



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**
FACULTAD DE CIENCIAS
SISTEMÁTICA

**Análisis de la diversidad genética de tres especies del género
Quercus sección *Lobatae*, del grupo *Acutifoliae* (Fagaceae).**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
OSCAR ANGEL DE LUNA BONILLA

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DRA. SUSANA VALENCIA ÁVALOS
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y
SUSTENTABILIDAD, UNAM
DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD Y
CONSERVACIÓN, UAEM

CD. MX. MAYO, 2018



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 está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (Méjico).

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
FACULTAD DE CIENCIAS
SISTEMÁTICA

**Análisis de la diversidad genética de tres especies del género
Quercus sección *Lobatae*, del grupo *Acutifoliae* (Fagaceae).**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
OSCAR ANGEL DE LUNA BONILLA

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DRA. SUSANA VALENCIA ÁVALOS
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y
SUSTENTABILIDAD, UNAM
DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD Y
CONSERVACIÓN, UAEM

MÉXICO, CD. MX. MAYO, 2018



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN ACADÉMICA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

COORDINACIÓN

OFICIO FCIE/DAIP/481/2018

ASUNTO: Oficio de Jurado

Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente.

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el dia 23 de abril de 2018 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Sistemática** del (la) alumno(a) **DE LUNA BONILLA OSCAR ANGEL** con número de cuenta 303035909 con la tesis titulada "**Análisis de la diversidad genética de tres especies del género Quercus sección Lobatae, del grupo Acutifoliae (Fagaceae)**", realizada bajo la dirección del (la) DRA. SUSANA VALENCIA ÁVALOS:

Presidente: DR. JAIME JIMÉNEZ RAMÍREZ
Vocal: DR. LEONARDO OSVALDO ALVARADO CÁRDENAS
Secretario: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
Suplente: DR. EDUARDO RUIZ SÁNCHEZ
Suplente: DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ

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

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 11 de mayo de 2018

DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
Coordinador del Programa

AGNS/VMVA/ASR/grf*

Agradecimientos institucionales

Agradezco profundamente al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, permitirme la oportunidad de crecer académica y personalmente con su programa de maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero brindado durante mis estudios de maestría mediante su programa de becas nacionales.

Al apoyo económico de CONACYT mediante el Proyecto CONACYT Ciencia Básica “Patrones de distribución y filogeografía comparada de especies del género *Quercus* en México y Centroamérica” (2016-2018).

Al proyecto PAPIIT modalidad e: “Estudios biogeográficos, ecofisiológicos y genético-moleculares para la construcción de un macrosistema para la conservación de los bosques templados de México” (2015-2017).

A mi tutora la Dra. Susana Valencia Ávalos, por su excelente guía a través de todos mis estudios, además de su incondicional apoyo y entusiasmo para la contribución al conocimiento del género *Quercus*.

Al Dr. Antonio González Rodríguez por el enorme apoyo brindado durante toda la realización del proyecto, su acertada guía y comentarios para llevar a término este proyecto.

Al Dr. Efraín Tovar Sánchez por su disposición en todo momento a aportar al proyecto, así como sus cuestionamientos y observaciones metodológicas y en los resultados obtenidos.

A la Mae. Arodi Monserrat Ferrara Ríos por su excelente guía en todos los análisis de morfometría geométrica.

A M. en F.P. Ana Isabel Bieler Antolín la por la ayuda para la obtención de las imágenes digitales del proyecto.

Al M. en C. Saddan Morales Saldaña por el apoyo en las salidas de campo y en la elaboración de los mapas.

Al M en C. Gonzalo Contreras Negrete, por su apoyo en las colectas y valiosos comentarios en los análisis moleculares.

A mi jurado, el Dr. Jaime Jiménez Ramírez, Dr. Leonardo Osvaldo Alvarado Cárdenas, Dr. Antonio González Rodríguez, Dr. Eduardo Ruiz Sánchez y Dr. Efraín Tovar Sánchez, por la revisión del escrito y sus valiosas aportaciones para enriquecerlo.

Agradecimientos a título personal

En primera instancia a la Dra. Susana Valencia, quien a lo largo de 5 años ha sido fundamental en mi formación académica y que se convirtió también en confidente y a quien siempre pido consejo, gracias una vez más por regalarme una pasión tan grande como son los encinos e impulsarme siempre a ser una mejor persona.

A mis padres, por apoyarme incondicionalmente y por entregarme todo su cariño. En esta nueva etapa de mi vida solo deseo honrar todo aquello que con su amor sembraron en mí todo el tiempo que compartimos en casa. Los extraño y los amo.

A mis hermanos y sobrinos, mi familia que siempre me llenan de alegría y felicidad cuando estoy con ustedes, y a la distancia siempre tengo una sonrisa y hermoso sentimiento cuando pienso en ustedes.

Especialmente a mi Vis querida, hermanita muchas gracias por ser mi amiga incondicional y por todo el apoyo que me brindas, por siempre estar al pendiente de mí y por crecer juntas, te amo manita.

A mis hermanos de la vida Fla, Gogo y Dari, por estar siempre para mí y no dejarme solo acá lejos, venir a visitarme y enriquecer la amistad con el paso de los años.

A mis amigos ya no frecuentados pero no olvidados George, Moy, Marcelo, Iván, Lalis, Elyana, la distancia y el tiempo no nos favorecen pero acá seguimos.

A los Simios Mariana y Marisa, y especialmente a mis compadres tacuachones; Gon, gracias por prestarme un catre, tu casa y ahora tu amistad y Saddan, mi compadre de ya varios años, gracias por tu amistad y pláticas locochonas de encinos y por siempre echarme la mano.

Finalmente a mi compañera de aventura, la mujer que complementa mi vida y que día a día me entrega todo su amor y comprensión, que me da tanta alegría y que me ha dado el mayor regalo de la vida, una familia, la más hermosa y por la que vale la pena todo el esfuerzo diario. Ha sido difícil el camino, pero juntos lo hemos logrado y lo seguiremos haciendo hasta el final de nuestras vidas
Gracias por cambiar mi vida, te amo Marisa.

*A mi mayor regalo, mi inspiración, mi
guerrero, mi angelito.*

A mi Tadeo...

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT	1
I.-INTRODUCCIÓN	3
1.1 Género <i>Quercus</i>	3
1.2 <i>Lobatae</i>	4
II.-ANTECEDENTES.	5
2.1 <i>Acutifoliae</i>	5
2.2 Diversidad genética en el género <i>Quercus</i> .	9
2.3 Hibridación	11
2.4 Morfometría geométrica en <i>Quercus</i>	14
III.- JUSTIFICACIÓN	16
IV.- HIPÓTESIS	17
V.- OBJETIVOS	17
Objetivo General	17
Objetivos Particulares	17
VI.- MATERIALES Y MÉTODO	19
6.1 Especies de Estudio	19
6.2 Colecta de material biológico	28
6.3 Análisis de laboratorio	32
6.4 Análisis de los datos genéticos	34
5.5 Morfometría geométrica	36

VII.- RESULTADOS	40
7.1 Diversidad genética	40
7.2 Estructura genética	45
7.3 Patrones de estructura genética	48
7.4 Morfometría Geométrica	51
7.5 Relación forma/ambiente	61
7.6 Relación distancias genéticas y morfológicas	64
7.7 Análisis del área foliar	65
VIII.- DISCUSIÓN	70
8.1 Grupo <i>Acutifoliae</i>	70
8.2 Diversidad genética	70
8.3 Estructura genética	71
8.4 Correlación entre la variación morfológica y genética	73
8.5 Morfometría Geométrica	74
8.5 Ambiente vs forma	76
8.6 Importancia de los encinos en el BMM	77
IX.- CONCLUSIONES	79
X.- LITERATURA CITADA	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Diversidad de morfologías foliares representativas en especies bianuales del grupo <i>Acutifoliae</i> , tomado de Valencia-A <i>et al.</i> , (2016). A) <i>Q. meavei</i> , B) <i>Q. grahamii</i> , C) <i>Q. conspersa</i> , D) <i>Q. xalapensis</i> , E) <i>Q. skinneri</i> , F) <i>Q. albocincta</i> y G) <i>Q. uxoris</i> .	7
Figura 2. <i>Quercus sartorii</i> . A) ramilla con hojas. B) fruto (cúpula y nuez). Tomado de Romero (2006).	21
Figura 3. <i>Quercus meavei</i> . A) ramilla con hojas y frutos. B) tricoma. C) bellota. D) yema. E-G diferentes morfologías de la lámina foliar. Tomado de Valencia <i>et al.</i> (2016)	24
Figura 4. <i>Quercus paxtalensis</i> , ramilla con hojas y cúpula de bellota. Tomado de Valencia <i>et al.</i> (2017).	27
Figura 5 Mapa de distribución de los registros de <i>Q. paxtalensis</i> , <i>Q. sartorii</i> y <i>Q. meavei</i> en los herbarios MEXU y FCME	29
Figura 6 Mapa de las poblaciones colectadas, en puntos verdes <i>Q. sartorii</i> (10), en puntos azules <i>Q. paxtalensis</i> (4) y en puntos rojos <i>Q. meavei</i> (4).	30
Figura 7 Gráficos de regresión entre los valores poblacionales de heterocigosis esperada (H_e) y número de alelos efectivos (N_e) vs los valores latitudinales y longitudinales. A) <i>Q. meavei</i> H_e vs latitud ($r = -0.93$; $p = 0.04$), B) <i>Q. meavei</i> H_e vs longitud ($r = 0.87$; $p = 0.08$) y C) <i>Q. paxtalensis</i> N_e vs longitud ($r = -0.85$; $p = 0.04$)	44
Figura 8 Número más probable de grupos genéticos, determinado por el valor más alto de ΔK , calculado mediante el método de Evanno <i>et al.</i> (2005).	49
Figura 9 Histograma que muestra las proporciones de grupos genéticos de las poblaciones, sobre mapa y gráficos de pastel de las proporciones de las poblaciones. En puntos verdes las poblaciones de <i>Q. sartorii</i> , en puntos azules <i>Q. paxtalensis</i> y en puntos rojos <i>Q. meavei</i> .	50
Figura 10 Gráfico de dispersión de puntos de la regresión entre las coordenadas de Procrustes y el centroid size, mostrando las elipses de confianza al 0.9. Azul- <i>Q. sartorii</i> , Verde- <i>Q. paxtalensis</i> , Rojo- <i>Q. meavei</i> . Arriba las formas con asumidas con valores 20, 30 y 40 del tamaño del centroide.	54
Figura 11 A) Gráfico de dispersión de puntos de los dos primeros componentes principales en Azul- <i>Q. sartorii</i> , Verde- <i>Q. paxtalensis</i> , Rojo- <i>Q. meavei</i> . B) Formas que representan valores de -0.1 y 0.1 para el PC1 y PC2, las formas visualizadas son congruentes con las descritas para las tres especies.	56
Figura 12 A) Gráfico de dispersión de puntos de los dos primeros componentes principales de componente asimétrico. B) Formas asociadas en valores de -0.1 y 0.1. para cada componente principal, en azul- <i>Q. sartorii</i> , verde- <i>Q. paxtalensis</i> y rojo- <i>Q. meavei</i>	57
Figura 13 Gráfico de dispersión de puntos con representación de las formas asociadas a las especies. Azul- <i>Q. sartorii</i> , Verde- <i>Q. paxtalensis</i> , Rojo- <i>Q. meavei</i>	59
Figura 14 Histograma de las especies asignadas en la función discriminante, para los grupos definidos a priori.	60
Figura 15. Gráfico de dispersión de puntos entre PLS del bloque uno y las diferentes correlaciones de las formas en valores negativos y positivos. Azul- <i>Q. sartorii</i> , Verde- <i>Q. paxtalensis</i> , Rojo- <i>Q. meavei</i>	63
Figura 16 Gráfico del bloque de variables dos, en forma de vectores las variables bioclimáticas, con dirección y fuerza, acompañados de las posibles formas de las hojas en diferentes escenarios climáticos.	64
Figura 17 Regresión entre los valores corregidos de FST mediante FreeNA vs los valores de las distancias de Mahalanobis poblacionales, ($r = 0.642$; $p = 0.001$).	65
Figura 18 Gráfico de ANOVA del área foliar de las hojas agrupadas por especies, se muestra el error estándar y sobre las barras la agrupación mediante una prueba de Tukey.	66
Figura 19 Análisis de ANOVA entre las poblaciones sometidas a estudio, se muestra el error estándar y sobre las barras las agrupaciones mediante una prueba de Tukey, las barras de color verde corresponden a las poblaciones de <i>Q. sartorii</i> , rojo <i>Q. meavei</i> y azul <i>Q. paxtalensis</i> .	67
Figura 20 Precipitación media anual y localidades colectadas para las tres especies	68

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Especies que conforman el grupo <i>Acutifoliae</i> reconocidas por diferentes autores. La última columna menciona las especies reconocidas en diferentes trabajos por Valencia Ávalos, en cuya circunscripción basamos el presente trabajo.	8
Cuadro 2 Datos geográficos para las poblaciones colectadas de <i>Q. meavei</i> , <i>Q. paxtalensis</i> y <i>Q. sartorii</i> . Los datos incluyen clave de identificación, coordenadas y número de individuos colectados.	31
Cuadro 3 Microsatélites utilizados. Nombre, motivo de la repetición, temperatura de alineamiento (Ta), tamaño en pares de bases de acuerdo a Aldrich (2002), grupos para el presente trabajo.	36
Cuadro 4 Estimación global de la F_{ST} de Weir (1996), sin el uso y con el uso de la corrección de ENA.	40
Cuadro 5 Parámetros de diversidad genética, para las tres especies. Número de alelos (N), número de alelos diferentes (Na), número efectivo de alelos (Ne), índice de Shannon (I), heterocigosis observada (Ho), heterocigosis esperada (He), heterocigosis esperada rarefraccionada (uHe), índice de fijación (F) y porcentaje de loci polimórficos (P%), se muestran los valores totales para cada parámetro por especie. En negritas totales y valores más altos.	42
Cuadro 6 Valores para cada uno de los nueve locus y promedio, para endogamia local (F_{IS}), endogamia global (F_{IT}), coeficiente diferenciación poblacional (F_{ST}) y número de migrantes (Nm).	45
Cuadro 7 AMOVA global y por especie, valores de FST globales y RST para cada especie, con el porcentaje de variación contenido entre poblaciones y dentro de las poblaciones. Suma de cuadrados (SC), media cuadrática (MS) variación estándar (Var. Est.).	46
Cuadro 8 Resultados de la ANOVA de Procrustes para tamaño (CS) y forma (Shape). Suma de cuadrados (SS), media cuadrática (MS), grados de libertad (df), valores de F y P.	52
Cuadro 9 Resultado de la ANOVA de Procrustes por separado para cada una de las tres especies. Suma de cuadrados (SS), media cuadrática (MS), grados de libertad (df), valores de F y P.	53
Cuadro 10 Pruebas para la diferencia entre pendientes e intersecciones alométricas mediante MANCOVA de <i>Q. sartorii</i> , <i>Q. paxtalensis</i> y <i>Q. meavei</i>	55
Cuadro 11 Coeficientes de los PLS del bloque 2	61
Cuadro 12 Valores individuales y de correlación de pares de puntuación PLS entre bloques	62
Cuadro 13 ANOVA de los valores de área foliar entre las tres especies.	66

RESUMEN

El grupo *Acutifoliae* del género *Quercus* se reconoce desde Trelease (1924) y ha albergado una gran cantidad de especies, en particular abordamos tres de ellas con gran complejidad taxonómica y distribuidas a lo largo de la Sierra Madre Oriental, particularmente en bosques mesófilos de montaña y encinares húmedos.

Con el objetivo de evaluar el efecto del gradiente latitudinal y las variables ambientales que se asocian con la diversidad y estructura genética de tres especies del grupo *Acutifoliae*, así como con su identidad morfológica; el presente estudio fue realizado muestreando diez poblaciones de *Q. sartorii*, cuatro poblaciones de *Q. meavei* y cuatro de *Q. paxtalensis*, con diez individuos en promedio por población. Se utilizaron 9 loci de microsatélites nucleares nSSRs y al menos tres hojas por individuo para los análisis de morfometría geométrica. Los valores de diversidad genética fueron relativamente altos para las tres especies ($N_e=4.62$; $H_e=0.701$). La diferenciación genética fue moderada en general ($F_{ST}=0.17$) pero con un alto valor para *Q. paxtalensis* ($R_{ST}=0.23$). Se encontró una fuerte correlación entre los valores de F_{ST} y las distancias de Mahalanobis poblacionales ($r=0.642$; $p=0.001$), lo que indica que las diferencias morfológicas son congruentes con las diferencias genéticas. El número óptimo de grupos genéticos obtenido mediante asignación Bayesiana es coincidente con los grupos definidos *a priori* mostrando solo la población de Calnali, Hidalgo con una mezcla de los tres grupos genéticos. Los análisis morfométricos

precisan límites claros entre las tres especies, patrones alométricos semejantes y una fuerte asociación de la morfología con la precipitación media anual.

Los resultados de diversidad y estructura indican que las poblaciones mantienen un alto flujo genético y mantienen poca estructura, así como una fuerte asociación morfológica, tanto genética como con el ambiente.

ABSTRACT

The group *Acutifoliae* in the genus *Quercus* is recognized from Trelease (1924) and has harbored a large number of species. In particular, we address three of them with great taxonomic complexity and distributed throughout the Sierra Madre Oriental, particularly in mesophilic mountain forests (Cloud Forest) and wet holm oak forests.

In order to assess the effect of the latitudinal gradient and the environmental variables associated with this on the structure and genetic diversity on the three species of the *Acutifoliae* group as well as its morphological identity and the covariation between the genetic diversity and the environmental variables, we sampled ten populations of *Q. sartorii* and four populations of *Q. meavei* and *Q. paxtalensis* respectively, with a mean of ten individuals per population.

We use nine nuclear SSR loci and at least, three leaves per individual for the geometric morphometryc analysis. The genetic diversity values were relatively high for the whole set of species ($N_e = 4.62$, $H_e = 0.701$). The genetic differentiation was moderate for the whole set of species ($F_{ST} = 0.17$), but with a high value for *Q. paxtalensis* ($R_{ST} = 0.23$). We found a strong correlation between the F_{ST} 's values and the Mahalanobis distances at the population level, suggesting that morphological differences are congruent with genetic differences. The optimal number of genetic groups, obtained through the Bayesian assignation method, is coincident with the groups defined a priori, showing only the population of Calnali, Hidalgo with a mixture of the three genetic groups. The morphometric analysis showed clear limits between the three species, similar to

the allometric patterns and a strong association between the morphology and the mean annual precipitation.

The results of structure and genetic diversity showed that the populations keep a high genetic flow as well as a strong morphological association, both genetically and environmentally.

I.-INTRODUCCIÓN

1.1 Género *Quercus*

Las fagáceas se distribuyen en el Hemisferio Norte, dominando las regiones boscosas de climas templados y otras regiones más tropicales (Nixon, 1997; Manos y Stanford, 2001). Dentro de la familia Fagaceae, el género *Quercus* es el más grande y complejo. Generalmente, se reconocen dos centros de diversidad para el género, uno de los cuales es México. De acuerdo con Valencia (2004), en este país se encuentran 161 especies comprendidas en tres secciones: *Lobatae* (encinos rojos), *Protobalanus* (encinos dorados) y *Quercus* (encinos blancos).

Nixon (1993, 2006) y Manos *et al.*, (1999) consideran al género *Quercus* como un grupo monofilético. Mencionan que las sinapomorfías que lo representan son: flores con un solo pistilo, cúpulas sin valvas, estilos decurrentes con las superficies estigmáticas expandidas, inflorescencias unisexuales, si son estaminadas con las flores distribuidas de manera laxa y con polen que posee la exina escabrada. La clasificación infragenérica incluye linajes monofiléticos reconocidos por Manos *et al.* (1999) y Manos y Stanford (2001).

Recientemente las clasificaciones infragenéricas de Loudon (1838, 1839), Ørsted (1871), Trelease (1924), Schwarz (1936), Camus(1936-1938, 1938-1939, 1952-1954), Menitsky(1984) y Nixon (1993) fueron revisadas y reevaluadas por Denk *et al.*, (2017), quienes con base en datos filogenómicos sugieren dos grandes clados; uno comprende los grupos del viejo mundo (sección

Cyclobalanopsis, *Ilex* y *Cerris*) albergados en el subgénero *Cerris* y el otro comprende a tres grupos del nuevo mundo (sección *Protobalanus*, *Virentes* y *Lobatae*) y dos grupos del hemisferio norte (sección *Ponticae* y *Quercus*) albergados en el subgénero *Quercus*.

Los estudios de riqueza de especies en distintas regiones de México aún son incompletos, debido en parte a la complejidad taxonómica del género, resultado de la gran variabilidad morfológica que presentan las especies, inclusive dentro del mismo individuo (Blue y Jensen, 1988; Valencia-A., 2004), así como a la facilidad para generar híbridos interespecíficos que expresan características intermedias o extremas con respecto a sus progenitores y dificultan la identificación de los taxones a nivel específico (Cristofolini y Crema, 2005; Albarrán-Lara *et al.*, 2010; Peñaloza-Ramírez *et al.*, 2010).

1.2 *Lobatae*

La sección *Lobatae* es endémica de América y cuenta con alrededor de 195 especies de acuerdo con Jensen (1997). A las especies de esta sección se les conoce como “encinos rojos” y tienen formas de vida arbustivas o arbóreas, son perennes o caducifolios, con hojas lobuladas o enteras, con margen generalmente dentado y aristado, aunque también puede ser entero; las bellotas son generalmente de maduración bianual, raramente anuales (Aldrich y Cavender-Bares, 2011).

De acuerdo con Valencia-A. (2004), en México se encuentran 76 especies de encinos de la sección *Lobatae*, siendo 61 endémicas del territorio nacional.

En contraste con los encinos blancos se dispone de mucha menos información genética en el caso de los encinos rojos, y se presume que las barreras reproductivas en este grupo sean más débiles que en los encinos blancos (Guttman y Weigt, 1989; Kashani y Dodd, 2002; Aldrich *et al.*, 2003). Por otro lado, Magni *et al.* (2005) menciona que la señal filogeográfica intraespecífica en los encinos rojos es mucho más débil que en encinos blancos europeos, en un trabajo con *Quercus rubra*, a partir del cual también Aldrich *et al.* (2002) caracteriza 15 loci de microsatélites nucleares, finalmente los trabajos de González-Rodríguez *et al.* (2004) sugieren que la variación morfológica no corresponde con la variación molecular en una zona híbrida de *Q. affinis* y *Q. laurina*.

II.-ANTECEDENTES.

2.1 *Acutifoliae*

Dentro de los grandes trabajos taxonómicos realizados en los encinos, el más antiguo que aborda el grupo *Acutifoliae* es el de Trelease (1924) quien propone una clasificación basada en series, una perspectiva que agrupaba morfológicamente algunos grupos de encinos, y que posteriormente Müller (1942) considera como el mejor intento de agrupar especies a niveles infragenéricos. El número de especies reconocidas dentro de este grupo ha sido muy variado, pues Trelease (1924) consideró once especies más formas y variedades; posteriormente Müller (1942) adicionó otras series propuestas por Trelease a la serie *Acutifoliae*, sumando diez especies más. Müller y McVaugh

(1972) consideraron que el grupo está formado por 15 especies, adicionando al mismo a *Q. uxorius*. Finalmente, el último trabajo que aborda la sistemática del grupo *Acutifoliae* es el de Romero (2006), quien lo consideró un complejo y redujo varias sinonimias, reportando diez especies.

De manera general las especies que son albergadas en el grupo presentan como caracteres hojas glabras o glabrescentes con margen dentado-aristado casi desde la base y formas ovadas a elípticas, lanceoladas u obovadas (Fig. 1).

