



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA  
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**Genética de la conservación y nicho ecológico del encino *Quercus insignis*  
(Fagaceae) en México**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**LIZETH MELISSA NARANJO BRAVO**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. HERNANDO ALONSO RODRÍGUEZ CORREA**  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES,  
UNIDAD MORELIA, UNAM

**COMITÉ TUTOR: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS  
Y SUSTENTABILIDAD, UNAM.  
**DR. EDUARDO RUÍZ SÁNCHEZ**  
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.

**MORELIA, MICHOACÁN, JUNIO, 2021**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA  
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**Genética de la conservación y nicho ecológico del encino *Quercus insignis*  
(Fagaceae) en México**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**LIZETH MELISSA NARANJO BRAVO**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. HERNANDO ALONSO RODRÍGUEZ CORREA**  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES,  
UNIDAD MORELIA, UNAM

**COMITÉ TUTOR: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS  
Y SUSTENTABILIDAD, UNAM.  
**DR. EDUARDO RUÍZ SÁNCHEZ**  
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.

**MORELIA, MICHOACÁN, 2021**

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA  
OFICIO CPCB/428/2021  
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Evolutiva, Ecología, Manejo Integral de Ecosistemas y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 22 de marzo de 2021 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Experimental** de la estudiante **NARANJO BRAVO LIZETH MELISSA** con número de cuenta **518494061** con la tesis titulada **“Genética de la conservación y nicho ecológico del encino *Quercus insignis* (Fagaceae) en México”**, realizada bajo la dirección del **DR. HERNANDO ALONSO RODRÍGUEZ CORREA**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA  
Vocal: DRA. FABIOLA LÓPEZ BARRERA  
Vocal: DR. SANTIAGO ALEJANDRO RAMÍREZ BARAHONA  
Vocal: DRA. YESSICA RICO MANCEBO DEL CASTILLO  
Secretario: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

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

**ATENTAMENTE**  
**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 13 de mayo de 2021

**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**



## AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por darme oportunidad de formarme como maestra.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de manutención otorgada (CVU: 894372) y a la dirección de estudios de posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Agradezco a los siguientes programas e instituciones por la financiación otorgada para la ejecución del proyecto:

–Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM (proyecto IA206319).

–A la Rufford Foundation (proyectos 25645–1 y 29520–2) por la financiación para el proyecto.

–Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México, programa Ciencia de Frontera (Proyecto 263962).

–Al Morton Arboretum y la Franklinia Foundation (Proyecto Exploration, restoration and management of *Quercus insignis* within tropical montane cloud forests).

A los miembros de comité tutor, Dr. Hernando Alonso Rodríguez Correa, por todo el compromiso y la excelente dirección de este proyecto, al Dr. Eduardo Ruíz Sánchez y Dr. Antonio González Rodríguez, por sus valiosas revisiones y aportes para la realización de esta tesis.

## **AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL**

Agradezco profundamente a mi mamá por brindarme a diario todo su amor y motivar mi vida, por su valentía y la tenacidad de soportar que la geografía nos distanciara físicamente para cumplir esta meta. A mi papá, por compartir la alegría de este logro y darme su apoyo en todo momento.

A mi hermana, le doy gracias por la fuerza y la valentía que me transmitía cada vez que el camino se tornaba difícil, por siempre recordarme el significado de este esfuerzo y abrazarme desde la distancia.

A mis abuelos, que representan una parte fundamental en mi vida y me impulsaron a diario con todo su amor. A mi abuelita Edith, que un día me dijo dulcemente: “usted va a ser una profesional la berraca” y hasta ahora e intentado hacerle honor a sus palabras.

A Nando, por brindarme su entera confianza desde el primer momento, por compartirme su conocimiento y formar parte de mi aprendizaje académico y personal; por enseñarme que no hay límite para las metas si se trabaja por ellas. Siempre estaré infinitamente agradecida por permitirme hacer parte de este proyecto pues tuve el privilegio de conocer una especie que se oculta en los rincones montañosos y nublados más hermosos de México.

A mi comité tutor el Dr. Antonio Rodríguez y el Dr. Eduardo Ruíz Sánchez mil gracias por su apoyo y aportes valiosos que me permitieron culminar con éxito este proyecto.

A los miembros del jurado el Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa, Dra. Fabiola López Barrera, Dra. Yessica Rico Mancebo del Castillo, Dr. Santiago Ramírez Barahona y al Dr. Antonio González Rodríguez, por la paciencia, el esfuerzo y por aportar todo su conocimiento para mejorar el manuscrito de esta tesis.

Agradezco por el apoyo técnico brindado durante el tiempo de ejecución del proyecto al Laboratorio de Ecología Molecular de la ENES Unidad Morelia, UNAM; al Laboratorio Nacional de Análisis y

Síntesis Ecológica, ENES Unidad Morelia, UNAM y al Dr. Jesús Llanderal Mendoza por todo su apoyo con el trabajo de laboratorio y salidas de campo.

A David Ortiz por abrirme un espacio en su vida y en su corazón y al mismo tiempo hacer mi vida mucho más sencilla y linda en un país ajeno y a Kaliman por simplemente existir y alegrar la vida.

A Antonio López y Sofía Zorrilla por todo su valioso acompañamiento en campo, por el apoyo en la toma de muestras y las largas jornadas de trabajo, por el esfuerzo físico de las caminatas en la montaña y aguantar uno que otro pinolillo, por las historias divertidas y los montañas recorridas.

A todas las personas de las comunidades de Monte Grande, Tetlapanga en Zongolica, de San Antonio en los chimalapas y al Centro de Agroecología y Permacultura las Cañadas en Huatusco, por todo el apoyo con la realización del trabajo de campo y la hospitalidad que nos brindaron en cada sitio.

A mis hermosas amigas en Colombia o en cualquier otro lugar del mundo, las llevo siempre en el corazón, gracias por estar siempre y enviarme toda su vibra positiva y cargada de cariño sincero.

A mi amiga Juliana Cardona por el hecho de acordarse de mí en el momento preciso y compartirme una oportunidad que durante varios años se convirtió en mi realidad.

A mis amigos en México que me enseñaron lo hermoso de este país, por hacerme sentir parte de él y complementar mi proceso académico con una gran experiencia de vida.



## Tabla de Contenido

1	RESUMEN.....	1
2	ABSTRACT .....	3
3	INTRODUCCIÓN.....	4
4	MARCO TEÓRICO .....	10
4.1	Evolución y clasificación del género <i>Quercus</i> L.....	10
4.2	Estado de conservación del género <i>Quercus</i> .....	13
4.3	<i>Quercus insignis</i> .....	14
4.3.1	Ecología y aspectos morfológicos.....	14
4.3.2	Estado de conservación de <i>Quercus insignis</i> .....	15
4.3.3	<i>Quercus insignis</i> y su relación con el bosque nublado (BN) en México .....	16
4.4	Importancia de la diversidad genética para la conservación de especies .....	18
4.5	Consecuencias genéticas en poblaciones de especies amenazadas.....	20
4.6	Modelo de Nicho Ecológico (MNE).....	22
5	ANTECEDENTES .....	26
6	OBJETIVO GENERAL .....	30
6.1	Objetivos específicos .....	30
7	HIPÓTESIS.....	31
8	JUSTIFICACIÓN.....	32
9	METODOLOGÍA.....	33
9.1	Área de estudio .....	33
9.2	Descripción de atributos poblacionales para la especie.....	35

9.3	Criterios de definición de los grupos de estudio para análisis genéticos .....	35
9.4	Colecta de material y protocolo de extracción de ADN .....	36
9.5	Protocolo de amplificación de microsatélites.....	36
9.6	Análisis de datos genéticos .....	37
9.6.1	Diversidad genética.....	37
9.6.2	Estructura genética y flujo génico .....	39
9.7	Modelado de nicho ecológico .....	41
9.7.1	Registros geográficos y variables ambientales .....	41
9.7.2	Modelo de nicho ecológico (MNE) y proyecciones a futuro .....	42
9.7.3	Modelo de nicho ecológico (MNE) y proyecciones a futuro dentro del Sistema Nacional de Áreas Naturales Protegidas (ANP) .....	43
9.7.4	Cambios en el estado del hábitat de <i>Q. insignis</i> .....	43
9.7.5	Análisis de Conectividad .....	44
10	RESULTADOS .....	46
10.1	Descripción de atributos poblacionales de <i>Quercus insignis</i> .....	46
10.2	Diversidad genética por población detectada por SSRn.....	47
10.3	Diversidad genética por categoría de edad detectada por SSRn.....	48
10.4	Diversidad genética por población y categoría para SSRcp .....	52
10.5	Diversidad haplotípica por población .....	52
10.6	Haplotipos por categorías de edad .....	54
10.7	Estructura genética y flujo de genes.....	55
10.8	Modelación de Nicho Ecológico (MNE) .....	58

10.8.1	Nicho ecológico y efecto del cambio climático.....	58
10.8.2	Nicho ecológico bajo ANP y efecto del cambio climático .....	62
10.8.3	Estado del hábitat de <i>Quercus insignis</i> .....	65
10.8.4	Cambios esperados en la protección nicho ecológico. ....	67
10.8.5	Conectividad del hábitat .....	67
11	DISCUSIÓN.....	70
11.1	Estructura poblacional de <i>Quercus insignis</i> en México .....	70
11.2	Diversidad genética poblacional .....	73
11.3	Estructura genética y flujo de genes.....	76
11.4	Diversidad genética entre generaciones .....	78
11.5	Nicho ecológico de <i>Quercus insignis</i> e impacto del cambio climático .....	79
11.6	Estado del hábitat dentro y fuera de las ANP.....	82
11.7	Conectividad de hábitat .....	84
11.8	Implicaciones en la conservación .....	86
12	CONCLUSIONES.....	90
13	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
14	ANEXOS.....	109

## Genética de la conservación y nicho ecológico del encino *Quercus insignis* (Fagaceae) en México

### 1 RESUMEN

*Quercus insignis* (Fagaceae) es una especie de encino en peligro de extinción que habita los bosques nublados montanos tropicales de México y Centroamérica. Naturalmente exhibe poblaciones pequeñas, fragmentadas y de baja densidad que la convierten en una especie vulnerable a la pérdida de diversidad genética y a los efectos del cambio climático. En este estudio se determinó el estado de conservación de las poblaciones de *Q. insignis* en México, a partir de la estimación de atributos demográficos, de la diversidad genética, la estructura genética y el flujo génico considerando diferentes estadios reproductivos de la especie (adultos, juveniles y plántulas). Adicionalmente, se estimaron los cambios esperados en la distribución potencial del nicho ecológico bajo diferentes escenarios de cambio climático y el grado de conectividad de las áreas de distribución. Los atributos demográficos (diámetro a la altura del pecho (DAP) y densidad poblacional) fueron medidos en 524 individuos de *Q. insignis* y para los análisis genéticos se caracterizaron 340 individuos provenientes de cuatro localidades combinando información de microsatélites nucleares y de cloroplasto. Los atributos demográficos demostraron que la densidad poblacional en *Q. insignis* está influenciada por los efectos de las perturbaciones antrópicas de su hábitat, pero sus poblaciones aún presentan un alto potencial de regeneración y estabilidad a largo plazo. A pesar de la vulnerabilidad de *Q. insignis*, sus poblaciones conservan alta diversidad genética intrapoblacional y no se encontró evidencia de erosión genética entre la generación de adultos, juveniles y plántulas para ninguna población. Se encontró una alta estructura y diferenciación genética poblacional relacionada con la limitada dispersión de sus bellotas y su hábitat aislado y restringido. El cambio climático reducirá para el 2080, entre ~50–80% de las áreas ambientalmente adecuadas para la distribución de *Q. insignis*. En México la reducción de áreas será más severa y las regiones al sur de su distribución representan las regiones con menor impacto del cambio climático. En general, nuestros datos indican que *Q. insignis* aún conserva altos niveles de diversidad genética y un alto potencial de mantener poblaciones estables en ausencia de

perturbaciones, siendo una de sus principales amenazas para la conservación, la reducción de las áreas ambientalmente adecuadas para su supervivencia bajo escenarios de cambio climático.

#### PALABRAS CLAVE

*Quercus*, diversidad genética, microsatélites, nicho ecológico, cambio climático, conectividad

## 2 ABSTRACT

*Quercus insignis* is an endangered oak found in the tropical montane cloud forests (TMCF) of Mexico and Central America. The fragmented population, small population sizes, and low densities make this species vulnerable to loss of genetic diversity and climate change impacts. In this study, the conservation status of populations of *Q. insignis* in Mexico was determined, based on the estimation of demographic attributes, genetic diversity, genetic structure, and gene flow considering the different stages of development of the species. Also, the expected changes in the potential distribution of the ecological niche under different climate change scenarios and the degree of connectivity of the distribution areas were estimated. Demographic attributes (DAP and population density) were measured in 524 individuals of *Q. insignis* and for genetic analysis 340 individuals from four locations were genotyped combining information from eight nuclear microsatellite molecular markers and four chloroplast microsatellites. Demographic attributes showed that *Q. insignis* has low-density populations associated with anthropic disturbances of its habitat, however, its populations have a high potential for long-term regeneration and stability. Despite the vulnerability of *Q. insignis*, its populations conserve high intra-population genetic diversity, as well as a strong genetic structure and differentiation among their populations. No evidence of intergenerational erosion of genetic diversity was found for any population. Climate change will systematically affect the distribution of *Q. insignis*. In Mexico, the reduction of areas is more severe than in the rest of the distribution and the regions to the south of their distribution represent the regions with the least impact of climate change. In general, our data indicate that *Q. insignis* still retains high levels of genetic diversity and a high potential to maintain stable populations in the absence of perturbations, and one of its main threats is the reduction of high suitability habitat for its survival under climate change

### KEYWORDS

*Quercus*, genetic diversity, microsatellite, niche ecology, climate change, connectivity

### 3 INTRODUCCIÓN

El crecimiento poblacional y el incremento de las actividades económicas e industriales han ocasionado diversas presiones sobre la diversidad biológica y los ecosistemas naturales (Hedrick y Miller, 1992). Los efectos de estas presiones están relacionados con la pérdida de biodiversidad, que puede ser causada por factores estocásticos o inducidos por acciones humanas (Frankham et al. 2005). Estos factores incluyen la fragmentación del paisaje, la pérdida de hábitat, el cambio del uso de suelo, la contaminación ambiental, la sobreexplotación de los recursos naturales, el cambio climático y las especies invasoras (Rawat y Argarwal, 2015).

La interacción entre estos factores, principalmente la pérdida y degradación del hábitat causada por acciones antropogénicas ha ocasionado que muchas especies experimenten una disminución en su tamaño poblacional o sufran extirpaciones y extinciones (Ceballos et al. 2010; Brewster et al. 2018). Existe evidencia para sustentar que las tasas de extinción actual de especies son mil veces más altas que las tasas naturales de extinción de fondo y que las tasas futuras probablemente sean 10,000 veces más altas (De Vos et al. 2015). Sin embargo, la extirpación poblacional también es un evento frecuente y generalizado, además de ser un indicador más sensible de la pérdida de biodiversidad que la extinción de las especies (Ceballos y Ehrlich, 2009).

Según estadísticas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por sus siglas en inglés) a nivel global, de las 116 177 especies evaluadas, 31 030 fueron reportadas como amenazadas de extinción; de este número total el 53% corresponde a especies de plantas, siendo estas de los taxones más afectados a nivel mundial (IUCN, 2020). En México, la Norma NOM-059-SEMARNAT-2010, reporta 987 especies de plantas bajo alguna categoría de riesgo y protección, sin embargo, no existe una información certera sobre el número de extinciones en plantas, pero existe evidencia de que se han dejado de recolectar y encontrar cientos de especies a lo largo de los años (Ceballos y García, 2013).

Bajo este contexto, estudiar y proteger las poblaciones de especies amenazadas es una prioridad impostergable para las diferentes disciplinas que forman las ciencias biológicas. Entre estas disciplinas la genética de la conservación, definida como aquella que usa la teoría genética y sus técnicas con el objetivo de reducir el riesgo de extinción de las especies, adquiere un rol protagónico y fundamental (Frankham et al. 2004). Dicho protagonismo se basa en estudiar los efectos de procesos como la endogamia y la deriva génica sobre la variabilidad genética dentro y entre poblaciones de especies en peligro de extinción. En este sentido, el estudio de la variación genética permite conocer y evaluar la capacidad de adaptabilidad de las especies a los cambios ambientales y a largo plazo generar estrategias de restauración genética (Hedrick, 2001; Frankham et al. 2010).

En la actualidad, las especies en peligro de extinción suelen presentar poblaciones pequeñas y aisladas entre sí y una de las mayores causas es la fragmentación antrópica del hábitat (Schlaepfer et al. 2018). La fragmentación se refiere a la conversión de un hábitat grande y continuo dentro de parches de hábitat más pequeños (Wilson et al. 2016). El aislamiento de los parches resultantes por la fragmentación puede conducir a hábitats estructurados espacialmente en los que se reduce el intercambio de genes entre las poblaciones (Aguilar, 2008; Herrera–Arroyo, 2013). En este sentido, las consecuencias genéticas de la fragmentación dependen fundamentalmente del flujo de genes. Con flujo genético restringido, la fragmentación es generalmente muy perjudicial a largo plazo (Frankham et al. 2010).

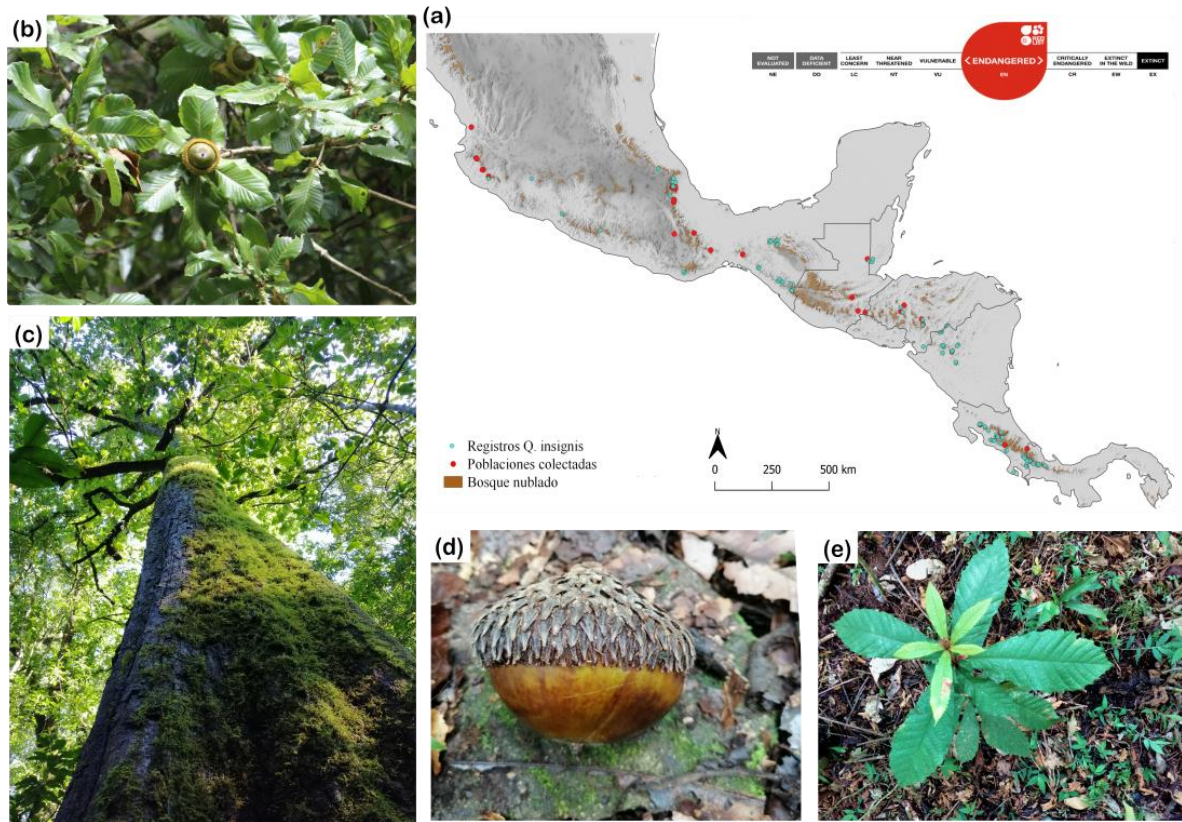
En las especies de plantas, el flujo genético y la conectividad entre poblaciones está determinado por el grado de intercambio entre la dispersión de polen y semillas (Sork y Smouse, 2006). Por un lado, la dispersión de polen a larga distancia mantiene la conectividad genética y disminuye la diferenciación genética entre poblaciones fragmentadas (Ortego et al. 2014; Oyama et al. 2017); mientras que la dispersión de semillas permite la colonización de nuevos sitios y aumenta el tamaño poblacional con individuos nuevos y variación genética (Herrera–Arroyo, 2013). En plantas la dispersión de semillas suele ser más restringida espacialmente, por tanto el flujo de genes depende principalmente del polen dentro y entre poblaciones (Ennos, 1994). La interrupción de la



conectividad en el hábitat y el aumento del aislamiento debido a la fragmentación puede conducir a la erosión de la variación genética dentro de las poblaciones remanentes y al aumento de la divergencia genética entre poblaciones debido a la reducción en el flujo de genes, la endogamia y la deriva genética (Reed y Frankham 2003, Lowe et al. 2005).

Los estudios genéticos en “islas terrestres” naturales, es decir sistemas de parches de hábitat terrestres que se asemejan a islas oceánicas en términos de aislamiento espacial y restricción del flujo de genes (MacArthur y Wilson, 1967), son considerados como modelos ecológicos y evolutivos para mejorar el entendimiento de los probables efectos genéticos a largo plazo de la fragmentación antrópica del hábitat (Barbara et al. 2008; Xu, 2016). Los bosques nublados (BN) representan un ejemplo de ecosistemas en forma de islas, ya que son naturalmente fragmentados en forma de archipiélagos vegetacionales debido a que su distribución depende de factores climáticos específicos de alta humedad, precipitación y presencia de niebla (Foster, 2001; Bruijnzeel et al. 2011). Además, representan uno de los ecosistemas más amenazados del mundo y constituyen sólo el 1.4% del área total de los bosques tropicales (Bruijnzeel et al. 2011).

