de los insectos endófagos.

Al **Dr. Armando Burgos Solorio** por permitirnos el uso de su equipo de microscopia y fotografía.

A **Adolfo Ibarra Vázquez** y al **M. En C. Omar Ávalos** por el apoyo en la identificación de los ejemplares de los órdenes Diptera y Lepidoptera, respectivamente.

A **Patricia Martínez** y **Erika Rodríguez** por su excelente trabajo y orientación en cada uno de los trámites en el Posgrado. Gracias por su buen trato y amabilidad permanente.

Al **Dr. Armando Rodríguez Reyes** por su orientación y excelente trato durante todo el proceso de obtención del grado.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Sin duda la culminación de este trabajo no hubiera sido posible sin la invaluable ayuda y el apoyo constante de todos mis **amigos y compañeros** del **Laboratorio de Sistemática Molecular y Evolución del Centro de Investigaciones en Biodiversidad y Conservación (CIByC), de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.**

Gracias **Efraín Tovar** por tu entusiasmo en las salidas al campo, por tu ayuda en las colectas, por las horas al volante, por aguantar las empapadas en el campo y por todas y cada una de las cosas que has hecho para que este proyecto haya sido posible. Gracias por tu interés en cuestiones personales y por ser una de las personas más brillantes y generosas que he conocido.

Gracias **Paty Mussali** por todas las aventuras vividas juntas. Por las discusiones académicas y por las pláticas personales. Eres un ejemplo a seguir, pues aunque tu camino no ha sido fácil, el objetivo siempre estuvo claro, y contra viento y marea, cumpliste tu sueño. Eres una mujer que deja huella.

De manera especial quiero agradecer a **Elgar Castillo** por ser una gran persona y un excelente amigo. Gracias por todas las veces que me has ayudado (ya perdí la cuenta). Por las largas pláticas sobre cuestiones académicas y personales. Gracias por escucharme cuando más lo necesite y gracias por demostrarme de infinitas formas tu amistad. Conozco tu historia personal y te admiro por tus ganas de salir adelante.

Quiero agradecer a **Guadalupe Rangel “Lupis”** por todo el apoyo en las cuestiones del laboratorio, pero sobre todo por la amistad durante todos estos años. Gracias **Lupis** porque siempre que hubo un problema en el laboratorio me ayudaste a resolverlo y por hacer más llevaderas las jornadas de trabajo.

A **Mauricio Mora** por la ayuda en el campo para la identificación y colecta de los encinos.

A **Gabriel Flores** por su disposición y apoyo en las colectas en el campo.

Gracias a **Guillermo Sánchez** por el apoyo en las colectas en el campo, con el trabajo de fotografía de los insectos endófitos y por la permanente disposición para ayudar en lo que fuera necesario. Gracias por todo querido “**memo**”.

A **Efraín Ramírez, Ulises Solís y Francisco Guerra** por su disposición y ayuda en el trabajo de campo.

A **Alfredo López Caamal** por darme ánimos para seguir y brindarme ayuda desinteresada siempre que la pedí.

A **Tatiana Cervantes** por ser una gran persona y porque siempre me brindaste tu ayuda de manera entusiasta y desinteresada. Mil gracias “**Tatis**”.

A **todos los chicos de servicio social**, pues su ayuda fue de gran valor para cumplir con los tiempos.

A todos mis compañeros y amigos del Laboratorio: **Paty, Rolando, Alfredo, Elgar, Tatiana, Lupita, Guillermo, Miguel, Abigail, Betel, Wendy, Javier, Katia**.

Al **Centro de Investigaciones en Biodiversidad y Conservación (CIByC) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM)** por todas las facilidades en mis estudios de Posgrado.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A **Dios**, por la vida y por poner en mi camino a las personas indicadas.

A mi **esposo Filiberto** por su apoyo y comprensión, por su impulso para luchar y esforzarme por este sueño. Por el camino recorrido, por los sueños y los logros que hemos alcanzado juntos. Ojalá dios nos dé la oportunidad de seguir compartiendo todo aquello por lo que hemos luchado todos estos años. Gracias por ser parte de mi vida, por ser un ejemplo a seguir, por tu gran corazón, te amo.

A mi hija **Marifer** por ser el regalo más grande y el amor más sincero. Gracias por los besos, los abrazos, las ocurrencias, por tus grandes logros, por hacerme inmensamente feliz. Gracias por ser mi compañera inseparable, mi gran orgullo y por ser un ser extraordinario. Te amo “peque”.

A mis papas **Marco y Gris** por ser el mejor ejemplo que he tenido. Por su amor y su confianza, por el tiempo en familia y porque este logro ha sido posible gracias a las enseñanzas y valores que inculcaron en mí. Los amo y aunque a la distancia, siempre están conmigo.

A mis hermanos **Ale, Marco y Hugo**, porque siempre han estado conmigo, interesados en mis asuntos académicos y personales. Gracias por existir, los amo y siempre los llevo en mi corazón.

A mis familias, **Valencia Vidrio y Cuevas Figueroa** porque cada una es maravillosa.

DEDICATORIA

A **Filiberto**, un guerrero incansable y un compañero extraordinario.

A **María Fernanda**, un ser maravilloso que ha llenado mi vida de alegría y amor.

Muchos de nuestros sueños parecen al principio imposibles, luego pueden parecer improbables, y luego, cuando nos comprometemos firmemente, se vuelven inevitables.

Christopher Reeve

ÍNDICE

| | |
|---|-----|
| RESUMEN | 1 |
| ABSTRACT | 4 |
| INTRODUCCIÓN GENERAL | 6 |
| Una perspectiva genética de la comunidad | |
| Efecto de la diversidad y estructura genética de especies fundadoras sobre las comunidades de insectos herbívoros | |
| Hibridación y sus consecuencias en comunidades de insectos herbívoros | |
| Hibridación en el género <i>Quercus</i> | |
| Comunidades de insectos endófagos asociados al dosel de encinos | |
| ESPECIE DE ESTUDIO | 18 |
| JUSTIFICACIÓN | 19 |
| OBJETIVOS E HIPÓTESIS | 20 |
| CAPÍTULO I. Diversidad y estructura genética de <i>Quercus castanea</i> (Fagaceae) a través de un gradiente de riqueza de especies de encinos rojos en México. | 24 |
| Effect of a red oak species gradient on genetic structure and diversity of <i>Quercus castanea</i> (Fagaceae) in Mexico. | |
| CAPÍTULO II. Hibridación introgresiva de <i>Quercus castanea</i> (Fagaceae) a través de un gradiente en la riqueza de especies de encinos rojos. | 37 |
| Hybridization of <i>Quercus castanea</i> (Fagaceae) across a red oak species gradient in Mexico. | |
| CAPÍTULO III. Efecto de la diversidad genética de <i>Q. castanea</i> sobre la comunidad de insectos endófagos asociados al dosel. | 82 |
| Comunidad de insectos endófagos asociados al dosel de <i>Quercus castanea</i> : examinando los efectos de la diversidad genética de una especie fundadora. | |
| DISCUSIÓN GENERAL | 123 |
| Patrones de diversidad y estructura genética en encinos: el caso de <i>Q. castanea</i> . | |
| Dinámicas de hibridación de <i>Q. castanea</i> en un complejo de encinos rojos en México. | |
| Consecuencias ecológicas de la diversidad genética de <i>Q. castanea</i> sobre su comunidad de insectos endófagos. | |

| | |
|-------------------------------|-----|
| CONCLUSIONES GENERALES | 134 |
| PERSPECTIVAS | 136 |
| LITERATURA CITADA | 137 |

Valencia-Cuevas, L.I. 2014. Diversidad y estructura genética de *Quercus castanea* (Fagaceae) en el Eje Volcánico Transmexicano y su efecto sobre la comunidad de insectos endófagos del dosel. Tesis de Doctorado. Posgrado en Ciencias Biológicas e Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

Uno de los retos actuales en ecología es entender cómo las características genéticas de una especie arbórea dominante pueden definir procesos a nivel de comunidades y ecosistemas. Estudios bajo esta perspectiva son importantes especialmente cuando se trata de especies fundadoras que estructuran sus ecosistemas al crear condiciones localmente estables y ofrecer recursos diversos para diferentes organismos. *Q. castanea* es una especie de encino rojo con amplia distribución geográfica en México, la cual frecuentemente domina el dosel de los bosques en donde habita y constituye el hábitat de diferentes especies de plantas epífitas, artrópodos, aves y pequeños mamíferos. Los atributos antes mencionados sugieren, que esta especie puede ser considerada como especie fundadora. Además, *Q. castanea* tiene la característica de que al crecer en simpatria con otras especies de encinos rojos, presenta individuos con morfología atípica, sugiriendo que la hibridación es el proceso responsable de dicha variación. En este escenario, este estudio analizó: a) la diversidad y estructura genética de *Quercus castanea* a través de un gradiente de riqueza de especies de encinos rojos asociados, b) la evidencia genética de hibridación e introgresión entre *Q. castanea* y sus especies de encinos rojos asociados a través de un gradiente de riqueza de encinos y c) la influencia de la diversidad genética de la planta hospedera *Q. castanea* sobre la riqueza (S), diversidad (H') e infestación de la comunidad de insectos endófagos asociados al dosel (insectos formadores de agallas y minadores de hojas). Para cumplir los objetivos antes mencionados, 120 individuos reconocidos morfológicamente como *Q. castanea*

fueron genéticamente analizados, mediante 14 primers de microsatélites (seis nSSRs y ocho cpSSRs). Estos individuos pertenecen a seis poblaciones (20 por sitio) a través de las cuales se detectó un gradiente en la riqueza de encinos rojos asociados a *Q. castanea*, de cero a cinco especies. Asimismo, se colectaron 10 individuos de una población alopátrida de cada una de las cuatro especies (*Q. crassipes*, *Q. crassifolia*, *Q. laurina* y *Q. mexicana*) que coexisten con *Q. castanea* en los sitios de simpatría, como poblaciones de referencia. La comunidad de insectos endófagos de dosel fue muestreada en todos los individuos morfológicamente reconocidos como *Q. castanea*. Los resultados mostraron una relación positiva y significativa entre la diversidad genética de *Q. castanea* y el número de especies de encinos rojos creciendo en simpatría, independientemente del tipo de marcador utilizado o parámetro de diversidad genética analizado. Además, se encontró una mayor diferenciación genética de las poblaciones de *Q. castanea* usando cpSSRs en comparación con nSSRs. Por otro lado, se encontró evidencia genética de hibridación entre *Q. castanea* y tres de sus especies de encinos rojos asociados dentro de las poblaciones simpátridas, con el uso de seis nSSRs. En general, la presencia y frecuencia de los híbridos entre *Q. castanea* y las especies de encinos rojos que crecen en simpatría varió entre las localidades. Finalmente, se encontró que la diversidad genética del árbol hospedero tiene un efecto positivo y significativo sobre H' y S de la comunidad de insectos endófagos asociados al dosel de *Q. castanea*. En contraste, el nivel de infestación no mostró una respuesta a la genética de la planta hospedera. Los resultados de este trabajo tienen implicaciones en términos de conservación, pues sugieren que mantener los mecanismos que promueven la diversidad genética de las especies fundadoras es fundamental para la conservación de las comunidades asociadas. En particular, la consideración de la diversidad genética de *Q.*

castanea como un factor importante que define la estructura de sus comunidades puede ser un enfoque eficiente para conservar la biodiversidad en los bosques templados mexicanos en donde habita esta especie.

ABSTRACT

One of the challenges in ecology is to understand how genetic attributes within the arboreal dominant species can determine community and ecosystem level processes. Studies under this perspective are important, especially when these plant species are considered as foundation species, which structure the ecosystems by creating locally stable conditions and provide specific resources for diverse organisms. *Q. castanea* is a red oak species that presents wide geographical distribution in Mexico, which frequently dominates the canopy of the forest in when occur, and represents the habitat of different epiphyte plants, arthropods, birds and small mammals. The attributes afore mentioned, suggest that this species can be considered as a foundation species. Furthermore, *Q. castanea* presents atypically high morphological variability when it occurs in sympatry with other red oak species, suggesting that hybridization may explain the observed variation. In this scenario, this study analyzed: a) the genetic structure and diversity levels of *Q. castanea* through a red oak species gradient, b) the genetic evidence of hybridization and introgression among *Q. castanea* and its associated red oak species c) the influence of genetic diversity of *Q. castanea* on the species richness (S), diversity (H') and infestation of the canopy endophagous insect communities (gall-forming wasps and leaf mining moths). To achieve these goals, 120 individuals morphologically recognized as pure *Q. castanea* were genetically analyzed using 14 microsatellite (SSRs) primers (six nSSRs and eight cpSSRs). These individuals belonged to six populations (20 individuals per site) across a gradient of red oak species associated to *Q. castanea*. In addition, ten individuals from one allopatric population of each red oak species co-occurring in sympatry with *Q. castanea* were sampled as reference populations. The canopy endophagous insect community was

collected in all individuals recognized morphologically as *Q. castanea*. Results showed a positive and significant relationship between the genetic diversity levels of *Q. castanea* and the number of red oak species growing in sympatry, regardless of the marker type or the parameter of genetic diversity analyzed. Also, we found a higher genetic differentiation of *Q. castanea* populations using cpSSRs in comparison with nSSRs. On the other hand, inside sympatric populations, evidence of hybridization among *Q. castanea* and three of its associated red oak species was found using six nSSRs. However, the occurrence and frequency of hybrids between *Q. castanea* and these species varied among stands. Finally, it was found that the genetic diversity of the host plant have a positive and significant effect on H' and S of the endophagous insect communities associated to *Q. castanea*. In contrast, infestation levels did not show a response with the genetic of the host plant. The data found in this work are important in terms of conservation, because efforts to maintain the mechanisms that promote the genetic diversity on foundation species is fundamental to preserve the diversity of the associated communities. In particular, the consideration of the genetic diversity of *Q. castanea* as an important element that shape the structure of communities can be an efficient approach to conserving the biodiversity in the mexican temperate forests.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Una perspectiva genética de la comunidad

En los últimos veinte años se ha propuesto integrar a la ecología genética y de comunidades en una nueva disciplina denominada *genética de la comunidad*, la cual ha sido definida como: “el campo que aborda el estudio de las características genéticas que son responsables de las interacciones que se dan entre las especies que conforman una comunidad” (Antonovics, 1992). Es decir, la genética de la comunidad permite entender cómo la variación genética y los factores bióticos y abióticos influyen sobre: a) las interacciones que se establecen entre las especies, b) la estructura de la comunidad, y c) los procesos ecosistémicos (Hersch-Green, 2011). Con esta fusión ha sido posible unir diversas teorías, conceptos y técnicas empleadas en ecología de comunidades, biología evolutiva y genética, así como el planteamiento de nuevas hipótesis con respecto al papel que tiene la diversidad genética sobre las comunidades y ecosistemas (Johnson y Stinchcombe, 2007). El surgimiento de esta disciplina ha permitido reconocer la necesidad de nuevos enfoques de interpretación que escalen los diferentes niveles de biodiversidad (Neuhauser et al., 2003; Whitham et al., 2003). La importancia de este enfoque radica en que las comunidades y ecosistemas pueden ser evaluados dentro de un marco evolutivo predictivo, en donde las presiones selectivas que actúan sobre una única especie pueden tener impacto sobre la estructura de la comunidad o la dinámica del ecosistema (Whitham et al., 2003, 2006; Bangert y Whitham, 2007).

Tradicionalmente, la genética de poblaciones considera al *fenotipo* como la suma de los genes y la influencia ambiental sobre la expresión de una característica (e.g., fitoquímica o arquitectónica; Ridley, 2004). En contraste, desde una perspectiva de comunidad, el *fenotipo* surge de las interacciones con otras especies que comprenden la comunidad y se define como el efecto de los genes a niveles de organización mayores que la población (Dawkins, 1982; Whitham et al., 2003). Por ejemplo, el *fenotipo de la comunidad* se puede caracterizar en términos de abundancia, composición, riqueza y diversidad de las especies que conforman la comunidad. Asimismo, el *fenotipo del ecosistema* lo constituyen procesos como la tasa de descomposición del mantillo o de mineralización de nitrógeno en el suelo (Whitham et al., 2006). En general, la genética de comunidades se basa en la premisa de que si los fenotipos que se heredan individualmente pueden tener influencia sobre la adecuación y el fenotipo en otras especies, de modo que el proceso de selección podría presentarse dentro de un contexto de comunidad (Whitham et al., 2003, 2006).

Efecto de la diversidad y estructura genética de especies fundadoras sobre las comunidades de insectos herbívoros.

La diversidad genética puede definirse como cualquier medida que cuantifique la magnitud de la variabilidad genética a nivel del individuo, la población o la especie (Nason, 2002; Huges et al., 2008) y ha sido considerada la materia prima para la evolución por selección natural (Fisher, 1939) y una fuente fundamental de biodiversidad (Huges et al., 2008). En general, sus consecuencias ecológicas a nivel poblacional han sido bien estudiadas (e.g., incremento en la adecuación de la población y menor riesgo de extinción, Vellend y Geber, 2005). Sin embargo, a nivel de comunidad aún no se tiene claro su papel en la organización

y dinámicas de éstas (Jonhson y Stinchcombe, 2007; Hersch-Green et al., 2011; Wymore et al., 2011). Se ha propuesto que para que la diversidad genética tenga un efecto significativo sobre la comunidad, esta última debe estar dominada por una o pocas especies fundadoras (Bangert y Whitham, 2007; Hughes et al., 2008). Las especies fundadoras, se definen como aquéllas que estructuran las comunidades al crear condiciones localmente estables y ofrecer recursos para otras especies, además de participar en la modulación y estabilización de procesos ecosistémicos (Ellison et al., 2005; Whitham et al., 2006). Los criterios para que una especie sea considerada como fundadora son: a) que sea productor primario, b) que tenga una amplia distribución geográfica, c) que sea un elemento dominante del ecosistema y d) que sea el hábitat de diferentes especies (Ellison et al., 2005). Los árboles de los ecosistemas forestales son excelentes candidatos para ser especies fundadoras, pues sus características arquitectónicas, funcionales y fisiológicas definen la estructura del bosque, pueden tener impacto sobre el microclima y su biomasa y constitución química contribuyen de manera importante en los procesos ecosistémicos (Ellison et al., 2005). Sin embargo, no sólo árboles de las zonas templadas presentan atributos de especies fundadoras, sino también árboles tropicales, pastos marinos, hierbas alpinas, arbustos costeros, pastos terrestres y helechos, han sido considerados especies fundadoras dentro de sus ecosistemas (Whitham et al., 2012).

A la fecha, la mayoría de los estudios que han demostrado una base genética de la variación en el fenotipo de la comunidad se han realizado en híbridos (e.g., *Eucalyptus*, Dungey et al., 2000; *Salix*, Hochwender y Fritz, 2004; *Quercus*, Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b) y en genotipos específicos dentro de una especie (e.g., *Oenothera*, Johnson y Agrawal, 2005; *Populus*, Shuster et al., 2006, Schweitzer et al., 2008; *Solidago*, Crutsinger et al., 2008). En

contraste, pocos son los estudios que han medido algún parámetro de diversidad genética y que éste se haya relacionado con algún parámetro de la estructura de la comunidad (e.g., *Populus*, Wimp et al., 2004; *Quercus*, Tovar-Sánchez et al., 2006b, 2013). Asimismo, uno de los grupos de insectos herbívoros más comunmente utilizados en este tipo de estudios son los insectos endófagos, probablemente debido al alto grado de especialización y a su estrecha relación con la planta hospedera (Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b). Sin embargo, es importante mencionar que comunidades de hongos endófitos, micorrizas, plantas epífitas y terrestres, y microorganismos del suelo, también han respondido de forma significativa a la genética de las plantas (Whitham et al., 2012).

En general, en estos trabajos se ha documentado de manera consistente que la diversidad genética de la planta hospedera está positiva y significativamente relacionada con la diversidad, riqueza y abundancia relativa de las comunidades de insectos herbívoros asociadas. Por ejemplo, este patrón ha sido detectado en álamos (Wimp et al., 2004, Bangert et al., 2005, 2006, 2008), encinos (Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b, Tovar-Sánchez et al., 2013), eucaliptos (Dungey et al., 2000) y sauces (Hochwender y Fritz, 2004). En general, se ha sugerido que el incremento de la diversidad genética de la planta hospedera puede generar cambios en sus características morfológicas (Lambert et al., 1995; González-Rodríguez et al., 2004; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004), fenológicas (Hunter et al., 1997), arquitectónicas (Martinsen y Whitham, 1994; Whitham et al., 1999; Bangert et al., 2005) y químicas (Fritz, 1999), los cuales constituyen una gama más amplia de recursos y condiciones para ser explotados por los herbívoros.

También se ha sugerido que la influencia de la diversidad genética de la planta hospedera puede extenderse indirectamente a los diferentes niveles tróficos, promoviendo un efecto en cascada a través del ecosistema (Whitham et al., 2003). Por ejemplo, un incremento en la diversidad genética de la planta hospedera puede promover un incremento en su complejidad arquitectónica y calidad nutricional (Bailey et al., 2004; Glynn et al., 2004), favoreciendo la diversidad y abundancia de herbívoros (Bailey et al., 2006), y en consecuencia, en la intensidad de depredación y el grado de parasitismo (Sarfraz et al., 2008).

Bajo una perspectiva genética de la comunidad también se ha propuesto que la diversidad genética de una especie fundadora no sólo afecta la diversidad de sus comunidades asociadas, sino que además puede influenciar la evolución de éstas, en respuesta a su diferenciación genética a lo largo de su distribución geográfica (Barbour et al., 2009). Evaluar la diferenciación genética de especies fundadoras a través de gradientes ambientales (Endler, 1997; Storfer, 1999) puede ser un sistema útil para probar la hipótesis de Barbour et al. (2009) que postula que “la evolución de una especie hospedera puede promover cambios en la estructura y funcionamiento de sus comunidades asociadas”.

Por ejemplo, en estudios de campo y en experimentos en ambientes controlados con los sistemas *Populus angustifolia* × *P. fremontii* y *P. angustifolia* × *P. deltoides* (Bangert et al., 2005, 2006, 2008) y *Eucalyptus globulus* (Barbour et al., 2009) se encontró que la composición de insectos minadores de hojas responden a la diferenciación genética de sus plantas hospederas, pues las poblaciones genéticamente más similares de plantas hospederas mantuvieron una composición de herbívoros más similar. Este patrón fue consistente a diferentes escalas geográficas. Los resultados en estos sistemas muestran que

la diferenciación genética a través de la distribución geográfica de las plantas puede resultar en variación en las comunidades de herbívoros. Asimismo, se podría esperar que cambios genéticos de la especie hospedera promuevan cambios en la comunidad de herbívoros, debido principalmente a un fenómeno de coevolución en organismos especializados a la planta hospedera (Shuster et al., 2006). Sin embargo, bajo este enfoque genético de la comunidad aún no se pueden hacer generalizaciones debido a que son escasos los trabajos.

Hibridación y sus consecuencias en comunidades de insectos herbívoros

La hibridación es un fenómeno frecuente en plantas (Whitney et al., 2010). De hecho, ésta es considerada una fuerza evolutiva importante debido a que puede dar origen a nuevas especies e incrementar la diversidad genética intraespecífica (Rieseberg y Ellstrand, 1993; Whitham et al., 1999). Desde hace 25 años las zonas híbridas han sido atractivas como escenarios para estudiar los efectos de la hibridación natural en la interacción planta-insecto (Boecklen y Spellenberg, 1990; Fritz et al., 1994, 1996, 1998; Dungey et al., 2000; Wimp et al., 2005; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006a, b; Yarnes et al., 2008). Asimismo, diferentes trabajos han hecho énfasis en la respuesta de los artrópodos, particularmente los fitófagos, a la variación encontrada en estas zonas (Whitham et al., 1999; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006a,b; Yarnes et al., 2008), debido a la generación de combinaciones únicas de características de la planta hospedera que tienen una base genética, las cuales podrían estar asociadas a las preferencias de oviposición de los insectos y a las características de resistencia de las plantas (Boecklen y Spellenberg, 1990; Aguilar y Boecklen, 1992; Fritz, 1999). En general, se ha encontrado que diferentes especies de insectos herbívoros responden de manera distinta a la hibridación de sus plantas hospederas. Por ejemplo, las

plantas hospederas híbridas pueden mantener menores, similares o mayores abundancias de herbívoros con respecto a plantas hospederas parentales (Fritz et al., 1994; Fritz, 1999). La existencia de estos diferentes patrones de respuesta de los herbívoros en las zonas híbridas ha sido atribuida a la edad y amplitud de distribución geográfica de la zona híbrida, a gradientes ambientales, al estatus genético de los híbridos, y a los mecanismos genéticos que determinan la herencia de los mecanismos de resistencia en los híbridos (Boecklen y Spellenberg, 1990; Fritz et al., 1994; Strauss, 1994).

Por otra parte, también es importante entender cómo a través del proceso de hibridación los artrópodos pueden cambiar de una planta hospedera a otra. En este sentido, Floate y Whitham (1993) propusieron la hipótesis del *punte híbrido*, la cual predice que los híbridos intermedios facilitan el cambio de hospedero de los artrópodos de una especie a otra, ya que permiten que los artrópodos restringidos a un hospedero puedan gradualmente experimentar y adaptarse a otro genoma hospedero. Por ejemplo, si no hay hibridación o los híbridos F_1 son estériles el cambio de hospedero no será posible. Sin embargo, si los F_1 son fértiles y se cruzan con una especie parental (introgresión unidireccional) la mitad del camino para el cambio de hospedero se verá facilitado. Finalmente, cuando los F_1 son fértiles y se cruzan con ambas especies parentales (introgresión bidireccional) se establece un continuo de genotipos que servirán como “puentes” para un cambio de hospedero gradual (Floate y Whitham, 1993).

Estudios en genética de la comunidad con sistemas híbridos han evaluado el efecto de la clase genética (e.g., parental, híbridos F_1 o retrocruzas) sobre las comunidades de herbívoros asociados a especies fundadoras, como álamos (Fritz et al., 1994; Bangert et al.,

2005, 2006, 2008; Bailey et al., 2006; Shuster et al., 2006; Wimp et al., 2004, 2005, 2007), encinos (Boecklen y Spellenberg, 1990; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b), eucaliptos (Whitham et al., 1994; Dungey et al., 2000) y sauces (Hochwender y Fritz, 2004). Estos trabajos han encontrado que la composición de las comunidades de herbívoros asociados al dosel es significativamente diferente entre tipos de clase genética, demostrando que los herbívoros pueden detectar diferencias en las características de sus plantas hospederas (producto de sus características genéticas). Por lo anterior, cada clase genética de planta hospedera contendrá comunidades de herbívoros particulares, por lo que el incremento de clases genéticas en zonas híbridas propiciarán una mayor biodiversidad. El escenario antes mencionado ha sido la base para proponer a las zonas híbridas como centros de biodiversidad, las cuales requieren de planes de manejo adecuados para su conservación (Whitham et al., 1999; Bangert et al., 2005; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b).

Hibridación en el género *Quercus*

La hibridación natural implica la cruce exitosa entre individuos de poblaciones que pertenecen a especies diferentes en términos morfológicos, fisiológicos y ecológicos (Arnold, 1992). Uno de los grupos de plantas que destaca por la alta frecuencia de hibridación entre sus especies es el género *Quercus*. De hecho, en la literatura se ha reportado que las especies de encino pueden ser fértiles en muchas combinaciones (Cottam et al., 1982; Curtu et al., 2007; Lepais et al., 2009). Esta condición ha sido atribuida a la existencia de barreras reproductivas incipientes que facilitan el flujo genético interespecífico (Whittemore y Schaal, 1991; Williams et al., 2001). Es por ello que el caso de los encinos ha generado debate en torno a la aplicación del concepto biológico de

especie, el cual requiere aislamiento reproductivo como un requisito para que se lleve a cabo el proceso de especiación (Burger, 1975; Van Valen, 1976). Sin embargo, a pesar de que las especies de encino están comúnmente involucradas en fenómenos de hibridación, los estudios han demostrado que mantienen su identidad morfológica, ecológica y genética, y en muchos casos, los híbridos que se forman pueden ser tan fértiles como las especies parentales (Lepais et al., 2009; Mir et al., 2009).

Los niveles de hibridación entre las especies de encinos dependen de barreras reproductivas precigóticas y postcigóticas (Abadie et al., 2012; Lepais et al., 2013). Las barreras reproductivas son generalmente más fuertes entre las especies que están poco relacionadas filogenéticamente, debido a incompatibilidades fisiológicas (e.g., interacción polen-pistilo; Boavida et al., 2001). En este sentido, es importante mencionar que no han sido reportados híbridos naturales entre especies de encinos pertenecientes a diferentes secciones (Rushton, 1993). Asimismo, diferentes trabajos de hibridación en encinos han demostrado que el contexto ecológico local puede definir en el resultado del contacto entre las especies. Particularmente, ha sido documentado que las condiciones del hábitat (Lagache et al., 2013), la ubicación geográfica de la zona híbrida (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004), el establecimiento y la supervivencia de los híbridos (Valbuena-Carabaña et al., 2007), la abundancia relativa y la identidad de las especies (Lepais et al., 2009), la estructura espacial de las especies dentro del bosque (Salvini et al., 2009), o la proporción de polen conoespecífico y la densidad de individuos disponibles para apareamiento (Lagache et al., 2013) también pueden tener influencia sobre los niveles de hibridación y la dirección de la introgresión en encinos.

En general, la mayoría de los estudios sobre hibridación en encinos se han llevado a cabo con representantes de la sección *Quercus* (encinos blancos) y en menor medida, este proceso ha sido estudiado en especies de la sección *Lobatae* (encinos rojos; Dodd y Afzal-Rafii, 2004; Moran et al., 2012). Asimismo, aunque el flujo genético interespecífico entre diferentes combinaciones de especies es frecuente, el estudio de los sistemas complejos constituidos de más de dos especies parentales que intercambian material genético simultáneamente, ha sido poco abordado (Curtu et al., 2007, 2009; Lepais et al., 2009; Peñaloza-Ramírez et al., 2010; Castillo-Mendoza, datos no publicados). Por lo tanto, las dinámicas del flujo genético interespecífico en estos sistemas multiespecies son poco conocidas.

Considerando que México es el principal centro de diversificación del género *Quercus* con un estimado de 161 especies (Valencia, 2004), existen relativamente pocos estudios que han abordado el proceso de hibridación entre especies de encinos en el país (González-Rodríguez et al., 2004; Tovar-Sánchez et al., 2004; Valencia-Cuevas, 2006; Peñaloza-Ramírez et al., 2010; Albarrán-Lara, 2010). En particular, a la fecha existe un solo trabajo publicado de zonas híbridas multiespecies con encinos rojos (Peñaloza-Ramírez et al., 2010) y uno en preparación con encinos blancos en México (Castillo-Mendoza, datos no publicados). Sin embargo, en todos los casos la hibridación ha sido corroborada mediante el uso de herramientas morfológicas y moleculares.

Una de las consecuencias del proceso de hibridación es la introgresión o transferencia de genes de una especie a otra, la cual puede promover un incremento en la diversidad genética de las especies involucradas (Rieseberg y Ellstrand, 1993). Este incremento en los

niveles de diversidad genética como resultado de eventos de hibridación ha sido reportado en varias especies de encinos mexicanos (e.g., *Q. affinis* y *Q. laurina*, González-Rodríguez et al., 2005; *Q. crassipes* y *Q. crassifolia*, Tovar-Sánchez et al., 2008). Considerando que varias de las especies de encinos mexicanos presentan atributos de especie fundadora (e.g., especies dominantes que representan el hábitat de una gran diversidad de especies, regulan condiciones microclimáticas y que participan en el balance hídrico y ciclaje de nutrientes; Ellison et al., 2005) y que es común el hecho de que estén involucradas en eventos de hibridación, se sugiere que sus comunidades de insectos herbívoros asociados pueden mostrar una respuesta significativa a los niveles de diversidad genética de su planta hospedera.

Comunidades de insectos endófagos asociados al dosel de encinos

Los insectos endófagos son un gremio importante que habita el dosel de los árboles e incluye a insectos como los formadores de agallas, minadores y enrolladores de hojas, todos los cuales se caracterizan por estar cubiertos por los tejidos de las hojas y alimentarse del tejido mesófilo de éstas (Cornell, 1990). Diferentes estudios han demostrado que este grupo es altamente sensible a las características genéticas de diferentes especies fundadoras. Por ejemplo, se ha reportado que la diversidad de insectos endófagos asociados al dosel de álamos (Wimp et al., 2004) y encinos (Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b) incrementa conforme aumenta la diversidad genética del árbol hospedero. Asimismo, los estudios han evidenciado que plantas hospederas genéticamente más similares mantienen comunidades de insectos más similares (e.g., Bangert et al., 2005; Barbour et al., 2009). En general, se ha sugerido que el incremento de la diversidad genética de la planta hospedera

pueden generar cambios en sus características morfológicas (Lambert et al., 1995; González-Rodríguez et al., 2004; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004), fenológicas (Hunter et al., 1997), arquitectónicas (Martinsen y Whitham, 1994; Whitham et al., 1999; Bangert et al., 2005) y químicas (Fritz, 1999), los cuales constituyen una gama más amplia de recursos y condiciones para ser explotados por los herbívoros.

Un caso particular dentro de los insectos endófagos son las avispas inductoras de agallas pertenecientes a la familia Cynipidae, las cuales han establecido una fuerte relación con los encinos (Pujade-Villar et al., 2009), pues se ha reconocido que estos insectos son especie, órgano y tejido específicos (Stone et al., 2002). Además se sabe que cada forma de agalla representa a una especie diferente de insecto, siempre y cuando se encuentre localizada en un solo órgano de la planta hospedera (Ananthakrishan, 1984; Hartley, 1998). Considerando el hecho de que México ha sido propuesto como el centro de diversificación de encinos más importante a nivel mundial (Valencia, 2004), se ha sugerido que la riqueza de especies de avispas agalleras en nuestro país puede ser extraordinaria (Pujade-Villar et al., 2009). Una de las revisiones taxonómicas más recientes para este grupo de insectos en México reportó la existencia de 157 especies en 33 especies de encinos hospederos estudiados (Pujade-Villar et al., 2009). Si se toma en cuenta que dicha estimación está basada sólo en el 20.5 % de las especies que existen en nuestro país (33 de 161 especies) es clara la diversidad potencial de insectos agalleros que podría ser encontrada en las especies de encinos que habitan en México. A pesar de los datos antes mencionados, en nuestro país son escasos los estudios que han documentado las relaciones ecológicas que existen entre encinos hospederos y avispas agalleras (e.g., Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b), muy probablemente debido a la falta de especialistas en taxonomía de estos insectos. En el

mismo sentido, existen pocos trabajos que han estudiado la estructura de las comunidades de insectos minadores asociados a encinos.

Especie de estudio

Q. castanea Née es una especie de encino incluida en la sección *Lobatae* (encinos rojos) del subgénero *Quercus* (Nixon, 1993). En una revisión taxonómica reciente del género *Quercus* en México, Valencia (2004) reportó que esta especie se encuentra presente en más de 15 estados de la República Mexicana, por lo que puede ser considerada como una especie de amplia distribución geográfica en nuestro país. Pero su distribución no sólo se restringe al territorio nacional, se extiende hasta Guatemala y El Salvador (Valencia, 2004). Al mismo tiempo, esta especie es un elemento dominante del dosel de los bosques donde habita y constituye el hábitat de diferentes especies de plantas epífitas, artrópodos, pequeños mamíferos y aves. Los atributos antes mencionados sugieren que esta especie puede ser considerada como especie fundadora (Ellison et al., 2005).

La época de floración de *Q. castanea* es de abril a mayo y fructifica de agosto a diciembre (Valencia, 1995). Se localiza entre los 1180 a 2600 m s.n.m. y se distribuye a través de las cadenas montañosas más importantes de México [Sierra Madre Oriental, Sierra Madre Occidental, Sierra Madre del Sur y Faja Volcánica Transmexicano (FVT); Valencia, 2004]. Esta especie se encuentra en bosques de *Pinus*, *Quercus* y *Pinus-Quercus*, pastizal con matorral xerófilo y bosque mesófilo de montaña. También es frecuente encontrarla en encinares perturbados (Rangel et al., 2002).