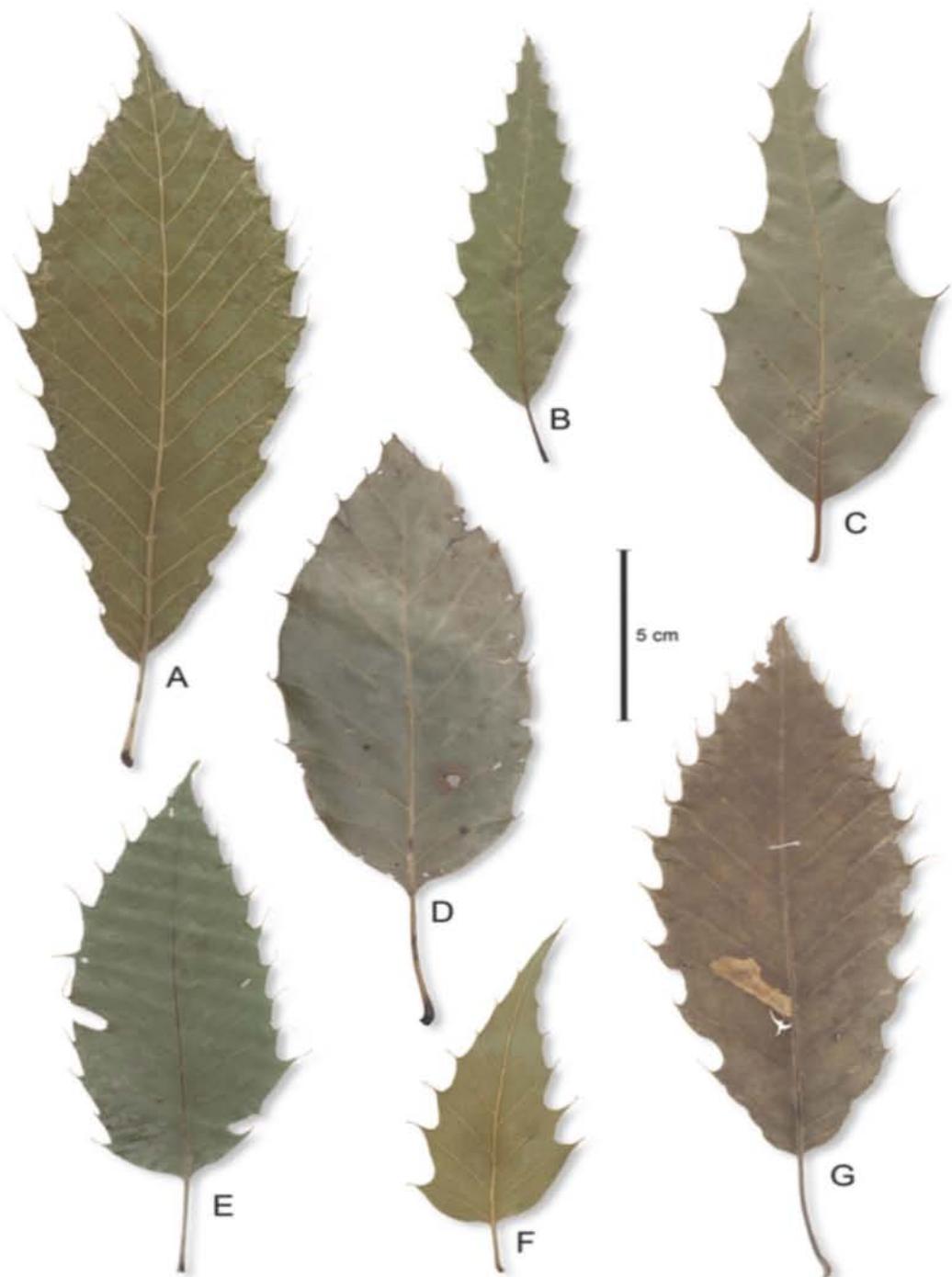


Figura 1. Diversidad de morfologías foliares representativas en especies bianuales del grupo *Acutifoliae*, tomado de Valencia-A et al., (2016). A) *Q. meavei*, B) *Q. grahamii*, C) *Q. conspersa*, D) *Q. xalapensis*, E) *Q. skinneri*, F) *Q. albocincta* y G) *Q. uxoris*.

Adicionalmente a las especies señaladas en los trabajos antes mencionados, Valencia *et al.* (2016) agregaron al grupo a *Q. meavei* la recientemente descrita. Esta especie es abordada en el presente trabajo, además de que se consideran como especies válidas a *Q. sartorii* y a *Q. paxtalensis* en contraste con la propuesta de Romero (2006) que las trata como sinónimos de *Q. xalapensis* (Cuadro 1).

Es importante recalcar que la evidencia filogenética reciente basada en secuenciación de nueva generación, muestra que el grupo *Acutifoliae* parece no ser monofilético (Hipp *et al.*, 2018). En dicho estudio se incluyeron *Q. canbyi*, *Q. uxorius*, *Q. cortesii*, *Q. grahamii* y *Q. acutifolia*, especies que pertenecen al grupo *Acutifoliae* y que parecen no formar un mismo clado, sugiriendo que sus similitudes morfológicas pueden ser resultado de convergencia.

Cuadro 1. Especies que conforman el grupo *Acutifoliae* reconocidas por diferentes autores. La última columna menciona las especies reconocidas en diferentes trabajos por Valencia-A.. y Valencia y colaboradores, en cuya circunscripción basamos el presente trabajo.

Trelease 1924	Müller 1942	Romero 2006	Valencia-A.. 2004, Valencia-A.. <i>et al.</i> , 2015, 2016
<i>Q. tonaguiae</i>	<i>Q. conspersa</i>		
<i>Q. vexans</i>	<i>Q. correpta</i>		
<i>Q. candolleana</i>	<i>Q. tonaguiae</i>	<i>Q. conspersa</i>	<i>Q. acutifolia</i>
<i>Q. conspersa</i>	<i>Q. candolleana</i>		
	<i>Q. conspersa</i>		
<i>Q. albocincta</i>	<i>Q. albocincta</i>	<i>Q. albocincta</i>	<i>Q. albocincta</i>
<i>Q. cambyi</i>	<i>Q. cambyi</i>	<i>Q. cambyi</i>	<i>Q. cambyi</i>
<i>Q. karwinskii</i>	<i>Q. karwinskii</i>		
<i>Q. furfuracea</i>	<i>Q. furfuracea</i>	<i>Q. furfuracea</i>	<i>Q. furfuracea</i>
	<i>Q. acutifolia</i>	<i>Q. acutifolia</i>	<i>Q. grahamii</i>

<i>Q. acutifolia</i>	<i>Q. grahamii</i>		
<i>Q. grahamii</i>			<i>Q. meavei</i>
	<i>Q. paxtalensis</i>	<i>Q. xalapensis</i>	<i>Q. paxtalensis</i>
<i>Q. sartorii</i>	<i>Q. sartorii</i> <i>Q. huitamalcana</i>	<i>Q. xalapensis</i>	<i>Q. sartorii</i>
	<i>Q. skinneri</i> <i>Q. grandis</i> <i>Q. chiapasensis</i> <i>Q. salvadorensis</i> <i>Q. hemipteroides</i> <i>Q. trichodonta</i>	<i>Q. skinneri</i>	<i>Q. skinneri</i>
		<i>Q. uxoris</i>	<i>Q. uxoris</i>
<i>Q. xalapensis</i>	<i>Q. xalapensis</i>	<i>Q. xalapensis</i>	<i>Q. xalapensis</i>
	<i>Q. brenesii</i>	<i>Q. brenesii</i>	
		<i>Q. cortesii</i>	
	<i>Q. tenuaristata</i>		
	<i>Q. monserratensis</i>		
	<i>Q. gracilior</i>		

2.2 Diversidad genética en el género *Quercus*.

La dinámica genética que existe entre los encinos es aún incierta, en gran medida por la alta diversidad de especies que existen en el hemisferio, aunque los trabajos que se han realizado hasta la actualidad muestran ciertas tendencias en cuanto a las dinámicas presentes en los diferentes continentes donde habitan estos organismos, aún queda un largo número de especies y complejos de estas sin explorar y sin resolver su acervo genético.

En los encinos, el genoma nuclear es heredado de manera biparental, y el genoma citoplasmático solo se transmite vía materna, en el caso del ADN

nuclear generalmente se encuentran altos niveles de variación genética dentro de las poblaciones y una baja diferenciación entre las poblaciones (Guttman and Weight 1989; Kremer *et al.* 1991; Kremer and Petit 1993; Bruschi *et al.* 2000; Lorenzo *et al.* 2009), en contraste con ADN de cloroplasto que presenta una ligera variación dentro de las poblaciones y una fuerte estructura entre las localidades (Kremer *et al.*, 1991; Petit *et al.*, 1993, 2002; Dumolin *et al.*, 1995; Grivet *et al.*, 2008).

En el caso de los organismos del género *Quercus* se han realizado estudios en Europa y han revelado una fuerte estructura genética, como resultado de varias rutas de recolonización postglacial (Le Corre y Kremer, 1998; Petit *et al.*, 2002). Por otro lado, las especies de encinos norteamericanos son caracterizados por una baja estructura genética (Magni *et al.*, 2005) y por una alta diversidad genética (Grivet *et al.*, 2006).

Particularmente en los encinos mexicanos se han reportado altos valores de variación genética dentro de las poblaciones y una baja diferenciación entre poblaciones con respecto a las especies de latitudes más altas (Tovar-Sánchez *et al.*, 2008; Ramos-Ortiz *et al.*, 2016), esto podría ser explicado debido a que los efectos de las glaciaciones fueron menos severos en latitudes menores y las poblaciones de encinos no fueron restringidas a refugios, manteniendo así tamaños poblacionales relativamente grandes y estables (González-Rodríguez *et al.*, 2004; Cavender-Bares *et al.*, 2011)

Algunos estudios filogeográficos realizados en dos complejos de encinos rojos mexicanos han mostrado altos niveles de diversidad y baja estructura

genética en comparación con las especies de encinos europeos y norteamericanos (González-Rodríguez *et al.*, 2004; Tovar-Sánchez *et al.*, 2004). Estos resultados implican grandes tamaños históricos efectivos de las poblaciones y una dinámica compleja de intercambio genético entre las poblaciones (Peñaloza-Ramírez, 2010).

Finalmente la fragmentación está afectando los patrones de distribución y abundancia de las especies, mediante la división de poblaciones, interrumpiendo la conectividad genética y reduciendo los tamaños de las poblaciones, lo que en suma reduce la diversidad genética y el potencial evolutivo (Young *et al.*, 1996; Couvet, 2002; Stockwell *et al.*, 2003).

2.3 Hibridación

Es necesario hacer notar el papel de la hibridación en la variación genética de los organismos del género *Quercus*. La hibridación es un proceso importante que puede conducir a la formación de nuevas especies, así como afectar los niveles de variación genética, adaptación local o modificar los patrones de selección. En el género se han descrito diversos casos de supuesta hibridación desde 1800 (Rushton, 1993; Dodd y Afzal, 2004). Al respecto se conoce que generalmente las cruzas intraespecíficas tienen mayor éxito que las cruzas interespecíficas y, aunque algunos híbridos pueden tener una fertilidad reducida, generalmente parecen sanos y fértiles (Salvini *et al.*, 2009).

La hibridación puede tener un importante papel en los procesos de evolución adaptativa y especiación, es por esto que el género es un taxón

modelo para el estudio de este fenómeno en la evolución adaptativa (Aldrich y Cavender-Bares, 2011).

La hibridación es un fenómeno muy común en el género, principalmente entre grupos de especies relacionadas, lo que desafía el concepto de especie biológica y llegó hasta la generación de un nuevo concepto de especie.

El denominado *concepto ecológico de especie* propuesto por Van Valen (1976), quien abordó a las especies como un linaje o un conjunto de linajes estrechamente relacionados, que ocupan una zona adaptable con diferencias mínimas de otros linajes en su rango; y que evoluciona por separado de todos los linajes fuera del mismo.

De esta manera si se conjuga la alta propensión a la hibridación, la alta variación genética en las especies y la plasticidad fenotípica, los límites entre estas no son fáciles de establecer (Burger, 1975; Rushton, 1993).

Aunque también es posible que a pesar del flujo interespecífico la identidad de la especie permanece tanto genética como ecológicamente, revelando un patrón genético de diferenciación interespecífica (Scotti-Saintagne *et al.*, 2004) consistente con la especiación con alto flujo de genes y fuerte selección divergente y especiación ecológica (Whittemore y Schaal, 1991; Schlüter y Conte 2009; Via, 2009, 2012).

Sin embargo, es de considerarse que en comparación con los encinos blancos son menos abundantes los estudios que examinen el flujo genético en encinos rojos (Moran *et al.*, 2012). En adición a esto, existe evidencia que sugiere que las barreras reproductivas entre estas especies pueden ser más

débiles que en encinos blancos. (Guttman y Weigt 1989; Kashani y Dodd 2002; Aldrich *et al.* 2003).

2.4 Morfometría geométrica en *Quercus*

La clasificación de encinos se basa principalmente en la morfología de las hojas debido a que las características florales pueden mostrar poca variación (Jensen, 1990; Jensen *et al.*, 2002; Viscosi *et al.*, 2009a). Sin embargo, la gran variación que las hojas presentan en sus caracteres genera mucha dificultad en el momento de la determinación taxonómica de las especies de encinos (Trelease, 1924; Jensen, 1988, 1993, 2002; Viscosi *et al.*, 2009a). El estudio de las hojas ha conducido a la generación de glosarios para la descripción de la forma y las diferencias entre caracteres como menciona Jensen (1990), pero los resultados pueden ofrecer interpretaciones cualitativas y subjetivas; es por eso que la morfometría geométrica se sugiere como un método de análisis cuantitativo para evaluar la varianza de la forma dentro y entre especies.

Jensen (1990), fue uno de los pioneros en aplicar la morfometría geométrica al estudio de la variación de las hojas en especies del género *Quercus*; utilizó dicha herramienta debido a que deseaban evitar evaluaciones subjetivas de la variación. Los landmarks que propuso utilizar los designó de acuerdo a puntos homólogos como el ápice de la lámina y la inserción del pecíolo con la misma y otros en puntos homólogos putativos como el valle que forman los lóbulos de las hojas. Este trabajo forma parte de una serie de publicaciones en las que exploró y evaluó los diferentes métodos de análisis estadísticos que existían en los principios de los 90's. Posteriormente existen diversos trabajos que reportan resultados del uso de la morfometría para abordar problemas taxonómicos en encinos, principalmente en la búsqueda de

evidencias sobre morfologías intermedias en híbridos y límites morfológicos entre especies (Kremer *et al.*, 2002; Viscosi *et al.*, 2009a; Albarrán-Lara *et al.*, 2010; McCauley *et al.*, 2012). Es preciso destacar los trabajos de Viscosi *et al.* (2009a, 2009b, 2010) quienes han trabajado con diferentes complejos de encinos europeos y al igual que Jensen, exploran diferentes técnicas en sus trabajos, que van desde la descripción de la variación morfológica que presentan los encinos hasta la búsqueda de híbridos y la covariación entre la forma y las distancias basadas en morfometría tradicional. Por su parte, Albarrán-Lara *et al.* (2010) evaluaron mediante morfometría geométrica la asimetría fluctuante que se produce en los híbridos de *Quercus magnoliifolia* y *Quercus resinosa* en una población simpátrica en el volcán de Tequila en Jalisco, con resultados congruentes entre la morfología de la hoja, la distribución altitudinal y la hibridación de estas especies.

III.- JUSTIFICACIÓN

México alberga la mayor diversidad de encinos en el Continente Americano, una consecuencia de esta amplia diversidad de especies es la falta de estudios que permitan entender los niveles altos de riqueza, endemismo y la historia evolutiva del género en México. Las especies propuestas como modelos de estudio en este proyecto presentan amplia distribución en el caso de *Q. sartorii* y distribución restringida en *Q. meavei* y *Q. paxtalensis*, además son de carácter endémico; se desconocen los procesos que han determinado su historia evolutiva (p. e. origen, diversificación y demografía histórica) y se encuentran restringidas a sistemas montañosos que a su vez son producto de procesos geológicos complejos como la Sierra Madre Oriental.

De igual forma, las especies propuestas se distribuyen en tipos de vegetación críticamente amenazados y presentan serios problemas taxonómicos, lo que en conjunto representa una oportunidad única para desarrollar estudios que permitan resolver problemas en la clasificación de las especies, describir sus patrones genéticos y aportar a la conservación de las especies y el hábitat en el que se distribuyen.

IV.- HIPÓTESIS

Se espera encontrar diferencias morfológicas y genéticas entre *Q. sartorii* (de amplia distribución) vs *Q. meavei* y *Q. paxtalensis* (distribución restringida), asociadas con el gradiente latitudinal en el que se distribuyen.

V.- OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la diversidad y estructura genética, así como la variación morfológica foliar, de tres especies del grupo *Acutifoliae*, así como su relación con la distribución geográfica y las variables climáticas de las localidades en las que se encuentran las poblaciones.

Objetivos Particulares

- Determinar la diversidad y estructura genética poblacional en *Q. sartorii*, *Q. meavei* y *Q. paxtalensis* mediante el uso de marcadores moleculares, particularmente microsatélites de núcleo (ncSSRs).
- Evaluar el efecto del gradiente latitudinal donde se encuentran las poblaciones, sobre los valores de diversidad y estructura genética.
- Analizar la relación que guardan los estimadores de distancias genéticas (F_{ST} y distancias de Nei) con las diferencias morfológicas.

- Delimitar morfológicamente las especies mediante análisis estadísticos multivariados de morfometría geométrica
- Identificar si existe relación de la morfología foliar con variables climáticas en los tipos de vegetación donde se desarrollan estas especies.

VI.- MATERIALES Y MÉTODO

6.1 Especies de Estudio

***Quercus sartorii* Liebm.**

Árboles de 10-25 m de alto; caducifolios, monoicos, ramillas de 1.2-2.2 mm de diámetro, lisas o ligeramente surcadas, grisáceas a pardas, glabras o ligeramente puberulentas con escasos pelos diminutos estrellados y fasciculados adpresos, lenticelas inconspicuas; yemas cónicas, ovoides o elipsoides, de 3.3-4.8 mm de largo, escamas ampliamente ovadas, glabras con margen ciliado, color ambar. Hojas alternas, estípulas ausentes cuando las hojas están maduras; pecíolos de (6) 11.4-18 (24) mm de largo × 1.2-2 mm de diámetro, glabros o conservando algunos pelos estrellados y amarillentos; láminas subcoriáceas, elípticas, ovadas o lanceoladas de (6) 8.8-14 de largo × 2.2-4.4 (5.4) cm de ancho, de (1.9-) 2.2-2.5 (2.9) veces más largas que anchas; base redondeada o truncada rara vez cuneada, en ocasiones asimétrica; ápice agudo y aristado ocasionalmente apiculado; margen con (3) 6-8 dientes cortos y aristados, a veces marcados solo por la arista, distribuidos por arriba de la base o desde las dos terceras partes distales, plano o minutamente crispado irregularmente nervación pinnada; venas secundarias de 7-12 a cada lado de la vena media, ascendentes, rectas, ramificándose antes de llegar al margen o las relacionadas con los dientes llegando enteras y continuándose hasta la arista; haz glabro, excepto sobre la base de la vena media que conserva algunos pelos estrellados, ligeramente lustroso, venas secundarias lisas o ligeramente

impresas; envés envés glabro, pero conservando mechones de pelos estipitados en las axilas de las venas secundarias y algunos pelos estrellados multiradiados hacia la vecindad de la vena media, epidermis papilosa, vena primaria, secundarias y venillas prominentes y algo amarillentas; venillas terciarias y secundarias ligeramente prominentes. Flores masculinas en amentos de 5-11 cm de largo, ráquis laxamente tomentoso de 3.5-10 cm de largo; flores masculinas regular y densamente dispuestas a lo largo del raquis, subsésiles o sobre un pedicelo de 0.2-0.4 mm de largo, bracteolas rara vez presentes en las flores apicales, lanceolada a filiforme y pilosa, perianto campanulado, glabro de 2.3-2.7 mm de largo, unido de $\frac{1}{2}$ -1/4 de su longitud total dejando libres 5-6 lóbulos de ápice obtuso o agudo, con maragen fimbriado, estambres de 6-8, de 2.1-2.5 mm de largo, anteras exertas de 1.5-1.2 mm de largo, mucronadas, filamentos de 0.9-1.3 mm de largo. Frutos de maduaración anual, solitarios o mas frecuentemente en pares, subsésiles o sobre un pedúnculo corto de 2-10 mm de largo; cúpula hemisféricas o algo obcónicas, de 8.5-11 mm de diámetro × 6.2-9.9 mm de alto, borde erecto, escamas lisas y adpresas, triangulares, canescentes, con pelos cortos adpresos; bellotas ovoides, glabras, de 11.5-13 mm de largo × 7.8-10 mm de diámetro, incluida $\frac{1}{3}$ de su longitud total en la cúpula (Fig. 2) (Valencia-A. et al., 2017).

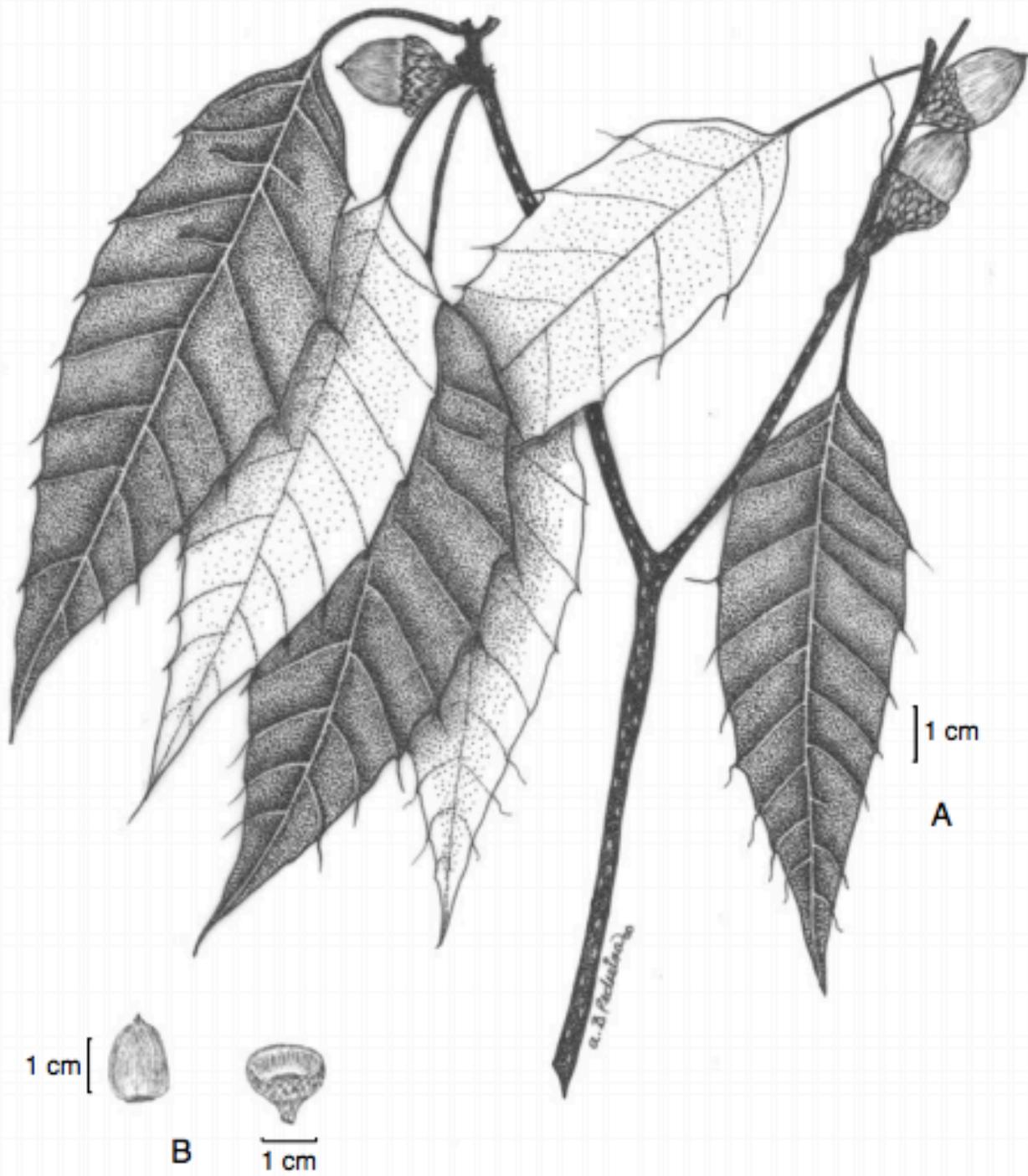


Figura 2. *Quercus sartorii*. A) ramilla con hojas. B) fruto (cúpula y nuez). Tomado de Romero (2006).