Dentro de las especies amenazadas y que habita los BN neotropicales encontramos a *Quercus insignis* M. Martens & Galeotti (Figura 1) una especie de encino blanco (sección *Quercus*) perteneciente a la familia Fagaceae, caracterizado por presentar poblaciones pequeñas, fragmentadas, aisladas y de baja densidad poblacional (González-Espinosa et al. 2011). Sus poblaciones son difíciles de localizar debido a la restricción climática de su hábitat (Figura 1a). A nivel global, *Q. insignis* es reconocida como una especie en peligro de extinción (EN) dentro de la lista roja de la IUCN (Jerome, 2018). En México, González-Espinosa et al. (2011), clasificaron a *Q. insignis* como una especie en peligro crítico (CR) debido a que su tamaño poblacional ha decrecido en un 80% durante los últimos 10 años.



**Figura 1.** *Quercus insignis* (Fagaceae) (a) Estado de conservación y distribución preliminar de *Q. insignis* desde México hasta Panamá sobre el bosque nublado (Helmer et al. 2019). El mapa muestra en puntos azules los registros de la especie contenida en bases de datos (GBIF), mientras que los registros confirmados (puntos rojos) corresponden a las poblaciones conocidas actualmente; (b) hojas y bellota de un individuo adulto; (c) corteza y porte del árbol (DAP= 107 cm); (d) bellota; (e) plántula.

*Quercus insignis* habita los BN de México y América Central (Belice, Honduras, Guatemala, Nicaragua, Costa Rica y Panamá) y se distribuye en un rango altitudinal desde los 900 hasta los 2000 msnm (Figura 1a) (Valencia–A, 2004). En México, presenta una distribución relativamente amplia encontrándose en los estados de Jalisco, Veracruz, Oaxaca y Chiapas (González–Espinosa et al. 2011). Junto con otras 46 especies de encinos, *Q. insignis* forma parte importante de los BN de México (Valencia y Gual–Díaz, 2014), dónde son especies dominantes del dosel y generan microambientes vitales para el establecimiento de otras especies como plantas epífitas, hongos, insectos y vertebrados (Olvera–Vargas y Figueroa–Rangel 2012). Sus poblaciones se pueden

encontrar como parte de remanentes naturales asociados a agroecosistemas cafeteros, principalmente en Veracruz y Chiapas o en fragmentos de bosque naturales (Benítez et al. 2004).

Adicionalmente, *Q. insignis* es usado como materia prima para generar leña y carbón (Oldfield y Eastwood, 2007). Sin embargo, la amenaza más importante para la conservación de *Q. insignis* es la reducción de su hábitat generada por disturbios como la tala selectiva y el cambio de uso de suelo (Valencia-A, 2004; Montes-Hernández et al. 2013). En México, la cobertura original de BN ha sufrido una severa fragmentación, se estima que se ha reducido al menos el 50% de la cobertura original y ha sido reemplazado por otros usos del suelo (Challenger 1998; CONABIO, 2010). Entre los principales propósitos del cambio del uso del suelo están la creación de cafetales y cultivos de plátano (Valencia-A, 2004; Montes-Hernández et al. 2013, Pérez-Ríos, 2018).

A pesar de la condición naturalmente fragmentada del hábitat de *Q. insignis*; los excesivos procesos de degradación y la acelerada conversión en sistemas agrícolas han ocasionado la disminución de su tamaño poblacional y han acrecentando aun más el aislamiento poblacional (Valencia-A, 2004; González-Espinoza et al. 2011; Montes-Hernández et al. 2013). Además, es necesario pronosticar la respuesta de la especie frente al cambio climático pues la especificidad ambiental de su hábitat así como su limitada capacidad de dispersión sugiere que *Q. insignis* es particularmente vulnerable a los efectos sinérgicos del cambio climático y la fragmentación (Mestre, 2017). Se espera que el cambio climático de lugar a cambios en el área de distribución de las especies e incremente la brecha existente entre los hábitats adecuados disminuyendo también la conectividad (Yesuf et al. 2021). Estos procesos impactan directamente sobre la diversidad genética y por tanto también afectan la capacidad de respuesta de las especies frente al cambio climático (Leimu et al. 2010).

Las condiciones expuestas anteriormente, sugieren que *Q. insignis* es una especie altamente vulnerable a la extirpación o extinción poblacional no solo debido a los cambios antropogénicos de la fragmentación sino también por los efectos del cambio climático. Teniendo en cuenta la necesidad de generar información científica para la conservación de *Q. insignis*, en la presente tesis se analizaron

los patrones de diversidad, estructura genética y flujo de genes de sus poblaciones y entre generaciones en México. Se seleccionaron tres generaciones que corresponden a adultos, juveniles y plántulas, asumiendo que los árboles adultos son remanentes de poblaciones que sufrieron menores presiones antrópicas en el pasado y mantendrán altos niveles de diversidad genética, mientras que las progenes (juveniles y plántulas) son el resultado de eventos reproductivos recientes que ocurrieron después de las presiones antrópicas de fragmentación y son susceptibles a la erosión genética (Herrera–Arroyo, 2013; Oyama et al. 2017).

Para lograr este propósito combinamos información de marcadores moleculares microsatélites de núcleo y cloroplasto, con el objetivo de medir la contribución del flujo de génico a la diversidad y estructura genética mediada por el flujo de polen y la dispersión de semillas. Adicionalmente, se estimó la distribución geográfica de la especie por medio de la modelación de nicho ecológico y se estimó los cambios esperados en la distribución de la especie y la conectividad bajo diferentes escenarios de cambio, con el objetivo de identificar lugares adecuados para la supervivencia de sus poblaciones a través de la identificación de sus requerimientos ambientales (Soberón y Nakamura, 2009).

## 4 MARCO TEÓRICO

### 4.1 Evolución y clasificación del género *Quercus* L.

El género *Quercus* L., pertenece a la familia Fagaceae y está representado por un grupo diverso de especies que se distribuyen principalmente en la región Holártica (Nixon, 2006). Es uno de los grupos de angiospermas leñosas más importante en términos de diversidad de especies, dominancia ecológica y valor económico a nivel mundial (Nixon, 2006). El género cuenta con alrededor de 435 especies y su distribución abarca los cinco continentes (Nixon, 1997; Hipp et al. 2018). Se encuentran sobre una extensa variedad de hábitats que van desde los bosques templados y regiones semiáridas del hemisferio norte hasta regiones tropicales y subtropicales (Nixon, 1993).

En América el género *Quercus* cuenta con aproximadamente 220 a 260 especies que se distribuyen desde Canadá hasta Colombia (Nixon, 2006; Hipp et al. 2018). Esta diversidad de especies disminuye de manera gradual desde México a Centroamérica hasta llegar a Colombia, donde se ha registrado una sola especie (Nixon, 2006; Pulido et al. 2006). La mayor riqueza de encinos se encuentra en México, considerado el segundo centro de diversidad del género después del sureste asiático, con aproximadamente 161 especies de las cuales 109 son endémicas del país (Valencia, 2004). La mayor diversidad del género en América se concentra principalmente en las regiones montañosas de México; estas regiones corresponden a la Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del Sur y en las Sierras del Norte de Oaxaca y Chiapas, así como en las Sierras de Baja California (Rzedowski, 1988; Nixon, 1993; Valencia, 2004; Nixon, 2006; Rodríguez–Correa et al. 2015).

Desde una perspectiva morfológica los encinos presentan características particulares, pueden ser clasificados como árboles o arbustos, perennifolios o caducifolios, con hojas simples y alternas, la lámina de la hoja puede ser lobulada o entera, pinnada veteada, con márgenes dentados (encinos rojos, sección *Lobatae*) o no dentados (encinos blancos, sección *Quercus*) (Aldrich y Cavender–Bares, 2011). Los encinos son monoicos, presentan flores unisexuales, con polinización anemófila,

sus frutos son en forma de bellota y presentan variaciones en su tamaño y forma según la especie. Su fructificación puede ser anual (todos los encinos blancos de América del Norte) o bianual (la mayoría de los encinos rojos de América del Norte). Las semillas de los encinos pueden ser dispersadas por gravedad o por algunos vertebrados como roedores y aves (Kappelle, 2006).

A nivel ecológico, los encinos son especies dominantes con una alta diversidad y abundancia en la región Holártica y a escala regional representan el mayor porcentaje de biomasa de los bosques de Norteamérica (Nixon, 1997; Cavender–Bares, 2016). Por lo tanto, son los mayores contribuyentes a la funcionalidad ecosistémica de los bosques templados (Cavender–Bares, 2019), ya que forman parte importante de las interacciones tróficas, del ciclaje de nutrientes y de asociaciones simbióticas en los ecosistemas que habitan (Cavender–Bares, 2019). Los encinos ocupan una considerable diversidad de hábitats debido a sus amplias tolerancias ambientales, además de presentar adaptaciones complejas que les permiten tolerar condiciones de sequía, el congelamiento o bajas temperaturas y los regímenes de fuego (Cavender–Bares y Holbrook, 2001; Cavender–Bares et al. 2004; Cavender–Bares et al. 2005). Además, otorgan beneficios a las comunidades humanas al proporcionar materia prima como madera, alimento y combustible y por su contribución a la regulación del clima en la captación de carbono (Cavender–Bares, 2016, 2019).

Evolutivamente, los encinos americanos son un linaje monofilético, tuvieron su origen en el Eoceno medio (hace 33 millones de años) en las zonas templadas de América del Norte y posteriormente las secciones más importantes *Lobata* y *Quercus* se diversificaron rápidamente de forma simpátrica y paralela dentro de las regiones geográficas de México y América Central (Hipp et al. 2018). El éxito evolutivo de los encinos en el continente americano está arraigado en sus mecanismos ecológicos, pero también se atribuye a su tendencia a la hibridación e introgresión (Whittemore y Schaal, 1991; Curtu et al. 2007; Eaton et al. 2015; McVay et al. 2017). Dichos procesos, pueden favorecer el incremento de la diversidad genética entre los linajes y con ello la adaptabilidad a diversos ambientes (Valencia–Cuevas et al. 2014; Cavender–Bares, 2019).

La clasificación taxonómica del género *Quercus* está basada en caracteres morfológicos, principalmente de las hojas. Sin embargo, la taxonomía del género es compleja debido al alto número de especies, a la amplia distribución geográfica del grupo y a la hibridación interespecífica (Nixon, 1997). La primera clasificación fue realizada en 1753 por Linneo, la cual comprendía 150 especies distribuidas en 10 secciones, esta clasificación ha sufrido numerosas modificaciones desde su propuesta inicial (Loudon, 1838; Orsted, 1871; Trelease, 1924; Camus, 1936). Algunas de las diferencias entre las clasificaciones posteriores, están basadas en el peso de los caracteres morfológicos y las regiones geográficas consideradas en cada una de ellas. Destacan las clasificaciones realizadas por Trelease (1924), quien divide a los encinos americanos en tres subgéneros, *Protobalanus*, *Leucobalanus*, y *Erythrobalanus* y la clasificación de Menitsky (1984), cuyo sistema morfológico identificó correctamente a los encinos euroasiáticos en grupos naturales, ambos sistemas de clasificación agrupan a los encinos en clados monofiléticos que han sido confirmados posteriormente por datos moleculares (Denk et al. 2017).

La última clasificación taxonómica aceptada para el género es la realizada por Nixon (1993), el cual divide el género *Quercus* en dos subgéneros, *Cyclobalanopsis* (encinos del este y sureste de Asia) y *Quercus* (encinos restantes). El subgénero *Quercus* comprende tres secciones, la sección *Lobatae* (encinos rojos), la sección *Protobalanus* (encinos intermedios) y la sección *Quercus* (encinos blancos). Recientemente, Hipp et al. (2015) presentaron una nueva clasificación infragenérica de *Quercus* empleando un conjunto de datos obtenidos por medio de secuenciación de nueva generación (RADseq), la cual incluye 200 especies. Los resultados éste estudio muestran la división del género en dos grupos monofiléticos que son aceptados: el subgénero *Cerris* (encinos del viejo mundo o clados de latitud media) y el subgénero *Quercus* (encinos del nuevo mundo o clados de latitud alta). Al subgénero *Cerris* pertenecen las secciones: *Cyclobalanopsis*, *Ilex*, y *Cerris*; mientras que al subgénero *Quercus* pertenecen las secciones: *Protobalanus*, *Ponticae*; *Virentes*; *Quercus* y *Lobatae*.

## 4.2 Estado de conservación del género *Quercus*

A lo largo del tiempo, los bosques de encinos y los grupos humanos han estado relacionados desde la cultura y la subsistencia (Gil-Pelegrín et al. 2017). Esta relación está evidenciada por el consumo de bellotas como fuente de alimento desde el Pleistoceno medio (~780 ka) por parte de varios grupos de homínidos (Goren-Inbar et al. 2000; Villa y Roebroeks, 2014; Chassé, 2016). Posteriormente, este vínculo se fortaleció después de que los humanos migraron fuera de África y trascendió a través de la aparición de las distintas sociedades humanas (Gil-Pelegrín et al. 2017). Los encinos proporcionaron un recurso alimenticio y fuente de energía para los primeros asentamientos humanos de cazadores-recolectores del Paleolítico. Las bellotas consumidas corresponden a especies con bajo contenido en taninos como *Q. ithaburensis* (Lev et al. 2005) y *Q. ilex* (Humphrey, 2014) las cuales pueden ser consumidas sin un procesamiento extenso. Esta asociación alimenticia facilitó la migración humana y con ello la colonización de Oriente medio y Europa hace unos 45–50 ka (Leroy et al. 2019).

Los encinos también han sido una fuente maderable desde hace milenios, estudios realizados por Ruiz-Alonso et al. (2007) describen el uso continuo de especies caducifolias de *Quercus* como leña desde el Neolítico temprano hasta la Edad de Bronce (5500–900 cal BC). Actualmente, la madera de distintas especies de encinos es empleada para la obtención de leña, carbón y como materia prima para la construcción. En México, los encinos representan el segundo recurso maderable más aprovechado y abundante después de los pinos (De la Paz Pérez, 2000) y son parte importante de la cultura y el conocimiento tradicional de diversos grupos étnicos y rurales que aprovechan cada parte de la planta con fines distintos al uso leñoso, entre los que se destacan el uso alimenticio (las bellotas, las yemas foliares, flores, hojas y las agallas, como fuente de proteínas, lípidos y carbohidratos), el uso medicinal (corteza, hojas, flores, raíces y agallas.), el uso artesanal, también para forraje animal y para el curtido de pieles (Luna-José, 2003).



Por otro lado, los bosques de encinos han sufrido impactos negativos por el cambio de uso de suelo, al estar ocupando regiones climáticas atractivas para el desarrollo de asentamientos humanos y de la agricultura (Rzedowski, 1988). Para suplir la demanda de alimentos producto del crecimiento poblacional, es necesario crear tierras óptimas para el establecimiento de cultivos y cría de ganado. Esto conlleva a la expansión de la frontera agrícola, la deforestación e incrementa la frecuencia de los incendios para incentivar el crecimiento de pastizales, que a largo plazo traen como consecuencia procesos erosivos del suelo. Adicionalmente, la explotación de los bosques de encino para producir leña, carbón vegetal y madera para la construcción, suele ser muy intensa y una actividad destructiva para la supervivencia de los bosques (Rzedowski, 1988; Challenger, 1998).

A nivel global, 430 especies de encinos han sido objeto de evaluación por parte de la IUCN y se han reportado 217 (41%) especies que han sido clasificadas bajo alguna categoría de riesgo de extinción, de las cuales 32 están críticamente amenazadas (CR), 57 se encuentra en peligro de extinción (EN), 23 están catalogadas como vulnerables (VU), 38 como casi amenazadas (NT) y 67 especies catalogadas bajo datos insuficientes (DD). Mientras que 213 especies de encinos están catalogadas bajo preocupación menor (LC) (Carrero et al. 2020). A nivel regional, la IUCN (2020) ha evaluado 164 especies para México y 32 (19.5%) se encuentran clasificadas como CR, VU o EN. A pesar de la gran diversidad de encinos en México y a sus numerosas amenazas, no se ha reportado ninguna especie bajo la Norma Oficial Mexicana 059, instrumento encargado de la protección e inclusión de las especies en riesgo (SEMARNAT, 2010).

### **4.3 *Quercus insignis***

#### **4.3.1 Ecología y aspectos morfológicos**

*Quercus insignis* es un árbol semiperenne que alcanza entre 30–40 metros de altura, con troncos de hasta 145 cm de diámetro a la altura del pecho (DAP), su corteza es grisácea y fisurada. Presenta hojas obovadas o elípticas que miden entre 10–25 cm de largo por 4–9 cm de ancho, con margen revoluto, entero o ondulado o serrado dentado, con 4–10 pares de pequeños dientes mucronados que

se encuentran en los  $\frac{3}{4}$  apicales de la hoja, las nervaduras de las hojas son penninervadas. Es una especie monoica con flores unisexuales y polinización anemófila, las inflorescencias masculinas miden 4–14 cm de largo, perianto de 1.5–2 mm de largo, pubescente por dentro y por fuera, anteras glabras; mientras que las inflorescencias femeninas miden 1–2 cm de largo, con 1–4 flores. La floración es anual y ocurre de marzo a junio (Benítez et al. 2004)

Su fruto es una bellota aplanada, mide 3–4 cm de longitud y entre 4–7 cm de diámetro, siendo una de las bellotas más grandes entre el grupo de encinos (García de la Cruz et al. 2014). Las cúpulas de sus frutos tienen de 4–10 cm de ancho, son densamente tomentosas en el interior y poseen escamas gruesas en la parte externa de 6–10 mm de largo y 2–5 mm de ancho, su fructificación se produce entre los meses de agosto a noviembre (Benítez et al. 2004; Arizaga et al. 2009)

#### **4.3.2 Estado de conservación de *Quercus insignis***

El estado de conservación de *Q. insignis* presenta distintas clasificaciones y varía según su distribución geográfica. A nivel global, *Q. insignis* es reconocida como una especie EN dentro de la lista roja de la IUCN (Jerome, 2018). Según la lista roja de encinos *Q. insignis* está clasificada como una especie EN para México y Panamá, y NT en Guatemala, sin embargo, es reportada como una especie abundante en Nicaragua (Oldfield y Eastwood, 2007). En México, González–Espinosa et al. (2011), clasificaron a *Q. insignis* como una especie en peligro crítico (CR).

*Quercus insignis* es una especie explotada principalmente para el autoconsumo por parte de las comunidades con las que cohabita. Pérez–Ríos (2018), describe de forma detallada los principales usos de la especie en varias comunidades del municipio de Zongolica, Veracruz. Destaca el uso de la madera como una fuente importante de leña y carbón y en menor medida su uso para la construcción a pequeña escala. Sus frutos debido a su gran tamaño son empleados para la elaboración de artesanías, su corteza y hojas son utilizadas con fines medicinales. Sin embargo, la mayor amenaza para la conservación de las poblaciones de *Q. insignis* a largo plazo, es la degradación y pérdida hábitat generada por la tala forestal y el cambio del uso del suelo para crear tierras de cultivo (Valencia–A,

2004; Montes–Hernández et al. 2013; García de la Cruz, 2014; Pérez–Ríos, 2018). Adicionalmente, la fragmentación de su hábitat ha ocasionado la disminución y la degradación de sus poblaciones (Valencia–A, 2004; González–Espinoza et al. 2011; Montes–Hernández et al. 2013).

#### **4.3.3 *Quercus insignis* y su relación con el bosque nublado (BN) en México**

El BN es una comunidad vegetal heterogénea, bastante compleja, con una vasta riqueza florística (Valencia y Gual–Díaz, 2014). En general, se encuentra distribuido en zonas montañosas con gran precipitación y alta humedad atmosférica, que se presenta en forma de niebla (Challenger, 1998), en un intervalo altitudinal de los 600 a 2800 msnm aproximadamente (Gual–Díaz y González–Medrano, 2014). En México, el BN está ubicado en las laderas de las montañas más expuestas al viento (barlovento) en dónde terminan las planicies costeras tropicales de las vertientes del Golfo de México y del Pacífico, así como en el perímetro norte de la depresión de Balsas (Rzedowski, 1988; Challenger, 1998).

Los BN representan el 1% del territorio del país si se considera la vegetación secundaria derivada de esta formación, o poco más de 0.5% si se considera solo vegetación primaria (INEGI–Serie VI, 2017). Dada sus restricciones climáticas, la distribución del BN es fragmentada y discontinua, en forma de archipiélagos de vegetación (Challenger, 1998; González–Espinoza et al. 2012). Su distribución geográfica en México consiste para la vertiente del Golfo de México, de una franja angosta semicontinua que inicia al sureste de San Luis Potosí y recorre las laderas de la Sierra Madre Oriental hasta el centro del estado de Veracruz y de ahí hasta la Sierra Norte de Oaxaca (Gual–Díaz y González–Medrano, 2014, Challenger, 1998). Por la vertiente del Pacífico, está disperso en enclaves ecológicos de la Sierra Madre Occidental (Challenger, 1998) desde el sur de Sinaloa hasta la Faja Volcánica Transmexicana, y continúa hasta la Sierra Madre del Sur. Su distribución se interrumpe en el istmo de Tehuantepec y aparece nuevamente en la Sierra Madre de Chiapas (Gual–Díaz y González–Medrano, 2014).

El BN presenta formaciones vegetales muy densas con una estratificación vertical y horizontal complejas, ya que se componen de abundantes epífitas, pteridofitas, plantas trepadoras, bejucos y lianas (Rzedowski, 1988). A escala nacional, los BN son el tipo de vegetación con mayor número de especies por unidad de superficie (Ruiz–Jiménez et al. 2012). Esta riqueza está asociada a la mezcla de especies de familias de distribución holártica y neotropical (Rzedowski, 1988; Challenger, 1998; Villaseñor, 2010; González–Espinosa, 2012; Valencia y Gual–Díaz, 2014). En el sotobosque suelen predominar especies tropicales perennifolias, mientras que el dosel se caracteriza por la dominancia de árboles caducifolios de clima templado (Challenger, 1998).

Según Rzedowski (1996), el BN alberga 2 500 especies de plantas vasculares exclusivas de este ecosistema, otros estudios recientes como el de Villaseñor (2010) registran 2 822 especies, estos datos equivalen aproximadamente al 10 y 12% de la diversidad total de plantas de México respectivamente. Con relación a la estructura arbórea del BN, González–Espinosa et al. (2011) elaboraron una lista de las especies de árboles presentes en los BN, encontrando que las familias Lauraceae (71 especies) y Rubiaceae (60 especies) presentan la mayor riqueza, seguida de la familia Fagaceae y Fabaceae. Posteriormente, Valencia y Gual–Díaz (2014), evaluaron la riqueza de las especies representadas por la familia Fagaceae en el BN, registrando un total de 47 especies, incluyendo al género *Fagus*, representado por una especie *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, mientras que el género *Quercus* está representado por 46 especies, lo que corresponde al 28.6% del total de las especies de Fagáceas nativas de México.