Q. castanea es una especie que presenta una considerable variación morfológica a través de su intervalo de distribución en México y probablemente ésta es la razón por la cual 21 taxa

han sido reconocidos como sinónimos de *Q. castanea* (Valencia, 2004). En condiciones alopátridas, esta especie presenta características morfológicas diagnósticas que permiten su identificación. Sin embargo, individuos con morfología foliar atípica son comunes cuando esta especie crece en simpatría con otras especies de encinos rojos, hecho que sugiere que *Q. castanea* esta involucrada en eventos de hibridación con otras especies de encinos rojos, y que este proceso es el responsable de la variación encontrada.

JUSTIFICACIÓN

Aunque existen datos que reportan que los bosques de encino y de pino-encino cubren una extensa área del territorio mexicano, que nuestro país es el principal centro de diversificación del género *Quercus*, del frecuente fenómeno de hibridación que se presenta en este grupo, de que el dosel de los encinos presenta una alta diversidad de flora y fauna asociada, así como de la gran abundancia, amplia distribución geográfica y gama de ambientes donde se desarrolla *Q. castanea*, se desconocen los siguientes aspectos: 1) la influencia de la riqueza de especies de la comunidad local de encinos rojos sobre los niveles de diversidad y estructura genética de *Q. castanea*, 2) si *Q. castanea* está involucrada en eventos de hibridación con las especies de encinos rojos que crecen en simpatría, y 3) si los atributos genéticos de *Q. castanea* tienen influencia sobre la estructura de su comunidad de insectos de endófagos asociados al dosel. Por lo anterior, en este trabajo se plantearon los objetivos que se postulan en el siguiente apartado:

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

El objetivo general de este trabajo es evaluar el efecto de la diversidad y estructura genética de *Quercus castanea* en el Eje Volcánico Transmexicano sobre la estructura de su comunidad de insectos endófagos asociada al dosel.

Por otro lado, los objetivos particulares derivados del anterior, son los siguientes:

1. Evaluar los niveles de diversidad y estructura genética de *Q. castanea* mediante microsatélites nucleares y de cloroplasto.
2. Determinar si el número de especies de encinos rojos que se desarrollan en simpatría con *Q. castanea* modifican su diversidad genética.
3. Determinar si los individuos de *Q. castanea* que crecen en simpatría con otras especies de encinos rojos presentan evidencia genética de hibridación.
4. Caracterizar los niveles de hibridación introgresiva entre *Q. castanea* y especies asociadas.
5. Evaluar si los niveles de hibridación cambian a través del gradiente en la riqueza de especies.
6. Conocer la influencia de los niveles de diversidad genética de *Q. castanea* sobre la riqueza de especies, diversidad de especies e infestación de su comunidad de insectos endófagos asociados al dosel.

Las hipótesis que se pusieron a prueba en este trabajo, son las siguientes:

1. Si la hibridación natural es un evento a través del cual se intercambia material genético entre diferentes especies, se espera que las poblaciones de *Q. castanea* que se desarrollan en simpatría con un mayor número de especies de encinos rojos, presenten mayores niveles de diversidad genética debido a posibles fenómenos de hibridación.
2. Si la hibridación natural es un fenómeno común entre especies de la misma sección dentro del género *Quercus*, se espera que los individuos de *Q. castanea* que habitan en sitios simpátridos con otras especies de encinos rojos, presenten evidencias genéticas de hibridación.
3. Si los hospederos genéticamente más diversos ofrecen una gama más amplia de recursos y condiciones para sus comunidades dependientes, se espera encontrar una relación positiva y significativa entre la diversidad genética de *Q. castanea* y la diversidad de insectos endófagos asociados al dosel.

De acuerdo con lo anterior, este trabajo de tesis incluye tres capítulos, cada uno de los cuales abordará una línea de investigación como se describe a continuación:

Capítulo 1. El objetivo de este capítulo fue caracterizar los patrones de diversidad y estructura genética de *Q. castanea* a través de un gradiente en la riqueza de especies de encinos rojos asociados. Las preguntas particulares de este capítulo fueron las siguientes: 1) ¿la riqueza de especies de encinos rojos creciendo en simpatría con *Q. castanea* modifica positivamente su diversidad genética? y 2) ¿los patrones de diversidad y estructura genética

de *Q. castanea* a través del gradiente de especies asociadas son independientes del tipo de marcador analizado (nuclear vs cloroplasto)? Para contestar estas preguntas se utilizaron 14 primers de microsatélites [seis nucleares (nSSRs) y ocho de cloroplasto (cpSSRs)] en 120 individuos reconocidos morfológicamente como *Q. castanea*, pertenecientes a seis localidades (20 individuos por sitio), en donde el número de especies de encinos rojos asociados varió de cero a cinco. Los resultados mostraron que los niveles de diversidad genética de *Q. castanea* (nuclear y de cloroplasto) incrementan conforme aumenta la riqueza local de encinos rojos. Asimismo, se encontró que los mayores niveles de diferenciación genética se presentan en el genoma de cloroplasto en comparación al genoma nuclear.

Capítulo 2. Los objetivos de este capítulo fueron: 1) determinar si los individuos de *Q. castanea* que crecen en simpatría con otras especies de encinos rojos presentan evidencia genética de hibridación, 2) caracterizar los niveles de hibridación e introgresión entre *Q. castanea* y especies de encinos rojos asociadas, y 3) evaluar si los patrones de hibridación cambian a través del gradiente de riqueza de especies de encinos rojos. Para llevar a cabo lo anterior, se analizaron los mismos individuos del Capítulo I, a excepción de los pertenecientes al sitio con la mayor riqueza local de encinos rojos [(PEH), debido a que en este sitio no se mantiene la composición de la comunidad local de encinos rojos]. Adicionalmente, se incluyó una población alopátrida de cada una de las especies que fueron identificadas coexistiendo con *Q. castanea* en las diferentes poblaciones simpátridas (*Q. crassipes*, *Q. laurina*, *Q. mexicana* y *Q. crassifolia*). Para confirmar la identidad genética de las poblaciones alopátridas y determinar los niveles de hibridación en las diferentes zonas de simpatría, se usaron los seis nSSRs utilizados en el Capítulo I. En total, se

evaluaron 180 individuos, 10 individuos en cada población alopátrida y 20 en cada zona simpátrida. Se encontró que *Q. castanea* está involucrada en eventos de hibridación con *Q. crassipes*, *Q. laurina*, y *Q. crassifolia*. Sin embargo, la ocurrencia, la frecuencia y las proporciones de mezcla de las diferentes combinaciones entre *Q. castanea* y estas especies varían entre sitios. Híbridos entre *Q. castanea* y *Q. mexicana* no fueron encontrados. Finalmente, se encontró que la coexistencia con *Q. castanea* no es una condición suficiente para hibridar con ella.

Capítulo 3. En este capítulo se presenta información detallada del efecto de la diversidad genética de *Q. castanea* sobre su comunidad de insectos endófagos asociados al dosel (insectos formadores de agallas e insectos minadores de hojas). El objetivo de este capítulo fue determinar la influencia de la diversidad genética de *Q. castanea* sobre su comunidad de insectos endófagos asociados al dosel, en términos de riqueza de especies (S), diversidad de especies (H') e infestación. Para caracterizar a la comunidad de insectos endófagos asociados al dosel de *Q. castanea*, se muestrearon los 120 individuos utilizados para los análisis genéticos del Capítulo I. Todas las agallas y minas encontradas en la parte media del dosel fueron colectadas, transportadas y mantenidas en el laboratorio en recipientes plásticos. Los insectos que emergieron fueron fijados en alcohol al 70% e identificados al nivel taxonómico más aproximado. Los resultados mostraron que H' y S de la comunidad de insectos endófagos mostró una relación positiva y significativa con la diversidad genética de la planta hospedera. En contraste, la infestación no mostró respuesta a la genética de la planta hospedera.

CAPITULO I

**Diversidad y estructura genética de *Quercus castanea* (Fagaceae) a través de un
gradiente de riqueza de especies de encinos rojos en Mexico**

Effect of a red oak species gradient on genetic structure and diversity of *Quercus castanea* (Fagaceae) in Mexico

Leticia Valencia-Cuevas · Daniel Piñero ·
Patricia Mussali-Galante · Susana Valencia-Ávalos ·
Efraín Tovar-Sánchez

Received: 15 December 2012 / Revised: 29 October 2013 / Accepted: 8 January 2014
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Abstract Incipient reproductive barriers are a common characteristic of oak species. Disruption of these barriers promotes changes in diversity and genetic structure of the species involved. *Quercus castanea* is a red oak with wide geographic distribution in Mexico, which presents atypically high morphological variability when it occurs in sympatry with other red oak species, suggesting that hybridization may explain the observed variation. We tested if the genetic structure and diversity levels of *Q. castanea* are related to the number of red oak species growing in sympatry. In total, 14 microsatellite (SSRs) primers (six nSSRs and eight cpSSRs) were used in 120 *Q. castanea* individuals (20/site) belonging to six

populations, where the number of red oak species associated varied from zero to five. Results showed a positive and significant relationship between the genetic diversity of *Q. castanea* and the number of red oak species growing in sympatry, regardless of the marker type or the parameter of genetic diversity analyzed. Also, we found a higher genetic differentiation of *Q. castanea* populations using cpSSRs in comparison with nSSRs. Our results suggest that temperate forests with high red oak species richness co-dominated by *Q. castanea* promote the increase in this species genetic diversity. From a conservation perspective, high genetic diversity levels of foundation species such as *Q. castanea* may have positive cascade effects extending to other species in the community.

Communicated by A. Kremer

L. Valencia-Cuevas
Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-181, Delegación Coyoacán, 04510 México, DF, Mexico

D. Piñero
Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Delegación Coyoacán, 04510 México, DF, Mexico

P. Mussali-Galante
Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos CP 62609, Mexico

S. Valencia-Ávalos
Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-181, Delegación Coyoacán, 04510 México, DF, Mexico

E. Tovar-Sánchez (✉)
Departamento de Sistemática y Evolución, Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos CP 62209, México
e-mail: efrain_tovar@uaem.mx

Keywords cpSSRs · nSSRs · Foundation species · Gene flow · Hybridization

Introduction

Patterns of diversity and population genetic structure are determined by the interaction of various factors, some of them related to life history traits and ecological features of species (Hamrick et al. 1992; Duminil et al. 2007), evolutionary history (Petit et al. 2002a, b), and natural (Hewitt 2000; Petit et al. 2003) or anthropogenic disturbances (Heuertz et al. 2004). Accordingly, the balance achieved by a population among these factors determines its particular genetic structure.

A general pattern of temperate tree species is that they have high genetic diversity levels and low genetic differentiation among populations (Hamrick and Godt 1989; Hamrick et al. 1992). This pattern has been explained as the result of long generation times, woody life form, outcrossing mating system, high fecundity, and pollination by wind (Loveless and Hamrick 1984). These features can have influence on the

diversity and population genetic structure through their effects on the mutation–selection balance (Charlesworth et al. 1993), effective population size (Schoen and Brown 1991), and gene flow (Levin 1981).

In particular, the genus *Quercus* is one of the most diversified groups of temperate forest trees of the northern hemisphere (Nixon 1993), with more than 500 species (Govaerts and Frodin 1998) worldwide. Due to their ecological and economic importance (Lowe et al. 2004; Curtu et al. 2007), oaks have been the focus of intensive population genetic research (Guttman and Weight 1989; Petit et al. 1993; Le Corre et al. 1998; Bruschi et al. 2000; Curtu et al. 2007; Grivet et al. 2008). In general, these studies have focused on describing the population levels of variation, structure, and gene flow in European and North American species through the use of molecular markers like isozymes (Guttman and Weight 1989), random amplified polymorphic DNA (Le Corre et al. 1997), amplified fragment length polymorphisms (Mariette et al. 2002), and single sequence repeats from nuclear (nSSRs; Dutech et al. 2005) and chloroplast origin (cpSSRs; Grivet et al. 2008).

In oaks, the nuclear genome (nDNA) is biparentally inherited (Kremer et al. 1991) and the cytoplasmic genome [chloroplast DNA (cpDNA)] is exclusively maternally inherited (Dumolin et al. 1995). In general, high levels of genetic variation within and low levels of genetic differentiation among populations have been documented when using nDNA (Guttman and Weight 1989; Kremer et al. 1991; Kremer and Petit 1993; Bruschi et al. 2000; Lorenzo et al. 2009). In contrast, little variation within populations and a strong structuring between localities has been found using the cpDNA (Kremer et al. 1991; Petit et al. 1993, 2002a, b; Dumolin et al. 1995; Streiff et al. 1998; Grivet et al. 2008).

Another feature of the genus *Quercus* is the high frequency of hybridization and introgression in natural conditions (Spellenberg 1995; Ishida et al. 2003; González-Rodríguez et al. 2004; Tovar-Sánchez and Oyama 2004; Peñaloza-Ramírez et al. 2010). In general, some studies report that particular oak species present differences in the strength of their reproductive barriers that limit the hybridization phenomenon (e.g., *Quercus robur* and *Quercus petraea*; Abadie et al. 2012). However, there are several data that support relatively large values of inter-specific gene flow between oak species in spite of such barriers (Bacilieri et al. 1995; Petit et al. 2004; Jensen et al. 2009; Lepais et al. 2009). Also, genetic analysis of oak hybrid complexes have documented that hybridization favors an increase in genetic diversity levels and genetic differentiation among populations (e.g., González-Rodríguez et al. 2005; Tovar-Sánchez et al. 2008), suggesting that the genetic material introduced by introgression exceeds that which is produced directly by mutation (Anderson 1949).

Also, several studies have shown that the hybridization phenomenon not only depends on the intrinsic characteristics of the species involved but also on the environmental context

(Lamont et al. 2003; Hersch and Roy 2007). Particularly, it has been documented that the habitat condition (Williams and Ehleringer 2000; Williams et al. 2001; Himrane et al. 2004), the geographical localization of the hybrid zone (Tovar-Sánchez and Oyama 2004), the relative abundance of species (Lepais et al. 2009), the different rates of gene flow (Curtu et al. 2007), the establishment and survivorship of hybrid individuals (Valbuena-Carabaña et al. 2007), the reproductive system of hybrids (Lepais and Gerber 2011), or the proportion of conspecific pollen, and the density of individuals available to mating (Lagache et al. 2013) have influence on the levels of hybridization and the direction of the introgression in oaks.

Mexico is considered the center of diversification of the genus *Quercus* (Nixon 1993), including 161 species, out of which 68 % are endemic (Valencia 2004). Of the total, 76 species belong to the section *Lobatae* (red oaks), considering 61 as endemic (Valencia 2004). Recently, genetic structure and diversity patterns have been reported for several Mexican red oak complexes, constituted of two (González-Rodríguez et al. 2005; Tovar-Sánchez et al. 2008) and three (Peñaloza-Ramírez et al. 2010) parental species and their hybrids. However, it is common that oak complexes include more species that probably exchanged genetic material simultaneously (McCauley et al. 2007).

Quercus castanea Neé (*Lobatae*) has wide geographical distribution in Mexico and presents diagnostic morphological characteristics that easily demarcate in allopatric conditions. However, individuals with atypical leaf shapes have been detected when other red oaks species occur in sympatry with *Q. castanea*. Inside sympatric areas, the overlap in the flowering phenology among red oaks is common, favoring the occurrence of the hybridization phenomenon, a fact that may explain the observed variation. This suggests that the increase in the number of red oaks species associated to *Q. castanea* at sites of sympatry will promote an increase of its genetic diversity levels as result of interspecific genetic exchange.

This study aims to characterize the diversity and genetic structure of *Q. castanea* in a gradient of red oak species associated using nSSRs and cpSSRs. Particularly, we addressed the following questions: (1) does the red oak species associated to *Q. castanea* modify positively its genetic diversity and (2) are the genetic structure and diversity patterns of *Q. castanea* through a gradient of red oak species richness independent of the marker type used (nuclear and chloroplast)?

Materials and methods

Study species

Q. castanea is a red oak species that includes trees 5 to 15 m in height and with a trunk diameter of 30–60 cm. These trees can

be recognized easily in the field by its leaf characteristics such as shape (obovate, oblanceolate), underside veins conspicuously elevated and reticulate, margins (with two to five/six short teeth), secondary veins (eight to 12 on each side of the midvein), coloration (grey-greenish), and trichomes (fasciculate sessile). The flowering season is from April to May and fruiting is from August to December (Valencia 1995; Vázquez 2006). It is located between 1,180 and 2,600 m a.s.l., and it distributes along all the major Mexican mountain ranges (Sierra Madre Oriental, Sierra Madre Occidental, Sierra Madre del Sur, and Transmexican Volcanic Belt (TVB); Valencia 2004). It is found frequently in perturbed areas with a xerophytic scrub type of vegetation; it is also localized in mountain cloud forests (Rzedowski and Rzedowski 2001).

Study sites and sampling

The Transmexican Volcanic Belt is an orographic system that traverses the central part of the country in an east–west direction. It is considered the youngest mountain range in Mexico and contains valleys higher than 2,000 m in altitude and the highest mountains in Mexico (Ferrusquía-Villafranca 1998). In order to minimize environmental factors that may modify the genetic variation of *Q. castanea*, we chose six localities with common traits: geological history (all localities belong to TVB, whose formation process began during the Quaternary–Pliocene (Gómez-Tuena et al. 2007)), climate (temperate subhumid), altitude (between 2,400 and 2,550 m), vegetation type (mature oak), and soil type (volcanic origin or derived from igneous and sedimentary rocks). These areas present almost no local disturbance inside the forest because they are under Mexican protection standards. The study sites were Corredor Biológico Ajusco-Chichinautzin (1) and Parque Nacional El Tepozteco (2) in Morelos State, Parque Barranca de Tarango (3) and Parque Ecológico de la Ciudad de México (4) in Mexico City, Parque Las Peñas (5) in Mexico State, and Parque Nacional El Huixteco (6) in Guerrero State (Fig. 1). One allopatric population of *Q. castanea* (population one) and five sympatric stands between *Q. castanea* and other red oaks species were chosen (populations of two to six). The number of associated species to *Q. castanea* in each sympatric locality ranged from one to five (Table 1). Population 6 has three oak species (*Quercus candicans*, *Quercus urbanii*, and *Quercus scytophylla*) that were not present in the other sampled populations (because in field conditions there were no sites with the same species as population 5 plus another different species with canopy co-dominance). The oak species density (individuals/hectare) per sympatric site was Parque Nacional El Tepozteco [*Q. castanea* (56.7), *Quercus crassipes* (44.1)], Parque Ecológico de la Ciudad de México [*Q. castanea* (149.0), *Q. crassipes* (135.2), *Quercus laurina*

(127.9)], Parque Barranca de Tarango [*Q. castanea* (161.6), *Q. crassipes* (120.1), *Q. laurina* (140.4), *Quercus mexicana* (84.0)], Parque Las Peñas [*Q. castanea* (186.7), *Q. crassipes* (150.0), *Q. laurina* (202.2), *Q. mexicana* (133.1), *Quercus crassifolia* (189.7)], and Parque Nacional El Huixteco [*Q. castanea* (366.3), *Q. crassifolia* (381.9), *Q. laurina* (338.2), *Q. candicans* (218.0), *Q. urbanii* (390.3), *Q. scytophylla* (201.1)]. Three transects of 1,000 m in each locality were done, each at 50 m; the nearest individual morphologically recognized as “pure” *Q. castanea* was sampled.

Molecular data

Leaves with no apparent damage were collected from twenty individuals of *Q. castanea* in each study site. Leaf tissue was frozen in liquid nitrogen and transported to the laboratory for DNA extraction. Total DNA was extracted and purified by using the DNAeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA). DNA quantification was done by fluorometric analysis (Eppendorf, Germany), and DNA quality was visualized by comparing the intensity of bands with known standards of lambda DNA on agarose gels at 0.8 %.

Genetic analyses were performed using 14 microsatellite markers. We used six nuclear primers—OC11, OE09, CO8, FO7 (Aldrich et al. 2002), QpZAG110 (Steinkellner et al. 1997), and QpZAG11 (Kampfer et al. 1998)—and eight chloroplast primers—Ccmp3, Ccmp4, Ccmp5, Ccmp41 (Weising and Gardner 1999), Mdt4, Mdt3, Mdt1, and Mcd4 (Deguilloux et al. 2003)—that showed to be polymorphic in *Q. castanea*. PCR reactions were set up as follows: 15 ng of DNA template, 50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl (pH 8.4), 2 mM MgCl₂, 0.13 mM of each dNTP, 25 mM of each primer, and 0.8 U of *Taq* polymerase in a final volume of 15 μl. The reaction conditions were an initial denaturation step at 95 °C for 5 min, followed by 30 cycles at 94 °C for 1 min, 1 min at the appropriate annealing temperature, followed by 30 s at 72 °C, and a final extension at 72 °C for 8 min. Annealing temperature differed for each primer pair: 44 °C for Mdt4 and Mcd4, 46 °C for Mdt3, 48 °C for Ccmp4, Ccmp41, ZAG110, and Mdt1, 50 °C for Ccmp3 and CO8, 53 °C for OC11, ZAG11, and EO9, 58 °C for FO7, and 61 °C for Ccmp5. PCR products were resolved on polyacrylamide gels at 6 % (7 M urea) at 60 W for 3 h in order to determine the polymorphic primers. We measured the length of the amplified microsatellite fragments by running an aliquot of each PCR product on an automatic sequencer ABI 3100 (Applied Biosystems, CA, USA) at 35 W for 80–90 min using gene scan ROX-2500 (Applied Biosystems, CA, USA) as size standard. Alleles were scored using the Gene Mapper ver. 3.7 Software (Applied Biosystems, CA, USA).

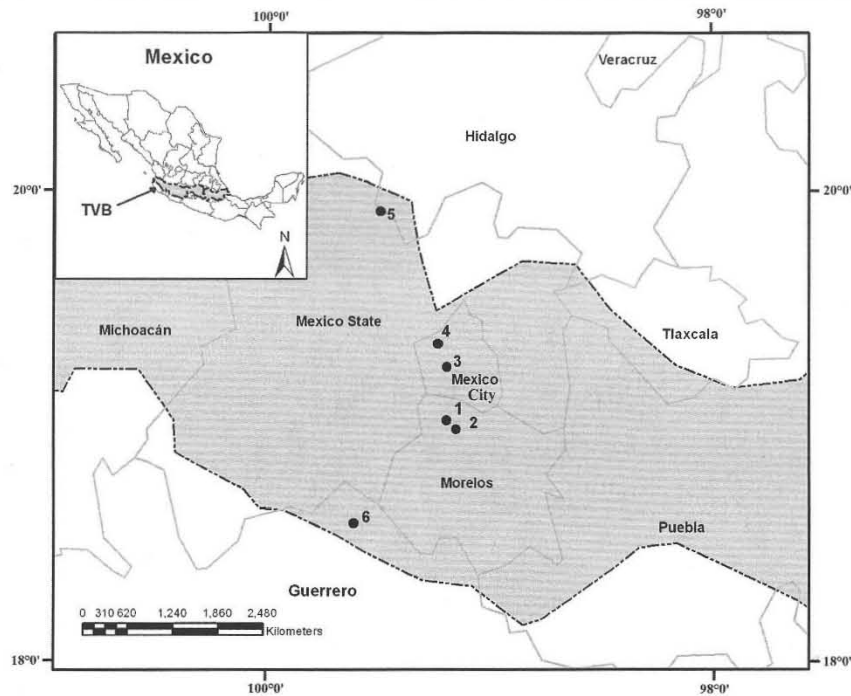


Fig. 1 Map of the sampled populations of *Q. castanea* trough of a red oak species gradient in Mexico. The populations are represented as 1 Corredor Biológico Chichinautzin (*Q. castanea* alopatic stand), 2 Parque Nacional El Tepozteco (*Q. castanea* and *Q. crassipes*), 3 Parque Ecológico de la Ciudad de México (*Q. castanea*, *Q. crassipes*, and

Q. laurina), 4 Parque Barranca de Tarango (*Q. castanea*, *Q. crassipes*, *Q. laurina*, and *Q. mexicana*), 5 Parque las Peñas (*Q. castanea*, *Q. crassipes*, *Q. laurina*, *Q. mexicana*, and *Q. crassifolia*), and 6, Parque Ecológico El Huixteco (*Q. castanea*, *Q. laurina*, *Q. crassifolia*, *Q. candicans*, *Q. urbanii*, and *Q. scytophylla*)

Genetic analysis

We estimated the genetic variation of *Q. castanea* using allele frequencies per locus in each population, using 14 loci (six nSSRs and eight cpSSRs). For cpSSRs, we registered in each population the haplotypic variation, which was estimated using the unbiased genetic diversity following the methods

of Nei (1987), as well as the genetic variation (G_v), number of haplotypes (nh), allelic richness (A), number of private alleles (Ap), and Shannon diversity index (H). For nSSRs, we calculated the genotype number (ng), allelic richness (A), number of private alleles (Ap), and mean expected heterozygosity (He). The analysis was performed with Arlequin v. 3.0 (Excoffier et al. 2005) and Poppene v. 1.31 (Yeh et al.

Table 1 Locality name, state, and number of red oak species associated to *Q. castanea* in the Transmexican Volcanic Belt

| Population number | Locality | State | Oak species |
|-------------------|---|--------------|--|
| 1 | Corredor Biológico Ajusco-Chichinautzin | Morelos | <i>Q. castanea</i> |
| 2 | Parque Nacional El Tepozteco | Morelos | <i>Q. castanea</i> , <i>Q. crassipes</i> |
| 3 | Parque Ecológico de la Ciudad de México | Mexico city | <i>Q. castanea</i> , <i>Q. crassipes</i> , <i>Q. laurina</i> |
| 4 | Parque Barranca de Tarango | Mexico city | <i>Q. castanea</i> , <i>Q. crassipes</i> , <i>Q. laurina</i> , <i>Q. mexicana</i> |
| 5 | Parque Ecológico Las Peñas | Mexico state | <i>Q. castanea</i> , <i>Q. crassipes</i> , <i>Q. laurina</i> , <i>Q. mexicana</i> , <i>Q. crassifolia</i> |
| 6 | Parque Ecológico El Huixteco | Guerrero | <i>Q. castanea</i> , <i>Q. crassifolia</i> , <i>Q. laurina</i> , <i>Q. candicans</i> , <i>Q. urbanii</i> , <i>Q. scytophylla</i> |

1999). This last software was also used to test for homogeneity of allele distributions. Kruskal–Wallis analysis of variance was used to determine differences in genetic diversity indexes (He, H , and Gv) among populations of *Q. castanea*. Thereafter, Tukey test was conducted to determine significant differences between the genetic diversity mean values among populations (Zar 2010).

The genetic structure of *Q. castanea* populations was analyzed with Wright's F -statistics based on differences in allelic frequencies (Weir 1996) and with R_{ST} statistics based on differences in the allele size (Slatkin 1995). R_{ST} assumes a stepwise mutation model in which more similar allele sizes diverged more recently (Hardy et al. 2003). The analysis was performed with Arlequin 3.0 (Excoffier et al. 2005).

To test how genetic variation is partitioned within and among populations of *Q. castanea* at all sites, we used an analysis of molecular variance (10,000 permutations) (AMOVA; Excoffier et al. 1992).

Individual genetic diversity of *Q. castanea* was quantified using the internal relatedness (IR) parameter (Amos et al. 2001) with six nSSRs loci (OC11, OE09, CO8, FO7, QpZAG110, and QpZAG11). IR is based on the relatedness measure of Queller and Goodnight (1989), except that at each locus two alleles, rather than two pairs of alleles, are compared. Over several loci, the resulting values are approximately normally distributed and centered on zero, with negative values suggesting relatively outbred individuals and high positive values being suggestive of inbreeding (Garant et al. 2005). IR values were computed using Excel (Microsoft Inc.) macro-written in Visual Basic provided on the William Amos website (<http://www.zoo.cam.ac.uk/zoostaff/meg/amos.htm>; Department of Zoology, Cambridge University, UK). For this study, IR values were multiplied by (-1). Thus, -IR values below zero denote inbred individuals and values above zero denote outbred individuals.

In order to assess the relationship between the genetic diversity and species richness of the oak community associated to *Q. castanea*, regression analyses were done (Zar 2010). All statistical analyses were done with Statistica 8.0 (StatSoft 2007).

Results

All the microsatellite loci used were polymorphic considering the 120 individuals of *Q. castanea*. For nSSRs, we found 55 alleles (from eight to 12 alleles per locus) and 42 genotypes. On the other hand, with cpSSRs loci, we registered 25 alleles (ranging from six to nine alleles per locus) and 21 haplotypes. The test for homogeneity of allele distribution was highly significant ($P < 0.001$) for all 14 loci (Markov chain Monte Carlo variation of Fisher's exact test; Raymond and Rousset 1995). *Q. castanea* populations shared alleles among them at

all loci. There were numerous private alleles ($N=30$), but all presented low frequency (mean frequency=0.032).

In general, when analyzing both genomes, sympatric populations with the highest number of red oak species associated to *Q. castanea* presented the highest levels of expected heterozygosity (He), Shannon diversity index (H), and genetic variation (Gv) in comparison with the allopatric zone (Table 2). Kruskal–Wallis analysis of variance showed significant differences in the genetic diversity parameters analyzed (He: $H=27.43$, $P < 0.001$; H : $H=12.31$, $P < 0.001$, and Gv: $H=17.98$, $P < 0.001$) among *Q. castanea* populations. In general, the Tukey test showed that genetic diversity (He, H , and Gv) differed significantly among the analyzed populations, being higher in populations with the greatest number of red oak species associated to *Q. castanea* (Table 2).

Genetic differentiation among populations

Chloroplast microsatellites showed four to five times more genetic differentiation (R_{ST} and F_{ST}) in comparison with nuclear microsatellites (Table 2). The analysis of molecular variance with the infinite allele model (IAM) using nSSRs showed that the fixation index was statistically significant for *Q. castanea* (0.134). The highest variation was registered within populations (86.6 %) and the remaining (13.4 %) among them. Also, the AMOVA with the stepwise mutational model (SMM) showed that the fixation index was statistically significant for *Q. castanea* (0.195).

On the other hand, the analysis of molecular variance with IAM using cpSSRs showed that the fixation index was statistically significant for *Q. castanea* (0.663). Also, the molecular analysis of variance with SMM showed that the fixation index was statistically significant for *Q. castanea* (0.735).

Relationship between the genetic diversity of *Q. castanea* and the gradient of associated red oak species

Allelic richness (A) vs. number of private alleles (A_p) ($r=0.91$, $P < 0.05$) and number of genotypes (ng) vs. average expected heterozygosity (He) ($r=0.91$, $P < 0.01$) obtained with nuclear markers were correlated among them. In order to assess the relationship between genetic diversity and the species richness of the oak community associated to *Q. castanea*, regression analyses were done only with A_p , He, and -IR variables. On the other hand, Shannon diversity (H) vs. allelic richness (A) ($r=0.83$, $P < 0.05$), number of haplotypes (nh) vs. genetic diversity (Gv) ($r=0.86$, $P < 0.05$), and H vs. Gv ($r=0.82$, $P < 0.05$) variables obtained with chloroplast markers were correlated among them. In order to assess the relationship between genetic diversity and species richness of the oak community associated to *Q. castanea*, regression analyses were done only with H and A_p variables.

Table 2 Diversity and genetic structure in six Mexican populations of the red oak *Q. castanea* using 14 microsatellites loci (six nuclear and eight chloroplasts). The same letters show that the mean values for each locality did not differ at $\alpha=0.05$ after a multiple-comparison test (see abbreviation of localities in Table 1)

| Population | <i>N</i> | No. of loci | <i>ng</i> | <i>nh</i> | <i>A</i> | PA | <i>He</i> | <i>H</i> | <i>Gv</i> | IAM, <i>F_{ST}</i> | SMM, <i>R_{ST}</i> |
|------------|----------|-------------|-----------|-----------|----------|-----|-----------|----------|-----------|----------------------------|----------------------------|
| nSSR | | | | | | | | | | | |
| 1 | 20 | 6 | 8 | | 7 | 1 | 0.621 a | | | | |
| 2 | 20 | 6 | 6 | | 8 | 1 | 0.611 a | | | | |
| 3 | 20 | 6 | 11 | | 9 | 3 | 0.832 b | | | | |
| 4 | 20 | 6 | 9 | | 12 | 2 | 0.765 c | | | | |
| 5 | 20 | 6 | 13 | | 11 | 4 | 0.870 d | | | | |
| 6 | 20 | 6 | 17 | | 10 | 5 | 0.873 d | | | | |
| Mean | | | | | 9.5 | 2.7 | 0.762 | | | 0.134* | 0.195* |
| cpSSR | | | | | | | | | | | |
| 1 | 20 | 8 | | 6 | 6 | 0 | 0.413 a | 0.304 a | | | |
| 2 | 20 | 8 | | 5 | 7 | 1 | 0.587 b | 0.417 b | | | |
| 3 | 20 | 8 | | 13 | 7 | 1 | 0.561 b | 0.523 c | | | |
| 4 | 20 | 8 | | 9 | 8 | 3 | 0.537 c | 0.582 d | | | |
| 5 | 20 | 8 | | 15 | 9 | 4 | 1.096 d | 0.644 c | | | |
| 6 | 20 | 8 | | 18 | 9 | 3 | 1.114 d | 0.702 e | | | |
| Mean | | | | | 7.6 | 2.0 | 0.718 | 0.545 | | 0.663* | 0.735* |

N number of individuals, *nSSR* nuclear simple sequence repeats or microsatellites, *cpSSR* chloroplast simple sequence repeats or microsatellites, *ng* number of genotypes, *A* allelic richness, *H* number of private alleles, *nh* number of haplotypes, *He* expected heterozygosity, *H* Shannon index, *Gv* genetic variation, *R_{ST}* and *F_{ST}* genetic differentiation, IAM infinite allele model, SMM stepwise mutation model

Internal relatedness, an index of individual genetic diversity, showed that in sympatric sites with the greatest number of red oak species associated to *Q. castanea*, its genetic diversity increased significantly ($r^2=0.13$, $P\leq 0.001$; Fig. 2). Similarly, nuclear and chloroplast genetic diversity at the population level showed a positive and significant relationship with the number of red oak species growing in sympatry with *Q. castanea* (nDNA *He*: $r^2=0.70$, $P=0.02$; Ap: $r^2=0.77$; $P=0.02$; cpDNA *H*: $r^2=0.69$; $P=0.04$; Ap: $r^2=0.78$; $P=0.02$; Fig. 2).

Discussion

In the present study, we analyzed the influence of the local red oak community richness on genetic variation of a focal red oak species, which could be involved in hybridization events. In general, there are few such studies in oak natural populations. Our results support the proposed hypothesis by documenting a positive and significant relationship between genetic diversity of *Q. castanea* and the number of red oak species growing in sympatry. This last result is independent of the estimated parameter of genetic diversity (*H*, *He*, Ap and -IR) and of the marker type (cpSSRs or nSSRs).

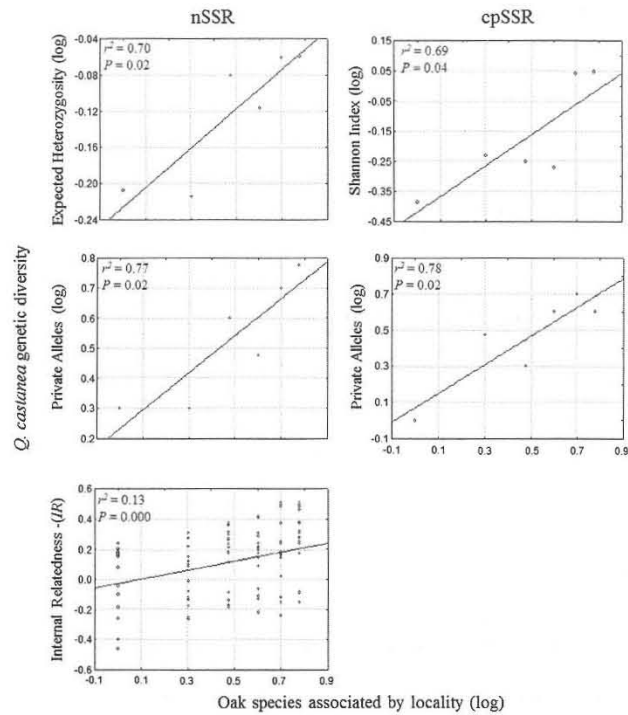
We found that -IR at the individual level revealed an array of genotypes, where a significant increase of heterozygous genotypes across the gradient ($\chi^2=15.6$, d.f. = 5, $P<0.05$) was observed. Simultaneously, at the population level, an increase

in heterozygosity, allelic richness, shared alleles, and private alleles was registered as the number of species increases. Similar results were obtained by Sánchez-Ortiz (2012) in a gradient of white oak species associated to *Q. glabrescens* (section: *Quercus*) in Mexico. These results suggest that interspecific hybridization where *Q. castanea* is directly involved as one of the parental species might be responsible for the increase in genetic diversity levels of the sympatric populations of this species.