***Quercus meavei* Valencia**

Árboles de 20–30 m de alto; ramillas de 2.2–2.5 (–3) mm de diámetro, ligeramente surcadas, glabras o con escaso pubérulo formado por tricomas fasciculados cortamente estipitados hacia el ápice de las ramillas y base de los pecíolos, lenticelas evidentes pálido amarillentas; yemas cónicas a ovoides con el ápice agudo, de (3.5–) 4.2–8.5 × 2.1–3.5 mm, escamas ovadas, gris-amarillentas a pardo-amarillentas, glabras y lustrosas, con el margen corta e irregularmente ciliado, las superiores algo sericeas o no; estípulas linear a angosto linear u oblanceolas, de (5–) 6.5–8(–10) mm de largo, pubérulas, deciduas antes de que las hojas estén maduras, pocas veces persisten en el ápice de las ramillas. Hojas maduras con pecíolos pardo a pardo-rojizos, de (10–) 23–36 (–50) mm de largo, glabros, glabrescentes u ocasionalmente pubérulos hacia la base; láminas coriáceas a semicoriáceas, lanceoladas, oblongo-lanceoladas rara vez elípticas, de 13–18 × 4.5–7.5 cm, de 2.4–3.5 veces más largas que anchas; base obtusa a cuneada, en ocasiones ligeramente asimétrica; margen ligeramente engrosado cartilaginoso, no revoluto, crispado (8–) 11–16 dientes largamente aristados distribuidos por arriba de la base, cada diente de (1.73–) 2.7–5 (–8.8) mm de alto; ápice agudo, algunas veces apiculado, aristado; venas secundarias de (9–)14–17 a cada lado de la vena media, paralelas entre sí, ascendentes, casi rectas, continuándose hasta la artista que mide de 4.2–6.3 mm de largo; haz opaco, glabro, ocasionalmente conservando algunos tricomas estrellados hacia la base de la vena media; venas primarias y secundarias lisas a ligeramente impresas, venillas lisas; envés

glabro, o conservando mechones de tricomas fasciculados estipitados en las axilas de las venas secundarias, epidermis ligeramente papilosa, venas primaria y secundarias prominentes, amarillo-pálido. Amentos masculinos de 70–80 mm de largo, raquis de 60–70 mm de largo, ligeramente piloso, flores masculinas laxamente distribuidas, perianto ciatiforme de ca. 1 mm de largo, con 5 lóbulos de margen ciliado, libres de $\frac{1}{2}$ – 1/3 de la longitud total del perianto, estambres 6, de 2.8–3 mm de largo, anteras exsertas de 0.8–1.2 mm de largo; flores femeninas en grupos de 2 sobre un pedúnculo corto de hasta 2–4 mm de largo, estigmas 3. Frutos de maduración bianual, 1–2 al extremo de un pedúnculo glabro de 6–13 mm de largo; cúpulas hemisféricas, margen erecto, de (13–)18–23 mm de diámetro por (8.5–) 9.5–16.5 mm de alto, escamas lanceoladas, sericeas, lisas y adpresas en toda su extensión, con el ápice redondeado a obtuso; bellotas ovoides a subesféricas, glabras rara vez ligeramente canosas hacia el ápice, de 12–16.5 × 11–16 mm, incluida de $\frac{1}{2}$ –1/3 de su longitud total en la cúpula (Fig. 3) (Valencia-A. et al., 2016).

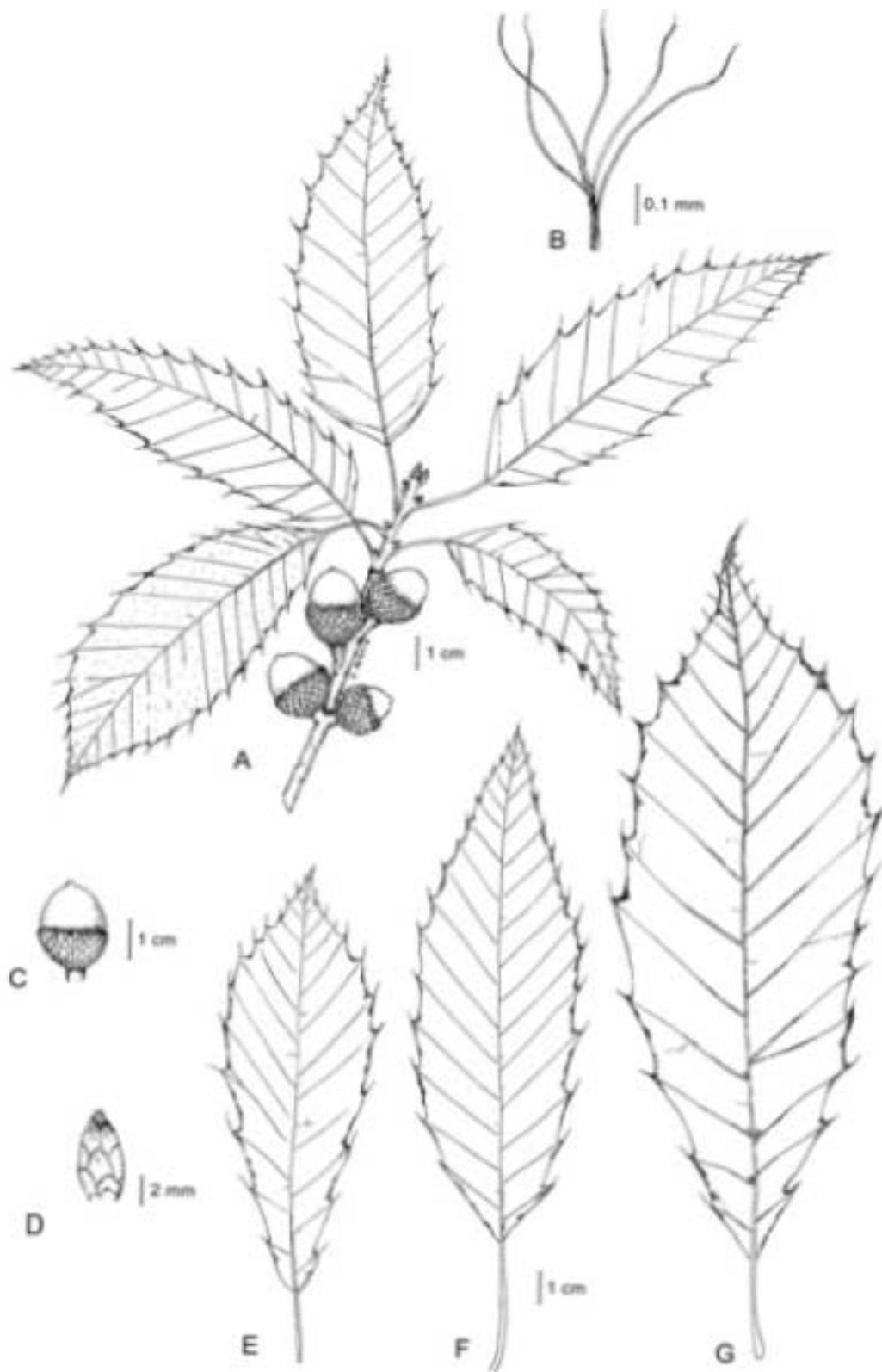


Figura 3. *Quercus meavei*. A) ramilla con hojas y frutos. B) tricoma. C) bellota. D) yema. E-G) diferentes morfologías de la lámina foliar. Tomado de Valencia et al. (2016)

***Quercus paxtaleensis* C.H. Mull.**

Árboles de 12-18 (30) m de alto; ramillas de 1.9-3 mm de diámetro, glabras, cafés y ligeramente surcadas, lenticelas blanquecinas, conspicuas o inconspicuas; yemas cónicas, elipsoides u ovadas, 3.5-4.9 mm de largo, escamas ampliamente ovadas, glabras, grises a ligeramente cafés, margen dentado o entero; estípulas deciduas. Hojas maduras con peciolos 20-40 x 0.9-1.1 mm, glabros; lámina subcoreácea a papirácea, lanceolada o estrechamente elíptica, a veces oblonga, (7) 12-17 (20) x (2.6) 3.2-5.5 cm, 2.7-3.7 veces más larga que ancha; base cuneada a redondeada o truncada y asimétrica; margen con 9-12 dientes ligeramente aristados a cada lado de la lámina, distribuidos desde la base, ligeramente crispados; ápice agudo o acuminado, punta aristada; venas secundarias de 10-12 (13) a cada lado de la vena media, ascendentes, rectas, continuando dentro del diente hasta la arista, ocasionalmente venas intermedias evanescentes presentes cerca de la base de la lámina; superficie adaxial glabra, lustrosa, venas secundarias y primaria planas o apenas prominente amarillentas o pálidas; superficie abaxial de la lámina glabra, o raramente con mechones de tricomas fasciculados estipitados en las axilas de las venas secundarias, epidermis ligeramente papilosa o suavizada, vena primaria y secundarias prominentes. Fruto anual, 1-2 subsésiles o en un pedúnculo glabro de 2.5 mm de largo; cúpulas turbinadas 12.5-18 mm de diámetro x 10-13.5 mm de alto, margen erecto, escamas suavizadas, estrechamente adpresas, gris canescente en la zona media, margen café; bellotas ovoides, glabras o con pequeños tricomas amarillos dispersos, 18-20

mm de largo 12-14 mm de diámetro, incluidas 1/3 del largo total en la cúpula (Fig. 4) (Valencia-A. *et al.*, 2017).

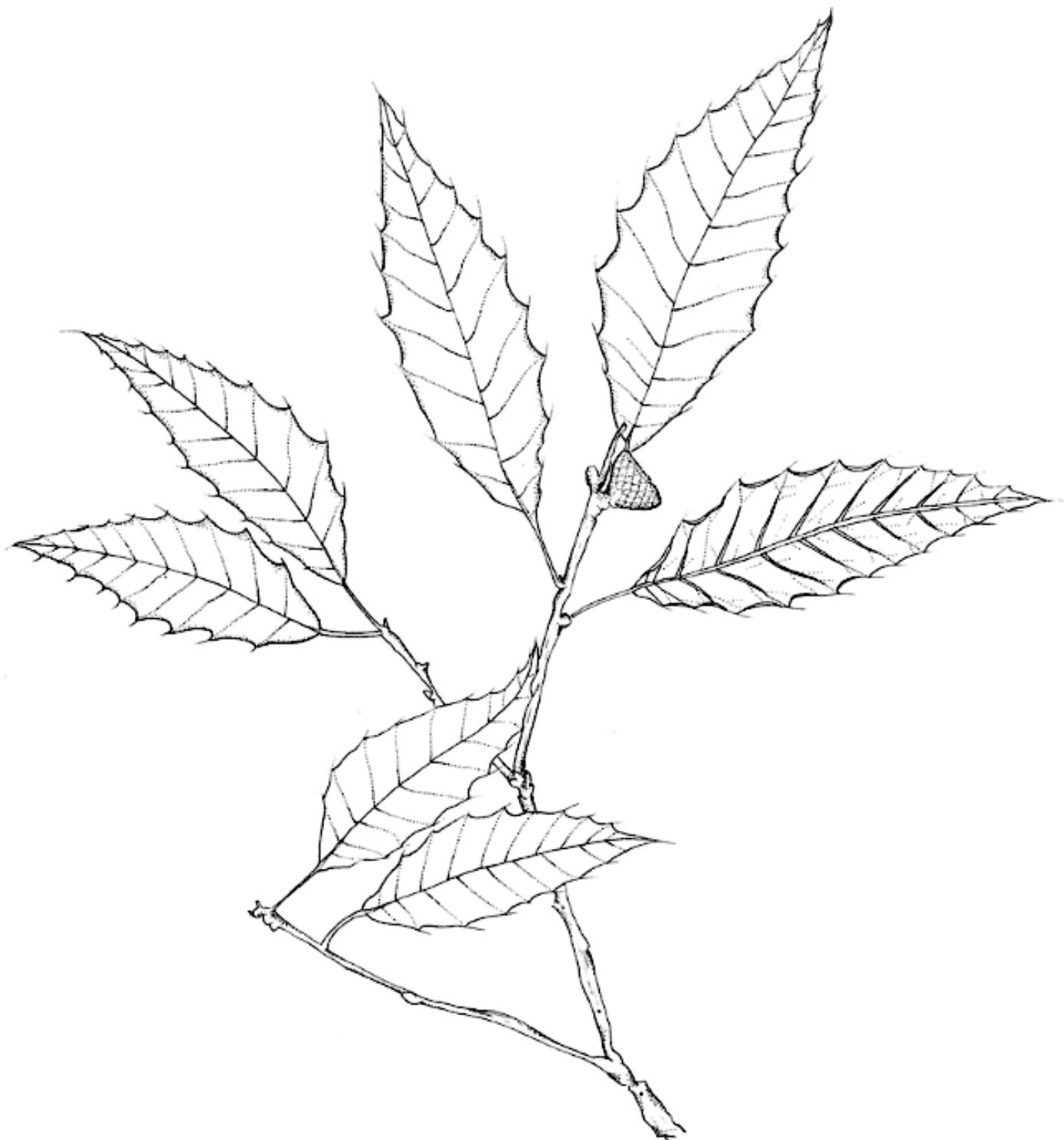


Figura 4. *Quercus paxtalensis*, ramilla con hojas y cúpula de bellota. Tomado de Valencia et al. (2017).

6.2 Colecta de material biológico

Se consultaron ejemplares de las especies seleccionadas en los herbarios MEXU y FCME. Después de eliminar aquellos ejemplares mal determinados, se generó una base de datos en la cual se georreferenciaron las localidades para proyectarlas en un mapa y visualizar así los sitios de colecta (Fig. 5).

Se colectaron un total de 177 individuos de las tres especies, representados por cuatro poblaciones de *Q. meavei* con 37 individuos en total, diez poblaciones de *Q. sartorii* con 100 individuos en total y cuatro poblaciones de *Quercus paxtalensis* con 40 individuos en total (Cuadro 2), en los estados de Tamaulipas, San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo, Puebla, Veracruz y Oaxaca (Fig. 6). De cada individuo fueron seleccionadas diez hojas y preservadas en bolsas de plástico inmersas en hielo durante el trabajo de campo y posteriormente se colocaron en un ultracongelador a -80°C. Además, por cada individuo se preparó un ejemplar de herbario como voucher y para digitalizar tres hojas para los análisis de morfometría geométrica.

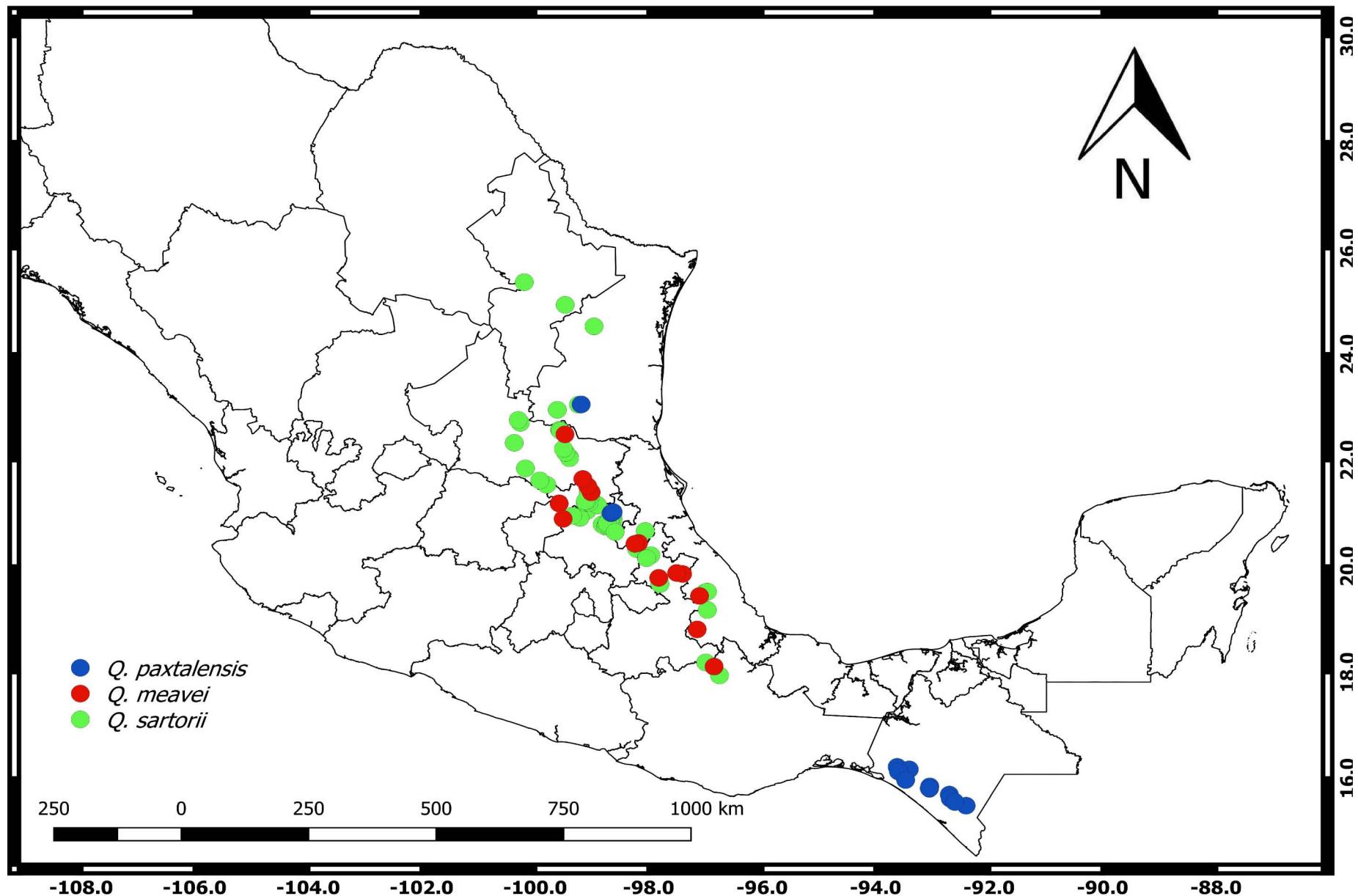


Figura 5. Mapa de distribución de los registros de *Q. paxtalensis*, *Q. sartorii* y *Q. meavei* en los herbarios MEXU y FCME.

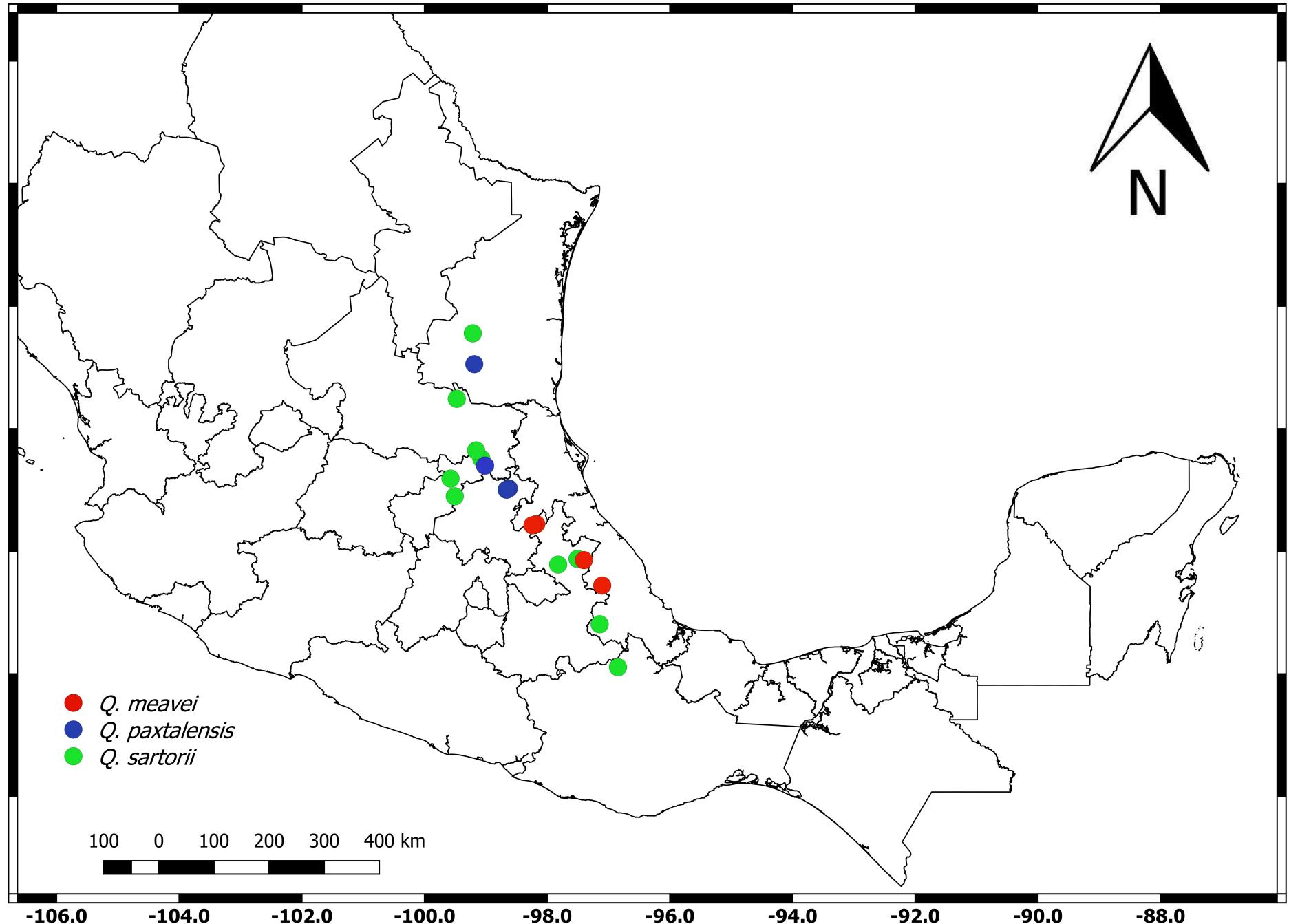


Figura 6. Mapa de las poblaciones colectadas, en puntos verdes *Q. sartorii* (10), en puntos azules *Q. paxtalensis* (4) y en puntos rojos *Q. meavei* (4).

Cuadro 2. Datos geográficos para las poblaciones colectadas de *Q. meavei*, *Q. paxtalensis* y *Q. sartorii*. Los datos incluyen clave de identificación, coordenadas y número de individuos colectados.

Especie	Estado	Localidad	Clave	Coordenadas	Individuos colectados
1 <i>Q. meavei</i>	Hidalgo	El Fresno	FRE	20°26'36"N 98°10'40"W	10
2 <i>Q. meavei</i>	Hidalgo	Ejido Pueblo Nuevo	PNU	20°25'30"N 98°14'23"W	10
3 <i>Q. meavei</i>	Puebla	Mexcalcuautla	MEX	19°51'24"N 97°24'5"W	7
4 <i>Q. meavei</i>	Veracruz	Oxtlapa	OXT	19°26'32"N 97°6'9"W	10
5 <i>Q. paxtalensis</i>	SLP	Xilitla	XIL	21°23'51"N 99°0'47"W	10
6 <i>Q. paxtalensis</i>	Hidalgo	Tlanchinol	TLAN	21°0'14"N 98°39'41"W	10
7 <i>Q. paxtalensis</i>	Hidalgo	Temazate	TMZ	21°1'99"N 98°37'32W	10
8 <i>Q. paxtalensis</i>	Tamaulipas	El Cielo	ECI	23°3'11"N 99°11'21"W	10
9 <i>Q. sartorii</i>	Veracruz	Huiloapan	HUI	18°48'37"N 97°8'40"W	10
10 <i>Q. sartorii</i>	Puebla	Eloxochitlán	ELO	19°52'34"N 97°30'22"W	10
11 <i>Q. sartorii</i>	Puebla	Tetela	TET	19°47'1"N 97°49'18"W	10
12 <i>Q. sartorii</i>	Tamaulipas	Puerto de Arrazolo	PAR	23°33'18"N 99°12'47"W	10
13 <i>Q. sartorii</i>	SLP	Aquismón	AQU	21°38'45"N 99°9'32"W	10
14 <i>Q. sartorii</i>	Querétaro	Río Escanela	RES	21°11'11"N 99°34'34"W	10
15 <i>Q. sartorii</i>	Oaxaca	Carrizal	CARR	18°6'33"N 96°50'45"W	10
16 <i>Q. sartorii</i>	SLP	El Platanito	PLA	22°29'15"N 99°28'28"W	10
17 <i>Q. sartorii</i>	Hidalgo	La Culebra	LCU	21°3'31"N 99°4'22"W	10
18 <i>Q. sartorii</i>	Hidalgo	Calnali	CAL	20°53'48"N 99°30'25"W	10

6.3 Análisis de laboratorio

Extracción de ADN

Para la obtención del ADN se utilizó 50 mg de tejido preservado a -80°C el cual fue molido mediante el uso de nitrógeno líquido y un mortero. El tejido resultante se procesó mediante un método CTAB modificado (Lefort y Douglas, 1999). El producto final de las extracciones fue corroborado mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1%, cargando los pozos con 2 µl de ADN y 2 µl de buffer de carga, y corriendo a 90 V durante 30 minutos. Posteriormente el ADN fue cuantificado con el uso del espectrofotómetro NanoDrop 2000 (ThermoFisher), para su dilución final en agua ultra pura a una concentración de 20 ng/µl.