Los géneros *Fagus* y *Quercus* son considerados los elementos boreales más importantes y dominantes del dosel de los BN (González–Espinosa et al. 2011; Olvera–Vargas y Figueroa–Rangel, 2012) y se consideran especies clave en la estructura de los BN al facilitar el reclutamiento de muchas especies del interior del bosque y proporcionar hábitats adecuados y alimento para el establecimiento de diversas especies (Gonzalez–Espinosa, 2012). Entre las especies de *Quercus* que se encuentran distribuidas en el BN, algunas presentan distribución limitada con pocas poblaciones de baja densidad y ciclos de vida largo como es el caso de *Q. insignis* (Valencia y Gual–Díaz, 2014).

A pesar de la gran importancia ecológica del BN, es uno de los ecosistemas más amenazados (Challenger, 1998; González–Espinosa et al. 2011) debido a que en las últimas décadas han sido reducidos a fragmentos muy pequeños. Actualmente, se estima que la cobertura de este ecosistema es del 54.7% de su área de distribución potencial original (INEGI–Serie IV, 2012). Los BN han sufrido perturbaciones muy profundas, por un lado, por la tala a pequeña escala para la subsistencia de comunidades pero principalmente por actividades antrópicas como el cambio de uso de suelo hacia la agricultura, para establecer cultivos de café sin sombrero (Rzedowski, 1988; Challenger, 1998; Sánchez–Ramos y Dirzo, 2014), así como la ganadería extensiva, el crecimiento urbano y el aprovechamiento forestal de productos maderables y no maderables (Williams–Linera, 2007; Challenger, 1998; Sánchez y Dirzo, 2014).

El cambio climático también amenaza la permanencia de los BN en México, el aumento de las temperaturas pueden ocasionar la proliferación de plagas forestales, ocasionando la pérdida de biomasa dentro del ecosistema (Sánchez–Ramos y Dirzo, 2014). Por otro lado, las proyecciones de cambio climático predicen que las áreas adecuadas de los BN de México sufrirán una severa reducción de áreas que abarca más del 70% para el año 2080 (Ponce–Reyes, 2012; Rojas–Soto et al. 2012). Además, se espera que el cambio climático también afecte procesos atmosféricos como la inmersión de nubes y en consecuencia los BN neotropicales sufrirán sequías o severas reducciones del hábitat adecuado y de su rango altitudinal (Helmer et al. 2019).

#### **4.4 Importancia de la diversidad genética para la conservación de especies**

La diversidad genética comprende la variedad de alelos y genotipos presentes en las poblaciones, especies o comunidades (Frankham et al. 2010). En sentido estricto, es cualquier medida cuantitativa de la variabilidad de genes de un grupo de estudio, que refleja el equilibrio entre la mutación y la pérdida de variación genética (Hughes et al. 2008). La diversidad genética incrementa dentro de los individuos como resultado de la recombinación de genes y es generada por mutación, selección o eventos de migración poblacional (Frankham 2010; Primack 2012).

Existen dos tipos de variación genética: la variación adaptativa y la variación neutral (Hedrick, 2003). La variación adaptativa, es la variación genética que produce una ventaja en la eficacia biológica y se mantiene en la población gracias a la selección natural (Holderegger et al. 2006). Por otro lado, la variación neutral, es la variación genética estimada desde genes neutrales y no tiene ningún efecto sobre la eficacia biológica (Kimura, 1983). Sin embargo, los marcadores genéticos neutros tienen un gran potencial para investigar procesos como el flujo, la migración o la dispersión de genes y son los más usados para estudios en diversidad genética (Holderegger et al. 2006)

Un tipo de marcador ampliamente usado durante las últimas décadas para evaluar la diversidad genética entre y dentro de las poblaciones son los microsatélites, repeticiones de secuencia única (SSR, por sus siglas en inglés) o repeticiones simples en tándem (STR, por sus siglas en inglés), los cuales consisten en fragmentos de ADN entre 1–6 pb que están repetidos en tándem y se distribuyen de forma aleatoria en regiones codificantes y no codificantes del genoma de las células eucariotas (Ellegren, 2004). Los SSR pueden ser clasificados por el número de nucleótidos repetidos en la secuencia como mononucleótidos (TT), dinucleótidos (AT) o tetranucleótidos (AAGG).

Algunas ventajas de su uso radican en que son marcadores moleculares altamente polimórficos que se segregan de manera mendeliana, son co–dominantes, selectivamente neutros y tienen una cobertura amplia del genoma. Para su amplificación por medio de PCR se necesitan cebadores que son específicos a nivel de especie o de género; algunas de sus desventajas son la alta tasa de mutación que presentan, el complejo patrón de mutaciones y la presencia de artefactos analíticos debidos a procesos como la homoplasia y alelos nulos (Schlötterer, 2004).

Los microsatélites pueden ser desarrollados a partir de secuencias del ADN nuclear o ADN de organelos como el cloroplasto. El ADN nuclear tiene herencia biparental y genoma diploide (dependiendo de las especies pueden ser poliploides), en las plantas es transmitido a través de las semillas y el polen, mientras que el ADN de cloroplasto se hereda de forma uniparental, (usualmente de forma materna para angiospermas), su genoma es haploide y no es recombinante (Lowe et al. 2004;

Holderegger, 2006). Tanto los microsatélites de núcleo (SSRn) como los microsatélites de cloroplasto (SSRcp) son usados para analizar la diversidad genética intra e inter poblacional, sin embargo, los análisis comparativos entre ambos marcadores permiten realizar inferencias complementarias y a menudo distintas sobre la estructura genética, la diferenciación y el flujo de genes mediado por el polen y las semillas dentro y entre poblaciones (Ennos et al. 1999, Pakkad, 2008; Dodd, 2008).

Particularmente, los SSRcp al heredarse de forma materna, permiten conocer las contribuciones relativas del flujo de semillas a la estructura genética de las poblaciones. Además, son más sensibles a los efectos de la fragmentación debido al tamaño efectivo poblacional más pequeño y a que la dispersión de genes mediada por semillas suele ser más limitada que el flujo génico mediado por el polen (Pakkad et al. 2008). Aunque ambos marcadores pueden ser usados como indicadores de deriva genética, los SSRcp presentan algunas ventajas para inferir cuellos de botella históricos, y efectos fundadores debido a su tasa de mutación más lenta (Grivet et al. 2006). Por otro lado, el genoma nuclear evoluciona más rápido y es ideal para estudiar las tasas y la dirección del flujo génico reciente (Dodd, 2008; Gerber et al. 2014).

#### **4.5 Consecuencias genéticas en poblaciones de especies amenazadas**

Las poblaciones de especies amenazadas se caracterizan por presentar tamaños pequeños y en ocasiones unidades aisladas por procesos de fragmentación del hábitat. Estas poblaciones son más propensas a la extinción que las poblaciones grandes y su dinámica de la variación genética sobre el espacio y el tiempo están fuertemente dominados por procesos como la endogamia y la deriva génica (Ouborg et al. 2010). Ambos procesos, ocasionan la pérdida de la variación genética y por tanto reducen el potencial adaptativo de las especies ante los cambios ambientales (Charlesworth y Charlesworth, 1999; Carr y Dudash, 2003).

La endogamia se define como la producción de descendencia desde apareamientos de individuos que están emparentados por ancestría a través del tiempo y en poblaciones pequeñas sus consecuencias son más severas (Frankhman, 2010). Inicialmente, la endogamia está relacionada con el aumento de la homocigosidad y el aumento de alelos deletéreos recesivos en estado de homocigosis

lo cual puede ocasionar una reducción en la eficacia biológica de los individuos, esto conlleva a la depresión por endogamia, es decir a la reducción en la viabilidad de la descendencia (Ouborg et al. 2010). En plantas, la endogamia puede ocurrir por autofertilización la cual corresponde a la forma más extrema de endogamia reduciendo en un 50% la heterocigosidad en cada generación (Carr y Dudash, 2003). En las especies del género *Quercus* la autofertilización es poco probable debido a que son especies monoicas, polinizadas por viento y con sistemas de incompatibilidad por lo cual el polen que proviene del mismo individuo es rechazado (Ducousso et al. 1993).

Por otro lado, la deriva génica está definida por cambios aleatorios en las frecuencias alélicas que resultan del error de muestreo de los gametos desde una generación a otra (Hedrick, 2011). En poblaciones grandes los cambios aleatorios en las frecuencias alélicas son pequeños, sin embargo, si el tamaño poblacional es pequeño las frecuencias alélicas pueden sufrir fluctuaciones grandes e impredecibles debido a la deriva (Ellstrand, 1993) traducidas en el incremento de la probabilidad de fijación o extinción de alelos particulares. Estas fluctuaciones traen como consecuencia la pérdida rápida de diversidad genética y la fijación de alelos dentro de las poblaciones. Dado que la deriva génica está fuertemente influenciada por procesos aleatorios, se espera que se incremente la diferenciación entre las poblaciones provenientes de la misma fuente y que dentro de las poblaciones la deriva génica actúe como la principal fuerza de cambio reduciendo la influencia de la selección natural sobre la población (Frankham, 2016).

Por lo tanto, conservar la diversidad genética dentro y entre las poblaciones pequeñas es importante por dos razones fundamentales: (i) a corto plazo, la endogamia y la deriva génica disminuyen la eficacia biológica de los individuos e incrementan el riesgo de extinción de las poblaciones; y (ii) a largo plazo, las poblaciones que pierden variabilidad genética no tienen la capacidad de evolucionar y, por tanto, de responder ante presiones ambientales (Hoglund, 2009). En este sentido, conservar la diversidad genética de las poblaciones representa la base para garantizar la supervivencia y la capacidad de adaptación ante ambientes cambiantes, ya que da continuidad a los



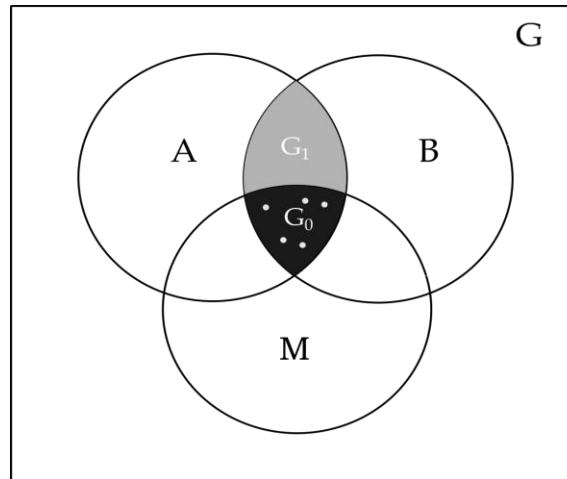
procesos de los que depende el éxito evolutivo de las especies (Ramanatha–Rao y Hodgkin, 2002; Ceballos et al. 2015)

#### **4.6 Modelo de Nicho Ecológico (MNE)**

Los modelos de nicho ecológico (MNE) son el producto de procedimientos usados para estimar la distribución geográfica de las especies con el objetivo de identificar lugares adecuados para la supervivencia de sus poblaciones a través de la identificación de sus requerimientos ambientales (Soberón y Nakamura, 2009). Soberón y Peterson (2005) propusieron un enfoque teórico simplificado basado en una representación heurística que emplea la teoría de conjuntos para describir la interacción entre los factores que determinan el nicho de una especie y su distribución. Estos factores corresponden a las condiciones ambientales o factores abióticos, las interacciones bióticas y la capacidad de dispersión de las especies. Posteriormente, Peterson et al. (2012) aplicaron ecuaciones matemáticas y emplearon un diagrama simple (Figura 2) para mostrar el cumplimiento conjunto de las tres condiciones al cual denominaron el diagrama de BAM (Biotic–Abiotic–Mobility por sus siglas en inglés) (Soberón y Peterson, 2005).

El diagrama de BAM (Figura 2) es una representación estática de los tres factores mencionados anteriormente, que interactúan entre sí para determinar las distribuciones geográficas de las especies (Peterson et al. 2011). El conjunto A representa las regiones en el espacio geográfico (G) dónde las condiciones escenopoéticas y los recursos existentes permiten tasas de crecimiento intrínsecas positivas para las poblaciones (Soberón, 2007). El segundo conjunto, B, representa las regiones geográficas donde hay interacciones bióticas entre las especies que favorecen la presencia de las mismas y permiten tasas de crecimiento total positivas. Por último, el conjunto M representa las regiones geográficas que han sido accesibles a la capacidad de dispersión de la especie dentro de un lapso de tiempo dado. Teniendo en cuenta lo anterior, Peterson et al. (2011) definen que  $G_0 = A \cap B \cap M$  es el área de distribución ocupada por la especie, definido como el subconjunto de la región accesible en la cual las variables escenopoéticas y condiciones bióticas permiten a las especies

mantener poblaciones. Por su parte,  $G_1 = A \cap B \cap M$ , representa el área de distribución invadible que la especie podría ocupar si se superan las barreras de restricción para su dispersión (Soberón y Peterson, 2005; Soberón, 2007; Peterson et al. 2011).



**Figura 2.** Representación del diagrama de BAM (Soberón y Peterson, 2005). Ilustra los tres factores que interactúan entre sí en el espacio geográfico abstracto (G) para determinar el nicho ecológico. A: Área en la cual las variables escenopoéticas o condiciones abióticas son favorables para la presencia de la especie. B: Área donde las variables bióticas y dinámicamente relacionadas son adecuadas para la especie. M: Área de movimiento o dispersión de las especies.  $G_0$ : área de distribución ocupada por la especie,  $G_1$ : Área de distribución invadible. Círculos blancos: poblaciones de origen.

Existen dos enfoques para implementar los MNE, el enfoque mecanístico y el enfoque correlativo (Kearny, 2006). El enfoque mecanístico usa información de las propiedades intrínsecas de las especies, es decir, aquellas que determinan su tolerancia a las características físicas del ambiente para mapear su distribución actual y futura (Kearny, 2006; Soberón 2007). Mientras que el enfoque correlativo, usa información de las variables ambientales que caracterizan los sitios de ocurrencia, estos modelos se extrapolan para proyectar futuras ocurrencias que coincidan con las variables ambientales caracterizadas; éste último enfoque ha sido el más utilizado para los MNE (Soberón, 2007; Wiens et al. 2009).

En general, los modelos correlativos de nicho hacen uso de las nuevas herramientas computacionales como los sistemas de información geográfica (SIG) para combinar tres elementos fundamentales para su construcción (Wiens y Graham, 2005): (i) las localidades georreferenciadas que indican el registro de presencia de la especie de estudio, que son obtenidas a partir de datos de campo o en bases de datos virtuales, datos de colecciones científicas, museos o publicaciones científicas. (ii) datos sobre las variables ambientales que caracterizan las localidades de la especie. (iii) el uso de algoritmos que estiman la distribución geográfica del nicho climático de las especies basados en la distribución de las variables climáticas donde ocurren o no ocurren dentro una región.

No obstante, los MNE se realizan bajo algunos supuestos y presentan algunas incertidumbres (Weins et al. 2009). En primer lugar, se asume el conservatismo de nicho, específicamente en la transferencia del nicho a través del espacio–tiempo (Soberón y Nakamura, 2009). Es decir, los MNE asumen que el nicho es fijo e inmutable a través del tiempo; ésta afirmación está basada en evidencia que muestra que los nichos parecen evolucionar relativamente lento dentro de algunos linajes (Soberón y Nakamura, 2009; Weins et al. 2009). Este supuesto justifica el uso de modelos correlativos y la aplicación de los modelos de distribución de especies para proyectar respuestas al cambio climático (Weins et al. 2009), bajo el argumento de que las tasas actuales y futuras de cambios ambientales excede la capacidad de la mayoría de las especies para adaptarse evolutivamente, especialmente para las especies de ciclos de vida largos y dispersión limitada (Williams y Jackson, 2007).

En segundo lugar, los MNE pueden presentar dos tipos de errores: (i) errores de omisión que ocurren cuando existen lugares que podrían ser ambientalmente adecuados, ser ocupados por la especie y el modelo no los predice, en otras palabras, la predicción de un falso negativo en las áreas de distribución (Peterson et al. 2012). (ii) Errores de comisión, relacionados con la predicción de lugares o hábitats adecuados donde la especie realmente no puede sostenerse, es decir, un falso positivo (Weins et al. 2009, Peterson et al. 2012). Por último, las interacciones bióticas no son incluidas en la mayoría de los MNE, principalmente en aquellos que son basados en variables

escenopoéticas (nichos Grinelianos), se asume que cada especie responde independientemente a las condiciones ambientales que determinan su espacio de nicho (Weins et al. 2009). La exclusión de los factores bióticos está determinada principalmente por la dificultad para medir la red compleja de interacciones entre las especies, ya que requiere de la generación de datos a escalas locales de resolución espacial fina y deben ser medidas a lo largo del tiempo (Soberón, 2007).

Los MNE son fundamentales para predecir los cambios esperados en la distribución de las especies bajo diferentes escenarios de cambio climático (Wiens et al 2009). Éstos usan la información de las características ambientales que definen el nicho actual de una especie junto con las distribuciones futuras de las mismas variables ambientales que han sido derivadas de modelos climáticos bajo diferentes escenarios y proyectan los cambios esperados en el nicho de la especie (Wiens et al. 2009). A pesar de que los MNE basados en variables escenopoéticas han demostrado presentar altos valores predictivos de las distribuciones futuras de las especies (Soberón y Nakamura, 2009), existen algunas incertidumbres en el proceso de la modelación, relacionadas principalmente con los modelos climáticos empleados, el uso de diferentes algoritmos, la confiabilidad de los datos de ocurrencias, las variables climáticas y la escala de las variables ambientales (Weins et al. 2009).

## 5 ANTECEDENTES

En los últimos años, los nuevos avances en los métodos de análisis genético han favorecido el incremento de estudios en ecología molecular, los cuales son fundamentales para comprender la historia evolutiva de la biota en países megadiversos como México y aportar información importante para el manejo y conservación de poblaciones y ecosistemas (Rodríguez–Correa et al. 2017). En México, los estudios en ecología molecular están representados principalmente en áreas como la genética de poblaciones (35.3%) y la filogeografía (30.3%), mientras que áreas como la genética de conservación se encuentra menormente representada (9.2%). Específicamente, los estudios en genética de la conservación se han enfocado en la descripción de los atributos de diversidad genética, estructura genética y tamaño efectivo poblacional de especies amenazadas o en la definición de unidades de manejo sostenible y conservación de especies nativas de México (Rodríguez–Correa et al. 2017).

Estudios previos han resaltado la importancia de investigaciones en genética dirigidas a especies de encinos a nivel global, con el fin de analizar patrones de diversidad genética entre poblaciones fragmentadas y de baja densidad, así como a nivel intergeneracional (Fernández y Sork, 2007; Ortego et al. 2014; Vranckx et al. 2013). En general, los resultados sugieren que, a escala poblacional, los encinos exhiben altos niveles de diversidad genética y baja diferenciación entre poblaciones fragmentadas a pesar de las presiones antrópicas (Fernández y Sork, 2007; Alfonso–Corrado et al. 2014; Oyama et al. 2017). Por otro lado, los efectos de la fragmentación del paisaje sobre la diversidad genética en encinos, ha sido evaluada a través de generaciones, asumiendo que los arboles adultos representan los genotipos que fueron establecidos antes de eventos de fragmentación a gran escala y sus respectivas progenies son el resultado de eventos reproductivos que ocurrieron después de la fragmentación (Herrera–Arroyo, 2013; Oyama et al. 2017).

En general, los resultados coinciden en que no se encuentran diferencias claras en las medidas de diversidad genética entre la generación de adultos y las progenies (Vranckx et al. 2013; Ortego et al. 2014). La baja diferenciación genética encontrada para adultos y progenies en fragmentos, son explicados por la extensa migración de polen que podría mitigar los procesos como la endogamia o deriva genética en poblaciones pese a la fragmentación (Fernández y Sork, 2007; Ortego et al. 2014; Vranckx et al. 2013). Otro hallazgo importante es el papel de los árboles aislados en la diversidad genética, pues representan un puente potencial para el flujo de genes a través del polen al contribuir con la manutención de la conectividad genética entre las poblaciones fragmentadas (Oyama et al. 2017). En consecuencia, los factores ecológicos y humanos son probablemente una amenaza más importante para la persistencia de las poblaciones fragmentadas y de baja densidad en encinos que la pérdida de diversidad genética (Ortego et al. 2014).

Los estudios en genética para especies de encinos en bosques nublados son escasos. Un estudio similar al propuesto en este proyecto de investigación (usando otros marcadores genéticos) ha sido el llevado a cabo por Jin Xu et al. (2016) cuyos objetivos fueron estudiar los patrones de divergencia genética y demografía histórica en *Quercus arbutifolia* una especie rara que habita los bosques nublados del Sur de China y Vietnam, solo se conocen seis poblaciones que se encuentran aisladas, con un tamaño poblacional pequeño y un hábitat restringido, factores que, en conjunto, convierten a la especie en vulnerable ante el cambio climático y a la pérdida de hábitat.

Los resultados del estudio anterior difieren de los patrones esperados, puesto que al tratarse de una especie rara y en peligro de extinción, se esperan niveles de variación genética bajos debido a la endogamia o a la deriva genética. En contraste, los resultados mostraron una alta diversidad genética para secuencias de ADNcp ( $H_T= 0.962$  y  $H_S=0.511$ ) y ADN nuclear (ITS) ( $H_T= 0.891$  y  $H_S=0.612$ ). Este hallazgo es explicado por los autores como el resultado de una larga historia evolutiva de las poblaciones, la baja frecuencia de extinción de haplotipos y la compleja geomorfología del hábitat de la especie.

En el caso particular de *Q. insignis*, los trabajos en investigación son escasos y no están relacionados de forma directa con la conservación genética de la especie. Montes–Hernández y López–Barrera (2013) evaluaron la germinación de semillas, el crecimiento y la sobrevivencia de plántulas de *Q. insignis* durante cuatro años. El diseño experimental consistió en sembrar plántulas que fueron germinadas previamente en invernadero durante 12 meses, en parcelas experimentales ubicadas dentro de su área natural de distribución, cada parcela presentaba condiciones distintas relacionadas con la ubicación de las plántulas (áreas abiertas vs. áreas debajo de árboles aislados) y el tratamiento del suelo (suelo nativo con compost y suelo nativo).

