



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

Filogeografía y variación genética de *Quercus glaucoides* (Fagaceae)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

RICARDO GAYTAN LEGARIA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y
SUSTENTABILIDAD, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. EDUARDO RUIZ SÁNCHEZ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUADALAJARA

DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD
MORELIA, UNAM

Cd Mx MAYO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

Filogeografía y variación genética de *Quercus glaucoides* (Fagaceae)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

RICARDO GAYTAN LEGARIA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y
SUSTENTABILIDAD, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. EDUARDO RUIZ SÁNCHEZ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUADALAJARA

DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD
MORELIA, UNAM

Cd Mx MAYO 2018

OFICIO CPCB/416/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

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

Por medio de la presente me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 23 de abril de 2018, aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** al alumno **GAYTAN LEGARIA RICARDO**, con número de cuenta **516021326**, con la tesis titulada, "**Filogeografía y variación genética de *Quercus glaucooides* (Fagaceae)**", realizada bajo la dirección del **DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ**:

Presidente: Dra. Susana Valencia Avalos
Vocal: Dr. Mauricio Ricardo Quesada avendaño
Secretario: Dr. Eduardo Ruiz Sánchez
Suplente: Dr. Hernando Alonso Rodríguez Correa
Suplente: Dra. Yessica Rico Mancebo del Castillo

Sin otro particular, quedo de usted.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 09 de mayo de 2018


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de manutención otorgada (CVU: 743141) y a la Dirección de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al proyecto DGAPA-PAPIIT, UNAM RV201015 “Estudios biogeográficos, ecofisiológicos y genético-moleculares para la construcción de un macrosistema para la conservación de los bosques templados de México” por el financiamiento de este trabajo.

Al Proyecto CONACYT 240136 “Patrones de distribución y filogeografía comparada de especies del género *Quercus* en México y Centroamérica” por el financiamiento de este trabajo.

A los miembros de mi comité tutor:

Dr. Antonio González Rodríguez

Dr. Eduardo Ruíz Sánchez

Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa

Agradecimientos a título personal

A mi familia por impulsarme, quererme y guiarme siempre y a pesar de todo, gracias mamá por tenerme siempre en tu pensamiento y en tus sentimientos, también, por apoyarme en todas mis decisiones, sin duda eres y serás un ejemplo para mí; a mi papá por el cariño y los acertados consejos que me has obsequiado a lo largo de mi vida, gracias por estar con nosotros a pesar de todo; a mi hermano Paco, por preocuparte de mí siempre incluso a estas alturas y por siempre pensar diferente, con la premisa de que este mundo puede cambiar para bien y finalmente a Jocelyn por todo tu amor y confianza que has depositado en mí, además de ser una fuente inagotable de inspiración y motivación en mi vida, gracias por elegir ser parte de mi vida. Ustedes son lo más preciado que tengo en mi vida.

A mis compañeros y amigos que forman y formaron parte del laboratorio de genética de la conservación; en particular quiero agradecer a Yesenia Margarita (Kuku) por abrirme de las puertas de tu casa, tratarme casi como un hermano y por estar ahí en todos los momentos de angustia, estrés, alegría, etc., eres como una hermana para mí; a Nando por sus siempre sinceros comentarios tanto en situaciones oportunas como inoportunas y por estar siempre a disposición para discutir diferentes temas, has sido para mí un guía y un ejemplo en esta trayectoria. A Claudia por tu amistad y el apoyo sincero; a Goretti por tu apoyo tanto en el laboratorio como fuera de él y a Tamara por tu invaluable y sincera amistad desde que llegamos al laboratorio ya desde hace 5 años. Son ustedes personas increíbles.

A Gonzalo Contreras por su activa participación en las colectas e inclusive coleccionar el mismo una población completa para este proyecto.

Al técnico del laboratorio de biología molecular Jesús Llanderal Mendoza

A los miembros del jurado por sus valiosos comentarios y aportaciones al proyecto. A la Dra. Susana Valencia, al Dr. Mauricio Quesada, Al Dr. Eduardo Ruiz, Al Dr. Hernando Rodríguez, y a la Dra. Yessica Rico Mancebo del Castillo.

A los miembros de mi comité tutor; el Dr. Alberto Ken Oyama por su apoyo y confianza en este proyecto y al Dr. Eduardo Ruíz Sánchez por sus valiosos comentarios a lo largo de la maestría, sobre todo en la parte metodológica y por su apoyo en todo momento.

Al Dr. Antonio Gonzalez Rodríguez, por una parte, por ser tutor de este trabajo y siempre estar al pendiente de él, por que a pesar de los diferentes obstáculos que se presentaron, siempre usted pudo apoyarme. Por otra parte, por abrirme las puertas de su laboratorio durante tantos años y en diferentes proyectos, además de ofrecerme su sincera amistad. Lo considero un ejemplo como investigador y como persona.

A mis amigos que, aunque no podamos estar físicamente siempre han estado ahí conmigo en especial a Julio (Flaco), Edgar, Kiko, Moron y Victor.

Dedicatoria

*A lo mas valioso que tengo en esta vida... mi familia (Irma,
Armando, Francisco y Jocelyn)*

Índice

Resumen

Abstract

1.	Introducción	1
1.1.	Filogeografía	1
1.2.	Genética de poblaciones	2
1.3.	El género <i>Quercus</i>	3
1.4.	<i>Quercus glaucoides</i>	7
2.	Antecedentes	9
2.1.	Filogeografía del género <i>Quercus</i>	9
2.2.	Heterogeneidad topográfica y climática en el centro de México	12
3.	Hipótesis	16
4.	Objetivo general	17
5.	Objetivos específicos	17
6.	Materiales y Métodos	18
6.1.	Extracción de ADN y datos moleculares	18
6.2.	Diversidad genética del ADNcp y relación entre los haplotipos	20
6.3.	Estructura genética del ADNcp	21
6.4.	Demografía histórica	22
6.5.	Diversidad y estructura de microsatélites nucleares	23
6.6.	Demografía histórica de microsatélites nucleares	25
6.7.	Modelado de nicho ecológico	25
7.	Resultados	28
7.1.	Diversidad genética del ADNcp	28
7.2.	Relación entre los haplotipos	29
7.3.	Estructura genética del ADNcp	30
7.4.	Demografía histórica	32
7.5.	Diversidad genética de microsatélites nucleares	33
7.6.	Estructura genética en marcadores nucleares	35

7.7.	Demografía histórica de microsatélites nucleares	37
7.8.	Modelado de nicho ecológico	48
8.	Discusión	41
8.1	Diversidad genética inferida en el ADNcp y en ADNn	41
8.2.	Patrones contrastantes de flujo génico mediado por polen (SSR) y por semillas (ADNcp)	42
8.3.	Efecto de la configuración geológica en la distribución de la diversidad genética en <i>Q. glaucoides</i>	44
8.4.	Efecto de las fluctuaciones climáticas del Cuaternario en la demografía	46
9.	Conclusiones	51
	Bibliografía	52

Resumen

El género *Quercus* está ampliamente distribuido en el Holártico y en el Neotrópico. En México existen al menos 161 especies con afinidades ecológicas diferentes. Estudios filogeográficos en diferentes especies de encinos han explorado los patrones de la distribución de la diversidad genética, encontrando patrones consecuentes con los cambios climáticos desde el Cuaternario en especies de la región paleártica; sin embargo, las especies distribuidas tanto en la zona de transición mexicana como en la región neotropical muestran patrones complejos y contrastantes con respecto a aquellas distribuidas a mayores latitudes. Con el fin de esclarecer los patrones de la distribución de la diversidad genética en especies de encinos de la parte central de México, se realizó un estudio filogeográfico y de genética de poblaciones para *Quercus glaucooides*, una especie de afinidad a climas cálidos y secos que habita la zona de transición hacia el bosque tropical caducifolio. Se amplificaron ocho loci de microsatélites nucleares y se obtuvieron secuencias de la región *trnC-trnD* del ADN de cloroplasto (ADNcp) de las poblaciones colectadas a lo largo de la distribución de la especie. Además, con el fin de establecer los efectos de las variaciones climáticas del Cuaternario en la distribución de la diversidad genética de *Q. glaucooides*, se realizó un modelo de nicho ecológico y se proyectaron las condiciones climáticas favorables para la especie en escenarios del pasado. Los resultados del análisis del ADNcp muestran una baja diversidad y una alta estructura genética ($\pi = 0.00108$, $h_S = 0.061$; $F_{ST} = 0.906$) lo que, aunado a los análisis de demografía histórica, sugiere un cuello de botella reciente. En contraste con los resultados del ADNcp, se encontró una estructura genética muy baja en los microsatélites nucleares ($F_{ST} = 0.029$), posiblemente debido a la efectividad del flujo génico vía polen, en comparación con el flujo génico mediado por semillas. Una correlación negativa entre los índices de diversidad genética en los nSSR y la latitud muestra congruencia con un posible cuello de botella seguido de una colonización reciente de la parte norte de la distribución de la especie. La paleodistribución de *Q. glaucooides* muestra una contracción de su distribución en el pasado seguida de una

expansión poblacional, lo que posiblemente explica la alta segregación de la diversidad genética en el ADNcp.

Abstract

The genus *Quercus* is widely distributed in the Holarctic and the Neotropical regions, with almost 161 oak species with different ecological affinities occurring in Mexico. Phylogeographical studies have explored the distribution patterns of genetic diversity in different oak species, which are associated to the climatic changes in the Quaternary in species distributed in the Palearctic region; however, species distributed in the Mexican transition zone, and species distributed in the Neotropical region show complex and contrasting patterns in comparison with oak species distributed in higher latitudes. With the aim to clarify distribution patterns of genetic diversity in oak species in central Mexico, a phylogeographic and population genetics analyses was carried in *Q. glaucoides*, an oak species with affinity to warm and dry climatic conditions characteristic of the transition zone to the tropical dry forest. Eight nuclear microsatellite loci were amplified and sequences of the *trnC-trnD* region of the chloroplast DNA (cpDNA) were obtained from collected populations across the whole distribution of the species. Also, with the aim to establish the effects of the climatic variations in the Quaternary on the distribution of the genetic diversity of *Q. glaucoides*, an ecological niche model was constructed and projected into past scenarios. Results from cpDNA showed a low genetic diversity, and high genetic structure ($\pi = 0.00108$, $h_S = 0.061$; $F_{ST} = 0.906$) which, in concordance with of demographic history analysis suggest a recent bottle neck. In contrast, a very low genetic structure was found in the nuclear microsatellites ($F_{ST} = 0.029$), possibly explained by high gene flow mediated via pollen, in comparison with gene flow mediated via seed. A negative correlation among the genetic diversity index in the nSSR and geographic latitude suggest a likely bottle neck and recent recolonization of the northern portion of the distribution. The paleodistribution of *Q. glaucoides* indicated important changes with respect to the present, a possible factor that promoted the high segregation of the genetic diversity in the cpDNA .

1. Introducción

1.1. Filogeografía

El campo de la filogeografía estudia los principios y procesos que determinan la distribución geográfica de los linajes de genes, dentro y entre especies cercanamente relacionadas (Avice 2000). Los estudios filogeográficos se centran en múltiples poblaciones distribuidas a través de un paisaje dado, en donde posibles barreras a la dispersión, ya sean físicas o ecológicas, ocurren u ocurrieron en el pasado, forjando así su distribución y estructura genética actual (Avice 2009). Uno de los principales objetivos de la filogeografía es determinar la estructura genética de las poblaciones, la cual se refiere a la manera en que los diferentes linajes genéticos se distribuyen en espacio y tiempo. Dicha estructura es moldeada por la forma de vida de los organismos (i. e. longevidad, abundancia, capacidad de dispersión), eventos históricos, como los cambios climáticos o geológicos y por el mecanismo por el cual los genes migran (i. e. movimiento por polen y semillas) (Schaal et al. 1998).

Originalmente, los estudios filogeográficos se centraron en la variación en el ADN mitocondrial, debido a que es relativamente fácil de analizar pues no presenta elementos transponibles, intrones o pseudogenes; tiene una única forma de transmisión (generalmente materna, excepto en Gimnospermas), sin recombinación u otro arreglo genético, y presenta gran variación a nivel intraespecífico (Avice et al. 1987). Dado que el objetivo de la filogeografía es identificar el efecto de las barreras geográficas y de los cambios del clima en el pasado, y debido a que los genomas citoplasmáticos tienen un tamaño efectivo poblacional cuatro veces menor que los marcadores diploides nucleares, estos genomas son más susceptibles a los eventos estocásticos y a desarrollar una mayor estructura poblacional a lo largo del tiempo, en comparación con los marcadores nucleares (Jaramillo-Correa et al. 2009).

En el caso de las plantas, particularmente las angiospermas, para los estudios filogeográficos frecuentemente se analiza la variación en el ADN de cloroplasto (ADNcp), debido a que la herencia del material genético de este organelo es por vía materna en la mayoría de los casos y por lo tanto exclusivamente dispersado por las semillas (Avice 2009). Por estas razones, es posible reconstruir la genealogía de los diferentes haplotipos en un taxón determinado y, debido al bajo potencial de dispersión de las semillas, es posible encontrar una mayor estructura genética en el ADNcp que en los genes nucleares (Petit & Vendramin 2007). Además, el ADNcp presenta un tamaño mayor (135-160 kb) que el ADN mitocondrial (Downie & Palmer 1992), lo que permite explorar una gran cantidad de nucleótidos.

1.2. Genética de poblaciones

El objetivo principal de la genética de poblaciones es determinar las frecuencias alélicas en poblaciones naturales de las especies, así como también establecer qué fuerzas evolutivas determinan y cambian dichas frecuencias. Las fuerzas principales que determinan la composición genética de las poblaciones son la mutación, el flujo génico, la deriva génica y la selección natural. La mutación hace referencia a todos los cambios en el material genético; ya sean en un solo nucleótido, varios nucleótidos, una parte de un gen, de un cromosoma o en un conjunto de cromosomas. La deriva génica es el cambio aleatorio en las frecuencias alélicas que resulta del muestreo de gametos de generación en generación en una población finita. La selección natural es el resultado de cualquier diferencia en adecuación entre diferentes clases genotípicas de una entidad biológica. Finalmente, el flujo génico, es el movimiento de genes entre poblaciones producto de la migración de individuos o gametos (Hedrick 2005). La genética de poblaciones también describe la estructura genética de las poblaciones, es decir, las diferencias en la variación genética entre las partes que conforman una metapoblación (Hartl 2000).

Los estudios filogeográficos y de genética de poblaciones pueden ser complementarios, debido a que por lo general se analiza el ADN de organelos citoplasmáticos en estudios filogeográficos, mientras que los marcadores moleculares usualmente utilizados en genética de poblaciones son los microsatélites nucleares (Wang 2010). Al analizar los microsatélites, que generalmente tienen una tasa de mutación alta, de aproximadamente 1×10^{-4} mutaciones por locus por generación (Azaiez et al. 2006), es posible reconstruir eventos poblacionales más recientes, mientras que al analizar el ADNcp, el cual tiene una menor tasa de sustitución, de aproximadamente 1×10^{-9} mutaciones por sitio por año (Wolfe et al. 1987), es posible explorar eventos más históricos. Es por eso por lo que al utilizar marcadores moleculares con distintas tasas de sustitución es posible observar señales de procesos poblacionales en diferentes escalas temporales en la historia evolutiva (Wang 2010).

1.3. El género *Quercus*

Numerosos estudios tanto de genética de poblaciones, como filogeográficos, se han llevado a cabo en diferentes especies del género *Quercus* (Fagaceae), el cual es uno de los géneros arbóreos más importantes en el hemisferio Norte. Las especies de este género son miembros dominantes en una amplia variedad de hábitats, como bosque tropical caducifolio, bosque perennifolio templado y subtropical, bosque subtropical, bosque de pino-encino, entre otros (Aldrich & Cavender-Bares 2011). Además de su amplia distribución y diversidad de hábitats, el género *Quercus* también se ha utilizado como fuente de diferentes recursos, como leña, carbón, corcho, taninos, colorantes, etc.; además de representar un hábitat para la vida silvestre y estar involucrado en interacciones con hongos (p. e. *Amanita* spp. y *Laccaria* spp.) y plantas epífitas (p. e. *Bromelia* spp., Orchidaceae) (Nixon 1993).

Las especies del género *Quercus* pueden ser perennifolias o caducifolias, la forma de crecimiento suele ser arbórea o arbustiva, las flores son unisexuales y polinizadas

por el viento. La dispersión de las semillas se da principalmente por zoocoria o por barocoria (Aldrich & Cavender-Bares 2011). Las especies del género *Quercus* presentan altas tasas de flujo génico debido a las débiles barreras reproductivas que presentan, no solo entre poblaciones de la misma especie, sino entre especies diferentes, es por lo que la estructura genética intrapoblacional es influenciada por el flujo génico interespecífico (Schaal et al. 1998).

El género *Quercus* es el más diverso de la familia Fagaceae, está conformado por aproximadamente de 400 a 500 especies, distribuidas principalmente en el hemisferio Norte, lo cual representa al menos la mitad de las especies de la familia (Manos y Stanford 2001). El género *Quercus* está dividido en dos subgéneros; el subgénero *Cerris* que se distribuye únicamente en la región Paleártica y está compuesto por las secciones *Cyclobalanopsis*, *Ilex* y *Cerris*; y el subgénero *Quercus* de origen Neártico; este último se distribuye ampliamente en el hemisferio norte y el Neotrópico, donde se reconocen cinco secciones diferentes; la sección *Quercus* (encinos blancos), la cual se distribuye tanto en la región Holártica como en el Neotrópico en donde se reconocen cerca de 146 especies, la sección *Ponticae* (*Q. pontica* y *Q. sadleriana*), la sección *Lobate* (encinos rojos), la sección *Protobalanus* (encinos intermedios) y la sección *Virentes*; estas tres últimas secciones son endémicas del continente americano (Denk et al. 2017).

De acuerdo con la evidencia fósil, se sugiere a la región Paleártica como el centro de origen del género, durante el Paleoceno (55 Ma), donde el fósil encontrado posiblemente corresponda a *Q. subfalcata* (55 Ma) (Barrón et al. 2017). Para la sección *Quercus*, existe evidencia fósil de su origen neártico, hace aproximadamente 45 Ma. durante el Eoceno medio, (McIver & Basinger 1999), mismo que concuerda con las inferencias filogenéticas del origen de esta sección (Hipp et al. 2018). De igual manera, de acuerdo con la evidencia fósil se estima que la sección *Quercus* se distribuyó en todo el hemisferio Norte durante el Neógeno (Borgardt & Pigg 1999).