Our results are in accordance with Peñaloza-Ramírez (2011), who reported that the greatest genetic variation of *Q. castanea* in Mexico is observed at the TVB. The authors suggest that the origin and maintenance of such levels of genetic diversity may be the result of interspecific hybridization, a common event between red oak species in this particular zone. The TVB is considered a center of diversity for oak species (Nixon 1993), probably because it has acted as a natural bridge between other biogeographic provinces, facilitating the contact between isolated species and favoring their diversification (González-Rodríguez et al. 2004; Tovar-Sánchez et al. 2008; Peñaloza-Ramírez et al. 2010).

In particular, the populations that registered the highest genetic diversity indexes (populations 5 and 6, with four and five associated species to *Q. castanea*, respectively) independently of the marker type used (cpSSRs or nSSRs) showed the highest number (eight) of private alleles. This suggests that novel genetic variants that are specific to the sympatric

Fig. 2 Relationship between genetic diversity of *Q. castanea* and a gradient of associated red oak species, based on He, H, Ap, and IR. Populations are presented in accordance to Table 1



populations of *Q. castanea* may have arisen from introgressive hybridization processes. When related species grow in sympatry, genes from one species may be added to the gene pool of the other by introgressive hybridization. So, introgressive individuals should exhibit alleles of both parental species as well as new single and multilocus genotypes (Rieseberg and Wendell 1993). This hypothesis is supported by the findings in other hybrid zones. For example, Burgarella et al. (2009) and Lorenzo et al. (2009) reported that the *Quercus suber* population with the highest number of private alleles (eight from 58) registered the highest levels of introgression with *Quercus ilex* using nSSRs. Similar findings have been described for the complex *Pinus montezumae* × *Pinus pseudostrobus* (Delgado and Piñero 2002) and for *Quercus kelloggii*, *Quercus agrifolia*, *Quercus wislizeni*, and *Quercus parvula* (Dodd and Kashani 2003).

In addition, the higher number of nuclear alleles shared in the sympatric areas as compared with allopatric populations that we found is a result that suggests that the hybridization phenomenon is stimulating an increase of shared alleles. Our data are consistent with the results reported in hybrid

populations of *Quercus liaotungensis* and *Quercus mongolica* (Zeng et al. 2010) and *Q. suber* and *Q. ilex* (Lumaret and Jabbour-Zahab 2009) at the nuclear level. The authors mentioned that, inside sympatric areas, there are individuals that possess at least one allele of the opposite species in their nSSR multilocus genome as a result of introgressive hybridization.

In this context, it has been documented that various species that grow in sympatry with *Q. castanea* (*Q. affinis*, *Q. crassifolia*, *Q. crassipes*, and *Q. laurina*) show introgressive hybridization patterns, for example, *Q. laurina* × *Q. affinis* (González-Rodríguez et al. 2004) and *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* (Tovar-Sánchez and Oyama 2004). Moreover, these four species along with *Q. mexicana* may probably form a syngameon (Valencia 1994). Subsequently, field observations suggested that *Q. castanea* could be part of this syngameon (personal communication, S. Valencia). This scenario suggests that morphological variation in *Q. castanea* populations can be promoted by introgressive hybridization.

Commonly, in oaks, it has been reported that backcrosses between hybrids and parental species can lead to the recovery of one of the parental species types by recurrent backcrosses

with the same parental species (Rieseberg and Carney 1998; Buggs 2007). Such later-generation backcrosses can display pure parental phenotypes but still contain introgressed genes from the other parental species. Under this perspective, it is possible that some of our morphologically pure trees are admixed trees. In order to determine which individuals of *Q. castanea* possess an admixed genotype, we are analyzing the population structure in our sample using a Bayesian analysis implemented in the program STRUCTURE (data not shown). We suppose that the presence of admixed trees that are the result of the combination between *Q. castanea* and the other red oak genomes in the sympatric populations is the factor that promotes the increase in genetic diversity of *Q. castanea* through the gradient in the red oak species richness.

In general, it has been suggested that the hybrid frequency differs among areas according to the intensity of the sample (Lepais et al. 2009). In consequence, hybridization rates based on non-exhaustive sampling should thus be taken with caution. One advantage of our sampling design is that we sampled the same proportion of individuals at different sites, a fact that takes this potential bias into account.

Another advantage in our experimental design was that we only sampled trees that were morphologically recognized as "pure" individuals of *Q. castanea* in all the analyzed populations. This strategy was useful to reduce the possibility to sample hybrid individuals between the different red oak species that co-exist with *Q. castanea* in each of the study location but that not involve it directly as one of the parental species. Therefore, we suppose that our genetic diversity estimates would not be influenced by these hybrids with different ancestry.

On the other hand, our results showed that the gradient of associated species to *Q. castanea* explained from 69 % (*H*) to 77 % (*He*) of the observed genetic diversity. These results suggest two possibilities: First, mixed/sympatric zones are not necessarily the result of hybridization between *Q. castanea* and all other red oak species associated. Second, levels of hybridization and the direction of the introgression vary along their geographical distribution. For interspecific gene flow to take place, in addition to a geographical species overlap (Belahbib et al. 2001; Valbuena-Carabaña et al. 2005), an overlap of the flowering period is necessary. This last trait in wind-pollinated oaks permits an increase of multi-species pollen which may favor the occurrence of heterospecific crosses (Lepais et al. 2009). Moreover, the influence of species composition in each locality should not be discarded when analyzing the hybridization phenomenon; although this influence would be small, it may promote an increase in genetic diversity or still maintain it. Most of the literature on oak hybridization suggests that introgression rates vary in extent and direction with species identity (Jiménez et al. 2004; Curtu et al. 2007; Lepais et al. 2009). In this study,

population 6 had three oak species (*Q. candicans*, *Q. urbanii*, and *Q. scytophylla*) that were not present in the other sampled populations. Under this scenario, it is probably that some species may be more prone to hybridize with *Q. castanea* than others. However, we considered that the influence of the species composition on our results should be small because the increase in *Q. castanea* genetic diversity was still maintained.

In addition, it has been documented that the habitat condition (Williams and Ehleringer 2000; Williams et al. 2001; Himrane et al. 2004), the geographical localization of the hybrid zone (Tovar-Sánchez and Oyama 2004), and the relative abundance of species (Lepais et al. 2009) have influenced the levels of hybridization and the direction of the introgression. For example, Valbuena-Carabaña et al. (2007) found that 6 to 22 % of the hybridization between *Q. petraea* and *Q. pyrenaica* depends on the environmental conditions at the site. Also, Curtu et al. (2007) acknowledged that 2 to 16 % of the hybridization rate depends on the parental pair of the species analyzed (*Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*, and *Q. frainetto*). Hence, the levels of hybridization are influenced by the genetic affinity between species as a result of phylogenetic distances (Jiménez et al. 2004), different rates of gene flow (Curtu et al. 2007), the establishment and survivorship of hybrid individuals (Valbuena-Carabaña et al. 2007), the reproductive system of hybrids (Lepais and Gerber 2011), or the proportion of cone-specific pollen and density of individuals available to mating (Lagache et al. 2013).

The genetic structure of *Q. castanea* populations revealed that the highest levels of nuclear genetic diversity were contained within populations despite the mutational model analyzed ($F_{ST}=0.134$, $R_{ST}=0.195$). In contrast, when we analyzed maternally inherited genomes, the highest genetic diversity was contained among populations ($F_{ST}=0.663$, $R_{ST}=0.735$). This pattern is supported by the results obtained by Petit et al. (2005), who analyzed 103 genera belonging to 52 families of gymnosperms and angiosperms and found a mean genetic differentiation (G_{ST}) of 0.163 for nuclear and 0.655 for the chloroplast genomes. This pattern remains only when the gymnosperms are used for the analysis ($nG_{ST}=0.184$, $cpG_{ST}=0.637$). Moreover, our genetic differentiation results are similar to those reported for other oak species, like *Quercus agrifolia* ($nF_{ST}=0.23$; $cpF_{ST}=0.94$) in USA (Dodds et al. 2008), *Q. lobatae* ($nF_{ST}=0.052$; $cpF_{ST}=0.805$) in USA (Grivet et al. 2008), and *Q. glabrescens* ($nF_{ST}=0.097$, $nR_{ST}=0.213$; $cpF_{ST}=0.354$, $cpR_{ST}=0.597$) in Mexico (Sánchez-Ortiz 2012). These results are in accordance to the mechanism of inheritance of both genomes, to the differences in dispersal efficiency, and to the effective population size (Ducoussou et al. 1993; Schaal et al. 1998; Streiff et al. 1998; Petit et al. 2005).

In oak species, nDNA is biparentally inherited and disperses through pollen and seeds, while the cpDNA is maternally inherited and disperses only through seeds. It has been

documented that pollen from oaks can be potentially dispersed by wind from 7 to 199 km (Ducouso et al. 1993; Lahtinen et al. 1996). In contrast, oak seeds can be dispersed by gravity from 1 to 2 m and, in some cases, from 50 to 150 m by small rodents (Dumolin et al. 1995; Streiff et al. 1998) and from 1 to 5 km by some birds (Ducouso et al. 1993). Based on this attributes, Ennos (1994) estimated that gene flow through pollen in oaks is 200 times more important than through seeds. Moreover, the effective population size of a haploid genome (cpDNA) is two times smaller than the nuclear genome for monoic species (Echt et al. 1998; Schaal et al. 1998). Thus, we can understand the significant differences in the quantity of genetic variation and how it is spatially distributed between the nuclear and chloroplast genomes in this particular group of trees (Ennos 1994).

Q. castanea is a species with characteristics of foundation species (those that structure a community by creating locally stable conditions for other species and by modulating and stabilizing fundamental ecosystem processes; Ellison et al. 2005) besides presenting a wide geographical distribution and being a dominant element of Mexican temperate forests. Our results demonstrated a significant increase in genetic diversity levels in *Q. castanea* populations as the red oak species richness increases. Hence, we suggest that *Q. castanea* populations with high genetic diversity levels will have positive consequences that may extend to all of their dependent communities. Beneficial effects of high genetic diversity levels of foundation species that hybridize, like *Eucalyptus*, *Populus*, *Quercus*, and *Salix*, have been detected on microbial, fungi, arthropod, and plant-dependent communities as well as ecosystemic processes (Driebe and Whitham 2000; Bailey et al. 2004, 2005; Wimp et al. 2004; Bangert et al. 2005; Iason et al. 2005; Tovar-Sánchez and Oyama 2006; Adams et al. 2011).

The aforementioned studies provide a basis for the preservation of genetic diversity not only at the species level but also at higher levels of biological organization such as the community level (Wimp et al. 2004). Due to the key role that foundation species play in the structuring and functioning of their dependent communities (Bangert et al. 2005; Ellison et al. 2005; Whitham et al. 2006), it has been proposed that the conservation of their genetic diversity is equal to the conservation of the genetic pool of rare species or at risk of extinction (Wimp et al. 2004). Under this perspective, some authors have suggested to assign a new conservation status to these species as well as strategies to protect the mechanisms that maintain their genetic diversity (Wimp et al. 2004; Whitham et al. 2006).

In this sense, this study highlights how the conservation of temperate forests with high red oak species richness, dominated by *Q. castanea*, may be a useful strategy to maintain the genetic diversity of this foundation species. Also, it is necessary that conservation strategies towards oak forests, where *Q. castanea* is present, consider the use of appropriate genetic

resources that maximize its genetic diversity (e.g., reintroduction of local germoplasm from different red oak species). Finally, our study illustrates the importance of considering the genetic information to develop effective management and conservation strategies in order to maintain the genetic diversity of foundation species and, in consequence, the biodiversity of temperate forests.

Acknowledgments The authors thank Gabriel Flores, Mauricio Mora, Efraín Ramírez, and Guillermo Sánchez for their help with field collections and Guadalupe Rangel and Laura Marquez for technical assistance. This research was supported by grants from CONACYT-Mexico (61725) to E.T.S. Also, this research was supported by scholarship from CONACYT-SEP Mexico to L.V.C. We also thank the Posgrado en Ciencias Biológicas (UNAM). This paper is a requirement to obtain the Ph.D. of L.V.C.

References

- Abadie P, Roussel G, Dencausse B, Bonet C, Bertocchi E, Louvet JM, Kremer A, Garniere G, Gère P (2012) Strength, diversity and plasticity of postmating reproductive barriers between two hybridizing oak species (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl.). *J Evol Biol* 25:157–173
- Adams RI, Goldberry S, Whitham T, Zinkgraf MS, Dirzo R (2011) Hybridization among tree species correlates positively with understory plant diversity. *Botany* 98:1623–1632
- Aldrich PR, Michler CH, Sun W, Romero-Severson J (2002) Microsatellite markers for northern red oak (Fagaceae: *Quercus rubra*). *Mol Ecol* 2:472–474
- Amos W, Worthington J, Fullard K, Burg TM, Croxalli JP, Bloch D, Coulson T (2001) The influence of parental relatedness on reproductive success. *Proc Roy Soc Lond B* 268:2021–2028
- Anderson E (1949) Introgressive hybridization. Wiley, New York
- Bacilieri R, Ducouso A, Kremer A (1995) Genetic, morphological and phenological differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of Northwest of France. *Silvae Genet* 44:1–10
- Bailey JP, Schweitzer JA, Rehill BJ, Lindroth RL, Martinsen GD, Whitham TG (2004) Beavers as molecular geneticists: a genetic basis to the foraging of an ecosystem engineer. *Ecology* 85:603–608
- Bailey JP, Deckert R, Schweitzer JA, Rehill BJ, Lindroth RL, Gehring C, Whitham TG (2005) Host plant genetics affect hidden ecological players: links among *Populus*, condensed tannins, and fungal endophyte infection. *Can J Bot* 83:356–361
- Bangert JK, Turek RJ, Martinsen GD, Wimp GM, Bailey JK, Whitham TG (2005) Benefits of conservation of plant genetic diversity on arthropod diversity. *Conserv Biol* 19:379–390
- Belahbib N, Pemonge M-H, Ouassou A, Sbay H, Kremer A, Petit RJ (2001) Frequent cytoplasmic exchanges between oaks species that are not closely related: *Quercus suber* and *Q. ilex* in Morocco. *Mol Ecol* 10:2003–2012
- Bruschi P, Vendramin GG, Bussotti F, Grossoni P (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
- Buggs RJA (2007) Empirical study of hybrid zone movement. *Heredity* 99:301–312
- Burgarella C, Lorenzo Z, Jabbour-Zahab R, Lumaret R, Guichoux E, Petit RJ, Soto A, Gill L (2009) Detection of hybrids in nature: application to oaks (*Quercus suber* and *Q. ilex*). *Heredity* 102:442–452

- Charlesworth M, Morgan MT, Charlesworth D (1993) The effect of deleterious mutations on neutral molecular variation. *Genetics* 134:1289–1303
- Curtu AL, Gailing O, Finkeldey R (2007) Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community. *BMC Evol Biol* 7:218–233
- Deguilloux MF, Dumolin-Lapègue S, Gielly L, Grivet D, Petit RJ (2003) A set of primers for the amplification of chloroplast microsatellites in *Quercus*. *Mol Ecol Notes* 3:24–27
- Delgado P, Piñero D (2002) Sistemática filogeográfica y sus aplicaciones a la evolución y conservación de los bosques de coníferas en México: el caso de *Pinus montezumae* y *P. pseudostrobus*. *Acta Universitaria (Guanajuato)* 12:3–19
- Dodd RS, Kashani N (2003) Molecular differentiation and diversity among the California red oaks (Fagaceae; *Quercus* section Lobatae). *Theor Appl Genet* 107:884–892
- Dodd RS, Afzal-Rafii Z, Mayer W (2008) Molecular markers show how pollen and seed dispersal affect population genetic structure in Coast Live Oak (*Quercus agrifolia* Née). In: Standiford RB (ed) Proceedings of the sixth symposium on oak woodlands: today's challenges, tomorrow's opportunities. Pacific Southwest Research Station, Forest Service, US Department of Agriculture, Albany
- Driebe E, Whitham TG (2000) Cottonwood hybridization affects tannin and nitrogen content of leaf litter and alters decomposition. *Oecologia* 123:99–107
- Ducouso A, Michaud H, Lumaret R (1993) Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. *Ann Sci For* 50:91–106
- Duminil J, Fineschi S, Hampe A, Jordano P, Salvini D, Vendramin GG, Petit RJ (2007) Can population genetic structure be predicted from life-history traits? *Am Nat* 169:662–672
- Dumolin S, Demesure B, Petit RJ (1995) Inherence of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theor Appl Genet* 91:1253–1256
- Dutech C, Sork VL, Irwin AJ, Smouse PE, Davis FW (2005) Gene flow and fine-scale genetic structure in a wind-pollinated tree species, *Quercus lobata* (Fagaceae). *Am J Bot* 92:252–261
- Echt CS, DeVerno L, Anzidei M, Vendramin GG (1998) Chloroplast microsatellites reveal population genetic diversity in red pine, *Pinus resinosa* Ait. *Mol Ecol* 7:307–316
- Ellison A, Bank MS, Clinton BD, Colburn EA, Elliott K, Ford CR, Foster DR, Kloppel BD, Knoepp JD, Lovett GM, Mohan J, Orwig DA, Rodenhouse NL, Sobczak WV, Stinson KA, Stone JK, Swan CM, Thompson J, Holle BV, Webster JR (2005) Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Front Ecol Environ* 3:479–486
- Ennos RA (1994) Estimating the relative rates of pollen and seed migration among plant populations. *Heredity* 72:250–259
- Excoffier L, Smouse P, Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: applications to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479–491
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinformatics Online* 1:47–50
- Ferrusquia-Villafranca I (1998) Geología de México: una sinopsis. In: Ramamoorthy TP, Bye R, Lot A, Fa J (eds) Diversidad biológica de México: orígenes y distribución. Universidad Nacional Autónoma de México, México, Instituto de Biología, pp 3–108
- Garant D, Dodson JD, Bernatchez L (2005) Offspring genetic diversity increases fitness of female Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Behav Ecol Sociobiol* 57:240–244
- Gómez-Tuena A, Orozco-Esquivel MT, Ferrari L (2007) Expand igneous petrogenesis of the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Geol Soc Am Spec Pap* 22:129–181
- González-Rodríguez A, Arias DM, Valencia S, Oyama K (2004) Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Quercus laurina* and *Quercus affinis* (Fagaceae), two Mexican red oaks. *Am J Bot* 91:401–409
- González-Rodríguez A, Arias DM, Oyama K (2005) Genetic variation of populations within the *Quercus affinis-Quercus laurina* (Fagaceae) complex analyzed with RAPD markers. *Can J Bot* 83:155–162
- Govaerts R, Frodin DG (1998) World checklist and bibliography of Fagales (Betulaceae, Corylaceae, Fagaceae and Ticodendraceae). Royal Botanic Gardens, Kew
- Grivet D, Sork VL, Westfall RD, Davis FW (2008) Conserving the evolutionary potential of California valley oak (*Quercus lobata* Née): a multivariate approach to conservation planning. *Mol Ecol* 17:139–156
- Guttman SI, Weight LA (1989) Electrophoretic evidence of relationships among *Quercus* (oaks) of eastern North America. *Can J Bot* 67:339–351
- Hamrick JL, Godt MJW (1989) Allozyme diversity in plant species. In: Brown ADH, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS (eds) Plant population genetics, breeding and genetic resources. Sinauer, Sunderland, pp 43–63
- Hamrick JL, Godt MJW, Sherman-Broyles SL (1992) Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forest* 6:95–124
- Hardy OJ, Charbonnel N, Fréville H, Heuertz M (2003) Microsatellite allele sizes: a simple test to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics* 163:1467–1482
- Hersch EI, Roy BA (2007) Context-dependent pollinator behavior: an explanation for patterns of hybridization among three species of Indian paintbrush. *Evolution* 61:111–124
- Heuertz M, Ois Hausman J-F, Hardy OJ, Vendramin GG, Frascaria-Lacoste N, Vekemans X (2004) Nuclear microsatellites reveal contrasting patterns of genetic structure between western and southeastern European populations of the common ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Evolution* 58:976–988
- Hewitt G (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405:907–913
- Himrane H, Camarero JJ, Gil-Pelegrín E (2004) Morphological and ecophysiological variation of the hybrid oak *Quercus subpyrenaica* (*Q. faginea* × *Q. pubescens*). *Trees-Struct Funct* 18:566–575
- Iason GR, Lennon JJ, Pakeman RJ, Thoss V, Beaton JK, Sim DA, Elston DA (2005) Does chemical composition of individual Scots pine trees determine the biodiversity of their associated ground vegetation? *Ecol Lett* 8:364–369
- Ishida TA, Hattori K, Sato H, Kimura MT (2003) Differentiation and hybridization between *Quercus crispula* and *Q. dentata* (Fagaceae): insights from morphological traits, amplified fragment length polymorphism markers, and leafminer composition. *Am J Bot* 90:769–776
- Jensen J, Larsen A, Nielsen LR, Cottrell J (2009) Hybridization between *Quercus robur* and *Q. petraea* in a mixed oak stand in Denmark. *Ann For Sci* 66:1–12
- Jiménez P, López de Heredia U, Collada C, Lorenzo Z, Gil L (2004) High variability of chloroplast DNA in three Mediterranean evergreen oaks indicates complex evolutionary history. *Heredity* 93:510–515
- Kampfer S, Lexer K, Glössl J, Steinkellner H (1998) Characterization of (GA)_n microsatellite loci from *Quercus robur*. *Heredity* 129:183–186
- Kremer A, Petit RJ (1993) Gene diversity in natural populations of oak species. *Ann Sci For* 50:186–202
- Kremer A, Petit R, Zanetto A, Fougère V, Ducouso A, Wagner D, Chauvin C (1991) Nuclear and organelle gene diversity in *Q. robur* and *Q. petraea*. In: Ziehe M, Müller-Starck G (eds)

- Genetic variation of forest tree populations in Europe. Sauerländer, Frankfurt-Am-Main, pp 141–146
- Lagache L, Klein EK, Guichoux E, Petit R (2013) Fine-scale environmental control of hybridization in oaks. *Mol Ecol* 22:423–436
- Lahtinen MJ, Pulkkinen P, Helander ML (1996) Potential gene flow by pollen between English oak (*Quercus robur* L.) stands in Finland. *For Stud* 28:47–50
- Lamont BB, He T, Enright NJ, Krauss SL, Miller BP (2003) Anthropogenic disturbance promotes hybridization between *Banksia* species by altering their biology. *J Evol Biol* 16:551–557
- Le Corre V, Dumolin-Lapègue S, Kremer A (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, Rousset G, Zannetto A, Kremer A (1998) Geographical structure of gene diversity in *Q. petraea* (Matt.) Liebl. III. Patterns of variation identified by geostatistical analysis. *Heredity* 80:464–473
- Lepais O, Gerber S (2011) Reproductive patterns shape introgression dynamics and species succession within the European white oak species complex. *Evolution* 65–1:156–170
- Lepais O, Petit RJ, Guichoux E, Lavabre JE, Alberto F, Kremer A, Gerber S (2009) Species relative abundance and direction of introgression in oaks. *Mol Ecol* 18:2228–2242
- Levin DA (1981) Dispersal versus gene flow in plants. *Ann Mo Bot Gard* 68:233–253
- Lorenzo Z, Burgarella C, López de Heredia U, Lumaret R, Petit RJ, Soto A, Gil L (2009) Relevance of genetics for conservation policies: the case of Minorcan cork oaks. *Ann Bot* 104:1069–1076
- Loveless MD, Hamrick JL (1984) Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann Rev Ecol Syst* 15:65–95
- Lowe A, Harris S, Ashton P (2004) Ecological genetics: design, analysis and application. Blackwell, UK
- Lumaret R, Jabbour-Zahab R (2009) Ancient and current gene flow between two distantly related Mediterranean oak species, *Quercus suber* and *Q. ilex*. *Ann Bot* 104:725–736
- Mariette S, Cottrell J, Csaikl UM, Goicoechea P, König A, Lowe AJ, Van Dam BC, Barreneche T, Bodénès C, Streiff R, Burg K, Groppe K, Munro RC, Taberner H, Kremer A (2002) Comparison of levels of genetic diversity detected with AFLP and microsatellite markers within and among mixed *Q. petraea* (MATT.) Liebl. and *Q. robur* L. stands. *Silvae Genet* 51:72–79
- McCauley RA, Cortés-Palomec AC, Oyama K (2007) Phylogeography and historical gene flow patterns in disjunctive *Quercus* across the Sierra Madre Occidental and Southern Cordillera of Mexico. *Bot Soc Amer Plant Biol*, Chicago. Available at <http://www.2007.botanyconference.org/engine/search/index.php>
- Nei M (1987) Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York
- Nixon KC (1993) The genus *Quercus* in Mexico. In: Nixon KC (ed) Biological diversity of Mexico, origins and distribution. Oxford University Press, New York, pp 447–458
- Peñalzo-Ramírez JM (2011) Filogeografía e hibridación de cuatro especies del género *Quercus* (Fagaceae). Dissertation, Universidad Nacional Autónoma de México
- Peñalzo-Ramírez JM, González-Rodríguez A, Mendoza-Cuenca A, Caron H, Kremer A, Oyama K (2010) Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Ann Bot* 105:389–399
- Petit RJ, Kremer A, Wagner DB (1993) Geographic structure of chloroplast DNA polymorphisms in European oaks. *Theor Appl Genet* 87:122–128
- Petit RJ, Latouche-Hallé C, Pemonge MH, Kremer A (2002a) Chloroplast DNA variation of oaks in France and the influence of forest fragmentation on genetic diversity. *For Ecol Manag* 156:115–129
- Petit RJ, Brewer S, Bordács S, Burg K, Cheddadi R, Coart E, Cotrell J, Csaikl UM, van Dam BC, Deans JD, Espinel S, Fineschi S, Finkeldey R, Glaz I, Goicoechea PG, Jenses JS, König AO, Lowe AJ, Madsen SF, Mátyás G, Munro RC, Popescu F, Slade D, Taberner H, de Vries SMG, Ziegenhagen B, de Beaulieu JL, Kremer A (2002b) Identification of refugia and post-glacial colonization routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *For Ecol Manag* 156:49–74
- Petit RJ, Aguinalde I, de Beaulieu JL, Bittkau C, Brever S, Cheddadi R, Ennos R, Fineschi S, Grivet D, Lascoux M, Mohanty A, Müller-Stack G, Demesure-Musch B, Palmé A, Martín JP, Rendell S, Vendramin G (2003) Glacial refugia: hotspots but no melting pots of genetic diversity. *Science* 300:1563–1565
- Petit RJ, Bodénès C, Ducouso A, Rousset G, Kremer A (2004) Hybridization as a mechanism of invasion in oaks. *New Phytol* 161:151–164
- Petit RJ, Dumnil J, Fineschi S, Hampe A, Salvini D, Vendramin GG (2005) Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Mol Ecol* 14:689–701
- Queller DG, Goodnight KE (1989) Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution* 43:258–275
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (v 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Hered* 89:248–249
- Rieseberg LH, Comey SE (1998) Plant hybridization. *New Phytol* 140:599–624
- Rieseberg LH, Wendell JF (1993) Introgression and its consequences in plants. In: Harrison RG (ed) Hybrid zones and the evolutionary process. Oxford University Press, New York, pp 70–109
- Rzedowski J, Rzedowski GC (2001) Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C., Centro Regional del Bajío. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México
- Sánchez-Ortiz K (2012) Estructura y diversidad genética de *Quercus glabrescens* a través de un gradiente de encinos blancos asociados. BSC dissertation, Universidad Autónoma del Estado de Morelos
- Schaal BA, Hayworth DA, Olsen KM, Rauscher JT, Smith WA (1998) Philogeographic studies in plants: problems and prospects. *Mol Ecol* 7:465–474
- Schoen DJ, Brown DHA (1991) Intraspecific variation in population gene diversity and effective populations size correlates with the mating system in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:4494–4497
- Slatkin M (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139:457–462
- Spellenberg R (1995) On the hybrid nature of *Quercus basaeachicensis* (Fagaceae: Sect. *Quercus*). *Sida* 16:427–437
- Statsoft INC (2007) STATISTICA for windows. Tulsa, USA
- Steinkellner H, Fluch S, Turetscheki E, Lexer C, Streiff R, Kremer A, Burg K, Glöss J (1997) Identification and characterization of (GA/CT)_n microsatellite loci from *Quercus petraea*. *Plant Mol Biol* 33:1093–1096
- Streiff R, Labbe T, Baculieri R, Steinkellner H, Glöss J, Kremer A (1998) Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. assessed with isozymes and microsatellites. *Mol Ecol* 7:317–328
- Tovar-Sánchez E, Oyama K (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
- Tovar-Sánchez E, Oyama K (2006) Effect of hybridization of the *Quercus crassifolia* × *Quercus crassipes* complex on the community structure on endophagous insects. *Oecologia* 147:702–713
- Tovar-Sánchez E, Mussali-Galante P, Esteban-Jiménez R, Piñero D, Arias DM, Dorado O, Oyama K (2008) Chloroplast DNA polymorphism reveals geographic structure and introgression in the *Quercus crassipes* × *Quercus crassifolia* hybrid complex in Mexico. *Botany* 86:228–239
- Valbuena-Carabaña M, González-Matínez SC, Sork VL, Collada C, Soto A, Goicoechea PG (2005) Gene flow and hybridization in a mixed oak forest (*Quercus pyrenaica* Willd. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) in central Spain. *Heredity* 95:457–465

- Valbuena-Carabaña M, González-Martínez SC, Hardy OJ, Gil L (2007) Fine-scale spatial genetic structure in mixed oak stands with different levels of hybridization. *Mol Ecol* 16:1207–1219
- Valencia S (1994) Contribución a la delimitación taxonómica de tres especies del género *Quercus* subgénero *Erythrobalanus*: *Q. laurina* Humboldt et Bonpland, *Q. affinis* Scheidweiler y *Q. ghibsbregthil* Martens et Galeotti. MSc Dissertation, Universidad Nacional Autónoma de México
- Valencia S (1995) Contribución al conocimiento del género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de Guerrero, México. Contribuciones del Herbario de la Facultad de Ciencias No. 1, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Valencia S (2004) Diversidad del género *Quercus* en México. *Bol Soc Bot Méx* 75:33–53
- Vázquez ML (2006) Trichome morphology in selected Mexican red oak species (*Quercus* section *Lobatae*). *Sida* 22:1091–1110
- Weir BS (1996) Genetic data analysis II. Sinauer, Sunderland
- Weising K, Gardner R (1999) A set of conserved PCR primers for the analysis of the simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous. *Genome* 42:9–19
- Whitham TG, Bailey JK, Schweitzer JA, Shuster SM, Bangert RK, LeRoy CJ, Lonsdorf EV, Allan GJ, DiFazio SP, Potts BM, Fischer DC, Gehrig CA, Lindroth RL, Marks JC, Hart SC, Wimp GM, Wooley SC (2006) A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. *Nature* 7:510–523
- Williams DG, Ehleringer JR (2000) Carbon isotope discrimination and water relations of oak hybrid populations in southwestern Utah. *West N Am Nat* 60:121–129
- Williams JH, Williams JB, Howard DJ (2001) Reproductive processes in two oak (*Quercus*) contact zones with different levels of hybridization. *Heredity* 87:680–690
- Wimp GM, Young PW, Woolbright SA, Martinsen GD, Keim P, Whitham TG (2004) Conserving plant genetic diversity for dependent animal communities. *Ecol Lett* 7:776–780
- Yeh FC, Boyle T, Rongcai Y, Ye Z, Xian JM (1999) POPGENE, Version 1.31. A Microsoft Window based freeware for population genetic analysis. University of Alberta, Edmonton
- Zar JH (2010) Biostatistical analysis. Prentice-Hall, Upper Saddle River
- Zeng Y-F, Liao W-J, Petit RJ, Zhang D-Y (2010) Exploring species limits in two closely related Chinese oaks. *PLoS ONE* 5:e15529

CAPITULO II

Hibridación introgresiva de *Quercus castanea* (Fagaceae) a través de un gradiente en la riqueza de especies de encinos rojos

Original Article

Hybridization of *Quercus castanea* (Fagaceae) across a red oak species gradient in Mexico

Leticia Valencia-Cuevas¹, Patricia Mussali-Galante², Daniel Piñero³, Elgar Castillo-Mendoza¹, Guadalupe Rangel-Altamirano², Efraín Tovar-Sánchez^{2*}.

¹ Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-181, Delegación Coyoacán 04510 México, DF, Mexico

² Departamento de Sistemática y Evolución, Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, CP 62209 Cuernavaca, Morelos, Mexico

³ Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Delegación Coyoacán 04510 Mexico, DF, Mexico

* Author for correspondence: (e-mail: efrain_tovar@uaem.mx)

Abstract

Interspecific gene flow between more than two species is a common phenomenon in oaks, which can occur simultaneously among different species, promoting the transfer of genetic material across species boundaries. However, the hybridization dynamics in multispecies hybrid zones remain unknown. In this study we showed the genetic evidence of hybridization and introgression of *Quercus castanea* across a natural gradient of red oak species richness. We analyzed five populations recognized morphologically as *Q. castanea*, one allopatric and four sympatric populations, where the number of red oak species associated to *Q. castanea* ranged from one to four. Also, one allopatric population of each red oak species that occurs in sympatry with *Q. castanea* was chosen as reference population (*Q. crassipes*, *Q. laurina*, *Q. mexicana* and *Q. crassifolia*). In total, six nSSRs were used in 10 and 20 individuals from each allopatric and sympatric populations respectively. Our results showed that allopatric populations formed completely distinct genetic clusters. In sympatric populations, we found evidence of hybridization and introgression among *Q. castanea* and three of its associated red oak species. However, the occurrence and frequency of hybrids between *Q. castanea* and these species varied among stands. Our analyses provide evidence and new insights into hybridization and introgression dynamics within a Mexican red oak species complex, through a focal species, *Q. castanea*.

Key words: Interspecific gene flow · Multispecies hybrid zones · Nuclear microsatellites · Oaks ·

Introduction

Natural hybridization and subsequent introgression are important processes in plant evolution and speciation (Barton 2001; Coyne and Orr 2004). For example, the movement of genes across species boundaries can promote genetic recombination and an increase in genetic diversity levels (Rieseberg 1997), the presence of new lineages (Seehausen 2004), adaptive solutions (Rieseberg et al. 2003), or colonization abilities (Potts and Reid 1988; Petit et al. 2004). In contrast, genetic pollution by alien alleles may disturb the endemism of rare species (Ellstrand and Elam 1993; Arnold 1997; Wolf et al. 2001; López-Caamal et al. 2013). To clarify the direction in which species or populations are driven by natural hybridization is thus important, in order to predict their future status in the context of evolutionary and conservation genetics.