Los resultados obtenidos indican que el 26% de las plántulas sembradas (274 individuos) sobrevivió durante los primeros cuatro años; de este total el 34.4% correspondía a plántulas sembradas bajo la sombra parcial de árboles aislados y el 18.6% a plántulas de áreas abiertas. Con respecto al tratamiento del suelo, la sobrevivencia fue casi igual para las plántulas sembradas en suelo nativo y suelo nativo con compost (25.9 y 26.6% respectivamente). En cuanto al crecimiento, los resultados son similares, las plántulas crecidas bajo cubierta vegetal presentaron mayor tasa de crecimiento en comparación con las de áreas abiertas y no se presentaron diferencias significativas en la tasa de crecimiento de las plántulas sembradas en ambos tratamientos de suelo.

El estudio de Montes–Hernández y López–Barrera (2013) sugiere que el rendimiento de las plántulas de *Q. insignis* se debe tanto a factores ambientales como intrínsecos. Dentro de los factores intrínsecos resaltan la necesidad de evaluar la variabilidad genética de las semillas recolectadas, puesto que provenían de árboles aislados, sugiriendo que es necesario determinar el impacto de la variabilidad genética de las bellotas provenientes de estos individuos, sobre la calidad, la germinación de la semilla y el establecimiento de plántulas. Además, proponen que es necesario adelantar estrategias de conservación principalmente de árboles adultos y belloteros con valores altos de DAP, que garanticen la producción de bellotas vigorosas y saludables. Estos árboles llegan a ser escasos en bosques fragmentados, pero aún se encuentran aislados entre remanentes de bosques rodeados de pasturas y cultivos.

Por otro lado, Rodríguez–Correa et al. (2017), describieron la estructura filogeográfica de dos especies amenazadas de encinos neotropicales, entre ellas *Q. insignis*, bajo el contexto de la historia geológica y paleoclimática de la región norte del Neotrópico. Ambas especies fueron colectadas a lo largo de su área de distribución desde México hasta Panamá. Se emplearon nueve marcadores moleculares microsátélites de cloroplasto para caracterizar 14 poblaciones de *Q. insignis* con 76 individuos y 15 poblaciones de *Q. sapotifolia* con 138 individuos. Los resultados obtenidos indican que ambas especies exhiben alta riqueza haplotípica (28 haplotipos para *Q. insignis* y 34 haplotipos para *Q. sapotifolia*) en comparación con otras especies de encinos blancos europeos, pero al mismo tiempo valores bajos con respecto a las especies de encinos de México.

Con respecto a la diversidad dentro de las poblaciones se encontró que *Q. insignis* y *Q. sapotifolia* presentan valores altos de diversidad ( $h_s = 0.65$  y  $h_T = 0.95$  y  $h_s = 0.51$  y  $h_T = 0.96$ , respectivamente) con respecto a los encinos de latitudes altas, mientras que valores similares han sido encontrados para otras especies de encinos de México. Ambas especies presentan altos valores de estructura genética y filogeográfica. La distribución de la variación genética para *Q. insignis* sugiere que ha estado influenciada por dos barreras geográficas que son el Istmo de Tehuantepec y la Depresión de Nicaragua, mientras que *Q. sapotifolia* muestra una estructura genética influenciada por las tierras altas de Chortis.

No obstante, a pesar de las numerosas investigaciones y el interés de la comunidad científica en generar conocimiento de la diversidad, genética y ecología de los encinos, es necesario aumentar los estudios en conservación de las especies que se encuentren reportadas bajo peligro de extinción, especialmente en los encinos americanos, para dilucidar los efectos de la fragmentación del paisaje y el posterior aislamiento de las poblaciones sobre la variación genética a través de las generaciones, principalmente de las progenies que han emergido después de la fragmentación dado que el aislamiento de sus progenitores reduce los niveles de flujo de genes e incrementa la autopolinización o endogamia (Ortego et al. 2010; Oyama et al. 2018).



## 6 OBJETIVO GENERAL

Determinar el estado de conservación de *Quercus insignis* a nivel genético, a partir de la estimación de la diversidad genética, la estructura genética y el flujo génico considerando los diferentes estadios de desarrollo de la especie y el grado de amenaza bajo un contexto de cambio climático a nivel regional.

### 6.1 Objetivos específicos

- 1) Determinar los patrones de diversidad y flujo génico producto de la polinización y dispersión de semillas entre las poblaciones de *Q. insignis* distribuidas en México por medio de marcadores moleculares microsatélites nucleares (nSSRs) y de cloroplasto (cpSSRs).
- 2) Estimar y comparar los niveles de diversidad genética entre adultos y progenie (juveniles y plántulas) de *Q. insignis* a nivel intra- e inter-poblacional para determinar si existe evidencia de erosión genética como resultado de la pérdida y fragmentación del hábitat.
- 3) Estimar el riesgo potencial de pérdida de diversidad genética y flujo génico en *Q. insignis* ante diferentes escenarios y modelos de cambio climático para México.

## 7 HIPÓTESIS

Los altos niveles de pérdida, degradación y fragmentación de bosques donde habita *Q. insignis* en conjunto con las características particulares de la especie, como su producción anual de bellotas, polinización anemófila, limitada dispersión de semillas por gravedad y por mamíferos considerando el tamaño de la bellota, determinarán las diferencias entre los niveles de diversidad genética entre estadios de desarrollo y la distribución de los alelos entre las poblaciones. Por lo anterior, se espera que:

(i) Se presenten niveles altos de estructura genética entre las poblaciones debido al grado de aislamiento y por tanto bajo flujo génico entre poblaciones.

(ii) Se presenten diferencias significativas en la diversidad genética entre los estadios de desarrollo, siendo mayor la diversidad genética en los adultos debido a presiones antrópicas menores en el pasado.

(iii) Exista un grado de amenaza mayor, representado por reducción en el nicho climático disponible para la especie en periodos futuros, debido al carácter restringido de las poblaciones y los cambios esperados en temperatura y precipitación bajo diferentes escenarios de cambio climático.

## 8 JUSTIFICACIÓN

Considerando la información expuesta hasta este momento, en particular el grado de amenaza para la preservación de *Q. insignis*, es preciso adelantar investigaciones que permitan conocer el estado de conservación actual de sus poblaciones. *Q. insignis* presenta poblaciones de baja densidad asociada a bosques amenazados por su retringida distribución, expuestas al cambio de uso suelo y al aprovechamiento forestal, además, la vulnerabilidad y restricción de su hábitat ponen en riesgo la estabilidad genética de sus poblaciones a largo plazo. Sumado a esto, la falta de información descrita sobre la especie en cuestión es preocupante, pese al alto riesgo de extinción.

Por lo anterior, estudios como el presente son fundamentales, en particular al considerar que:

- i. los objetivos y metas de la Convención Sobre la Diversidad Biológica (2010) reconocen que la información sobre la distribución y la abundancia de las especies de plantas amenazadas es fundamental en la planeación e implementación de actividades de conservación;
- ii. *Q. insignis* a pesar de estar catalogada como una especie en peligro de extinción o en peligro crítico de extinción, hasta la fecha no está reportada bajo ningún grado de amenaza por parte de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010).

La presente investigación busca generar información relevante y coherente con la genética, la ecología y aspectos demográficos de las poblaciones de *Q. insignis*, que permitan desarrollar estrategias dirigidas a la planeación de actividades de conservación *in situ* y *ex situ* para garantizar a largo plazo la restauración de las poblaciones más afectadas conservando altos niveles de diversidad genética y evitando procesos de erosión genética poblacional y de este modo conservar el potencial adaptativo de la poblaciones ante los cambios ambientales. Además, existen inciativas para iniciar programas de restauración y hasta la fecha no se tiene información sobre las recomendaciones genéticas en cuanto en cuanto a la colecta de semillas y su área potencial de siembra.

## 9 METODOLOGÍA

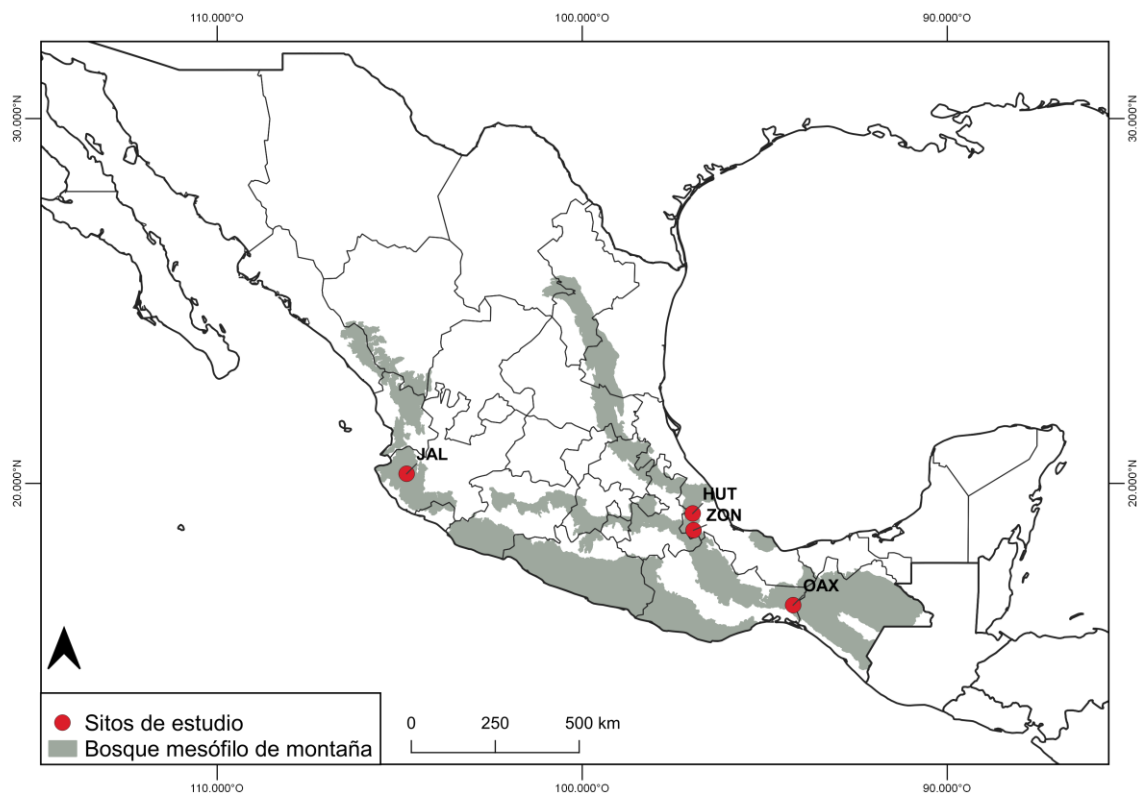
### 9.1 Área de estudio

El área de estudio está definida por cuatro poblaciones conocidas hasta el momento del presente estudio, las cuales se encuentran localizadas en diferentes regiones montañosas de México (Figura 3). La primera población se encuentra en la Región Costa-Sierra Occidental del estado de Jalisco, municipio de Talpa de Allende en la localidad de Monte Grande ( $20^{\circ}15'51.0''\text{N}$ ,  $104^{\circ}48'33.7''\text{W}$ ) a una altitud de 1 326 m snm. Esta población está rodeada de pastizales para uso ganadero y presenta una fuerte presión por el aprovechamiento forestal de los bosques aledaños. El municipio de Talpa de Allende presenta una precipitación media anual de 1 333 mm, su temperatura media anual es de  $19.7^{\circ}\text{C}$  y el clima predominante es semicálido y semihúmedo (INEGI, 2009).

La segunda población está localizada en la región de los Chimalapas, ubicada sobre el Istmo de Tehuantepec, en el estado de Oaxaca, municipio de San Miguel de Chimalapas, localidad de San Antonio ( $16^{\circ}39'45.1''\text{N}$ ,  $94^{\circ}13'15.7''\text{W}$ ) a 1 562 m snm. La población está inmersa dentro de un BN conservado por sus pobladores. La región de los Chimalapas es un vasto territorio indígena ancestral y es considerado un centro de diversidad de flora tropical y endemismos que conserva uno de los últimos relictos de bosques prístinos en Mesoamérica. En la región de los Chimalapas predominan el clima cálido húmedo y semicálido húmedo con abundantes lluvias en verano y una temperatura media anual entre  $18\text{--}26^{\circ}\text{C}$  y precipitación total anual entre los 1 000–2 500 mm.

Las poblaciones restantes están localizadas en el estado de Veracruz, una de ellas en el Municipio de Huatusco, localidad Rancho Las Cañadas ( $19^{\circ}10'35.5''\text{N}$ ,  $96^{\circ}58'19.3''\text{W}$ ) a una altitud de 1 336 m snm. Esta localidad es un centro de Permacultura y Agroecología que conserva una de los últimos remanentes de BN de Veracruz que ha sido conservado por la comunidad, el área total de conservación corresponde a 1 00 ha. Presenta una precipitación anual de 1 850 mm y una temperatura media anual de  $18^{\circ}\text{C}$ . El clima predominante del municipio es semicálido húmedo con lluvias todo el año y principalmente con lluvias abundantes en verano (INEGI, 2009).

La última población se encuentra en las Sierras del municipio de Zongolica que hacen parte de la provincia de la Sierra Madre del Sur, localidad Tetlapanga ( $18^{\circ}43'00.0''\text{N}$ ,  $96^{\circ}56'58.5''\text{W}$ ) y se encuentra a 1 193 m snm. Esta población está ubicada dentro de un predio privado, durante varios años el bosque dominado por *Q. insignis* ha sido talado principalmente para uso doméstico, construcción y para generar tierras de cultivos. La temperatura de Zongolica varía entre  $14\text{--}26^{\circ}\text{C}$  con precipitaciones entre los 2 400 – 3 100 mm. El clima predominante es semicálido húmedo con lluvias todo el año (INEGI, 2009).



**Figura 3.** Sitios de estudio de poblaciones de *Quercus insignis*. JAL: localidad Monte Grande, Municipio de Talpa de Allende, estado de Jalisco. OAX: localidad San Antonio, municipio San Miguel de los Chimalapas, estado de Oaxaca. HUT: localidad las Cañadas, municipio de Huatusco, estado de Veracruz. ZON: localidad Tetlapanga, municipio de Zongolica, estado de Veracruz. El área resaltada en color gris representa las principales regiones y subregiones del BN en México (CONABIO, 2018).

## 9.2 Descripción de atributos poblacionales para la especie

Para la descripción de la estructura poblacional de *Q. insignis* se realizó una parcela de 50 x 20 m en cada población. Se registró cada individuo de *Q. insignis* presente en la parcela y se midió el DAP y la altura máxima. Para las plántulas, se midió el diámetro a la base del tallo por medio de un vernier a 1 cm del suelo. Los individuos muestreados en los cuatro sitios se agruparon en cuatro clases de tamaño de acuerdo con su DAP: 1) plántulas o individuos de reciente germinación con menos de 1.3 m de altura, 2) juveniles o individuos más altos que 1.3 m, pero con DAP entre 0.5–5 cm, 3) pre-adultos o individuos con DAP entre 5–10 cm y 4) adultos, individuos con un DAP mayor a 10 cm.

Para la estimación de la densidad poblacional total se midió la distancia de 20 individuos de *Q. insignis* escogidos aleatoriamente al vecino más cercano y se usó la siguiente fórmula para su determinación:

$$N = \frac{n}{\pi \sum r_i^2}$$

Donde,

N= Estimación de la densidad poblacional.

n = Tamaño de la muestra

ri = Distancia del organismo aleatorio “i” al vecino más cercano

Adicionalmente se calculó la densidad poblacional para los individuos pre adultos y adultos (DAP >5 cm) y adultos (DAP >10 cm), teniendo en cuenta la cantidad de individuos por hectáreas.

## 9.3 Criterios de definición de los grupos de estudio para análisis genéticos

Los individuos de *Q. insignis* muestreados dentro de cada población para los análisis genéticos fueron muestreados tanto dentro y fuera de la parcela. Se clasificaron en tres grupos de estudio que representan la estructura de edad de los individuos. El primer grupo está compuesto por plántulas e individuos jóvenes que no superan los 1.3 m de altura. El segundo grupo lo conforman individuos

juveniles y pre-adultos que presentan una altura mayor a 1.3 m y valores de diámetro a la altura del pecho (DAP) entre 1–10 cm y el tercer grupo está compuesto por árboles más antiguos y adultos que presentan valores de DAP superiores a los 10 cm.

La clasificación realizada se desarrolló por medio de una revisión bibliográfica considerando las etapas de desarrollo de la vegetación arbórea (brinzal, latizal y fustal) aplicada para estudios forestales (Pinelo, 2004, Vásquez–Morales y Ramírez–Marcial, 2019), de igual manera, se tomó como referencia la clasificación implementada en otras especies de *Quercus* (Kittelsohn et al. 2009; Chybicki y Burczyk, 2010; Oyama et al. 2017).

#### **9.4 Colecta de material y protocolo de extracción de ADN**

Para la colecta de tejido foliar se seleccionaron entre 3 a 5 hojas sanas de árboles adultos, juveniles y plántulas. Posteriormente se almacenó el tejido en una bolsa plástica con cierre hermético (16 x 15 cm) debidamente rotulada e inmediatamente y durante el transporte al laboratorio se conservaron en hielo, cubriendo totalmente la superficie de la hoja hasta su almacenamiento en el congelador (-20°C). La extracción de ADN del tejido se realizó como máximo una semana después de la colecta del material vegetal. La extracción de ADN genómico se basó en el método de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), el protocolo se fundamentó según lo propuesto por Doyle y Doyle (1990) con algunas modificaciones en los tiempos de exposición a los reactivos y rpm de centrifugado (Anexo 1).

#### **9.5 Protocolo de amplificación de microsatélites**

Se estandarizaron 19 marcadores microsatélites de núcleo (SSRn) (12 nSSR: Aldrich et al. 2002 y 7 nSSRs: Kampfer et al. 1998; Steinkellner et al. 1997) y 14 microsatélites de cloroplasto (SSRcp) (Sebastiani et al. 2004), para un total de 23 microsatélites. De los cuales se seleccionaron ocho SSRn: OC11, OM07, OM05, IF02, QrZag 58, QpZag 39, QpZag 110, QpZag 96 y cuatro SSRcp: cmcs6, cmcs8, cmcs13, cmcs12, que fueron polimórficos para *Q. insignis*. Las reacciones de PCR fueron

realizadas con kit de PCR multiplex (Qiagen) con un volumen final de 5  $\mu$ l que contiene 1x PCR master mix, 15 ng de ADN, 5 pmol/ $\mu$ l de cebadores, por medio de un termociclador Eppendorf Mastercycler Nexus. La reacción de PCR comenzó con un ciclo de activación a 95°C durante 15 min, posteriormente, una fase de desnaturalización a 95°C por tres min; seguido de 40 ciclos de 30 s a 95°C, a una temperatura de alineamiento entre 45 y 55°C, dependiendo de la combinación de los cebadores, con una fase de extensión final a 72°C durante 1 min. Al terminar los ciclos, se mantuvo una fase de extensión final durante 10 min a 72°C.

Los productos amplificados fueron corridos inicialmente en geles de agarosa al 1.5% por medio de electroforesis. Posteriormente, los fragmentos amplificados en multiplex fueron analizados mediante electroforesis capilar. El empleo de diferentes fluorocromos para el marcaje de los cebadores permite la detección por emisión de fluorescencia. Los productos de PCR fueron secuenciados en un equipo ABI-PRISM 3300 Avant (Applied Biosystems) y el tamaño de los alelos se determinó usando un estándar de peso molecular (GeneScan-600 LIZ) con el programa GeneMarker 2.6.3 (Soft Genetic).

## **9.6 Análisis de datos genéticos**

### **9.6.1 Diversidad genética**

Los análisis genéticos se desarrollaron a partir del genotipado de 340 individuos de *Q. insignis* pertenecientes a cuatro poblaciones y distribuidos en diferentes categorías de edad (Tabla 1). El limitado número de individuos en la categoría de adultos en Jalisco, estuvo sujeto a la abundancia encontrada en campo. Los análisis fueron realizados a nivel intra e interpoblacional y por cada una de las categorías de edad definidas anteriormente.



**Tabla 1.** Número de individuos, DAP promedio y altura promedio en individuos de *Quercus insignis* muestreados por población y categoría de edad para los análisis genéticos.

Población	Categoría						Total (N)
	Adultos	DAP (cm)	Juveniles	DAP (cm)	Plántulas	Altura (cm)	
Jalisco	8	53.43	35	2.73	30	22.91	<b>73</b>
Oaxaca	16	52.19	33	3.79	31	44.77	<b>80</b>
Huatusco	30	42.02	33	4.99	31	65.93	<b>94</b>
Zongolica	29	34.43	34	4.12	30	68.96	<b>93</b>
<b>Total</b>	<b>83</b>	<b>42.22</b>	<b>135</b>	<b>3.89</b>	<b>122</b>	<b>50.95</b>	<b>340</b>

Se utilizó el programa Micro-Checker v. 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.* 2004) para estimar la probabilidad de presencia de alelos nulos o de errores en la amplificación por fallos en la reacción de la PCR para SSRn, estos errores pueden estar dados por el tartamudeo en la PCR (stuttering) o la amplificación predominante de alelos pequeños (large allele dropout). Se realizó un análisis global que incluye todas las poblaciones y un análisis local para cada población. Se empleó un intervalo de confianza del 95% y un tamaño máximo esperado para los alelos de 350 pb.

Los análisis de diversidad genética fueron realizados a nivel poblacional y para cada una de las categorías de edad. Para el análisis poblacional con SSRn, se estimó el equilibrio Hardy-Weinberg por medio del software GENPOP 4.7.5 (Rousset, 2008). Se estimó la riqueza alélica (A) para cada una de las poblaciones mediante el método de rarefacción el cual considera el tamaño mínimo de muestra de individuos amplificados para cada loci. Este fue de 66 individuos, usando el software HP Rare ver. 1.0 (Kalinowski, 2005). También se estimó la riqueza alélica (A) para cada una de las categorías mediante el método de rarefacción este fue de 77 considerando todas las categorías, el tamaño mínimo de muestra para las categorías de edad de Jalisco fue de siete, para Oaxaca fue de 13, para Huatusco fue de 27 y para Zongolica fue de 29.

Se calculó el número promedio de alelos por locus ( $N_a$ ), número promedio efectivo de alelos ( $N_e$ ), índice de diversidad de Shanon (I), heterocigosidad observada ( $H_o$ ), heterocigosidad esperada

(He) y el índice de fijación (F) por medio del software GenAEx 6.5 (Peakall y Smouse, 2006) para cada población y por categoría de edad. Adicionalmente, la heterocigosidad observada (Ho) fue obtenida para cada individuo de cada categoría usando el software CERNICALIN 1.3 (Aparicio et al. 2006). Para conocer si los individuos adultos conservan mayor variabilidad genética que los individuos jóvenes se realizó un análisis de regresión lineal entre Ho individual y el valor de DAP.