Las relaciones filogenéticas entre los grupos que conforman el género *Quercus* han sido esclarecidas analizando sitios de restricción del cpDNA y secuencias del Espaciador Transcrito Interno (ITS) lo que pudo confirmar las relaciones monofiléticas entre las secciones *Protobalanus*, *Quercus* sensu stricto y *Lobate*. La sección *Protobalanus* es considerada como el vínculo evolutivo entre la sección *Quercus* s.s. y la sección *Lobate*. Además, se sugiere, de acuerdo con las evidencias paleobotánicas y filogenéticas, que la sección *Quercus* s.s. evolucionó en el Continente Americano y posteriormente migró hacia la región Paleártica durante el Mioceno Medio (Samuel et al. 1998; Manos et al. 1999).

Sin embargo, debido principalmente a las altas tasas de flujo génico interespecíficas, las relaciones filogenéticas a nivel más fino (especies dentro de los grupos principales) no habían podido resolverse. Recientemente, gracias a la técnica RADseq (Restriction-site Associated DNA sequencing) fue posible obtener las relaciones filogenéticas a nivel de especies para los encinos americanos (Figura 1). Hipp et al. (2018) corroboraron que la sección *Quercus*, tuvo como centro de origen las regiones templadas del norte, y subsecuentemente migraron hacia Mesoamérica durante el Mioceno (14.5-20.8 Ma), donde tuvieron lugar altas tasas de diversificación (Hipp et al. 2018). Por otro lado, este estudio revela que la evolución de las secciones *Lobate*, *Protobalanus*, *Ponticae*, *Virentes* y *Quercus* tuvo lugar durante el Eoceno, hace aproximadamente 33 Ma.

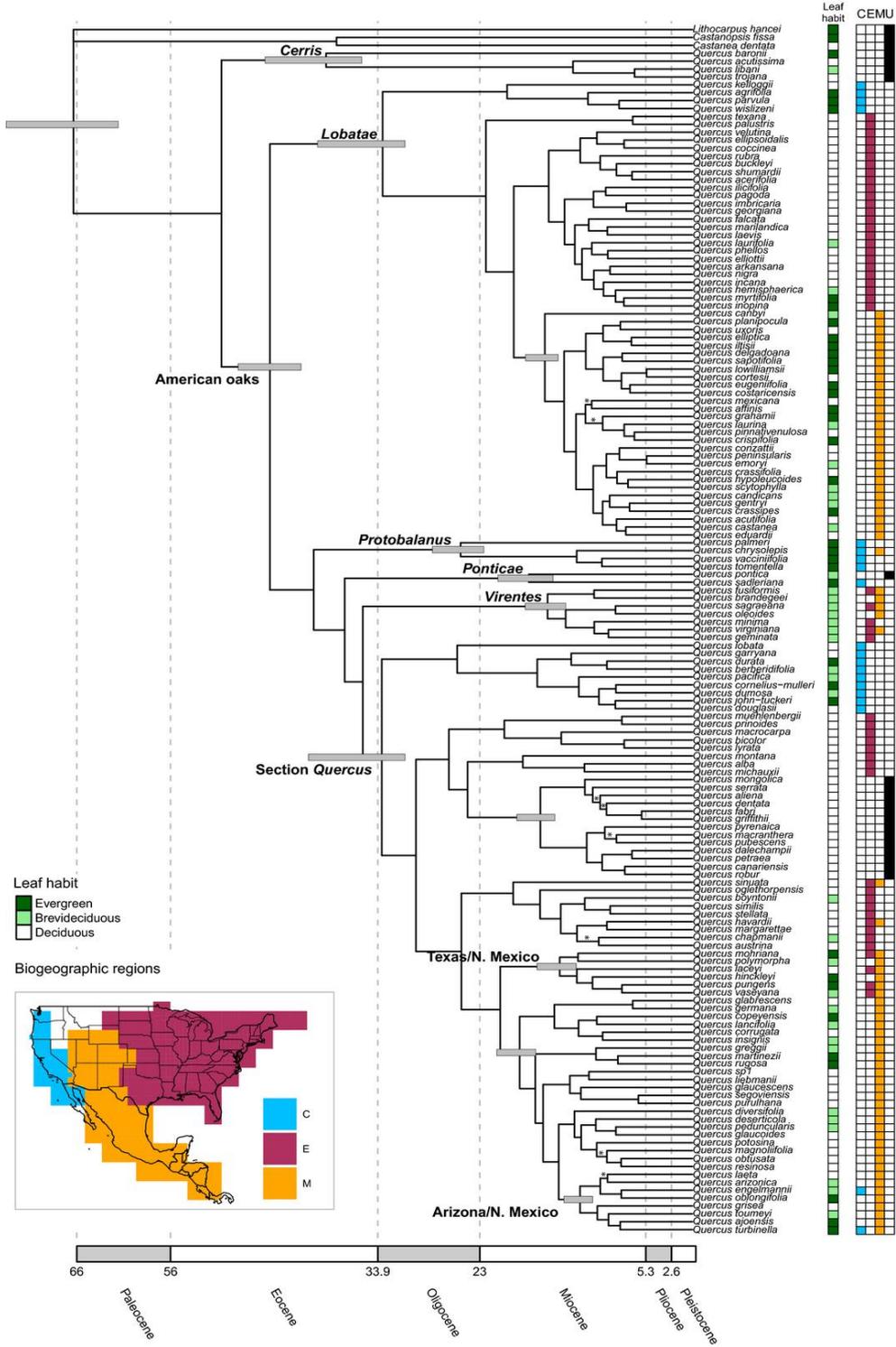


Figura 1. Filogenia de encinos americanos, utilizando un análisis de máxima verosimilitud con datos de RADseq, las barras grises en los nodos indican un 95% de incertidumbre en el datado. Se muestra a su vez el hábito de las hojas para cara especie de encino. Tomado de Hipp et al. (2018).

1.4. *Quercus glaucooides*

Se ha descrito a la especie *Quercus glaucooides* M. Martens & Galeotti, con las siguientes características principales: árbol de 4-10 m de alto con el tronco de 25 a 40 cm de diámetro, corteza gris y escamosa, hojas coriáceas de color verde-azuloso con el envés glabro y glauco-acerado, pierde las hojas durante la estación seca, presenta frutos generalmente solitarios de forma ovoide, con la cúpula gruesa y escamas fuertemente tuberculadas; presenta cotiledones marginalmente fusionados (Figura 2A y 2B). Ocasionalmente se suele encontrar asociado con otros encinos como *Q. conspersa*, *Q. castanea* y *Q. obtusata* (Romero-Rangel et al. 2002). *Quercus glaucooides*, de acuerdo con sus características taxonómicas ha sido catalogada dentro de la subsección *Glaucoideae* (Nixon & Muller 1992). Las especies de esta subsección en la que *Q. glaucooides* ha sido catalogada, se caracterizan por ocupar hábitats generalmente áridos, además de que las características embrionarias que separan a este grupo están asociadas al síndrome de germinación, donde el eje embrionario se deposita más profundamente en el suelo, lo cual puede ser una adaptación a la sequía o a los incendios (Nixon 2002). Aunque hasta el momento no se ha analizado filogenéticamente el grupo de 33 especies definido como la subsección *Glaucoideae* (e. g. *Q. engelmanni*, *Q. oblongifolia*, *Q. subspathulata*, *Q. depressipes*, *Q. perpallida* y *Q. splendens*) dos especies pertenecientes a este grupo fueron analizados junto con otras especies de encinos blancos (sección *Quercus*) por medio del método de secuenciación masiva RADseq, agrupándolas como especies muy cercanas en el mismo grupo (Hipp et al. 2014). Sin embargo, posteriormente se analizaron las relaciones filogenéticas utilizando un mayor número de especies de encinos mexicanos, lo que mostró que la subsección *Glaucoideae* es aparentemente polifilética (Hipp et al. 2018). Sin embargo, para este análisis aún no se han tomado en cuenta especies más relacionadas con *Q. glaucooides*, como *Q. depressipes* y *Q. splendens*, lo que podría esclarecer los patrones de diversificación de los encinos en México.

Quercus glaucoides tiene una distribución altitudinal media-alta ya que se encuentra en las montañas de dos de las principales provincias fisiográficas de México; la Faja Volcánica Trans-mexicana (FVTM), y la Sierra Madre del Sur (SMS) (Figura 2C). La distribución altitudinal se encuentra desde los 1000 hasta los 2200 m, en sitios por lo general expuestos; cálidos y secos, ocasionalmente húmedos; sobre suelos calizos, pedregosos con roca basáltica, arcillosos, generalmente con poco humus (Valencia-A. 2004). Otra característica destacable de *Q. glaucoides* es que es una especie de las zonas de transición hacia el bosque tropical caducifolio, que corresponde a una selva de menos de 15 m de altura donde los árboles pierden su follaje en la época seca; la cual se caracteriza por climas semisecos y cálidos con temperatura media anual superior a los 20 °C, precipitación media anual de entre 500 a 1200 mm y temporada seca larga y marcada (Miranda & Hernández-X. 1963). En la zona de transición es donde *Q. glaucoides* forma comunidades bajas, desarrollándose en un intervalo de temperatura media anual entre 12 a 29 °C. La vegetación asociada suele ser *Opuntia* sp.(Cactaceae), *Acacia* sp. (Fabaceae), *Brahea* sp. (Aracaceae), entre otras especies comunes de la vegetación xerófila (Rzedowski 2006).

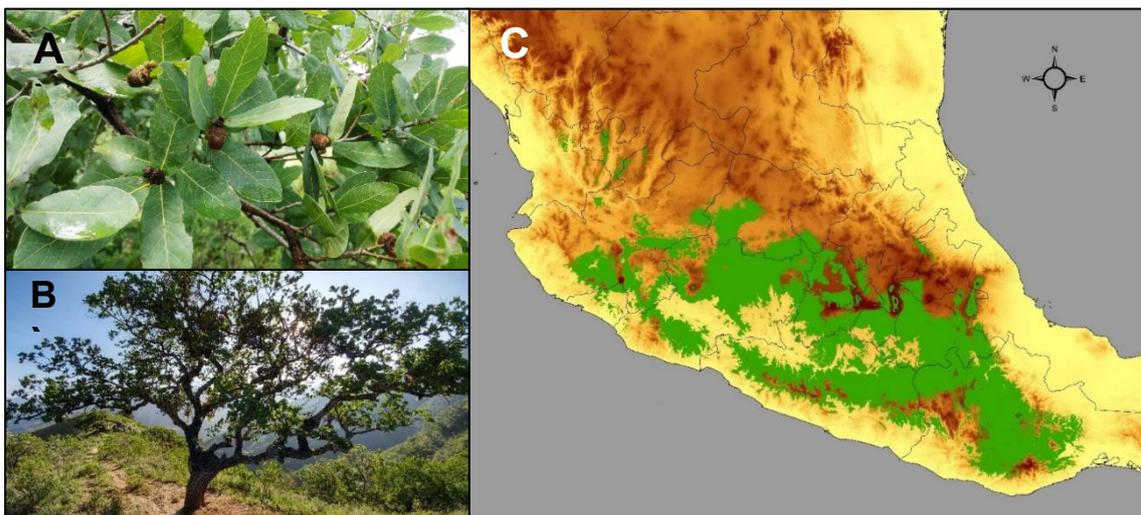


Figura 2. *Quercus glaucoides* A) Se muestra la forma de las hojas ovadas, el tamaño y forma del fruto B) Forma de crecimiento del árbol de entre 4 a 10 m de altura C) El área de color verde muestra la distribución potencial de la especie.

2. Antecedentes

2.1. Filogeografía del género *Quercus*

Estudios filogeográficos realizados en diferentes especies de encinos (subgénero *Quercus*, sección *Quercus*) en Europa han revelado la presencia de refugios en la península Ibérica, Itálica y Balcánica producto del descenso de la temperatura durante los periodos glaciares del Pleistoceno, provocando una disminución en el tamaño de las poblaciones, así como también en la diversidad genética. Una vez que las condiciones climáticas fueron adecuadas, es decir, se produjo un aumento en la temperatura y la precipitación, en un periodo posterior a las glaciaciones, se crearon rutas de colonización post-glacial a partir de los refugios mencionados (Dumolin-Lapégue et al. 1997; Petit et al. 2002; Lumaret et al. 2005). La dinámica de recolonización implicó una importante interacción entre las diferentes especies de encino, donde la hibridación jugó un papel principal. Por ejemplo, se propone que *Quercus petraea* pudo dispersarse en lugares donde *Quercus robur* ya se encontraba establecido, por medio de flujo de polen. Es decir, *Quercus robur* tiene la capacidad de dispersar sus bellotas más eficientemente en comparación con *Q. petraea*; sin embargo, existe flujo de polen y la capacidad de hibridar entre estas dos especies, y es por medio del flujo génico mediado por polen que los genes nucleares de la especie *Q. petraea* pudieron transmitirse a partir de los refugios a los que se vio restringida la especie durante el UMG (Petit et al. 2003).

En el Continente Americano, las evidencias filogeográficas y paleoclimáticas sugieren que los cambios climáticos del Pleistoceno-Holoceno repercutieron de manera heterogénea en las diferentes especies de encinos. Para algunas especies distribuidas en la región Neártica (p. e. *Q. alba* y *Q. rubra*) se tiene evidencia de que el área geográfica donde se encontraban las condiciones climáticas favorables para estas especies se redujo durante el Último Máximo Glacial (UMG), lo que provocó una pérdida de diversidad genética y altos niveles de estructura genética en marcadores de

cloroplasto (Magni et al. 2005; Gugger et al. 2013). En contraste, otras especies distribuidas en esta misma región (e. g. *Q. lobata*) parecieron tener pequeños cambios en el área de distribución potencial a través del tiempo, lo que posiblemente provocó eventos de migración local, lo que se refleja en una alta diversidad genética y valores bajos de estructura genética (Grivet et al. 2006). Por otro lado, en la región Neotropical, específicamente en México, los efectos del cambio climático del pasado han sido bastante heterogéneos (Metcalf 2006), debido a la gran diversidad de ambientes y la compleja estructura orográfica del país.

En México, se ha mostrado que, para otras taxa de regiones montañosas, los cambios climáticos del Cuaternario provocaron que dichas taxa experimentaran ciclos de migración latitudinal y altitudinal (Graham 1995). Las evidencias filogeográficas en especies de encinos mexicanos (*Q. affinis*, *Q. laurina*, *Q. hypoleuroides*, *Q. scytophylla*, *Q. sideroxylla*, *Q. deserticola*, *Q. castanea*, etc.) confirman que dichos eventos de migración altitudinal y longitudinal pudieron ocurrir, y a diferencia de las especies distribuidas en el Neártico, estas especies Neotropicales posiblemente experimentaron una expansión en el área de su distribución potencial durante el UMG, lo que pudo dar lugar a áreas de contacto entre las especies de encino produciendo eventos de hibridación e introgresión entre las especies. Este tipo de procesos pueden explicar cómo estas especies han mantenido mayores niveles de diversidad genética a pesar de los cambios climáticos y mantener valores muy bajos de diferenciación genética (González-Rodríguez et al. 2004; Peñaloza-Ramírez et al. 2010; Ramos-Ortiz et al. 2016; Rodríguez-Gómez et al. 2018). También se ha estudiado en el Continente Americano cómo las diferencias climáticas han llevado a procesos adaptativos en la fisiología de los encinos en cuanto a la tolerancia a bajas temperaturas, llevando a las especies a un proceso de especiación (Cavender-Bares et al. 2011; Cavender-Bares et al. 2015).

Los cambios climáticos durante el Cuaternario han contribuido a forjar la distribución actual de las especies de encino, sin embargo, este factor no es el único que las determina, siendo las barreras geográficas un elemento igualmente importante. Por ejemplo, en *Q. oleoides* se ha demostrado que las poblaciones de Costa Rica se han mantenido aisladas del resto como resultado de la formación de barreras físicas al intercambio de genes producto de la actividad tectónica que provocó la formación de la cadena montañosa de la Cordillera de Guanacaste, aunado a la actividad volcánica durante el Pleistoceno en esta zona. Igualmente, esta actividad volcánica pudo alterar el clima en esta región promoviendo una adaptación local para las poblaciones distribuidas en esta región (Cavender-Bares et al. 2011). Otro caso que muestra la forma en la que las barreras geográficas han sido una causa de aislamiento es el de *Q. brandegeei*, especie en la que por medio de un análisis filogenético y biogeográfico se determinó que una de las posibles causas que llevaron a su divergencia fue la formación del mar de Cortés, además de los cambios de temperatura en esta región y el desecamiento en el interior de América del Norte, donde se distribuía la especie ancestral (Cavender-Bares et al. 2015).

Por otro lado, por medio de análisis biogeográficos, en el Continente Americano se han encontrado puntos de recambio de las especies de encino, que coinciden con importantes accidentes geográficos como el Istmo de Tehuantepec, la depresión de Nicaragua y el Istmo de Panamá, los cuales posiblemente son una barrera a la dispersión para algunas especies de encinos, principalmente para encinos blancos (Rodríguez-Correa et al. 2015). Esta idea se ha visto apoyada por las evidencias filogeográficas en *Q. insignis* (sección *Quercus*) que se encuentra distribuida desde el sur de México hasta el norte de Panamá, pero en la que existen discontinuidades al flujo génico en el Istmo de Tehuantepec y en la depresión de Nicaragua (Rodríguez-Correa et al. 2017).

Los estudios mencionados muestran la forma en la que diferentes procesos climáticos (fluctuaciones climáticas durante el Pleistoceno), geográficos (actividad volcánica, formación de cuerpos de agua) y ecológicos (aislamiento reproductivo debido a divergencia en tiempo de floración inducido por cambios climáticos locales) tuvieron un efecto directo en establecer los patrones de distribución actual en las poblaciones de las diferentes especies de encinos. Igualmente, algunos de los estudios filogeográficos llevados a cabo en las especies mexicanas de encinos se han centrado en explorar la forma en la que los procesos de hibridación e introgresión y las migraciones altitudinales han contribuido a mantener la diversidad genética a lo largo de su distribución (González-Rodríguez et al. 2004; Peñaloza-Ramírez et al. 2010).