PCR

Posteriormente se ensayó la amplificación de once microsatélites nucleares (ncSSRs) descritos para *Quercus rubra* (Aldrich *et al.*, 2002), tres para *Quercus petraea* (Steinkellner *et al.*, 1997) y uno para *Quercus robur* (Kampfer *et al.*, 1998), mediante PCR en un gradiente de temperaturas (48°C, 50°C, 52°C, 54°C, 56°C y 58°C) para determinar la temperatura de alineamiento ideal para cada primer, utilizando dos individuos de cada población. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 5 µL incluyendo 2.5 µL de Master Mix (Applied Biosystems), 0.25 µL de cada primer (10 µM), 0.7 µL de agua destilada estéril, 0.3 µL de BSA y 1 µL de ADN. Los ciclos de amplificación se llevaron a cabo de la siguiente manera: un minuto a 94°C como paso inicial, posteriormente 40 ciclos

con un paso de desnaturación a 94°C por 60 s, alineamiento a 48-58°C por 45s y extensión a 72°C por 30s y finalmente un paso a 72°C por 10 minutos.

Como resultado de los ensayos se eligieron nueve ncSSRs que amplificaron para las tres especies las cuales se agruparon para su amplificación por PCR multiplex (Cuadro 3). Estas reacciones se llevaron a cabo en un volumen final de 6 µL, incluyendo 3 µL de Platinum Master Mix (ThermoFisher), 1.4 µL de agua destilada, 0.1 µL de MgCl₂, 0.5 µL de primer (0.25 µL forward y 0.25 µL reverse) y 1 µL de ADN (en concentración de 20 ng/µL). Posteriormente se corroboró la amplificación de los microsatélites mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% cargando 1 µL del producto de PCR y 1.2 µL de buffer de carga. La corrida en la cámara de electroforesis se realizó a 90 V durante 30 min, para su posterior visualización en un transiluminador UV. A partir de los geles obtenidos se procedió a diluir el producto de PCR. Finalmente, el producto de PCR diluido se llevó a una placa utilizando 9 µL de formamida HIDI, 0.3 µL Gen Scan Liz-600 como estándar de tamaño (Applied Biosystems) y 1 µL de producto PCR. Las muestras fueron desnaturizadas a 95° durante 2 min y analizadas en un secuenciador ABI-PRISM 3100 Avant (Applied Biosystems). Los electroferogramas obtenidos fueron analizados manualmente mediante el software PeakScanner (Applied Biosystems) y GeneMapper (ThermoFisher) y registrados en una base de datos para su posterior análisis.

6.4 Análisis de los datos genéticos

Al obtener la base de datos se generó un templado en el software GenAlex 6.503 (Peakall y Smouse, 2006; 2012), con el cual se obtuvieron diferentes parámetros de diversidad genética, tales como el número de alelos (N_a), el número efectivo de alelos (N_e), el índice de Sannon (I), la heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), heterocigosidad esperada no sesgada (uHe) y el índice de fijación (F).

Con el objetivo de evaluar la presencia y el efecto de los alelos nulos en la muestra se utilizó el software FreeNA (Chapuis y Estoup, 2007), que realiza tres estimaciones para conjuntos de datos con presencia de alelos nulos; el primero estima la frecuencia de alelos nulos para cada locus y población mediante el algoritmo de maximización de expectativas (EM) (Dempster *et al.*, 1977; Chapuis y Estoup, 2007), además estima los valores de F_{ST} sin el efecto de los alelos nulos mediante el método ENA (Chapuis y Estoup, 2007) y finalmente calcula la distancia genética de Cavalli-Sforza y Edwards siguiendo el método de INA (Chapuis y Estoup, 2007).

Estructura Genética

Para evaluar la partición de la diversidad genética dentro y entre poblaciones se llevó a cabo un análisis de varianza molecular (AMOVA) por sus siglas en inglés, mediante el software GenAlex 6.503 (Peakall y Smouse, 2006; 2012), el cual genera una matriz de distancias genéticas a partir de distancias geométricas con las cuales realiza un análisis de varianza sin asumir una distribución normal de los datos. Como resultado, muestra el porcentaje de variación debido a las diferencias

de los individuos de una población, la proporción de la varianza que se encuentra entre poblaciones, así como la contenida entre especies. Para estas pruebas se utilizó el estimador R_{ST} dado el modo de mutación por pasos que siguen los microsatélites. Se realizó un AMOVA para las tres especies juntas, y posteriormente uno por especie, para ver cómo se estructuraban por separado.

Para el análisis de la estructura genética de las poblaciones se utilizó el software STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000), el cual usa datos genéticos multilocus para investigar la estructura de las poblaciones. Este programa puede inferir la presencia de poblaciones distintas, asignar individuos a las poblaciones, y estudiar zonas de hibridación, entre otras aplicaciones. Utiliza un algoritmo basado en métodos Bayesianos, en donde cada individuo es asignado mediante probabilidad a un grupo genético, y de esta manera define el número más probable de grupos genéticos dados los datos. El número de grupos fue determinado a partir de valores de K (1 a 5), con 20 iteraciones para cada valor. Cada una de las corridas se realizó utilizando 50^3 iteraciones como *burn-in* y 50^4 repeticiones de la cadena de Markov Monte Carlo después del *burn-in*, la opción de *admixture* era posible, los demás parámetros fueron los establecidos por defecto. Finalmente, mediante el recurso en línea de Structure Harvester (Earl *et al.*, 2012) y de acuerdo con Evanno *et al.* (2005) se determinó la K más probable con el valor máximo de ΔK .

Cuadro 3. Microsatélites utilizados. Nombre, motivo de la repetición, temperatura de alineamiento (Ta), tamaño en pares de bases de acuerdo a Aldrich (2002), grupos para el presente trabajo.

Locus	Motivo de repetición	Ta (°C)	Tamaño (pb)	Grupo
quru-GA-IF07	(GA) ₂₂	48°C	306-348	3
quru-GA-0E09	(GA) ₁₆	48°C	186-230	1
quru-GA-0I01	(GA) ₁₆	52°C	196-218	2
quru-GA-0M05	(GA) ₂₀	48°C	184-215	3
quru-GA-2F05	(GA) ₂₁	48°C	294-322	1
quru-GA-0C19	(GA) ₁₈	48°C	218-242	1
quru-GA-IC06	(GA) ₂₉	52°C	234-262	2
ssrQrZAG96	(TC) ₂₀	52°C	135-194	4
ssrQpZAG110	(AG) ₁₅	52°C	206-262	4

5.5 Morfometría geométrica

Se digitalizaron 496 hojas de las 18 poblaciones muestreadas de las tres especies, mediante el uso de una cámara fotográfica Canon Rebel y una cama de copiado para estandarizar la distancia y el ángulo de captura de la imagen.

Posteriormente se colocó un peine de 17 radios a lo largo de la lámina foliar con el uso del software MakeFan8 (Sheets, 2017a), para colocar 32 landmarks (marcas), dos de estos en puntos homólogos de la hoja (inserción del pecíolo con la lámina, y el ápice de la hoja) y 30 semilandmarks a lo largo del margen de la hoja en la intersección con los radios mediante el software tpsDig2 (Rohlf, 2016).

Posteriormente se llevó el archivo *.tps* al software CoordGen8 (Sheets, 2017b) para realizar el deslizamiento de los semilandmarks mediante la herramienta de Semiland, finalmente se exportó la matriz de datos al software MorphoJ (Klingenberg, 2011) para realizar los análisis de forma. Además de los análisis morfométricos, también se calculó el área foliar (AF) mediante el software ImageJ 1.50i (Schneider *et al.*, 2012). Los valores de AF fueron posteriormente comparados entre poblaciones y especies mediante análisis de varianza (ANOVA) en JMP 13 (CITA).

Superposición de Procrustes, ANOVA de Procrustes

Después de la importación de datos, se realizó la superposición de Procrustes y un ANOVA anidado utilizando las coordenadas resultado del ajuste, los niveles del análisis fueron: especies, poblaciones individuos y hojas.

Análisis de la relación forma (shape)/tamaño (centroid size); Alometría

Para analizar la relación que existe entre la forma y el tamaño de las hojas, se realizaron tres regresiones (una por especie) entre los valores de las coordenadas de Procrustes vs los valores del tamaño del centroide logaritmo natural. Posteriormente, para evaluar las diferencias entre las pendientes y las intersecciones de las trayectorias alométricas se realizó una prueba de MANCOVA en el software R Studio (R Studio Team, 2015).

Análisis de componentes principales (PCA), análisis de variable canónica (CVA) y función discriminante (DF)

Una forma de evaluar las diferencias existentes entre las poblaciones y las especies fue buscar la ordenación de los componentes principales de la forma para el componente simétrico y asimétrico. Posteriormente, se realizó la ordenación de las diferencias entre las especies mediante un análisis de variable canónica, en primera instancia considerando a las hojas como entidades independientes y posteriormente promediando las tres hojas que componen a cada árbol (individuo) para apoyar la discriminación de los grupos, basado en que el análisis maximiza las diferencias dentro y entre los grupos definidos *a priori*. Finalmente, para corroborar estas diferencias, así como nuestra asignación taxonómica en contraste con la morfología *per se*, realizamos un análisis de función discriminante entre las tres especies.

Relación forma/ambiente (PLS)

Se obtuvieron los valores de las 19 variables bioclimáticas para cada localidad mediante la base de datos de Wordclim versión 1.4 (Hijmans, 2005). Mediante un análisis de correlación de Pearson en JMP 13 (www.jmp.com) se evaluó la correlación entre las variables climáticas y se eliminaron aquellas que fueran altamente redundantes (con un coeficiente de correlación igual o mayor a 0.8).

A partir de las variables no correlacionadas [Bio-1 (temperatura media anual), Bio-2 (intervalo medio diurno), Bio-3 (isotermalidad), Bio-12 (precipitación media anual) y Bio-15 (precipitación estacional)] se implementó una regresión de

mínimos cuadrados parciales PLS (por sus siglas en inglés) que se utiliza para examinar los patrones de covariación entre dos o más conjuntos de variables.

Para generar dos bloques o matrices de variables; un bloque definido por las variables de forma (coordenadas de Procrustes) y otro bloque definido por la interacción de las variables ambientales en conjunto.

Finalmente para visualizar la posible relación entre las distancias genéticas (valores de distancias de Nei (1972) así como F_{ST} pareados entre poblaciones obtenidos con la corrección de FreeNA) y las distancias geográficas, así como las distancias morfológicas (valores obtenidos de la matriz pareada de las distancias de Mahalanobis poblacionales, proporcionadas por el software MorphoJ (Klingenberg, 2011)) se realizaron diferentes pruebas de Mantel, mediante el software GenAlex 6.503 (Peakall y Smouse, 2006; 2012).

VII.- RESULTADOS

La estimación de alelos nulos para todos los locus, así como los coeficientes F_{ST} corregidos mediante el método de ENA en el software FreeNA (Chapuis y Estoup, 2007), evidenciaron que no hay efecto significativo de los alelos nulos sobre las poblaciones en cuestión (Cuadro 4).

Cuadro 4. Estimación global de la FST de Weir (1996), sin el uso y con el uso de la corrección de ENA.

Todos los loci

	<i>Fst sin usar ENA</i>	<i>Fst usando ENA</i>
	0.111996	0.113316

Por locus

1	0.088979	0.086372
2	0.072488	0.074356
3	0.035726	0.037448
4	0.143815	0.143704
5	0.110747	0.112199
6	0.053494	0.055829
7	0.040934	0.041128
8	0.349417	0.344564
9	0.21547	0.215486

Remuestreo Bootstrap en todos los loci

95% Intervalo de confianza

	0.066784	0.068115
	0.17578	0.176127

7.1 Diversidad genética

Los resultados obtenidos para todas las especies muestran que la heterocigosidad observada (H_o) fue en promedio 0.704, teniendo el valor más alto ($H_o=0.837$) en la población de Calnali, Hidalgo (CAL) y el más bajo ($H_o=0.556$), en Carrizal, Oaxaca

(CARR) ambos valores pertenecen a *Q. sartorii*. La heterocigosidad esperada (H_e) fue en promedio de 0.701; el valor más alto ($H_e=0.793$) corresponde a Oxtlapa, Veracruz (OXT) de *Q. meavei* y el más bajo ($H_e=0.604$) a Huiloapan, Veracruz (HUI) de *Q. sartorii*. Mientras que el porcentaje de loci polimórficos fue del 100% en casi todas las poblaciones, exceptuando El Platanito (PLA) en San Luis Potosí y Tetela (TET) Puebla, con un porcentaje de 88.9% ambas poblaciones de *Q. sartorii* (Cuadro 5).

Se observaron correlaciones positivas pero no significativas entre el número de alelos efectivos por población y la latitud ($r = 0.36; p = 0.13$), así como entre H_e y la latitud ($r = 0.31; p = 0.2$) tomando en cuenta las tres especies en conjunto. De manera individual se encontró una correlación negativa en *Q. meavei* entre la H_e y latitud ($r = -0.93; p = 0.04$) y una correlación positiva entre H_e y longitud ($r = 0.87; p = 0.08$); y en el caso de *Q. paxtalensis* una correlación negativa entre N_e y longitud ($r = -0.85; p = 0.04$) (Fig. 7).

Los valores promedio de la endogamia local y global fueron $F_{IS} = -0.017$, $F_{IT} = 0.157$ y $F_{ST}=0.166$ (Cuadro 6).

Cuadro 5. Parámetros de diversidad genética, para las tres especies. Número de alelos (N) número de alelos diferentes (Na), número efectivo de alelos (Ne), índice de Shannon (I), heterocigosis observada (Ho), heterocigosis esperada (He), heterocigosis esperada rarefraccionada (uHe), índice de fijación (F) y porcentaje de loci polimórficos (P%), se muestran los valores totales para cada parámetro por especie. En negritas totales y valores más altos.

Especie	Pob.	N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F	P%
<i>Q. sartorii</i>	PAR	9.88	8.33	5.37	1.77	0.760	0.761	0.802	-0.003	100%
<i>Q. sartorii</i>	PLA	10.0	6.66	4.85	1.52	0.667	0.678	0.714	0.020	88.9%
<i>Q. sartorii</i>	AQU	10.0	6.22	4.07	1.41	0.633	0.649	0.684	0.015	100%
<i>Q. sartorii</i>	RES	10.0	7.55	5.28	1.65	0.778	0.729	0.767	-0.086	100%
<i>Q. sartorii</i>	LCU	10.0	7.44	4.88	1.60	0.633	0.691	0.727	0.091	100%
<i>Q. sartorii</i>	CAL	9.44	8.00	5.60	1.81	0.837	0.791	0.835	-0.054	100%
<i>Q. sartorii</i>	ELO	9.88	7.00	4.60	1.55	0.640	0.695	0.732	0.054	100%
<i>Q. sartorii</i>	TET	10.0	6.77	4.63	1.51	0.689	0.682	0.718	-0.028	88.9%
<i>Q. sartorii</i>	HUI	9.77	5.66	3.39	1.27	0.683	0.604	0.636	-0.137	100%
<i>Q. sartorii</i>	CARR	10.0	6.88	4.73	1.54	0.556	0.684	0.720	0.170	100%
Total		9.89	7.05	4.74	1.56	0.687	0.696	0.733	0.004	97%
<i>Q. meavei</i>	FRE	9.88	6.11	4.01	1.41	0.640	0.653	0.688	0.001	100%
<i>Q. meavei</i>	PNU	10.0	6.44	4.85	1.48	0.578	0.681	0.717	0.164	100%
<i>Q. meavei</i>	MEX	6.77	5.66	3.74	1.45	0.757	0.703	0.759	-0.086	100%
<i>Q. meavei</i>	OXT	10.0	8.00	5.39	1.81	0.811	0.793	0.835	-0.026	100%
Total		9.16	6.55	4.49	1.53	0.696	0.707	0.749	0.013	100%
<i>Q. paxta.</i>	ECI	9.88	7.77	5.19	1.72	0.762	0.751	0.791	-0.009	100%

<i>Q. paxta.</i>	XIL	10.0	7.11	4.42	1.50	0.633	0.659	0.694	0.003	100%
<i>Q. paxta.</i>	TMZ	9.11	5.77	3.78	1.43	0.782	0.689	0.729	-0.144	100%
<i>Q. paxta.</i>	TLAN	9.44	6.22	4.39	1.54	0.831	0.727	0.768	-0.152	100%
Total		9.60	6.71	4.44	1.54	0.752	0.706	0.745	-0.075	100%

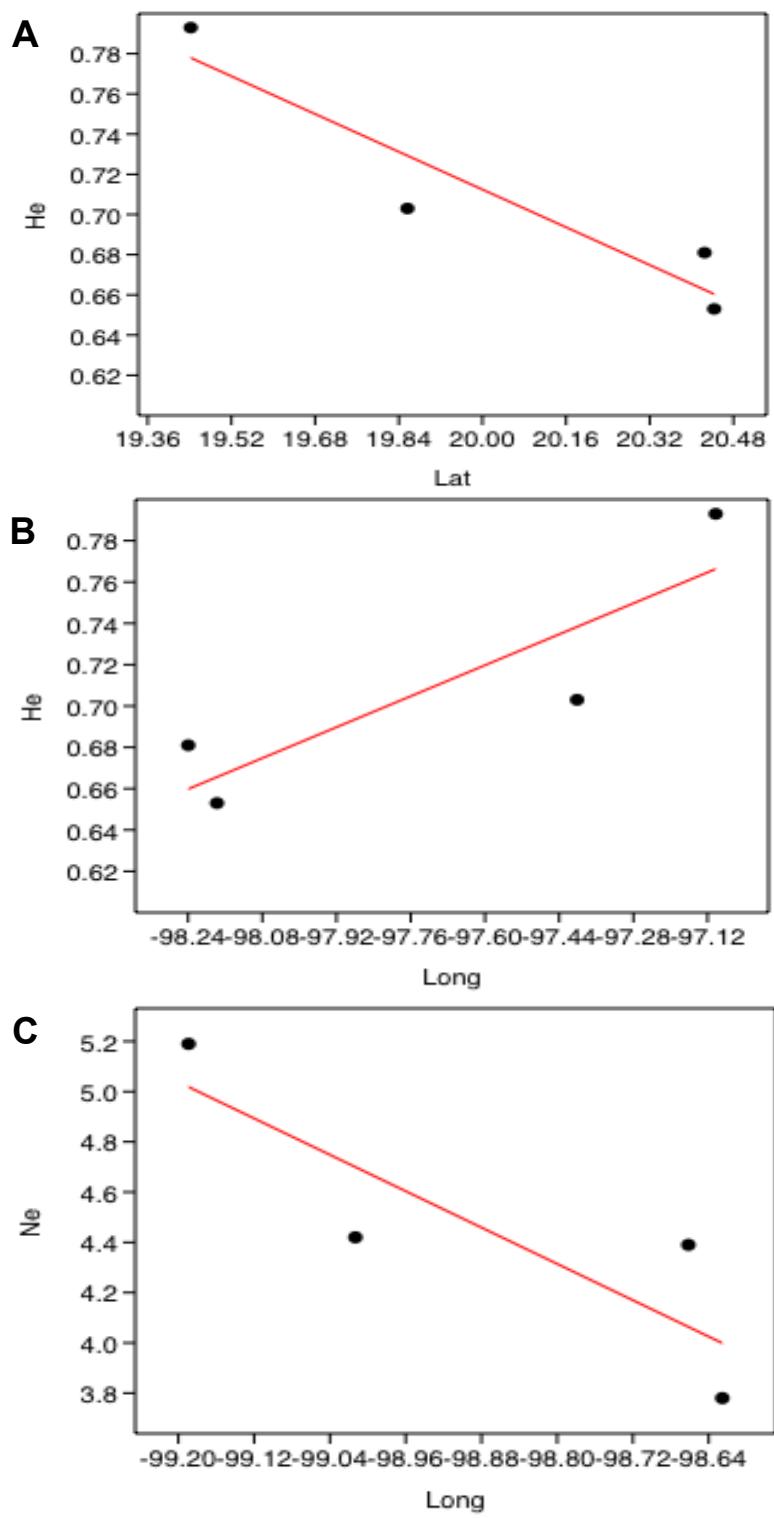


Figura 7. Gráficos de regresión entre los valores poblacionales de heterocigosis esperada (H_e) y número de alelos efectivos (N_e) vs los valores latitudinales y longitudinales. A) *Q. meavei* H_e vs latitud ($r = -0.93$; $p = 0.04$), B) *Q. meavei* H_e vs longitud ($r = 0.87$; $p = 0.08$) y C) *Q. paxtalensis* N_e vs longitud ($r = -0.85$; $p = 0.04$)

Cuadro 6. Valores para cada uno de los nueve locus y promedio, para endogamia local (F_{IS}), endogamia global (F_{IT}), coeficiente diferenciación poblacional (F_{ST}) y número de migrantes (Nm).

Locus	Fis	Fit	FST	Nm
Locus1	-0.078	0.061	0.129	1.687
Locus2	-0.072	0.053	0.117	1.894
Locus3	0.175	0.254	0.096	2.348
Locus4	-0.039	0.146	0.179	1.151
Locus5	-0.005	0.145	0.150	1.417
Locus6	0.030	0.128	0.101	2.219
Locus7	0.065	0.152	0.093	2.435
Locus8	-0.123	0.292	0.369	0.427
Locus9	-0.101	0.181	0.257	0.725
Promedio	-0.017	0.157	0.166	1.589

7.2 Estructura genética

El valor global de F_{ST} calculado mediante el análisis de frecuencias de GenAlex fue de $F_{ST}=0.166$, mientras que la estimación obtenida después de la corrección ENA en FreeNA fue de $F_{ST}=0.176$.

Una vez que analizamos el efecto de los alelos nulos, al indagar la partición de la variación genética, los resultados de los diferentes AMOVA mostraron valores de $R_{CT} =0.065$, que es la cantidad de variación contenida entre las

especies *a priori*, es decir, el 6.5% de la variación la retienen las diferencias entre las especies, y un valor de $R_{SC}=0.092$ que es la variación entre las diferentes poblaciones, lo que representa el 9% de la variación, mientras que el 85% de la variación restante se encuentra dentro de las poblaciones.

Por otro lado al realizar el AMOVA delimitado por especies los resultados para *Q. sartorii* indicaron un $R_{ST}=0.073$, lo que representa que el 7% de la variación genética total se encuentra entre las poblaciones y el 93% dentro de las mismas; para *Q. meavei* $R_{ST}=0.062$, indicando que el 6% de la variación genética está entre las poblaciones y el 94% dentro de las poblaciones; y por último los valores para *Q. paxtaleensis* fueron los más altos, con $R_{ST}=0.232$, que representa que el 23% de la variación se encuentra contenida entre las poblaciones mientras que el 77% restante se mantiene dentro de las poblaciones (Cuadro 7).

Cuadro 7. AMOVA global y por especie, valores de F_{ST} globales y R_{ST} para cada especie, con el porcentaje de variación contenido entre poblaciones y dentro de las poblaciones. Suma de cuadrados (SC), media cuadrática (MS) variación estandar (Var. Est.).

	SC	MC	Var. Est.	%
Global				
Entre sp.	16995.2	8497.6	59.5	7%
Entre pob.	34904.5	2326.9	78.8	9%
Dentro pob.	260399.8	775.0	775.0	85%
Total	312299.7		913.4	100%
R_{ST}	0.130			
<i>Q. sartorii</i>				
Entre pob.	12574.4	1397.1	42.8	7%

Dentro pob.	102799.4	541.0	541.0	93%
Total	115373.8		583.8	100%
R_{ST}	0.073			
<i>Q. meavei</i>				
Entre pob.	34840.0	11613.3	346.3	6%
Dentro pob.	367374.6	5248.2	5248.2	94%
Total	402214.7		5594.5	100%
R_{ST}	0.062	0.012		
<i>Q. paxta.</i>				
Entre pob.	15758.8	5252.9	225.3	23%
Dentro pob.	56743.1	746.6	746.6	77%
Total	72501.9		971.9	100%
R_{ST}	0.232	0.001		

Finalmente, el resultado de la prueba de Mantel para evaluar el efecto del aislamiento por distancia, utilizando los valores de F_{ST} por pares de poblaciones (corregidos mediante FreeNA) contra las distancias geográficas fue $r = -0.091$ ($p = 0.180$) evidenciando un nulo aislamiento por distancia entre todas las especies. De manera particular *Q. sartorii* tampoco muestra aislamiento por distancia ($r = 0.023$; $p= 0.32$), para *Q. meavei* encontramos una valor de asociación alto pero no significativo ($r= 0.65$; $p= 0.25$) y finalmente *Q. paxtalensis* ($r= -0.26$; $p= 0.46$) tampoco presenta aislamiento.