Oaks (*Quercus*) represent good models for hybridization studies, because reproductive barriers between some species appear to be weak (Williams et al. 2001; Abadie et al. 2012; Lagache et al. 2013) and the hybridization phenomena is common. Interspecific gene exchange within this genus has motivated much debate on species concepts, suggesting that the biological species concept is inappropriate for oaks (Burger 1975; Coyne 1994). Also, oaks have played a central role in questions about the importance of introgression in plants evolution (González-Rodríguez et al. 2004; Tovar-Sánchez et al. 2004; Lepais et al. 2009) stimulating discussions on the role of ecological factors that promote or limit hybridization events (Buerkle 2009) and have served as a model in the development of a species concept that rely on ecological criteria (Muller 1952; VanValen 1976). In general, the existence of

plants morphologically and ecologically intermediate between oak species frequently has been explained as the result of interspecific hybridization (Howard et al. 1997; González-Rodríguez et al. 2004; Burgarella et al. 2009; Peñaloza et al. 2010). However, the wide intraspecific variability of leaf and acorn morphology within the genera *Quercus* frequently limits its utility for hybridization diagnosis (Curtu et al. 2007). In recent studies, valuable information to detect and evaluate the level of hybridization and introgression direction has been obtained using genetic markers such as microsatellites, a complementary tool to study hybridization and introgression in oaks (e.g., Valbuena-Carabaña et al. 2005; Curtu et al. 2007; Burgarella et al. 2009; Lepais et al. 2009; Peñaloza-Ramírez et al. 2010; Neophytou et al. 2011; Lagache et al. 2013). In general, hybridization has been intensively studied in white oaks (section *Quercus*), however, few studies have examined gene flow in red oaks (section *Lobatae*, Moran et al. 2012). Red oaks are an important part of the North American flora and there is evidence that suggests that species barriers may be weaker than in white oaks (Guttman and Weigt 1989; Kashani and Dodd 2002; Aldrich et al. 2003).

Despite of a high frequency of interespecific gene flow that has been inferred from many combinations in oaks, most of the studies have been carried out in mixed stands consisting of only two parental taxa and their hybrids (e.g., Tovar-Sánchez and Oyama 2004; Valbuena-Carabaña et al. 2005; Albarrán-Lara et al. 2010; Neophytou et al. 2011; Lagache et al. 2013). Nevertheless, other species complexes of simultaneous hybridization among more parental taxa have been studied in nature (Dodd and Afzal-Raffi 2004; Curtu et al. 2007; Lepais et al. 2009; Peñaloza-Ramírez et al. 2010; Moran et al. 2012). As a consequence, the dynamics of gene flow in multispecies hybrid zones are poorly known

(Lepais et al. 2009). Also, the major part of these studies has analyzed the hybridization dynamics in a restricted area.

Recently, rates of hybridization in *Quercus* have been estimated by means of multilocus microsatellite genotypes combined with Bayesian statistical procedures. In these studies the results have been contrasting. For example, a study in three species of Mexican oaks (*Q. hypoleucoides*, *Q. scytophylla* and *Q. sideroxyla*) found that hybrids, including backcrosses and probable triple hybrids, were dominant in the contact zone (Peñaloza-Ramírez et al. 2010). Also, a study in four species of European oaks (*Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pireaica* and *Q. pubescens*) found that the percentage of hybrid individuals ranged from 10.7% to 30.5% in different stands (Lepais et al. 2009). A recent study in four species of American red oaks (*Q. rubra*, *Q. velutina*, *Q. falcata* and *Q. coccinea*) found that the percentage of hybrid individuals was of 20% (Moran et al. 2012). In contrast, other studies have reported lower rates of hybridization. For example, analysis of interspecific gene flow between *Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*, and *Q. frainetto* in Romania showed that level of hybridization varied from 1.7% to 16.2% between species pairs (Curtu et al. 2007). Burgarella et al. (2009) found that the hybrids between two Mediterranean evergreen oaks, *Q. suber* and *Q. ilex*, comprised less than 2% of adults in areas where their ranges overlap. In a study of *Q. virginiana* and *Q. geminata*, two common species in the southeastern United States, 5.5% of adults showed mixed ancestry (Cavender- Bares and Pahlich 2009).

These earlier studies have contributed with important insights into the issue of hybridization in oaks and at the same time show the complexity of this phenomenon. For instance, it has been reported that hybridization not only depends on the intrinsic

characteristics of the species involved, but also on the environmental context. Particularly, it has been documented that habitat conditions (Williams and Ehleringer 2000; Williams et al. 2001; Himrane et al. 2004; Lagache et al. 2013), geographical localization of the hybrid zone (Tovar-Sánchez and Oyama 2004), establishment and survivorship of hybrid individuals (Valbuena-Carabaña et al. 2007), different rates of gene flow (Curtu et al. 2007), relative abundance and identity of species (Lepais et al. 2009), spatial structure of species (Salvini et al. 2009), or proportion of conspecific pollen and the density of individuals available to mating (Lagache et al. 2013) can influence the levels of hybridization and introgression in oaks. Also, recent studies have reported that the reproductive barriers that operate among oak species involved in hybridization events changes between species pair (Curtu et al. 2007; Jensen et al. 2009; Lepais et al. 2009, 2013), depending of which species act as maternal or paternal parental (Boavida et al. 2001; Olrik and Kjaer 2007; Lepais et al. 2013) and in response to environmental variation (Lepais and Gerber 2011; Abadie et al. 2012; Lepais et al. 2013). In consequence, variation in the richness of the local oak community and in ecological and geographical factors among sites could promote differences in the occurrence, types of hybrids and its frequency. A better understanding of the conditions that enable the hybridization process to occur as well as the prediction of when and where hybridization is likely to happen, still today, represents an important research goal (Lepais and Gerber 2011; Lagache et al. 2013).

Mexico is considered the center of diversification of the genus *Quercus* (Nixon 1993), including 161 species, out of which 68 % are endemic to the country (Valencia 2004). Of the total, 76 species belong to the section *Lobatae* (red oaks), considering 61 as endemic (Valencia 2004). Several studies conducted on Mexican red oaks have focused on

hybridization between two (González-Rodríguez et al. 2004; Tovar-Sánchez and Oyama 2004) or three (Peñaloza-Ramírez et al. 2010) species. However, oak species complexes constituted of more species have been described in Mexico (Valencia 1994). The consideration of such multispecies interactions is fundamental in order to understand the dynamics and consequences of hybridization because this is the way that the phenomenon occurs in nature. In this context, the high number of oak species that coexist naturally at different sites added to complex topography, altitude and climatic diversity typical of the temperate forest of Mexico, provides a great opportunity to investigate the dynamics of gene flow in multispecies hybrid zones and how the frequency and types of hybrids vary among forests and ecological settings. *Quercus castanea* is a species that presents a wide geographical distribution and it is a dominant element of Mexican temperate forests. This species presents morphological diagnostic characteristics that easily demarcate in allopatric conditions. However, individuals with atypical leaf shapes have been detected when other red oaks species occur in sympatry with this species. Inside sympatric areas, the overlap in flowering phenology among red oaks is common, a fact that suggests that the phenomenon of hybridization may explain the observed variation. In a previous study using 14 microsatellites (SSRs) primers (six nSSRs and eight cpSSRs) we showed that the genetic diversity of *Q. castanea* populations increases as the number of associated red oaks species also increases in sympatric sites (Valencia-Cuevas et al. 2014). We have suggested that this result is the consequence of interspecific genetic exchange.

In this work, we analyzed if interspecific gene flow between *Q. castanea* and its associated species across a natural red oak species gradient occurs. The specific aims of this study were (i) to determine if *Q. castanea* individuals hybridize with other red oaks species that

grow in sympatric stands, (ii) to detect the level of hybridization and introgression between *Q. castanea* and their associated species across the gradient and (iii) to determine the influence that local red oak community richness has on hybridization patterns.

Materials and methods

Species description

Quercus castanea Neé (*Lobatae*: red oaks) includes trees from 5 to 15m in height with a trunk diameter of 30- to 60-cm. These trees can be recognized easily in the field by its leaf characteristics such as shape (obovate, oblanceolate), underside veins conspicuously elevated and reticulate, margins [with 2-5 (6) short aristate teeth], secondary veins (8-12 on each side of the midvein), coloration (grey-greenish), and trichomes (fasciculate sessile). The flowering season is from April to May and fruiting from August to December (Valencia 1995; Vazquez 2006). It is located between 1,180- to 2,600- m a.s.l., and it distributes along all the major Mexican mountain ranges (Sierra Madre Oriental, Sierra Madre Occidental, Sierra Madre del Sur and Transmexican Volcanic Belt; Valencia 2004). It is found frequently in perturbed areas with a xerophytic shrub type of vegetation, it is also localized in mountain cloud forests (Rzedowski and Rzedowski 2001). Also, when other red oaks species occur in sympatry with *Q. castanea* the existence of individuals with atypical leaf shapes have been detected.

The red oak species that were identified coexisting with *Q. castanea* through the species gradient were: *Q. crassifolia* Humb. & Bonpl., *Q. crassipes* Humb. & Bonpl., *Q. laurina* Humb. & Bonpl., and *Q. mexicana* Humb. & Bonpl. (Table 1). All four oak species are broadly distributed in Mexico (Valencia 2004).

Q. crassipes includes trees up to 17 m tall and 0.40-1m in trunk diameter. Leaves are deciduous, coriaceous, narrowly elliptic and lanceolate, their surface is barely lustrous and the lower surface is tomentose, white-grayish and with revolute margins (Rangel et al. 2002). *Q. laurina* includes trees between 10- to 30-m in height with a trunk diameter of 50 cm or more. Leaves are coriaceous, lanceolate or elliptic-ob lanceolate, their surface is green and lustrous. The lower surface is lustrous, slightly yellow with glandular hairs persisting in the axils of the larger veins (Valencia 1994). *Q. mexicana* includes trees between 3- to 15-m in height. Leaves are deciduous, coriaceous, elliptic, lanceolate or oblonge, their surface is dark with stellate hairs scattered like dusty dots (Rangel et al. 2002). *Q. crassifolia* includes large trees up to 23 m in height with a trunk diameter of 1 m. Leaves are deciduous, aristate, ovate, obovate or elliptic, with coriaceous upper surface, the lower surface is yellow tomentose, orange or brown (Rangel et al. 2002).

Study sites and sampling

The Transmexican Volcanic Belt (TVB) is an orographic system that traverses the central part of the country in an east-west direction, whose formation process began during the Quaternary- Pliocene (Gómez-Tuena et al. 2007). It is considered the youngest mountain range in Mexico and contains valleys higher than 2000 m in altitude and the highest mountains in Mexico (Ferrusquía-Villafranca 1998). Its complex topography, altitude and climatic diversity, combined with its geographical position provide a mosaic of environments, habitats and microhabitats for a large number of species (Challenger 1998). Trees recognized morphologically as *Q. castanea* were sampled from five populations (20 trees per site), one allopatric population of *Q. castanea* (population A) and four sympatric

stands between *Q. castanea* and other red oaks species (population 1 to 4, Fig. 1) through the central part of the TVB. The number of associated species with *Q. castanea* in each sympatric locality ranged from one to four (Table 1). These species were: *Q. crassipes* (B), *Q. laurina* (C), *Q. mexicana* (D), and *Q. crassifolia* (E) (Fig. 1). Ten individuals from one allopatric population of each red oak species co-occurring in sympatry with *Q. castanea* were sampled (Table 1). Allopatric and sympatric populations were selected based on typical diagnostic characters of each species. Three transects of 1,000 m in each locality were done. At each 50 m, the nearest individual morphologically recognized as pure from each species was sampled.

Molecular data

Leaves with no apparent damage were collected from ten and twenty individuals from each allopatric (*Q. castanea*, *Q. crassifolia*, *Q. crassipes*, *Q. laurina*, and *Q. mexicana*) and sympatric population, respectively. Leaf tissue was frozen in liquid nitrogen and transported to the laboratory for DNA extraction. Total DNA was extracted and purified by using the DNAeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA). DNA quantification was done by fluorometric analysis (Eppendorf, Germany), and DNA quality was visualized by comparing the intensity of bands with known standards of lambda DNA on agarose gels at 0.8%.

Genetic analyses were performed using six nuclear microsatellite primers (nSSRs): OC11, OE09, CO8, FO7 (Aldrich et al. 2002), QpZAG110 (Steinkellner et al. 1997) and QpZAG11 (Kampfer et al. 1998) that showed to be polymorphic in *Q. castanea*. PCR reactions were set-up as follows: 15 ng of DNA template, 50mM KCl, 20 mM Tris-HCl

(pH 8.4), 2 mM MgCl₂, 0.13 mM of each dNTP, 25 mM of each primer and 0.8 U of *Taq* polymerase, in a final volume of 15 µl. Reaction conditions were an initial denaturation step at 95 °C for 5 min, followed by 30 cycles at 94 °C for 1 min, 1 min at the appropriate annealing temperature, followed by 30 s at 72 °C, and a final extension at 72 °C for 8 min. Annealing temperature differed for each primer pair. 44 °C for ZAG110, 50 °C for CO8, 53 °C for OC11, ZAG11 and EO9, and 58 °C for FO7. PCR products were resolved on polyacrilamide gels at 6 % (7 M urea) at 60 W for 3 h in order to determine the polymorphic primers. We measured the length of the amplified microsatellites fragments by running an aliquot of each PCR product on an automatic sequencer ABI 3100 (Applied Biosystems, CA, USA) at 35 W for 80-90 min, using gene scan ROX-2500 (Applied Biosystems, CA, USA) as size standard. Alleles were scored using the Gene Mapper ver. 3.7 Software (Applied Biosystems, CA, USA).

Statistical analysis

Genetic assignment of allopatric and sympatric populations

To confirm the genetic identity of allopatric pure populations and determine the proportions of ancestry of individuals from sympatric populations, we ran the program STRUCTURE 2.3. (Pritchard et al. 2000) with data obtained from six nSSRs. This program is based on a Bayesian clustering to infer population structure with genotype data. In this analysis, each population is characterized by a set of allele frequencies at each locus. Individuals are probabilistically assigned to *K* populations (species in our case), or to parental populations in the case of admixed ancestry. To determine the optimal number of genetic groups (*K*), we ran STRUCTURE with *K* varying from 1 to 10, with 10 runs for each *K* value, to find

the K value with the highest posterior probabilities. Also, we used the ΔK statistics to evaluate the change in likelihood (Evanno et al. 2005). Our parameters were 50,000 burn-in periods and 100,000 Markov chain Monte Carlo repetitions after burn-in. First, we did the genetic assignment analysis of the individuals of the allopatric populations, using the no admixture model with correlated frequencies without population information. Later, we used the mixed model with correlated frequencies to analyze all sympatric populations, including as reference populations the four red oak species potentially connected by gene flow with *Q. castanea* in each run. We classified each individual using the classification scheme proposed by Vähä and Primmer (2006; e.g. Curtu et al. 2007; Burgarella et al. 2009; Lepais et al. 2009; Ortego and Bonal 2010), in which individuals with assignment coefficient: $Q \geq 0.90$ are considered as a purebred genotype and individuals with $Q < 0.90$ as an hybrid genotype. However, individuals with $Q < 0.90$ for one cluster but $Q < 0.10$ for each of the remaining clusters were supposed to have the majority of their genome from one species without any significant influence from other species, and they were thus also classified as pure species. Introgressed forms are defined as those showing $Q < 0.90$ to belong their own species cluster and > 0.10 probability of belonging to other species clusters. After this analysis, each individual was assigned to one genetic category based on Q value and species genome combination. Output from STRUCTURE was postprocessed for publication using the program DISTRUCT (Rosenberg 2004).

Results

Genetic assignment of allopatric and sympatric populations

In general, these results showed a clear correspondence between species designation and the inferred genetic cluster. According to the values of log likelihood the highest posterior probability was obtained for five genetic clusters: $\ln P(D) = -6007.56$. In consequence, STRUCTURE program determined that five genetic clusters best fit the data, which agrees with the existence of five phenotypically pure species. This result was also confirmed by the ΔK values, indicate that $K = 5$ is the most likely number of genetic groups (Fig. 2). Using the no admixture model in the program STRUCTURE, the allopatric reference populations had a high proportion of ancestry ($Q > 0.9$) from a single genetic group (Fig. 3).

Considering a threshold value of 0.90 to classify each individual as purebred or hybrid genotypes the genetic analyses of 80 trees recognized as *Q. castanea* across four sympatric populations, revealed the presence of 15 hybrid individuals (18.75 % of the total of individuals analyzed) with indications of genetic introgression between *Q. castanea* and three of four associated red oak species (Fig. 3). An exception were the PNT population (Table 1), where *Q. castanea* is coexisting with *Q. crassipes*, but we did not found individuals that showed a significant contribution of *Q. crassipes* or other genetic group, being practically a pure population. In PECM population, where *Q. castanea* coexists with *Q. crassipes* and *Q. laurina*, only the first species contributed to the *Q. castanea* genetic pool. Specifically, we found five individuals with evidence of admixture between *Q. castanea* and *Q. crassipes* genetic groups (values of Q for *Q. castanea* and *Q. crassipes* respectively: 0.791 and 0.197; 0.297 and 0.692; 0.405 and 0.583; 0.448 and 0.544; 0.502 and 0.490). Similarity in PBT population, we found three individuals showing admixture between *Q. castanea* and *Q. crassipes* genetic groups (values of Q for *Q. castanea* and *Q.*

crassipes respectively: 0.617 and 0.372; 0.729 and 0.255; 0.540 and 0.447) in the PBT population. However, we did not detect hybrids with *Q. laurina* or *Q. mexicana* although both species were present in this site. PLP population had a contribution of *Q. crassipes*, *Q. laurina* and *Q. crassifolia* genetic groups. In this population, *Q. mexicana* was present, but hybrids between this species and *Q. castanea* were not found (Fig. 3). Specifically, we detected seven individuals with indication of introgression, two between *Q. castanea* and *Q. crassipes* (values of *Q* for *Q. castanea* and *Q. crassipes* respectively: 0.738 and 0.255; 0.664 and 0.315), four between *Q. castanea* and *Q. laurina* (values of *Q* for *Q. castanea* and *Q. laurina* respectively: 0.386 and 0.581; 0.580 and 0.409; 0.584 and 0.406; 0.444 and 0.546) and one individual that presents a combination between *Q. castanea*, *Q. crassifolia* and *Q. crassipes* genetic groups (*Q* = 0.422, 0.348, and 0.213, respectively). Finally, one individual from this population, showed high probability of belong to *Q. crassipes* genetic group (*Q* > 0.90) (Fig. 3).

Hybridization frequency and genetic combinations

We found that the occurrence and frequency of the different combinations between *Q. castanea* and red oak species varied among stands (Fig. 4). For example in PNT population, we did not found evidence of a significant contribution of other genetic groups into *Q. castanea* gene pool. In contrast, our analysis detected five *Q. castanea* × *Q. crassipes* hybrids (25%) and fifteen *Q. castanea* genotypes (75%) in PECM population. Similarly, we found three *Q. castanea* × *Q. crassipes* hybrids (15%) and seventeen (85%) *Q. castanea* genotypes in PBT population. Finally, in PEP population four *Q. castanea* × *Q. laurina* (20%), two *Q. castanea* × *Q. crassipes* (10%) and one *Q. castanea* × *Q. crassifolia* × *Q.*

crassipes (5%) hybrids individuals were detected. The rest of the individuals of this last population were *Q. castanea* genotypes (65%).

Discussion

To best of our knowledge, this is the first study that evaluates interspecific gene flow throughout a natural richness gradient of red oak species, using *Q. castanea* as a focal species. This work provides genetic evidence that *Q. castanea* is involved in introgressive hybridization events with *Q. crassipes*, *Q. laurina*, and *Q. crassifolia*, three of the most common red oak species that coexist with *Q. castanea* in the temperate forests of the TVB. In contrast, hybrids between *Q. castanea* and *Q. mexicana* were not found, suggesting that differences in the reproductive barriers between species could be operating. Also, we found that the occurrence, frequency and admixture proportions of the different combinations between *Q. castanea* and red oaks change through the sites, probably due to influences of the variation in ecological factors across sympatric populations. Finally, our results suggest that the increase in the species richness of red oak local community favors the interspecific gene flow among *Q. castanea* and these associated species, however the co-existence of different red oak species with *Q. castanea* in sympatric stands, is not a sufficient condition to hybridize with it. Our analyses provide evidences and new insights into hybridization and introgression dynamics within a Mexican red oak species complex, through a focal species, *Q. castanea*.

Genetic assignment of allopatric populations

The morphological identification of species was supported by genetic analyses based on six nSSRs that identified the same number of genetic groups, which agrees with the number of

taxa involved in this complex. As suggested by Evanno et al. (2005), the intensity of sampling both individuals and markers plays a role in the correct detection of the number of genetic groups. In this sense, studies in closely related European (Valbuena-Carabaña et al. 2005; Curtu et al. 2007; Salvini et al. 2009) and Mexican oaks (Peñaloza-Ramírez et al. 2010) have suggested that five or six microsatellite loci are sufficient to distinguish between pure species. On the other hand, an effect of the partial sampling of individuals on the correct detection of genetic groups has been detected (Evanno et al. 2005). However, in this study, ten individuals were sufficient to correctly assign to a species. This result, suggest that in the allopatric populations that we chose as reference populations, each species remains distinct and that each one has its own degree of genetic cohesiveness (Templeton 1989).

We found that the majority of the individuals from allopatric populations of each red oak species (including *Q. castanea*) were assigned to a single genetic group ($Q > 0.9$), a fact that suggests that these populations have not a significant genetic contribution from other species (Lepais et al. 2009), as a consequence they were useful as reference populations. Nevertheless, though these species are genetically isolated in allopatric conditions, the existence of genetically mixed individuals within phenotypically pure *Q. castanea* populations indicates that the genetic isolation among *Q. castanea* and associated species is not complete.

Genetic evidence of the hybridization of *Q. castanea* across a natural gradient in red oaks

In this study, the Bayesian analysis showed the occurrence of 15 hybrid individuals (18.75 % of the total of individuals analyzed) that showed various degrees of admixture among *Q.*

castanea and three of the four genetic groups involved in this complex, in sympatric populations across a natural gradient of red oak species richness (Fig. 3). These results are congruent with a significant increase in genetic diversity levels in *Q. castanea* populations (H_e) as the red oak species richness increases (Valencia-Cuevas et al. 2014), suggesting that the presence of admixed trees that are the result of the combination between *Q. castanea* and other red oak genomes in the sympatric populations is the factor that promotes the increase in genetic diversity of *Q. castanea*. Similar results were obtained by Sánchez-Ortiz (2012) in a gradient of white oak species associated to *Q. glabrescens* (section *Quercus*) in Mexico. Moreover, the genetic diversity levels (Valencia-Cuevas et al. 2014) showed a positive and significant relationship with the number of hybrid individuals reported in this study ($r = 0.98$; $P < 0.002$). However, it is important to clarify that the co-existence of other red oak species with *Q. castanea* is not a sufficient condition to hybridize with them, because this species did not show genetic evidence of hybridization with other red oak species present in the sympatric sites. Despite this finding, it is clear that the hybridization and introgression events detected in our analysis have been sufficient to increase the genetic diversity levels of *Q. castanea* in sympatric populations as was previously reported (Valencia-Cuevas et al. 2014). Likewise, the genetic exchange that has occurred among *Q. castanea* and three of its associated red oak species suggests that the hybridization has contributed to shape the patterns of atypical foliar morphological variation observed in sympatric populations of this species. Atypical morphological variation has been observed in other studies with oak species that occur in sympatry (González-Rodríguez et al. 2004; Tovar-Sánchez and Oyama 2004; Cavender-Bares and Pahlich 2009; Albarrán-Lara et al. 2010; Peñaloza-Ramírez et al. 2010) and this fact has

been usually interpreted as supporting the hypothesis of interspecific gene flow. In the future, it would be interesting to study the influence of hybridization on morphological features of *Q. castanea*, to test this hypothesis.

In particular, genetic data indicated that the major proportion of hybrid individuals were *Q. castanea* × *Q. crassipes*, and *Q. castanea* × *Q. laurina*. In contrast, hybrid individuals that seem to be an admixture among *Q. castanea* and two parental genomes were scarce. Our analysis only detected one hybrid individual *Q. castanea* × *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* in PLP. Similar results have been reported in a white oak species complex in Europa (Lepais et al. 2009) and in a two red oak species complexes, one in USA (Dodd and Azfal-Raffi 2004) and in Mexico (Peñaloza-Ramírez et al. 2010). This deficit of tri-hybridizations has been explained on the basis that pre-zygotic reproductive barriers are not totally lost in hybrids, a condition that promotes that they remain reproductively isolated from non-parental species. In consequence, high fidelity towards their parental species and the production of numerous backcrosses in both directions results in the recovery of purebreds within a few generations avoiding the complete species mixture in a hybrid swarm (Lepais and Gerber 2011). In spite of this last statement, hybridization involving more than two species seems to happen in natural populations (Lepais et al. 2009; Peñaloza-Ramírez et al. 2010; this study). Kaplan and Fehrer (2007) explain that for a triple hybridization to occur it is required the production of fertile hybrid genotypes between at least two species, and then the crossing between hybrids and a third species, or between hybrids from different species combinations. In this sense, we suppose that this tree-hybrid individual that presented a combination between *Q. castanea*, *Q. crassifolia* and *Q. crassipes* genetic groups can be the result of the cross between a fertile hybrid genotype of *Q. crassipes* × *Q.*

crassifolia and a *Q. castanea* genotype. This last possibility arises because *Q. × dysophylla* Benth. individuals (hybrid between *Q. crassipes* and *Q. crassifolia*; Tovar-Sánchez and Oyama 2004) are coexisting with *Q. castanea* in this locality and probably, a cross among this type of hybrid and *Q. castanea* has been the route of incorporation of *Q. crassifolia* genome into the genetic pool of this last species.

In general, our analysis revealed indications of genetic introgression within phenotypically pure *Q. castanea* populations suggesting that the genetic isolation among *Q. castanea* and its associated species is not complete. However, we did not find that *Q. castanea* individuals were involved in hybridization events with all red oaks in all sympatric localities suggesting that prezygotic barriers may be hindering hybridization events and postzygotic barriers may be affecting the survival and fertility of hybrid individuals between *Q. castanea* and red oaks. We do not have information about the nature and strength of reproductive barriers in *Q. castanea* and the red oak species associated. Nevertheless controlled crossing experiments (Abadie et al. 2012; Lepais et al. 2013) and mating system studies in natural populations (Curtu et al. 2009; Lepais and Gerber 2011) have revealed the existence of post-zygotic and (especially) pre-zygotic barriers between oak species. We suppose that the relative contribution of these two kinds of reproductive isolation together with the ecological context of hybridization have been fundamental in the maintenance of *Q. castanea* identity in the face of interspecific gene flow and they have also determine the outcome of contact between it and its associated red oaks.

Hybridization rate between *Q. castanea* and red oaks across sympatric populations

In general, it has been proposed that the sampling strategy is fundamental to detect hybridization (Evanno et al. 2005; Lepais et al. 2009). Lepais et al. (2009) suggested that

sampling a small proportion of individuals in a stand can lead to an underestimation of hybridization if oaks with typical leaf morphology are preferentially sampled. Nevertheless, the genetic analyses revealed the presence of 15 hybrid individuals with indications of genetic introgression between *Q. castanea* and three of four associated red oak species. Traditionally, hybrid identification relies on morphological intermediacy (Anderson 1949; Wilson 1992). However, since parental and transgressive characters may also appear (Rieseberg and Ellstrand 1993; Rieseberg and Carney 1998) and as natural selection acts on the phenotype (López-Camal et al. 2013), it is well recognized that character expression in hybrids is complex and unpredictable. In oaks it has been reported that backcrosses between hybrids and parental species can lead to the recovery of one of the parental species types by recurrent backcrosses with the same parental species (Rieseberg and Carney 1998; Buggs 2007). Such later generation backcrosses can display pure parental phenotypes but still contain introgressed genes from the other parental species. Thus, morphological characters alone are of limited value in detecting hybridization, and additional genetic data are needed to prove hybrid origin, as was evidenced in the present work. Similarly, we found that an individual morphologically recognized as *Q. castanea* from the PLP population had a high probability to belong to *Q. crassipes* genetic group ($Q > 0.9$). This finding suggests that this is a *Q. crassipes* individual with morphological characteristics of *Q. castanea*, indicating again the importance of the environment in the expression of the genotype.

In particular, the percentage of hybridization between *Q. castanea* and red oak species associated varied from 15 to 35% depending on the stand. These estimations are in accordance with previous studies on oak hybridization. For example, a study with three

stands in Spain detected between 6 and 22% of hybrids between *Q. petraea* and *Q. pyrenaica*, depending on the stand (Valbuena-Carabaña et al. 2007). Also, Lepais et al. (2009) found that the percentage of hybrid individuals ranged from 10.7 to 30.5 % in different stands (*Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pyrenaica* and *Q. pubescens*).

Also, we found that the level of hybridization varies depending of the species combination: 12.6% *Q. castanea* × *Q. crassipes* > 5.1% *Q. castanea* × *Q. laurina* > 1.2% *Q. castanea* × *Q. crassipes* × *Q. carssifolia*, values are similar in comparison with other studies. For example, analysis of interspecific gene flow between *Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*, and *Q. frainetto* in Romania showed that the level of hybridization varied from 1.7 to 16.2% between pairs of species (Curtu et al. 2007). Burgarella et al. (2009) found that the hybrids between two Mediterranean evergreen oaks, *Q. suber* and *Q. ilex*, comprised less than 2% of adults in areas where their ranges overlap. In a study of *Q. virginiana* and *Q. geminata*, two common species in the southeastern United States, 5.5% of adults showed mixed ancestry (Cavender- Bares and Pahlich 2009). Though there are several studies reporting evidence of hybridization between almost all sympatric oak species (Muir et al. 2000; Curtu et al. 2007; Valbuena-Carabaña et al. 2007; Lepais et al. 2009; Peñaloza-Ramírez et al. 2010; Moran et al. 2012), the percentage of hybrids found seems to vary between species pairs and stands investigated. Moreover, heterogeneous patterns of hybridization between the same species pair in different parts of its geographic distribution are not infrequent in oaks (Williams et al. 2001; Curtu et al. 2007; Jensen et al. 2009; Lepais et al. 2009). These differences in admixture rates between species pairs and stands have been explained due to differences in the reproductive barriers among species and environmental variation respectively (Petit et al. 2002; Abadie et al. 2013; Lepais et al.

2013). For example, some studies report that particular oak species present differences in the strength of their reproductive barriers that limit the hybridization phenomenon [e.g., *Q. robur* and *Q. petraea* (Abadie et al. 2012); *Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens* and *Q. pyrenaica* (Lepais et al. 2013)]. There is also evidence of asymmetric cross-compatibility between oak species (Steinhoff 1993), a fact that indicates that the success of hybridization events is preferentially directional and depends on the identity of the species that acted as maternal or paternal donor (e.g., the *Q. petraea* pollen being more successful on the *Q. robur* ovules than the *Q. robur* pollen are on the *Q. petraea* ovules, Olrik and Kjaer, 2007; Lepais et al. 2013). In this context, it is probably that there might be some species more prone to hybridize with *Q. castanea* than others, a fact that might explain in part, the major frequency of *Q. castanea* × *Q. crassipes* hybrids or the absence of *Q. castanea* × *Q. mexicana* hybrids.

One of the most important results found in this work was that the co-existence of other red oak species with *Q. castanea* was not a sufficient condition to hybridize with it. We found that the occurrence and hybridization level between *Q. castanea* and red oaks varied geographically. For example, we did not find hybrids of *Q. castanea* × *Q. crassipes* in PNT or *Q. castanea* × *Q. laurina* in PBT and PECM populations, although *Q. crassipes* was present in the first site and *Q. laurina* was present in the last two sites. Also, both types of hybrids were the most common found in this work. These results acknowledge the importance of local environmental conditions on dynamics of interspecific gene flow between *Q. castanea* and associated red oaks. In this sense, there are several studies that have documented that the levels of hybridization and introgression in oaks varies with habitat conditions (Williams et al. 2001; Himrane et al. 2004; Lagache et al. 2013),

geographic localization of the hybrid zone (Tovar-Sánchez and Oyama 2004), establishment and survivorship of hybrid individuals (Valbuena-Carabaña et al. 2007), different rates of gene flow (Curtu et al. 2007), relative abundance and identity of species (Lepais et al. 2009), spatial structure of species (Salvini et al. 2009), or proportion of conspecific pollen and the density of individuals available to mating (Lagache et al. 2013). Under this context, we suggest that the differences in the occurrence and frequency of hybrids, found in this work could be influenced by the variation in ecological and geographical conditions along our study sites. In order to assess the importance of the ecological and geographical context on hybridization dynamics (Buerkle 2009), it was particularly important in our study design to consider that all the sampled populations were included in the TBV. This orographic system traverses the central part of the country in an east-west direction and it is considered the youngest mountain range in Mexico (Ferrusquía-Villafranca 1998). Also, it is characterized for its complex topography, altitude and climatic diversity, which combined with its geographical position, provide a mosaic of environments, habitats and microhabitats (Challenger 1998). This ecological variation among stands may promote variation in isolating barriers between species (Buerkle and Rieseberg 2001; Lepais et al. 2009, 2013; Abadie et al. 2012). Recent work (Rieseberg and Willis 2007; Lexer and Widmer 2008; Lowry et al. 2008) have concluded that there is large diversity in barrier types and strength in different plant systems, consistently with different numbers, effects or types of genes potentially involved in reproductive isolation. In this context, oaks are not the exception, since recent studies report that several oak species present variation in the degree of reproductive isolation, which has been attributed to the plasticity in the expression of reproductive barriers as a consequence of variation in

ecological conditions across mixed sites (Lepais and Gerber et al. 2011; Abadie et al. 2012; Lepais et al. 2013). A clear example is the contrast in the rate of hybridization that has been reported in different mixed stands of *Q. robur* and *Q. petraea* across Europe (Curtu et al. 2007; Lepais et al. 2009; Jensen et al. 2009). Under this scenario, it is possible that the variation in the occurrence and percentage of hybrids found between *Q. castanea* and red oaks in our different sympatric populations, has been promoted by differences in the expression of reproductive barriers associated to environmental variation that characterize the TVB. Hence, it is likely that environmental variation at the scale of the TVB has led to contrasting expressions of reproductive isolation between *Q. castanea* and associated red oaks as has been suggested for *Q. robur* and *Q. petraea* in Europe (Lepais et al. 2013).

In particular, the fact of that we did not find *Q. castanea* × *Q. mexicana* hybrids in the present study suggest that the reproductive barriers among these pair of species could be stronger than between *Q. castanea* and the other red oaks. However, is important to consider that to sample a small proportion of individuals in a stand can lead to an underestimation of hybridization if individuals with typical leaf morphology are preferentially sampled (Lepais et al. 2009). For example, the last authors revealed that more hybrids were detected in intensively sampled stands, suggesting that the estimated hybridization rates based on limited sampling should be taken with caution. Additional studies that increase the effort of sampling and experiments of controlled crosses between these species can be useful to test this hypothesis.

Special mention deserves the PLP population where more species were coexisting with *Q. castanea*, and where more hybrids were detected and different genetic combinations were

found. This site is a natural protected area that presents an abrupt change in microclimatic conditions combining mesic and xeric settings in a fine geographical scale. This environment has permitted the co-occurrence of *Q. castanea*, *Q. crassipes*, *Q. laurina*, *Q. mexicana* and *Q. crassifolia*, because the first two species have preferences for xeric conditions and the last three for mesic conditions. Under this scenario, it is probably that an increase in multi-species pollen as a result of floral overlapping between *Q. castanea* and red oaks, as consequence of similar environmental conditions and spatial proximity, may favor the occurrence of interspecific crosses (Lepais et al. 2009), promoting hybridization and subsequent introgression in this site. Similarly, several studies at the stand level have reported that hybridization and introgression in oaks may be facilitated when species co-occur in an area with smaller-scale environmental heterogeneity (Curtu et al. 2007; Valbuena-Carabana et al. 2007).