Sin embargo, aún han sido pocos los trabajos que se han centrado en explorar los efectos de los eventos recientes de vulcanismo y cambio climático en el centro de México sobre la distribución de las especies de encino, ni tampoco ha surgido un consenso en términos de los elementos geográficos que han actuado como barreras al flujo génico en estas especies. En este sentido, el presente proyecto tiene como objetivo contribuir a dilucidar el efecto de los cambios climáticos y geológicos en el centro de México sobre la distribución de la diversidad genética en las especies de encinos, utilizando como sistema de estudio a *Q. glaucooides*, considerando sus particulares afinidades climáticas y ecológicas.

2.2. Heterogeneidad topográfica y climática en el centro de México

Las provincias morfotectónicas en la parte central de México corresponden a la Sierra Madre Occidental (SMOc), la Faja Volcánica Trans-Mexicana (FVTM), la Sierra Madre Oriental (SMOr) y la Sierra Madre del Sur (SMS) como sistemas montañosos; la Planicie Central de México (PCM), la Planicie del Pacífico (PP) y la Planicie del Golfo (PG) como principales sistema de planicies (Lugo-Hubp & Córdova 1992). La descripción de las

provincias ubicadas en la región central de México se centra en la SMS y en la FVTM, mismas donde se distribuye la especie *Q. glaucooides*.

La provincia morfotectónica de la Sierra Madre del Sur se encuentra a partir del suroeste de Jalisco, Colima, el sur de Michoacán y el estado de México, Morelos, Puebla y Guerrero hasta el estado de Oaxaca (Ferrusquia-Villafranca 1993). El intervalo altitudinal va de los 0 a los 3500 m. Las tierras bajas de esta zona corresponden a las cuevas hacia el océano y a la cuenca del Balsas, mientras que la zona montañosa corresponde a la parte de Oaxaca-Puebla-Guerrero. El clima en la provincia es muy heterogéneo, según la clasificación de Köppen en esta provincia se encuentran los siguientes climas: clima de sabana tropical (Aw) en tierras bajas y en la cuenca del Balsas; clima de estepa (BShw) en la parte occidental de la cuenca del Balsas y en el valle de Tehuacán-Cuicatlán, clima templado húmedo con estación invernal seca (Cwa) en gran parte de Oaxaca, y clima templado sin estación seca (Cfa) en las partes más altas de las Cuestas del Pacífico. Dada la compleja topografía, la SMS puede dividirse en las subprovincias de: Planicie Costera del Pacífico, Cordilleras del Pacífico y Cuestas, Depresión del Balsas, Tierras altas del norte del Balsas, Tierras altas de Oaxaca-Puebla, Sierra Mixteca-Zapoteca, Depresión de Tehuacán-Cuicatlán-Quiatepec, Valles Centrales, cordillera de Miahuatlán, Cuestas del Pacífico, Cordillera del Norte y Cuestas del Norte (Ferrusquia-Villafranca 1993).

Por otra parte, la FVTM ha experimentado diferentes episodios de vulcanismo clasificados en cuatro principales etapas: Mioceno medio, Mioceno tardío, Mioceno-Plioceno temprano y Plioceno tardío-Pleistoceno. Estos episodios de vulcanismo cambiaron la configuración geológica en la parte central de México (Ferrari et al. 2012). Producto de esta actividad volcánica, se ha considerado una subestructura dentro de esta provincia, lo cual la separa en cuatro sectores, Occidental, Central, Oriental y Extremo Oriental (Figura 3). Estos episodios volcánicos, especialmente el último, aunado a las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno, han hecho que esta provincia sea

considerada como un área de diversificación de especies (Bryson et al. 2011; Ruiz-Sánchez & Specht 2013), así como también se ha propuesto como un área en la cual la diversidad genética se ha mantenido *in situ* gracias a migraciones altitudinales a zonas bajas durante los periodos glaciares del Pleistoceno, promoviendo zonas de contacto entre poblaciones que se habían mantenido aisladas en tierras altas durante los periodos interglaciares (Mastretta-Yanes et al. 2015). Climatológicamente, esta provincia es diversa. De este a oeste, los siguientes climas están presentes: clima de sabana tropical (Aw), clima templado húmedo sin estación seca (Cfa), clima templado húmedo con estación invernal seca (Cwa), clima de estepa (BSh), clima templado húmedo con estación invernal seca (Cw), clima templado húmedo sin estación seca (Cfb) y clima de sabana tropical (Aw) (Ferrusquia-Villafranca 1993).

De acuerdo con las evidencias paleobotánicas y filogeográficas, dos modelos del efecto de los cambios de clima durante el Último Máximo Glacial sobre la distribución de las especies de plantas montanas se han propuesto para el neotrópico, en donde el primer modelo establece que las condiciones eran mas húmedas y por lo tanto especies que habitaban el bosque mesófilo de montaña tuvieron una migración hacia tierras bajas y se dio una conexión entre las poblaciones que se mantenían previamente aisladas en “islas sobre el cielo”. Mientras que en el otro modelo propuesto, se manifiesta que pudieron existir condiciones de una menor humedad y se establecieron zonas áridas llevando a las especies de climas húmedos a refugios; donde en un analisis filogeográfico se podría ver esta estructuración. Sin embargo son muy pocos los trabajos realizados para esclarecer cuál de estos dos escenarios fue el mas representativo del UMG (Ramírez-Barahona & Eguiarte 2013). Esta dinámica dada para las especies de bosque de niebla durante el UMG pueden ser contrastantes con aquellas que ocurrieron en zonas áridas, como puede ser el caso de *Q. glaucooides*. Por otro lado, esta especie se distribuye en la FVTM donde se han planteado escenarios de condiciones heterogéneas durante el UMG, según los cuales en la parte central y oriental se

establecieron condiciones secas, mientras que en la parte occidental de la FVTM se proponen condiciones de mayor humedad gracias a los vientos del Oeste y la alteración del monzón mexicano (Caballero et al. 2010).

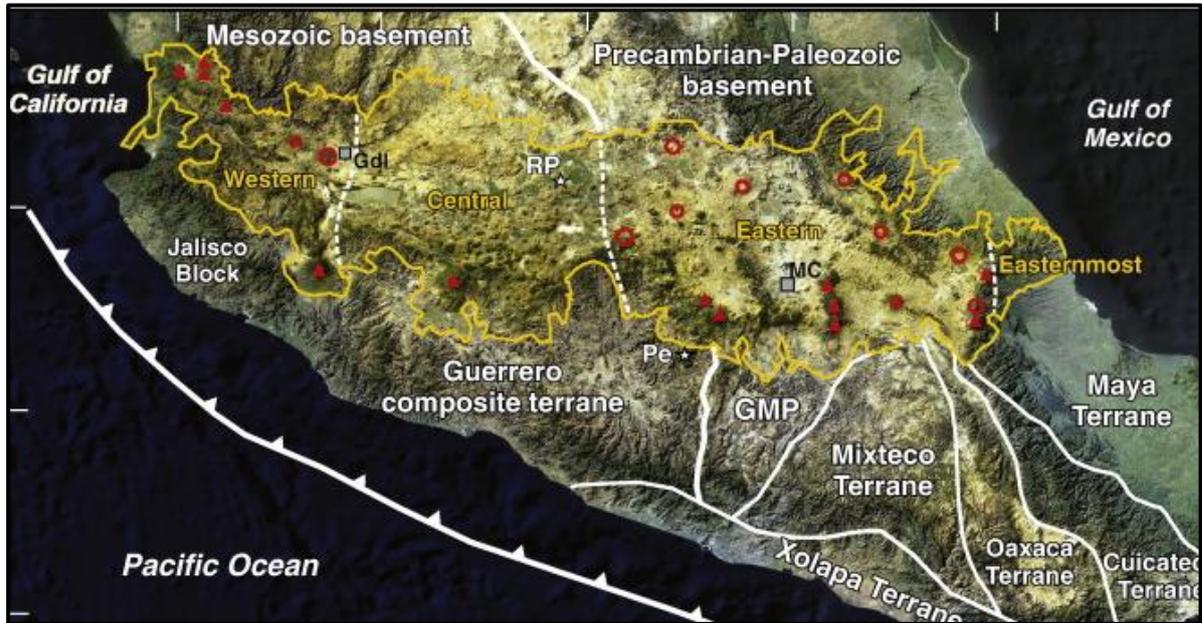


Figura 3. La Faja Volcánica Trans-Mexicana se delimita por la línea amarilla, representado los principales estratovolcanes (triángulos rojos) y las calderas (Círculos rojos). Las líneas blancas punteadas delimitan los sectores de la FVTM. Tomado y modificado de Ferrari, et al. (2012).

3. Hipótesis

1. Las fluctuaciones climáticas durante el Cuaternario y la actividad volcánica reciente en la parte central de México han sido los eventos históricos que han moldeado la distribución actual de los linajes de genes en *Quercus glaucoides*.

2. Se espera encontrar una baja diversidad genética en aquellas áreas de la distribución de *Q. glaucoides* que probablemente han sido colonizadas recientemente, mientras que se espera encontrar mayores niveles de diversidad genética en las zonas en las que las poblaciones han permanecido más estables.

4. Objetivo general

Inferir si los procesos geológicos, climáticos y ecológicos moldearon la distribución actual de *Quercus glaucoides*, mediante análisis filogeográficos y de genética de poblaciones, utilizando microsatélites nucleares, secuencias del cloroplasto y modelos de nicho ecológico.

5. Objetivos específicos

1. Determinar la diversidad, estructura genética y filogeográfica de las poblaciones de *Quercus glaucoides* por medio de marcadores moleculares nucleares y de cloroplasto.
2. Inferir los patrones de flujo génico y la demografía histórica de las poblaciones de *Quercus glaucoides* por medio de marcadores moleculares nucleares y de cloroplasto.
3. Asociar la distribución de la diversidad genética en *Q. glaucoides* con la estructura geográfica provocada por actividad tectónica y volcánica en el centro de México.
4. Determinar los factores climáticos que pudieron estar asociados con cambios en la demografía histórica de *Quercus glaucoides* por medio de modelado de nicho ecológico.

6. Materiales y métodos

6.1 Extracción de ADN y datos moleculares

Se colectaron hojas de 166 individuos en un total de 22 poblaciones de *Q. glaucooides* que representan las regiones de la SMS, la parte oriental y la parte occidental de la FVTM (Tabla 1). Se muestrearon alrededor de cinco hojas sin daño físico aparente de individuos adultos seleccionados al azar y se colectó una rama de un individuo por población para prepararla como ejemplar de herbario, para posteriormente confirmar su identidad taxonómica.

El material biológico se almacenó a -80°C hasta su procesamiento en el laboratorio. La extracción de DNA se realizó de acuerdo con el protocolo desarrollado por Doyle & Doyle (1987). Posteriormente se cuantificó la concentración del ADN obtenido por medio del espectrofotómetro Nanodrop (Empresa). Cada muestra se diluyó hasta una concentración final de ADN de $20\text{ ng}/\mu\text{L}$.

Tabla 1. Nombre y datos geográficos de las localidades muestreadas de *Quercus glaucooides*

Localidad	Longitud	Latitud	Altitud (msnm)	Estado	Región
El Camarón	95.967	16.536	1152	Oaxaca	SMS
Matatlan	-96.361	16.833	1884	Oaxaca	SMS
Tlazoyaltepec	-96.843	17.071	1708	Oaxaca	SMS
Tonaltepec	96.946	17.556	1819	Puebla	SMS
Santa María Ayu	-97.815	17.918	1830	Oaxaca	SMS
Teotitlan	-97.049	18.189	1878	Oaxaca	SMS
Jolalpan	-98.913	18.358	1340	Puebla	FVTMor
Buena vista del Cuellar	-99.41	18.485	1189	Guerrero	FVTMor
Izúcar de Matamoros	-98.408	18.514	1456	Puebla	FVTMor
Valsequillo	-98.108	18.91	2038	Puebla	FVTMor
Cuernavaca	-99.273	18.95	1860	Morelos	FVTMor
Tacuitapan	-100.249	19.165	1628	México	FVTMoc
Jicalan viejo	-102.068	19.285	1366	Michoacán	FVTMoc
El Epazote	-100.408	19.363	1767	Michoacán	FVTMoc
Tecalitlan	-103.185	19.39	1480	Jalisco	FVTMoc
Tzitzio	-100.909	19.516	1103	Michoacan	FVTMoc
San Nicolás Obispo	-101.302	19.649	1961	Michoacán	FVTMoc
Chiquimitio	-101.274	19.764	2392	Michoacán	FVTMoc
San Bartolo de Coro	-100.876	19.892	1904	Michoacán	FVTMoc
Tarimoro	-100.734	20.288	1930	Guanajuato	FVTMoc
Abasolo	-101.544	20.42	1828	Guanajuato	FVTMoc

FVTMor, Sector oriental de la Faja Volcánica Trans-mexicana; FVTMoc, sector occidental de la Faja Volcánica Trans-mexicana; SMS, Sierra Madre del Sur.

Para estimar la diversidad genética en el ADN de cloroplasto (ADNcp) de las poblaciones de *Q. glaucooides* se probaron siete microsatélites desarrollados para la familia Fagaceae (Sebastiani et al. 2004), siete microsatelites desarrollados para el género *Quercus* (Deguilloux et al. 2003) y la región intergenica del cloroplasto *trnC-trnD* con tres pares de cebadores (*trnC-ycf6R*, *ycf6R-psbMR*, *psbMF-trnD*) (Shaw et al. 2005).

Los microsatélites de cloroplasto se amplificaron en una reacción multiplex (TaqPlatinum mastermix; Qiagen) en un volumen final de 6 uL. Se realizaron 4 grupos diferentes, definidos por los marcadores con la misma temperatura de alineamiento y un color de fluoroforo diferente; cmcs3, cmcs4, cmcs5 y cmcs6 en el primer grupo ; el cmcs2, cmcs7 y cmcs10 en el segundo grupo; UCD4, CP2, UDT3, y UCD5 en el tercer grupo; y UKK4, UDT4 y UKK3 en el cuarto grupo. Las condiciones en el termociclador para la amplificación de los microsatélites fueron las siguientes: un minuto a una temperatura de desnaturalización de 94 °C, seguido de 35 ciclos de 30 s a 94 °C, 45 s a una temperatura de alineamiento de 55 °C, y un minuto a 72 °C. Al terminar los ciclos, se mantuvo la temperatura a 72 °C durante diez min como fase de extensión final. Debido a la ausencia de polimorfismo en los microsatélites de cloroplasto, estos no fueron utilizados en los análisis.

Las secuencias de la región intergénica *trnC-trnD* fueron amplificadas en un volumen final de 20 µL utilizando Taq PCR Master Mix (Qiagen). Se utilizaron las siguientes condiciones en un termociclador para amplificar las secuencias: cinco minutos a una temperatura de 94 °C, posteriormente se realizaron 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1.5 min a una temperatura de alineamiento de entre 49 y 65 °C (49 °C para el fragmento *ycf6R-*

psbMR y a 65 °C para los fragmentos *trnC-ycf6R* y *psbMF-trnD*) y 1.5 min a 72 °C. Al finalizar los ciclos, se continuó la extensión final a una temperatura de 72 °C durante 10 min. Los productos de PCR fueron purificados y secuenciados por la empresa Macrogen USA (www.macrogenusa.com). Las secuencias obtenidas fueron alineadas y concatenadas manualmente por medio del programa PhyDE 1.

Se amplificaron ocho microsatélites nucleares (*quru-GA-1F02*, *quru-GA-0C11*, *quru-GA-0M05*, *quru-GA-0C19*, *quru-GA-2F05*, *QpZAG36*, *QpZAG110* y *QrZAG39*) originalmente diseñados para *Q. rubra*, *Q. petraea* y *Q. robur* (Steinkellner et al. 1997; Kampfer et al. 1998; Aldrich et al. 2002) Los microsatélites nucleares se amplificaron en una reacción multiplex (TaqPlatinum multiplex, Qiagen) en un volumen final de 6 µL. Se realizaron los grupos con base en el color del fluoróforo y a la temperatura de alineación. Las condiciones en el termociclador para la amplificación de los microsatélites fueron las siguientes: un min a una temperatura de desnaturalización de 94 °C, seguido de 40 ciclos de 30 s a 94 °C, 45 s a una temperatura de alineamiento entre 45 y 61 °C, dependiendo de la combinación de cebadores, y un minuto a 72 °C. Al terminar los ciclos, se mantuvo la temperatura a 72 °C durante diez min como fase de extensión final. El análisis de fragmentos se hizo en un secuenciador capilar ABI PRISM 3100.

6.2 Diversidad genética del ADNcp y relación entre los haplotipos

Se estimó la diversidad nucleotídica (π) y la diversidad haplotípica (h) poblacional y total por medio del programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010). El número de sitios polimorficos (S) fue obtenido por medio del programa DnaSP 6 (Rozas et al. 2017).

Se reconstruyó la relación entre los haplotipos utilizando un análisis de *median joining* (Bandelt et al. 1999) implementado por el programa PopArt 1.7 (Leigh & Bryant 2015), considerando el valor de ϵ como cero. Los *indels* no fueron incluidos en el análisis.

Se realizó una reconstrucción filogenética de los haplotipos de la región del cpDNA *trnC-trnD* utilizando un método de inferencia bayesiana implementado en el programa

MrBayes 3.2 (Ronquist et al. 2012). Para estimar el mejor modelo de mutación se utilizó el programa JModelTest (Posada 2008). Fueron utilizadas 20 millones de Cadenas de Markov Monte Carlo muestreando cada 2,000 generaciones para evaluar las relaciones filogenéticas. Este análisis se llevó a cabo hasta alcanzar la convergencia de los valores de probabilidad menores a 0.01. Se amplificaron secuencias de la región *trnC-trnD* de la especie *Q. deserticola*, que se encuentra filogenéticamente cercana a *Q. glaucooides*, como grupo externo. Además, se utilizaron secuencias obtenidas del genbank de la misma región de siete especies de encino como grupos externo; *Q. aquifolioides*, *Q. baronii*, *Q. dolicholepis*, y *Q. variabilis* de la sección Cerris; *Q. aliena*, *Q. petraea* y *Q. robur* de la sección *Quercus*.