Para la diversidad genética obtenida por medio de SSRcp se calculó el número de alelos y la diversidad genética (h) con el software GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2016). Los haplotipos fueron determinados como combinaciones de diferentes variantes de microsatélites a través de los loci. Se usó el Software HAPLOTYPE ANALYSIS 1.05 (Eliades y Eliades, 2009) para determinar los siguientes parámetros: número de haplotipos (A), número efectivo de haplotipos (Ne), riqueza haplotípica (HR; Mousadik y Petit, 1996), diversidad genética (He) y la distancia genética media entre individuos ( $D_{sh}^2$ ; Goldstein et al. 1995). Se realizó una red de haplotipos para todas las poblaciones y para las categorías de edad, implementando el programa Network v. 1.0 aplicando el método de median joining. Para conocer las diferencias en los niveles de diversidad genética por categoría tanto para SSRn y SSRcp se realizó un análisis ANOVA y una prueba Tukey para discernir si los resultados obtenidos son significativamente diferentes.

### **9.6.2 Estructura genética y flujo génico**

Debido a la presencia de alelos nulos para algunos loci SSRn, se utilizó el programa FreeNA (Champus y Estoup, 2006) para estimar la frecuencia de alelos nulos para cada locus y población analizados por medio del algoritmo de maximización de expectativas (EM) (Dempster et al. 1977). También se estimó la diferenciación genética ( $F_{st}$ ) corregida para alelos nulos (Wier, 1996), implementada en el mismo programa, aplicando el método ENA (Chapuis y Estoup, 2006), el cual corrige eficientemente el sesgo positivo inducido por la presencia de alelos nulos en la estimación del  $F_{st}$ . Este análisis se realizó utilizando un método de remuestreo para cada loci con 10 000 réplicas y un intervalo de confianza del 95%. Adicionalmente, se estimó la diferenciación genética poblacional

por pares obtenida para SSRn y SSRcp por medio del Fst y Rst usando el software ARLEQUIN 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010).

Para estimar la estructura genética de las poblaciones y categorías de edad obtenida para ambos marcadores, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) por medio del programa ARLEQUIN 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010). El número de permutaciones para la prueba de significancia se estableció en 1 000 para todos los análisis. El AMOVA se realizó para dos criterios: en primer lugar, se realizó un análisis global para estimar la diferencia genética entre las cuatro poblaciones y dentro de los individuos de cada población, se asumió que todas las poblaciones forman un solo grupo. El segundo análisis, se realizó para conocer si existen diferencias en la composición genética entre cada una de las categorías de edad por población, cada población fue considerada como un grupo que a su vez se subdividió por cada categoría de edad.

La estructura genética de las poblaciones de *Q. insignis* para SSRn, fue calculada utilizando el algoritmo bayesiano de agrupamiento implementado en ParallelStructure 1.0 (Besnier y Glover, 2013), una implementación basada en R del programa STRUCTURE (Pritchard et al. 2000). Para estimar el valor de K, se utilizó un *burn in* de 500 000 y 5 000 000 repeticiones de cadenas de Markov (MCMC) con 10 iteraciones para cada K, valor que fluctuó de 1 a 5. Para detectar y visualizar el número de grupos genéticos que más se ajustaba a los datos obtenidos, se empleó el programa web Structure Harvester 0.6.94 (Earl y von Holdtl, 2012).

El flujo de genes medido para SSRn, fue estimado en función de las tasas de migración recientes ( $m$ ) entre los grupos genéticos utilizando una prueba de asignación en BayesASS 3.0.4 (Wilson y Rannala, 2003). Para buscar convergencia se realizaron cinco corridas de los datos, empleando *burn in* 1 000 000 y 1 000 repeticiones. Para escoger la réplica que proporciona el mejor ajuste se calculó la desviación bayesiana como criterio de optimización (Faubet et al. 2007) siguiendo las recomendaciones de Meirmans (2013).

## 9.7 Modelado de nicho ecológico

### 9.7.1 Registros geográficos y variables ambientales

Para la obtención de registros geográficos de *Q. insignis* se realizó una búsqueda empleando tres fuentes de información: (1) base de datos del GBIF (Global Biodiversity Information Facility; [www.gbif.org](http://www.gbif.org)), (2) registros del Herbario Nacional de México (MEXU) y (3) datos de trabajos de investigación y artículos científicos (Montes–Hernández et al. 2012, Rodríguez–Correa et al. 2017, Avendaño–Yáñez et al. 2014). Cada registro fue geoposicionado usando Google Earth, se eliminaron los registros duplicados y aquellos que estuvieran fuera del área de distribución geográfica de la especie.

Durante el proceso de revisión y compilación de datos de ocurrencias se obtuvieron 227 registros para *Q. insignis*. Después de la depuración de datos, se obtuvo un subconjunto de 113 registros que fueron utilizados para la modelación del nicho ecológico. Inicialmente se usaron 19 capas climáticas seleccionadas de WorldClim versión 2.0 (1970–2000) (Fick y Hijmans, 2017) para las condiciones actuales ([www.worldclim.org](http://www.worldclim.org)) con una resolución de 30 segundos (~1 km<sup>2</sup>). Posteriormente, se realizó una selección de las variables climáticas, se escogieron aquellas variables que no estuvieran correlacionadas, para la cual se realizó un análisis de correlación de Pearson y se estimó el factor de inflación de varianza (VIF) para eliminar las variables que presentan colinealidad. Las variables con valores de  $r > 0.7$  y el factor de inflación de varianza (VIF)  $> 10$  se excluyeron del análisis según lo sugerido por Montgomery y Peck (1992). Tanto la correlación de Pearson como la prueba de VIF se realizaron usando la biblioteca *corrplot* (Wei y Simko 2017) y *usdm* (Naimi et al. 2014) en Rstudio 1.1.453 (Equipo Rstudio, 2016). Adicionalmente, se realizó un análisis de importancia de variables de Jackknife implementado en Maxent 3.3.3 y se comparó con los resultados de la correlación con el fin de escoger las variables de mayor importancia y no correlacionadas.

### 9.7.2 Modelo de nicho ecológico (MNE) y proyecciones a futuro

Para realizar el MNE de *Q. insignis* se usó el algoritmo de máxima entropía implementado en Maxent (versión 3.3.3; <http://www.cs.princeton.edu/~schapire/maxent/>; Phillips et al. 2004, 2006). La calibración del modelo se realizó por medio de la definición del área accesible de la especie (“M” según el diagrama de BAM) de acuerdo con las provincias biogeográficas de Centroamérica (Morrone, 2002). Para la proyección a futuro del MNE se seleccionaron los modelos climáticos de MIROC5 (Model for Interdisciplinary Research on Climate; Hasumi y Emori, 2004) y MPI-ESM-LR (The Max-Planck-Institute Earth System Model, Giorgetta et al. 2013) por considerarse como los modelos con mejor rendimiento para las variables climáticas analizadas por el “NOAA Technical report” (Sheffield et al. 2014). Las proyecciones se realizaron para las condiciones del año 2080 y ambos modelos se usaron bajo los escenarios de cambio climático RCP 4.5 y 8.5.

Los modelos se corrieron 100 veces con 1000 iteraciones por validación cruzada (cross-validation), el 70% de los registros fueron seleccionados aleatoriamente para modelar el entrenamiento y el 30% para la prueba aleatoria. Para la validación del modelo se usó el valor del AUC, el porcentaje de tasa de omisión y punto corte del percentil 10 (Anderson et al. 2003). Posteriormente, se seleccionaron los modelos con valores de AUC mayores o iguales de 0.9 y se realizó una prueba de ROC parcial (Peterson et al. 2008) implementada en Nichetoolbox (Osorio-Olvera et al. 2018) para seleccionar la réplica con mayor significancia estadística. La descripción de los resultados se basó en las ecoregiones propuestas por Olson et al. (2001) debido a que es un mapa que ofrece una cobertura integral, con una clasificación basada en el conocimiento biogeográfico de las regiones, además de un nivel detallado de resolución pensado principalmente como unidades para acciones de conservación.

### **9.7.3 Modelo de nicho ecológico (MNE) y proyecciones a futuro dentro del Sistema Nacional de Áreas Naturales Protegidas (ANP)**

Para evaluar la cobertura y protección *in situ* del nicho ambiental de la especie se usaron las capas de Áreas Naturales Protegidas para México y Centroamérica (UNEP–WCMC, 2019). De igual forma, con el fin de evaluar la conservación del nicho ambiental *in situ* bajo escenarios de cambio climático se realizó la proyección del modelo dentro de las ANP para MIROC5 y MPI–ESM–LR bajo ambos escenarios de cambio climático (RCP 4.5 y 8.5). Teniendo en cuenta que la especie estudiada no forma extensos rodales monoespecíficos, es necesario identificar las ANP que albergan la mayor parte del área climática adecuada para las especies. Con ese fin, se realizaron regresiones lineales utilizando la función `lm` en Rstudio 1.1.453 (Rstudio Team, 2016) para evaluar si el tamaño del ANP está relacionado con la cantidad de área climática adecuada que está protegida, esta relación se estimó para todos los modelos climáticos. Todos los análisis espaciales fueron realizados usando el programa ArcGIS Desktop 10.3 ESRI (2014).

### **9.7.4 Cambios en el estado del hábitat de *Q. insignis***

Los análisis espaciales para *Q. insignis* incluyen una estimación de los cambios en la idoneidad ambiental ocupada por la especie y la disponibilidad de la misma, tanto dentro del sistema nacional de Áreas Naturales Protegidas para la región (ANP) como fuera del mismo. Para evaluar los cambios en el área del nicho ecológico se convirtieron los mapas de distribución potencial y de los escenarios de cambio climático para el 2080 a sistema binarios (1= presencia, 0= ausencia) estableciendo un valor umbral de decisión que representa una predicción positiva para la presencia de la especie. Para este estudio decidimos utilizar valores iguales al décimo percentil de presencia de entrenamiento, que considera la probabilidad de que se omita el 10% de los registros de presencia de entrenamiento, especialmente para los valores atípicos. Este umbral constituye un criterio más estricto (menos permisivo) para convertir una predicción continua en una binaria, lo que lleva a una predicción

geográfica más pequeña y permite minimizar los errores de comisión en los datos binarios finales.

Finalmente, a partir de los mapas binarios se estimó:

1. *Ganancia de nicho ecológico*: definida como el área nueva adquirida bajo las proyecciones a futuro que no se encontraban en el escenario de la modelación bajo las condiciones actuales.
2. *Pérdida de nicho ecológico*: se refiere al área que en la modelación actual hace parte del nicho ecológico y en las proyecciones a futuro se ha perdido.
3. *Área estable de nicho ecológico*: la estimación de las áreas que permanecen sin cambios bajo las condiciones actuales de modelación y las proyecciones futuras del modelo.

Las estimaciones anteriores fueron realizadas para los modelos MIROC5 (Model for Interdisciplinary Research on Climate; Hasumi y Emori, 2004) y MPI-ESM-LR (The Max-Planck-Institute Earth System Model; Giorgetta et al. 2013), bajo los dos escenarios RCP 4.5 y 8.5.

#### **9.7.5 Análisis de Conectividad**

Se estimó la conectividad funcional como un indicador de las áreas que deberían priorizarse para mejorar la conectividad de la especie a través de la dispersión de semillas y polen; esto servirá como una posible recomendación para proponer estrategias de conservación. Para modelar la conectividad entre las áreas de distribución de *Q. insignis* se utilizó el programa Circuitscape 4 (McRae y Beiber, 2007; McRae et al. 2016), el cual estima la resistencia o conductancia del paisaje a la conectividad funcional de la especie por medio de varias comparaciones de resistencia por pares a través de todos los caminos posibles.

Los nodos focales se definieron como las áreas con alta idoneidad ambiental para *Q. insignis*, se generaron 1000 nodos de manera aleatoria ubicados cada 100 km a largo de las áreas de distribución de la especie, con el fin de abarcar la totalidad de su distribución climática. La capa de resistencia se construyó a partir de un conjunto de 38 rasgos del paisaje agrupados en las categorías de elevación, pendiente, cobertura del suelo y áreas de distribución estable ante el cambio climático.

Para cada atributo del paisaje se asignó un valor de conductancia categórica, que refleja la probabilidad relativa de dispersión a través del hábitat entre los nodos focales. El rango de valores se asignó de 1–100, valores cercanos a 1 indican baja resistencia o alta permeabilidad, mientras que valores cercanos a 100 significan alta resistencia o baja permeabilidad. Los nodos focales y las capas de conductancia se desarrollaron utilizando la caja de herramientas Arcmap de Circuitscape 4.0 (McRae et al. 2016). Finalmente, se ejecutó Circuitscape usando el modo de pares entre todos los pares de nodos focales usando la opción de conexión de ocho vecinos.



## 10 RESULTADOS

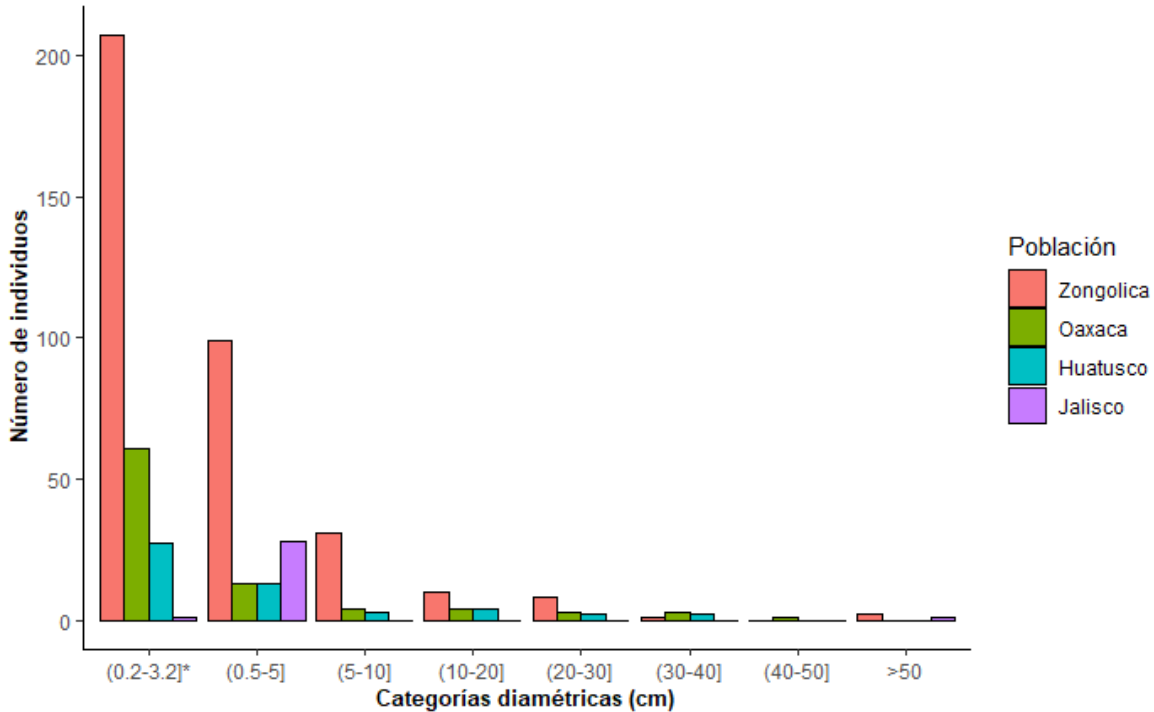
### 10.1 Descripción de atributos poblacionales de *Quercus insignis*

Los resultados de los atributos poblacionales de *Q. insignis* se muestran en la Tabla 2. En total, se encontraron 524 individuos de la especie, siendo la población de Zongolica la que registró el mayor número de individuos (357) seguida de Oaxaca (86) y Huatusco (47), mientras que la población de Jalisco exhibió el menor número de individuos muestreados dentro de la parcela (34). Con relación a los resultados de los individuos adultos con valores de DAP >3 cm y de DAP >10 cm, la densidad poblacional varió entre 20–690 ind/ha<sup>-1</sup> y 10–200 ind/ha<sup>-1</sup>. La población con mayor densidad total de individuos corresponde a la localidad de Zongolica, seguido de la población de Oaxaca, Huatusco y por último la población de Jalisco.

**Tabla 2.** Abundancia y densidad poblacional de *Quercus insignis* para cuatro poblaciones. Densidad total (ind/ha<sup>-1</sup>) corresponde a la densidad de todos los individuos incluyendo plántulas.

Población	Abundancia	Densidad DAP >5 cm (ind/ha <sup>-1</sup> )	Densidad DAP >10 cm (ind/ha <sup>-1</sup> )	Densidad total (ind/ha <sup>-1</sup> )
Jalisco	34	10	10	202
Oaxaca	86	120	90	763
Huatusco	47	70	50	470
Zongolica	357	210	200	3867
<b>Total</b>	<b>524</b>			

La estructura de tamaños de DAP en las poblaciones de *Q. insignis* presenta un patrón en forma de *j* invertida, es decir, una alta frecuencia de individuos pequeños con pocos individuos reproductores adultos. Se evidencia mayor frecuencia para plántulas y juveniles, además de una representación intermedia para preadultos, encontrándose los valores de frecuencias más bajo para la categoría de adultos (Figura 4). A nivel poblacional, la distribución de la frecuencia de las categorías de DAP sigue una tendencia similar, es decir, mayor frecuencia para plantulas y juveniles y baja frecuencia de individuos adultos (Figura 4).



**Figura 4.** Distribución de las categorías diamétricas basales, para el caso de plántulas\* y diámetro a la altura del pecho para el resto de los individuos de *Quercus insignis* en cuatro poblaciones estudiadas.

## 10.2 Diversidad genética por población detectada por SSRn

Todos los loci SSRn fueron polimórficos para tres de las cuatro poblaciones, la población de Zongolica presentó dos loci monomórficos que corresponden al locus Zag110 y el locus OM07. El análisis de alelos nulos por el método de Oosterhout et al. (2006) detectó una probabilidad significativa de alelos nulos a nivel global para tres loci, en el locus Zag110 con una frecuencia promedio de 0.166, en el locus OM07 con frecuencia promedio de 0.198 y en el locus Zag58 con frecuencia promedio de 0.079. El análisis a nivel poblacional detectó la presencia de alelos nulos en la población de Oaxaca para el locus OM07 con una frecuencia de 0.091 y para el locus zag58 con una frecuencia de 0.131 y para la población de Huatusco en el locus Zag58 con una frecuencia de 0.154. En las poblaciones de Jalisco y Zongolica no se detectaron alelos nulos. El análisis de alelos nulos con el algoritmo EM (Dempster et al. 1977) indicó una frecuencia promedio entre 0.003 y 0.301. Las estimaciones del EHW muestran que existen desviaciones significativas del equilibrio para diferentes locus dentro de cada población. Las poblaciones de Jalisco y Zongolica presentaron

el mayor número de locus con desviaciones significativas, mientras que Oaxaca y Huatusco presentaron el menor número de locus con desviaciones significativas para el EHW (Anexo 2).

Los resultados de la diversidad genética para SSRn, muestran que el número promedio de alelos ( $N_a$ ) por población varió entre 3.375 y 14.750, mientras que el número promedio de alelos efectivos ( $N_e$ ) osciló entre 1.976 y 7.372 (Tabla 3). La población de Oaxaca presentó los valores más altos para estos parámetros seguido de la población de Huatusco, mientras que las poblaciones de Jalisco y Zongolica muestran los valores más bajos para ambos parámetros. La diversidad genética evaluada por el índice de Shannon ( $I$ ) osciló entre 0.668 y 2.084, se encontró que la población de Oaxaca ( $I=2.084$ ) y Huatusco ( $I=1.661$ ) presentan una diversidad genética mayor a las poblaciones de Jalisco ( $I=1.260$ ) y Zongolica ( $I=0.668$ ). La heterocigosidad observada ( $H_o$ ) varió entre 0.618 y 0.809, la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) osciló entre 0.415 a 0.821. El índice de fijación mostró valores positivos para las poblaciones de Oaxaca y Huatusco y valores negativos para las poblaciones de Jalisco y Zongolica denotando un exceso de heterocigotos (Tabla 3).

### **10.3 Diversidad genética por categoría de edad detectada por SSRn**

Los niveles de diversidad genética medidos con SSRn incluyendo a todos los individuos por categoría, muestran valores similares para los parámetros de número promedio de alelos ( $N_a$ ), número efectivo de alelos ( $N_e$ ), índice de diversidad de Shannon ( $I$ ) y heterocigosidad esperada ( $H_e$ ). La heterocigosidad observada ( $H_o$ ) no mostró diferencias significativas entre los individuos de cada categoría ( $F=0.905$ ,  $g.l = 2$ ,  $p=0.409$ ). El índice de fijación ( $F$ ) fue positivo y varió entre 0.065 y 0.086 (Tabla 4).

**Tabla 3.** Parámetros de diversidad genética y error estándar en cuatro poblaciones de *Quercus insignis* para ocho marcadores microsatélites de núcleo. N: número de individuos genotipados, Na: número promedio de alelos. A: número promedio de alelos por locus independiente del tamaño de muestra. Ne: número efectivo promedio de alelos. I: índice de diversidad de Shannon, Ho: heterocigosidad observada, He: heterocigosidad esperada, uHe; heterocigosidad esperada corregida por el tamaño de muestra, F: índice de fijación.