7.3 Patrones de estructura genética

El resultado arrojado por el análisis de ΔK en Structure Harvester, indicó $K=3$ como el valor más probable de grupos genéticos en el conjunto de datos (Fig. 8). Estos grupos están representados por tres colores; el grupo genético de color verde pertenece a las poblaciones de *Q. sartorii*, exceptuando la población número seis, que corresponde a Calnali, Hidalgo (CAL) que parece tener una proporción considerable del grupo genético azul y rojo. El grupo genético de color rojo es el que es congruente con *Q. meavei*, en estas poblaciones parece que hay baja proporción de otros grupos genéticos. Finalmente, el grupo genético representado por el color azul se encuentra principalmente en las poblaciones asignadas a *Q. paxtalensis*, de las cuales, las poblaciones del estado de Hidalgo parecen conservar la mayor proporción de este grupo genético, mientras que la población 15, El Cielo, Tamaulipas (ECI) mantiene pequeñas proporciones de los grupos genéticos verde y rojo, y la población 16, Xilitla, San Luis Potosí, pertenece al grupo genético verde o *Q. sartorii* (Fig. 9).

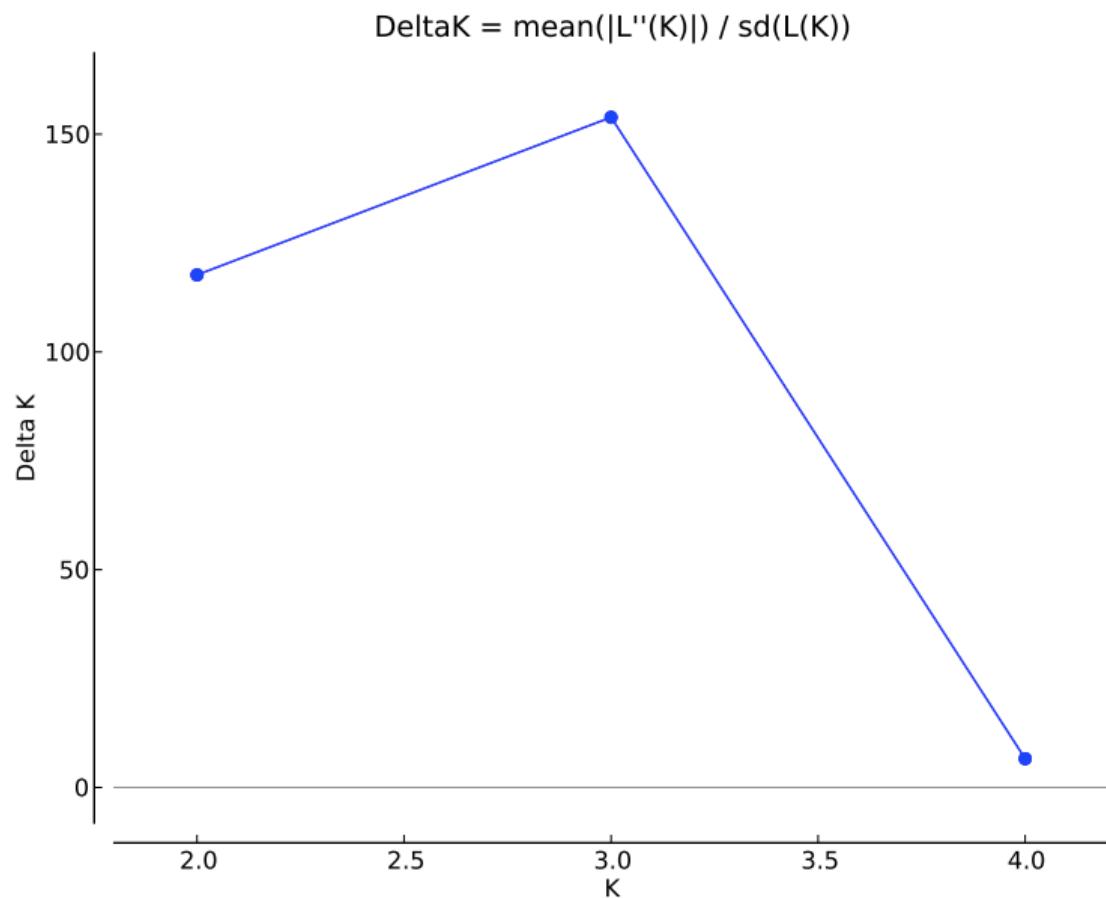


Figura 8. Número más probable de grupos genéticos, determinado por el valor más alto de ΔK , calculado mediante el método de Evanno *et al.* (2005).

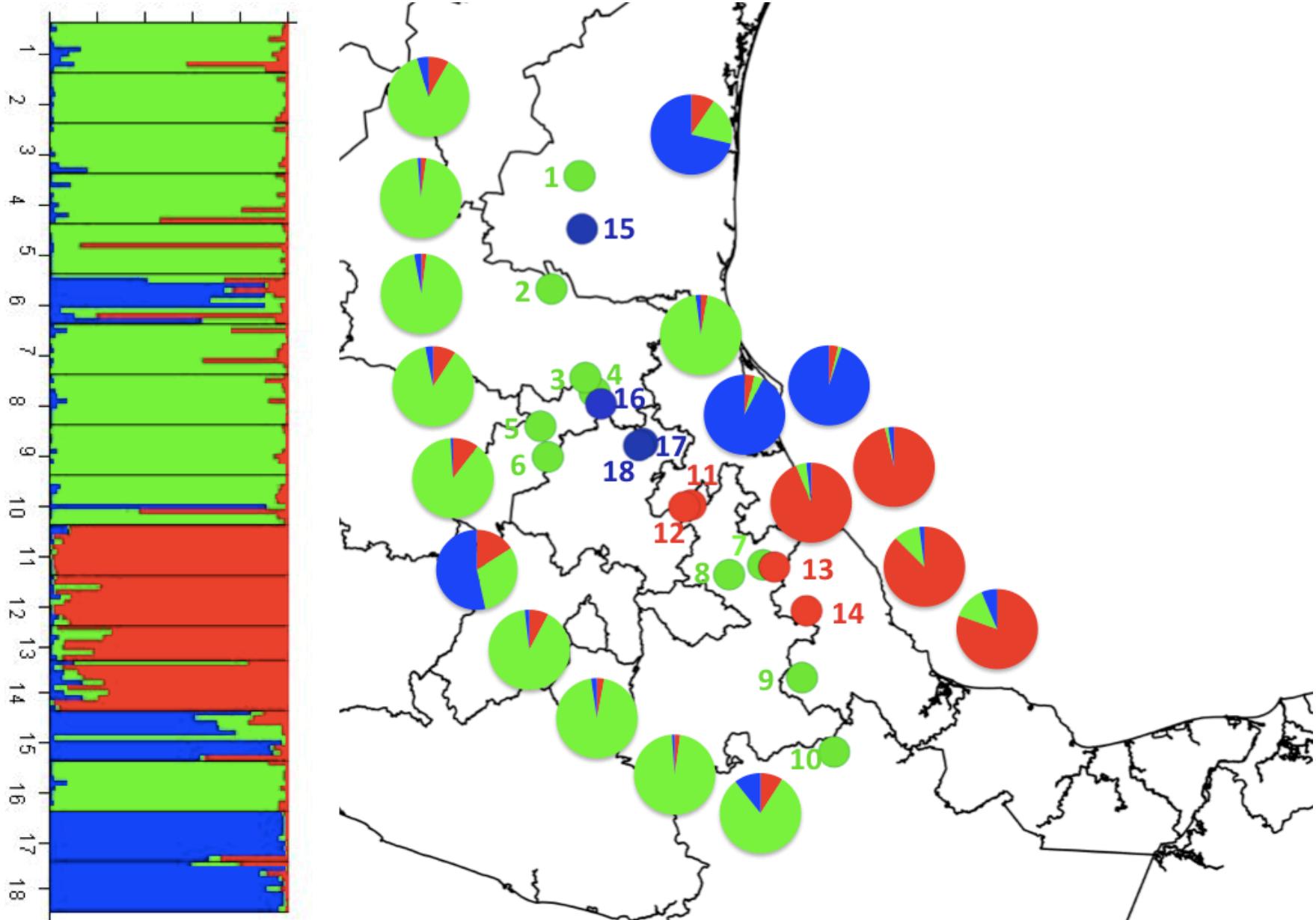


Figura 9. Histograma que muestra las proporciones de grupos genéticos de las poblaciones, sobre mapa y gráficos de pastel de las proporciones de las poblaciones. En puntos verdes las poblaciones de *Q. sartorii*, en puntos azules *Q. paxtalensis* y en puntos rojos *Q. meavei*.

7.4 Morfometría Geométrica

Superposición de Procrustes, ANOVA de Procrustes

Al realizar la superposición de Procrustes se generó un componente simétrico y un componente asimétrico de la variación morfológica de las hojas. Los ANOVAs de las coordenadas de Procrustes muestran los componentes de la varianza morfológica divididos en dos grupos; los referentes a los cambios de tamaño y los de cambio de forma, en ambos componentes la mayor cantidad de variación está explicada a nivel de los individuos (árboles) (Cuadro 8) con el 39.86% y 38.66%, respectivamente, seguidos por las hojas como el siguiente nivel que alberga la mayor cantidad de variación morfológica.

Los resultados del ANOVA por especie evidencian que en *Q. meavei* la mayor cantidad de variación en el tamaño se encuentra contenida a nivel poblacional, mientras que para *Q. paxtalensis* y *Q. sartorii* se encuentra a nivel de los árboles, por otro lado la variación en la forma está principalmente explicada a nivel de los árboles (Cuadro 9).

Cuadro 8. Resultados de la ANOVA de Procrustes para tamaño (CS) y forma (Shape). Suma de cuadrados (SS), media cuadrática (MS), grados de libertad (df), valores de F y P.

***Centroid size* (Tamaño)**

Nivel(Efecto)	%Var	SS	MS	df	F	P
Especie	6.50	1007,259882	503.629941	2	12.41	<.0001
Población	22.80	3528,671493	207.568911	17	5.11	<.0001
Árbol	39.86	6168,758350	40.583937	152	2.75	<.0001
Hojas	30.83	4771,323703	14.7719	323		

Shape

(Forma)

Nivel(Efecto)	%Var	SS	MS	df	F	P (param.)
Especie	15.39	0.56099439	0.004674953	120	30.26	<.0001
Población	11.40	0.41555967	0.000407411	1020	2.64	<.0001
Árbol	38.66	1.40880671	0.000154474	9120	2.38	<.0001
Hoja	34.53	1.25815914	0.00006	19380		

Cuadro 9. Resultado de la ANOVA de Procrustes por separado para cada una de las tres especies. Suma de cuadrados (SS), media cuadrática (MS), grados de libertad (df), valores de F y P.

Especie	Atributo	Nivel	% Var	SS	MS	df	F	P
<i>Q. meavei</i>	CS	Población	38.04	2361.79014	590	4	11.12	<.0001
		Árbol	33.34	2069.940936	53	39	2.6	0.0001
		Hoja	28.61	1776.843855	20	87		
	Shape	Población	7.91	0.069443	0.000289346	240	1.85	<.0001
		Árbol	41.79	0.36673456	0.000156724	2340	1.85	<.0001
		Hoja	50.28	0.44121948	0.000084	5220		
<i>Q. pax.</i>	CS	Población	9.89	277	139	2	2.75	0.0818
		Árbol	48.58	1361.583588	50	27	2.6	0.0011
		Hoja	41.51	1163.595655	19	60		
	Shape	Población	12.32	0.05439596	0.0004533	120	3.66	<.0001
		Árbol	45.45	0.20056189	0.000123804	1620	2.39	<.0001
		Hoja	42.21	0.18623076	0.000051	3600		
<i>Q. sartorii</i>	CS	Población	16.29	889	99	9	3.18	0.0023
		Árbol	50.15	2737.233825	31	88	2.99	<.0001
		Hoja	33.54	1830.884193	10	176		
	Shape	Población	16.54	0.29291412	0.000542434	540	3.39	<.0001
		Árbol	47.67	0.84429421	0.000159904	5280	2.67	<.0001
		Hoja	35.78	0.63361014	0.00006	10560		

Análisis de la relación forma (shape)/tamaño; Alometría

La interacción de las tres regresiones entre las coordenadas Procrustes y el logaritmo natural del tamaño del centroide mostró la misma tendencia en cuanto al cambio de las proporciones de la forma de la hoja a partir del tamaño del centroide. Aunque los cambios son menos drásticos en *Q. sartorii*, seguidos de *Q. paxtalensis* y siendo más notorios en *Q. meavei*, dada la relación que guardan con el tamaño, pues *Q. meavei* es la especie con hojas más grandes, esto se puede apreciar en la gráfica de dispersión de puntos (Fig. 10)

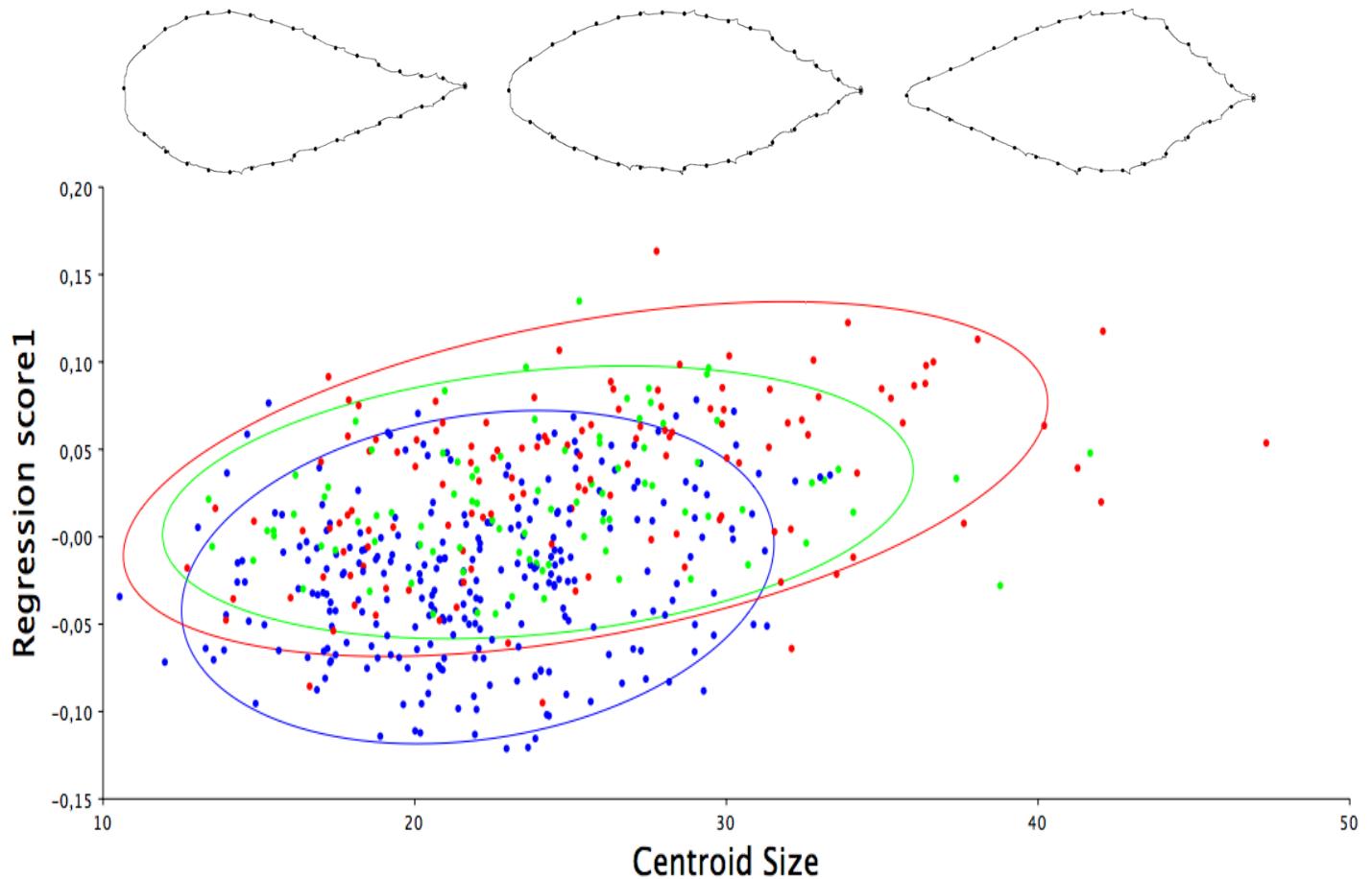


Figura 10. Gráfico de dispersión de puntos de la regresión entre las coordenadas de Procrustes y el centroid size, mostrando las elipses de confianza al 0.9. Azul-Q. *sartorii*, Verde-Q. *paxtalensis*, Rojo-Q. *meavei*. Arriba las formas asumidas con valores 20, 30 y 40 del tamaño del centroide.

Después de probar la significancia de la alometría en las tres especies por separado la MANCOVA se aplicó solo a los datos del componente simétrico, para probar las diferencias en las trayectorias alométricas, basados en las líneas de la regresión y las posibles intersecciones. El resultado de la prueba de intersección (especies) fue estadísticamente significativa, así como el de la

dirección (tamaño), lo que significa que las trayectorias alométricas de las especies son similares (paralelas), pero no las mismas (Cuadro 10).

Cuadro 10. Pruebas para la diferencia entre pendientes e intersecciones alométricas mediante MANCOVA de *Q. sartorii*, *Q. paxtalensis* y *Q. meavei*.

	Df	Pillai's	F	Df 1	Df 2	Pr(>F)	P
Especie	2	0.88076	5.1273	128	834	< 2.2e16	0.001
Size	1	0.27370	2.4495	64	416	6.461e08	0.001
Especie:Size	2	0.27688	1.0470	128	834	0.3533	
Residuals		479					

Análisis de componentes principales (PCA), análisis de variable canónica (CVA) y función discriminante (DF)

El análisis de componentes principales para el componente simétrico acumuló en sus dos primeros componentes el 90.1% de la variación, con el PC1 representando el 62.3% y el PC2 el 27.9%. La gráfica de dispersión en general no muestra la separación de los grupos definidos como las especies establecidas *a priori* (Fig. 11, parte izquierda). Al visualizar las formas en los valores positivos y negativos del PC1 y PC2, es posible asociar las formas a las especies (Fig. 11, parte derecha).

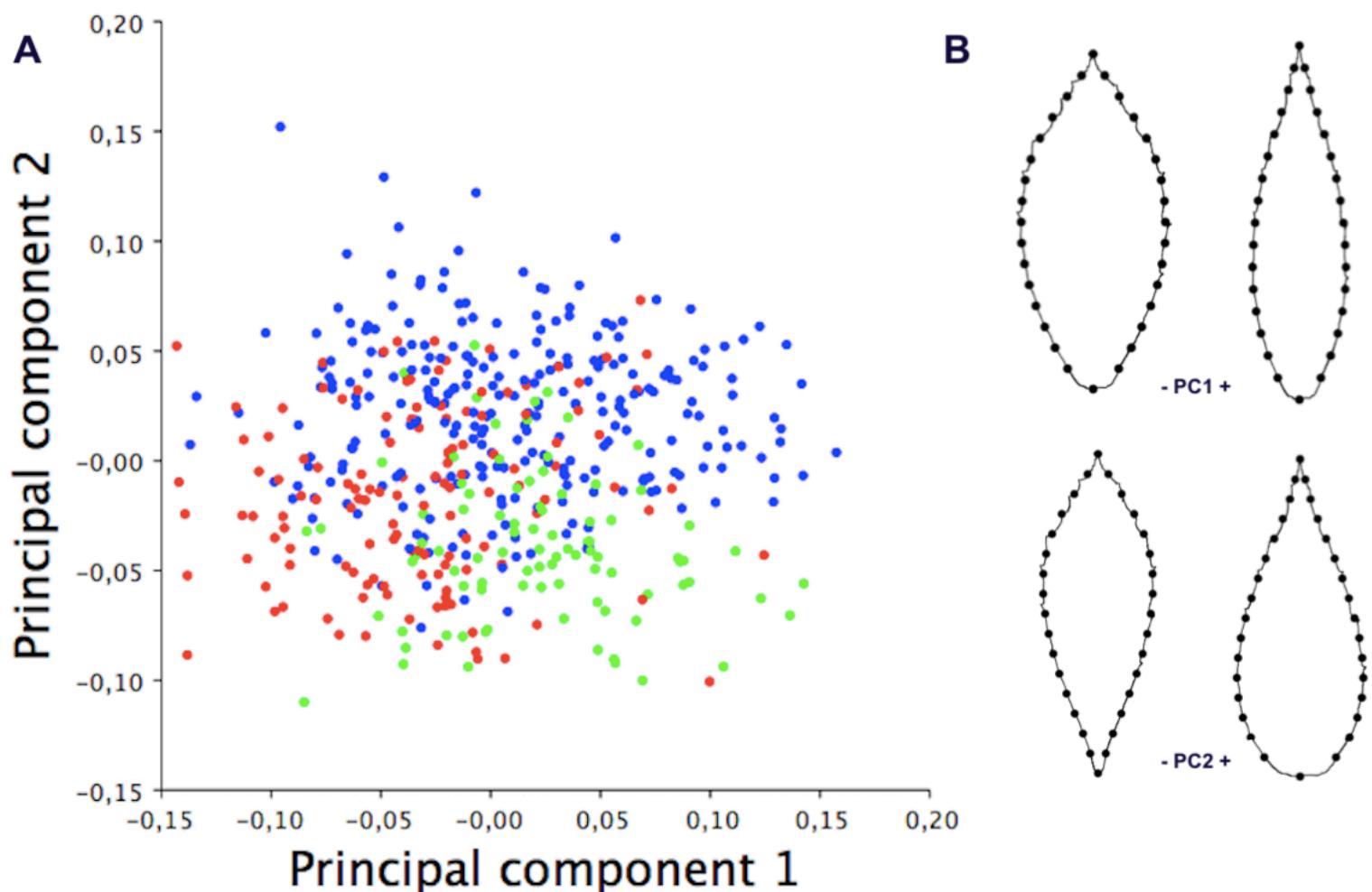


Figura 11. A) Gráfico de dispersión de puntos de los dos primeros componentes principales en Azul-*Q. sartorii*, Verde-*Q. paxtalensis*, Rojo-*Q. meavei*. B) Formas que representan valores de -0.1 y 0.1 para el PC1 y PC2, las formas visualizadas son congruentes con las descritas para las tres especies.

Para el componente asimétrico también se realizó una prueba de componentes principales en donde la variación acumulada en los dos primeros componentes fue de 79.7%, distribuida en el primer componente principal con el 66.3% y en el segundo con 13.3%. Los puntos en la gráfica de dispersión no presentan el mismo patrón que en la gráfica del componente simétrico, sino que están aglomerados al centro, y las formas asociadas ofrecen información acerca

de que la mayor proporción del componente asimétrico se encuentra en el ápice de la hoja (Fig. 12).