6.3 Estructura genética del ADNcp

Se estimaron los valores de diversidad haplotípica intrapoblacional (h_s , v_s) y total (h_T , v_T) para alelos ordenados y no ordenados, así como también el coeficiente de diferenciación genética para haplotipos no ordenados (G_{ST}) y ordenados (N_{ST}), utilizando 100,000 permutaciones para conocer si existe diferencia significativa entre estos dos estimadores de diferenciación genética ($G_{ST} \neq N_{ST}$) con el objetivo de determinar si la relación genética entre los haplotipos contribuye a la estructura geográfica lo que se vería reflejado en valores significativamente mayores de N_{ST} con respecto a los valores de G_{ST} , exhibiendo estructura filogeográfica. El análisis fue realizado por medio del programa Permut 1.2.1 (Pons & Petit 1996).

Se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) basado en diferencias pareadas utilizando el programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010) utilizando 1,000 permutaciones. El AMOVA fue realizado con tres criterios diferentes para evaluar las diferencias genéticas entre localidades. El primer análisis fue considerando únicamente las diferencias dentro y entre poblaciones, tomando todas las poblaciones como un solo grupo; el segundo análisis fue agrupando las poblaciones de acuerdo con las provincias

biogeográficas propuestas por Morrone (2005) es decir agrupando las poblaciones distribuidas en la SMS y en la FVTM, y el tercer análisis se realizó agrupando las poblaciones de la SMS, y las poblaciones distribuidas de la FVTM en grupos que corresponden a la subestructura descrita por Ferrari et al. (2012).

6.4 Demografía histórica

Para evaluar los cambios demográficos en las poblaciones de *Q. glaucooides* a través del tiempo utilizando la información de la secuencia intergénica *trnC-trnD* del cpDNA, se utilizaron los siguientes métodos. En primer lugar, se estimaron los valores de F_s de Fu (Fu 1997) y la D de Tajima para todo el grupo de datos y para cada población, para evaluar posibles eventos de expansión demográfica con 10,000 permutaciones por medio del programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010).

Se realizó una prueba de distribución *mismatch* utilizando el programa DnaSP 6, la cual muestra la distribución observada del número de diferencias entre todos los pares de haplotipos y los valores esperados en una población con una expansión demográfica. Las diferencias entre los valores observados y esperados fueron evaluadas estadísticamente por medio de la suma de las desviaciones cuadradas (SSD, por sus siglas en inglés), así como también por el índice estadístico de Raggedness (Harpending 1994).

Además, se realizó un *bayesian skyline plot* para determinar la variación del tamaño efectivo poblacional a través del tiempo por medio de un análisis bayesiano implementado en el programa Beast 1.8.2 (Drummond et al. 2012). Se utilizó el modelo de sustitución HKY. Se realizaron tres corridas independientes con 10 millones de generaciones, implementando un modelo de reloj estricto dado el nivel intraespecífico de los datos y como prior un árbol bayesiano Skyline de tamaño constante. Los árboles y los parámetros fueron muestreados cada 1,000 iteraciones con un burn-in del 10%. Se utilizó una tasa de sustitución de 0.96×10^{-9} mutaciones por sitio por año reportada

para el género *Quercus* (Xu et al. 2015) como escala de tiempo para el eje X. Los resultados fueron visualizados en el programa TRACER v1.5 para confirmar que los valores de convergencia se hubieran alcanzado.

6.5 Diversidad y estructura de microsatélites nucleares

Debido a problemas de amplificación de los nSSR, solo fueron utilizadas 19 poblaciones de *Q. glaucooides* para realizar los análisis de diversidad y estructura genética, así también para los análisis de demografía histórica. Se utilizó el programa Microchecker (Oosterhout et al. 2004) para determinar la probabilidad de la presencia de alelos nulos o errores en el registro de los alelos provocados por el tartamudeo de la polimerasa en la PCR en un intervalo de confianza del 95%, utilizando un tamaño máximo esperado para los alelos de 320.

Debido a que la presencia de alelos nulos fue detectada en varios loci, se utilizó el programa FreeNA (Champuis & Estoup, 2006) para estimar la frecuencia de alelos nulos para cada locus y población con el algoritmo de maximización de las expectativas (ENA, por sus siglas en inglés) (Dempster et al. 1977). Se utilizó este programa para estimar la diferenciación genética (F_{ST}) total y pareada de las poblaciones con el método de Weir (Weir 1996) e implementando la corrección ENA para tomar en cuenta los alelos nulos. Para llevar a cabo este análisis se utilizó un método de remuestreo para cada loci con 10,000 réplicas para obtener el valor de F_{ST} y el intervalo de confianza del 95%.

Se estimó el nivel de endogamia por medio de un modelo de endogamia individual (IIM, por sus siglas en inglés) implementado en el programa INEST 2.2 (Chybicki & Burczyk 2009). El cual estima el índice de endogamia en presencia de alelos nulos (F_{IS}) mediante un enfoque bayesiano. Se realizaron comparaciones de los modelos evaluando el efecto de los alelos nulos (n), la endogamia (f) y el error por genotipaje (b) por medio del criterio de la desviación de la información para el modelo (DIC, por sus

siglas en inglés) utilizando 50,000 iteraciones, muestreando cada 50 iteraciones, descartando 10,000 como “*burn-in*”.

Se estimó el equilibrio de Hardy-Weinberg por medio del paquete Adegenet (Jombart 2008) en R (R Core Team, 2014). Se estimaron los valores del número de alelos (N_A), número de alelos efectivos (N_{AE}), heterocigosidad observada (H_O) y esperada (H_E), la heterocigosidad esperada de manera imparcial tomando en cuenta las frecuencias alélicas y el tamaño de muestra (uH_E), el índice de Shannon (I) que estima la diversidad alélica con base en sus frecuencias y el coeficiente de fijación (F), por medio del programa GenAlex (Peakall & Smouse 2006) con el fin de conocer la diversidad y composición genética de las poblaciones. Una vez obtenidos los valores de diversidad genética, se realizó un análisis de correlación con dichos valores de diversidad y las variables geográficas de latitud, longitud y altitud en R (R Core Team 2014).

Para determinar la estructura genética poblacional se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) por medio del programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer 2010). Utilizando el modelo de mutación de alelos infinitos y el modelo de mutación por pasos, utilizando 1,000 permutaciones para ambos modelos. Este análisis fue realizado con tres criterios diferentes: el primero fue considerando todas las poblaciones como un solo grupo, el segundo agrupando las poblaciones de la SMS y la FVTM y el tercero fue agrupando las poblaciones de la SMS, la FVTMor y la FVTMoc.

Adicionalmente, se utilizó un algoritmo bayesiano de agrupamiento implementado en el programa STRUCTURE 2.3.1 (Pritchard et al. 2000). Se utilizó el modelo “Admixture”. La información de la procedencia de las poblaciones fue utilizada como prior. Se recomienda utilizar esta opción cuando existe una estructura genética débil (Hubisz et al. 2009), como en este caso. Se evaluaron los valores de grupos genéticos supuestos (K) de uno hasta cinco, con diez iteraciones para cada valor de K . Para cada corrida, el periodo de “burn-in” fue de 100,000 iteraciones, seguido de 1,000,000 de réplicas de

Cadena de Markov Monte Carlo. Se utilizó el método de Evanno, et al. (2005) para determinar el valor de K más probable, el cual es determinado un mayor valor de la segunda derivada del logaritmo de la probabilidad para cada valor de K . De esta manera el número de grupos genéticos más probables está dado por el valor máximo de ΔK ,

6.6 Demografía histórica de microsatélites nucleares

Para evaluar si las poblaciones de *Q. glaucooides* sufrieron una reducción reciente en su tamaño efectivo poblacional se utilizó el programa BOTTLENECK 1.2.02 (Piry et al. 1999). Este programa toma como principio que las poblaciones que han sufrido un reciente cuello de botella exhiben un exceso de heterocigosidad, debido a que la diversidad alélica se reduce más rápidamente que la heterocigosidad. Para hacer este análisis el programa calcula la distribución de la heterocigosidad esperada según el número de alelos observados (k), para cada población y para cada locus, dado el tamaño de muestra (n) y el supuesto de un equilibrio mutación-deriva. Dicha distribución, es obtenida mediante simulaciones del proceso de coalescencia de n número de genes bajo los modelos mutacionales de Alelos Infinitos (MAI) y el de Mutación por Pasos (MMP). De acuerdo con el número de loci utilizados, se realizaron las pruebas de Wilcoxon y Sign usando 10,000 iteraciones (Cornuet & Luikart 1996).

6.7 Modelado de nicho ecológico

Se construyó un modelo de nicho ecológico (MNE) para inferir los cambios en el área de distribución potencial de *Q. glaucooides* entre el último interglacial (UIG \approx 120 ka AP), el último máximo glaciario (UMG \approx 21 ka AP), el Holoceno Medio (HM \approx 6 ka AP) y el presente.

Para poder modelar el nicho de *Q. glaucooides*, se obtuvieron los registros de la *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF, <http://data.gbif.org/species/browse/taxon/>) y se utilizaron los registros del Herbario del Instituto de Ecología A.C. Centro Regional del Bajío. Para descartar los registros que

posiblemente no correspondan a la especie, se utilizó como criterio la distribución y el intervalo altitudinal de la especie propuestos por Valencia-A. (2004). Aquellos registros que se encontraron fuera del límite de esta distribución fueron descartados.

Para eliminar el posible sobreajuste del modelo debido a la correlación espacial (Boria et al. 2014) provocado por un esfuerzo de muestreo desigual en distintas áreas geográficas, se utilizaron registros que con una distancia mínima igual o mayor a 40 km entre ellos utilizando el paquete spThin (Aiello-Lammens et al. 2015) en R (R Core Team 2014). Luego de esos procesos, la distribución potencial de *Q. glaucoides* fue modelada con un total de 56 registros únicos.

El área de accesibilidad (M) fue definida como las provincias biogeográficas propuestas por Morrone (2015) en las que existen registros para la especie, las cuales fueron la SMO_r, la SMO_c, la depresión del Balsas (DB) y la SMS. Se utilizó M como máscara para reducir la sobrepredicción del área de favorabilidad ambiental, así como también para realizar una mejor validación del modelo (Barve et al. 2011).

Para construir el MNE, se utilizaron 19 variables bioclimáticas derivadas de temperatura y precipitación mensual (Hijmans et al. 2005) obtenidas de WorldClim Global Climate Data (<http://www.worldclim.org/version1>) con una resolución de 30 arcsec (~1 km). Para evitar la redundancia entre variables, se consideraron simultáneamente aquellas variables con una mayor contribución parcial a los primeros dos componentes principales en un análisis de componentes principales (PCA) y con una correlación pareada de Spearman menor a 0.9. Estos análisis fueron realizados con el programa JMP v13 (SAS Institute). De esta forma, las variables que se utilizaron para construir el MNE fueron: Bio2 (intervalo medio diurno de la temperatura), Bio3 (isotermalidad), Bio4 (estacionalidad de la temperatura), Bio5 (temperatura máxima del mes más cálido), Bio7 (intervalo anual de temperatura), Bio11 (promedio de la temperatura del trimestre más frío), Bio12 (precipitación anual), Bio15 (estacionalidad

de la precipitación), Bio17 (precipitación del trimestre más seco), Bio18 (precipitación del trimestre más cálido) y Bio19 (precipitación del trimestre más frío).

El algoritmo de máxima entropía implementado en MAXENT v3.3.3 (Phillips & Dudík 2008) fue utilizado para construir el MNE utilizando las 11 variables bioclimáticas. Se utilizó un subgrupo del 20% del total de registros únicos para evaluar el modelo, así como para medir el área bajo la curva (AUC) del receiver operating characteristic (ROC). Se hicieron 100 réplicas del modelo con una convergencia de 10^{-5} y 500 iteraciones. Se deshabilitó la opción de extrapolación y clamping en el programa para evitar la sobrepredicción en el modelo. Para comparar la distribución potencial de *Q. glaucoides* entre diferentes tiempos, el MNE fue proyectado en tres modelos de circulación global general (MCG) usados como escenarios climáticos del pasado para el UMG y el HM: the Community Climate System Model (CCSM); the Model for Interdisciplinary Research on Climate (MIROC) y the Max Planck Institute for Meteorology Earth System Model (MPI-ESM). Los datos de los MCG para el UMG y el HM, así como también las capas para el UIG se obtuvieron de WorldClim (<http://www.worldclim.org/paleo-climate1>).

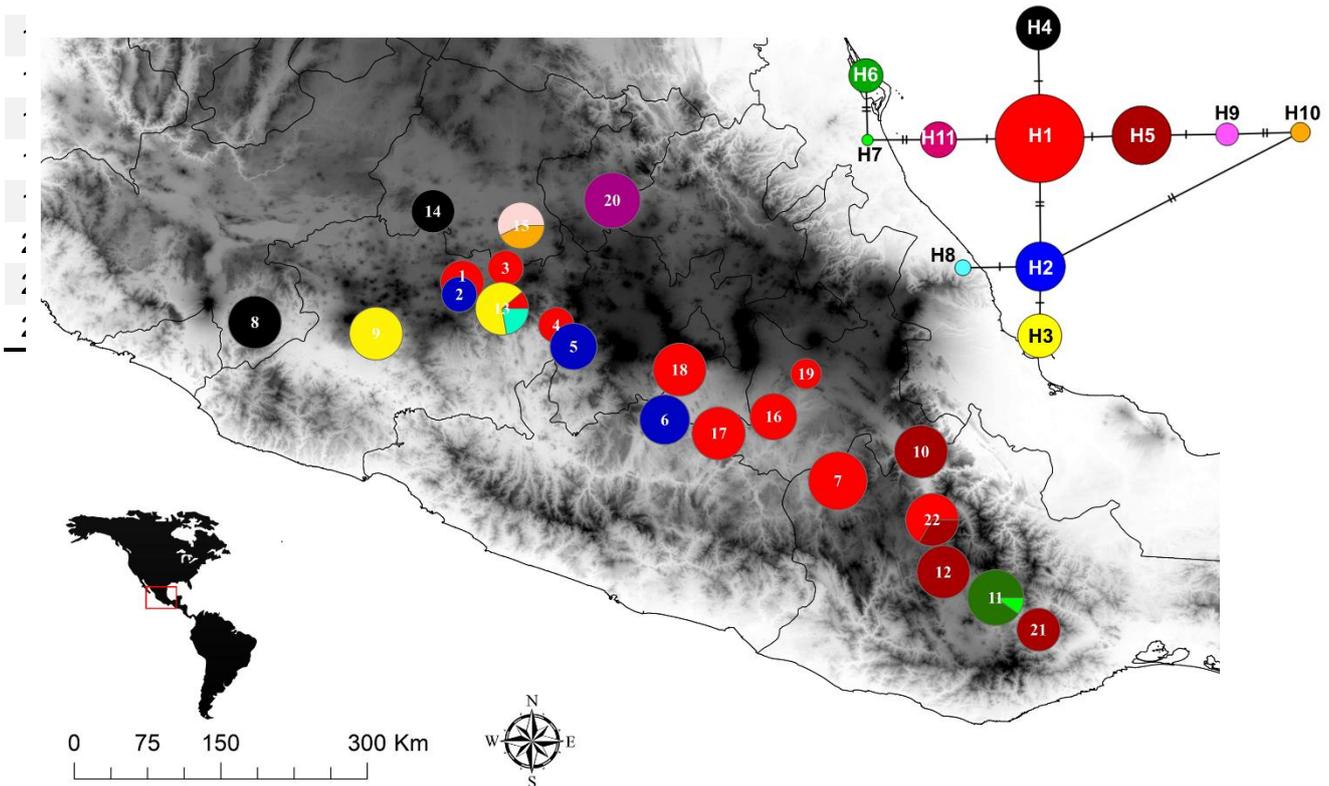
7. Resultados

7.1. Diversidad genética del ADNcp

Se obtuvieron un total de 166 secuencias de la región del cpDNA *trnC-trnD*, con una longitud de 1998 pb. Se obtuvo un total de 12 sitios polimórficos (S) dentro de esta región. El intervalo de la diversidad haplotípica fue de 0 a 0.571, aunque se observó un solo haplotipo para la mayoría de las poblaciones (tabla 2). El intervalo de diversidad nucleotídica (π) fue de 0 a 0.0067.

7.2. Relación entre haplotipos

	Población	N	<i>h</i>	<i>Hd</i>	π	<i>D</i> de Tajima	<i>F_s</i> de Fu
1	Chiquimitio	6	1	0	0	0	0
2	San Nicolás Obispo	4	1	0	0	0	0
3	San Bartolo de Coro	4	1	0	0	0	0
4	El Epazote	4	1	0	0	0	0
5	Tacuitapan	7	1	0	0	0	0
6	Buena vista del Cuellar	8	1	0	0	0	0
7	Santa María Ayu	11	1	0	0	0	0
8	Tecalitlan	9	1	0	0	0	0
9	Jicalan viejo	9	1	0	0	0	0
10	Teotitlan	9	1	0	0	0	0
11	Matatlan	10	2	0.2	0.0002	-1.4*	4.86
12	Tlazoyaltepec	9	1	0	0	0	0
13	Tzitzio	9	3	0.555	0.00067	-0.382	1.228



La red de haplotipos construida por medio del análisis “*median joining*” mostró 11 haplotipos (Figura 4). El haplotipo H1 fue el más frecuente, distribuido ampliamente en la parte este de la FVTM, así como en la transición hacia la depresión del Balsas y en una pequeña porción de la SMS. El haplotipo H5 fue el segundo más frecuente, de igual forma distribuido en la parte este de la FVTM y en la SMS. Por otro lado, en la parte

oeste de la FVTM se observa una mayor diversidad de haplotipos. Se observaron haplotipos privados en las poblaciones de Tarimoro (15), Tzitizio (13) y Tequisquiapan (20).

Figura 4. Distribución geográfica y red de los 11 haplotipos del ADNcp obtenida por un análisis de *median joining*. El tamaño de los círculos es proporcional al número de muestras tanto en la red como en el mapa. En la red de haplotipos se muestran los haplotipos hipotéticos como líneas perpendiculares entre los haplotipos obtenidos. El número dentro de cada gráfica de pastel en el mapa denota el número de la población de acuerdo con el orden de la tabla 2.