Importance of hybridization on genetic diversity of *Q. castanea*

Recent studies have reported high levels of nDNA and cpDNA diversity of *Q. castanea* populations located in TVB (Acosta 2008; Peñaloza-Ramírez 2011; Herrera-Arroyo et al. 2013; Alvarado-Dávalos 2014; Valencia-Cuevas et al. 2014). The authors suggest that these results can be explained because *Q. castanea* is a species that probably has maintained high levels of gene flow through pollen, efficient dispersion of seeds, large and continuous populations during its evolution and a broad geographic range. Unfortunately, the temperate forests in Mexico are being cleared and fragmented for agriculture, cattle grazing and urban areas (Challenger 1998), a condition that puts under threat the maintenance of genetic diversity (Young et al. 1996; Lowe et al. 2005). Studies have showed that the levels

of genetic diversity of *Q. castanea* are preserved in both, nuclear and chloroplast genomes, in adults and seedling populations of fragmented habitats located in the TVB (Herrera-Arroyo et al. 2013; Alvarado-Dávalos 2014). These results are interesting, because studies on several tree species in fragmented landscapes have reported a reduction in genetic diversity levels, particularly, in recently established individuals in comparison to older individuals due to reduction of gene flow, elevated inbreeding and genetic drift (Young et al. 1996; Lowe et al. 2005). These findings suggest that the fragmentation is not a factor that influences the levels of genetic diversity of *Q. castanea* populations inside the TVB. In contrast, Valencia-Cuevas et al. (2014) found a positive and significant relationship between genetic diversity of *Q. castanea* (nADN and cpADN) and the number of red oak species growing in sympatry with it. These results suggest that interspecific hybridization might be responsible for the increase in genetic diversity levels of the sympatric populations of *Q. castanea*. Using a Bayesian clustering analyses, Alvarado-Dávalos (2014) found three different genetic groups through several *Q. castanea* populations in the TVB, whose proportions change with the fragmentation levels of the population. The author suggests that this condition is a consequence of the reduction in the proportion of conspecific pollen and loss of connectivity among individuals available to mating in the fragmented landscape. Therefore, the gene pool of the individuals in fragmented populations comes from external parents, a fact that promotes the maintenance of the genetic diversity levels of *Q. castanea*. In addition, Valencia (1994) proposed that *Q. castanea* might probably exchange genes with *Q. affinis*, *Q. crassifolia*, *Q. crassipes*, *Q. laurina* and *Q. mexicana*, forming a syngameon. This information along with the data of previous ecological and genetic studies about *Q. castanea* populations within the TVB,

suggest that interspecific gene flow is an important factor that promotes high genetic diversity levels in this red oak species, supporting the hypothesis of introgressive hybridization among *Q. castanea* and its associated red oak species as evidenced in the present study.

Acknowledgements

The authors thank Gabriel Flores, Mauricio Mora, Efraín Ramírez, and Guillermo Sánchez for their help with field collections. We also thank Laura Márquez for technical assistance and Tatiana Cervantes for her help with the red oaks leaves illustrations. This research was supported by grants from CONACYT-Mexico (61725) to E.T.S. Also this research was supported by scholarship from CONACYT-SEP Mexico to L.V.C. We also thank the Posgrado en Ciencias Biológicas (UNAM).

References

Abadie P, Roussel G, Dencausse B, Bonet C, Bertocchi E, Louvet JM, Kremer A, Garniere-Géré P (2012) Strength, diversity and plasticity of postmating reproductive barriers between two hybridizing oak species (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl.). *J Evol Biol* 25: 157–173

Acosta CA (2008) Estructura genética comparada en poblaciones de *Quercus castanea* y *Q. desertícola*, en sitios conservados y perturbados en la Cuenca de Cuitzeo, Michoacán, México. BsSC Dissertation. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México

Albarrán-Lara AL, Mendoza-Cuenca L, Valencia-Avalos S, González-Rodríguez A, Oyama K (2010) Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and introgression between *Quercus magnoliifolia* and *Quercus resinosa* (Fagaceae) through an altitudinal gradient in Mexico. *Int J Plant Sci* 171:310–322

Aldrich PR, Jagtap M, Michler CH, Romero-Severson J (2003) Amplification of North American red oak microsatellite markers in European white oaks and Chinese chestnut. *Silvae Genet* 52:176–179

Aldrich PR, Michler CH, Sun W, Romero-Severson J (2002) Microsatellite markers for northern red oak (Fagaceae: *Quercus rubra*). *Mol Ecol* 2:472–474

Alvarado-Dávalos LG (2014) Evaluación a escala fina de los efectos de un sistema de tala sobre la viabilidad poblacional de *Quercus castanea* en la Cuenca del lago Cuitzeo (Michoacán, México). MsC Dissertation. Universidad Nacional Autónoma de México. Morelia, Michoacán. México

Anderson E (1949) Hybridization of the habitat. *Evolution* 2:1–9

Arnold ML (1997) Natural hybridization and evolution. New York, Oxford University Press

Barton NH (2001) The role of hybridization in evolution. *Mol Ecol* 10:551–568

Boavida LC, Silva JP, Feijó JA (2001) Sexual reproduction in the cork oak (*Quercus suber* L). II. Crossing intra- and interspecific barriers. *Sex Plant Reprod* 14:143–152

Buerkle C (2009) Ecological context shapes hybridization dynamics. *Mol Ecol* 18:2077–2079

- Buerkle CA, Rieseberg LH (2001) Low intraspecific variation for genomic isolation between hybridizing sunflower species. *Evolution* 55:684–691
- Buggs RJA (2007) Empirical study of hybrid zone movement. *Heredity* 99:301–312
- Burgarella C, Lorenzo Z, Jabbour-Zahab R, Lumaret R, Guichoux E, Petit RJ, Soto A, Gil L (2009) Detection of hybrids in nature: application to oaks (*Quercus suber* and *Q. ilex*). *Heredity* 102:442–452
- Burger WC (1975) The species concept in *Quercus*. *Taxon* 24:45–50
- Cavender-Bares J, Pahlich A (2009) Molecular, morphological, and ecological niche differentiation of sympatric sister oak species, *Quercus virginiana* and *Q. geminata* (Fagaceae). *Am J Bot* 96:1690–702
- Challenger A (1998) Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: pasado, presente y futuro. México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad
- Coyne JA (1994) Ernst Mayr and the origin of species. *Evolution* 48:19–30
- Coyne JA, Orr HA (2004) Speciation. Sunderland, Sinauer Associates, Inc
- Curtu AL, Gailing O, Finkeldey R (2007) Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community. *BMC Evol Biol* 7:218
- Curtu AL, Gailing O, Finkeldey R (2009) Patterns of contemporary hybridization inferred from paternity analysis in a four-oak-species forest. *BMC Evol Biol* 9:284

Dodd RS, Afzal-Rafii Z (2004) Selection and dispersal in a multispecies oak hybrid zone. *Evolution* 58:261–269

Ellstrand NC, Elam DR (1993) Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Ann Rev Ecol Syst* 24:217–242

Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611–2620

Ferrusquía-Villafranca I (1998) Geología de México: una sinopsis. In: Ramamoorthy TP, Bye R, Lot A, Fa J (eds) *Diversidad biológica de México: orígenes y distribución*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México

Gómez-Tuena A, Orozco-Esquivel MT, Ferrari L (2007) Expand igneous petrogenesis of 11 the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Geol Soc Am Special Paper* 22:129–181

González-Rodríguez A, Arias DM, Valencia S, Oyama K (2004) Morphological and RAPD analysis of hibridization between *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two mexican red oaks. *Am J Bot* 91:401–409

Guttman SI, Weigt LA (1989) Electrophoretic evidence of relationships among *Quercus* (oaks) of eastern North America. *Can J Bot* 67:339–351

Herrera-Arroyo ML (2013) Efectos de la fragmentación del hábitat en la diversidad y estructura genética de poblaciones de *Quercus castanea* Née, en la cuenca de Cuitzeo, Michoacán. PhD Dissertation. Universidad Nacional Autónoma de México. Morelia, Michoacán. México

Himrane H, Camarero JJ, Gil-Pelegrín E (2004) Morphological and ecophysiological variation of the hybrid oak *Quercus subpyrenaica* (*Q. faginea* × *Q. pubescens*). *Trees* 18:566–575

Howard DJ, Preszler RW, Williams J, Fenchel S, Boecklen WJ (1997) How discrete are oak species? Insights from a hybrid zone between *Quercus grisea* and *Quercus gambelii*. *Evolution* 5:747–755

Jensen J, Larsen A, Nielsen LR, Cottrell J (2009) Hybridization between *Quercus robur* and *Q. petraea* in a mixed oak stand in Denmark. *Ann For Sci* 66:706

Kampfer, S, Lexer K, Glössl J, Steinkellner H (1998) Characterization of (GA)n microsatellite loci from *Quercus robur*. *Hereditas* 129:183–186

Kaplan Z, Fehrer J (2007) Molecular evidence for a natural primary triple hybrid in plants revealed from direct sequencing. *Ann Bot* 99: 1213–1222

Kashani N, Dodd RS (2002) Genetic differentiation of two California red oak species, *Quercus parvula* var. *Shreveii* and *Q. wislizeni*, based on AFLP genetic markers. *USDA For Serv Gen Tech Rep* 184:417–426

Lagache L, Klein EK, Guichoux E, Petit RJ (2013) Fine-scale environmental control of hybridization in oaks. *Mol Ecol* 22:423–436

Lepais O, Gerber S (2011) Reproductive patterns shape introgression dynamics and species succession within the European white oak species complex. *Evolution* 65:156–170

Lepais O, Roussel G, Hubert A, Kremer A, Gerber S (2013) Strength and variability of postmating reproductive isolation barriers between four European white oak species. *Tree Genet Genomes* 9:841–853

Lepais O, Petit RJ, Guichoux E, Lavabre JE, Alberto F, Kremer A, Gerber S (2009) Species relative abundance and direction of introgression in oaks. *Mol Ecol* 18:2228–2242

Lexer C, Widmer A (2008) The genic view of plant speciation: recent progress and emerging questions. *Phil Trans R Soc B: Biol Sci* 363:3023–3036.

López-Caamal A, Mussali-Galante P, Valencia-Cuevas L, Jiménez Ramírez J, Vega Flores K, Tovar-Sánchez E (2013) Transgressive character expression in hybrid zones between the native invasives *Tithonia tubaeformis* and *Tithonia rotundifolia* (Asteraceae) in Mexico. DOI 10.1007/s00606-013-0834-6

Lowe AJ, Boshier D, Ward M, Bacles CF, Navarro C (2005) Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity* 95:255–273

Lowry DB, Modliszewski JL, Wright KM, Wu CA, Willis JH (2008) The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. *Phil Trans R Soc B* 363:3009–3021

Moran EV, Willis J, Clark JS (2012) Genetic evidence for hybridization in red oaks (*Quercus* sect. *Lobatae*, Fagaceae). *Am J Bot* 99:92–100

Muir G, Fleming CC, Schlötterer C (2000) Species status of hybridizing oaks. *Nature* 405:67–90

Muller C. 1952. Ecological control of hybridization in *Quercus*: a factor in the mechanism of evolution. *Evolution* 6:147–161

Neophytou C, Dounavi A, Fink S, Aravanopoulos FA (2011) Interfertile oaks in an island environment: I. High nuclear genetic differentiation and high degree of chloroplast DNA sharing between *Q. alnifolia* and *Q. coccifera* in Cyprus. A multipopulation study. *Eur J For Res* 130:543–555

Nixon KC (1993) Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names. *Ann Sci Forest* 50:25s–34s

Orlik D, Kjær ED (2007) The reproductive success of a *Q. petraea* × *Q. robur* F1-hybrid in back crossing situations. *Ann For Sci* 64:37–46

Ortego J, Bonal R (2010) Natural hybridization between kermes (*Quercus coccifera* L.) and holm oaks (*Q. ilex* L.) revealed by microsatellite markers. *Plant Biol* 12:234–238

Peñaloza-Ramírez JM (2011) Filogeografía e hibridación de cuatro especies del género *Quercus* (Fagaceae) en México. PhD. Dissertation. Universidad Nacional Autónoma de México. Morelia, Michoacán. México

Peñaloza-Ramírez JM, González-Rodríguez A, Mendoza-Cuenca L, Caron H, Kremer A, Oyama K (2010) Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Ann Bot* 105:389–399

Petit RJ, Brewer S, Bordács S, Burg K, Cheddadi R, Coart E, Mcsailkl UM, Van Dam B, Deans JD, Espinel S, Fineschi S, Finkeldey R, Glaz I, Goicochea PG, Jensen JS, König AO, Lowe AJ, Flemming S, Mátyás G, Munro RC, Popescu F, Slade D, Tabbener H, de

- Vries GM, Zeigenhagen B, Beauli JL, Kremer A (2002) Identification of refuge and post-glacial colonization routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *For Ecol Manage* 156:49–74
- Petit RJ, Bodénès C, Ducouso A, Roussel G, Kremer A (2004) Hybridization as a mechanism of invasion in oaks. *New Phytol* 161:151–164
- Potts BM, Reid JB (1988) Hybridization as a dispersal mechanism. *Evolution* 42:1245–1255
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959
- Rangel SR, Zenteno ECR, R., Enríquez MD (2002) El Género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Ann Mo Bot Gard* 89:551–593
- Rieseberg LH (1997) Hybrid origins of plant species. *Ann Rev Ecol Syst* 28:359–389
- Rieseberg LH, Carney SE (1998) Plant hybridization. *New Phytol* 140:599–624
- Rieseberg LH, Willis JH (2007) Plant speciation. *Science* 317:910–914
- Rieseberg LH, Ellstrand NC (1993) What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization. *Crit Rev Plant Sci* 12:213–241
- Rieseberg LH, Raymond O, Rosenthal DM, Lai Z, Livingstone K, Nazakato T, Durphy JL, Schwarzbach AE, Donovan LA, Lexer C (2003) Major ecological transitions in wild sunflowers facilitated by hybridization. *Science* 301:1211–1216

Rosenberg NA (2004) DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Mol Ecol Notes* 4:137–138

Rzedowski J, Rzedowski GC (2001) *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología, A. C., Centro Regional del Bajío. México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad

Salvini D, Bruschi P, Fineschi S, Grossoni P, Kjær ED, Vendramin GG (2009) Natural hybridisation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. within an Italian stand as revealed by microsatellite fingerprinting. *Plant Biol* 11:758–765

Sánchez-Ortiz K (2012) Estructura y diversidad genética de *Quercus glabrescens* a través de un gradiente de encinos blancos asociados. BsSC Dissertation, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México

Seehausen O (2004) Hybridization and adaptive radiation. *Trends Ecol Evol* 19:198–207

Steinhoff S (1993) Results of species hybridization with *Quercus robur* L and *Quercus petraea* (Matt) Liebl. *Ann Sci For* 50:137–143

Steinkellner H, Fluch S, Turetscheki E, Lexer C, Streiff R, Kremer A, Burg K, Glöss J (1997) Identification and characterization of (GA/CT)_n microsatellite loci from *Quercus petraea*. *Plant Mol Biol* 33:1093–1096

Templeton AR (1989). The meaning of species and speciation: a genetic perspective. The units of evolution. In: Otte D, Endler JD (eds) *Speciation and its consequences*. Sunderland, Sinauer Associates, Inc

- Tovar-Sánchez E, Oyama K (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
- Vähä JP, Primmer CR (2006) Efficiency of model based Bayesian methods for detecting hybrid individuals under different hybridization scenarios and with different numbers of loci. *Mol Ecol* 15:63–72
- Valbuena-Carabana M, González-Martínez SC, Hardy OJ, Gil, L (2007) Fine-scale spatial genetic structure in mixed oak stands with different levels of hybridization. *Mol Ecol* 16:1207–1219
- Valbuena-Carabana M, González-Martínez SC, Sork VL, Collada C, Soto A, Goicoechea PG, Gil L (2005) Gene flow and hybridisation in a mixed oak forest (*Quercus pyrenaica* Willd. and *Quercus petraea* (Matts.) Liebl.) in central Spain. *Heredity* 95:457–465
- Valencia S (1994) Contribución a la delimitación taxonómica de tres especies del género *Quercus* subgénero Erythrobalanus: *Q. laurina* Humboldt et Bonpland, *Q. affinis* Scheidweiler y *Q. ghiesbregthil* Martens et Galeotti. MSc Dissertation. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF
- Valencia S (1995) Contribución al conocimiento del género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de Guerrero, México. *Contribuciones del Herbario de la Facultad de Ciencias No. 1*, Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF
- Valencia S (2004) Diversidad del género *Quercus* en México. *Bol Soc Bot Mex* 75:33–53

- Valencia-Cuevas L, Piñero D, Mussali-Galante P, Valencia-Ávalos S, Tovar-Sánchez E (2014) Effect of a red oak species gradient on genetic structure and diversity of *Quercus castanea* (Fagaceae) in Mexico. DOI: 10.1007/s11295-014-0710-8
- Van Valen L (1976) Ecological species, multispecies, and oaks. *Taxon* 25:233–239
- Vazquez ML (2006) Trichome morphology in selected Mexican red oak species (*Quercus* section *Lobatae*). *Sida* 22:1091–1110
- Williams DG, Ehleringer JR (2000) Carbon isotope discrimination and water relations of oak hybrid populations in southwestern Utah. *Western North American Naturalist* 60:121–129
- Williams JH, Boecklen WJ, Howard DJ (2001) Reproductive processes in two oak (*Quercus*) contact zones with different levels of hybridization. *Heredity* 87:680–690
- Wolf DE, Takebayashi N, Rieseberg LH (2001) Predicting the risk of extinction through hybridization. *Conserv Biol* 15:1039–1053
- Wilson P (1992) On inferring hybridity from morphological intermediacy. *Taxon* 41:11–23
- Young A, Boyle T, Brown T (1996) The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends Ecol Evol* 11:413–418

Table legends

Table 1. Locality name, state, and number of red oak species associated to *Quercus castanea* in populations from the Transmexican Volcanic Belt.

Figure legends

Fig. 1 Sampling populations, a) Allopatric populations of red oak species: *Q. castanea* (A), *Q. crassipes* (B), *Q. laurina* (C) *Q. mexicana* (D), *Q. crassifolia* (E), b) Sympatric populations of *Q. castanea* with different red oak species richness. 1= PNT, 2= PECM, 3 =PBT, 4 = PLP. See table 1.

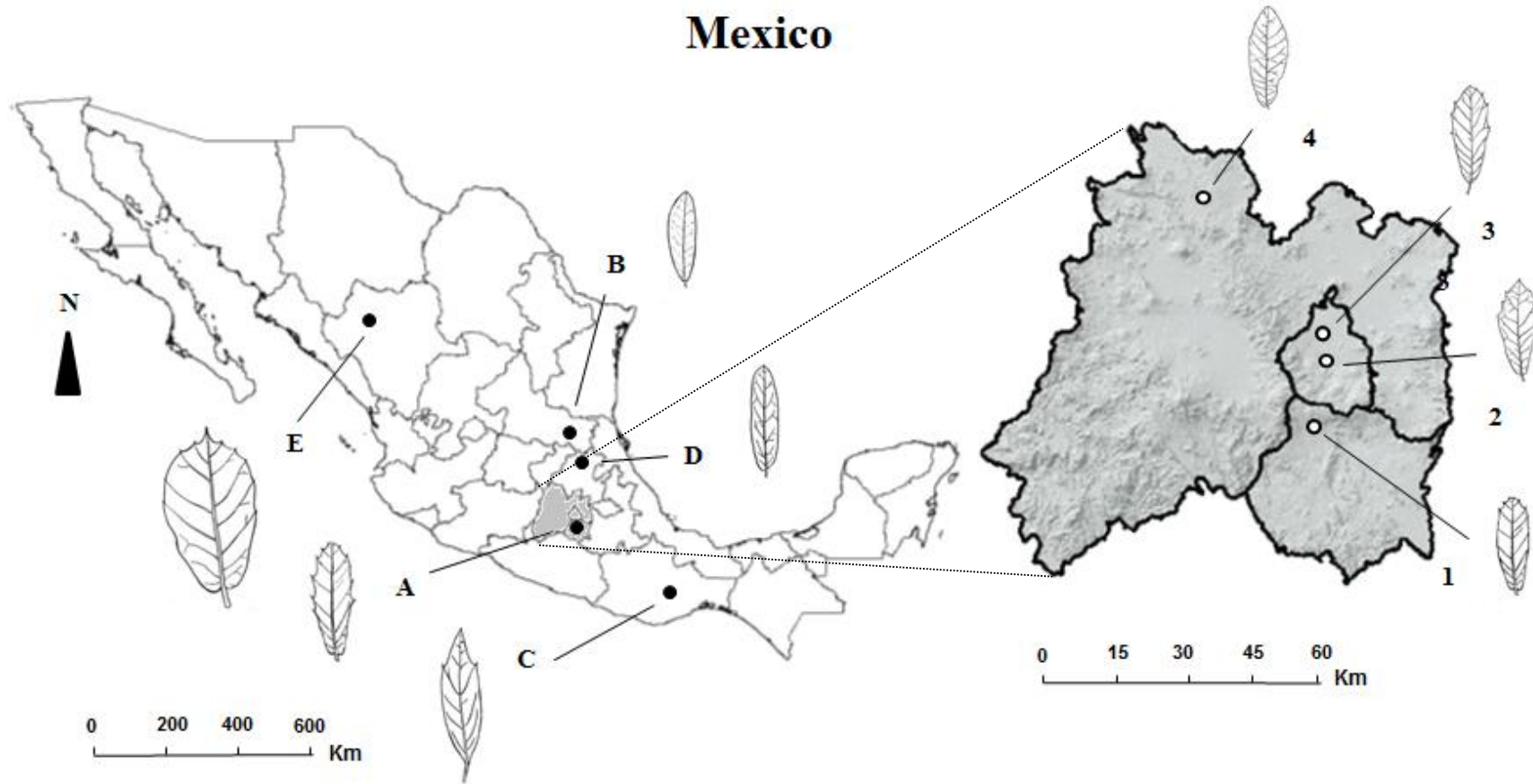
Fig. 2 Estimated genetic groups (K) from STRUCTURE clustering analysis: (a) mean and standard deviation of $\ln P(D)$ for ten independent runs of STRUCTURE and (b) plot of statistics ΔK with respect to genetic clusters K (from 1 to 10). In both cases the peak indicates the most probable number of genetic groups.

Fig. 3 Genetic assignment of five allopatric populations that represent pure species of: *Quercus castanea*, *Q. crassipes*, *Q. laurina*, *Q. mexicana* and *Q. crassifolia* and four sympatric populations based on the analysis of six nSSRs with a Bayesian method implemented in the program STRUCTURE. Each colored horizontal line represents the individual's probability of belonging to the cluster with that color. Values of the proportion of ancestry for each population are given in the table.

Fig. 4 Percentage of the different genetic category observed in each sympatric *Quercus castanea* population. Individuals were assigned to each category (*Q. castanea* pure genotype, *Q. castanea* × *Q. crassipes* hybrid genotype, *Q. castanea* × *Q. laurina* hybrid genotype, *Q. castanea* × *Q. crassifolia* × *Q. crassipes* hybrid genotype), depending on their individual coefficient of admixture derived from STRUCTURE. PNT = Parque Nacional El Tepozteco, PECM = Parque Ecológico de la Ciudad de México, PBT = Parque Barranca de Tarango, PLP = Parque Ecológico Las Peñas.

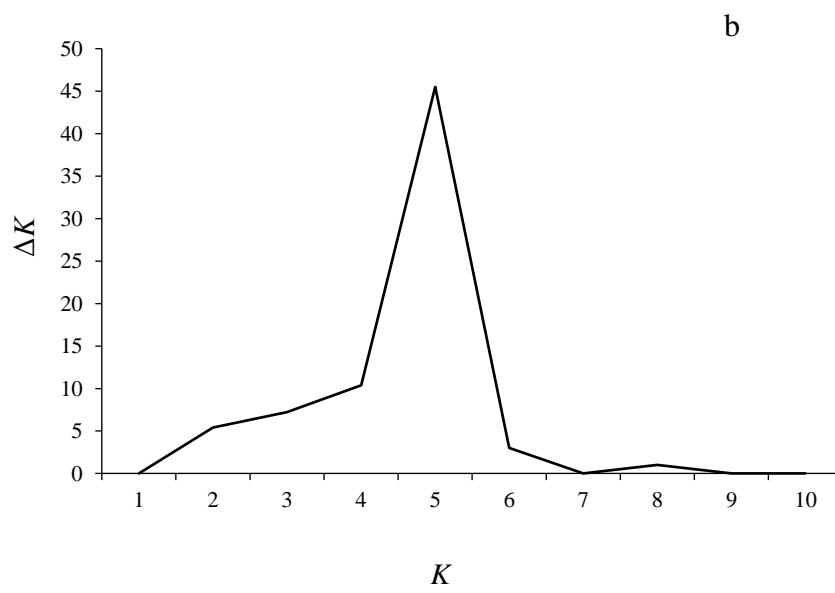
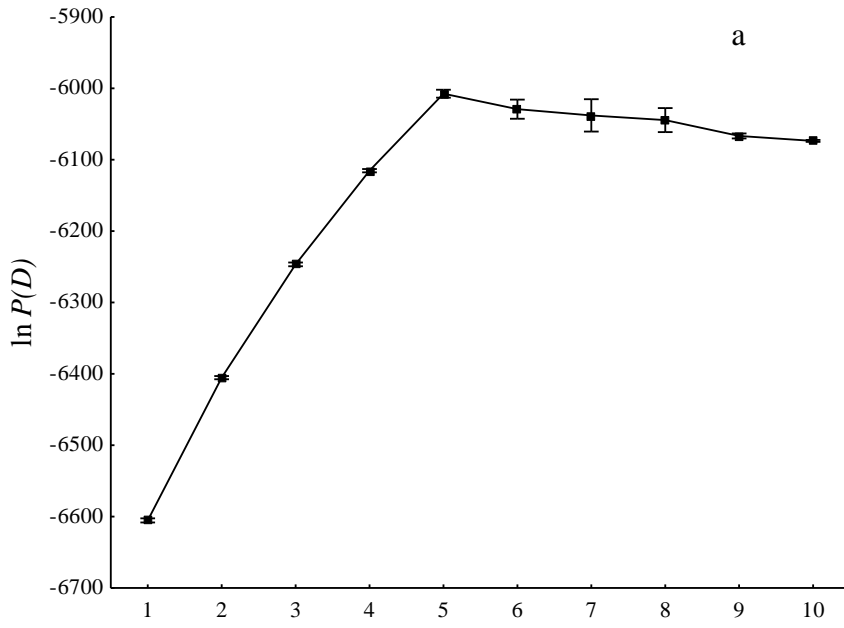
Table 1

| Population | Locality | State | Oak species |
|-------------------------|---|-----------------|---|
| <i>Allopatric stand</i> | | | |
| A | Coajomulco | Morelos | <i>Q. castanea</i> |
| B | Piñón | San Luis Potosí | <i>Q. crassipes</i> |
| C | Xuchitepec | Oaxaca | <i>Q. laurina</i> |
| D | Cuesta Colorada | Hidalgo | <i>Q. mexicana</i> |
| E | Cuesta Blanca | Durango | <i>Q. crassifolia</i> |
| <i>Sympatric stand</i> | | | |
| PNT | Parque Nacional El Tepozteco | Morelos | <i>Q. castanea, Q. crassipes</i> |
| PECM | Parque Ecológico de la Ciudad de México | Mexico city | <i>Q. castanea, Q. crassipes, Q. laurina</i> |
| PBT | Parque Barranca de Tarango | Mexico city | <i>Q. castanea, Q. crassipes, Q. laurina, Q. mexicana</i> |
| PLP | Parque Ecológico Las Peñas | Mexico state | <i>Q. castanea, Q. crassipes, Q. laurina, Q. mexicana, Q. crassifolia</i> |



- Red oaks alopatric stands
- *Q. castanea* sympatric stands

Fig. 1



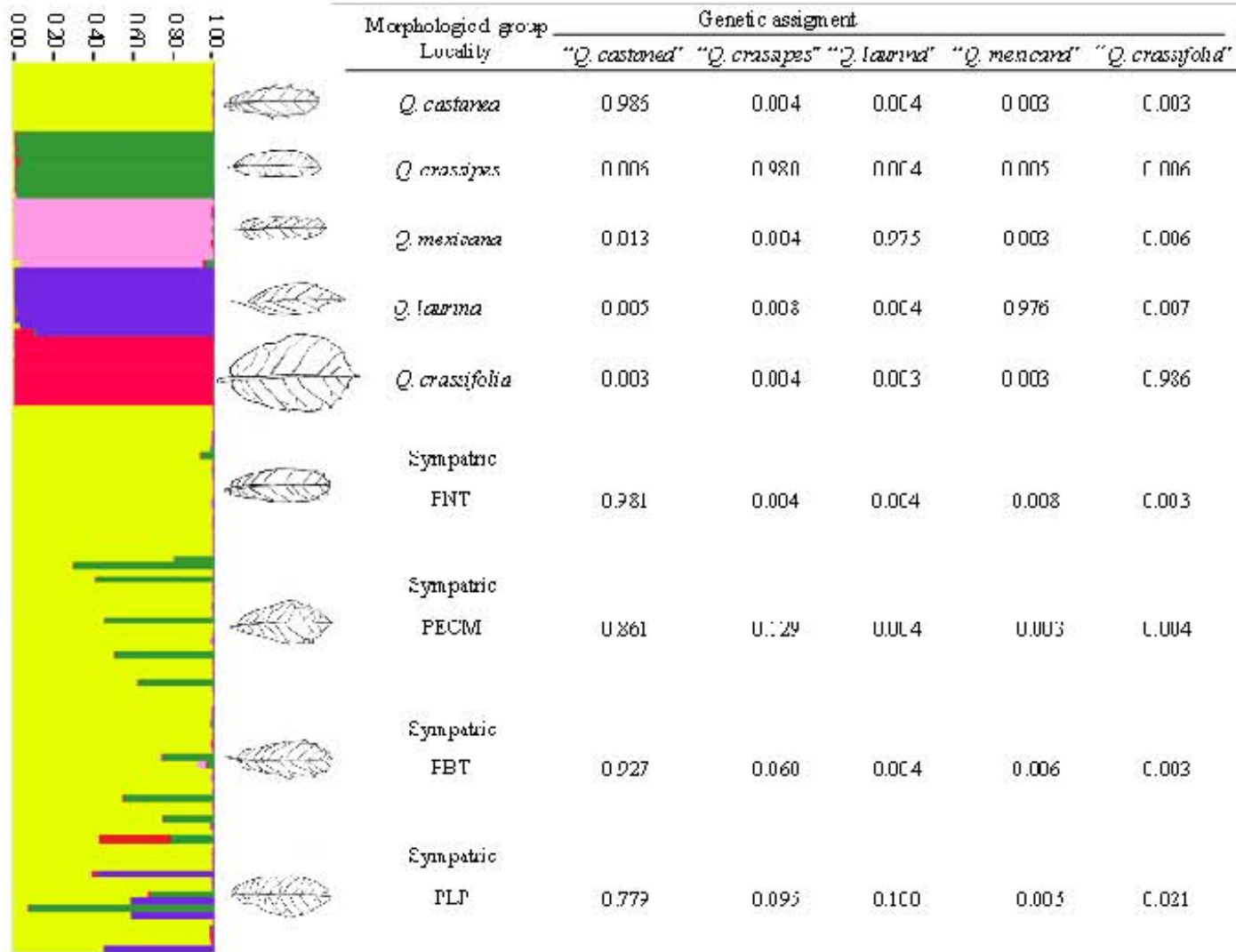


Fig. 3

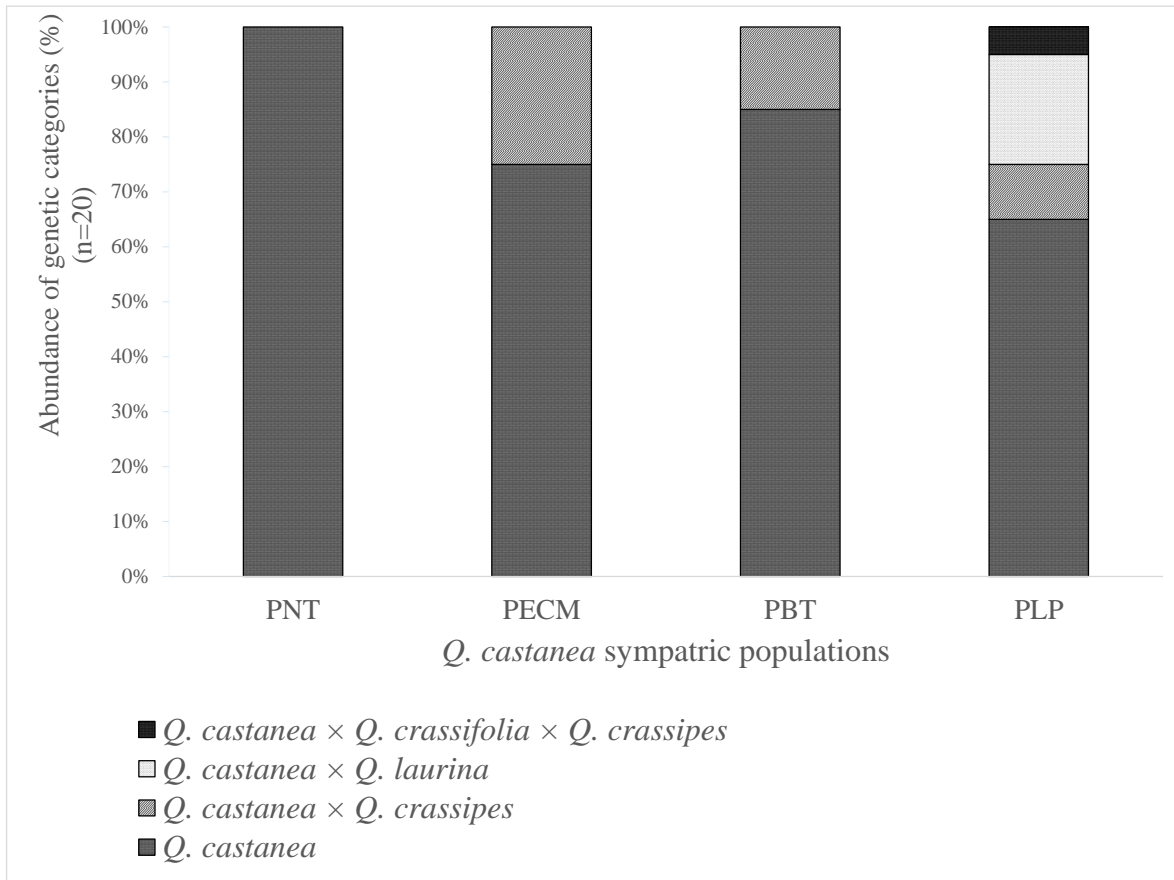


Fig. 4

CAPITULO III

**Efecto de la diversidad genética de *Q. castanea* sobre la comunidad de insectos
endófagos asociados al dosel**

Artículo original

Para ser enviado a Current Zoology en su versión en inglés

Comunidad de insectos endófagos asociados a *Quercus castanea*: examinando los efectos de la diversidad genética de una especie fundadora

Leticia Valencia-Cuevas ¹, Zenón Cano-Santana ², Juli Pujade-Villar ³, Armando Equihua-Martínez A ⁴, Efraín Tovar-Sánchez ⁵

¹ Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-181, Delegación Coyoacán 04510, México, DF.

² Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Delegación Coyoacán 04510, México, DF.

³ Universidad de Barcelona. Facultad de Biología. Departamento de Biología Animal. Av. Diagonal, 645. 08028 Barcelona, España.

⁴ Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados 56230 Montecillo, Texcoco, Estado de México.

⁵ Departamento de Sistemática y Evolución, Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, CP 62209, México.

⁵ Author for correspondence: (e-mail: efrain_tovar@uaem.mx)

Resumen

Diferentes estudios han documentado que la diversidad genética de especies de plantas fundadoras puede tener efectos sobre la estructura y dinámica de sus comunidades asociadas. *Quercus castanea* es una especie con características de especie fundadora que presenta una amplia distribución geográfica y es un elemento dominante del dosel en los bosques templados mexicanos. Estudios previos revelaron que la diversidad genética de *Q. castanea* (microsatélites) se incrementa a través de un gradiente de riqueza de especies de encinos rojos, como resultado de flujo genético interespecífico. El objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de la diversidad genética de *Q. castanea* sobre la estructura de su comunidad de insectos endófagos (insectos formadores de agallas y minadores de hojas) asociados al dosel, en términos de riqueza de especies (S), diversidad (índice de Shannon-Wiener, H') e infestación. En este estudio se muestreó el dosel de 120 individuos de *Q. castanea* pertenecientes a seis poblaciones (20 por sitio) a través de un gradiente de diversidad genética previamente reconocido. En total, 27 especies de insectos endófagos pertenecientes a tres órdenes (Hymenoptera, Lepidoptera y Diptera) fueron identificadas. Una relación positiva y significativa entre la diversidad genética poblacional de *Q. castanea* y H' de la comunidad de insectos endófagos de dosel fue revelada. Un patrón similar fue identificado entre S de la comunidad y la diversidad genética individual de *Q. castanea*. En contraste, el nivel de infestación no mostró respuesta a la diversidad genética de la planta hospedera. Los resultados sugieren que preservar los mecanismos que mantienen la diversidad genética de especies fundadoras, es una estrategia fundamental para mantener la biodiversidad de los bosques.