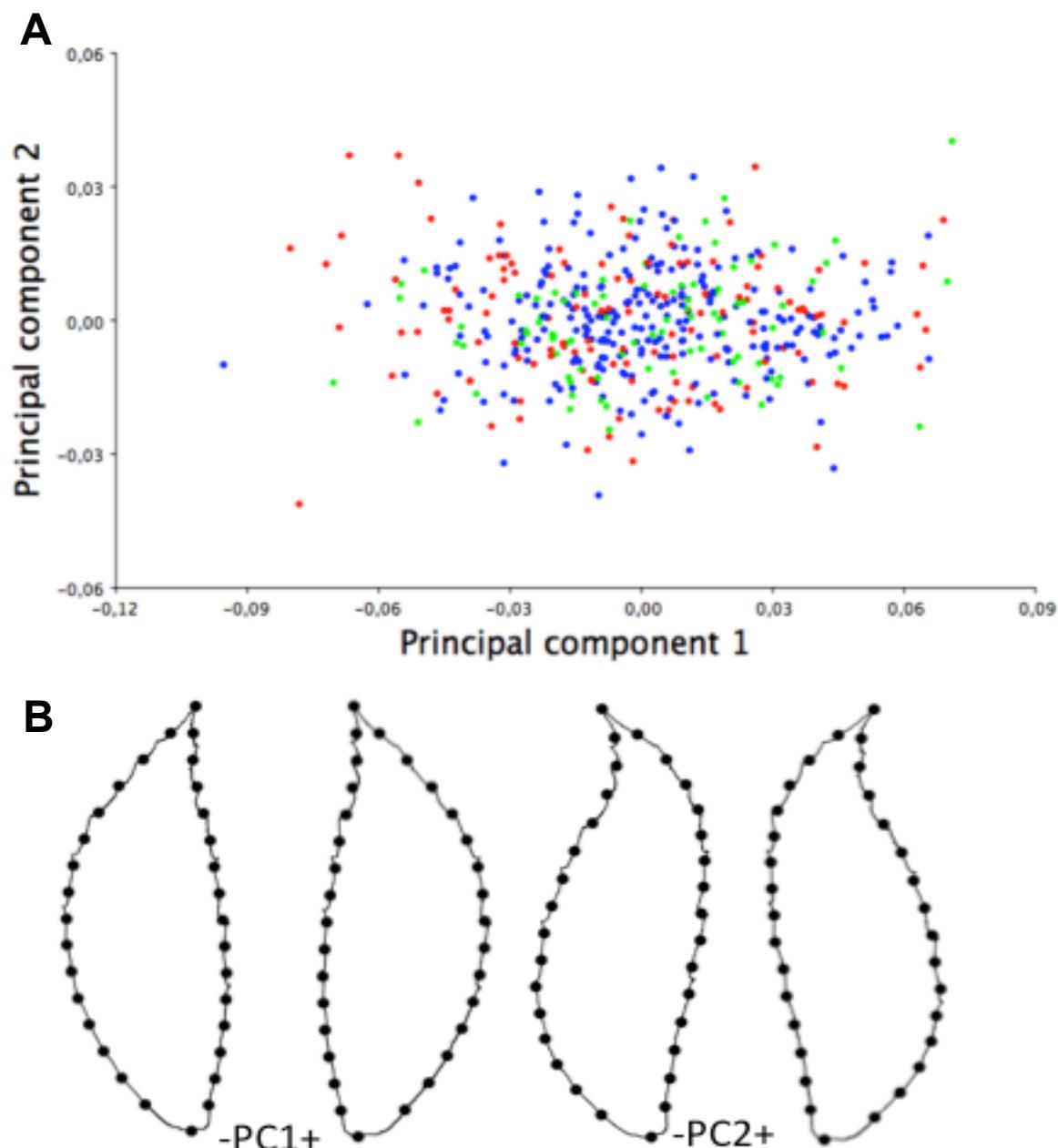


Figura 12. A) Gráfico de dispersión de puntos de los dos primeros componentes principales de componente asimétrico. B) Formas asociadas en valores de -0,1 y 0,1. para cada componente principal, en azul-*Q. sartorii*, verde-*Q. paxtalensis* y rojo-*Q. meavei*

Posteriormente, para maximizar y ordenar las diferencias entre las formas de las especies se llevó a cabo un análisis de discriminante canónica (CVA) en el que las dos primeras variables canónicas albergaron el 67.5% (CV1) y el 32.5% (CV2) de la variación, separando a las especies con mayor claridad y mostrando también la preponderancia de formas elípticas en *Q. paxtalensis*, ovadas en *Q. sartorii* y obovadas en *Q. meavei* (fig. 13).

Por último, se realizó un análisis de función discriminante para contrastar la clasificación establecida *a priori* con la que resulta del análisis. Después de la validación cruzada y 10,000 permutaciones obtuvimos valores altamente significativos de discriminación por pares entre los tres grupos, con asignaciones correctas en más del 70% de los individuos, siendo la comparación *Q. meavei*-*Q. sartorii*, la que presentó mayores problemas de discriminación ya que 31 hojas de *Q. sartorii* se asignaron a *Q. meavei* y 51 hojas de *Q. meavei* a *Q. sartorii* (Fig.14).

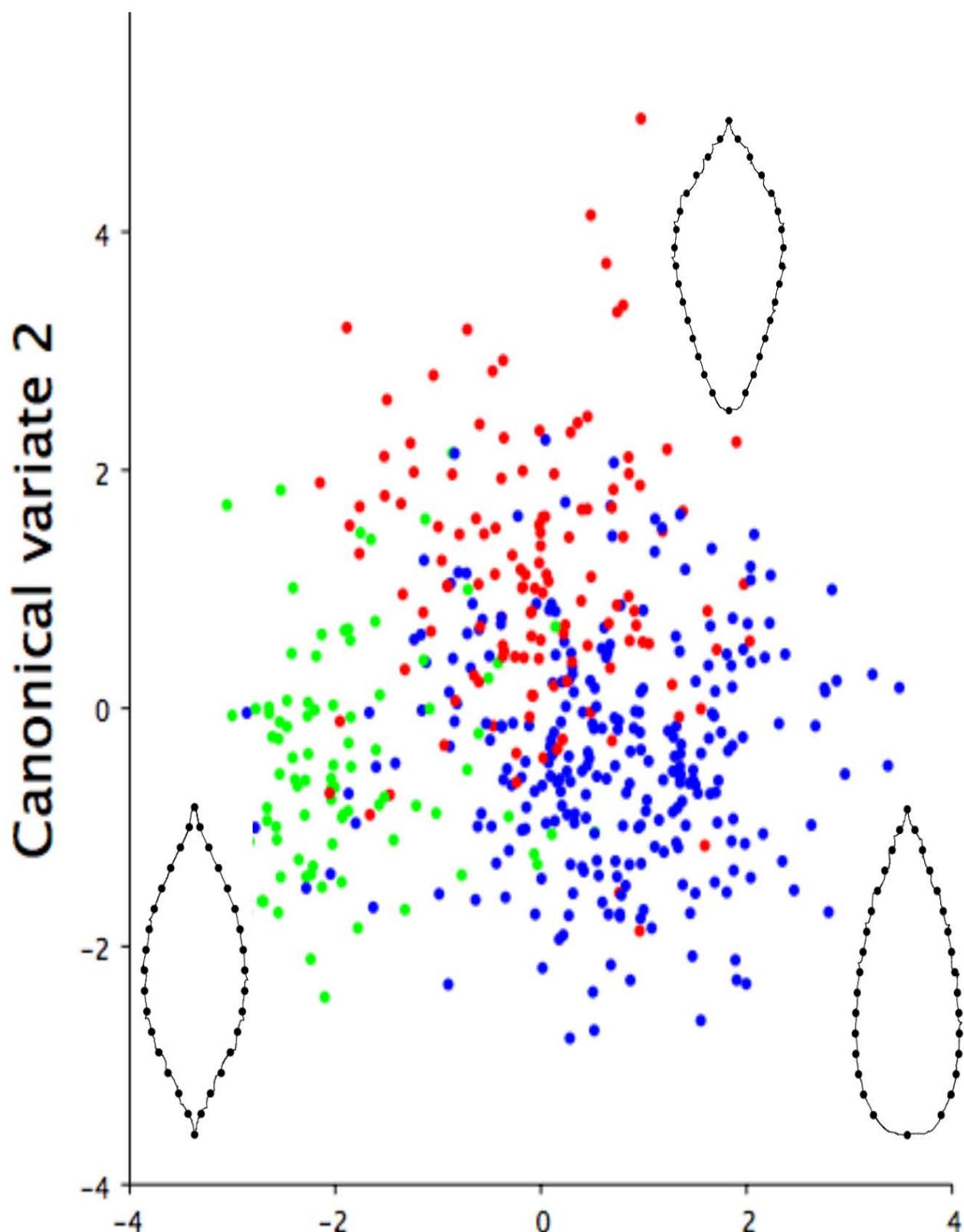


Figura 13. Gráfico de dispersión de puntos con representación de las formas asociadas a las especies. Azul-*Q. sartorii*, Verde-*Q. paxtalensis*, Rojo-*Q. meavei*

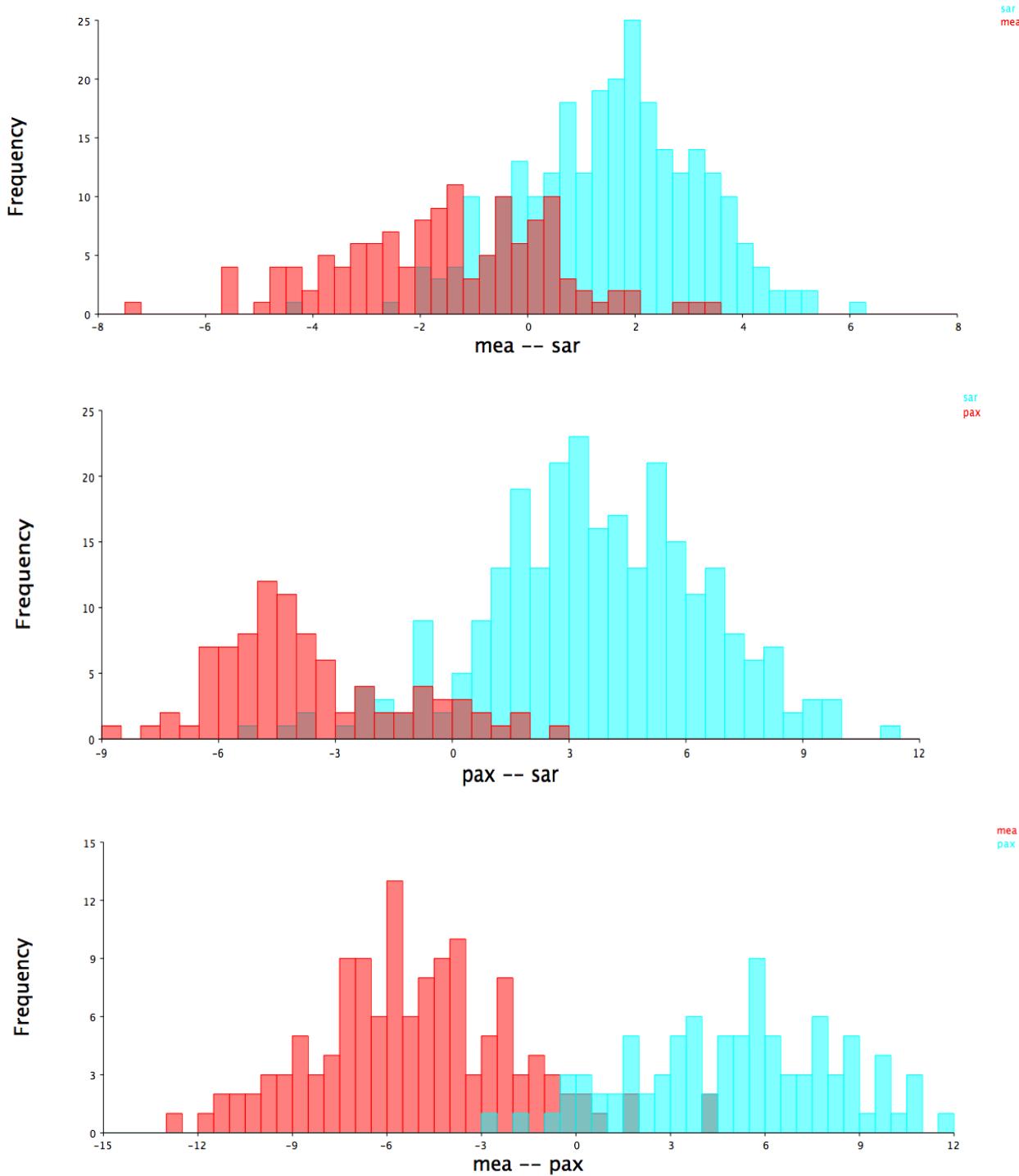


Figura 14. Histograma de las especies asignadas en la función discriminante, para los grupos definidos a priori.

7.5 Relación forma/ambiente

Como resultado de la regresión de mínimos cuadrados parciales se generaron dos bloques de variables; el bloque uno que alberga las coordenadas de Procrustes de cada individuo y el bloque dos conformado por las 5 variables bioclimáticas no correlacionadas entre sí (BIO-1, BIO-2, BIO-3, BIO-12 y BIO-15). Dentro de los coeficientes de regresión del PLS1 del bloque dos, el valor de la BIO-12 es muy alto y significativo, y en segundo lugar se encontró la BIO-1 (Cuadro 11 y 12). La fuerza de la asociación entre los bloques definida por el coeficiente RV fue de 0.0268 con una alta significancia estadística ($P=0.003$)

Cuadro 11. Coeficientes de los PLS del bloque 2

	PLS1	PLS2	PLS3	PLS4	PLS5
BIO_1	0,01394303	-0,97730472	0,05923873	0,17274920	0,10644045
BIO_12	0,99980891	0,01291006	0,01012232	-0,01059456	-0,00087119
BIO_15	-0,00242466	-0,19391180	-0,43492768	-0,87032460	-0,12556009
BIO_2	-0,01307134	-0,03810564	0,89297404	-0,41233876	-0,17592957
BIO_3	-0,00331480	0,07519969	0,09911403	-0,20629422	0,97054269

Cuadro 12. Valores individuales y de correlación de pares de puntuación PLS entre bloques.

	Singular value	P	% total covar.	Correlation	P
PLS1	5,85314653	0,0003	99,956	0,17792	0,0009
PLS2	0,12147499	0,0407	0,043	0,16142	0,0010
PLS3	0,01364021	0,8768	0,001	0,13745	0,0077
PLS4	0,01210963	0,1699	0,000	0,08634	0,3359
PLS5	0,00229531	0,4747	0,000	0,12149	0,0571

Finalmente, en la gráfica de dispersión de puntos entre el PLS1 y PLS2 del bloque uno se logra apreciar cierta agrupación de las especies con respecto a la respuesta de la correlación y las formas hacia valores negativos y positivos dentro del PLS1 (Fig. 15).

Además, al realizar por separado el análisis de las especies visualizando la interacción de las variables bioclimáticas en el bloque de variables dos, se puede observar en forma de vectores la fuerza y dirección de los mismos, de esta manera podemos recuperar las formas que tomarían las hojas ante diferentes combinaciones de variables climáticas interactuando (Fig. 16).

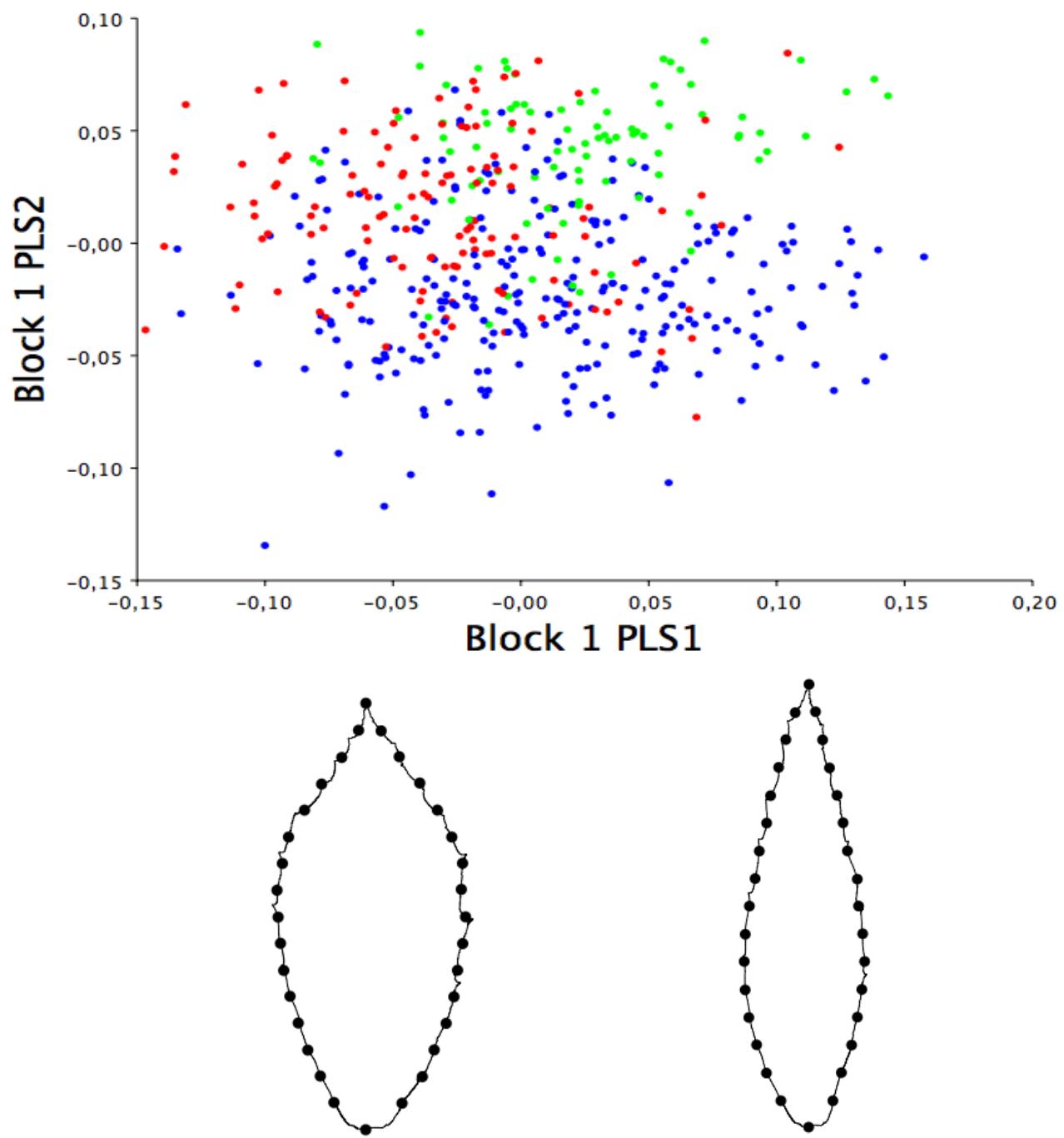


Figura 15. Gráfico de dispersión de puntos entre PLS del bloque uno y las diferentes correlaciones de las formas en valores negativos y positivos. Azul-*Q. sartorii*, Verde-*Q. paxtalensis*, Rojo-*Q. meavei*

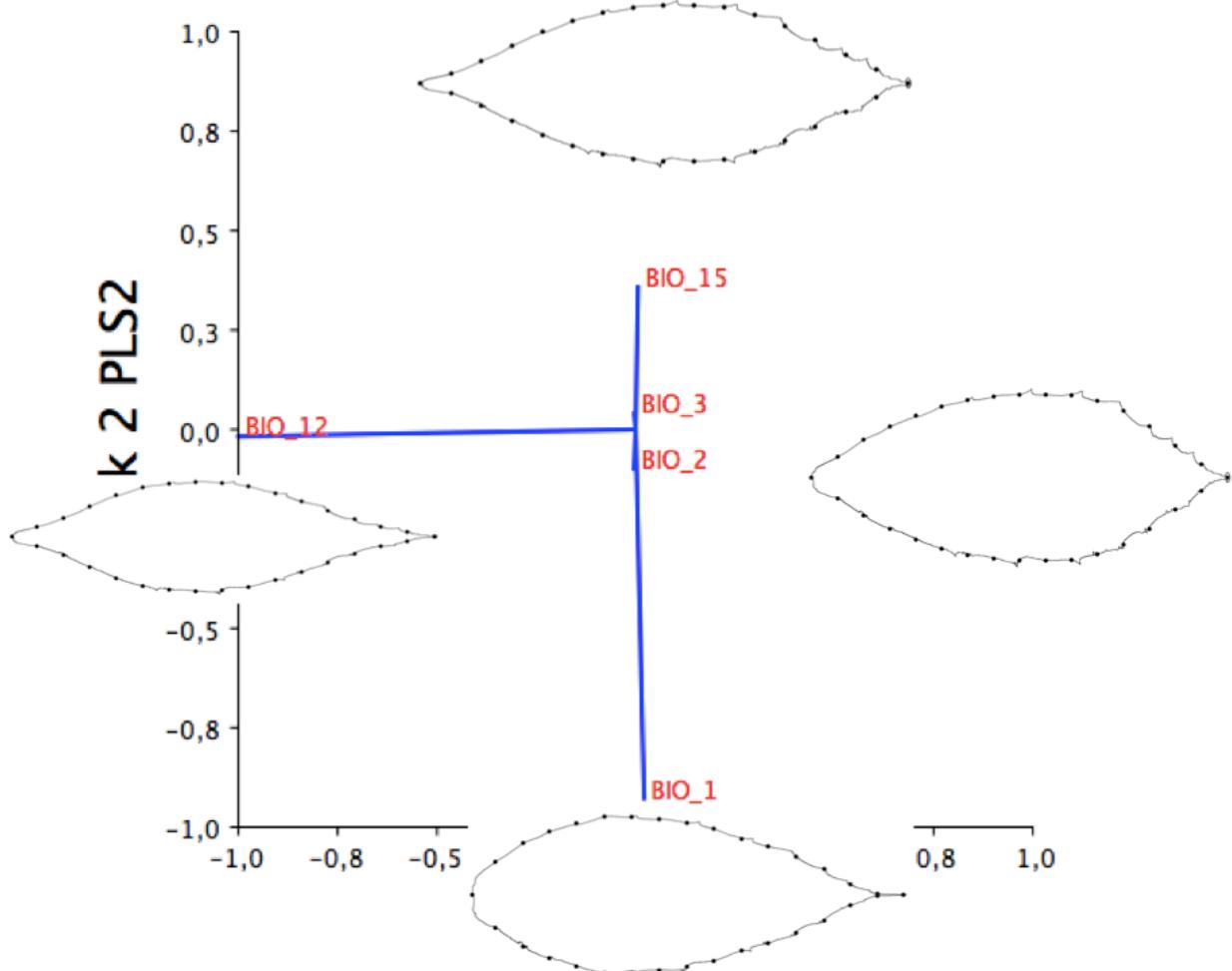


Figura 16. Gráfico del bloque de variables dos, en forma de vectores las variables bioclimáticas, con dirección y fuerza, acompañados de las posibles formas de las hojas en diferentes escenarios climáticos.

7.6 Relación distancias genéticas y morfológicas

Finalmente, el resultado de la prueba donde comparamos los valores corregidos de F_{ST} vs las distancias de Mahalanobis entre poblaciones, (producto del análisis de CVA en la parte de morfometría geométrica) fue positivo y altamente

significativo ($r = 0.642$; $p = 0.001$), lo que nos indica que las poblaciones más alejadas genéticamente son también las más distintas morfológicamente (Fig. 17).

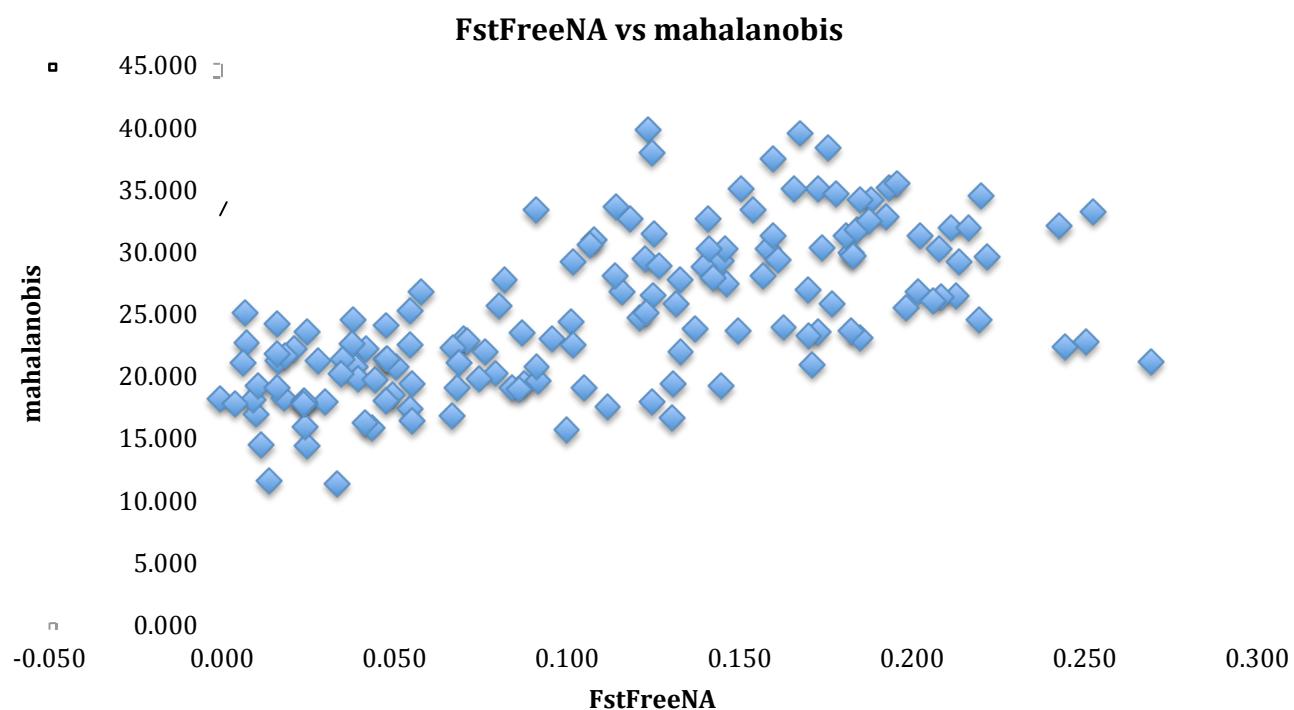


Figura 17. Regresión entre los valores corregidos de F_{ST} mediante FreeNA vs los valores de las distancias de Mahalanobis poblacionales, ($r = 0.642$; $p = 0.001$).