El análisis bayesiano de las relaciones filogenéticas muestra que los 11 haplotipos obtenidos de *Q. glaucoides* forman un solo grupo monofilético. Cabe resaltar que al incluir secuencias de *Q. desertícola*, estas resultaron ser idénticas al haplotipo más frecuente en *Q. glaucoides* (H1) (Figura 5).

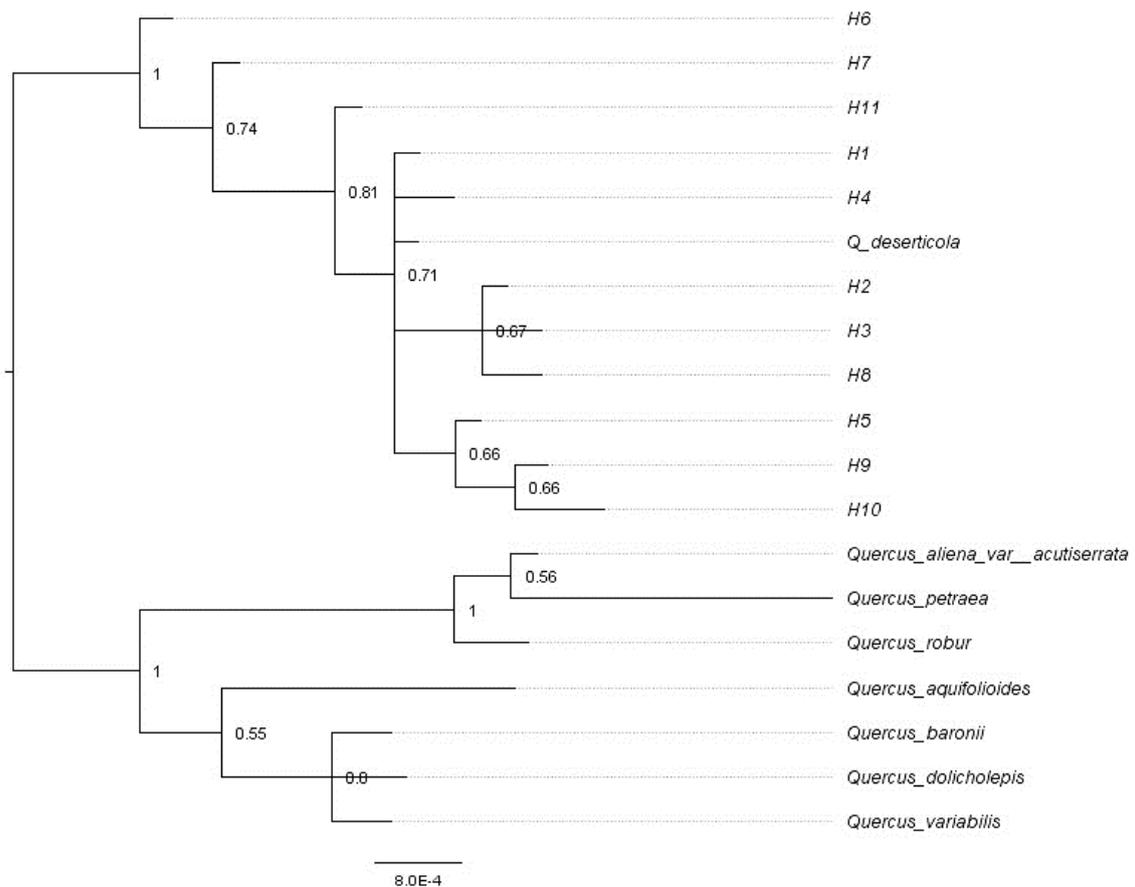


Figura 5. Resultado del análisis bayesiano de las relaciones filogenéticas entre los 11 haplotipos de *Quercus glaucooides*, en los nodos se muestra los valores de las probabilidades posteriores.

7.3. Estructura genética del ADNcp

Los resultados mostraron niveles altos de estructura genética ($\Phi_{ST} = 0.906$). La diversidad haplotípica total con alelos no ordenados y ordenados (h_T y v_T) fue de 0.814 y 0.815, respectivamente, mientras que la diversidad haplotípica poblacional (h_S y v_S) fue de 0.083 y 0.061, respectivamente. El coeficiente de diferenciación genética para alelos no ordenados (G_{ST}) fue de 0.898 (DE= 0.05), observándose un valor mayor para alelos ordenados ($N_{ST} = 0.925$; DE= 0.0344); sin embargo esta diferencia no es significativa ($P > 0.05$).

Los resultados del AMOVA para los datos considerando un solo grupo, muestra que el mayor porcentaje de variación se encuentra entre las poblaciones (90.62%) y un muy bajo porcentaje de variación dentro de las poblaciones (9.38). Al hacer el análisis

considerando las diferencias entre las provincias de la FVTM y la SMS, el porcentaje de variación fue de 12.92% pero no significativo ($\Phi_{CT} = 0.129$, $P = 0.066$). El análisis considerando tres grupos muestra resultados similares con una baja y no significativa diferenciación entre grupos ($\Phi_{CT} = 0.08$, $P = 0.098$) (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de Varianza Molecular de las poblaciones de *Quercus glaucooides* basados en el polimorfismo del ADNcp.

Grupos	Fuente de variación	g.l.	Porcentaje de variación	Índice de fijación
Global	Entre poblaciones	21	90.62	$\Phi_{ST} = \mathbf{0.906^*}$
	Dentro de las poblaciones	143	9.38	
FVTM y SMS	Entre grupos	1	12.92	$\Phi_{CT} = 0.129$
	Entre poblaciones dentro de grupos	20	78.35	$\Phi_{SC} = \mathbf{0.899^*}$
	Dentro de las poblaciones	143	8.73	$\Phi_{ST} = \mathbf{0.912^*}$
FVTMor, FTMoc y SMS	Entre grupos	2	8.43	$\Phi_{CT} = 0.08$
	Entre poblaciones dentro de grupos	19	82.45	$\Phi_{SC} = \mathbf{0.9^*}$
	Dentro de las poblaciones	143	9.12	$\Phi_{ST} = \mathbf{0.908^*}$

g.l, grados de libertad; *, $P < 0.0001$

7.4. Demografía histórica

El valor de D de Tajima para el total de las secuencias fue positivo, sin embargo, no fue significativamente diferente de cero ($D = 0.089$, $P > 0.1$). De igual forma el valor de F_s resultó positivo, pero no fue significativamente diferente de cero ($F_s = 2.543$, $P > 0.1$). A nivel poblacional, la mayoría de los valores fueron iguales a cero, a excepción de las

poblaciones de Matatlán, Tzitzio, Tarimoro y Tonaltepec (Tabla 2), de las cuales solo Matatlán presentó un valor de D negativo significativamente diferente de cero.

Los resultados de la distribución mismatch muestran una forma bimodal, rechazando la hipótesis nula de una repentina expansión poblacional reciente, de acuerdo con la evaluación por medio de la SSD ($P < 0.5$) y por medio del valor del índice de Raggedness ($P < 0.5$).

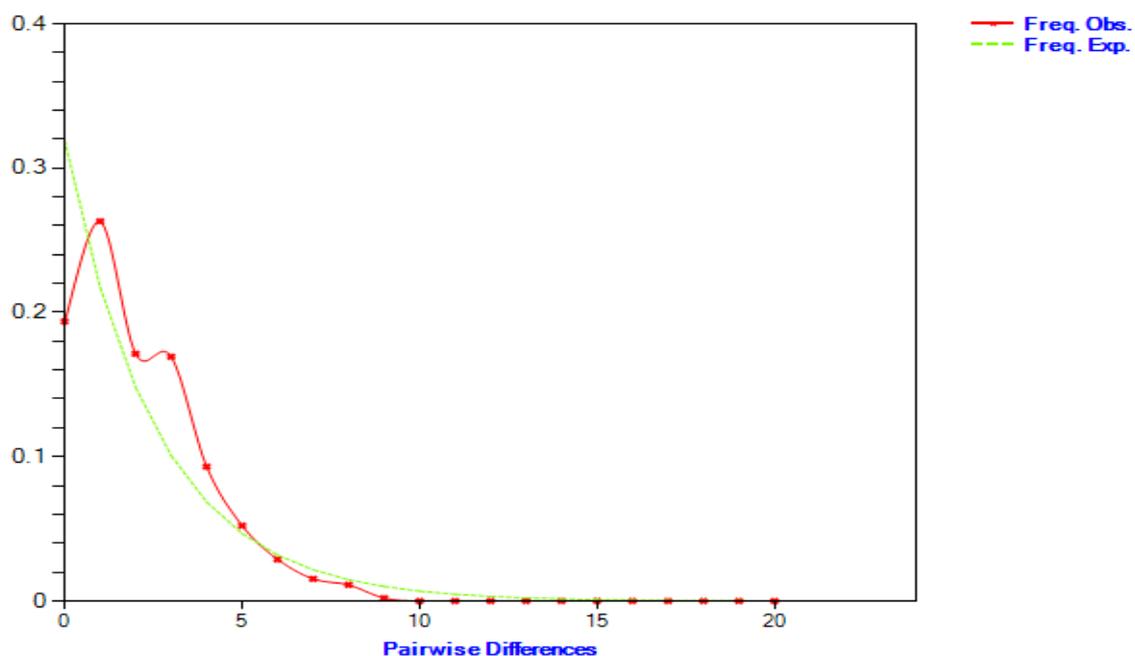


Figura 6. Distribución de las diferencias pareadas por medio del análisis mismatch. La línea verde muestra la distribución de las diferencias pareadas esperadas bajo un escenario de expansión poblacional; la línea roja muestra las diferencias pareadas observadas.

A pesar de que los resultados obtenidos por los valores de D de Tajima y F_s de Fu no muestran evidencia de una reducción en la demografía, el análisis bayesiano de Skyline plot muestra un declive en los valores de N_e desde finales del UMG (15 ka) hasta el presente (Figura 7).

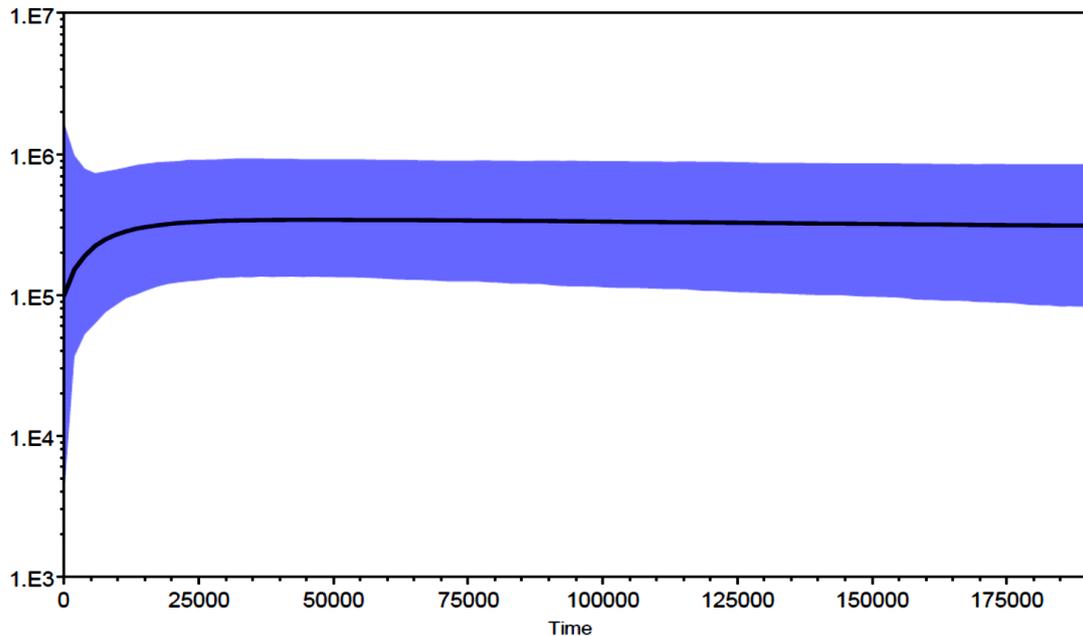


Figura 7. Resultado del análisis de *Bayesian Skyline Plot*. La línea negra muestra el tamaño efectivo poblacional a través del tiempo, utilizando una tasa de sustitución de 0.96×10^{-9} s/s/y

7.5. Diversidad genética de microsatelites nucleares

El análisis del programa Microchecker mostró una probabilidad de alelos nulos en los locus quru-GA-0C11, QpZAG36 y QrZAG39 a nivel global. El coeficiente de endogamia estimado por el programa INEST fue de $F_{IS} = 0.0496$ bajo el modelo completo *nfb* de acuerdo al criterio DIC el cual exhibe la contribución de los alelos nulos y el error de genotipado al calculo del coeficiente de endogamia en comparación con los modelos *fb* y *nf*. El intervalo del 95% de mayor densidad posterior es de 0.0118 a 0.0936 lo que muestra un gran soporte a cierto grado de endogamia en las poblaciones de *Q. glaucooides*.

El promedio del número de alelos por poblacion (N_A) varió entre 4.25 y 7.38 y el número de alelos efectivos (N_E) entre 2.8 y 4.97. Los valores de H_O fueron de 0.32 a 0.65, mientras que los valores de H_E estuvieron entre 0.53 y 0.78. Las poblaciones con

los valores mas bajos de diversidad genética fueron Tequisquiapan, Cuernavaca y San Nicolas Obispo (Tabla 4). El indice de fijación, para todas las poblaciones, muestran valores altos y positivos, lo que puede ser el reflejo de cierto grado de endogámia la cual es evaluada mas adelante (Tabla 4).

Tabla 4. Diversidad genética estimada mediante ocho nSSR

	Población	N	N_A	N_E	I	H_O	H_E	uH_E	F
1	San Nicolás Obispo	10	5.13	3.58	1.37	0.32	0.70	0.73	0.55
2	San Bartolo Coro	10	5.50	3.40	1.36	0.46	0.68	0.71	0.32
3	Tacuitapan	10	6.50	4.48	1.61	0.54	0.75	0.79	0.28
4	Buena Vista del Cuellar	12	7.00	4.48	1.66	0.61	0.76	0.79	0.21
5	Sta. María Ayú	12	6.50	4.72	1.56	0.46	0.73	0.77	0.39
6	Tecalitlan	9	6.00	4.33	1.47	0.65	0.69	0.73	0.06
7	Jicalán Viejo	9	6.00	4.29	1.48	0.53	0.70	0.74	0.31
8	Teotitlán	10	6.38	4.96	1.57	0.57	0.74	0.78	0.22
9	Matatlan	10	7.38	4.97	1.72	0.65	0.78	0.82	0.16
10	Tlazoyaltepec	9	5.88	4.59	1.54	0.52	0.74	0.78	0.30
11	Tzitzio	11	6.50	4.08	1.51	0.58	0.70	0.73	0.17
12	Abasolo	10	6.25	4.67	1.57	0.63	0.74	0.78	0.16
13	Tarimoro	10	5.88	4.20	1.50	0.60	0.73	0.77	0.16
14	Izúcar de Matamoros	9	6.13	4.49	1.57	0.57	0.75	0.79	0.25
15	Jolalpan	9	6.63	4.38	1.58	0.51	0.73	0.78	0.30
16	Cuernavaca	9	5.38	3.76	1.38	0.55	0.67	0.72	0.21
17	Tequisquiapan	8	4.25	2.80	1.06	0.49	0.53	0.58	0.07
18	El Camarón	9	6.63	4.77	1.63	0.47	0.75	0.80	0.39
19	Tonaltepec	9	6.00	3.82	1.42	0.47	0.67	0.71	0.30

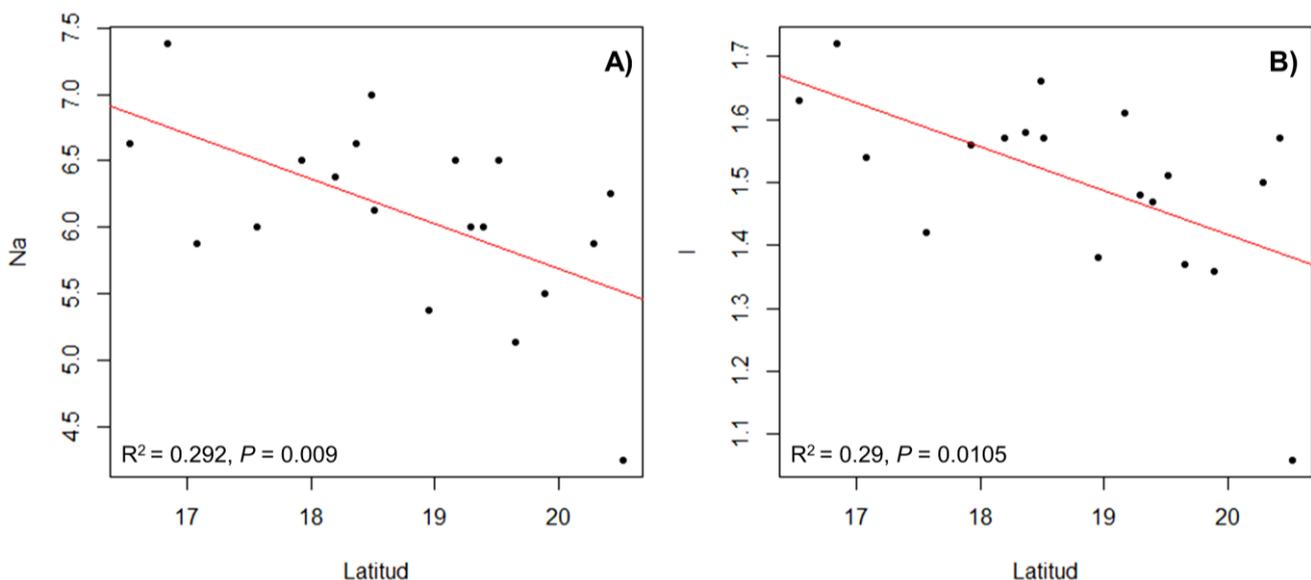
N, Número de muestras; N_A , Número de alelos; N_E , Número de alelos efectivos; I , Índice de Shannon; H_O , Heterocigosidad observada; H_E , Heterocigosidad esperada; uH_E , Heterocigosidad esperada corregida por el tamaño de muestra; F , Índice de fijación

El análisis de correlación mostró únicamente una relación significativa entre la latitud y el número promedio de alelos por locus ($R^2 = 0.29$, $P = 0.009$) y entre la latitud y el índice de diversidad de Shannon ($R^2 = 0.29$, $P = 0.0105$), para ambos casos se mostró un correlacion negativa, es decir, a mayor latitud, menor diversidad genética (Figura 8).