Palabras clave: encinos rojos, hibridación, infestación, avispa formadora de agallas, insectos minadores de hojas, diversidad de especies.

Introducción

Ellison y colaboradores (2005) propusieron que los árboles de los bosques templados son excelentes candidatos para ser especies fundadoras, debido a que por su arquitectura, características funcionales y fisiológicas definen la estructura del bosque y regulan el microclima. Además, su biomasa y constitución química contribuyen de manera substancial en los procesos a nivel ecosistémico (Ellison et al., 2005). Las especies fundadoras han sido definidas como “aquéllas que estructuran una comunidad al crear condiciones localmente estables para otras especies, y por modular y estabilizar procesos ecosistémicos fundamentales” (Dayton, 1972; Ellison et al., 2005). El énfasis en este tipo de especies, las cuales constituyen un pequeño grupo del total de especies en un ecosistema, es porque diferentes estudios han documentado que sus atributos genéticos pueden revelar fuertes y predecibles efectos sobre las comunidades y ecosistemas (Whitham et al., 2003, 2006). La evidencia reciente indica que las diferencias genéticas dentro de especies fundadoras pueden afectar a las comunidades de artrópodos de dosel (Wimp et al., 2004; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b; Tovar-Sánchez et al., 2013), los microorganismos del suelo (Schweitzer et al., 2008), los invertebrados acuáticos (LeRoy et al., 2006), los hongos micorrízicos (Sthultz et al., 2009) y las plantas del sotobosque (Adams et al., 2011). Asimismo, rasgos ecosistémicos, tales como el reciclaje de nutrientes (Schweitzer et al., 2008), la producción primaria (Crutsinger et al., 2006) y la estabilidad del ecosistema (Keith et al., 2010) son afectados por la genética de las especies fundadoras.

A la fecha, la mayoría de los estudios que han demostrado una base genética de la variación en el fenotipo de la comunidad se han realizado en individuos híbridos de especies

fundadoras (e.g., *Eucalyptus*, Dungey et al., 2000; *Salix*, Hochwender y Fritz, 2004; *Quercus*, Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b) y en genotipos específicos dentro de una especie (e.g., *Oenothera*, Johnson y Agrawal, 2005; *Populus*, Shuster et al., 2006, Schweitzer et al., 2008; *Solidago*, Crutsinger et al., 2007). En contraste, pocos son los estudios que han relacionado alguna medida de diversidad genética con algún parámetro de la estructura de la comunidad (e.g., *Populus*, Wimp et al., 2004; *Quercus*, Tovar-Sánchez et al., 2006b; Tovar-Sánchez et al., 2013).

Los estudios antes mencionados se han realizado bajo condiciones experimentales y en sistemas naturales. En el primer caso, la diversidad genética ha sido manipulada haciendo cruzas controladas entre genotipos de la planta hospedera, colectados de áreas geográficas grandes. Esta estrategia maximiza la variación genética y minimiza la variación ambiental, pues estos estudios se han realizado en jardines experimentales (e.g., Dungey et al., 2000; Hochwender y Fritz, 2004; Bangert et al., 2005; Shuster et al., 2006; Wimp et al., 2007). Sin embargo, se ha sugerido que los resultados de este tipo de estudios no reflejan las consecuencias ecológicas potenciales de diferentes niveles de diversidad genética en poblaciones naturales (Hughes et al., 2008) y pueden sobreestimar la importancia de los atributos genéticos de la planta hospedera para estructurar a las comunidades (Tack et al., 2010, 2011).

En condiciones naturales, la diversidad genética ha sido analizada bajo el supuesto del siguiente gradiente de diversidad genética [parentales < F1 < retrocruzas (Whitham et al., 1994; Wimp et al., 2005, 2007; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b; Adamas et al., 2011)] o medida a nivel poblacional (Wimp et al., 2004; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b; Tovar-

Sánchez et al., 2013) y de planta individual (Tovar-Sánchez et al., 2013). La ventaja de trabajar en sistemas naturales es el realismo y la capacidad de abarcar escalas espaciales y temporales relativamente grandes (Hughes et al., 2008). Sin embargo, en este tipo de estudios es difícil controlar variables asociadas a la ubicación espacial de las plantas hospederas que pueden tener influencia sobre la abundancia, distribución y diversidad de sus especies asociadas (Vellend y Gerber, 2005).

Las comunidades de artrópodos de dosel han sido de las más utilizadas para evaluar la influencia de la diversidad genética de las plantas hospederas sobre sus comunidades asociadas (Hochwender y Fritz, 2004; Wimp et al., 2004, 2007; Bangert et al., 2006; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b; Keith et al., 2010; Tack et al., 2010; Castegneyrol et al., 2012; Tovar-Sánchez et al., 2013). Esta preferencia se debe probablemente a que el dosel es un hábitat que puede delimitarse físicamente y a que sus comunidades de artrópodos son consideradas el componente principal en términos de abundancia y diversidad de especies (Stork y Hammond, 1997). Estimaciones hechas recientemente sugieren que la riqueza promedio global de este grupo es de 2.5 a 3.7 millones de especies (Hamilton et al., 2010). Adicionalmente, los artrópodos desempeñan un papel importante en términos ecológicos pudiendo actuar como polinizadores, presas, parásitos, parasitoides, herbívoros y detritívoros (McIntyre et al., 2001). En particular, la mayoría de los trabajos antes mencionados han incluido insectos endófagos, los cuales son un gremio importante que habita el dosel de los árboles e incluye a los formadores de agallas y minadores de hojas. Este grupo se caracteriza por estar cubierto por los tejidos de las hojas y alimentarse del tejido mesófilo de éstas (Cornell, 1990), además de que son especie, órgano y tejido específicos (Stone, 2002). Este alto grado de especialización y su estrecha relación con la

planta hospedera sugieren que este grupo representa un buen modelo para evaluar la influencia de la genética de la planta hospedera sobre las comunidades asociadas (Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b). Sin embargo, es importante mencionar que comunidades de insectos ectófaos (Tovar-Sánchez et al., 2013), hongos endófitos, micorrizas, plantas epífitas y terrestres, y microorganismos del suelo también han respondido de forma significativa a la genética de las plantas (Whitham et al., 2012).

A nivel de comunidad, las consecuencias ecológicas de la diversidad genética de las plantas hospederas han sido detectadas en parámetros como la riqueza (Duney et al., 2000; Bangert et al., 2005; Bangert et al., 2006, 2008), la composición (Duney et al., 2000; Bangert et al., 2005; Wimp et al., 2005; Bailey et al., 2006) y la diversidad de especies (Wimp et al., 2004; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b; Ferrier et al., 2012; Tovar-Sánchez et al., 2013). En general, los estudios han reportado que la diversidad y riqueza de especies incrementa con el número de genotipos [e. g., diversidad genotípica (Wimp et al., 2005; Johnson et al., 2006; Crutsinger et al., 2006, 2009; Ferrier et al., 2012)], así como con la diversidad genética poblacional (Wimp et al., 2004, 2005, Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b; Tovar-Sánchez et al., 2013) e individual (Tovar-Sánchez et al., 2013) de la planta hospedera. La explicación de este patrón ha sido que el incremento en la diversidad genética de la planta hospedera promueve cambios a nivel morfológico (Lambert et al., 1995; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004), arquitectónico (Martinsen y Whitham, 1994; Whitham et al., 1999; Bangert et al., 2005), fenológico (Hunter, 1997) y químico (Fritz, 1999; Wimp et al., 2004), características que constituyen el abanico de condiciones y recursos que pueden ser explotadas por los herbívoros.

Adicionalmente, se ha sugerido que la diversidad genética de la planta hospedera no sólo tiene impacto directo sobre las comunidades de herbívoros asociados, ya que su influencia puede extenderse indirectamente a los siguientes niveles tróficos, promoviendo un efecto en cascada a través del ecosistema (Whitham et al., 2003; Bailey et al., 2006). Por ejemplo, un incremento en la diversidad genética de la planta hospedera puede promover un incremento en su complejidad arquitectónica y calidad nutricional (Bailey et al., 2004; Glynn et al., 2004), favoreciendo la diversidad y abundancia de herbívoros (Bailey et al., 2006) y, en consecuencia, la intensidad de depredación y el grado de parasitismo (Sarfranz et al., 2008).

En general, los resultados antes mencionados han llevado a proponer que la diversidad genética de la planta hospedera es un factor que debe considerarse en estudios ecológicos, ya que se ha evidenciado que tiene una influencia significativa sobre la abundancia, distribución y diversidad de los miembros de las comunidades asociadas (Johnson, 2011).

Los encinos o robles (*Quercus*, Fagaceae) presentan una alta diversidad a nivel mundial (531 especies, Govaerts y Frodin, 1998). En particular, México contiene 161 especies de las cuales 109 son consideradas endémicas (Valencia, 2004), situación que lo coloca como el centro de diversificación más importante para el género. Una característica común de este grupo de plantas es la alta frecuencia con la que se presenta el fenómeno de hibridación e introgresión en condiciones naturales (e.g., Curtu et al., 2007; Lepais et al., 2009; Peñaloza-Ramírez et al., 2010; Ortego y Bonal, 2010; Moran et al., 2012), característica que ha sido atribuida a barreras reproductivas incipientes entre algunas especies (Bacilieri et al., 1995; Abadie et al., 2012; Lepais et al., 2013). Los análisis genéticos de poblaciones de encinos involucradas en eventos de hibridación han documentado que este proceso favorece el

incremento en sus niveles de diversidad genética (e.g., González-Rodríguez et al., 2005; Tovar-Sánchez et al., 2008; Valencia-Cuevas et al., 2014). Otro hecho importante es que el flujo genético interespecífico en encinos no se limita sólo a un par de especies. En la literatura existen diferentes trabajos que han reportado evidencia genética que indica que en la naturaleza se presentan eventos de hibridación que incluyen de manera simultánea a más de dos especies de encinos (Dodd y Afzal-Rafii, 2004; Curtu et al., 2007; Lepais et al., 2009; Peñaloza-Ramírez et al., 2010; Valencia-Cuevas et al., *datos no publicados*). Los resultados de estos estudios han mostrado que en las zonas híbridas multiespecies se presentan individuos en cuyo genoma existe material genético de diferentes grupos genéticos (e.g., especies), en diferente combinación y proporción.

A pesar de que los encinos constituyen uno de los grupos de árboles y arbustos más importantes de la zonas templadas del Hemisferio Norte (Lowe et al., 2004) y que varias de las especies del género presentan atributos de especie fundadora (Ellison et al., 2005), son pocos los estudios que han analizado la influencia de la diversidad genética de la planta hospedera sobre las comunidades de artrópodos asociados al dosel en encinos. Además, en estos estudios los resultados han sido contrastantes. Por un lado, Tovar-Sánchez y Oyama (2006b) reportaron una relación positiva y significativa entre la diversidad genética poblacional de siete zonas híbridas del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en México y la diversidad de las comunidades de insectos endófagos asociados al dosel. De manera similar, mayores niveles de diversidad, riqueza y densidad de especies fueron encontrados por Tovar-Sánchez et al. (2013) en la comunidad de insectos ectófagos asociados al dosel de plantas genéticamente más diversas de *Q. castanea* y *Q. crassipes* en el centro de México. En contraste, Tack et al. (2010) encontraron que la diversidad genética tiene poca

influencia en la estructura de la comunidad de insectos endófagos (agalleros, minadores y enrolladores de hojas) asociados al dosel de *Q. robur* en Finlandia. Resultados similares fueron reportados por Castegneyrol et al. (2012), quienes encontraron que los atributos genéticos de la planta hospedera (diversidad genética, parentesco e identidad genética) no tuvieron un efecto significativo sobre la estructura de la comunidad de insectos fitófagos (endófagos y ectófagos) asociados al dosel de *Q. robur* en Francia. Los resultados contrastantes en estos trabajos, aunado al escaso número de estudios que han evaluado el efecto de la diversidad genética de las especies de encinos sobre sus comunidades de artrópodos asociadas, hacen clara la necesidad de realizar más trabajos bajo esta perspectiva.

Quercus castanea es una especie con características de especie fundadora, presenta amplia distribución geográfica en México y es un elemento dominante de los bosques en donde habita. Se sabe que la diversidad genética de *Q. castanea* incrementa a través de un gradiente en la riqueza de la comunidad local de encinos rojos (Valencia-Cuevas et al., 2014) y que este gradiente natural de diversidad genética en esta especie, es el resultado de flujo genético interespecífico con tres especies que comúnmente coexisten con *Q. castanea* en zonas de simpatría (*Q. crassipes*, *Q. laurina* y *Q. crassifolia*, Valencia-Cuevas et al., *datos no publicados*). Específicamente, se encontró que la ocurrencia y frecuencia de los híbridos entre *Q. castanea* y estas especies varía entre sitios.

El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de la diversidad genética de *Q. castanea* sobre la estructura de su comunidad de insectos endófagos asociada al dosel, en términos de riqueza de especies (S), diversidad de especies (H') e infestación, a través del

gradiente natural de diversidad genética reportado previamente por Valencia-Cuevas et al. (2014). Estudios en condiciones naturales como el presentado aquí, son importantes para entender las consecuencias ecológicas potenciales de la diversidad genética.

Materiales y Métodos

Especie de estudio

Quercus castanea Neé (*Lobatae*) es una especie de encino rojo que presenta individuos de 5-15m en altura, con un diámetro de tronco de 30-60cm (Rangel et al., 2002). Estos árboles pueden ser reconocidos por sus características foliares, tales como la forma obovada u oblanceolada de las hojas, envés con venas conspicuamente elevadas y reticuladas, márgenes con dos a seis dientes cortos, ocho a 12 venas secundarias de cada lado de la vena media, una coloración gris-verdosa y tricomas fasciculados y sésiles. Su época de floración se presenta en los meses de junio y julio, mientras que la fructificación se presenta de agosto a diciembre (Rangel et al., 2002). Esta especie se distribuye entre los 1180 a los 2600 m s.n.m., presentándose a través de los mayores sistemas montañosos mexicanos [(Sierra Madre Oriental, Sierra Madre Occidental, Sierra Madre del Sur y Faja Volcánica Transmexicana (FVT); Valencia, 2004)]. Es frecuente en áreas de matorral xerófilo perturbado y en bosques mesófilos de montaña (Espinosa, 2001).

Sitios de estudio

Las poblaciones de *Q. castanea* muestreadas en este trabajo son las mismas que utilizaron Valencia-Cuevas y colaboradores (2014), a través de las cuales se presentó un gradiente natural en la diversidad genética resultado de flujo genético interespecífico (Fig. 1). Las

localidades muestreadas fueron: el Corredor Biológico Ajusco-Chichinautzin (CBACH) y Parque Nacional El Tepozteco (PNT) en el estado de Morelos, el Parque Barranca de Tarango (PBT) y el Parque Ecológico de la Ciudad de México (PECM) en la ciudad de México, el Parque Las Peñas (PLP) en el Estado de México, y el Parque Ecológico el Huitexo (PEH) en el Estado de Guerrero. Los efectos ambientales del sitio que pueden tener influencia sobre la estructura de las comunidades de insectos endófagos de dosel, fueron minimizados debido a que las localidades antes mencionadas presentaron las siguientes características en común: historia geológica (todas las localidades pertenecen a la FVT, cuyo proceso de formación comenzó durante el Plioceno; Gómez-Tuena et al., 2007), clima (templado subhúmedo) y tipo de vegetación (bosque maduro). Asimismo, las localidades son similares en términos de altitud (entre los 1800-2500 m), tipo de suelo (origen volcánico o derivado de rocas ígneas y sedimentarias) y estado de conservación (no presentan disturbios a nivel local debido a que se ubican en áreas de conservación en México).

Datos moleculares

Los 120 individuos (20 árboles por localidad) reconocidos morfológicamente como *Q. castanea* utilizados en este estudio, fueron previamente examinados mediante 14 SSRs (seis nSSRs y ocho cpSSRs), encontrándose que los niveles de diversidad genética poblacional e individual de *Q. castanea* incrementan con el número de especies de encinos rojos asociados (Valencia-Cuevas et al., 2014). Posteriormente, el análisis de los mismos individuos (nSSRs) utilizando el programa STRUCTURE evidenció flujo genético interespecífico entre *Q. castanea* y tres de las especies que comúnmente coexisten con ella

en zonas de simpatría (*Q. crassipes*, *Q. laurina* y *Q. crassifolia*; Valencia-Cuevas et al., *datos no publicados*). Específicamente, el estudio reveló que *Q. castanea* ha incorporado genoma de estas especies, en diferente proporción a través del gradiente.

Muestreo de insectos endófagos

La estructura de la comunidad de insectos endófagos del dosel de *Q. castanea* fue analizada en los mismos 120 árboles usados por Valencia-Cuevas et al. (2014). Estos individuos presentaron de 8-10 m ($9.12 \pm \text{S.E. } 0.17 \text{ m}$) en altura y entre 18.3 y 20.1 m² ($19.20 \text{ m}^2 \pm 2.08 \text{ m}^2$) de cobertura del dosel. Además, el dosel de estos árboles no se traslapaba con el de otros árboles dentro del bosque de encino. Las agallas y las hojas con minas colectadas en la parte media del dosel de cada árbol hospedero fueron separadas a nivel de morfoespecie, colocadas en contenedores de plástico previamente etiquetados y transportadas al laboratorio en donde los insectos emergieron. Los insectos fueron identificados al nivel taxonómico más fino posible. Para determinar el nivel de infestación de insectos endófagos asociados al dosel de cada árbol hospedero se contabilizó el número de agallas o minas en 200 hojas provenientes de cuatro ramas elegidas al azar (e.g., 50 hojas por rama).

Análisis de datos

Para evaluar la influencia de la diversidad genética de *Q. castanea* sobre la riqueza (S) y la diversidad (H') de sus comunidades de insectos endófagos asociados al dosel, el parámetro de heterocigosis esperada (H_e) a nivel poblacional, reportado por Valencia-Cuevas et al. (2014) fue utilizado. Además, la diversidad genética de *Q. castanea* a nivel individual fue caracterizada mediante el índice de homocigosidad por loci (H_L), una

medida derivada de microsatélites que mejora los estimados de heterocigosidad. Este parámetro destaca la contribución de cada locus al valor de homocigosidad dependiendo de su variabilidad alélica (Aparicio et al., 2006). HL se calculó como sigue: $HL = (\sum E_h) / (\sum E_h + \sum E_j)$, donde E_h y E_j son la heterocigosidad esperada de los loci que un individuo presenta en homocigosis (h) y en heterocigosis (j), respectivamente. Cuando este índice presenta valores cercanos a 0 todos los loci son heterócigos, mientras que cuando los valores se acercan a 1 todos los loci son homocigos. HL fue estimado usando CERNICALIN, una hoja de Excel disponible por solicitud. Para este estudio, los valores de HL fueron multiplicados por -1 . Por lo tanto, los valores negativos de HL denotan individuos endogámicos y valores positivos denotan individuos exogámicos.

El índice de mezcla genética (IMG) fue utilizado para calcular la contribución relativa de cada grupo genético (especie) al pool genético de *Q. castanea*. Para obtener este parámetro, la contribución local del grupo genético i (Cg_i) se dividió entre su contribución total en todos los sitios ($Cg_{i\ Total}$) y se promedió con las contribuciones registradas de todos los grupos genéticos presentes en cada sitio. De tal manera que el IMG se definió como:

$$IMG = \frac{\sum_{i=1}^n Cg_i / Cg_{i\ Total}}{n}$$

donde n = el número total de grupos genéticos (especies). El intervalo de IMG va de 0 a 1 (modificado de Maes et al., 2005).

La diversidad de la comunidad de insectos endófagos de dosel fue estimada usando el índice de diversidad de Shannon-Wiener (H'), el cual fue comparado entre pares de

árboles con una prueba de aleatorización descrita por Solow (1993). Esta prueba remuestrea 10,000 veces de una distribución de abundancia de especies producida por la suma de las dos muestras.

El valor de infestación para cada árbol hospedero se estimó como (número de agallas o minas) $\times 100/200$ hojas. Posteriormente, se calculó un valor promedio por población. Se realizó un análisis de varianza para determinar si existen diferencias significativas en la infestación promedio (%) entre sitios. Finalmente, una prueba de Tukey reveló entre cuáles poblaciones existen diferencias significativas.

Para evaluar la influencia de la diversidad genética [poblacional (H_e) e individual (H_L)] y el índice de mezcla genética (IMG) de *Q. castanea* sobre H^* , S y los niveles de infestación de la comunidad de insectos endófagos asociados al dosel, se hicieron análisis de regresión (Zar, 2010). Estos análisis estadísticos se hicieron con los programas Species diversity and richness ver. 3.03 (Henderson y Seaby, 2002) y STATISTICA ver. 8.0 (StatSoft, 2007).

Resultados

Composición de la comunidad de insectos endófagos

La comunidad de insectos endófagos asociados al dosel de *Q. castanea* estuvo conformada por 27 especies, pertenecientes a tres órdenes: 23 especies de Hymenoptera, dos de Lepidoptera y dos de Diptera. En particular, el grupo de insectos agalleros (Hymenoptera: Cynipidae) estuvo representado por cinco géneros: *Amphibolips*, *Andricus*, *Kokkocynips*, *Erythres* y *Neuroterus*. El género más importante en términos de riqueza de especies fue *Andricus* con el 60.86 % de las especies. Por su parte, el grupo de los insectos minadores de

hojas estuvo representado por dos familias del orden Diptera (Cecidomyiidae y Chloropidae) y dos familias del orden Lepidoptera (Bedellinae y Gelechiidae) (Tabla 1).

Niveles de infestación

El porcentaje de infestación promedio de los insectos endófagos (avispa formadora de agallas e insectos minadores de hojas) asociados al dosel de *Q. castanea* varió significativamente entre localidades ($F_{5, 162} = 42.688, P < 0.0001$). En general, el porcentaje de infestación registró el siguiente patrón: PNT ($12.98 \pm e.e. 1.92$) = PECM ($14.78 \pm e.e. 0.74$) < PEH ($18.61 \pm e.e. 0.73$) = CBACH ($24.45 \pm e.e. 1.22$) < PLP ($26.23 \pm e.e. 1.52$) < PBT ($36.01 \pm e.e. 1.52$).

Relación entre la diversidad genética de la planta hospedera y la comunidad de insectos endófagos

Este estudio reveló que la diversidad genética de la planta hospedera afecta significativamente la riqueza y la diversidad de especies de la comunidad de insectos endófagos de dosel. En particular, los resultados mostraron que S de la comunidad de insectos endófagos mostró una relación positiva y significativa con la diversidad genética individual (HL) de la planta hospedera ($r = 0.56, P < 0.001$; Fig. 2). Un patrón similar se encontró entre la diversidad genética a nivel poblacional (He) con H' de la comunidad de insectos endófagos ($r = 0.81, P < 0.05$; Fig. 2). En contraste, H' ($r = 0.44, P > 0.05$) y S ($r = 0.36, P > 0.05$) no respondieron al IMG de *Q. castanea*. Similarmente, los niveles de infestación no mostraron respuesta a la diversidad genética poblacional (He) de la planta hospedera ($r = 0.12, P > 0.05$).

Discusión

Influencia de la diversidad genética sobre la comunidad de insectos endófagos

La diversidad genética de *Q. castanea* afecta la estructura de su comunidad de insectos endófagos de dosel. Específicamente las magnitudes de S y H' de la comunidad responden de manera positiva y significativa a los niveles de diversidad genética individual y poblacional de *Q. castanea*, respectivamente. En contraste, la infestación no mostró respuesta a ninguno de los parámetros de diversidad genética de la planta hospedera. Resultados similares han sido descritos previamente en otras especies consideradas fundadoras dentro de sus ecosistemas.

En general, las consecuencias ecológicas de la diversidad genética a nivel poblacional han sido bien estudiadas (e.g., incremento en la adecuación de la población y menor riesgo de extinción, entre otras; Vellend y Geber, 2005). Sin embargo, a nivel de comunidad, aún no se tiene claro su papel en la organización y dinámicas de estos sistemas (Jonhson y Stinchcombe, 2007; Hersch-Green et al., 2011; Wymore et al., 2011). Se ha propuesto que para que la diversidad genética tenga un efecto significativo sobre la comunidad, esta última debe estar dominada por una o pocas especies fundadoras (Bangert y Whitham, 2007; Hughes et al., 2008). Sin embargo, esta influencia también ha sido detectada en sistemas que no son considerados especies fundadoras (e.g., *Oenothera bienes*; Jonhson, 2011). En este trabajo se encontró que el incremento en la diversidad genética a nivel individual (H_L) y poblacional (H_e) de *Q. castanea* favorece la S y H' de su comunidad de insectos endófagos, respectivamente. Comunidades de insectos herbívoros han respondido de manera similar a la diversidad genética de especies consideradas fundadoras dentro de

sus ecosistemas [e.g., álamos (Whitham et al., 2006), sauces (e.g., Hochwender y Fritz, 2004), eucaliptos (Dunguey et al., 2000) y encinos (Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b; Tovar-Sánchez et al., 2013)].

Específicamente, se encontró que el 31% de la variación de S y 65% de la variación de H' de la comunidad está explicada por la diversidad genética a nivel individual y poblacional de *Q. castanea*, respectivamente. Estos resultados son comparables con los reportados por Wimp et al. (2004) quienes encontraron que la diversidad genética poblacional del complejo de álamos *Populus angustifolia* \times *P. fremontii*, explicó aproximadamente el 60% de H' de su comunidad de insectos endófagos asociados. Similarmente, Tovar-Sánchez y Oyama (2006b) reportaron que la diversidad genética poblacional del complejo de encinos *Q. crassipes* \times *Q. crassifolia* explicó aproximadamente el 78% de H' de su comunidad de insectos endófagos. Finalmente, Tovar-Sánchez et al. (2013), encontraron que del 63-79% y del 56-59% de la variación en H' de la comunidad de artrópodos asociados al dosel de *Q. crassipes* y *Q. castanea*, respectivamente, fue explicada por la diversidad genética a nivel individual de la planta hospedera.

En contraste, Tack et al. (2010) encontraron que la diversidad genética tiene poca influencia en la estructura de la comunidad de insectos endófagos (agalleros, minadores y enrolladores de hojas) asociados al dosel de *Q. robur* en Finlandia. Resultados similares fueron reportados por Castegneyrol et al. (2012), quienes encontraron que los atributos genéticos de la planta hospedera (diversidad genética, parentesco e identidad genética) no tuvieron un efecto significativo sobre la comunidad de insectos fitófagos (endófagos y ectófagos) asociados al dosel de *Q. robur* en Francia. Probablemente, la ausencia de una

respuesta de las comunidades de dosel asociados a *Q. robur* en Europa se debe a que los niveles de diversidad genética de especies europeas (cuyas poblaciones se vieron afectadas por las glaciaciones) es mucho menor a la reportada en especies de encinos mexicanos (e.g., Zanetto et al., 1994; Magri et al., 2007; Marsico et al., 2009). En este sentido, destaca el caso de *Q. robur* en Finlandia, de la que Vakkari et al. (2006) reportaron muy bajos niveles de diversidad genética ($He = 0.162$). Los autores sugieren que estos bajos valores de diversidad genética pueden ser el resultado del alto grado de fragmentación que presentan las poblaciones, a que este país representa los límites de la distribución de *Q. robur* y a que *Q. petraea*, especie con la intercambia material genético en el centro de Europa, no se distribuye en este país. Bajo este escenario, otros factores pueden estar ejerciendo una mayor influencia sobre la estructura de las comunidades asociadas. En este sentido, Bangert et al. (2006, 2008) propusieron que si la variabilidad genética no incrementa al mismo nivel que la variabilidad ambiental, ésta última comenzará a ser un factor más importante para la organización de las comunidades.

En el caso particular de *Q. castanea*, trabajos previos han mostrado altos niveles de diversidad genética (Peñaloza-Ramírez, 2011; Alvarado-Dávalos, 2014; Valencia-Cuevas et al., 2014), los cuales han sido el resultado de flujo genético interespecífico con otras especies de encinos rojos (Valencia-Cuevas et al., *datos no publicados*). Bajo este escenario, es probable que sus niveles de diversidad genética hayan sido suficientes para que su comunidad de insectos endófagos responda a dicha variación.

Un caso especial en este estudio fue la población PEH, en donde se presentó el más alto valor de H' de la comunidad de insectos endófagos asociados al dosel de *Q. castanea* (Fig.

2). Esta localidad se ubica en un área natural protegida, en donde a escala local existe un gradiente suave en condiciones ambientales en un área geográfica relativamente amplia (Saavedra-Millán, 2009), escenario que probablemente ha favorecido el establecimiento de diversas especies de encinos. En este sitio *Q. castanea* coexiste con *Q. affinis*, *Q. crassifolia*, *Q. laurina*, *Q. mexicana*, *Q. candicans*, *Q. urbanii* y *Q. scytophylla* (Valencia, 1994; Valencia-Cuevas et al., 2014). Asimismo, en esta localidad se presentan los mayores niveles de diversidad genética de *Q. castanea* (Valencia-Cuevas et al., 2014), lo que puede estar promoviendo los mayores niveles de H^2 de la comunidad. Adicionalmente, la alta riqueza de la comunidad local de encinos rojos en este sitio puede estar favoreciendo un fenómeno conocido como susceptibilidad asociacional (Brown y Ewel, 1987; White y Whitham, 2000), a través del cual las plantas hospederas presentan mayor diversidad de insectos herbívoros cuando están asociadas espacialmente con vecinos heteroespecíficos (White y Whitham, 2000; Barbosa et al., 2009).

Infestación de insectos endófagos

En el presente estudio se encontraron diferencias significativas en los niveles de infestación de insectos endófagos asociados a *Q. castanea* entre localidades. Valencia-Cuevas y colaboradores (*datos no publicados*) reportaron que *Q. castanea* está involucrada en eventos de hibridación con *Q. crassipes*, *Q. laurina* y *Q. crassifolia*, tres especies con las que coexiste comúnmente en los bosques templados de México. Específicamente, se encontró que la ocurrencia y la frecuencia de genotipos híbridos resultado de cruza entre estas especies (e.g., *Q. castanea* × *Q. crassipes*, *Q. castanea* × *Q. laurina*, *Q. castanea* × *Q. crassifolia* × *Q. crassipes*) varía entre localidades (Valencia-Cuevas et al., *datos no*

publicados). En este sentido, diferentes trabajos han mostrado que los artrópodos, particularmente los fitófagos, responden a la variación encontrada en las zonas híbridas (Whitham et al., 1999; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006a,b; Yarnes et al., 2008), debido a la generación de combinaciones únicas de características de la planta hospedera que tienen una base genética, las cuales podrían estar asociadas a las preferencias de oviposición de los insectos y a las características de resistencia de las plantas (Boecklen y Spellenberg, 1990; Aguilar y Boecklen, 1992; Fritz 1999). En general, se ha encontrado que diferentes especies de insectos herbívoros responden de manera distinta a la hibridación de sus plantas hospederas. Por ejemplo, plantas hospederas híbridas pueden mantener mayores, menores o similares abundancias de herbívoros con respecto a plantas hospederas parentales (Fritz et al., 1994; Fritz, 1999). La existencia de estos diferentes patrones de respuesta de los herbívoros en las zonas híbridas ha sido atribuida al estatus genético de las plantas hospederas híbridas y a los mecanismos genéticos que determinan la herencia de los mecanismos de resistencia en las mismas (Boecklen y Spellenberg, 1990; Fritz et al., 1994; Strauss, 1994). Además, se ha reportado que las características de resistencia de las plantas hospederas pueden ser expresadas diferencialmente entre ambientes (Fritz, 1999). Este hecho es particularmente importante en este trabajo, pues las poblaciones estudiadas pertenecen a la FVT un sistema orográfico que se caracteriza por su topografía compleja, altitud y diversidad climática, lo que aunado a su posición geográfica, genera un mosaico de ambientes, hábitats y microhábitats (Challenger, 1998). Por lo tanto, se sugiere que las diferencias en la proporción de genotipos (puros e híbridos) de *Q. castanea*, aunado a la variación en la expresión de sus características de resistencia en respuesta a la variación

ambiental entre localidades pueden ser los factores responsables de las diferencias en los niveles de infestación de los insectos endófagos entre sitios de estudio (Fritz et al., 1996).

En este sentido, destaca la población PLP en donde se registró el nivel de infestación más alto y la riqueza de especies de insectos endófagos más bajo. Este sitio es un área sujeta a protección, en donde *Q. castanea* coexiste con *Q. crassipes*, *Q. laurina*, *Q. crassifolia* y *Q. mexicana*, presentando altos niveles de diversidad genética ($He = 0.870$, Valencia-Cuevas et al., 2014) como resultado de flujo genético interespecífico con las tres primeras especies (Valencia-Cuevas et al., *datos no publicados*). Sin embargo, recorridos recientes en la zona han permitido detectar un incremento en el grado de disturbio como consecuencia de actividades humanas (e.g., agricultura, ganadería, desforestación, urbanización). En este sentido, se ha reportado que los insectos responden rápida y dramáticamente a los cambios en las condiciones ambientales, haciendo a estos organismos potencialmente útiles como indicadores de la condición del bosque (Schowalter, 1995; Tovar-Sánchez et al., 2003; Maleque et al., 2006, 2009). Por ejemplo, se ha documentado que el disturbio y la fragmentación pueden modificar las interacciones tróficas que se establecen entre las especies de insectos, favoreciendo la aparición de plagas y el daño a la planta hospedera (Krues y Tschardtke, 1994).

En contraste, existen evidencias que sugieren que a la fecha la diversidad genética de *Q. castanea* no se ha visto mermada por la fragmentación de su hábitat en la FVT (Herrera-Arroyo, 2013; Alvarado-Dávalos, 2014). Los autores sugieren que estos resultados pueden ser explicados debido a que *Q. castanea* es una especie longeva, por lo que no ha transcurrido el tiempo suficiente para detectar cambios en su diversidad genética.

Ambos resultados sugieren que en el PLP los insectos están respondiendo al efecto de la fragmentación y no al efecto de la genética de la planta hospedera. Esta hipótesis es soportada por los resultados reportados por Tovar-Sánchez et al. (2003) quienes encontraron que la fragmentación tiene un efecto negativo sobre la diversidad y riqueza de artrópodos asociados al dosel en varias especies de encinos, incluyendo *Q. castanea* en el centro de México.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Los datos presentados en este trabajo muestran que las características genéticas de *Q. castanea*, especie con atributos de especies fundadora, tienen una influencia significativa sobre la riqueza y la diversidad de especies de su comunidad de insectos endófagos asociados. En particular, la influencia positiva y significativa de la diversidad genética sobre la diversidad de insectos se mantuvo independientemente del nivel al cual se analizó (individual y poblacional). En contraste, los niveles de infestación no mostraron una respuesta a la genética de la planta hospedera. En general, los resultados coinciden con lo que se ha reportado en otras especies de plantas fundadoras, sin embargo, sería importante evaluar si las respuestas encontradas en este trabajo se presentan en otras especies de encino con características de especies fundadoras para entender su generalidad. Estudios como este representan un primer paso para el reconocimiento de la diversidad genética como un factor que tiene influencia sobre la abundancia, distribución y diversidad de las especies de artrópodos. El siguiente paso sería evaluar la importancia de la diversidad genética en comparación con otros factores ecológicos que modifican la estructura de las comunidades y que típicamente han sido reconocidos [e.g., variación ambiental abiótica,

disturbios, depredación, competencia y productividad primaria, entre otros; Hunter y Price 1992). De acuerdo con Hersch-Green y colaboradores (2011) este tipo de estudios podría incluir experimentos de campo multifactoriales, en donde el genotipo de la planta y al menos otro factor ecológico (como los antes mencionados) pudieran ser evaluados. De esta manera se podría cuantificar la cantidad de variación en la comunidad de insectos endófitos que es explicada por el genotipo del árbol hospedero, otros factores ecológicos y la interacción entre ellos.