7.7 Análisis del área foliar

Los resultados del ANOVA revelaron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$) en el área foliar. En particular, las áreas foliares en *Q. meavei* son superiores (~55 cm²), con respecto a *Q. paxtalensis* (~41cm²) y *Q. sartorii* (~38 cm²) con agrupación entre estas últimas mediante una prueba de Tukey (Cuadro 13) (Fig. 18).

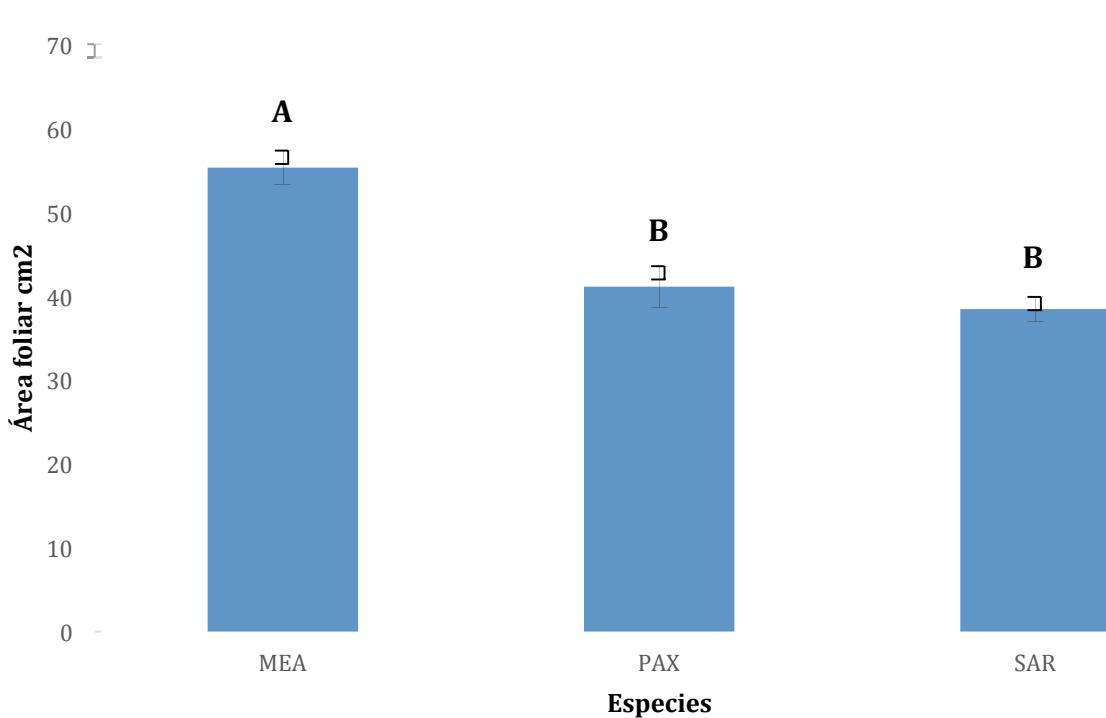


Figura 18. Gráfico de ANOVA del área foliar de las hojas agrupadas por especies, se muestra el error estándar y sobre las barras la agrupación mediante una prueba de Tukey.

Cuadro 13. ANOVA de los valores de área foliar entre las tres especies.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Especie	2	25411.64	12705.8	22.9078	<0.0001*
Error	482	267341.22	554.6		
C. Total	484	292752.86			

Posteriormente, los resultados del ANOVA por poblaciones evidenciaron que solamente son diferentes en tamaño las poblaciones de *Q. meavei* pertenecientes al Ejido Pueblo Nuevo (Hidalgo), El Fresno (Hidalgo) y

Mexcalcuautla (Puebla) agrupadas también mediante una prueba de Tukey (Fig. 19).

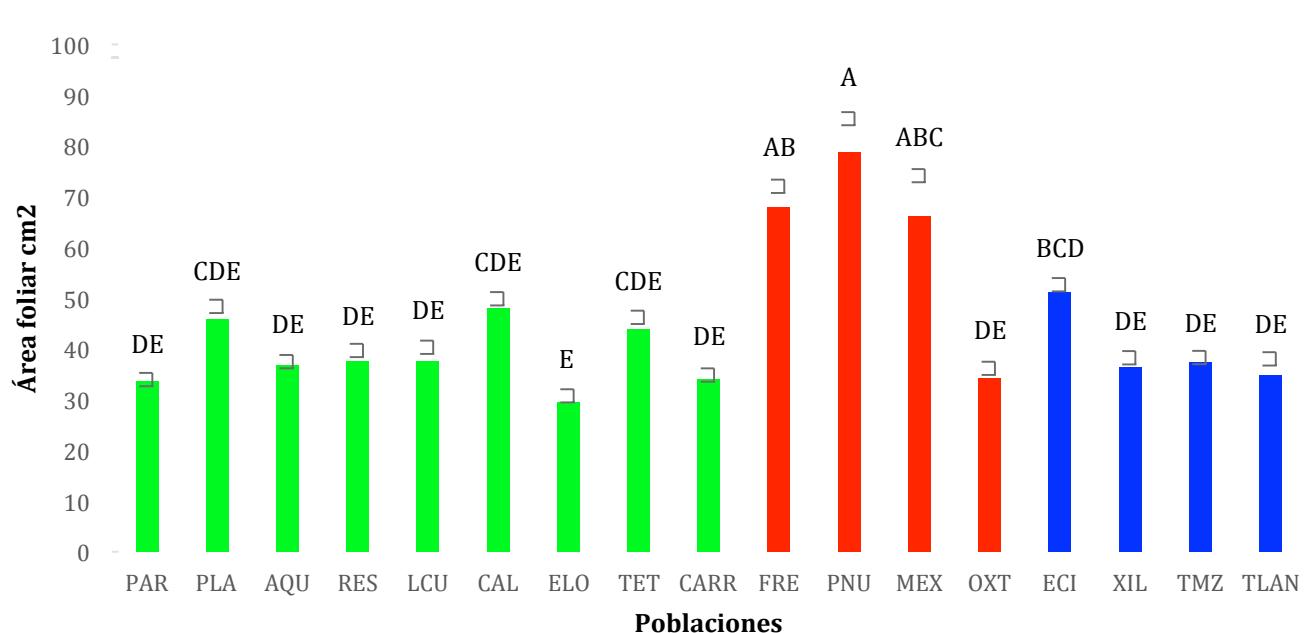


Figura 19. Análisis de ANOVA entre las poblaciones sometidas a estudio, se muestra el error estándar y sobre las barras las agrupaciones mediante una prueba de Tukey, las barras de color verde corresponden a las poblaciones de *Q. sartorii*, rojo *Q. meavei* y azul *Q. paxtalensis*.

Finalmente, realizamos mapas con las capas ambientales de la precipitación media anual (BIO-12) y temperatura media anual (BIO-1), lo que permite visualizar que *Q. meavei* presenta afinidad por lugares más húmedos, seguido por *Q. paxtalensis* y finalmente *Q. sartorii* podemos ubicarlo en sitios con altas y moderadas a bajas precipitaciones (Fig. 20). Con respecto a la temperatura, *Q. meavei* tiene afinidad para sitios más fríos que las otras dos especies (Fig. 21).

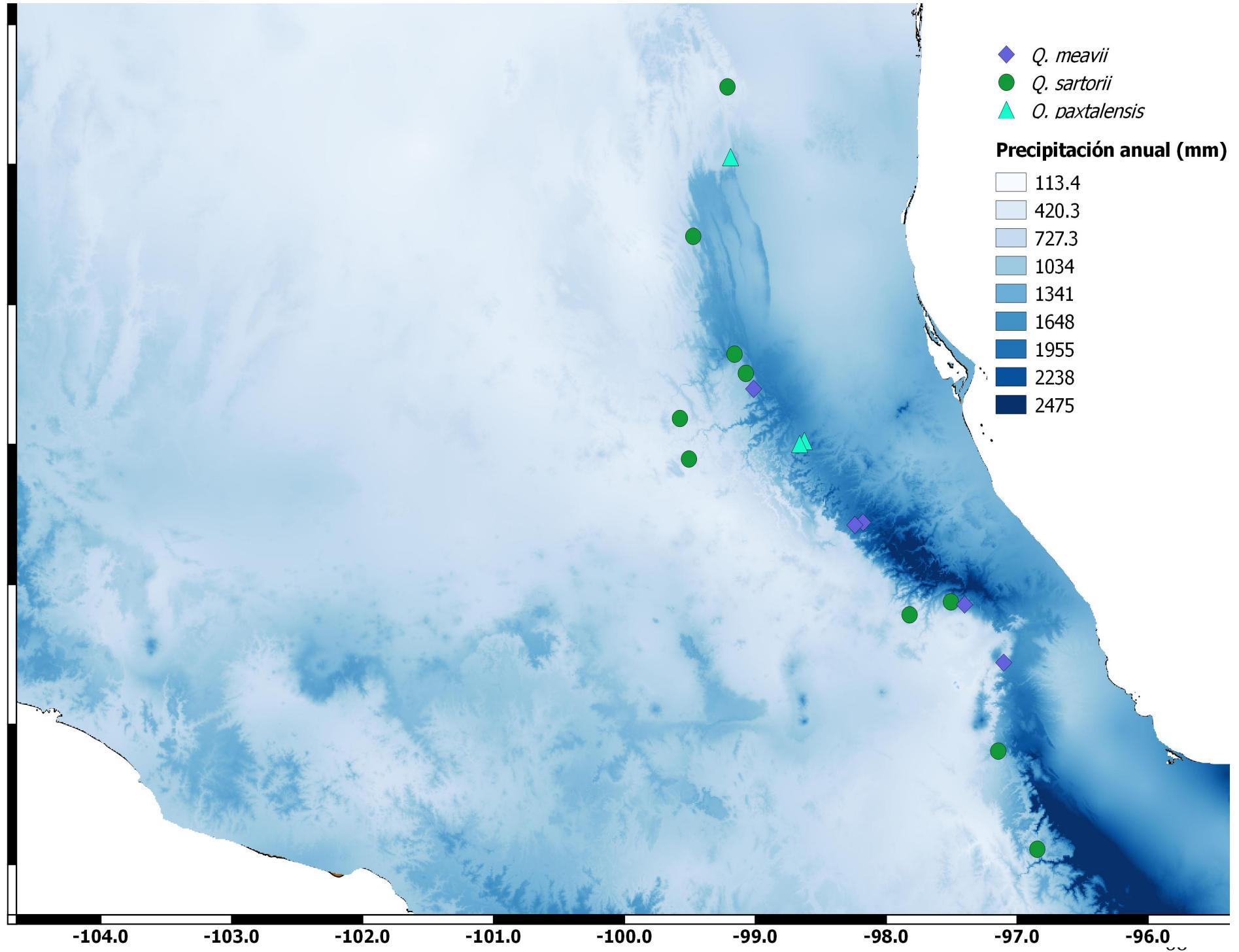


Figura 20. Precipitación media anual y localidades colectadas para las tres especies

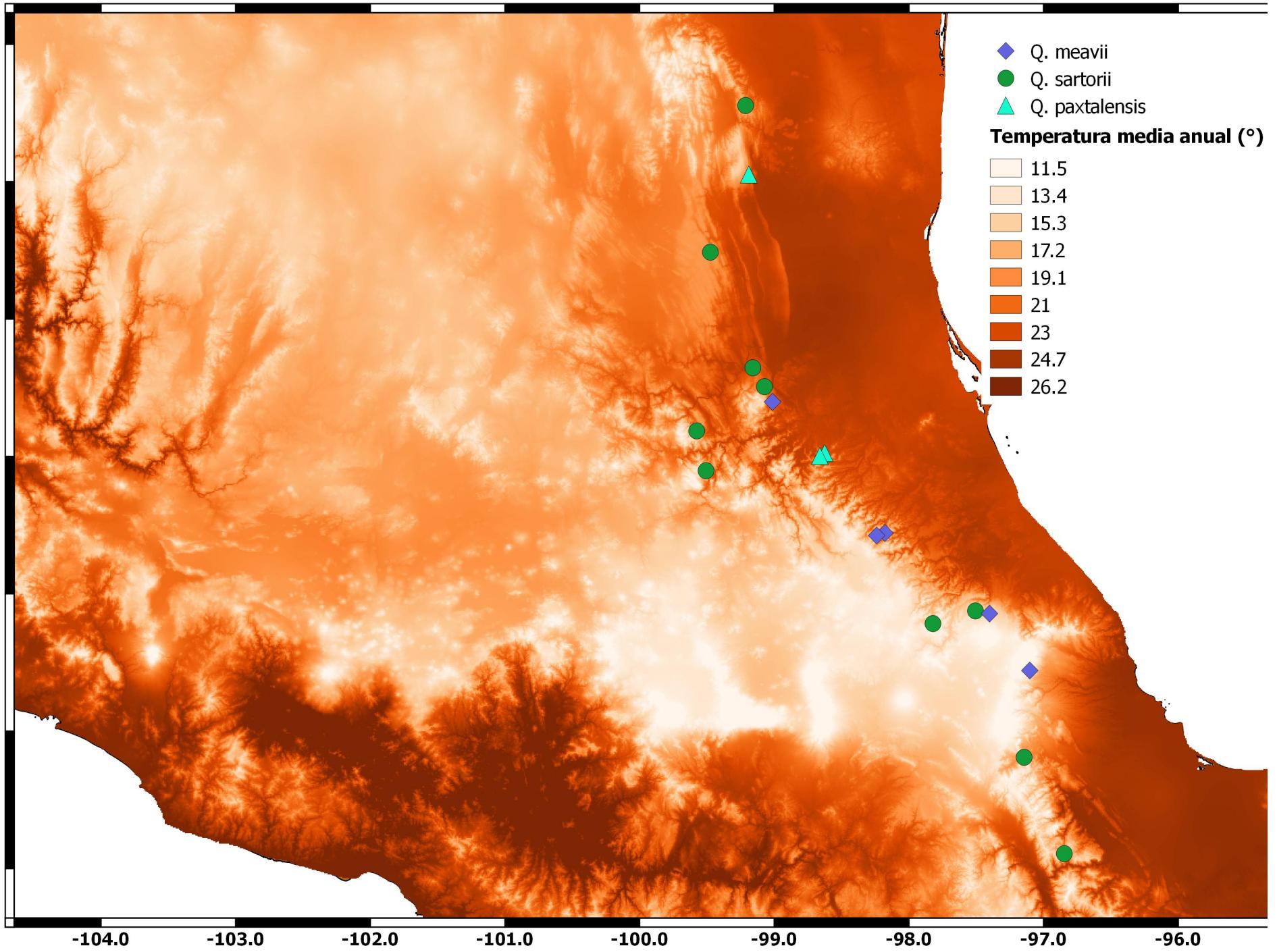


Figura 21. Temperatura media anual y localidades colectadas para las tres especies

VIII.- DISCUSIÓN

8.1 Grupo *Acutifoliae*

Los datos obtenidos del presente trabajo muestran una perspectiva genética de tres especies del género *Quercus*, que pertenecen a uno de los grupos más grandes en donde se han agrupado los encinos americanos (Trelease, 1924).

Las tres especies presentan semejanza morfológica, aunque están presentes en diversos tipos de vegetación. Se han realizado diferentes tratamientos taxonómicos, y algunos presumían que el grupo no era monofilético, en este sentido el reciente trabajo de Hipp *et al.* (2018) muestra que algunas especies del grupo que se incluyeron (*Q. cambyi*, *Q. uxorius*, *Q. grahamii* y *Q. acutifolia*) en la filogenia no se encuentran cercanamente relacionadas. Sin embargo, esto no significa que el todo el grupo *Acutifoliae* sea polifilético, pues aún se desconoce la cercanía y las relaciones de las especies del presente trabajo y otras más.

8.2 Diversidad genética

Los valores de heterocigosidad esperada y observada para las tres especies fueron moderados-altos; *Q. sartorii* ($H_e=0.64-0.79$), *Q. meavei* ($H_e=0.65-0.79$) y *Q. paxtalensis* ($H_e=0.65-0.72$) en comparación con algunos de los previamente reportados para otras especies de encinos rojos. Por ejemplo, Gugger *et al.* (2013) encontraron valores de $H_e=0.43-0.74$ para *Q. lobata*, Valencia-Cuevas *et al.* (2014) reporta valores de H_e (0.61-0.87) para *Q. castanea*, Cavender *et al.*

(2011) describe valores para *Q. virginiana* de $H_e=0.595$ y valores separados para *Q. oleoides* de $H_e=0.712-0.516$, mientras que Ramos-Ortiz *et al.* (2016) obtuvo valores de $H_e =0.752-0.838$ para (*Q. affinis* y *Q. laurina*). Los valores relativamente altos de diversidad genética en las tres especies aquí estudiadas pueden atribuirse a tamaños poblacionales grandes en el pasado, así como la conectividad que pudieron presentar en períodos de expansión previa y son muy interesantes debido al fuerte estado de amenaza de los tipos de vegetación donde se presentan.

8.3 Estructura genética

La estructura genética de las poblaciones estudiadas fue moderada al analizar todas las poblaciones sin distinción de especies, con un $F_{ST}=0.17$ con la corrección ENA. Este valor de estructura es moderado pero comparado con otros valores de F_{ST} es muy elevado, por ejemplo; Ramos-Ortiz *et al.* (2016) reporta el valor de F_{ST} para *Q. affinis*-*Q. laurina* después de la corrección ENA de $F_{ST}=0.06$, así como Moran *et al.* (2012) que para cuatro especies (*Q. rubra*, *Q. velutina*, *Q. falcata* y *Q. coccinea*) en dos localidades describe valores de $F_{ST}=0.004$ y 0.009 posteriores a la corrección ENA, finalmente Peñaloza-Ramírez *et al.* (2010) en diferentes F_{ST} pareadas entre *Q. hypoleucoides*, *Q. scytophylla* y *Q. sideroxyla* valores entre 0.02 y 0.07.

Por otro lado, al realizar el AMOVA separando las especies, es particularmente interesante el nivel de diferenciación encontrado en *Q. paxtalensis*, ya que presenta un R_{ST} alto (0.23), lo que podría explicarse como

resultado de que la lejanía entre las poblaciones han favorecido su diferenciación. Sin embargo, debemos ser cuidadosos y verificar la identidad taxonómica de las muestras, ya que la población de Xilitla (S.L.P.), de acuerdo con el software STRUCTURE, pertenece a *Q. sartorii*, lo que podría incrementar la estructura genética dentro de este grupo que fue definido *a priori* como *Q. paxtalensis* y la población de Calnali (Hidalgo) muestra claramente hibridación en su ancestría, esto es muy interesante debido a que morfológicamente corresponde totalmente a *Q. sartorii* y no muestra caracteres intermedios como generalmente lo hacen los híbridos. Es preciso señalar que la gran lejanía geográfica que existe con la población tipo de *Q. paxtalensis* (Paxtal, Chiapas), podría indicar que se trata de una especie diferente con una morfología muy similar.

Sin embargo, para *Q. sartorii* y *Q. meavei* se encontraron valores de R_{ST} muy bajos (0.07 y 0.06, respectivamente) lo que indica una escasa estructura genética poblacional, producto tal vez de la conectividad pasada o de números poblacionales efectivos altos. Estos valores son similares a los encontrados en *Q. macrocarpa* que han reportado valores de F_{ST} bajos (0.026) Craft y Ashley (2007). Cavender *et al.* (2011) a su vez reporta valores de F_{ST} muy bajos que van desde 0.005 hasta 0.13 en *Q. virginiana* y *Q. oleoides*, así como el trabajo de Grivet *et al.* (2008) GST= 0.052 para *Q. lobata*.

De esta manera es posible mediante nuestros datos inferir que las poblaciones presentan un alto flujo de genes a pesar de la heterogeneidad de la

Sierra Madre Oriental y de la distribución natural en parches de sus tipos de vegetación.

8.4 Correlación entre la variación morfológica y genética

La prueba de Mantel realizada para comparar el coeficiente de diferenciación genética (F_{ST}) por pares de poblaciones y las distancias de Mahalanobis basadas en el análisis de morfometría geométrica, mostró una alta correlación entre ambas matrices. Este resultado contribuye a robustecer la idea de que las tres especies estudiadas mantienen una identidad morfológica y genética. Por otro lado, como lo mencionan Cavender-Bares *et al.* (2011) la covariación entre la variación fenotípica y los marcadores genéticos puede ser explicada si procesos como el flujo genético y la deriva han afectado históricamente ambos tipos de variación. Es importante mencionar que existen muy pocos análisis de este tipo en la literatura, y que la mayoría de los existentes utilizan morfometría tradicional o elípticos de Fourier, aproximaciones que pueden sobre o subestimar la morfología real de los organismos, puesto que son procesos automatizados, lo que reduce la confiabilidad y no existe una reconstrucción gráfica detallada de las estructuras (Viscosi, 2015).

8.5 Morfometría Geométrica

Un enfoque importante en el estudio de la morfología de las hojas es la separación de los componentes de la forma en simétricos y asimétricos, debido a que como menciona Viscosi (2015) esto reduce la variación producida por la inestabilidad en el desarrollo, lo que puede ocasionar asimetría en los individuos.

Nuestros resultados del ANOVA anidado, reflejan que los individuos (árboles) son el nivel al que se encuentra la mayor cantidad de variación. Un resultado contrario ha sido reportado por Viscosi (2015) quien reporta valores más altos a nivel de especies tanto en forma como en tamaño del centroide aún en especies cercanamente relacionadas. En nuestro estudio la baja cantidad de variación retenida a nivel de especies puede ser producto de la cercanía taxonómica que presentan y la alta variabilidad en los individuos podría ser explicada por la alta plasticidad fenotípica que presentan estos encinos.

Al realizar el ANOVA separando las especies, tanto el tamaño del centroide como la forma presentan la mayor cantidad de variación a nivel de individuo. Esto puede ser consecuencia de las condiciones ambientales de las localidades en las que se desarrollan los árboles, ya que la precipitación y la temperatura difieren a lo largo del gradiente geográfico considerado, y estas variables climáticas pueden influir sobre la cantidad de recursos que los individuos poseen al momento de desarrollar las láminas foliares.

Alometría

En los análisis morfométricos es importante considerar la relación que guardan el tamaño y la forma, lo cual ha sido poco estudiado para los encinos americanos ya que se ha reportado que algunos encinos europeos difieren sus tamaños de hojas en un gradiente altitudinal (Bresson *et al.*, 2001) lo que afecta también la morfología dado la relación alométrica que guardan, en encinos americanos. Rodríguez-Gómez *et al.* (2017) reportan asociaciones entre la morfología y el gradiente ambiental así como Ramos-Ortiz *et al.* (2015) en la relación entre el largo y ancho de las bellotas con el gradiente latitudinal, lo que puede conducir a selección diversificadora pues en diferentes sitios se pueden favorecer tamaños o formas en específico.

En nuestro caso las trayectorias alométricas de las tres especies son muy similares en cuanto a la pendiente (efecto de la especie x tamaño) pero diferentes en cuanto a las dimensiones, es decir, que las especies cambian su relación de tamaño y forma de la misma manera mientras el rango del tamaño del centroide es compartido, pero esta relación no se conserva siempre, ya que *Q. meavei* tiene tamaños foliares más grandes seguido por *Q. paxtalensis* y finalmente *Q. sartorii* lo que provoca que la relación con la forma cambie. Dicha similitud en los cambios en las proporciones podría ser explicada por la cercanía que tiene presuntamente este grupo de especies, además de los tipos de vegetación donde se desarrollan y las variables ambientales influirían directamente sobre los tamaños al interior de las especies.