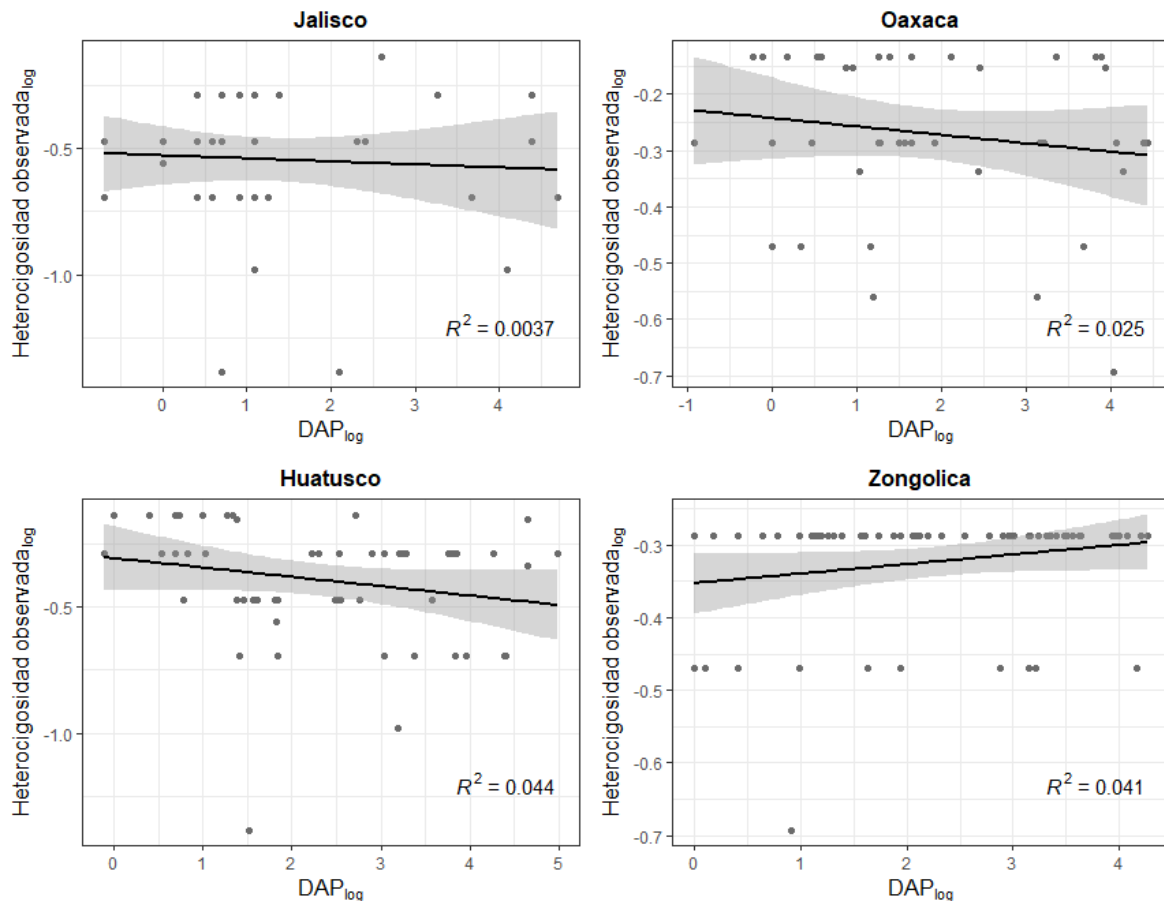
<b>Población</b>	<b>N</b>	<b>Na</b>	<b>A</b>	<b>Ne</b>	<b>I</b>	<b>Ho</b>	<b>He</b>	<b>uHe</b>	<b>F</b>
<b>Jalisco</b>	73	7.500 (1.052)	7.370 (1.005)	2.953 (0.428)	1.260 (0.181)	0.618 (0.078)	0.587 (0.080)	0.591 (0.080)	-0.068 (0.045)
<b>Oaxaca</b>	80	14.750 (2.305)	14.183 (2.245)	7.372 (1.743)	2.084 (0.188)	0.809 (0.044)	0.821 (0.032)	0.826 (0.033)	0.007 (0.058)
<b>Huatusco</b>	94	10.00 (1.210)	9.483 (1.173)	4.354 (0.670)	1.661 (0.126)	0.711 (0.035)	0.739 (0.032)	0.743 (0.032)	0.034 (0.040)
<b>Zongolica</b>	93	3.375 (0.822)	3.132 (0.713)	1.976 (0.238)	0.668 (0.161)	0.726 (0.159)	0.415 (0.093)	0.418 (0.093)	-0.775 (0.098)

Los resultados para cada categoría por población muestran que los parámetros del número de alelos (Na), número efectivo de alelos (Ne) e índice de diversidad de Shannon (I) oscilaron levemente dentro de cada población. Con relación a la heterocigosidad observada (Ho) no hubo diferencias significativas entre los individuos de las diferentes categorías para las poblaciones de Jalisco ( $F = 0.905$ ,  $g.l=2$ ,  $p = 0.409$ ), Oaxaca ( $F = 0.531$ ,  $g.l=2$ ,  $p = 0.590$ ), Huatusco ( $F = 1.055$ ,  $g.l=2$ ,  $p = 0.353$ ) y Zongolica ( $F = 0.368$ ,  $g.l=2$ ,  $p = 0.693$ ). El índice de fijación fue negativo para todas las categorías en las poblaciones de Jalisco, Oaxaca y Zongolica y presentó valores positivos para los adultos y plántulas de la población de Huatusco (Tabla 4).

**Tabla 4.** Parámetros de diversidad genética para las categorías de edad de *Quercus insignis* por población. El análisis global incluye todas las categorías sin discriminar por poblaciones. N: número de individuos genotipados; Na: número promedio de alelos; A: número promedio de alelos por locus independiente del tamaño de muestra; Ne: número efectivo de alelos; I: índice de diversidad de Shannon; Ho: heterocigosidad observada; He: heterocigosidad esperada; uHe: heterocigosidad esperada corregida por el tamaño de muestra; F: índice de fijación.

<b>Población</b>	<b>N</b>	<b>Na</b>	<b>A</b>	<b>Ne</b>	<b>I</b>	<b>Ho</b>	<b>He</b>	<b>uHe</b>	<b>F</b>
<b>Jalisco</b>									
Adultos	8	4.375 (0.565)	4.228 (0.530)	2.953 (0.390)	1.171 (1.171)	0.672 (0.057)	0.608 (0.060)	0.650 (0.064)	-0.116 (0.043)
Juveniles	35	5.625 (0.730)	3.979 (0.502)	3.011 (0.545)	1.184 (0.191)	0.595 (0.083)	0.571 (0.084)	0.579 (0.085)	-0.065 (0.043)
Plántulas	30	5.875 (0.934)	3.908 (0.476)	2.636 (0.273)	1.160 (0.176)	0.629 (0.101)	0.564 (0.083)	0.574 (0.084)	-0.127 (0.088)
<b>Oaxaca</b>									
Adultos	16	8.875 (1.445)	8.284 (1.250)	5.828 (1.171)	1.821 (0.175)	0.782 (0.046)	0.783 (0.039)	0.809 (0.041)	-0.012 (0.065)
Juveniles	33	10.750 (1.461)	8.326 (0.947)	6.370 (1.149)	1.951 (0.156)	0.816 (0.047)	0.809 (0.031)	0.822 (0.031)	-0.011 (0.065)
Plántulas	31	12.000 (1.783)	8.915 (1.185)	6.852 (1.450)	2.020 (0.174)	0.824 (0.048)	0.814 (0.032)	0.828 (0.032)	-0.015 (0.062)
<b>Huatusco</b>									
Adultos	30	7.750 (0.996)	7.604 (0.980)	4.094 (0.691)	1.539 (0.150)	0.686 (0.054)	0.706 (0.046)	0.719 (0.047)	0.025 (0.068)
Juveniles	33	8.125 (0.693)	7.791 (0.693)	4.163 (0.604)	1.613 (0.109)	0.744 (0.029)	0.733 (0.028)	0.744 (0.029)	-0.018 (0.028)
Plántulas	31	7.125 (0.639)	6.969 (0.636)	3.955 (0.425)	1.540 (0.099)	0.707 (0.049)	0.729 (0.026)	0.741 (0.026)	0.037 (0.054)
<b>Zongolica</b>									
Adultos	29	2.875 (0.666)	2.875 (0.666)	1.992 (0.248)	0.680 (0.166)	0.732 (0.161)	0.419 (0.094)	0.427 (0.096)	-0.774 (0.096)
Juveniles	34	2.625 (0.532)	2.551 (0.501)	1.949 (0.235)	0.648 (0.156)	0.721 (0.158)	0.412 (0.092)	0.418 (0.094)	-0.780 (0.108)
Plántulas	30	2.375 (0.420)	2.370 (0.418)	1.944 (0.232)	0.640 (0.152)	0.725 (0.159)	0.412 (0.092)	0.419 (0.093)	-0.786 (0.091)
<b>Global</b>									
Adultos	83	14.375 (1.945)	14.142 (1.897)	5.114 (0.829)	1.873 (0.148)	0.719 (0.077)	0.765 (0.038)	0.769 (0.039)	0.065 (0.086)
Juveniles	135	15.875 (2.022)	14.431 (1.810)	5.515 (0.866)	1.996 (0.149)	0.717 (0.053)	0.782 (0.036)	0.785 (0.036)	0.086 (0.052)
Plántulas	122	16.125 (2.279)	14.717 (1.911)	5.363 (0.775)	1.992 (0.125)	0.721 (0.058)	0.783 (0.032)	0.786 (0.032)	0.083 (0.062)

El tamaño del DAP y la heterocigosidad observada calculada para cada individuo no siguieron una distribución normal de acuerdo con la prueba de Kolmogorov–Smirnov implementada ( $D = 0.290$ ,  $p < 0.001$ ). Por lo tanto, se usaron valores transformados logarítmicamente para desarrollar los modelos de regresión lineal (Figura 5). Dichos modelos mostraron que el tamaño del DAP y la heterocigosidad no siguen un comportamiento lineal (Figura 5). Los valores del coeficiente de determinación fueron muy bajos para todas las poblaciones y variaron entre 0.003 y 0.040. Los valores observados para las cuatro poblaciones fueron  $R^2 = 0.0037$ ,  $gl = 40$ ,  $F = 0.148$ ,  $p = 0.702$  para Jalisco,  $R^2 = 0.025$ ,  $gl = 39$ ,  $F = 0.995$ ,  $p = 0.324$  para Oaxaca,  $R^2 = 0.044$ ,  $gl = 54$ ,  $F = 2.475$ ,  $p = 0.121$  para Huatusco y  $R^2 = 0.041$ ,  $gl = 61$ ,  $F = 2.617$ ,  $p = 0.110$  para Zongolica.



**Figura 5.** Correlación entre el DAP de los individuos de *Quercus insignis* y la heterocigosidad cruda (Ho) individual para las cuatro poblaciones.

#### **10.4 Diversidad genética por población y categoría para SSRcp**

El 100% de los loci SSRcp fueron polimórficos, en general, se detectaron 13 alelos entre 340 individuos de *Q. insignis* a partir de cuatro loci. El número promedio de alelos por locus ( $N_a$ ) fue bajo y varió entre 1.50 y 2.00. La diversidad genética promedio por loci para cada población ( $h_s$ ) presentó valores entre 0.05 y 0.13 (Tabla 5). La diversidad promedio ( $h_s$  (SE)) y la diversidad total ( $h_t$  (SE)) fueron 0.129 (0.038) y 0.507 (0.116) respectivamente.

Los niveles de diversidad genética medidas con SSRcp incluyendo a todos los individuos por categoría, muestra valores iguales para el número promedio de alelos ( $N_a$ ) y no existen diferencias significativas en la diversidad genética por loci ( $h$ ) para cada categoría ( $F=0.079$ ,  $p=0.925$ ). A escala poblacional, el número de alelos ( $N_a$ ) osciló levemente dentro de cada población, entre 1.333 y 1.500 alelos. La diversidad genética por loci ( $h$ ) varió entre 0.042 y 1.161 (Tabla 5).

#### **10.5 Diversidad haplotípica por población**

La combinación de loci SSRcp que fueron polimórficos permitieron distinguir 18 haplotipos (Anexo 3). Las poblaciones de Jalisco, Oaxaca y Huatusco presentaron cinco haplotipos, mientras que la población de Zongolica presentó tres (Tabla 6). Los haplotipos H2, H6, H12 y H16 son los más frecuentes para las poblaciones de Jalisco, Oaxaca, Huatusco y Zongolica respectivamente (Ver figura 7, Anexo 3). La frecuencia de los haplotipos varió entre 0.01 y 0.82, los haplotipos H1, H10, H11, H15 se presentaron en sólo un individuo, mientras que los 14 haplotipos restantes se encontraron en tres o más individuos (Anexo 3).

**Tabla 5.** Parámetros de diversidad genética y error estándar por categoría y para cada población basados en microsatélites de cloroplasto. El análisis global incluye todas las categorías de edad sin discriminar por poblaciones. N: Número de individuos, Na: Número promedio de alelos, h: diversidad genética promedio sobre loci.

<b>Población</b>	<b>N</b>	<b>Na</b>	<b>h</b>
<b>Jalisco</b>	73	2.00 (0.408)	0.188(0.113)
Adultos	8	1.750 (0.250)	0.242 (0.089)
Juveniles	35	1.500 (0.500)	0.148 (0.148)
Plántulas	30	1.750 (0.479)	0.129 (0.092)
<b>Oaxaca</b>	80	1.750 (0.250)	0.148 (0.083)
Adultos	16	1.500 (0.289)	0.087 (0.056)
Juveniles	33	1.500 (0.289)	0.102 (0.069)
Plántulas	31	1.750 (0.250)	0.100 (0.055)
<b>Huatusco</b>	94	1.750 (0.250)	0.087 (0.046)
Adultos	30	1.500 (0.224)	0.042 (0.021)
Juveniles	33	1.333 (0.211)	0.054 (0.037)
Plántulas	31	1.333 (0.211)	0.074 (0.049)
<b>Zongolica</b>	93	1.500 (0.289)	0.094 (0.074)
Adultos	30	1.500 (0.224)	0.042 (0.021)
Juveniles	33	1.333(0.211)	0.054(0.037)
Plántulas	31	1.333(0.211)	0.074(0.049)
<b>Global</b>			
Adultos	83	3.000(0.408)	0.474(0.122)
Juveniles	135	3.000(0.408)	0.532(0.098)
Plántulas	122	3.000(0.408)	0.475(0.136)

El número efectivo de haplotipos varió entre 1.461 y 2.812, con una media de 1.948 (0.613) para todas las poblaciones. Todos los haplotipos detectados son privados para cada población, es decir, no se detectaron haplotipos compartidos entre las poblaciones (Ver figura 7). La diversidad de haplotipos osciló entre 0.319 y 0.653. La distancia genética media entre individuos dentro de cada población varió entre 0.269 y 0.729 (Tabla 6)



**Tabla 6.** Medidas de diversidad haplotípica para las cuatro poblaciones y categorías de *Quercus insignis* con base en cuatro SSRcp. N: número de individuos; A: número de haplotipos; P: número de haplotipos privados; Ne: número efectivo de haplotipos, He: diversidad genética;  $D_{sh}^2$ : distancia genética media entre individuos

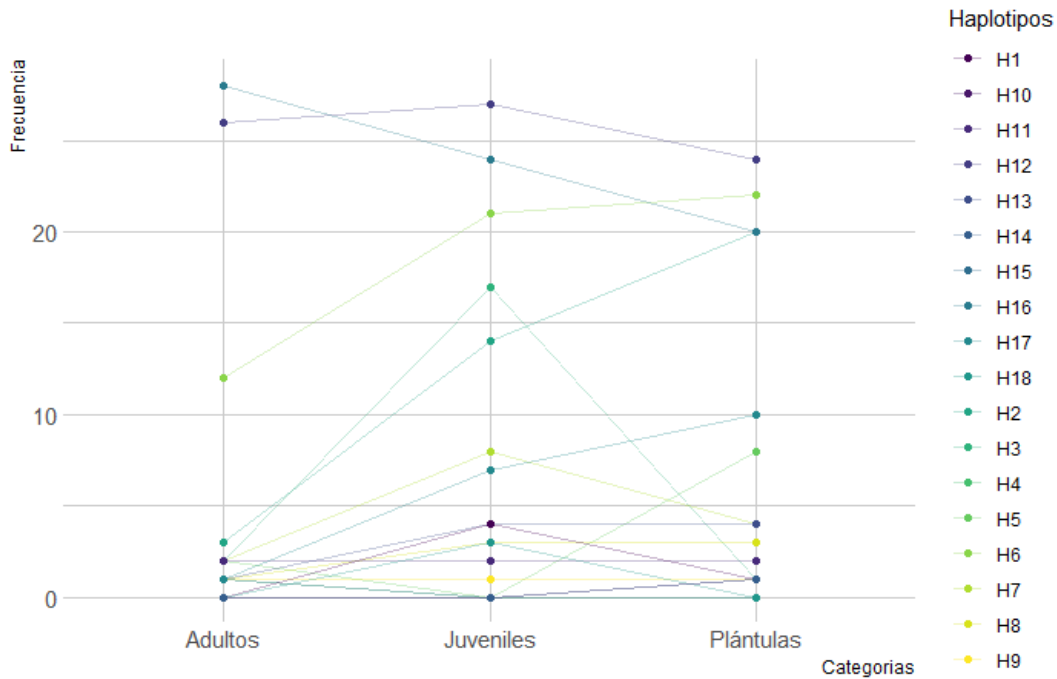
<b>Población</b>	<b>N</b>	<b>A</b>	<b>P</b>	<b>Ne</b>	<b>He</b>	<b><math>D_{sh}^2</math></b>
Jalisco	73	5	5	2.812	0.653	0.729
Oaxaca	80	5	5	1.951	0.494	0.544
Huatusco	94	5	5	1.461	0.319	0.281
Zongolica	93	3	3	1.568	0.366	0.269
<i>Media</i>	85	4.5	4.5	1.948	0.458	0.456
<i>d.e</i>		1	1	0.613	0.15	0.222
<b>Categoría</b>	<b>N</b>	<b>A</b>	<b>P</b>	<b>Ne</b>	<b>He</b>	<b><math>D_{sh}^2</math></b>
Adultos	83	14	2	4.213	0.772	7.45
Juvenil	135	13	1	7.597	0.875	7.231
Plántulas	122	15	2	7.176	0.868	6.147
<i>Media</i>	113.333	14	1.667	6.329	0.838	6.943
<i>d.e</i>		1	0.577	1.844	0.057	0.698

### 10.6 Haplotipos por categorías de edad

En cuanto a los haplotipos distribuidos para cada categoría de edad, los adultos presentaron 14 haplotipos, los juveniles 13 haplotipos y las plántulas 15 haplotipos (Tabla 6, Figura 6). Los haplotipos H4 y H15 son exclusivos de los adultos mientras que los haplotipos H1, H18, H10 y H14 fueron exclusivos de juveniles y plántulas. De los cuales, los haplotipos H10 y H14 son exclusivos de plántulas y el H18 de juveniles y los haplotipos restantes correspondientes a los haplotipos H2, H3, H6, H8, H9, H7, H11, H13, H12, H16 y H17 están representados en las tres categorías (Figura 6).

La variación de la frecuencia encontrada en los diferentes haplotipos para cada categoría sugiere que en algunos haplotipos como el H16, la frecuencia disminuye con las generaciones recientes y algunos haplotipos desaparecen en la progenie como es el caso del H4 y H15, indicando una posible pérdida de la información genética para las nuevas generaciones. Por otro lado, los haplotipos exclusivos encontrados en las progenies (juveniles y plántulas) representan haplotipos nuevos o no encontrados con el muestreo genético y en el caso de los haplotipos H2, H6, H7, H5, H1,

H17, H12 y H8 dónde la frecuencia en plántulas y juveniles fue mayor a la encontrada para los adultos demuestran que aún se conservan y se expanden a través del tiempo (Figura 6).



**Figura 6.** Cambio en la frecuencia de haplotipos a través de las categorías de edad en las poblaciones estudiadas de *Quercus insignis*.

### 10.7 Estructura genética y flujo de genes

El análisis de diferenciación genética ( $F_{ST}$ ) entre las cuatro poblaciones con la corrección ENA fue de  $F_{ST} = 0.232$  y sin la corrección fue de  $F_{ST} = 0.232$ , es decir no hubo cambios en los valores de  $F_{ST}$  por efectos de alelos nulos. El intervalo de confianza del 95% para el valor de  $F_{ST}$  corregido después del método de muestreo fue de 0.174 a 0.293 y para el método no corregido fue de 0.174 a 0.295. Con relación a la diferenciación genética basada en  $F_{ST}$  para SSRn, se encontraron valores estadísticamente significativos entre 0.125 y 0.328 (Tabla 7). Las poblaciones con menor diferenciación genética para el  $F_{ST}$  fueron Huatusco y Oaxaca. Las poblaciones con mayor diferenciación  $F_{ST}$  fueron Zongolica y Oaxaca. La distancia genética para SSRn medida por  $R_{ST}$

presentó valores estadísticamente significativos y varió entre 0.153 y 0.406 (Tabla 7). Las poblaciones con menor diferenciación genética para el  $R_{ST}$  fueron Jalisco y Zongolica, mientras que las poblaciones con mayor diferenciación fueron Zongolica y Oaxaca.

**Tabla 7.** Comparaciones pareadas de los valores  $F_{ST}$  y  $R_{ST}$  entre poblaciones de *Quercus insignis* basados en marcadores moleculares microsatélites de núcleo (SSRn) y cloroplasto (SSRcp). Los valores con  $p < 0.05$  están definidos por \*.

	Población	SSRn			SSRcp		
		Jalisco	Oaxaca	Huatusco	Jalisco	Oaxaca	Huatusco
$F_{ST}$	Jalisco						
	Oaxaca	0.197*			0.679*		
	Huatusco	0.203*	0.125*		0.774*	0.779*	
	Zongolica	0.278*	0.328*	0.307*	0.820*	0.804*	0.878*
$R_{ST}$	Jalisco						
	Oaxaca	0.364*			0.657*		
	Huatusco	0.247*	0.245*		0.924*	0.828*	
	Zongolica	0.153*	0.406	0.343*	0.807*	0.911*	0.968*

Los resultados del análisis de diferenciación genética para SSRcp se muestran en el Tabla 7. Los valores de  $F_{ST}$  fueron altos, oscilaron entre 0.679 y 0.878. Las poblaciones de Huatusco y Zongolica ( $F_{ST}=0.878$ ,  $p < 0.05$ ) y Jalisco y Zongolica presentaron los valores más alto de diferenciación ( $F_{ST}=0.820$ ,  $p < 0.05$ ). La menor diferenciación genética fue entre Jalisco y Oaxaca ( $F_{ST}=0.679$ ,  $p < 0.05$ ). La diferenciación genética  $R_{ST}$  varió entre 0.657 y 0.968, las poblaciones con mayor valor de diferenciación genética se presentaron entre los pares de Huatusco y Zongolica ( $R_{ST}=0.968$ ,  $p < 0.05$ ) y Jalisco y Huatusco ( $R_{ST}=0.924$ ,  $p < 0.05$ ). La menor diferenciación genética  $R_{ST}$  fue entre Jalisco y Oaxaca ( $R_{ST}=0.657$ ,  $p < 0.05$ ).