El estudio de los atributos genéticos de especies fundadoras y su reconocimiento como un factor que define la estructura de sus comunidades asociadas puede ser de gran valor para proponer estrategias de manejo en los ecosistemas y así asegurar la conservación de la biodiversidad. El reconocimiento de que las comunidades de artrópodos que habitan el dosel de encinos responden positivamente a su diversidad genética sugiere que diferentes especies de encinos con atributos de especies fundadoras pueden ser fuertes candidatas para ser utilizadas como bioindicadores tempranos de la salud de los bosques en donde habitan.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Gabriel Flores, Mauricio Mora, Efraín Ramírez y Guillermo Sánchez por su ayuda en el trabajo de campo. A los especialistas en taxonomía de artrópodos les agradecemos por su colaboración en la identificación de los especímenes: O. Ávalos (Diptera) y A. Ibarra-Vázquez (Lepidoptera). Este proyecto fue financiado por una beca CONACYT-México para L.V.C. Agradecemos al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

LITERATURA CITADA

Abadie P, Roussel G, Dencausse B, Bonet C, Bertocchi E et al., 2012. Strength, diversity and plasticity of postmating reproductive barriers between two hybridizing oak species (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl.). J. Evol. Biol. 25: 157–173

Adams RI, Goldberry S, Whitham TG, Zinkgraf MS, Dirzo R, 2011. Hybridization among dominant tree species correlates positively with understory plant diversity. Am. J. Bot. 98: 1623–1632.

Aguilar JM, Boecklen WJ, 1992. Patterns of herbivory in the *Quercus grisea* × *Quercus gambelii* species complex. Oikos 64: 498–504.

Alvarado-Dávalos LG, 2014. Evaluación a escala fina de los efectos de un sistema de tala sobre la viabilidad poblacional de *Quercus castanea* en la Cuenca del lago Cuitzeo (Michoacán, México). Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán.

Aparicio JM, Ortego J, Cordero PJ, 2006. What should we weigh to estimate heterozygosity, alleles or loci? Mol. Ecol. 15: 4659–4665.

Bacilieri R, Ducouso A, Kremer A, 1995. Genetic, morphological, ecological and phenological differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of northwest of France. Silvae Genet. 44: 1–9.

Bailey JP, Wooley SC, Lindroth R, Whitham TG, 2006. Importance of species interactions to community heritability: a genetic basis to trophic level interactions. Ecol. Lett. 9: 78–85.

Bailey JP, Schweitzer JA, Rehill BJ, Lindroth RL, Martinsen GD et al., 2004. Beavers as molecular geneticists: a genetic basis to the foraging of an ecosystem engineer. *Ecology* 85: 603–608.

Bangert JK, Whitham TG, 2007. Genetic assembly rules and community phenotypes. *Evol. Ecol.* 21: 549–560.

Bangert JK, Allan GJ, Turek RJ, Wimp GM, Meneses N et al., 2006. From genes to geography: a genetic similarity rule for arthropod community structure at multiple geographic scales. *Mol. Ecol.* 15: 4215–4228.

Bangert JK, Turek RJ, Martinsen GD, Wimp GM, Bailey JK et al., 2005. Benefits of conservation of plant genetic diversity on arthropod diversity. *Conserv. Biol.* 19: 379–390.

Bangert JK, Lonsford EV, Wimp GM, Shuster SM, Fischer D et al., 2008. Genetic structure of a foundation species: scaling community phenotypes from the individual to the region. *Heredity* 100: 121–131.

Barbosa P, Hines J, Kaplan I, Martinson H, Szczeplaniec A et al., 2009. Associational resistance and associational susceptibility: having right or wrong neighbors. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40: 1–20.

Boecklen WJ, Spellenberg R, 1990. Structure of herbivore communities in two oak (*Quercus* spp.) hybrid zones. *Oecologia* 85: 92–100.

Brown BJ, Ewel JJ, 1987. Herbivory in complex and simple tropical successional ecosystems. *Ecology* 68: 108–116.

Castagneyrol B, Lagache L, Giffard B, Kremer A, Jactel H, 2012. Genetic diversity increases insect herbivory on oak saplings. *PloS one* 7(8): e44247.

Challenger A, 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: Pasado, presente y futuro. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. México.

Cornell HV, 1990. Survivorship, life history, and concealment: a comparison of leaf miners and gall formers. *Am. Nat.* 136: 581–597.

Crutsinger GM, Cadotte MW, Sanders NJ, 2009. Plant genetics shapes inquiline community structure across spatial scales. *Ecol. Lett.* 12: 285–292.

Crutsinger GM, Collins MD, Fordyce JA, Sanders NJ, 2007. Temporal dynamics in non-additive responses of arthropods to host-plant genotypic diversity. *Oikos*, doi: 10.1111/j.2007.0030-1299.16276.

Crutsinger GM, Collins MD, Fordyce JA, Gompert Z, Nice CC et al., 2006. Plant genotypic diversity predicts community structure and governs an ecosystem process. *Science* 313: 966–968.

Curtu AL, Gailing O, Finkeldey R, 2007. Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community. *BMC Evol. Biol.* 7:218.

Dayton PK, 1972. Toward an understanding of community resilience and the potential effects of enrichments to the benthos at McMurdo Sound, Antarctica. En: Parker BC (ed) *Proceedings of the colloquium on conservation problems in Antarctica*. Allen Press. Lawrence, Kansas, USA.

Dodd RS, Afzal-Rafii Z, 2004. Selection and dispersal in a multispecies oak hybrid zone. *Evolution* 58: 261–269

Dungey HS, Potts BM, Whitham TG, Li H-F, 2000. Plant genetics affects arthropod community richness and composition: evidence from a synthetic eucalypt hybrid population. *Evolution* 54: 1938–1946.

Ellison A, Bank MS, Clinton BD, Colburn EA, Elliott K et al., 2005. Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Front. Ecol. Environ.* 3: 479–486.

Espinosa J (2001) En: Rzedowski J, Rzedowski GC (eds) *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología, A. C., Centro Regional del Bajío. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

Ferrier SM, Bangert RK, Hersch-Green EI, Bailey JK, Allan GJ et al., 2012. Unique arthropod communities on different host-plant genotypes results in greater arthropod diversity. *Arthropod-Plant. Int.* 6: 187–195.

Fritz RS, 1999. Resistance of hybrid plants to herbivores: genes, environment, or both? *Ecology* 80: 382–391.

Fritz RS, Nichols-Orians CM, Brunsfeld SJ, 1994. Interspecific hybridization of plants and resistance to herbivores: hypotheses, genetics, and variable responses in a diverse community. *Oecologia* 97: 106–117.

Fritz RS, Roche BM, Brunsfeld SJ, Orians CM, 1996. Interspecific and temporal variation in herbivores responses to hybrid willows. *Oecologia* 108: 121–129.

Glynn C, Rönnerberg-Wästljun A, Julkunen-Tiitto R, Weih M, 2004. Willow genotype, but not drought treatment, affects foliar phenolic concentrations and leaf-beetle resistance. *Entomol. Exp. Appl.* 113: 1–14.

Gómez-Tuena A, Orozco-Esquivel MT, Ferrari L, 2007. Expand igneous petrogenesis of the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Geol. Soc. Am. Special Paper* 22: 129–181.

González-Rodríguez A, Oyama K, 2005. Leaf morphometric variation in *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing Mexican red oaks. *Bot. J. Linn. Soc.* 147: 427–435.

Govaerts R, Frodin DG, 1998. World checklist and bibliography of Fagales (Betulaceae, Corylaceae, Fagaceae and Ticodendraceae). Royal Botanic Gardens, Kew, United Kingdom.

Hamilton AJ, Basset Y, Benke KK, Grimbacher PS, Miller SA et al., 2010. Quantifying uncertainty in estimation of tropical arthropod species richness. *Am. Nat.* 176: 90–95.

Henderson PA, Seaby MPH, 2002. Species diversity and richness software 3.03. Pisces Conservation Ltd. Lymington.

Hersch-Green EI, Turley NE, Johnson MTJ, 2011. Community genetics: what have we accomplished and where should we be going? *Phil. Trans. R. Soc. B.* 366: 1453–1460.

Herrera-Arroyo ML, 2013. Efectos de la fragmentación del hábitat en la diversidad y estructura genética de poblaciones de *Quercus castanea* Née, en la cuenca de Cuitzeo, Michoacán. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán.

- Herrera-Arroyo ML, Sork LV, González-Rodríguez A, Rocha-Ramírez V, Vega E et al., 2013. Seed mediated connectivity among fragmented populations of *Quercus castanea* in a Mexican landscape. *Am. J. Bot.* 100: 1663–1671.
- Hochwender CG, Fritz RS, 2004. Plant genetic differences influence herbivore community structure: evidence from a hybrid willow system. *Oecologia* 138: 547–557.
- Hughes AR, Inouye BD, Johnson TJ, Underwood N, Vellend M, 2008. Ecological consequences of genetic diversity. *Ecol. Lett.* 11: 1–15.
- Hunter MD, Price PW, 1992. Playing chutes and ladders: heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. *Ecology* 73: 724–732.
- Johnson MTJ, 2011. The contribution of evening primrose (*Oenothera biennis*) to a modern synthesis of evolutionary ecology. *Popul. Ecol.* 53: 9–21.
- Johnson MTJ, Agrawal AA, 2005. Plant genotype and environment interact to shape a diverse arthropod community on evening primrose (*Oenothera biennis*). *Ecology* 86:874–885.
- Johnson MT, Lajeunesse MJ, Agrawal AA, 2006. Additive and interactive effects of plant genotypic diversity on arthropod communities and plant fitness. *Ecol. Lett.* 9: 24–34.
- Johnson MTJ, Stinchcombe JR, 2007. An emerging synthesis between community ecology and evolutionary biology. *Trends Ecol. Evol.* 22: 250–257.
- Keith AR, Bailey JK, Whitham TG, 2010. A genetic basis to community repeatability and stability. *Ecology* 91: 3398–3406.

Kruess A, Tschardt T, 1994. Habitat fragmentation, species loss, and biological control. *Science* 264: 1581–1584.

Lambert L, McPherson RM, Espelie KE, 1995. Soybean host plant resistance mechanisms that alter abundance of white-flies (Homoptera: Alyrodidae). *Environ. Ecol.* 24: 1381–1386.

Lepais O, Petit RJ, Guichoux E, Lavabre JE, Alberto F et al., 2009. Species relative abundance and direction of introgression in oaks. *Mol. Ecol.* 18: 2228–2242.

Lepais O, Roussel G, Hubert A, Kremer A, Gerber S, 2013. Strength and variability of postmating reproductive isolation barriers between four European white oak species. *Tree Genet. Genomes* 9: 841–853.

Le Roy CJ, Whitham TG, Keim P, Marks JC, 2006. Plant genes link forest and streams. *Ecology* 87:255–261.

Lowe A, Harris S, Ashton P, 2004. *Ecological genetics: design, analysis and application*. Blackwell Publishing. Oxford, Reino Unido.

Maes GE, Raeymaekers JAM, Pampoulie C, Seynaeve A, Goemans G et al., 2005. The catadromous European eel *Anguilla Anguilla* (L.) as a model for freshwater evolutionary ecotoxicology: Relationship between heavy metal bioaccumulation, condition and genetic variability. *Aquat. Toxicol.* 73: 99–114.

Magri D, Finechi S, Bellarosa R, et al. 2007. The distribution of *Quercus suber* chloroplast haplotypes matches the palaeogeographical history of the western Mediterranean. *Mol. Ecol.* 16: 5259–5266.

- Marsico TD, Hellmann JJ, Romero-Severson J, 2009. Patterns of seed dispersal and pollen flow in *Quercus garryana* (Fagaceae) following post-glacial climatic changes. *J. Biogeogr.* 36: 929–941.
- Martinsen GD, Whitham TG, 1994. More birds nest in hybrid cottonwoods. *Wilson Bull.* 106: 474–481.
- Maleque MA, Ishii HT, Maeto K, 2006. The use of arthropods as indicators of ecosystem integrity in forest management. *J. For.* 104: 113–117.
- Maleque MA, Maeto K, Ishii HT, 2009. Arthropods as bioindicators of sustainable forest management, with a focus on plantation forests. *Appl. Entomol. Zool.* 44: 1–11.
- McIntyre NE, Rango J, Fagan WF, Faeth SH, 2001. Ground arthropod community structure in a heterogeneous urban environment. *Lands. Urban Plann.* 52: 257–274.
- Moran EV, Willis J, Clark JS, 2012. Genetic evidence for hybridization in red oaks (*Quercus* sect. *Lobatae*, Fagaceae). *Am. J. Bot.* 99: 92–100.
- Ortego J, Bonal R, 2010. Natural hybridization between kermes (*Quercus coccifera* L.) and holm oaks (*Q. ilex* L.) revealed by microsatellite markers. *Plant Biol* 12: 234–238.
- Peñaloza-Ramírez JM, 2011. Filogeografía e hibridación de cuatro especies del género *Quercus* (Fagaceae) en México. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. Morelia, Michoacán.
- Peñaloza-Ramírez JM, González-Rodríguez A, Mendoza-Cuenca L, Caron H, Kremer A et al., 2010. Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Ann. Bot.* 105: 389–399.

Rangel SR, Zenteno ECR, R., Enríquez MD, 2002. El género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 89: 551–593.

Saavedra-Millán D, 2009. Estudio de la vegetación del Parque Estatal Francisco Torres Moreno, Cerro del Huixteco, Taxco, Guerrero, México. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Sarfraz M, Dossall LM, Keddie BA, 2008. Host plant genotype of the herbivore *Plutella xylostela* (Lepidoptera: Plutellidae) affects the performance of its parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Biol. Control.* 44: 42–51.

Schowalter TD, 1995. Canopy communities in relation to forest age and alternative harvest practices in western Oregon. *For. Ecol. Manage.* 78: 115–125.

Schweitzer JA, Bailey JK, Fischer DG, LeRoy CJ, Lonsford EV et al., 2008. Plant-soil microorganisms interactions: a heritable relationship between plant genotype and associated soil microorganisms. *Ecology* 89: 773–781.

Shuster SM, Lonsdorf EV, Wimp GM, Bailey JK, Whitham TG, 2006. Community heritability measures the evolutionary consequences of indirect genetic effects on community structure. *Evolution* 60: 991–1003.

Solow RA, 1993. A simple test for change in community structure. *J. Anim. Ecol.* 62: 191–193.

Statsoft INC, 2007. STATISTICA for Windows. Tulsa. Estados Unidos.

Sthultz CM, Whitham TG, Kennedy K, Deckert R, Gehring CA, 2009. Genetically based susceptibility to herbivory influences the ectomycorrhizal fungal communities of a foundation tree species. *New Phytol.* 184: 657–667.

Stone GN, Schönrogge K, Atkinson RJ, Pujade-Villar J, 2002. The population biology of gall wasp (Hymenoptera: Cynipidae). *Annu. Rev. Entomol.* 47: 633–668.

Stork NE, Hammond PM, 1997. Sampling arthropods from tree-crowns by fogging with knockdown insecticides: lessons from studies of oak tree beetle assemblages in Richmond Park (UK). En: Stork NE, Adis J, Didham PK, (eds) *Canopy Arthropods*. Chapman & Hall, London, 3–26.

Strauss SY, 1994. Levels of herbivory and parasitism in host hybrid zones. *Trends Ecol. Evol.* 9: 209–214.

Tack AJ, Johnson MTJ, Roslin P, 2011. Sizing up community genetics: it's a matter of scale. doi: 10.1111/j.1600-0706.2011.19926.x.

Tack AJ, Ovaskainen O, Pulkkinen P, Roslin T, 2010. Spatial location dominates over host plant genotype in structuring an herbivore community. *Ecology* 91: 2660–2672.

Tovar-Sánchez E, Cano-Santana Z, Oyama K, 2003. Canopy arthropod communities on Mexican oaks at sites with different disturbance regimes. *Biol. Conserv.* 115: 79–87.

Tovar-Sánchez E, Mussali-Galante P, Esteban-Jiménez R, Piñero D, Arias DM, Dorado O, Oyama K, 2008. Chloroplast DNA polymorphism reveals geographic structure and introgression in the *Quercus crassifolia* × *Quercus crassipes* hybrid complex in Mexico. *Botany* 86: 228–239.

Tovar-Sánchez E, Oyama K, 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.

Tovar-Sánchez E, Oyama K, 2006a. Community structure of canopy arthropods associated en *Quercus crassifolia* x *Quercus crassipes* complex. *Oikos* 112: 370–381.

Tovar-Sánchez E, Oyama K, 2006b. Effect of hybridization of the *Quercus crassifolia* × *Quercus crassipes* complex on the community structure on endophagous insects. *Oecologia* 147: 702–713.

Tovar-Sánchez E, Valencia-Cuevas L, Castillo-Mendoza E, Mussali-Galante P, Pérez-Ruíz RV, Mendoza A, 2013. Association between individual genetic diversity of two oak host species and canopy arthropod community structure. *Eur. J. Forest Res.* DOI 10.1007/s10342-012-0665-y.

Vakkari P, Blom A, Rusanen M, Raisio J, Toivonen H, 2006. Genetic variability of fragmented stands of pedunculate oak (*Quercus robur*) in Finland. *Genetica* 127: 231–241.

Valencia S, 1994. Contribución a la delimitación taxonómica de tres especies del género *Quercus* subgénero *Erythrobalanus*: *Q. laurina* Humboldt et Bonpland, *Q. affinis* Scheidweiler y *Q. ghiesbregthii* Martens et Galeotti. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Valencia S, 2004. Diversidad del género *Quercus* en México. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 75: 33–53.

Valencia-Cuevas L, Piñero D, Mussali-Galante P, Valencia-Ávalos S, Tovar-Sánchez E, 2014. Effect of a red oak species gradient on genetic structure and diversity of *Quercus castanea* (Fagaceae) in Mexico. DOI: 10.1007/s11295-014-0710-8.

Vellend M, Geber MA, 2005. Connections between species diversity and genetic diversity. *Ecol. Lett.* 8: 767–781.

White JA, Whitham TG, 2000. Associational susceptibility of cottonwood to a box elder herbivore. *Ecology* 81: 1795–1803.

Whitham TG, Bailey JK, Schweitzer JA, Shuster SM, Bangert RK et al., 2006. A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. *Nature* 7: 510–523.

Whitham TG, Gehring CA, Lamit LJ, Wojtowicz T, Evans LM et al., 2012. Community specificity: life and afterlife effects of genes. *Trends Plant. Sci.* 17: 271–281.

Whitham TG, Martinsen GD, Floate KD, Dungey HS, Potts BM et al., 1999. Plant hybrid zones affect biodiversity: tools for a genetic based understanding of community structure. *Ecology* 80: 416–428.

Whitham TG, Morrow PA, Potts BM, 1994. Plant hybrid zones as centers of biodiversity: the herbivore community of two endemic Tasmanian eucalypts. *Oecologia* 97: 481–490.

Whittemore AT, Schaal BA, 1991. Interspecific gene flow in sympatric oaks. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 88:2540–2544.

Whitham TG, Young WP, Martinsen GD, Gebring CA, Schweitzer JA et al., 2003. Community and ecosystem genetics: a consequence of the extended phenotype. *Ecology* 84: 559–573.

Wimp GM, Martinsen GD, Floate KD, Bangert RK, Whitham TG, 2005. Conserving plant genetic diversity for dependent animal community structure and diversity. *Evolution* 59: 61–69.

Wimp GM, Wooley S, Bangert K, Young WP, Martinsen GD et al., 2007. Plant genetics intra-annual variation in phytochemistry and arthropod community structure. *Mol. Ecol.* 16: 5057–5069.

Wimp GM, Young PW, Woolbright SA, Martinsen GD, Keim P et al., 2004. Conserving plant genetic diversity for dependent animal communities. *Ecol. Lett.* 7:776–780.

Wymore AS, Keeley AT, Yturralde KM, Schroer ML, Propper CR et al., 2011. Genes to ecosystems: exploring the frontiers of ecology with one of the smallest biological units. *New Phytol.* 191: 19–36.

Yarnes CT, Boecklen WJ, Tuominen K, Salminen JP, 2008. Hybridization affects seasonal variation of phytochemical phenotypes in an oak hybrid complex (*Quercus gambelii* × *Quercus grisea*). *Int. J. Plant Sci.* 169: 567–578.

Zar JH, 2010. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River. Nueva Jersey, Estados Unidos.

Leyenda de tablas

Tabla 1. Composición de la comunidad de insectos endófagos asociados al dosel de *Quercus castanea*.

Leyenda de Figuras

Fig.1 Mapa de poblaciones de *Q. castanea* ordenadas de acuerdo a un gradiente de diversidad genética nuclear (Heterocigosis esperada: H_e) de acuerdo a Valencia et al., (2014). 1) Parque Ecológico el Huixteco (PEH, H_e : 0.873a); 2) Parque Las Peñas (PLP, H_e : 0.870a); 3) Parque Barranca de Tarango (PBT, H_e : 0.765b); 4) Parque Ecológico de la Ciudad de México (PECM, H_e : 0.832c); 5) Parque Nacional El Tepozteco (PNT, H_e : 0.611d) y Corredor Biológico Ajusco Chichinautzin (CBACH, H_e : 0.621d). Letras iguales denotan que no difieren los valores con $\alpha= 0.05$ después de una prueba de comparaciones múltiples.

Fig. 2 Relación entre la diversidad genética individual (H_L) y poblacional (H_e) de *Q. castanea* y la riqueza (S) y la diversidad (H') respectivamente, de la comunidad de insectos endófagos de dosel.

Tabla 1.

| Orden | Familia | Género | Especie |
|------------------|---------------|------------------------|---------------------------------|
| Hymenoptera | Cynipidae | <i>Amphibolips</i> | <i>Amphibolips hidalgoensis</i> |
| | | <i>Andricus</i> | <i>Andricus</i> sp. 1 |
| | | | <i>A. sp. 2</i> |
| | | | <i>A. sp. 3</i> |
| | | | <i>A. sp. 4</i> |
| | | | <i>A. sp. 5</i> |
| | | | <i>A. sp. 6</i> |
| | | | <i>A. sp. 7</i> |
| | | | <i>A. sp. 8</i> |
| | | | <i>A. sp. 9</i> |
| <i>A. sp. 10</i> | | | |
| <i>A. sp. 11</i> | | | |
| <i>A. sp. 12</i> | | | |
| <i>A. sp. 13</i> | | | |
| <i>A. sp. 14</i> | | | |
| | | <i>Erythres</i> | <i>E. jaculi</i> |
| | | <i>Kokkocynips</i> | <i>K. doctorrosae</i> |
| | | <i>Neuroterus</i> | <i>Neuroterus</i> sp. 1 |
| | | | <i>N. sp. 2</i> |
| | | | <i>N. sp. 3</i> |
| | | | <i>Cynipidae</i> sp. 1 |
| | | | <i>Cynipidae</i> sp. 2 |
| | | <i>Cynipidae</i> sp. 3 | |
| | | <i>Cynipidae</i> sp. 4 | |
| Diptera | Cecidomyiidae | | <i>Cecidomyiidae</i> sp.1 |
| | Chlorophidae | | <i>Chlorophidae</i> sp. 1 |
| Lepidoptera | Bedellinae | | <i>Bedellia</i> sp. |
| | Gelechiidae | | <i>Gelechiidae</i> sp. 1 |

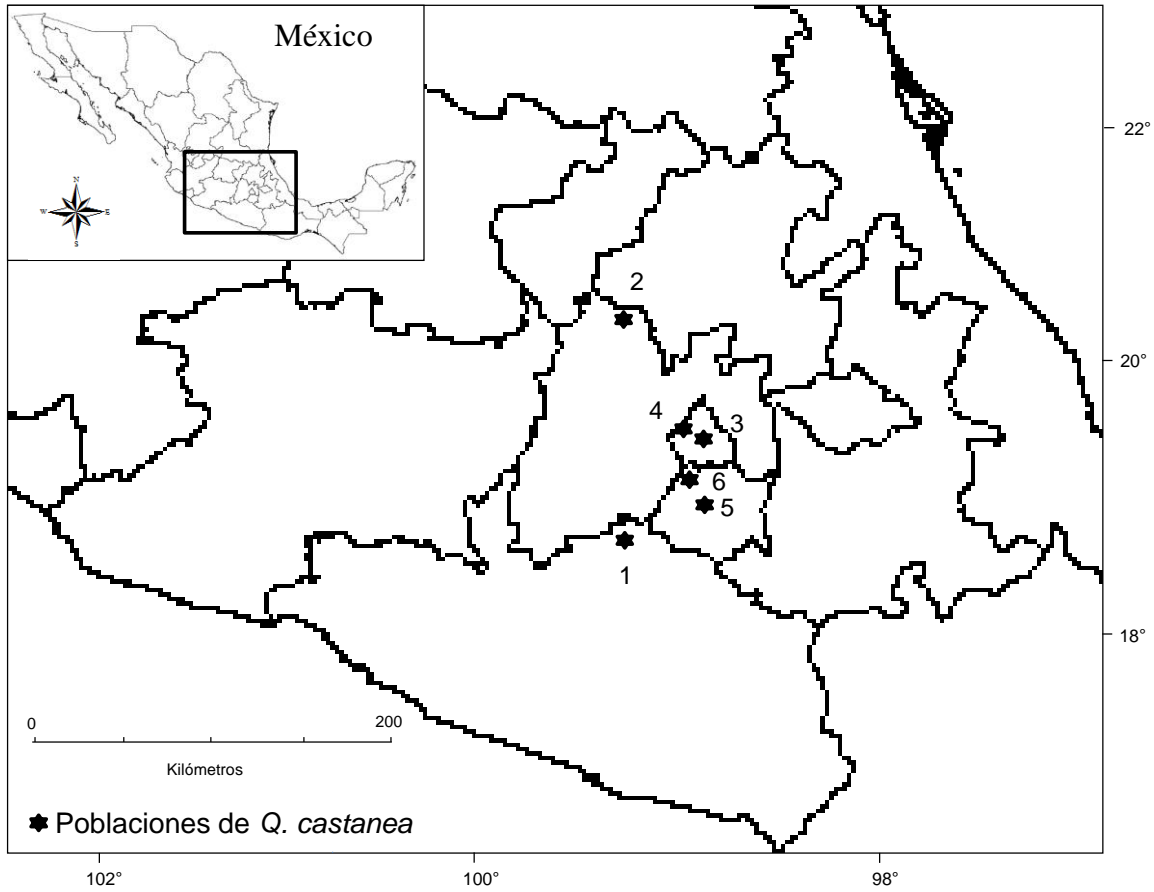


Fig. 1

DISCUSIÓN GENERAL

La genética de la comunidad es un área de estudio relativamente nueva que ha logrado evidenciar la importancia de la diversidad genética intraespecífica como un factor que puede definir procesos a nivel de comunidades y ecosistemas (Hersch-Green et al., 2011; Wymore et al., 2011; Whitham et al., 2012). En este contexto, en el presente estudio se analizaron las consecuencias ecológicas de la diversidad genética de una especie fundadora (*Q. castanea*) sobre la comunidad de insectos endófagos (insectos formadores de agallas e insectos minadores de hojas) asociados al dosel. Para lograr lo anterior, se utilizó un diseño experimental que permitió determinar los niveles de diversidad y estructura genética de *Q. castanea*, mostrar evidencia genética de eventos de hibridación introgresiva entre *Q. castanea* y tres especies de encinos rojos en diferentes zonas de simpatria y evaluar la influencia de la diversidad genética de *Q. castanea* sobre la estructura de su comunidad de insectos endófagos de dosel (riqueza, diversidad e infestación). Este trabajo aporta información valiosa en términos de la importancia de la diversidad genética de especies fundadoras para la conservación de la biodiversidad en los bosques de encino en México.

Patrones de diversidad y estructura genética en encinos, el caso de *Q. castanea*

Con la finalidad de definir la contribución del polen y de las semillas en los patrones de diversidad y estructura genética de *Q. castanea*, en este estudio se usó una combinación de 14 SSRs, seis nSSRs y ocho cpSSRs. En general, los niveles de diversidad genética de *Q. castanea* encontrados en este estudio son altos y coinciden con lo esperado para las especies de árboles templados con características de historia de vida como ciclo de vida largo, entrecruzamiento, alta fecundidad y polinización por viento (Loveless y Hamrick,

1984, Capítulo I). En particular, el valor promedio estimado de diversidad genética nuclear (H_e : 0.762) de *Q. castanea* encontrado en este estudio, es similar con los estimados de otras poblaciones de esta especie dentro de la región de la FVT (Acosta, 2008 H_e : 0.711; Herrera-Arroyo, 2013 H_e : 0.80; Alvarado-Dávalos, 2014 H_e : 0.78-0.85). En contraste, la variación de cloroplasto reportada en este trabajo (nh : 21) es menor a lo reportado en otras poblaciones de *Q. castanea* de la FVT (nh : 36, Alvarado-Dávalos, 2014). Estas diferencias en la variación del genoma de cloroplasto, entre ambos estudios, pueden deberse a diferencias en el tamaño de muestra y a la clase de individuos analizados. Particularmente, en este trabajo se analizaron 120 individuos adultos de *Q. castanea*, mientras que en el trabajo de Alvarado-Dávalos (2014) se analizaron 423 individuos, en donde se incluyeron adultos y plántulas. Se ha reportado que el análisis de un mayor número de individuos permite detectar mayores niveles de diversidad genética (e.g., Kalinowski 2005). Asimismo, se ha documentado que la inclusión de plántulas en los análisis de diversidad genética puede incrementar los estimados de diversidad en las poblaciones de plantas.

En particular, diferentes estudios en encinos han reportado la influencia del flujo genético interespecífico sobre los patrones de diversidad genética cuando dos o tres especies están involucradas en eventos de hibridación (González-Rodríguez et al., 2005; Tovar-Sánchez et al., 2008; Lepais et al., 2009; Peñaloza-Ramírez et al., 2010). Sin embargo, a la fecha no existen trabajos publicados en donde se haya evaluado la influencia de un gradiente en la riqueza local de la comunidad de encinos sobre los niveles de diversidad genética de una especie focal (en este caso, *Q. castanea*). El interés de abordar esta pregunta, surgió del hecho de *Q. castanea* es una especie que comúnmente habita con otras especies de su misma sección (*Lobatae*: encinos rojos), con las cuales potencialmente podría intercambiar

material genético (Burger, 1975; Aldrich et al., 2003), y que en estos sitios de traslape geográfico los individuos de *Q. castanea* presentan morfología foliar atípica. Además, trabajos previos han reportado evidencias de hibridación entre algunas de las especies que comúnmente acompañan a *Q. castanea* [*Q. crassipes* × *Q. crassifolia* (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004) y *Q. laurina* × *Q. affinis* (González-Rodríguez et al., 2004)] en los sitios de simpatría. Con base en esta información se propuso la hipótesis de que *Q. castanea* podría estar involucrada en eventos de hibridación con sus especies de encinos rojos acompañantes y que su diversidad genética se podría ver incrementada. En este estudio, se puso especial atención al fenómeno de hibridación debido a que está bien documentado que es un proceso común dentro del género *Quercus* (Burger 1975; Whittemore y Schaal, 1991) y que a través de éste la diversidad genética de las especies involucradas se puede ver incrementada (González-Rodríguez et al., 2005; Tovar-Sánchez et al., 2008; Cavender-Bares y Pahlich, 2009). Los resultados de esta tesis mostraron un incremento significativo en la diversidad genética de las poblaciones de *Q. castanea* en respuesta al incremento en la riqueza local de especies de encinos rojos, sugiriendo que la hibridación es un mecanismo que está generando diversidad genética en *Q. castanea*. De hecho, esta hipótesis fue sustentada con los resultados del Capítulo II, en el que se registró que en tres de las cuatro zonas simpátricas en donde *Q. castanea* coexiste con otras especies de encinos rojos, se presentan individuos cuyo genoma es una mezcla entre esta especie y sus especies acompañantes. Este es el primer estudio que muestra evidencia genética de flujo genético interespecífico entre este grupo de encinos rojos y sus consecuencias en una de las especies que lo constituyen, *Q. castanea*. A futuro sería muy interesante determinar si el incremento en los niveles de diversidad genética producto de fenómenos de hibridación e introgresión que se

detectaron en *Q. castanea*, se presenta independientemente de la especie de encino rojo que se utilice como especie focal dentro de este complejo.

Los resultados encontrados en este trabajo muestran un incremento en la variación genética del genoma nuclear y de cloroplasto de *Q. castanea* a través del gradiente en la riqueza de especies de encinos rojos a nivel local (Capítulo I). Diferentes estudios en encinos han mostrado que la variación del genoma de cloroplasto es independiente de la especie (las especies comparten los haplotipos de cloroplasto a escala local), pero con una fuerte estructura geográfica (Whittemore y Schaal, 1991; Dumolin-Lapègue et al., 1995; Petit et al., 2002), mientras que a nivel del genoma nuclear la diferenciación permanece más estable. Con estos antecedentes, lo esperado era un incremento en la variación genética nuclear con el incremento en la riqueza local de especies de encinos rojos; sin embargo, las predicciones de la respuesta de la variación del genoma de cloroplasto eran menos claras. Entonces, ¿cómo puede explicarse lo encontrado en *Q. castanea*? Estudios recientes han documentado que aunque a nivel local las especies de encinos pueden compartir la variación del genoma de cloroplasto, diferencias entre especies pueden existir debido a que la eficiencia de las barreras reproductivas en sitios de simpatría dependen de la identidad taxonómica de las especies involucradas en eventos de hibridación (Petit et al., 2002). Particularmente, hay evidencia que indica que el éxito de los eventos de hibridación es direccional y que depende de la identidad de la especie que actúa como parental materno o paterno (compatibilidad asimétrica de las cruzas; Steinhoff, 1993; Curtu et al., 2007; Abadie et al., 2012; Lepais et al., 2013). Por ejemplo, diferentes estudios han documentado que las cruzas entre *Q. petraea* y *Q. robur* son más exitosas cuando la primera especie

fertiliza con su polen los óvulos de la segunda, en comparación a cuando las cruzas se dan en la dirección opuesta (Ollrik y Kjaer, 2007; Lepais et al., 2013).

Bajo este escenario se podría suponer que en este sistema multiespecies se presenta una compatibilidad asimétrica de las cruzas, pues conforme aumenta el número de especies de encinos rojos asociados a *Q. castanea*, aumenta la diversidad de parentales maternos que pueden ser compatibles con esta especie como donadora de polen, presentándose así diferentes variantes de cloroplasto. Para probar esta hipótesis, estudios que aborden el análisis de parentesco y experimentos de cruzas controladas podrían ser de gran utilidad para determinar la identidad de las especies que actúan como parental materno o paterno y la dirección de las cruzas más exitosas entre *Q. castanea* y especies acompañantes.

Una de las contribuciones más importantes de este trabajo, es el reconocimiento del flujo genético interespecífico como un proceso clave en el mantenimiento de los niveles de diversidad genética de *Q. castanea* en la región de la FVT. Esta información cobra sentido dado que análisis genéticos recientes de poblaciones de *Q. castanea* pertenecientes a esta misma provincia biogeográfica mostraron que los niveles de diversidad genética de individuos adultos y juveniles de esta especie se mantienen tanto en el genoma nuclear como en el de cloroplasto, a pesar de la fragmentación de las poblaciones como resultado de actividades humanas (Herrera-Arroyo et al., 2013; Alvarado-Dávalos, 2014). Sin embargo, estos resultados difieren con otros estudios de especies de árboles en paisajes fragmentados, pues en ellos se reporta una reducción en la diversidad genética, particularmente en individuos establecidos recientemente debido a la reducción en el flujo genético, incremento en la endogamia y la deriva genética (Young et al., 1996; Lowe et al., 2005). Este descubrimiento sugiere que eventos de hibridación interespecífica en donde *Q.*

castanea está involucrada directamente como especie parental, puede ser un factor importante que está contrarrestando el impacto de la fragmentación sobre los niveles de diversidad genética de las poblaciones de esta especie en la FVT (Capítulos I y II).