Figura 8. Análisis de correlación entre los índices de diversidad genética y la latitud. A) Se muestra la correlación entre el número de alelos y la latitud ($R^2 = 0.292$, $P = 0.009$), B) Se muestra la correlación entre el índice de Shannon y la latitud ($R^2 = 0.29$, $P = 0.0105$).

7.6. Estructura genética en marcadores nucleares

El valor de diferenciación genética (F_{ST}) entre todas las poblaciones implementando la corrección ENA fue de $F_{ST} = 0.028$, mientras que el valor no corregido fue de $F_{ST} = 0.026$.



El intervalo de confianza del 95% para el valor de F_{ST} corregido despues del metodo de remuestreo fue de 0.022 a 0.037; mientras que el intervalo no corregido fue de 0.02 a 0.0352.

El resultado del AMOVA mostró valores muy bajos de diferenciación genética ($\Phi_{ST} = 0.029$, $P = 0.003$; $R_{ST} = 0.051$, $P = 0.016$), siendo la variación dentro de las poblaciones la que mostró un mayor porcentaje. Por otro lado, el análisis mostró que no existe diferencia comparando las poblaciones de la región de la FVTM contra aquellas distribuidas en la SMS ($\Phi_{CT} = 0$, $P = 0.533$). Al considerar las diferencias entre la SMS,

la FVTMor y la FVTMoc en el análisis de varianza molecular resultó una difereciación muy baja ($\Phi_{CT} = 0.004$, $P = 0.105$) entre estos tres grupos (Tabla 5).

Tabla 5. Analisis de varianza molecular de *Q. glaucooides* basada en las frecuencias alelicas de ocho microsatelites nuclearea.

Grupos	Fuente de variación	g.l.	MAI		MMP	
			Porcentaje de variación	Índice de fijación	Porcentaje de variación	Índice de fijación
Global	Entre poblaciones	18	2.93	$F_{ST} = 0.029^*$	5.18	$R_{ST} = 0.051$
	Dentro de las poblaciones	355	97.07		94.82	
FVTM y SMS	Entre grupos	1	-0.04	$F_{CT} = 0$	-1.07	$R_{CT} = -0.107$
	Entre poblaciones dentro de grupos	17	2.95	$F_{SC} = 0.029$	5.66	$R_{SC} = 0.055$
	Dentro de las poblaciones	355	97.09	$F_{ST} = 0.029^*$	95.42	$R_{ST} = 0.045$
FVTMor, FVTMoc y SMS	Entre grupos	2	0.41	$F_{CT} = 0.004$	1.51	$R_{CT} = 0.08$
	Entre poblaciones dentro de grupos	16	2.65	$F_{SC} = 0.026$	4.14	$R_{SC} = 0.042$
	Dentro de las poblaciones	355	96.94	$F_{ST} = 0.03^*$	94.35	$R_{ST} = 0.056$

g.l. , grados de libertad; MAI, Modelo de Alelos Infinitos; MMP, Modelo de Mutación por Pasos; *, $P < 0.01$

Los resultados obtenidos por el programa STRUCTURE muestran un valor máximo para $\Delta K = 2$, sugiriendo la existencia de dos principales grupos genéticos. Sin embargo, las gráficas muestran una carencia de estructura genética entre las poblaciones de *Q. glaucooides* a lo largo de su distribución (Figura 9), lo cual es congruente con los valores bajos de diferenciación genética.

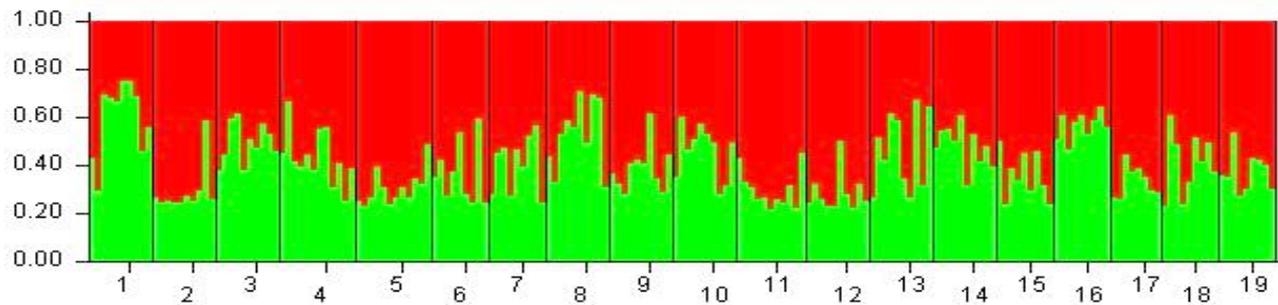


Figura 9. Resultados del análisis de asignación de grupos por inferencia bayesiana por medio de STRUCTURE, donde se muestra el histograma de asignación para un valor de K=2.

7.7. Demografía histórica de microsatélites nucleares

De acuerdo con los resultados obtenidos por el programa BOTTLENECK, la prueba sign muestra que la población de Tarimoro para el modelo mutacional MAI y Jolalpan para el modelo mutacional MMP tienen señal significativa de un cuello de botella reciente. Igualmente, la prueba de Wilcoxon muestra que las poblaciones de Santa María Ayú, Teotitlán, Matatlán, Tlazoyaltepec, Tarimoro e Izucar de Matamoros muestran un exceso de heterocigosidad significativa para el modelo mutacional MAI, mientras que las poblaciones de Tzitzio y Tonaltepec muestran una deficiencia de la heterocigosidad significativa (Tabla 6). Es decir, nueve de las poblaciones mostraron señales de un cuello de botella reciente para la prueba de Wilcoxon bajo el modelo MAI.

Tabla 6. Resultado de pruebas de una reducción en el tamaño efectivo poblacional.

Población	Prueba sign				Prueba Wilcoxon			
	M.A.I.		M.M.P.		M.A.I.		M.M.P.	
	He/Hd	P	He/Hd	P	P_{Hd}	P_{He}	P_{Hd}	P_{He}
1	6/2	0.296	6/2	0.322	0.986	0.0195	0.679	0.371
2	5/3	0.584	3/5	0.168	0.726	0.32	0.097	0.962
3	7/1	0.105	4/4	0.412	0.962	0.097	0.472	0.0578
4	6/2	0.311	3/5	0.192	0.875	0.156	0.23	0.808
5	7/1	0.099	5/3	0.601	0.998	0.003	0.769	0.273

6	6/2	0.286	4/4	0.421	0.902	0.125	0.472	0.578
7	6/2	0.278	5/3	0.548	0.875	0.156	0.679	0.371
8	6/2	0.258	6/2	0.314	0.986	0.019	0.962	0.097
9	6/2	0.305	3/5	0.184	0.98	0.027	0.23	0.808
10	6/2	0.303	6/2	0.29	0.994	0.009	0.962	0.09
11	4/4	0.409	3/5	0.168	0.628	0.421	0.037	0.97266
12	7/1	0.094	6/2	0.31	0.962	0.097	0.875	0.156
13	8/0	0.015	5/3	0.575	1	0.001	0.371	0.742
14	7/1	0.091	5/3	0.59	0.998	0.003	0.679	0.371
15	6/2	0.333	2/6	0.04	0.726	0.32	0.097	0.962
16	6/2	0.297	5/3	0.553	0.902	0.125	0.371	0.679
17	4/3	0.560	3/4	0.306	0.406	0.656	0.234	0.812
18	7/1	0.099	5/3	0.588	0.998	0.003	0.628	0.421
19	4/4	0.388	2/6	0.057	0.472	0.578	0.013	0.99

He, número de loci con exceso de heterocigosidad; Hd, número de loci con deficiencia de heterocigosidad; M.A.I., modelo de alelos infinitos; M.M.P., modelo de mutación por pasos. Los valores con un valor de $P < 0.05$ se muestra en negritas.

7.8. Modelado de nicho ecológico

La evaluación del MNE mostró un buen rendimiento del modelo ($AUC > 0.905$). De acuerdo con el modelo, las condiciones ambientales más favorables para *Q. glaucooides* en la geografía se encuentran alrededor de la Cuenca del Balsas y hacia la zona montañosa de la SMS, así como también parte del valle de Tehuacán-Cuicatlán; disminuyendo la favorabilidad en la parte oriental de la FVTM y hacia mayores latitudes, y limitando la distribución potencial en el Istmo de Tehuantepec (Figura 10A). La proyección del modelo para el UIG muestra que el área geográfica con mayor favorabilidad ambiental se contrajo a únicamente un área restringida en lo que hoy es la parte suroeste de la Depresión del Balsas y parte norte de la SMS (Figura 10B). Por otro lado, las proyecciones para el UMG muestran que las condiciones con mayor favorabilidad ambiental se desplazaron hacia el suroeste con respecto al presente, principalmente en la DB y en la SMS; los escenarios MPI y CCSM muestran resultados similares, contrastando con MIROC, en donde se observa una reducción del área de distribución potencial con respecto a los dos escenarios mencionados anteriormente

(Figura 10C). Las proyecciones para el Holoceno Medio muestran un desplazamiento hacia la cuenca del Balsas y las zonas montañosas de la SMS de las condiciones favorables para la especie, con una configuración más similar a la del presente, tanto el modelo MPI y CCSM muestran resultados similares, con pequeñas diferencias con respecto al modelo MIROC (Figura 10D).

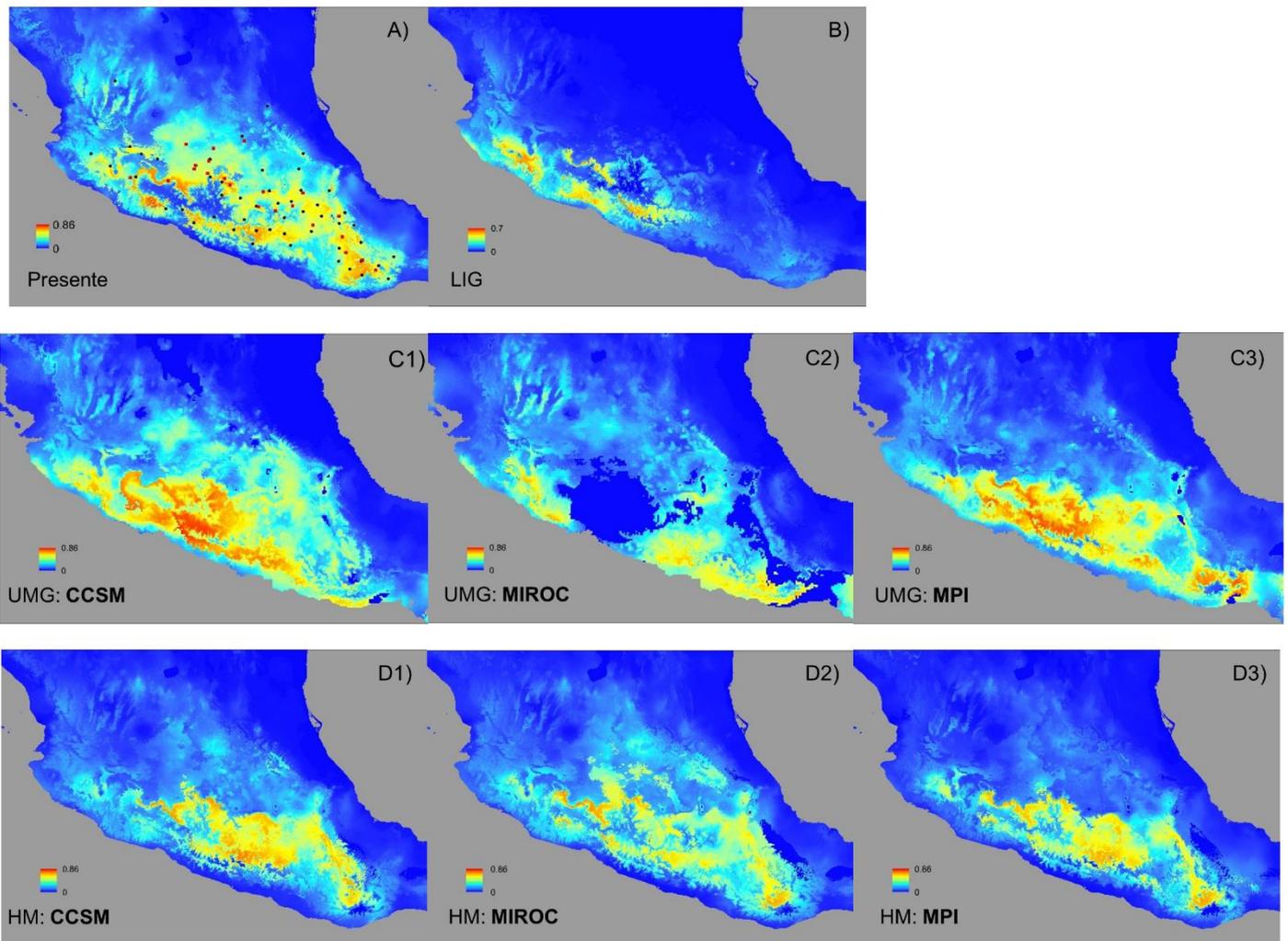


Figura 4. Modelos de nicho ecológico de *Quercus glaucooides*. Los colores cálidos representan valores más altos de favorabilidad ambiental. A) se muestran las condiciones con mayor favorabilidad ambiental en el presente. C1, C2 y C3 muestran las proyecciones hacia el Holoceno medio utilizando tres diferentes modelos de circulación global. D1, D2 y D3 muestran las proyecciones hacia el UMG con tres diferentes MCG; B muestra la proyección del MNE durante el UIG.

8. Discusión

La especie de encino endémica del centro de México, *Quercus glaucoides*, tiene un nicho muy particular con respecto a otras especies de encino, habitando la zona de transición hacia el bosque tropical caducifolio, es decir en un hábitat por lo general cálido y seco. Lo que provoca que esta especie no suela encontrarse con otras especies de encino en simpatría. Los estudios sobre esta especie de encino en particular han sido escasos, principalmente enfocados en sus usos como recurso natural forestal (Luna-José et al. 2003); en los efectos de patógenos (Tainter et al. 2000); en las características de las flores de esta especie de encino (Romero-Rangel et al. 2000) y en su delimitación taxonómica (Nixon & Muller 1992).

Este estudio presenta por primera vez un análisis filogeográfico para *Q. glaucoides*, determinando su estructura y diversidad genética poblacional a lo largo de su distribución y evaluando los cambios históricos en su distribución potencial. De esta manera, explorando los efectos de la configuración geológica y de los cambios climáticos históricos en la formación de la estructura genética poblacional para una especie con un nicho muy característico.

8.1 Diversidad genética inferida en el ADNcp y en ADNn

La distribución de la diversidad genética de las especies del género *Quercus* han sido ampliamente estudiadas tanto en la región Paleártica (Petit et al. 2002; Magri et al. 2007; Chen et al. 2012; Xu et al. 2015), en la región Neártica (Grivet et al. 2006; Gugger et al. 2013; Cavender-Bares et al. 2015) como en la región Neotropical (Cavender-Bares et al. 2011; Rodríguez-Correa et al. 2017). En este estudio filogeográfico se estimó la

diversidad genética de *Q. glaucoides*, endémica de la zona de transición mexicana; misma zona donde existe una alta diversidad de encinos, con afinidades ecológicas diferentes. En este sentido, al comparar la diversidad genética encontrada en *Q. glaucoides* con los patrones de diversidad en la especie de la misma sección *Q. deserticola* (Rodríguez-Gómez et al. 2018), la cual se distribuye en la zona de transición mexicana; se observa una menor diversidad genética en *Q. glaucoides*, ya que, a pesar de que fueron utilizados los mismos marcadores de microsatélites de cloroplasto para ambas especies, se encontró una escasa o nula cantidad de polimorfismos en la especie *Q. glaucoides*.

Al estimar la diversidad genética del ADNcp para *Q. glaucoides* analizando las secuencias de la región *trnC-trnD* es posible observar niveles bajos de diversidad genética (Tabla 2) en comparación a otras especies que han sido estudiadas en la zona de transición mexicana como el complejo *Q. affinis-Q. laurina* y *Q. deserticola*. Esta pérdida de diversidad genética en las poblaciones de *Q. glaucoides* puede estar asociada a un declive en la demografía histórica.

Analizando los patrones de diversidad genética de los nSSR, se puede observar que en la mayoría de las poblaciones el índice de fijación muestra valores positivos, posiblemente ligado a eventos de endogamia. Lo que de acuerdo con Nei et al. (1975), que menciona que el aumento en la homocigosidad puede ser provocado por un declive en el tamaño poblacional. Estos resultados muestran un patrón singular, ya que a pesar de que los mismos marcadores de nSSR han sido utilizados para analizar especies de encino en México (*Q. castanea*, *Q. affinis-Q. laurina*, *Q. scytophylla*, *Q. hypoleucoides* y *Q. sideroxylla*) no ha sido reportado evidencia de posibles eventos de endogamia.

8.2. Patrones contrastantes de flujo génico mediado por polen (nSSR) y por semillas (ADNcp)

Al analizar la diversidad y estructura genética mediante nSSR y secuencias de ADNcp, se observan claros patrones contrastantes entre el flujo génico mediado por semillas y por polen. Los altos valores de diferenciación genética global y de estructura genética del ADNcp ($G_{ST} = 0.898$, $N_{ST} = 0.925$, $\Phi_{ST} = 0.906$), son reflejo de pocos eventos de colonización y de la baja capacidad de dispersión de las semillas, como se ha observado en otras especies de encinos blancos (Magni et al. 2005; Okaura et al. 2007; Magri et al. 2007; Rodríguez-Gómez et al. 2018), aunque, solo en algunas especies de encino se ha observado una diferenciación genética alta ($F_{ST} \text{ ADNcp} = 0.98$) (Chen et al. 2012; Du et al. 2017).