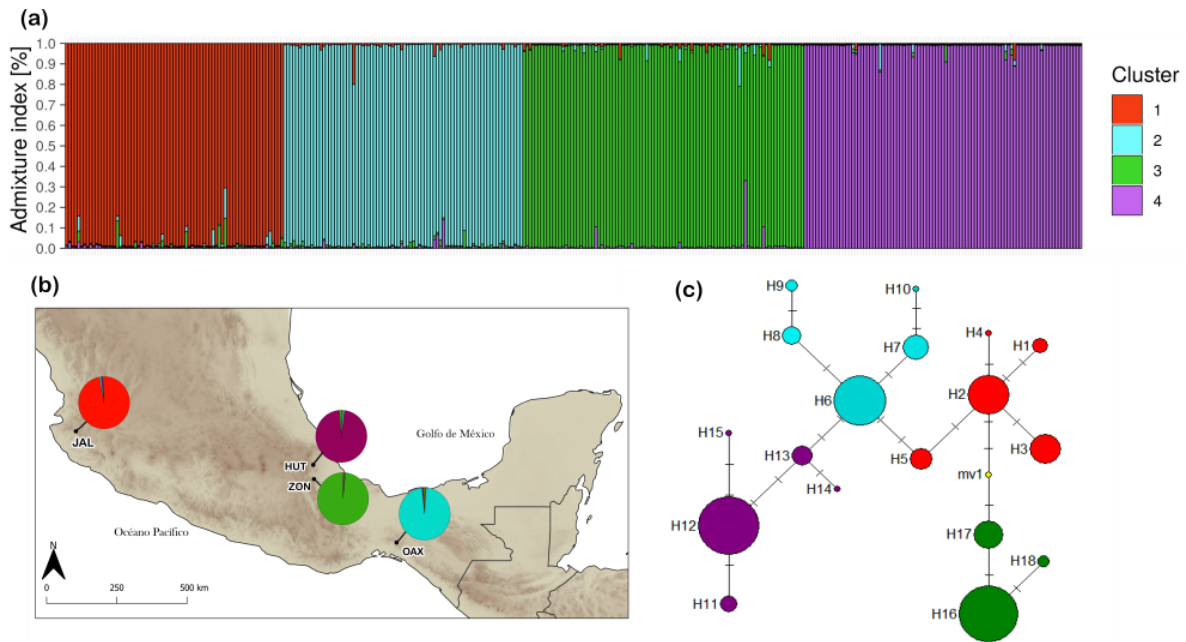
El análisis de varianza molecular (AMOVA) para SSRn indicó que el 75.96% de la variación se presentó dentro de las poblaciones y el 24.04% entre las poblaciones. Mientras que para SSRcp el AMOVA mostró una diferenciación genética alta entre las poblaciones ( $F_{ST}=0.801$   $p < 0.001$ ) y una baja variación dentro de las poblaciones. Por otro lado, el AMOVA para evaluar la diferencia en las frecuencias genéticas entre las categorías de edad para SSRn, mostró una baja diferenciación genética

entre las categorías de edad dentro de cada población ( $F_{sc} = 0.008$ ,  $p < 0.001$ ) y la mayor variación se encuentra dentro de los individuos de cada categoría (Tabla 8). Para SSRcp, el AMOVA mostró que hay diferencias significativas entre las categorías dentro de cada población ( $F_{sc} = 0.119$ ,  $p < 0.001$ ) sin embargo, la magnitud de la variación es baja (2.66%) y la mayor variación se encuentra entre los grupos representados por cada población (Tabla 8).

**Tabla 8.** Análisis de varianza molecular (AMOVA) para cuatro poblaciones de *Quercus insignis* estudiadas basados en las frecuencias alélicas de ocho marcadores microsatélites de núcleo (SSRn) y cuatro marcadores microsatélites de cloroplasto (SSRcp).

Grupos	Fuente de Variación	g.l.	Varianza	Variación (%)	Índice de Fijación	P
<b>SSRn</b>						
Poblaciones	Entre poblaciones	3	0.685	24.04	$F_{ST}=0.240$	<0.001
	Dentro de poblaciones	676	2.165	75.96		
Categorías	Entre grupos	3	0.678	23.81	$F_{CT} = 0.238$	<0.001
	Entre categorías dentro de grupos	8	0.018	0.65	$F_{SC} = 0.008$	<0.001
	Dentro categorías	668	2.153	75.54	$F_{ST} = 0.244$	<0.001
<b>SSRcp</b>						
Poblaciones	Entre poblaciones	3	1.020	80.13	$F_{ST}=0.801$	<0.001
	Dentro de poblaciones	336	0.253	19.86		
Categorías	Entre grupos	3	1.016	77.79	$F_{CT} = 0.777$	<0.001
	Entre categorías dentro de grupos	8	0.035	2.66	$F_{SC} = 0.119$	<0.001
	Dentro categorías	328	0.258	19.55	$F_{ST} = 0.804$	<0.001

Los resultados obtenidos por el análisis bayesiano de STRUCTURE muestra un valor máximo de  $\Delta K$  (Evanno et al. 2005) en  $K = 4$  agrupando a los individuos de *Q. insignis* en cuatro grupos genéticos que concuerdan con la distribución geográfica de la especie, sugiriendo una fuerte estructura genética para las poblaciones de la especie (Figura 7). Con relación al flujo de genes las cinco réplicas de BAYESSAS obtuvieron desviaciones similares. Las estimaciones de las tasas de migración recientes entre las poblaciones de *Q. insignis* fueron bajas y presentaron valores simétricos, el número de migrantes varió entre 0.003 y 0.006 (Anexo 4).



**Figura 7.** Estructura genética de *Quercus insignis*; (a–b) resultados del análisis de agrupamiento bayesiano de STRUCTURE mostrando cuatro grupos genéticos correspondientes a cuatro poblaciones de *Quercus insignis*; (c) red de haplotipos de marcadores microsatélites de cloroplasto para las cuatro poblaciones estudiadas de *Quercus insignis*. Los colores representan las cuatro poblaciones: rojo: Jalisco, azul: Oaxaca, morado: Huatusco, verde: Zongolica.

## 10.8 Modelación de Nicho Ecológico (MNE)

### 10.8.1 Nicho ecológico y efecto del cambio climático

Del conjunto inicial de las 19 variables bioclimáticas para el MNE 11 fueron excluidas debido a los altos niveles de correlación y VIF ( $r > 0.7$  y  $VIF > 10$ ). El conjunto final de variables bioclimáticas utilizadas para construir los modelos se enlista en el Anexo 5. El desempeño del modelo de nicho ecológico fue adecuado, los valores de AUC para los datos de entrenamiento y prueba fueron 0.950 y 0.952 (s.d = 0.011) respectivamente, con una tasa de omisión de 8.7% y un valor umbral logístico de 0.318. Las estadísticas parciales de la prueba de ROC mostraron que la réplica seleccionada del modelo era significativamente diferente de las expectativas aleatorias ( $p < 0.05$ ). Así mismo, la prueba de importancia de Jackknife mostró que la mayor parte de la variación en los resultados del modelo de nicho es explicada por la temperatura media del trimestre más húmedo (Bio 8; 57.1%) seguida de

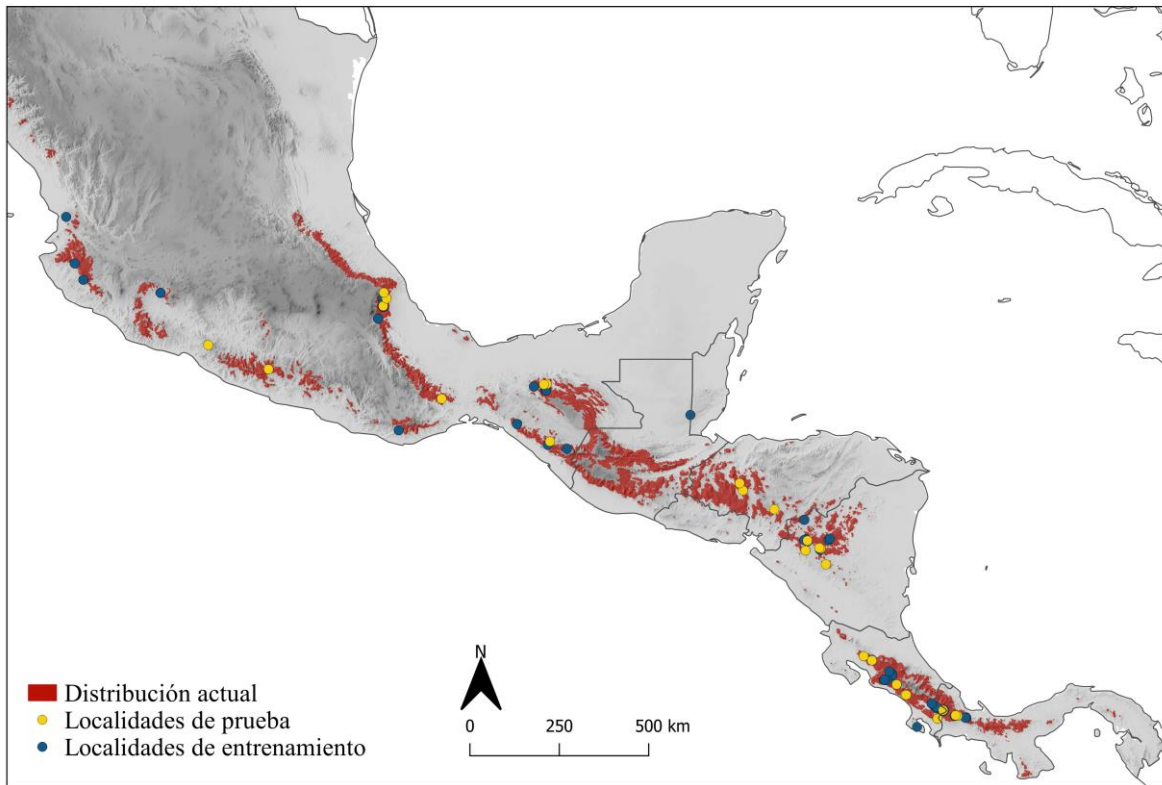
la precipitación del mes más húmedo (Bio 13; 12.9%) y precipitación del cuarto más frío (Bio 19; 8.8%) (Anexo 5).

El área total de distribución potencial para *Quercus insignis* fue ~87 209 km<sup>2</sup> cubriendo principalmente regiones montañosas desde México hasta Panamá. La mayor proporción de la distribución potencial se encuentra en México (36.81%, ~ 32101 km<sup>2</sup>), seguida de los países centroamericanos Guatemala, Honduras y Costa Rica, que albergan entre el 14.12 y 17.93%, mientras que Panamá y Nicaragua que albergan el 7.7% (~ 6 726 km<sup>2</sup>) del total del área de la distribución potencial (Figura 8). A escala de ecorregión, la distribución potencial de *Q. insignis* abarca 29 ecorregiones. Las ecorregiones con mayor área de distribución potencial para *Q. insignis* corresponden a los bosques montanos de América central que incluyen el sur de México, Guatemala, Honduras y el Norte de Nicaragua (38.40%, ~ 33 492 km<sup>2</sup>), seguido de los bosques montanos de Talamanca que abarcan Costa Rica y el norte de Panamá (10.05%, ~8 761 km<sup>2</sup>). Las ecorregiones restantes, entre ellas los complejos montañosos del Norte, Centro y Sur de México albergan menos del 7% de la distribución potencial de *Q. insignis* (Figura 8).

La distribución potencial de *Q. insignis* (Figura 8) exhibe una distribución altamente fragmentada para las ecorregiones de la Sierra Madre Occidental, el Cinturón Volcánico Trans-Mexicano y la Sierra Madre del Sur. Por el contrario, en las ecorregiones de los complejos montañosos influenciados por el Golfo de México, *Q. insignis* mostró áreas más continuas y ambientalmente adecuadas, las cuales abarcan los bosques de pino-encino de la Sierra Madre Oriental, los bosques montanos de Veracruz y los bosques montanos de Oaxaca. Su distribución se interrumpe en el Istmo de Tehuantepec y continúa en las ecorregiones de los bosques montanos de Chimalapas y hacia la ecorregión del bosque montano de Chiapas.

Continuando sobre los bosques Montanos de América Central desde el sur de México, hacia Guatemala, Honduras y el norte de Nicaragua, donde se obtuvieron áreas con altos valores de idoneidad ambiental y en su mayoría con distribución continua. Dicha continuidad en las áreas de distribución de nicho ecológico es interrumpida por la Depresión de Nicaragua (ND; Nicaragua), y

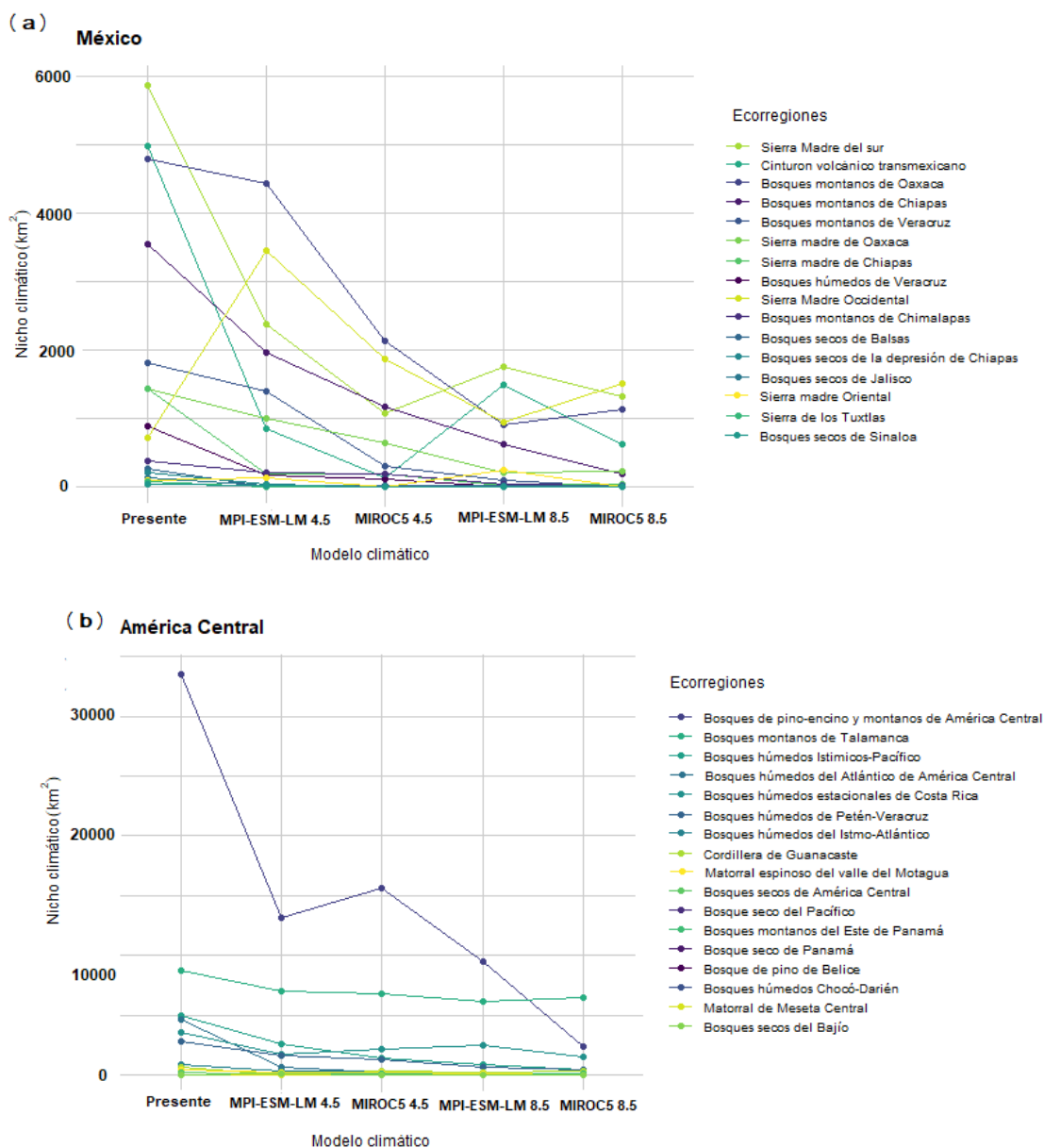
continúa a partir de la Cordillera de Guanacaste, los Bosques Montanos de Talamanca y por último el Bosque Húmedo Ístmico–Pacífico en Panamá



**Figura 8.** Mapa de registros de *Quercus insignis* (n=113) y área de proyección de MaxEnt. El modelo de distribución potencial se muestra con el valor umbral del valor de 10 percentil (color rojo). Localidades usadas para el entrenamiento (puntos azules) y localidades usadas para la prueba (puntos amarillos).

Los resultados de las proyecciones de cambio climático para el 2080 bajo el escenario RCP 4.5 sugieren una reducción notable de áreas ambientalmente adecuadas entre el 49.5% y 58.24% para los modelos MPI–ESM–LM y MIROC5 respectivamente (Anexo 8) Mientras que el escenario RCP 8.5 muestra una reducción de áreas más severa, entre el 69.43% para MIROC5 y 80.21% para MPI–ESM–LM (Anexo 8). A escala de ecorregión, el 90% de las ecorregiones exhiben reducciones para el nicho climático de *Q. insignis* (figura 9a–b). Esta reducción de áreas afecta fuertemente las ecorregiones montañosas de México influenciadas por el Pacífico, incluyendo el Cinturón Volcánico Trans–Mexicano y la Sierra Madre del Sur, con excepción de la Sierra Madre Occidental que

experimenta un aumento de áreas con alta idoneidad ambiental bajo los cuatro escenarios de cambio climático (Figura 9a, Anexo 8).



**Figura 9.** Cambio de las proyecciones de cambio climático para el año 2080 estimado para cuatro modelos climáticos (MPI-ESM-LM 4.5, MIROC5 4.5, MPI-ESM-LM 8.5 y MIROC5 8.5) con respecto al modelo del presente. (a) Ecorregiones de Mexico; (b) ecorregiones de America central.



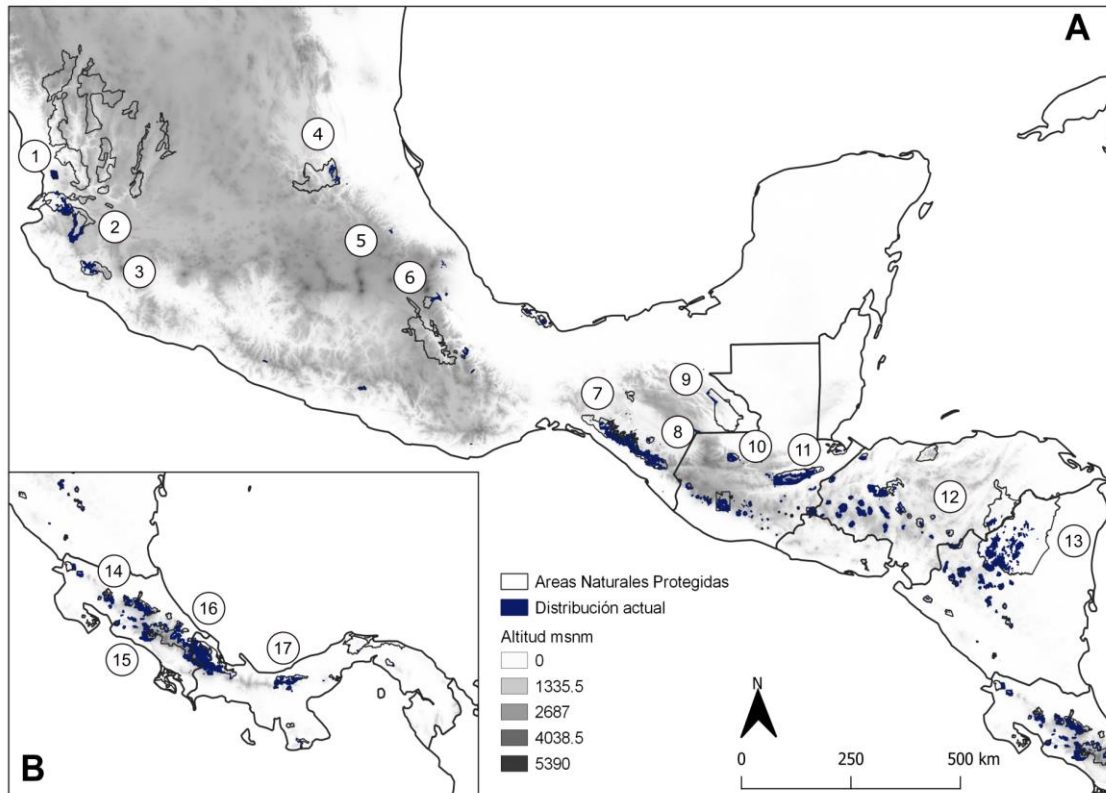
Con respecto a los cambios esperados para las ecorregiones Centroamericanas, se observa una fuerte reducción de áreas ambientalmente adecuadas para los bosques montanos de América Central los cuales abarcan Guatemala, Honduras y Nicaragua. La reducción es estimada entre el 53.30% y 92.74% para los modelos MIROC5 4.5 y MPI-ESM-LM 8.5 respectivamente (Figura 9b, Anexo 8). Por el contrario, la reducción de áreas ambientalmente adecuada es menor para Costa Rica y Panamá, principalmente para los bosques montanos de Talamanca que exhiben una reducción entre máxima del 25.82% bajo el modelo MPI-ESM-LM 8.5 (Figura 9b). Sin embargo, las ecorregiones restantes tales como los bosques montanos de la Cordillera de Guanacaste y los bosques húmedos del Istmo Pacífico y Atlántico sufren una fuerte reducción de áreas ambientalmente adecuadas estimadas en más del 50% bajo cambio climático (Figura 9b).

En resumen, los modelos sugieren que las sierras de México, Guatemala, Honduras y Nicaragua experimentaron una reducción drástica en las áreas de distribución del nicho climático que podrían ser aún más intensas bajo el escenario pesimista (RCP 8.5) y el modelo MPI-ESM-LR. Todos los resultados de la MNE coinciden en que las montañas de Costa Rica y Panamá, principalmente la cordillera de Talamanca, mantendrán condiciones ambientales adecuadas para la especie y algunas regiones como la Sierra Madre Occidental aumentarán las áreas ambientalmente adecuadas para *Q. insignis*. Por último, el impacto del cambio climático afectará en mayor medida los complejos montañosos influenciados por la vertiente del Pacífico.