Discriminación de especies

El análisis de componentes principales para el componente simétrico muestra que nuestros análisis están capturando alrededor del 90% de la variación total de las hojas, lo que provee de robustez a todos los análisis realizados, además de que de manera incipiente muestra una tendencia en la forma de los grupos, así como el componente asimétrico revela que las hojas guardan de manera general una forma simétrica, solo cambiando en el tercio distal de la lámina.

El análisis de variable canónica fue el que permitió discriminar casi completamente las especies y fue congruente con las formas que presentan los organismos. Esta prueba logró mejores resultados al promediar las formas de las hojas por individuo, reduciendo así el sesgo que puede provocar la plasticidad fenotípica y reflejar de manera general la forma de las poblaciones, pero restando poder estadístico a la prueba, aunque se mantuvo su alta significancia estadística. Este análisis fue reforzado con la aplicación de la función discriminante que nos provee cifras en cuanto a la asignación morfológica que realizamos contra la que ofrece el promedio de las formas para cada especie, resultando nuestras determinaciones bastante coherentes con todos los morfos de los taxa.

8.5 Ambiente vs forma

Un punto a resaltar en este trabajo es la correlación realizada mediante mínimos cuadrados parciales entre el componente morfológico y las variables ambientales en los sitios de colecta, factores que afectarían directamente la

expresión de la forma en los árboles, y en efecto se pudo observar una muy fuerte relación de la precipitación con los cambios en la forma de las hojas, seguido por la temperatura media anual. La precipitación es un factor clave en el hábitat de estas especies ya que tienen una afinidad por zonas de alta humedad (p. e. bosques mesófilos o encinares húmedos). De esta manera pudimos visualizar los diferentes cambios en las formas de las especies dependiendo de estas dos variables ambientales principalmente.

Finalmente, el análisis de área foliar nos ayudó a cuantificar las diferencias en los tamaños de las láminas que son muy diferentes solamente para *Q. meavei*. De manera empírica podríamos señalar una relación entre el tamaño y la precipitación de los sitios, así como el tamaño de los organismos que son los más altos entre las especies del presente trabajo.

8.6 Importancia de los encinos en el BMM

Como se ha mencionado los bosques mesófilos de montaña son un tipo de vegetación sumamente amenazado, y en donde los elementos del género *Quercus* tienen una gran importancia. Es por esto que especies como *Q. meavei*, *Q. paxtalensis* y *Q. sartorii* son muy importantes de mantener, ya que son específicas de este tipo de vegetación, en donde diversos estudios estructurales evidencian a los elementos del género *Quercus* con alto valor e importancia ecológica (Meave *et al.*, 1992; Luna *et al.*, 2007), ya que tienden a albergar mayor diversidad que bosques mesófilos dominados por otros elementos arbóreos (Juárez, 2013).

De esta manera las especies del género *Quercus* desempeñan un papel sumamente importante en la dinámica y los procesos ecosistémicos de los BMM al mantener estrechas interacciones con plantas epífitas, animales y hongos además de proveer alimento a un gran número de organismos. Es también importante resaltar el papel que juegan en la retención y el balance del agua en los bosques, por lo que se pueden considerar como grupos fundadores o clave en los ecosistemas en los que se presentan (González *et al.*, 2012).

IX.- CONCLUSIONES

- Los valores de diversidad genética muestran valores altos en general, y son congruentes con lo reportado para encinos americanos, siendo inclusive más elevados que los previamente reportados.
- La estructuración genética en general es moderada-baja excepto para *Q. paxtalensis*, que muestra un R_{ST} bastante alto.
- No existe relación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas, lo que indica un nulo aislamiento por distancia.
- Existe una gran relación entre las distancias genéticas y morfológicas, lo que provee de identidad a las especies y puede dar indicio de que los procesos de flujo o deriva han afectado históricamente de la misma manera a las especies.
- El número y distribución de los grupos genéticos obtenidos mediante asignación Bayesiana es congruente con lo establecido taxonómicamente, encontrando solo una población con una considerable mezcla de ancestrías.
- La relación entre forma y tamaño (alometría) es muy importante para describir las formas y los procesos evolutivos que se expresan fenotípicamente.

- Diferentes pruebas estadísticas apuntan a una correcta clasificación de las formas *a priori*, contribuyendo a la delimitación de especies.
- Las variables ambientales juegan un importante papel en la expresión de las formas en estas especies.
- Existen pocos estudios que aborden de manera integrativa los aspectos de morfología y genética en los encinos mexicanos.

X.- LITERATURA CITADA

- Albarrán-Lara, A. L., Mendoza-Cuenca, L., Valencia-Avalos, S., González-Rodríguez, A. y Oyama, K. (2010). Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and introgression between *Quercus magnoliifolia* and *Quercus resinosa* (Fagaceae) through an altitudinal gradient in Mexico. *International Journal of Plant Sciences*, 171(3), 310-322.
- Aldrich, P. R., Michler, C. H., Sun, W. y Romero-Severson, J. (2002). Microsatellite markers for northern red oak (Fagaceae: *Quercus rubra*). *Molecular Ecology Resources*, 2(4), 472-474.
- Aldrich, P. R., Jagtap, M., Michler, C. H., y Romero-Severson, J. (2003). Amplification of North American red oak microsatellite markers in European white oaks and Chinese chestnut. *Silvae genetica*, 52(3-4), 176-179.
- Aldrich, P. R. y Cavender-Bares, J. (2011). *Quercus*. In *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources* (pp. 89-129). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Avise, J. C. (1998). The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology*, 7(4), 371-379.
- Avise, J. C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard university press.
- Bermingham, E. y Moritz, C. (1998). Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology*, 7(4), 367-369.

Blue, M. P. y Jensen, R. J. (1988). Positional and seasonal variation in oak (*Quercus*; Fagaceae) leaf morphology. *American Journal of Botany*, 939-947.

Bresson, C. C., Vitasse, Y., Kremer, A., y Delzon, S. (2011). To what extent is altitudinal variation of functional traits driven by genetic adaptation in European oak and beech?. *Tree physiology*, 31(11), 1164-1174.

Bruschi, P., Vendramin, G. G., Bussotti, F., y Grossoni, P. (2000). Morphological and molecular differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) in northern and central Italy. *Annals of Botany*, 85(3), 325-333.

Burger, W. C. (1975). The species concept in *Quercus*. *Taxon*, 45-50.

Camus, A. (1936–1938) Les Chênes. Monographie du genre *Quercus*. Tome I. Genre *Quercus*, sous-genre *Cyclobalanopsis*, sous-genre *Euquercus* (sections *Cerris* et *Mesobalanus*). Texte. Paul Lechevalier, Paris.

Camus, A. (1938–1939) Les Chênes. Monographie du genre *Quercus*. Tome II. Genre *Quercus*, sous-genre *Euquercus* (sections *Lepidobalanus* et *Macrobalanus*). Texte. Paul Lechevalier, Paris.

Camus, A. (1952–1954) Les Chênes: Monographie du genre *Quercus*. Tome III. Genre *Quercus*: sous-genre *Euquercus* (sections *Protobalanus* et *Erythrobalanus*) et genre *Lithocarpus*. Texte. Paul Lechevalier, Paris.

Cavender-Bares, J., Gonzalez-Rodriguez, A., Pahlich, A., Koehler, K., y Deacon, N. (2011). Phylogeography and climatic niche evolution in live oaks (*Quercus* series *Virentes*) from the tropics to the temperate zone. *Journal of Biogeography*, 38(5), 962-981.

Chapuis, M. P., y Estoup, A. (2006). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular biology and evolution*, 24(3), 621-631.

Craft, K. J., y Ashley, M. V. (2007). Landscape genetic structure of bur oak (*Quercus macrocarpa*) savannas in Illinois. *Forest Ecology and Management*, 239(1-3), 13-20.

Cristofolini, G. y Crema, S. (2005). A morphometric study of the *Quercus crenata* species complex (Fagaceae). *Botanica Helvetica*, 115(2), 155-167.

Couvet, D. (2002). Deleterious effects of restricted gene flow in fragmented populations. *Conservation Biology*, 16(2), 369-376.

Deguilloux, M. F., Dumolin-Lapègue, S., Gielly, L., Grivet, D. y Petit, R. J. (2003). A set of primers for the amplification of chloroplast microsatellites in *Quercus*. *Molecular Ecology Resources*, 3(1), 24-27.

Dempster, A. P., Laird, N. M., y Rubin, D. B. (1977). Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the royal statistical society. Series B (methodological)*, 1-38.

Denk, T., Grimm, G. W., Manos, P. S., Deng, M., y Hipp, A. L. (2017). An updated infrageneric classification of the oaks: review of previous taxonomic schemes and synthesis of evolutionary patterns. In *Oaks Physiological Ecology. Exploring the Functional Diversity of Genus Quercus L.* (pp. 13-38). Springer, Cham.

Dick, C. W. (2001). Genetic rescue of remnant tropical trees by an alien pollinator. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1483), 2391-2396.

Dodd, R. S. y Afzal-Rafii, Z. (2004). Selection and dispersal in a multispecies oak hybrid zone. *Evolution*, 58(2), 261-269.

Evanno, G., Regnaut, S., y Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620.

González-Espinosa, M., Meave, J. A., Ramírez-Marcial, N., Toledo-Aceves, T., Lorea-Hernández, F. G., y Ibarra-Manríquez, G. (2012). Los bosques de niebla de México: conservación y restauración de su componente arbóreo. *Revista Ecosistemas*, 21(1-2).

González-Rodríguez, A., Arias, D. M., Valencia, S. y Oyama, K. (2004). Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two Mexican red oaks. *American Journal of Botany*, 91(3), 401-409.

Govaerts, R. y Frodin, D. G. (1998). World checklist and bibliography of Fagales. Kew: Royal Botanic Gardens, Kew vii, 407p.-illus. ISBN, 1900347466.

Grivet, D., Deguilloux, M., Petit, R. J. y Sork, V. L. (2006). Contrasting patterns of historical colonization in white oaks (*Quercus* spp.) in California and Europe. *Molecular Ecology*, 15(13), 4085-4093.

Grivet, D., Sork, V. L., Westfall, R. D., y Davis, F. W. (2008). Conserving the evolutionary potential of California valley oak (*Quercus lobata* Née): a multivariate genetic approach to conservation planning. *Molecular Ecology*, 17(1), 139-156.

Gregorius, H. R., Degen, B. y König, A. (2007). Problems in the analysis of genetic differentiation among populations—a case study in *Quercus robur*. *Silvae Genetica*, 56(1-6), 190-199.

Guttman, S. I. y Weigt, L. A. (1989). Electrophoretic evidence of relationships among *Quercus* (oaks) of eastern North America. *Canadian Journal of Botany*, 67(2), 339-351.

Gugger, P. F., Ikegami, M., y Sork, V. L. (2013). Influence of late Quaternary climate change on present patterns of genetic variation in valley oak, *Quercus lobata* Née. *Molecular Ecology*, 22(13), 3598-3612.

Hedrick, P. W. (1999). Perspective: highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution*, 53(2), 313-318.

Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G. y Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology*, 25(15), 1965-1978.

Hipp, A. L. y Weber, J. A. (2008). Taxonomy of Hill's oak (*Quercus ellipsoidalis*: Fagaceae): evidence from AFLP data. *Systematic Botany*, 33(1), 148-158.

Hipp, A. L., Manos, P. S., González-Rodríguez, A., Hahn, M., Kaproth, M., McVay, J. D. y Cavender-Bares, J. (2018). Sympatric parallel diversification of major oak clades in the Americas and the origins of Mexican species diversity. *New Phytologist*, 217(1), 439-452.

Jensen, R. J. (1988). Assessing patterns of morphological variation of *Quercus* spp. in mixed-oak communities. *American Midland Naturalist*, 120-135.

Jensen, R. J. (1990). Detecting shape variation in oak leaf morphology: a comparison of rotational-fit methods. *American Journal of Botany*, 1279-1293.

Jensen, R. J., y Flora of north America Editorial Committee. (1997). Quercus Linnaeus sect. Lobatae Loudon, Hort. Brit., 385. 1830. Red or black oaks. *Flora of North America north of Mexico*, 3, 447-468.

Jensen, R. J., Ciofani, K. M., y Miramontes, L. C. (2002). Lines, outlines, and landmarks: morphometric analyses of leaves of *Acer rubrum*, *Acer saccharinum* (Aceraceae) and their hybrid. *Taxon*, 51(3), 475-492.

JMP, Version 13. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2007.

Kampfer, S., Lexer, C., Glössl, J., y Steinkellner, H. (1998). Characterization of (GA)n microsatellite loci from *Quercus robur*. *Hereditas*, 129(2), 183-186.

Kashani, N., y Dodd, R. S. (2002). Genetic differentiation of two California red oak species, *Quercus parvula* var. *shreveii* and *Q. wislizeni*, based on AFLP genetic markers. *US For. Serv. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-184*, 417-426.

Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353-357.

Kremer, A., Petit, R. J., Zanetto, A., Fougère, V., Ducouso, A., Wagner, D., y Chauvin, C. (1991). Nuclear and organelle gene diversity in *Quercus robur* and *Q. petraea*. *Genetic variation in European populations of forest trees*, 141-166.

Kremer, A., y Petit, R. J. (1993). Gene diversity in natural populations of oak species. In *annales des sciences forestières*(Vol. 50, No. Supplement, pp. 186s-202s). EDP Sciences.

Le Corre, V. y Kremer, A. (1998). Cumulative effects of founding events during colonisation on genetic diversity and differentiation in an island and stepping-stone model. *Journal of Evolutionary Biology*, 11(4), 495-512.

Lefort, F. y Douglas, G. C. (1999). An efficient micro-method of DNA isolation from mature leaves of four hardwood tree species Acer, Fraxinus, Prunus and Quercus. *Annals of Forest Science*, 56(3), 259-263.

Lorenzo, Z., Burgarella, C., de Heredia, U. L., Lumaret, R., Petit, R. J., Soto, A., y Gil, L. (2009). Relevance of genetics for conservation policies: the case of Minorcan cork oaks. *Annals of botany*, 104(6), 1069-1076.

Loudon, J.C. (1838) Arboretum et Fruticetum Britannicum, vol III. Printed for the author by A. Spottiswoode, London

Loudon, J.C. (1839) Part II. The Jussieuan arrangement. In: Loudon JC (ed) Loudon's Hortus Britannicus A new edition. A. Spottiswoode, London, pp 491–704

Luna, V. I., Alcántara, A. O., Contreras, M. R., y Ruiz, J. C. A. (2007). Composición y estructura del bosque mesófilo de montaña de Ocuilan, Estado de México-Morelos. *Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana*, 173-178.

Magni, C. R., Ducouso, A., Caron, H., Petit, R. J. y Kremer, A. (2005). Chloroplast DNA variation of Quercus rubra L. in North America and comparison with other Fagaceae. *Molecular ecology*, 14(2), 513-524.

Manos, P. S., Doyle, J. J. y Nixon, K. C. (1999). Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 12(3), 333-349.

Manos, P. S. y Stanford, A. M. (2001). The historical biogeography of Fagaceae: tracking the tertiary history of temperate and subtropical forests of the Northern Hemisphere. *International Journal of Plant Sciences*, 162(S6), S77-S93.

McCauley, R. A., Christie, B. J., Ireland, E. L., Landers, R. A., Nichols, H. R., y Schendel, M. T. (2012). Influence of relictual species on the morphology of a hybridizing oak complex: an analysis of the *Quercus* x *undulata* complex in the Four Corners region. *Western North American Naturalist*, 72(3), 296-310.

Meave, J., Soto, M. A., Calvo, L. M., Paz, H., y Valencia, S. (1992). Análisis sinecológico del bosque mesófilo de montaña de Omiltemi, Guerrero. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 52, 31-77.

Moran, E. V., Willis, J., y Clark, J. S. (2012). Genetic evidence for hybridization in red oaks (*Quercus* sect. *Lobatae*, Fagaceae). *American Journal of Botany*, 99(1), 92-100.

Müller, C. H. (1942). The Central American species of *Quercus*. U.S. Dept. Agr. Misc. Publ. 477: 1-92. lám. 1-124.

Müller, C. H. y R. Mcvaugh. (1972). The oaks (*Quercus*) described by Née (1801), and by Humboldt y Bonpland (1809), with comments on related species. Contr. Univ. Mich. Herb. 9(7): 507-522.

Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, 106(949), 283-292.

Nixon, K. C. (1993). Infrageneric classification of Quercus (Fagaceae) and typification of sectional names. In *Annales des sciences forestières* (Vol. 50, No. Supplement, pp. 25s-34s). EDP Sciences.

Nixon, K.C. (1997) Fagaceae. In: Flora of North America Editorial Committee (ed) Flora of North America North of Mexico. Oxford University Press, New York, p. 436–537

Nixon, K. C. y C. H. Muller. (1997). Quercus Linnaeus sect. Quercus en: Flora of North America North of Mexico. Vol. 3. New York: Oxford Univesity Press, 471-506.

Nixon, K. C. (2006). Global and Neotropical Distribution and Diversity of Oak (genus Quercus) and Oak Forests. In M. Kappelle (ed.) Ecology and conservation of Neotropical montane oak forests. Ecological Studies 185, 3-13. Springer, Berlin, Germany.

Ørsted, A.S. (1871) Bidrag til Kundskab om Egefamilien. Kongl Danske Vidensk Selsk Biol Skr 5 naturvidensk math Afd 6:331–538

Peakall, R. O. D., y Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Resources*, 6(1), 288-295.

PE, P. R. S. (2012). GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.

Peñaloza-Ramírez, J. M., González-Rodríguez, A., Mendoza-Cuenca, L., Caron, H., Kremer, A. y Oyama, K. (2010). Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Annals of Botany*, 105(3), 389-399.

Petit, R. J., Kremer, A., y Wagner, D. B. (1993). Geographic structure of chloroplast DNA polymorphisms in European oaks. *Theoretical and Applied Genetics*, 87(1-2), 122-128.

Petit, R. J., Brewer, S., Bordács, S., Burg, K., Cheddadi, R., Coart, E. y Espinel, S. (2002). Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest ecology and management*, 156(1-3), 49-74.

Pritchard, J. K., Stephens, M., y Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.

Ramos-Ortiz, S., Oyama, K., Rodríguez-Correa, H., y González-Rodríguez, A. (2016). Geographic structure of genetic and phenotypic variation in the hybrid zone between *Quercus affinis* and *Q. laurina* in Mexico. *Plant Species Biology*, 31(3), 219-232.

Rodríguez-Gómez, F., Oyama, K., Ochoa-Orozco, M., Mendoza-Cuenca, L., Gaytán-Legaria, R., y González-Rodríguez, A. (2017). Phylogeography and climate-associated morphological variation in the endemic white oak *Quercus deserticola* (Fagaceae) along the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Botany*, (ja).

Rohlf, F.J. (2016). tpsDig v. 2.26. New York, Stone Brook. Available at: <http://life.bio.sunysb.edu/ee/rohlf/software.html>.

Romero Rangel, S. (2006). Revisión taxonómica del complejo Acutifoliae de Quercus (Fagaceae) con énfasis en su representación en México. *Acta botánica mexicana*, (76), 1-45.

R STUDIO TEAM (2015). RStudio: Desarrollo Integrado para R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

Rushton, B. S. (1993). Natural hybridization within the genus Quercus L. In *Annales des sciences forestières* (Vol. 50, No. Supplement, pp. 73s-90s). EDP Sciences.

Salvini, D., Bruschi, P., Fineschi, S., Grossoni, P., Kjær, E. D. y 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 Biology*, 11(5), 758-765.

Schaal, B. A., Hayworth, D. A., Olsen, K. M., Rauscher, J. T. y Smith, W. A. (1998). Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology*, 7(4), 465-474.

Schneider, C. A., Rasband, W. S. y Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*, 9(7), 671.

Schluter, D., y Conte, G. L. (2009). Genetics and ecological speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(Supplement 1), 9955-9962.

Schwarz, O. (1936) Entwurf zu einem natürlichen System der Cupuliferen und der Gattung Quercus L. Notizbl Bot Gart Mus Berlin-Dahlem Bd. 13 Nr. 116: 1-

Scotti-Saintagne, C., Mariette, S., Porth, I., Goicoechea, P. G., Barreneche, T., Bodénes, C., y Kremer, A. (2004). Genome scanning for interspecific differentiation between two closely related oak species [Quercus robur L. and Q. petraea (Matt.) Liebl.]. *Genetics*, 168(3), 1615-1626.

Sebastiani, F., Carnevale, S. y Vendramin, G. G. (2004). A new set of mono-and dinucleotide chloroplast microsatellites in Fagaceae. *Molecular Ecology Resources*, 4(2), 259-261.

Sheets, H.D. (1998). IMP: CoordGen8-Coordinate Generation Utility. Available at: www3.canisius.edu/~sheets/CoordGenManual.htm.

Sheets, H. D. (2016a). CoordGen 6f. NY: Canisus College. (Geometric morphometric software for the PC). Disponible en: www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html.

Sheets, H. D. (2016b). MakeFan, a tool for drawing alignment ‘fans’ at equal angular spacing. Disponible en: www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html.

Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139(1), 457-462.

Stockwell, C. A., Hendry, A. P., y Kinnison, M. T. (2003). Contemporary evolution meets conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(2), 94-101.

Steinkellner, H., Fluch, S., Turetschek, E., Lexer, C., Streiff, R., Kremer, A., y Glössl, J. (1997). Identification and characterization of (GA/CT) n-microsatellite loci from Quercus petraea. *Plant molecular biology*, 33(6), 1093-1096.

Tovar-Sánchez, E. y Oyama, K. (2004). Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany*, 91(9), 1352-1363.

Tovar-Sánchez, E., Mussali-Galante, P., Esteban-Jiménez, R., Piñero, D., Arias, D. M., Dorado, O., y Oyama, K. (2008). Chloroplast DNA polymorphism reveals geographic structure and introgression in the *Quercus crassifolia* × *Quercus crassipes* hybrid complex in Mexico. *Botany*, 86(3), 228-239.

Trelease, W. (1924). The American oaks. Mem. Nat. Acad. Sci. 20:1-255. Lám. 1-420.

Valencia, A. (2004). Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la sociedad Botánica de México*, (75).

Valencia, A. S., Sabás, R. J. L. y Arellano, O. J. S. (2016). A new species of *Quercus*, section Lobatae (Fagaceae) from the Sierra Madre Oriental, Mexico. *Phytotaxa*, 269(2), 120-126.

Valencia-A, S., Flores-Franco, G., Jiménez-Ramírez, J., y Mora-Jarvio, M. (2017). Distribution and diversity of Fagaceae in Hidalgo, Mexico. *Botanical Sciences*, 95(4), 660-721.

Valencia-Cuevas, L., Piñero, D., Mussali-Galante, P., Valencia-Ávalos, S., y Tovar-Sánchez, E. (2014). Effect of a red oak species gradient on genetic structure and diversity of *Quercus castanea* (Fagaceae) in Mexico. *Tree genetics & genomes*, 10(3), 641-652.

Van Valen, L. (1976). Ecological species, multispecies, and oaks. *Taxon*, 233-239.

Via, S. (2009). Natural selection in action during speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(Supplement 1), 9939-9946.

Via, S. (2012). Divergence hitchhiking and the spread of genomic isolation during ecological speciation-with-gene-flow. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1587), 451-460.

Viscosi, V., Lepais, O., Gerber, S., y Fortini, P. (2009). Leaf morphological analyses in four European oak species (*Quercus*) and their hybrids: A comparison of traditional and geometric morphometric methods. *Plant Biosystems*, 143(3), 564-574.

Viscosi, V., Fortini, P., Slice, D. E., Loy, A., y Blasi, C. (2009). Geometric morphometric analyses of leaf variation in four oak species of the subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Plant Biosystems*, 143(3), 575-587.

Viscosi, V., Loy, A., y Fortini, P. (2010). Geometric morphometric analysis as a tool to explore covariation between shape and other quantitative leaf traits in European white oaks. EUT Edizioni Università di Trieste.

Viscosi, V. (2015). Geometric morphometrics and leaf phenotypic plasticity: assessing fluctuating asymmetry and allometry in European white oaks (*Quercus*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 179(2), 335-348.

Weir, B. S. y Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38 (6), 1358-1370.

Whittemore, A. T. y Schaal, B. A. (1991). Interspecific gene flow in sympatric oaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(6), 2540-2544.

Wright, S. (1951). The genetic structure of populations. *Ann. Eugenics*, 15:323-354.

Young, A. G., Merriam, H. G. y Warwick, S. I. (1993). The effects of forest fragmentation on genetic variation in *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) populations. *Heredity*, 71(3), 277.

Young, A., Boyle, T., y Brown, T. (1996). The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in ecology & evolution*, 11(10), 413-418.