En contraste con la alta estructura genética en el ADNcp, los valores de diferenciación genética de los nSSR ($F_{ST} = 0.028$, $\Phi_{ST} = 0.029$) muestran una carencia de estructura genética, como es confirmado por el análisis de inferencia bayesiana STRUCTURE (Figura 9), reflejo del flujo génico a largas distancias vía polen, característico de especies anemófilas, que generalmente presentan una mayor diversidad genética y una baja diferenciación genética (Hamrick & Godt 1996). En diferentes especies de encino se han encontrado resultados similares de niveles bajos de estructura genética a nivel intraespecífico (Cavender-Bares et al. 2011; Gugger et al. 2013) e inclusive a nivel interespecífico (González-Rodríguez et al. 2004; Craft & Ashley 2006; Curtu et al. 2007; Peñaloza-Ramírez et al. 2010; Owusu et al. 2015; Ramos-Ortiz et al. 2016). Sin embargo, cabe destacar que han sido escasos los casos de una carencia total de estructura genética como se muestra en los resultados de este trabajo. Estas diferencias en el flujo génico en nSSR y las secuencias del ADNcp pueden ser explicadas por los mecanismos asimétricos de dispersión y de flujo génico como se ha reportado en otras especies de encino (Du et al. 2017). La dispersión de las semillas en esta especie se da principalmente por barocoria, es decir, que el potencial de dispersión se ve restringida a una corta distancia, además, el flujo génico entre las poblaciones mediado por las semillas depende de la conectividad del hábitat entre estas, ya que a

pesar de que las semillas tengan el potencial de dispersarse grandes distancias, estas dependen de que encuentren las condiciones favorables para su germinación y crecimiento. Mientras que, para el caso del flujo génico mediado por polen, es posible que el movimiento del polen se vea favorecida su dispersión dadas las condiciones de poca humedad en donde habita la especie, pudiendo recorrer grandes distancias gracias a las corrientes de viento produciendo un alto flujo génico entre las poblaciones como sugieren los resultados de este trabajo.

8.3. Efecto de la configuración geológica en la distribución de la diversidad genética en *Q. glaucoides*

El centro de México es identificado como la Zona de Transición Mexicana (Halffter, 1978), donde interactúan elementos neárticos y neotropicales. El componente neártico dentro de esta zona de transición está constituido por especies que se diversificaron en las montañas de México durante el Plioceno, siendo el Istmo de Tehuantepec el límite de distribución austral (Morrone, 2004). La especie *Q. glaucoides* se distribuye dentro de la zona de transición, y tiene una afinidad hacia climas tropicales. La distribución de la especie está limitada al sur por el Istmo de Tehuantepec, mismo que ha sido evaluado como un punto importante de recambio de especies en la distribución de los encinos (Rodríguez-Correa 2015). El origen la especie *Q. glaucoides* no se ha establecido claramente, sin embargo, es posible especular que haya tenido su origen durante el Mioceno, época en donde especies de encino diversificaron en México (Hipp et al. 2018) mismo periodo donde se produjo un incremento en la temperatura global (Zachos et al. 2001) y se ha propuesto el origen del bosque tropical seco en México (Becerra 2005).

Las provincias biogeográficas donde se distribuye *Q. glaucoides* son la SMS y la FVTM. El origen de la SMS es antiguo, datado durante el Oligoceno, con cierta actividad geológica durante el Mioceno temprano (Morán-Zenteno et al. 2007). Por su parte, la FVTM ha tenido una formación compleja y una actividad volcánica reciente. Las etapas

que dieron origen a esta provincia fisiográfica fueron durante i) el Mioceno temprano al Mioceno medio, ii) el Mioceno tardío, iii) Mioceno tardío al Plioceno y iv) el Plioceno tardío al Pleistoceno. Esta actividad geológica intermitente provocó una subestructuración de dicha provincia (Gómez-Tuena et al. 2007; Ferrari et al. 2012).

Los análisis filogeográficos han mostrado una discontinuidad en el flujo génico entre la sección este y la sección oeste de la FVTM, posiblemente atribuible a la reciente actividad geológica en esta provincia (Matos & Schaal 2000; Jaramillo-Correa et al., 2008; Bryson et al. 2011; Parra-Olea et al. 2012; Ruiz-Sánchez & Specht 2013) o debido a su conectividad e interacción con elementos de otras provincias (Corona et al. 2007). En contraste, estas discontinuidades debido a la diferencia entre provincias o a la reciente actividad volcánica parecen no haber influido en la distribución de la diversidad genética en *Q. glaucoides* tanto para las secuencias del ADNcp como para los nSSR. Este patrón de escasa diferenciación entre las provincias y subsecciones de la FVTM ha sido evidenciado por medio de estudios filogeográficos en otras especies (González-Rodríguez et al. 2004; Moreno-Letelier & Piñero 2009; Rodríguez-Gómez et al. 2018), y ha sido atribuido a contracciones y expansiones poblacionales producto de las fluctuaciones climáticas que tuvieron lugar durante el Pleistoceno (Ornelas & González 2014; Mastretta-Yanes et al. 2015; Rodríguez-Gómez et al. 2018).

El origen de las provincias, tanto de la SMS como de la FVTM datan del Oligoceno, misma época en la que divergía la sección *Quercus* (Hipp et al. 2018). Fue hasta el Neogeno cuando la sección *Quercus* se dispersó en todo el hemisferio Norte. Bajo este escenario, se vuelve evidente que la formación de ambas provincias fisiográficas tanto la SMS y FVTM no propiciaron eventos de vicarianza en la distribución de la diversidad genética como sugieren los resultados del AMOVA.

Los siguientes episodios de la evolución de la FVTM fueron principalmente durante el Mioceno, y dado que fue hasta el Mioceno medio cuando surge el linaje de encinos

mexicanos en la sección *Quercus* (~18 Ma AP) es posible que haya sido el más reciente episodio geológico en la evolución de la FVTM durante el Plioceno-Pleistoceno en el que pudo tener un efecto sobre la estructura genética de *Q. glaucoides*, sin embargo los resultados del AMOVA en este estudio muestra que existe muy poca diferenciación genética entre las poblaciones distribuidas en las diferentes secciones de la FVTM, sugiriendo que la actividad geológica de la FVTM tuvo un reducido efecto en la distribución de la diversidad genética de la especie *Q. glaucoides*. Estos resultados son contrastantes con aquellos estudios filogeográficos realizados en la FVTM donde se encuentra un patrón de estructura genética este-oeste para diferentes taxones (Bryson et al. 2011; Ruiz-Sanchez & Specht 2014), por otro lado, el estudio filogeográfico realizado en *Q. deserticola* muestra este mismo patrón que el reportado en este trabajo de una alta estructura genética local sin una barrera geográfica evidente (Rodríguez-Gómez et al. 2018).

8.4. Efecto de las fluctuaciones climáticas del Cuaternario en la demografía

En este estudio filogeográfico, se utilizan por primera vez secuencias de la región *trnC-trnD* en encinos del continente americano. Esta región del cpDNA ha sido identificada como una región potencial para estudios filogenéticos por su gran tamaño y polimorfismo (Demesure et al. 1995). Sin embargo, en este estudio, a pesar de la gran longitud del fragmento analizado, se encontraron niveles muy bajos de diversidad nucleotídica y haplotípica de esta región del ADNcp en *Q. glaucoides* (Tabla 2). Los resultados obtenidos en este estudio muestran la diversidad más baja en comparación de análisis previos de secuencias de otras regiones del ADNcp y con otras especies de encino (Cavender-Bares et al. 2011; Chen et al. 2012; Xu et al. 2015; Cavender-Bares et al. 2015; Du et al. 2017). Estos valores bajos de diversidad genética pueden ser producto de un cuello de botella relativamente reciente (~15 000 AP). El patrón de la distribución de la diversidad genética del ADNcp muestra una alta estructura genética donde por lo general existe únicamente un solo haplotipo por población (Tabla 2).

Los análisis de la demografía histórica a partir de los valores de la D de Tajima y la F_s de Fu no mostraron signos de un cuello de botella. Sin embargo, dado que estos valores se estiman a partir de la diversidad haplotípica y nucleotídica, no es posible inferir si realmente se muestra un patrón de un cuello de botella reciente, ya que, para este caso, en la mayoría de las poblaciones, la diversidad nucleotídica y haplotípica fueron iguales a cero. Por otro lado, el análisis mismatch descarta una expansión poblacional en las poblaciones de *Q. glaucoides* (Figura 6). El análisis bayesiano que implementa el método de coalescencia para estimar la demografía a través del tiempo “Bayesian skyline plot” muestra una reducción en el tamaño efectivo poblacional de la especie. Evidenciando un posible cuello de botella que inició hace alrededor de 15 ka y continúa hasta la actualidad (Figura 7).

El análisis de la variación de nSSR mostró un patrón similar de un reciente cuello de botella para algunas poblaciones de acuerdo con los resultados de BOTTLENECK tanto en poblaciones de la FVTM (Tarimoro e Izúcar de Matamoros) y la SMS (Sta. María Ayú, Teotitlan, Tlazoyaltepec y Matatlán). Cabe destacar que todas estas poblaciones además presentan únicamente un solo haplotipo, a excepción de Tarimoro y Matatlán (Tabla 5). Sin embargo, para todas las demás poblaciones no se detectó un posible evento de cuello de botella. Es necesario considerar el modelo bajo el cual está construida la prueba, según la cual se espera un exceso de heterocigosidad en poblaciones que hayan tenido una reducción en su tamaño efectivo poblacional, debido a que la pérdida de alelos es más rápida que la pérdida de heterocigosidad (Cornuet & Luikart 1996). Sin embargo, se ha demostrado que si existe un fuerte cuello de botella es posible que exista un alto grado de homocigosidad debido a que posterior al cuello de botella, posiblemente las poblaciones quedaron fragmentadas y la recolonización se da a partir de algunos refugios restringidos donde puede darse o no el flujo génico entre los diferentes refugios (Hewitt 1996), o puede darse un alto flujo génico de las poblaciones durante el tiempo que se vean restringidas a una área limitada debido a la

escases de ambientes propicios para la especie (Petit, et al. 2002), homogenizando las frecuencias alélicas, provocando una falta de estructura genética (Figura 9) y un alto grado de homocigosidad provocando cierto grado de endogamia en las poblaciones como se observa en los resultados de este trabajo para *Q. glaucoides*.

La paleodistribución de *Q. glaucoides* muestra claramente que los cambios climáticos durante el Cuaternario han producido constantes contracciones y expansiones de las condiciones favorables para la especie. La mayor reducción de la distribución potencial con respecto al presente se dio durante el UIG (Figura 10B), posteriormente se dio una mayor favorabilidad ambiental durante el UMG con respecto al UIG, pero en un área restringida al suroeste de la distribución actual. Un desplazamiento de la distribución potencial tuvo lugar durante el Holoceno medio con respecto al UMG, con una configuración más similar al presente, donde se dio una expansión de las condiciones favorables a la especie hacia mayores latitudes y hacia la región Oriental (Figura 10). Estas contracciones y expansiones de la distribución potencial, asociadas con la baja capacidad de dispersión de las semillas, pueden ser responsable de la distribución segregada de los haplotipos en las poblaciones de *Q. glaucoides*. En este mismo escenario es posible explicar que a pesar de los altos valores de diferenciación, no se muestra una señal de estructura filogeográfica ($G_{ST} \approx N_{ST}$). Este patrón puede ser explicado ante un escenario de fragmentación del hábitat, como se ha visto en otras especies que habitan en el bosque tropical caducifolio en el Neotrópico. Esta fragmentación del bosque tropical caducifolio durante el UMG y el HM está asociada con el alto número de endemismos en estas regiones, es decir que esta fragmentación produjo eventos de vicarianza en otros taxa de esta región (Pennington et al. 2000). El análisis de correlación entre la diversidad genética con los nSSR muestra cierta congruencia con el escenario de un reciente cuello de botella y una recolonización hacia mayores latitudes donde se observa una disminución en el número de alelos en la región del límite norte de la distribución de *Q. glaucoides* (Figura 8).

Estos patrones se han observado en especies de encino distribuidas principalmente en zonas Holárticas (Petit, et al., 2002; Magri, et al., 2007; Gugger, et al., 2013), aunque es contrastante con los patrones observados en especies de encino distribuidas en la región neotropical (González-Rodríguez et al. 2004; Rodríguez-Correa et al. 2017; Rodríguez-Gómez et al. 2018;). Sin embargo, se ha observado que, las especies distribuidas en regiones semiáridas en México, como en los valles centrales de Oaxaca, sufrieron una contracción y fragmentación de la distribución potencial en múltiples refugios durante el UMG (Ornelas et al. 2018). Este patrón puede sugerir que existió una contracción en la extensión geográfica de las condiciones climáticas cálidas y secas durante los cambios climáticos del Cuaternario, aunque, es necesario recopilar una mayor cantidad de evidencia que sustente dicho escenario.

Ya que los cambios climáticos del UMG y del UIG han repercutido de manera diferente en las regiones del Neotrópico (Metcalf 2006), e hipótesis sobre posibles refugios de los bosques neotropicales han sido explorados con mayor profundidad sugiriendo un escenario alternativo donde posiblemente se experimentó una expansión de dichos bosques neotropicales (Leite et al. 2016). De acuerdo con lo que sugieren los resultados de este trabajo de investigación, es necesario llevar a cabo una exploración más profunda de los efectos del cambio climático en especies con afinidad a climas cálidos y secos como en la especie de encino *Q. glaucoides*.

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran los posibles efectos de un cuello de botella, es decir, los signos de endogamia biparental en los marcadores nucleares y la reducción reciente del tamaño efectivo poblacional y la alta estructura genética en los marcadores de ADNcp. Este cuello de botella puede estar fuertemente relacionados con los ciclos glaciares experimentados en el Cuaternario, puesto que existe evidencia de que en las zonas donde actualmente existe un clima cálido y con vegetación xerófila, durante el UMG estas estuvieron ocupadas por bosques templados, debido a un

aumento en la precipitación y un importante decremento el área del bosque tropical caducifolio (Prentice et al. 1993; Wu et al. 2007).

9. Conclusiones

- Se observa una baja diversidad genética en el ADNcp y una carencia de estructura genética en los marcadores nSSR en las poblaciones de *Q. glaucoides* a lo largo de su distribución.
- Existen diferencias claras entre el flujo génico mediado por polen y por semillas.

- Los eventos geológicos en la parte central de México parecen no tener un efecto en la distribución de la diversidad genética de los linajes de los genes para *Q. glaucoides*.
- Los resultados sugieren una disminución del tamaño efectivo poblacional reciente y de la extensión de la distribución potencial, producto de los cambios climáticos del Cuaternario, aunque, es necesario realizar un estudio a mayor detalle para confirmar este patrón.

Bibliografía

Aiello-Lammens, M. E., Boria, R. A., Radosavljevic, A., Vilela, B., & Anderson, R. P. (2014, 11 17).

spThin: Functions for Spatial Thinning of Species Occurrence Records for Use in Ecological Models. Retrieved 10 8, 2017, from <https://cran.r-project.org/web/packages/spThin/index.html>

Aiello-Lammens, M. E., Boria, R. A., Radosavljevic, A., Vilela, B., & Anderson, R. P. (2015).

spThin: an R package for spatial thinning of species occurrence records for use in ecological niche models. *Ecography*, 38(5), 541-545.

- Aldrich, P. R., Michler, C. H., Sun, W., & Romero-Severson, J. (2002). Microsatellite markers for northern red oak (Fagaceae: *Quercus rubra*). *Molecular Ecology Notes*, *2*, 472-474.
- Aldrich, R., & Cavender-Bares, J. (2011). *Quercus*. In C. Kole (Ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and breeding Resources* (pp. 89-129). Berlin, Heidelberg: Springer.
- Awise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Saunders, N. C. (1987). Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *18*, 489-522.
- Azaiez, A., Bouchard, É. F., Jean, M., & Belzile, F. J. (2006). Length, orientation, and plant host influence the mutation frequency in microsatellites. *Genome*, *49*(11), 1366-1373.
- Bandelt, H.-J., Forster, P., & Röhl, A. (1999). Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, *16*(1), 37-48.
- Barrón, E., Averyanova, A., Kvaček, Z., Momohara, A., Pigg, K. B., Popova, S., ... & Zhou, Z. K. (2017). The Fossil History of *Quercus*. In *Oaks Physiological Ecology. Exploring the Functional Diversity of Genus Quercus L.* (pp. 39-105). Springer, Cham.
- Barve, N., Barve, V., Jiménez-Valverde, A., Lira-Noriega, A., Maher, S. P., Peterson, A. T., Villalobos, F. (2011). The crucial role of the accessible area in ecological niche modeling and species distribution modeling. *Ecological Modelling*, *222*, 1810-1819.
- Becerra, J. X. (2005). Timing the origin and expansion of the Mexican tropical dry forest. *PNAS*, *102*(31), 10919-10923.
- Boria, R. A., Olson, E. L., Goodman, S. M., & Anderson, R. P. (2014). Spatial filtering to reduce sampling bias can improve the performance of ecological niche models. *Ecological Modelling*, *275*, 73-77.
- Bryson, R. W., García-Vázquez, U. O., & Riddle, B. R. (2011). Phylogeography of Middle American gophersnakes: mixed responses to biogeographical barriers across the Mexican Transition Zone. *Journal of Biogeography*, *38*, 1570-1584.
- Caballero, M., Lozano-García, S., Vázquez-Selem, L., & Ortega, B. (2010). Evidencias de cambio climático y ambiental en registros glaciales y en cuencas lacustres del centro de México durante el último máximo glacial. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, *62*(3), 359-377.