Finalmente, la distribución de la variación genética nuclear y de cloroplasto en las seis poblaciones de *Q. castanea* estudiadas coinciden con los patrones generales reportados previamente en otras especies de encinos (Ver Capítulo I). Estos patrones han sido atribuidos a las diferencias en los mecanismos de herencia, en la eficiencia de dispersión y en el tamaño poblacional efectivo de ambos genomas (Ducousso et al., 1993; Streiff et al., 1998; Petit et al. 2005). Estas diferencias, hacen posible entender la cantidad y la manera en que se distribuye espacialmente la variación del genoma nuclear y de cloroplasto en este grupo de árboles y en particular, en *Q. castanea*.

Dinámicas de hibridación de *Q. castanea* en un complejo de encinos rojos en México

En el presente trabajo se evidenció que *Q. castanea* presenta eventos de hibridación con *Q. crassipes*, *Q. laurina* y *Q. crassifolia* tres especies con las que naturalmente coexiste en los bosques templados de la FVT. Sin embargo, la ocurrencia, frecuencia y tipo de combinaciones entre *Q. castanea* y especies de encinos rojos varía entre localidades. En contraste, no se detectaron individuos híbridos entre *Q. castanea* y *Q. mexicana* (Capítulo II). La contribución de este trabajo es importante por varias razones: 1) soporta la propuesta de Valencia (1994) quien con base en observaciones de morfología foliar sugiere la existencia de un complejo de especies entre varias especies de encinos rojos en México (*Q. crassipes*, *Q. crassifolia*, *Q. laurina*, *Q. mexicana*, *Q. affinis* y *Q. rubramenta*); 2) incorpora a *Q. castanea* como parte del complejo propuesto por Valencia, 3) resalta la importancia de

las condiciones locales en el resultado del contacto entre *Q. castanea* y especies de encinos rojos asociados y 4) revela que la coexistencia con *Q. castanea* no es una condición suficiente para hibridar con ella.

Este último punto es de suma importancia, pues en la literatura se ha reportado evidencia de hibridación entre casi todas las especies que habitan en simpatría (Muir et al., 2000; Curtu et al., 2007; Valbuena-Carabaña et al., 2007; Lepais et al., 2009; Peñaloza-Ramírez et al., 2010; Moran et al., 2012). Una ventaja del presente estudio fue elegir poblaciones de *Q. castanea* a través de las cuales se presenta un gradiente en la riqueza local de encinos rojos y en donde la composición de la comunidad se mantuvo constante, sólo adicionando una especie más. Sin duda, esta estrategia permitió evidenciar que la riqueza local de la comunidad de encinos rojos no es un factor que defina los patrones de hibridación, pues coexistir con *Q. castanea* no es condición suficiente para hibridar con ella. Además, se evidenció que la presencia, frecuencia y tipo de combinación de los híbridos entre *Q. castanea* y especies asociadas varían entre localidades. Ambos descubrimientos sugieren diferencias en el grado de aislamiento reproductivo entre *Q. castanea* y especies de encinos rojos acompañantes. Tales diferencias pueden resultar de plasticidad en la expresión de barreras reproductivas, promovidas por la variación en factores ecológicos y geográficos a través de los sitios de simpatría, tal como ha sido recientemente reportado en especies europeas (Capítulo II). Este hecho, es particularmente importante en este estudio, pues las poblaciones estudiadas de *Q. castanea* pertenecen a la FVT, un sistema montañoso con topografía compleja, diversidad altitudinal y climática, lo que combinado con su posición geográfica, constituye un mosaico de ambientes, hábitats y microhabitats (Challenger, 1998).

Finalmente, el incremento en los niveles de diversidad genética de *Q. castanea* en las poblaciones en simpatría (Capítulo I) y la detección de individuos reconocidos morfológicamente como “*Q. castanea*” con evidencia de genoma de otras especies de encinos rojos (Capítulo II) soportan la hipótesis de hibridación puesta a prueba en este estudio. Sin embargo, para tener una perspectiva completa de las dinámicas de hibridación e introgresión dentro de este complejo de encinos rojos mexicanos, sería importante hacer estudios para evaluar si los individuos de las otras especies de encinos rojos que coexisten con *Q. castanea* presentan evidencia genética de hibridación e introgresión en los diferentes sitios de simpatría.

Respuesta de la comunidad de insectos endófagos a la diversidad genética de *Q. castanea*

Las consecuencias ecológicas de la diversidad genética a nivel poblacional han sido bien estudiadas, situación que ha permitido generar un marco teórico robusto que sustenta su importancia en el mantenimiento y evolución de las especies. En contraste, el papel de la variación genética en la organización y dinámicas a nivel de las comunidades y ecosistemas aún no se tiene claro (Wymore et al., 2011). El interés de los investigadores en ecología por tratar de entender cómo las diferencias genéticas dentro de las especies pueden tener influencia sobre los niveles de organización superiores, ha resultado en relativamente pocos estudios (Kanaga, 2009). Sin embargo, los resultados de los trabajos indican que la diversidad genética tiene influencia en la composición, riqueza y diversidad de especies a nivel de comunidades, así como en el reciclaje de nutrientes, producción primaria y estabilidad a nivel del ecosistema (revisión en Hughes et al., 2008). Los resultados

encontrados en este trabajo se suman a otros que proponen que la diversidad genética, particularmente de especies fundadoras, puede ser un factor, como otros reconocidos en ecología, que tienen influencia sobre la abundancia, distribución y diversidad de las especies (Whitham et al., 2003, 2006). El énfasis en este tipo de especies, las cuales constituyen un pequeño grupo del total de especies en un ecosistema, es porque diferentes estudios han mostrado que sus atributos genéticos pueden revelar fuertes y predecibles efectos sobre las comunidades y ecosistemas (Whitham et al., 2003, 2006). Evidencia reciente indica que diferencias genéticas dentro de especies fundadoras puede tener influencia sobre las comunidades de artrópodos de dosel (Wimp et al., 2004; Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b; Tovar-Sánchez et al., 2013), microorganismos del suelo (Schweitzer et al., 2008), invertebrados acuáticos (LeRoy et al., 2006), hongos micorrízicos (Sthultz et al., 2009) y plantas del sotobosque (Adams et al., 2011). Asimismo, procesos ecosistémicos como el reciclaje de nutrientes (Schweitzer et al., 2008), producción primaria (Crutsinger et al., 2006) y estabilidad del ecosistema (Keith et al., 2010) son afectados por la genética de las especies fundadoras.

Por su dominancia y características arquitectónicas y funcionales, los encinos juegan un rol ecológico fundamental en muchos ecosistemas forestales (e.g., representan el hábitat de una gran diversidad de especies, regulan condiciones microclimáticas, participan en el balance hídrico, ciclaje de nutrientes, etc. Lowe et al., 2004), por lo que varias de sus especies (entre ellas *Q. castanea*) podrían considerarse como especies fundadoras. El patrón general sobre la respuesta de la comunidad de insectos endófagos a la genética de la planta hospedera encontrado en este trabajo (ver Capítulo III) coincide con lo reportado en otras especies fundadoras [e.g., álamos (Wimp et al., 2004, 2005, 2007; Keith et al., 2010),

saucos (e.g., Hochwender y Fritz, 2004), eucaliptos (Dunguey et al., 2000; Barbour et al., 2009) y encinos (Tovar-Sánchez y Oyama, 2006b; Tovar-Sánchez et al., 2013)]. Sin embargo, algunos autores ponen en duda la generalidad de estos patrones, debido a que varios de estos estudios se han hecho en jardines experimentales, en cuyo caso los genotipos provienen de amplias zonas geográficas, situación que podría sobreestimar la influencia de la diversidad genética al reducir la variación ambiental (Tack et al., 2010, 2011). Sin embargo, existen varios casos en donde los resultados obtenidos en jardines experimentales han sido corroborados en condiciones naturales [e.g., eucaliptos (Whitham et al., 1999; Dungey et al., 2000) y álamos (Wimp et al., 2004, 2005; Bangert et al., 2006)]. También se ha criticado el hecho de las especies de plantas hospederas que se utilizan como sistemas de estudio presentan altos niveles de diversidad genética y que las comunidades asociadas que se estudian son altamente sensibles a la genética de las plantas hospederas porque están estrechamente relacionadas a ellas (Tack et al., 2010, 2011). En una revisión reciente Whitham y colaboradores (2012) reportaron que de 75 comunidades examinadas en todo el mundo, 64 respondieron significativamente a la diversidad genética de una especie de planta focal única. Las especies de plantas incluyeron árboles tropicales y templados, arbustos de dunas costeras, coníferas boreales, pastos marinos, herbáceas alpinas, entre otras. Asimismo, las comunidades que respondieron significativamente a la diversidad genética incluyen: artrópodos, hongos endófitos, micorrizas, plantas epífitas y terrestres y microorganismos de suelo. Estos resultados sugieren que una perspectiva genética de la comunidad puede ser aplicable en sistemas de estudio con características diversas y aunque la importancia de la diversidad genética puede variar entre especies, es un factor que debe ser considerado en estudios ecológicos.

Estudios como el presentado aquí representan un primer paso para el reconocimiento de los efectos de la diversidad genética a nivel de comunidades. Sin embargo, el siguiente paso sería evaluar la importancia de la diversidad genética en comparación con otros factores ecológicos que modifican la estructura de las comunidades y que típicamente han sido considerados en estudios ecológicos [e.g., variación ambiental abiótica, disturbios, depredación, competencia, etc. (Hunter y Price, 1992)]. De acuerdo con Hersch-Green y colaboradores (2011), este tipo de estudios podría incluir experimentos de campo multifactoriales, en donde el genotipo de la planta y al menos otro factor ecológico pudieran ser evaluados. De esta manera se podría cuantificar la cantidad de variación en la comunidad explicada por el genotipo, otros factores ecológicos y la interacción entre ellos.

CONCLUSIONES GENERALES

Con base en los resultados generales, se formulan las siguientes conclusiones:

1. Independientemente del tipo de marcador (nSSRs, cpSSRs) o parámetro de diversidad genética usado, las poblaciones simpátricas de *Q. castanea* mostraron los valores más altos de diversidad genética en comparación a la población alopátrica.
2. Los más altos niveles de diferenciación genética fueron encontrados con los marcadores de cloroplasto (cpSSRs) en comparación con los nucleares (nSSRs).
3. Se encontró una relación positiva y significativa entre la diversidad genética de *Q. castanea* y el número de especies de encinos rojos creciendo en simpatría con esta especie.
4. Los resultados soportan la hipótesis de que las poblaciones de *Q. castanea* que se desarrollan en condiciones simpátricas con un mayor número de especies de encinos rojos presentan mayor diversidad genética debido a posibles fenómenos de hibridación introgresiva.
5. *Q. castanea* mostró evidencia genética que indica que está involucrada en fenómenos de hibridación con *Q. crassipes*, *Q. laurina* y *Q. crassifolia*.
6. La presencia, frecuencia y proporciones de mezcla entre las diferentes combinaciones de *Q. castanea* y especies asociadas difiere entre localidades.
7. La coexistencia de *Q. castanea* y otros encinos rojos no es condición suficiente para que haya flujo genético interespecífico.

8. El contexto ecológico local influye sobre la dinámica y el resultado del contacto entre *Q. castanea* y especies de encinos rojos asociados.
9. La riqueza y diversidad de especies de insectos endófagos mostraron una relación positiva y significativa con la diversidad genética de *Q. castanea*.
10. Diferencias en la proporción de genotipos (puros e híbridos) y la variación en las características de resistencia en respuesta a la variación ambiental pueden ser los factores responsables de las diferencias en los niveles de infestación entre poblaciones de *Q. castanea*.
11. Un enfoque general y eficiente para conservar la biodiversidad en los ecosistemas consiste en reconocer la influencia de la diversidad genética de las especies de plantas fundadoras.

PERSPECTIVAS

El presente estudio reveló que *Q. castanea* es parte de un grupo de especies de encinos rojos mexicanos que intercambian genes de forma natural y que por sus atributos de especie fundadora, sus niveles de diversidad genética pueden tener influencia sobre sus comunidades asociadas. Estos resultados abren la posibilidad de abordar diferentes temas de investigación. Por ejemplo, sería interesante evaluar la influencia de la hibridación sobre las características foliares macro y micromorfológicas de *Q. castanea*. Otro aspecto importante es determinar si efectivamente *Q. mexicana* no hibrida con *Q. castanea* o si los eventos son raros y debido al muestreo no fue posible detectarlos. Para probar estas hipótesis sería necesario un muestreo más exhaustivo de los sitios incluidos en este estudio e incluso el estudio de otros sitios en donde ambas especies habiten en simpatria. También sería importante determinar los niveles de hibridación, la dirección de la introgresión y su impacto en los niveles de diversidad genética de las otras especies de encinos rojos que coexisten con *Q. castanea* y que forman parte de este sistema híbrido multiespecies. Asimismo, un monitoreo detallado de la fenología de las especies, experimentos de polinización y el análisis de la dirección de la misma mediante análisis de paternidad a nivel local, podrían ser de utilidad para identificar barreras al flujo genético interespecífico entre *Q. castanea* y especies asociadas. Finalmente, experimentos de campo, en donde el genotipo de *Q. castanea* y al menos otro factor ecológico (e.g., variación ambiental abiótica, disturbios, depredación, competencia, entre otros) pudieran ser evaluados, serían de gran valor para cuantificar la cantidad de variación en la comunidad de insectos endófagos es explicada por el genotipo del árbol hospedero, otros factores ecológicos y la interacción entre ellos.

LITERATURA CITADA

- Abadie, P., Roussel, G., Dencausse, B., Bonet, C., Bertocchi, E, Louvet JM, Kremer A, Gemiere-Gére P. (2012) Strength, diversity and plasticity of postmating reproductive barriers between two hybridizing oak species (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl.). *J. Evol. Biol.* 25: 157–173.
- Acosta, C.A. (2008) Estructura genética comparada en poblaciones de *Quercus castanea* y *Q. desertícola*, en sitios conservados y perturbados en la Cuenca de Cuitzeo, Michoacán, México. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México
- Adams, R.I., Goldberry, S., Whitham, T.G., Zinkgraf, M.S., Dirzo, R. (2011) Hybridization among dominant tree species correlates positively with understory plant diversity. *Am. J. Bot.* 98: 1623–1632.
- Aguilar, J.M., Boecklen, W.J. (1992) Patterns of herbivory in the *Quercus grisea* × *Quercus gambelii* species complex. *Oikos* 64: 498–504.
- Albarrán-Lara, A.L., Mendoza-Cuenca, L., Valencia-Avalos, S., González-Rodríguez, A., Oyama, K. (2010) Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and introgression between *Quercus magnoliifolia* and *Quercus resinosa* (Fagaceae) through an altitudinal gradient in Mexico. *Int. J. Plant Sci.* 171: 310–322.
- Aldrich PR, Jagtap M, Michler CH, Romero-Severson J. (2003) Amplification of North American red oak microsatellite markers in European white oaks and Chinese chestnut. *Silvae Genet.* 52: 176–179.
- Alvarado-Dávalos, L.G. (2014) Evaluación a escala fina de los efectos de un sistema de tala sobre la viabilidad poblacional de *Quercus castanea* en la Cuenca del lago Cuitzeo (Michoacán, México). Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. Morelia, Michoacán, México.
- Ananthakrishnan, T.N. (1984) Biology of gall insects. T.N Ananthakrishnan (ed.) Oxford-IBH. Nueva Deli, Estados Unidos.

- Antoniovics, J. (1992) Toward community genetics. En: Plant Resistance to Herbivores and pathogens: Ecology, Evolution, and Genetics (Fritz, R.S. and Simms, E.L., eds), pp.195–215, University of Chicago Press, Chicago, Illinois. Estados Unidos.
- Arnold, M.L. (1992) Natural hybridization as an evolutionary process. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 23: 237–261.
- Bangert, J.K., Whitham, T.G. (2007) Genetic assembly rules and community phenotypes. *Evol. Ecol.* 21: 549–560.
- Bangert, J.K., Turek, R.J., Martinsen, G.D., Wimp, G.M., Bailey, J.K., Whitham, T.G. (2005) Benefits of conservation of plant genetic diversity on arthropod diversity. *Conserv. Biol.* 19: 379–390.
- Bangert J.K., Allan, G.J., Turek, R.J., Wimp, G.M., Meneses, N., Martinsen, G.D., Keim, P., Whitham T.G. (2006) From genes to geography: a genetic similarity rule for arthropod community structure at multiple geographic scales. *Mol. Ecol.* 15: 4215–4228.
- Bangert J.K., Lonsford, E.V., Wimp, G.M., Shuster, S.M., Fischer, D., Schweitzer, J.A., Allan, G.J., Bailey, J.K., Whitham, T.G. (2008) Genetic structure of a foundation species: scaling community phenotypes from the individual to the region. *Heredity* 100: 121–131.
- Bailey, J.P., Schweitzer, J.A., Rehill, B.J., Lindroth, R.L., Martinsen, G.D., Whitham, T.G. (2004) Beavers as molecular geneticists: a genetic basis to the foraging of an ecosystem engineer. *Ecology* 85: 603–608.
- Bailey, J.P., Wooley, S.C., Lindroth, R.L., Whitham, T.G. (2006) Importance of species interactions to community heritability: a genetic basis to trophic level interactions. *Ecol. Lett.* 9: 78–85.
- Barbour, R.C., O'Reilly-Wapstra, J.M., De Little, D.W., Jordan, G.J., Steane, D.A. (2009) A geographic mosaic of genetic variation within a foundation tree species and its community-level consequences. *Ecology* 90: 1762–1772.
- Boavida, L. C., Silva, J. P., Feijó, J. A. (2001) Sexual reproduction in the cork oak (*Quercus suber* L). II. Crossing intra-and interspecific barriers. *Sex. Plant Reprod.* 14: 143–152.
- Boecklen, W.J., Spellenberg, R. (1990) Structure of herbivore communities in two oak (*Quercus* spp.) hybrid zones. *Oecologia* 85: 92–100.
- Burger, W. C. (1975). The species concept in *Quercus*. *Taxon* 45–50.

- Cavender-Bares, J., Pahlich, A. (2009) Molecular, morphological, and ecological niche differentiation of sympatric sister oak species, *Quercus virginiana* and *Q. geminata* (Fagaceae). *Am. J. Bot.* 96: 1690–702.
- Challenger, A. (1998) Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: pasado, presente y futuro. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.
- Cornell, H.V. (1990) Survivorship, life history, and concealment: a comparison of leaf miners and gall formers. *Am. Nat.* 136: 581–597.
- Cottam, W. P., Tucker, J. M., Santamour, F. S. (1982) Oak hybridization at the University of Utah (No. 1). State Arboretum of Utah. Salt Lake City, Estados Unidos.
- Crutsinger, G.M., Souza, L., Sanders, N.J. (2008) Intraspecific diversity and dominant genotypes resist plant invasions. *Ecol. Lett.* 11: 16–23.
- Crutsinger, G.M., Collins, M.D., Fordyce, J.A., Gompert, Z., Nice, C.C., Sanders, N.J. (2006) Plant genotypic diversity predicts community structure and governs an ecosystem process. *Science* 313: 966–968
- Curtu, A.L., Gailing, O., Finkeldey, R. (2007) Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community. *BMC Evol. Biol.* 7: 218.
- Curtu, A.L., Gailing, O., Finkeldey, R. (2009) Patterns of contemporary hybridization inferred from paternity analysis in a four-oak-species forest. *BMC Evol. Biol.* 9: 284.
- Dawkins, R. (1982) The extended phenotype. Oxford University Press. New York, Estados Unidos.
- Dodd, R. S., Afzal-Rafii, Z. (2004) Selection and dispersal in a multispecies oak hybrid zone. *Evolution* 58: 261–269.
- Dumolin-Lapègue, S., Demesure, B., Petit, R. J. (1995) Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theor. Appl. Genet.* 91: 1253–1256.
- Dungey, H.S., Potts, B.M., Whitham, T.G., Li, H-F. (2000) Plant genetics affects arthropod community richness and composition: evidence from a synthetic eucalypt hybrid population. *Evolution* 54: 1938–1946.

- Ducouso, A., Michaud, H., Lumaret, R. (1993) Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. Ann. Sci. For. Suppl. 50: 91s–106s.
- Ellison, A., Bank, M.S., Clinton, B.D., Colburn, E.A., Elliott, K., Ford, C.R., Foster, D.R., Kloeppe, B.D., Knoepp, J.D., Lovett, G.M., Mohan, J., Orwig, D.A., Rodenhouse, N.L., Sobczak, W.V., Stinson, K.A., Stone, J.K., Swan, C.M., Thompson, J., Holle, B.V., Webster, J.R. (2005) Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. Front. Ecol. Environ. 3: 479–486.
- Endler, J.A. (1977) Geographic Variation, Speciation and Clines. Princeton University Press. Princeton, Estados Unidos.
- Fisher, R.A. (1939) The Genetical Theory of Natural Selection. Oxford University Press Oxford, Estados Unidos.
- Floate, K.D., Whitham, T.G. (1993) The “hybrid bridge” hypothesis: Host shifting via plant hybrid swarms. Am. Nat. 4: 651–652.
- Fritz, R. S. (1999) Resistance of hybrid plants to herbivores: genes, environment, or both? Ecology 80: 382–391.
- Fritz, R.S., Nichols-Orians, C.M., Brunsfeld, S.J. (1994) Interspecific hybridization of plants and resistance to herbivores: hypotheses, genetics, and variable responses in a diverse community. Oecologia 97: 106–117.
- Fritz, R.S., Roche, B.M., Brunsfeld, S.J. (1998) Genetic variation in a resistance of hybrid willows to herbivore. Oikos 83: 117–128.
- Fritz, R.S., Roche, B.M., Brunsfeld, S.J., Orians, C.M. (1996) Interspecific and temporal variation in herbivores responses to hybrid willows. Oecologia 108: 121–129.
- Glynn, C., Rönnerberg-Wästljun, A., Julkunen-Tiitto, R., Weih, M. (2004) Willow genotype, but not drought treatment, affects foliar phenolic concentrations and leaf-beetle resistance. Entomol. Exp. Appl. 113: 1–14.
- González-Rodríguez A, Oyama K. (2005) Leaf morphometric variation in *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing Mexican red oaks. Bot. J. Linn. Soc. 147: 427–435.
- González-Rodríguez, A., Arias, D.M., Valencia, S., Oyama, K. (2004) Morphological and RAPD analysis of hibridization between *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two Mexican red oaks. Am. J. Bot. 91: 401–409.

- Hartley, S.E. (1998) The chemical composition of plant galls: are levels of nutrients and secondary compounds controlled by the gall-former? *Oecologia* 113: 492–501.
- Herrera-Arroyo ML (2013) Efectos de la fragmentación del hábitat en la diversidad y estructura genética de poblaciones de *Quercus castanea* Née, en la cuenca de Cuitzeo, Michoacán. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. Morelia, Michoacán. México.
- Hersch-Green, E.I., Turley, N.E., Johnson, M.T.J. (2011) Community genetics: what have we accomplished and where should we be going? *Phil. Trans. R. Soc. B.* 366: 1453–1460.
- Hunter, M.D., Varley, G.C., Gradwell, G.R. (1997) Estimating the relative roles of top-down and bottom-up forces on insect herbivore populations: A classic study revisited. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 9176–9181.
- Hochwender, C.G., Fritz, R.S. (2004) Plant genetic differences influence herbivore community structure: evidence from a hybrid willow system. *Oecologia* 138: 547–557.
- Hughes, A.R., Inouye, B.D., Johnson, T.J., Underwood, N., Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity. *Ecol. Lett.* 11: 1–15.
- Hunter, M.D., Price, P.W. (1992) Playing chutes and ladders: heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. *Ecology* 73: 724–732.
- Hunter, M.D., Varley, G.C., Gradwell, G.R. (1997) Estimating the relative roles of top-down and bottom-up forces on insect herbivore populations: A classic study revisited. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 9176–9181.
- Johnson, M.T.J. (2011) The contribution of evening primrose (*Oenothera biennis*) to a modern synthesis of evolutionary ecology. *Popul. Ecol.* 53: 9–21.
- Johnson, M.T.J., Stinchcombe, J.R. (2007) An emerging synthesis between community ecology and evolutionary biology. *Trends Ecol. Evol.* 22: 250–257.
- Kalinowski, S. T. (2005). hp-rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Mol. Ecol. Notes* 5: 187–189.
- Lagache, L., Klein, E. K., Guichoux, E., Petit, R. J. (2013). Fine-scale environmental control of hybridization in oaks. *Mol. Ecol.* 22:423–436.

- Lambert, L., McPherson, R.M., Espelie, K.E. (1995) Soybean host plant resistance mechanisms that alter abundance of white-flies (Homoptera: Alyrodidae). *Environ. Ecol.* 24: 1381–1386.
- Lepais, O., Roussel, G., Hubert, A., Kremer, A., Gerber, S. (2013) Strength and variability of postmating reproductive isolation barriers between four European white oak species. *Tree Genet. Genomes* 9:841–853.
- Lepais, O., Petit, R. J., Guichoux, E., Lavabre, J. E., Alberto, F., Kremer, A., Gerber, S. (2009) Species relative abundance and direction of introgression in oaks. *Mol. Ecol.* 18: 2228–2242.
- Loveless, M.D., Hamrick, J.L. (1984) Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 65–95.
- Lowe, A., Harris, S., Ashton, P. (2004) *Ecological genetics: design, analysis and application*. Blackwell Publishing. Oxford, Reino Unido.
- Lowe, A.J., Boshier, D., Ward, M., Bacles, C.F., Navarro, C. (2005) Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity* 95:255–273.
- Martinsen, G.D., Whitham, T.G. (1994) More birds nest in hybrid cottonwoods. *Wilson Bull.*, 106: 474–481.
- Mir, C., Jarne, P., Sarda, V., Bonin, A., Lumaret, R. (2009) Contrasting nuclear and cytoplasmic exchanges between phylogenetically distant oak species (*Quercus suber* L. and *Q. ilex* L.) in Southern France: inferring crosses and dynamics. *Plant Biol.* 11: 213–226.
- Moran, E. V., Willis, J., Clark, J. S. (2012) Genetic evidence for hybridization in red oaks (*Quercus* sect. *Lobatae*, Fagaceae). *Am. J. Bot.* 99: 92–100.
- Muir, G., Fleming, C.C., Schlötterer, C. (2000) Species status of hybridizing oaks. *Nature* 405: 67–90.
- Nason, J.D. (2002) La estructura genética de las poblaciones de árboles. En: *Ecología y Conservación de los Bosques Neotropicales*, (Guariguata, M.R., Kattan, G.H. eds.), pp. 299–328, Ediciones LUR. Cartago, Costa Rica.
- Neuhauser, C., Andow, D.A., Heimpel, G.E., May, G., Shaw, R.G. (2003) Community genetics: expanding the synthesis of ecology and genetics. *Ecology* 84: 545– 558.

- Nixon, K. C. (1993) Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names: *Ann. Sci. For.* 50: 25–34.
- Olrik, D., Kjær, E.D. (2007) The reproductive success of a *Q. petraea* × *Q. robur* F1-hybrid in back crossing situations. *Ann. For. Sci.* 64:37–46.
- Peñaloza-Ramírez, J. M., González-Rodríguez, A., Mendoza-Cuenca, L., Caron, H., Kremer, A., Oyama, K. (2010) Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Ann. Bot.* 105: 389–399.
- Pujade-Villar, J., Equihua-Martínez, A., Estrada-Venegas, E.G., Changoyán-García, C. (2009) Estado del Conocimiento de los Cynipini (Hymenoptera: Cynipidae) en México: Perspectivas de Estudio. *Neotropical Entomol.* 38: 809–821.
- Rangel, S.R., Zenteno, E.C.R., R., Enríquez, M.D. (2002). El Género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 89:551–593.
- Ridley M. (2004) *Evolution*. Blackwell Science. Malden, MA, USA.
- Rieseberg, L.H., Ellstrand, N.C. (1993) What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization? *Crit. Rev. Plant Sci.* 12, 213–241.
- Rushton, B. S. (1993) Natural hybridization within the genus *Quercus* L. *Ann. Sci. For.*, 50:73–90.
- Salvini, D., Bruschi, P., Fineschi, S., Grossoni, P., Kjær, E.D., Vendramin, G.G. (2009) Natural hybridisation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. within an Italian stand as revealed by microsatellite fingerprinting. *Plant Biol.*, 11: 758–765.
- Sarfraz, M., Dossdall, L.M., Keddie, B.A. (2008) Host plant genotype of the herbivore *Plutella xylostela* (Lepidoptera: Plutellidae) affects the performance of its parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Biol. Control* 44: 42–51.
- Schweitzer, J.A., Bailey, J.K., Fischer, D.G., LeRoy, C.J., Lonsford, E.V., Whitham, T.G., Hart, S.C. (2008) Plant-soil microorganisms interactions: a heritable relationship between plant genotype and associated soil microorganisms. *Ecology* 89: 773–781.
- Shuster, S.M., Lonsdorf, E.V., Wimp, G.M., Bailey, J.K., Whitham, T.G. (2006) Community heritability measures the evolutionary consequences of indirect genetic effects on community structure. *Evolution* 60: 991–1003.

- Stultz, C.M., Whitham, T.G., Kennedy, K., Deckert, R., Gehring, C.A. (2009) Genetically based susceptibility to herbivory influences the ectomycorrhizal fungal communities of a foundation tree species. *New Phytol.* 184: 657–667.
- Stone, G. N., Schönrogge, K., Atkinson, R. J., Bellido, D., Pujade-Villar, J. (2002). The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). *Ann. Rev. Entomol.*, 47: 633–668.
- Strauss, S.Y. (1994) Levels of herbivory and parasitism in host hybrid zones. *Trends Ecol. Evol.*, 9: 209–214.
- Storfer, A. (1999) Gene flow and local adaptation in a sunfish-salamander system. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 46: 273–279.
- Streiff, R., Labbé, T., Bacilieri, R., Steinkellner, H., Glöss, J., Kremer, A. (1998) Within population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. assessed with isozymes and microsatellites. *Mol. Ecol.* 7: 317–328.
- Tack, A.J., Johnson, M.T.J., Roslin, P. (2011) Sizing up community genetics: it's a matter of scale. doi: 10.1111/j.1600-0706.2011.19926.x.
- Tack, A.J., Ovaskainen, O., Pulkkinen, P., Roslin, T. (2010) Spatial location dominates over host plant genotype in structuring an herbivore community. *Ecology* 91: 2660–2672.
- Tovar-Sánchez, E., Mussali-Galante, P., Esteban-Jiménez, R., Piñero, D., Arias, D.M. et al. (2008) Chloroplast DNA polymorphism reveals geographic structure and introgression in the *Quercus crassipes* × *Quercus crassifolia* hybrid complex in Mexico. *Botany* 86:228–239.
- Tovar-Sánchez, E., Oyama, K. (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.
- Tovar-Sánchez, E., Oyama, K. (2006a) Community structure of canopy arthropods associated en *Quercus crassifolia* × *Quercus crassipes* complex. *Oikos* 112: 370–381.
- Tovar-Sánchez, E., Oyama, K. (2006b) Effect of hybridization of the *Quercus crassifolia* × *Quercus crassipes* complex on the community structure on endophagous insects. *Oecologia* 147: 702–713.
- Tovar-Sánchez, E., Valencia-Cuevas, L., Castillo-Mendoza, E., Mussali-Galante, P., Pérez-Ruíz, R.V. (2013) Association between individual genetic diversity of two oak host

- species and canopy arthropod community structure. *Eur. J. Forest Res.*, DOI 10.1007/s10342-012-0665-y.
- Valbuena-Caraña, M., González-Martínez, S. C., Hardy, O. J., Gil, L. (2007) Fine-scale spatial genetic structure in mixed oak stands with different levels of hybridization. *Mol. Ecol.*, 16: 1207–1219.
- Valencia, S. (1994) Contribución a la delimitación taxonómica de tres especies del género *Quercus* subgénero *Erythrobalanus*: *Q. laurina* Humboldt et Bonpland, *Q. affinis* Scheidweiler y *Q. ghiesbregthii* Martens et Galeotti. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF.
- Valencia, S. (1995) Contribución al conocimiento del género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de Guerrero, México. *Contribuciones del Herbario de la Facultad de Ciencias No. 1*, Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF.
- Valencia, S. (2004) Diversidad del género *Quercus* en México. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 75:33–53.
- Valencia-Cuevas, L. (2006) Variación morfológica y genética del complejo *Quercus affinis*- *Q. laurina* (Fagaceae) en un gradiente latitudinal en México. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF.
- Van Valen, L. (1976). Ecological species, multispecies, and oaks. *Taxon* 233–239.
- Vellend, M., Geber, M.A. (2005) Connections between species diversity and genetic diversity. *Ecol. Lett.* 8: 767–781.
- Whitham, T. G., Bailey, J.K., Scheweitzer, J.A., Shuster, S.M., Bangert, R.K., LeRoy, C.J., Lonsdorf, E.V., Allan, G.J., DiFazio, S.P., Potts, B.M., Fischer, D.C., Gehrig, C.A., Lindroth, R.L., Marks, J.C., Hart, S.C., Wimp, G.M., Wooley, S.C. (2006) A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. *Nature* 7: 510–523.
- Whitham, T.G., Gehring C.A., Lamit, L.J., Wojtowicz, T., Evans, L.M., Keith A.R, Smith, D.M. (2012) Community specificity: life and afterlife effects of genes. *Trends Plant. Sci.* 17: 271–281.
- Whitham, T. G., Martinsen, G.D., Floate, K.D., Dungey, H.S., Potts, B.M., Keim, P. (1999) Plant hybrid zones affect biodiversity: tools for a genetic based understanding of community structure. *Ecology* 80: 416–428.

- Whitham, T. G., Morrow, P.A., Potts, B.M. (1994) Plant hybrid zones as centers of biodiversity: the herbivore community of two endemic Tasmanian eucalypts. *Oecologia* 97: 481–490.
- Whitham, T. G., Young, W.P., Martinsen, G.D., Gering, C.A., Scheweitzer, J.A., Shuster, S.M., Wimp, G.M., Fischer, D.C., Bailey, J.K., Lindroth, R.L., Woolbright, S., Kuske, R. (2003) Community and ecosystem genetics: a consequence of the extended phenotype. *Ecology* 84: 559–573.
- Whittemore, A. T., Schaal, B. A. (1991) Interspecific gene flow in sympatric oaks. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 88: 2540–2544.
- Williams, J. H., Boecklen, W. J., Howard, D. J. (2001) Reproductive processes in two oak (*Quercus*) contact zones with different levels of hybridization. *Heredity* 87: 680–690.
- Wimp, G.M., Martinsen, G.D., Floate, K.D., Bangert, R.K., Whitham, T.G. (2005) Conserving plant genetic diversity for dependent animal community structure and diversity. *Evolution* 59: 61–69.
- Wimp, G.M., Wooley, S., Bangert, K., Young, W.P., Martinsen, G.D., Keim, P., Rehill, B., Lindroth, R.L., Whitham, T.G. (2007) Plant genetics intra-annual variation in phytochemistry and arthropod community structure. *Mol. Ecol.* 16: 5057–5069.
- Wimp, G.M., Young, P.W., Woolbright, S.A., Martinsen, G.D., Keim, P., Whitham, T.G. (2004) Conserving plant genetic diversity for dependent animal communities. *Ecol. Lett.* 7: 776–780.
- Wymore, A.S., Keeley, A.T.K., Yturralde, K.M., Schroer, M.L., Propper, C.R. (2011) Genes to ecosystems: exploring the frontiers of ecology with one of the smallest biological units. *New Phytol.* 191: 19–36.
- Whitney, K.D., Ahern, J.R., Campbell, L.G., Albert, L.P., King, M.S. (2010) Patterns of hybridization in plants. *Perspect. Plant Ecol.* 12: 175–182.
- Yarnes, C.T., Boecklen, W.J., Salminen, J. (2008) No simple sun: seasonal variation in tannin phenotypes and leaf-miners in hybrid oaks. *Chemoecology* 18: 39–51.
- Young, A., Boyle, T., Brown, T. (1996) The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends Ecol. Evol.* 11: 413–418.