- Cavender-Bares, J., González-Rodríguez, A., Eaton, D. A., Hipp, A. A., Beulke, A., & Manos, P. S. (2015). Phylogeny and biogeography of the American live oaks (*Quercus* subsection Virentes): a genomic and population genetics approach. *Molecular Ecology*, *24*, 3668-3687.
- Cavender-Bares, J., González-Rodríguez, A., Pahlich, A., Koehler, K., & 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*, 962-981.
- Champuis, M. P., & Estoup, A. (2006). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, *24*(3), 621-631.
- Chen, D., Zhang, X., Kang, H., Sun, X., Yin, S., Du, H., Liu, C. (2012). Phylogeography of *Quercus variabilis* based on chloroplast DNA sequence in East Asia: Multiple Glacial Refugia and Mainland-Migrated island population. *Plos One*, *7*(10).
- Cornuet, J. M., & Luikart, G. (1996). Description and Power Analysis of Two Tests for Detecting Recent Population Bottlenecks From Allele Frequency Data. *Genetics*, *144*(4), 2001-2014.
- Corona, A. M., Toledo, V. H., & Morrone, J. J. (2007). Does the Tran-mexican Volcanic Belt represent a natural biogeographical unit? An analysis of the distributional patterns of Coleoptera. *Journal of Biogeography*, *34*, 1008-1015.
- Craft, K. J., & Ashley, M. V. (2006). Population differentiation among three species of white oak in northeastern Illinois. *Canadian Journal of Forest Research*, *36*(1), 206-215.
- Curtu, A. L., Gailing, O., Leinemann, L., & Finkeldey, R. (2007). Genetic variation and differentiation within a natural community of five oak species (*Quercus* spp.). *Plant biology*, *9*, 116-126.
- Deguilloux, M. F., Dumolin-LaPégue, S., Gielly, L., Grivet, D., & Petit, R. J. (2003). A set of primers for the amplification of chloroplast microsatellites in *Quercus*. *Molecular Ecology Notes*, *3*, 24-27.
- Demesure, B., Sodji, N., & Petit, J. R. (1995). A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molecular Ecology*, *5*, 129-131.

- Dempster, A. P., Laird, N. M., & Rubin, D. B. (1977). Maximum Likelihood from Incomplete Data via the EM Algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society*, 39(1), 1-38.
- Denk, T., Grimm, G. W., Manos, P. S., Deng, M., & 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.
- Downie, S. R., & Palmer, J. D. (1992). Use of chloroplast DNA rearrangements in reconstructing plant phylogeny. In *Molecular systematics of plants* (pp. 14-35). Boston, MA: Springer.
- Drummond, A. J., Suchard, M. A., & Rambaut, A. (2012). Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29(8), 1969-1673.
- Du, F. K., Hou, M., Wang, W., Mao, K., & Hampe, A. (2017). Phylogeography of *Quercus aquifoloides* provides novel insights into Neogene history of a major global hotspot of plant diversity in south-west China. *Journal of Biogeography*, 44, 294-307.
- Dumolin-Lapégue, S., Demesure, B., Fineschi, S., Le Corre, V., & Petit, R. J. (1997). Phylogeographic Structure of White Oaks Throughout the European Continent. *Genetics Society of America*, 146, 1475-1487.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611-2620.
- Excoffier, L., & Lischer, H. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567.
- Ferrari, L., Orozco-Esquivel, T., Manea, V., & Manea, M. (2012). The dynamic history of the Trans-Mexican Volcanic Belt and the Mexico subduction zone. *Tectonophysics*, 522-523, 122-149.
- Ferrusquia-Villafranca, I. (1993). Geology of Mexico: A synopsis. In *Biological diversity of México: Origins and Distributions*.
- Fu, Y.-X. (1997). Statical Test of Neutrality of Mutation Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection. *Genetics*, 147, 915-925.
- Gómez-Tuena, A., Orozco-Esquivel, M. T., & Ferrari, L. (2007). Igneous petrogenesis of the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Geological Society of America*, 422, 129-181.

- González-Rodríguez, A., Bain, J. F., Golden, J. L., & Oyama, K. (2004). Chloroplast DNA variation in the *Quercus affinis*-*Q. laurina* complex in Mexico: geographical structure and associations with nuclear and morphological variation. *Molecular Ecology*, *13*, 3467-3476.
- Graham, A. (1995). Development of affinities between Mexican/Central American and northern South American lowland and lower montane vegetation during Tertiary. In S. P. Churchill, H. Balslev, E. Forero, & J. Luteyn (Eds.), *Biodiversity and Conservation of Neotropical Montane Forest* (pp. 11-22). New York: The New York Botanical Garden.
- Grivet, D., Deguilloux, M.-F., Petit, R. J., & Sork, V. L. (2006). Contrasting patterns of historical colonization in white oaks (*Quercus* spp.) in California and Europe. *Molecular Ecology*, *15*, 4085-4093.
- Gugger, P. F., Ikegami, M., & 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*, 3598-3612.
- Halffter, G. (1978). Un nuevo patrón de dispersión en la zona de transición mexicana: El mesoamericano de montaña. *Folia Entomológica Mexicana*, *39*(40), 219-222.
- Hamrick, J. L., & Godt, M. W. (1996). Effects of life history traits on genetic diversity in plant. *Philosophical Transactions of The Royal Society*, *351*, 1291-1298.
- Harpending, H. C. (1994). Signature of Ancient Population Growth in a Low-Resolution Mitochondrial DNA Mismatch Distribution. *Human Biology*, *66*(4), 591-600.
- Hedrick, P. W. (2005). *Genetics of populations* (Tercera ed.). Sudbury, Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers.
- Hewitt, G. M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, *58*, 247-276.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., & Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surface for global land areas. *International Journal of Climatology*, *25*, 1965-1978.
- Hipp, A. L., Eaton, D. A., Cavender-Bares, J., Fitzek, E., Nipper, R., & Manos, P. (2014). A Framework Phylogeny of the American Oak Clade Based on Sequenced RAD Data. *PLOS ONE*, *9*(14), 1-12.

- Hipp, A. L., Manos, P. S., González-Rodríguez, A., Hahn, M., Kaproth, M., McVay, J. D., 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.
- Hubisz, M., Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 9, 1322-1332.
- Jaramillo-Correa, J. P., Aguirre-Planter, E., Khasa, D. P., Eguiarte, L. E., Piñero, D., Furnier, G. R., & Bousquet, J. (2008). Ancestry and divergence of subtropical montane forest isolates: molecular biogeography of the genus *Abies* (Pinaceae) in southern México and Guatemala. *Molecular Ecology*, 17(10), 2476-2490.
- Jaramillo-Correa, J. P., Beaulieu, J., Khasa, D. P., & Bousquet, J. (2009). Inferring the past from the present phylogeographic structure of North American forest trees: seeing the forest for the genes. *Canadian Journal of Forest Research*, 39(2), 286-307.
- Jombart, T. (2008). adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403-1405.
- Kampfer, S., Lexer, C., Glössl, J., & Steinkellner, H. (1998). Characterization of (GA)n microsatellite loci from *Quercus robur*. *Hereditas*, 129, 183-186.
- Kuo, C.-H., & Avise, J. C. (2005). Phylogeographic breaks in low-dispersal species: the emergence of concordance across gene trees. *Genetica*, 124, 179-186.
- Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), 1110-1116.
- Leite, Y. L., Costa, L. P., Loss, A. C., Rocha, R. G., Batalha-Filho, H., Bastos, A. C., Pardini, R. (2016). Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. *PNAS*, 113(4), 1008-1013.
- Lugo Hubp, J., & Córdova, C. (1992). Regionalización geomorfológica de la República Mexicana. *Investigaciones geográficas*, (25), 25-63.
- Lumaret, R., Tryphon-Dionnet, M., Michaud, H., Sanuy, A., Ipotesi, E., Born, C., & Mir, C. (2005). Phylogeographical Variation of Chloroplast DNA in Cork Oak (*Quercus suber*). *Annals of Botany*, 96, 853-861.

- Luna-José, A. D., Montalvo-Espinosa, L., & Rendón-Aguilar, B. (2003). Los usos no leñosos de los encinos en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, *72*, 107-117.
- Magni, C. R., Ducouso, A., Caron, H., Petit, R. J., & Kremer, A. (2005). Chloroplast DNA variation of *Quercus rubra* in North America and comparison with other Fagaceae. *Molecular Ecology*, *14*, 513-524.
- Magri, D., Fineschi, S., Bellarosa, R., Buonamici, A., Sebastiani, F., Schirone, B., Vendramin, G. G. (2007). The distribution of *Quercus suber* chloroplast haplotypes matches the palaeogeographical history of the western Mediterranean. *Molecular Ecology*, *16*, 5259-5266.
- Manos, P. S., Zhou, Z. K., & Cannon, C. H. (2001). Systematics of Fagaceae: phylogenetic tests of reproductive trait evolution. *International Journal of Plant Sciences*, *162*(6), 1361-1379.
- Manos, P., & Stanford, A. M. (2001). The historical biogeography of Fagaceae: Tracking the Tertiary history of temperate and subtropical forest of the Northern hemisphere. *International Journal of Plant Sciences*, *162*(6), 77-93.
- Manos, P., Doyle, J. J., & Nixon, K. (1999). Phylogeny, Biogeography, and Processes of Molecular Differentiation in *Quercus* Subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *12*(3), 333-349.
- Mastretta-Yanes, A., Moreno-Letelier, A., Piñero, D., Jorgensen, T. H., & Emerson, B. C. (2015). Biodiversity in the Mexican highlands and the interaction of geology, geography and climate within the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Journal of Biogeography*, *42*, 1586-1600.
- Matos, J. A., & Schaal, B. A. (2000). Chloroplast evolution in the *Pinus montezumae* complex: a coalescent approach to hybridization. *Evolution*, *54*(4), 1218-1233.
- McIver, E. E., & Basinger, J. F. (1999). Early Tertiary floral evolution in the Canadian high Arctic. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 523-545.
- Metcalfe, S. (2006). Late Quaternary environments of the Northern deserts and central Transvolcanic Belt of Mexico. *Annals of Missouri Botanical Garden*, *93*(2), 258-273.
- Miranda, F., & Hernández-X., E. (1963). *Los tipos de vegetación de México y su clasificación* (Primera ed.). Ciudad de México: Fondo de Cultura Económica.

- Morán-Zenteno, D. J., Cerca, M., & Keppie, J. D. (2007). The Cenozoic tectonic and magmatic evolution of southwestern México: Advances and problems of interpretation. *Geological Society of America*, 422, 71-91.
- Moreno-Letelier, A., & Piñero, D. (2009). Phylogeographic structure of *Pinus strobiformis* Engelm. across the Chihuahuan Desert filter-barrier. *Journal of Biogeography*, 36(1), 121-131.
- Morrone, J. J. (2004). Panbiogeografía, componentes bióticos y zonas de transición. *Revista Brasileira de Entomologia*, 48(2), 149-162.
- Nixon, K. C. (1993). The genus *Quercus* in Mexico. In *Biological diversity of Mexico: origins and distribution* (pp. 449-458). New York: Oxford University Press.
- Nixon, K. C. (2002). The oak (*Quercus*) biodiversity of California and adjacent regions. In P. o. Landscape (Ed.), *Standiford* (pp. 3-20). Albany.
- Nixon, K. C., & Muller, C. H. (1992). The taxonomic resurrection of *Quercus laceyi* Small (Fagaceae). *SIDA, Contributions to Botany*, 57-69.
- Okaura, T., Quang, N. D., Ubukata, M., & Harada, K. (2007). Phylogeographic structure and late Quaternary population history of the Japanese oak *Quercus mongolica* var. *crispula* and related species revealed by chloroplast DNA variation. *Genes & Genetic Systems*, 82, 465-477.
- Oosterhout, C. V., Hutchinson, W. F., Wills, D. P., & Shipley, P. (2004). micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4, 535-538.
- Ornelas, J. F., Licona-Vera, Y., & Vázquez-Aguilar, A. A. (2018). Genetic differentiation and fragmentation in response to climate changes of the narrow endemic *Psittacanthus auriculatus*. *Tropical Conservation Science*, 11, 1-15.
- Ornelas, J. F., & González, C. (2014). Interglacial genetic diversification of *Moussonia deppeana* (Gesneriaceae), a hummingbird-pollinated, cloud forest shrub in northern Mesoamerica. *Molecular Ecology*, 23(16), 4119-4136.
- Owusu, S. A., Sullivan, A. R., Weber, J. A., Hipp, A. L., & Gailing, O. (2015). Taxonomic relationship and gene flow in four north American *Quercus* species (*Quercus* section *Lobata*). *Systematic Botany*, 40(2), 510-521.

- Parra-Olea, G., Windfield, J. C., Velo-Antón, G., & Zamudio, K. (2012). Isolation in habitat refugia promotes rapid diversification in a montane tropical salamander. *Journal of Biogeography*, *39*(2), 353-370.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, *6*, 288-295.
- Peñaloza-Ramírez, J. M., González-Rodríguez, A., Mendoza-Cuenca, L., Caron, H., Kremer, A., & Oyama, K. (2010). Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Annals of Botany*, *105*, 389-399.
- Petit, R. J., & Vendramin, G. G. (2007). Plant phylogeography based on organelle genes: an introduction. In *Phylogeography of southern European refugia* (pp. 23-97). Dordrecht: Springer.
- Petit, R. J., Bodenes, C., Ducouso, A., Roussel, G., & Kremer, A. (2003). Hybridization as mechanism of invasion in oaks. *New Phytologist*, *161*, 151-164.
- Petit, R. J., Brewer, S., Bodács, S., Burg, K., Cheddadi, R., Coart, E., Kremer, A. (2002). Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology Management*, *156*, 49-74.
- Phillips, S. J., & Dudík, M. (2008). Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*, *31*, 161-175.
- Piry, S., Luikart, G., & Cornuet, J. M. (1999). BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of heredity*, *90*, 502-503.
- Pons, O., & Petit, R. J. (1996). Measuring and Testing Genetic Differentiation With Ordered Versus Unordered Alleles. *Genetics*, *144*(3), 1237-1245.
- Posada, D. (2008). jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and evolution*, *25*(7), 1253-1256.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, *155*, 945-959.
- R Core Team. (2014). *R: A language and environment for statistical*. Retrieved 10 9, 2017, from <http://www.R-project.org/>

- Ramírez-Barahona, S., & Eguiarte, L. E. (2013). The role of glacial cycles in promoting genetic diversity in the Neotropics: the case of cloud forests during the Last Glacial Maximum. *Ecology and Evolution*, 3(3), 725-738.
- Ramírez-Valiente, J. A., Valladares, F., Gil, L., & Aranda, I. (2009). Population differences in juvenile survival under increasing drought are mediated by seed size in cork oak (*Quercus suber* L.). *Forest Ecology and Management*, 257, 1676-1683.
- Ramos-Ortiz, S., Oyama, K., Rodríguez-Correa, H., & 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, 219-232.
- Rodríguez-Correa, H., Oyama, K., MacGregor-Fors, I., & González-Rodríguez, A. (2015). How are oaks distributed in the Neotropics? A perspective from species turnover, areas of endemism, and climatic niches. *International Journal of Plant Sciences*, 176(3), 222-231.
- Rodríguez-Correa, H., Oyama, K., Quesada, M., Fuchs, E. J., Quezada, M., Ferrufino, L., González-Rodríguez, A. (2017). Complex phyllogeographic patterns indicate Central American origin of two widespread Mesoamerican *Quercus* (Fagaceae) species. *Tree Genetics & Genomes*, 13(62), 1-14.
- Rodríguez-Gómez, F., Oyama, K., Ochoa-Orozco, M., Mendoza-Cuenca, L., Gaytán-Legaria, R., & González-Rodríguez, A. (2018). Phylogeography and climate-associated morphological variation in the endemic white oak *Quercus deserticola* (Fagaceae) along the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Botany*, 96(2), 121-133.
- Romero-Rangel, S., Rojas-Zenteno, E. C., & Gómez-Maqueda, S. (2000). Flores hermafroditas de *Quercus glaucoides* Mart. & Gal. (Fagaceae) en el estado de Michoacán, México. *Acta Botánica Mexicana*, 52, 49-54.
- Romero-Rangel, S., Zenteno-Rojas, E. C., & Aguilar-Enríquez, M. (2002). El Género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 89(4), 551-593.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology*, 61(3), 539-542.

- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology and Evolution*.
- Ruiz-Sánchez, E., & Specht, C. D. (2013). Influence of the geological history of the Trans-Mexican Volcanic Belt on the diversification of *Nolina parviflora* (Asparagaceae: Nolinoideae). *Journal of Biogeography*, *40*, 1336-1347.
- Rzedowski, J. (2006). *Vegetación de México* (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad ed.). México.
- Samuel, R., Bachmair, A., Jobst, J., & Ehrendorfer, F. (1998). ITS sequences from nuclear rDNA suggest unexpected phylogenetic relationships between Euro-Mediterranean, East Asiatic and North American taxa of *Quercus* (Fagaceae). *Plant Systematics and Evolution*, *211*(1-2), 129-139.
- Schaal, B. A., Hayworth, D. A., Olsen, K. M., Rauscher, J. T., & Smith, W. A. (1998). Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology*, *7*, 465-474.
- Sebastiani, F., Carnevale, S., & Vendramin, G. G. (2004). A new set of mono- and dinucleotide chloroplast microsatellites in Fagaceae. *Molecular Ecology Notes*, *4*, 259-261.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Beck, J. T., Farmer, S. B., Liu, W., Miller, J., Small, R. L. (2005). The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *American Journal of Botany*, *92*(1), 124-166.
- Steinkellner, H., Fluch, S., Turetschek, E., Lexer, C., Streiff, R., Kremer, A., Glöss, J. (1997). Identification and characterization of (GA/CT)_n microsatellite loci from *Quercus petraea*. *Plant molecular Biology*, *33*, 1093-1096.
- Tainter, F. H., O'Brien, J. G., Hernandez, A., Orozco, F., & Rebolledo, O. (2000). *Phytophthora cinnamomi* as a cause of oak mortality in the state of Colima, Mexico. *Plant Disease*, *84*(4), 394-398.
- Torres-Miranda, A., Luna-Vega, I., & Oyama, K. (2011). Conservation biogeography of red Oaks (*Quercus*, section *Lobatae*) in Mexico and Central America. *American Journal of Botany*, *98*(2), 290-305.

- Valencia-A., S. (2004). Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 75, 33-53.
- Wang, I. J. (2010). Recognizing the temporal distinctions between landscape genetics and phylogeography. *Molecular Ecology*, 19, 2605-2608.
- Weir, B. S. (1996). *Genetic Data Analysis II*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Wolfe, K. H., Li, W.-H., & Sharp, P. M. (1987). Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Evolution*, 84, 9054-9058.
- Xu, j., Deng, M., Jiang, X.-L., Westwood, M., Song, Y.-G., & Turkington, R. (2015). Phylogeography of *Quercus glauca* (Fagaceae), a dominant tree of East Asian subtropical evergreen forests, based on three chloroplast DNA interspace sequences. *Tree Genetics and Genomes*, 805(11).
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E., & Billups, K. (2001). Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science*, 292(5517), 686-693.