### **10.8.2 Nicho ecológico bajo ANP y efecto del cambio climático**

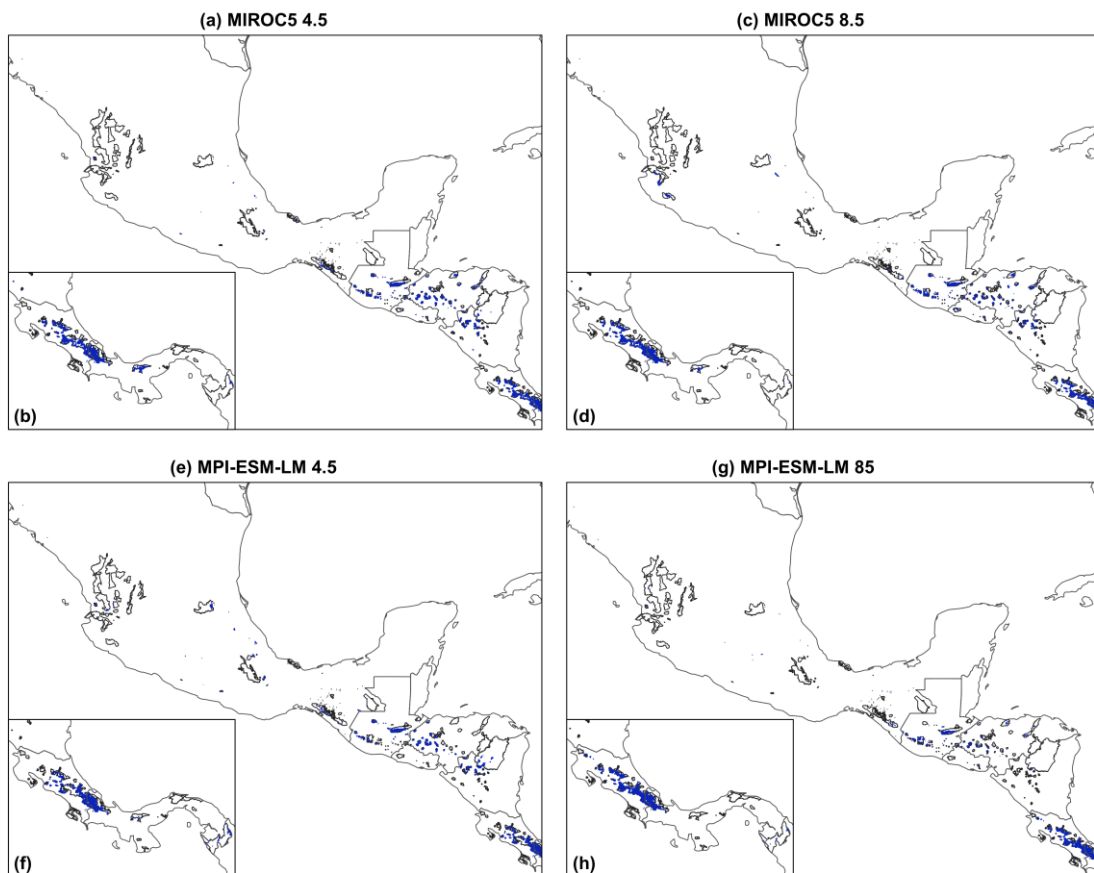
La distribución potencial de *Q. insignis* dentro de las ANP corresponde al 21.56% (~ 18.809 km<sup>2</sup>). En total, se encontraron 233 ANP de las cuales 38 albergan más de 100 km<sup>2</sup> del área de nicho climático de la especie (Anexo 8). Honduras es el país con mayor número de ANP con distribución potencial (13), seguido de México (7), Costa Rica (6), Nicaragua (5), Panamá (3) y Guatemala (4). Las ANP que corresponden a la Reservas de la Cordillera de Talamanca-La Amistad (17.53%, ~ 3298 km<sup>2</sup>), seguido de la Reserva Biológica Bosawas (12.22%, ~ 2300 km<sup>2</sup>), las Reservas de la Biosferas el

Triunfo y la Sepultura (9.3% ~1761 Km<sup>2</sup>), la Reserva de la Biosfera Sierra de Minas (6% ~ 1127 km<sup>2</sup>) y la Cuenca Alimentadora del Distrito Nacional de Riego (C.A.D.N.R) 043 Estado de Nayarit (4.5%~858 km<sup>2</sup>), corresponden a las ANP que mayor distribución potencial albergan; las ANP restantes contienen menos del 3% del área de distribución potencial (< 450 km<sup>2</sup>) del nicho climático de *Q. insignis* (Figura 10).



**Figura 10.** Modelo de distribución potencial de *Quercus insignis* dentro del sistema nacional de áreas naturales protegidas desde México hasta Nicaragua (A) y Costra Rica y Panamá (B). Los números corresponden a las áreas naturales que albergan la mayor cantidad de área ambientalmente adecuada. 1: Reserva de la biosfera de San Juan; 2: C.A.D.N.R Estado de Nayarit; 3: Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán; 4: Reserva de la Biosfera Sierra Gorda; 5: Zona Protectora Forestal Vedada Cuenca Hidrográfica del Río Necaxa; 6: Parque Nacional Cañón del Río Blanco; 7: Reserva de la biosfera La Sepultura; 8: Reserva de la Biosfera El Triunfo; 9: Reserva de la Biosfera Montes Azules; 10: Reserva de la Biosfera Isis Cabá; 11: Reserva de Biosfera Sierra las Minas; 12: Reserva de la Biosfera el Jilguero; 13: Reserva de la Biosfera Bosawas; 14: Parque Nacional Braulio Carrillo 15: Reserva forestal Los Santos, 16: Reservas de la Cordillera de Talamanca–La Amistad /Parque Nacional de la Amistad; 17: Parque Nacional Santa Fe.

Adicionalmente, la proyección de los modelos para el año 2080 bajo ambos escenarios de cambio climático resulta en una reducción crítica o la desaparición de áreas ambientalmente adecuadas para *Q. insignis* dentro de los límites de varias ANP (Figura 11). Principalmente para ANP ubicadas dentro de México, incluyendo La Reserva de la Biosfera Sierra del Manantlán, Reserva de la Biosfera El Triunfo y la Sepultura, además de varias ANP ubicadas hacia el Golfo de México que exhiben una pérdida de casi el 100% del área ambientalmente adecuada para la especie.



**Figura 11.** Proyección de los modelos de nicho ecológico para *Quercus* dentro del sistema nacional de Áreas Naturales Protegidas (ANP) bajo dos escenarios climáticos RCP 4.5 y RCP 8.5 para el año 2080. (a–b) MIROC5 4.5; (c–d) MIROC5 8.5; (e–f) MPI–ESM–LM 4.5 y (g–h) MPI–ESM–LM 8.5.

En Centroamérica, las ANP de Guatemala, Honduras y Nicaragua también experimentan una gran pérdida de áreas de nicho climático, con algunas excepciones donde los modelos predicen que

la reducción de las áreas ambientalmente adecuadas será menos drástica, como es el caso de la reserva de la Biosfera Sierra de Minas entre otras ANP de menor extensión. Mientras que la reducción del rango de nicho climático parece menos pronunciada, específicamente para las ANP de Costa Rica y Panamá como es el caso de la Reserva de la Cordillera de Talamanca–La Amistad.

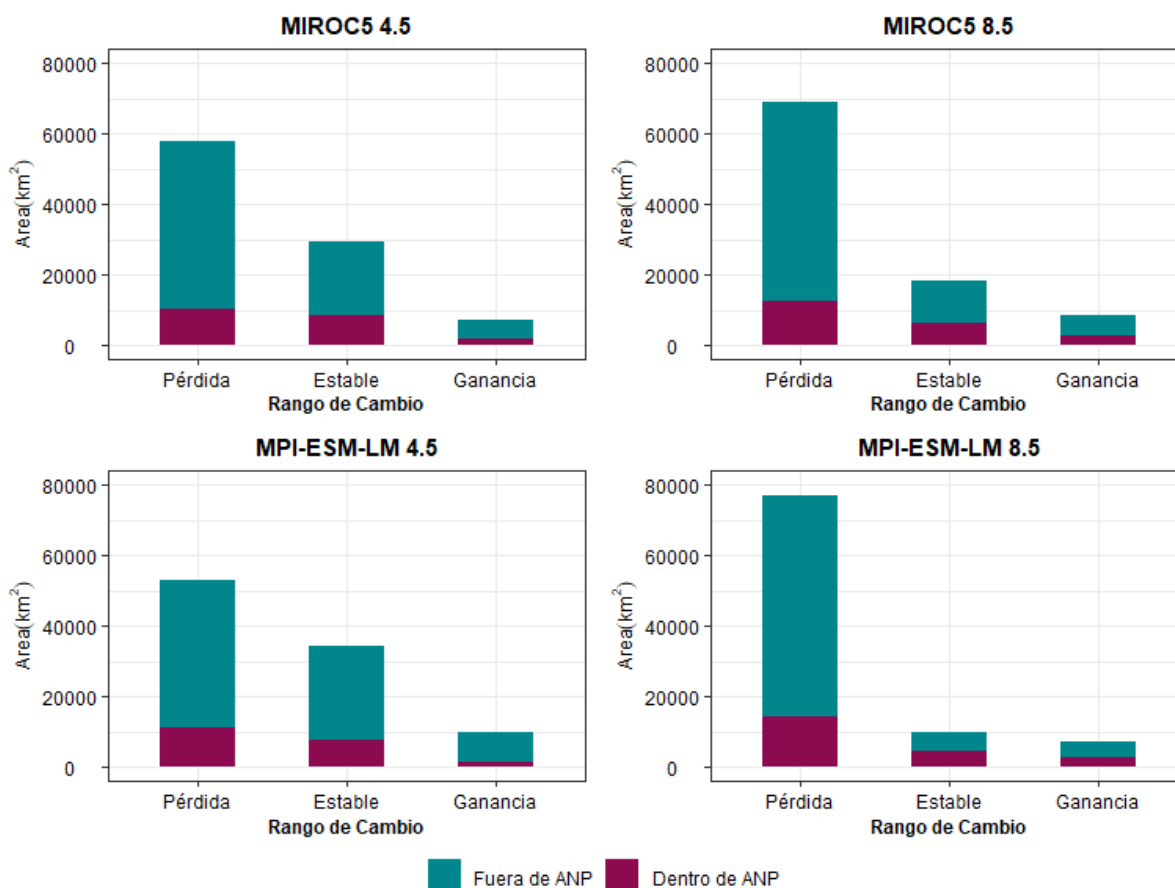
### **10.8.3 Estado del hábitat de *Quercus insignis***

Los cambios en el rango de la distribución de *Q. insignis* esperados para cada modelo y escenario climático están representados por un ligero aumento en áreas con altos valores de idoneidad ambiental (hábitat ganado) para ambos escenarios RCP 4.5 (19.15% MIROC5, 22.27% MPI–ESM–LM) y RCP 8.5 (31.09% MIROC5, 42.01% MPI–ESM–LM). Por otro lado, se espera una drástica pérdida de las áreas ambientalmente adecuadas; el escenario optimista (RCP 4.5) predice la pérdida de hábitat entre 66.24% para MIROC5 y 60.76% para MPI–ESM–LM. En contraste, el escenario pesimista (RCP 8.5) proyecta una pérdida de 78.95% y 88.52% para MIROC5 y MPI–ESM–LM respectivamente (Tabla 17, Figura 12).

Además, el porcentaje de las áreas que permanecen estables (hábitat estable) es menos del 50% de la distribución estimada para el presente. La proporción está entre 33.76% (MIROC5) y 39.24% (MPI–ESM–LM) para RCP 4.5 y para el escenario RCP 8.5 fue menor que el anterior, se encontraron valores entre 21.07% (MPI–ESM–LM) y 11.48% (MIROC5) (Anexo 8, Figura 12). Todos los modelos coinciden en que las ecorregiones que mantendrán áreas estables corresponden a los bosques montanos de la Talamanca (3663 km<sup>2</sup>), los Bosque Montanos de América Central (944 km<sup>2</sup>), los Bosques Húmedos Ístmicos del Pacífico (360 km<sup>2</sup>), los Bosques Montanos de Oaxaca (220 km<sup>2</sup>) y los Bosques Montanos de Chiapas (174 km<sup>2</sup>).

Con respecto a los cambios en las áreas de distribución de nicho ecológico de *Q. insignis* debido al cambio climático sobre las ANP, los modelos futuros proyectan que el área de distribución de nicho ecológico dentro de las ANP aumentará moderadamente, en un rango entre 16.42% (MPI–ESM–LM, 2080) a 18.73% (MIROC5, 2080) para RCP 4.5 y bajo el escenario RCP 8.5 aumentará

en un 29.30% hasta 36.73% para ambos modelos (MIROC5, MPI-ESM-LM respectivamente) (Anexo 8, Figura 12).



**Figura 12.** Cambio de hábitat dentro y fuera del Sistema Nacional de Áreas Protegidas para los modelos de nicho ecológico en *Quercus insignis* con hábitat estable, hábitat ganado y hábitat perdido (km<sup>2</sup>) bajo diferentes modelos climáticos y escenarios (RCP 4.5/RCP 8.5).

Se prevé que la proporción de área de nicho ecológico protegida disminuya, lo que resultará en una pérdida de hábitat para el año 2080 entre el 55.15% y 59.32% bajo el escenario RCP 4.5 (MIROC5, MPI-ESM-LM respectivamente). Para ambos modelos del escenario RCP 8.5 la pérdida de hábitat se encuentra entre el 66.21% (MIROC5) y el 75.48% (MPI-ESM-LM). Por último, los modelos predicen que la proporción de área de distribución de nicho ecológico protegido que permanecerá estable en el tiempo para el año 2080, estará entre el 33.79% (MIROC5) y 24.52% (MPI-ESM-LM) para el RCP 4.5. De manera similar, bajo el escenario pesimista RCP 8.5 el modelo

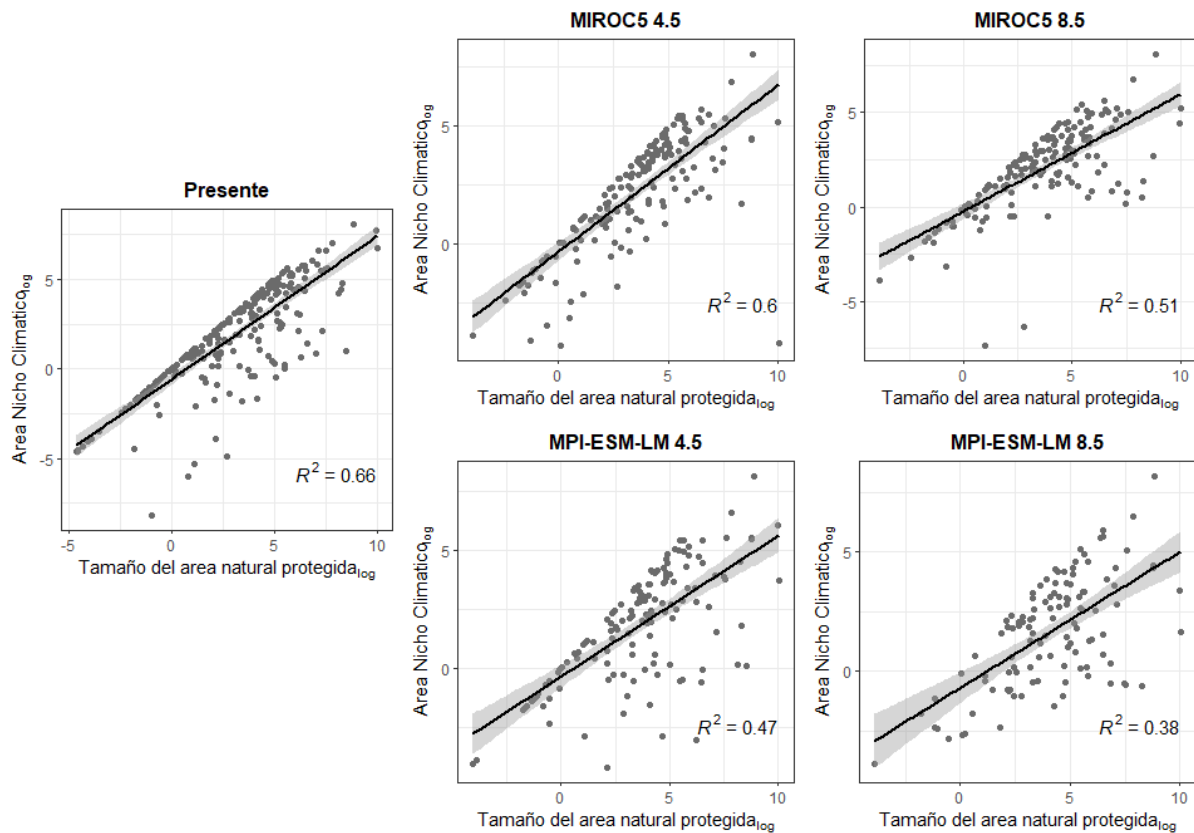
MIROC5 predice que las áreas que permanecerán estables corresponden al 33.79% y el modelo MPI-ESM-LM predice que solo el 24.52% de las áreas permanecerán estables (Figura 12, Anexo 8).

#### **10.8.4 Cambios esperados en la protección nicho ecológico.**

El tamaño del ANP y la cantidad de área de nicho ecológico albergado para todos los modelos climáticos evaluados no siguieron una distribución normal de acuerdo con la prueba de Kolmogorov-Smirnov implementada ( $D = 0.42805$ , valor  $p < 0.001$ ). Los modelos mostraron que el tamaño del ANP y la cantidad de área de nicho ecológico para *Q. insignis* siguen un regresión lineal c significativamente para el presente y los escenarios RCP 4.5 y 8.5 de cambio climático (Figura 13). El valor del coeficientes de correlacion ( $R^2$ ) para los escenarios variaron entre 0.65 a 0.38, siendo más altos para el modelo actual y más bajos para la mayoría de los escenarios de RCP. Los valores observados para los diferentes períodos fueron:  $R^2 = 0.66$ ,  $F=443$ ,  $gl= 288$ ,  $p < 0.001$  para el presente;  $R^2 = 0.59$ ,  $F=244.3$ ,  $gl= 163$ ,  $p < 0.001$  y  $R^2 = 0.47$ ,  $F=126.8$ ,  $gl= 142$ ,  $p < 0.001$  (modelos MIROC5 y MPI-ESM-LM respectivamente) para el escenario RCP 4.5; y  $R^2 = 0.51$ ,  $F=174.8$ ,  $gl= 165$ ,  $p < 0.001$  y  $R^2 = 0.38$ ,  $F=70.55$ ,  $gl= 113$ ,  $p < 0.001$  (modelos MIROC5 y MPI-ESM-LM respectivamente) para el escenario RCP 8.5.

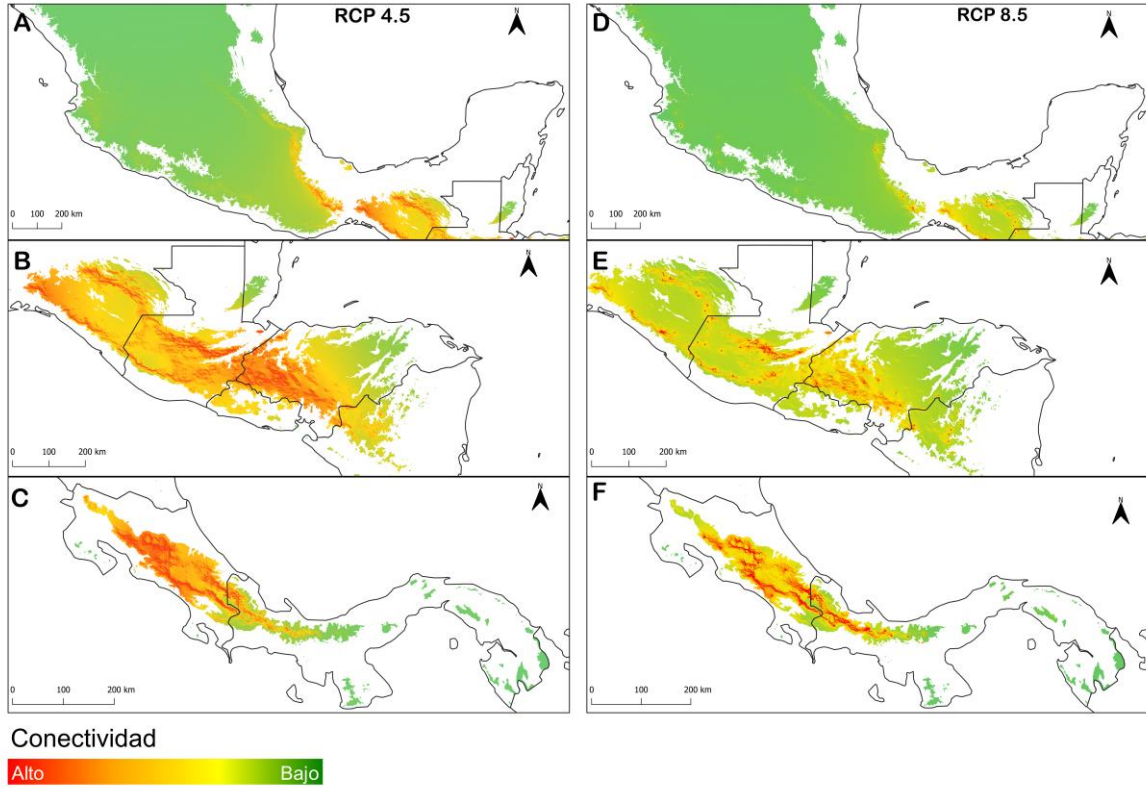
#### **10.8.5 Conectividad del hábitat**

El modelo de conectividad basado en la teoría de circuitos para ambos escenarios de cambio climático (RCP 4.5 y 8.5) indica que varias áreas exhibieron alta conectividad. Las áreas conectadas coinciden con los hábitats que bajo escenarios futuros mantendrán alta idoneidad ambiental y mantendrán estabilidad climática, indicando importantes rutas potenciales para la dispersión de la especie (Figura 14). A escala de ecorregión, las áreas con valores altos de conectividad corresponden principalmente a los bosques montanos de América Central (Figura 14B y E) y bosques montanos de Talamanca (Figura 14C y F) los cuales presentan la mayor cantidad de áreas conectadas, seguido de los bosques montanos de Chiapas, bosques húmedos Istmicos del Pacífico, los bosques montanos de Chimalapas y Oaxaca, así como la Sierra Madre de Oaxaca.



**Figura 13.** Modelo de regresión lineal entre el tamaño del Área Natural Protegida (ANP) y la cantidad de área de nicho ecológico albergada para *Quercus insignis* en función de las condiciones climáticas del presente y para cada proyección en el año 2080, por cada modelo (MIROC5 y MPI-ESM-LM) y escenario (RCP 4.5 y 8.5) de cambio climático.

Por el contrario, las áreas con los valores más bajos para la conectividad corresponden a las ecorregiones mexicanas de las influenciadas por el Pacífico como la Sierra Madre del Sur, el Cinturón Volcánico Trans-Mexicano y la Sierra Madre Occidental (Figura 14A y B). La conectividad climática de *Q. insignis* no es continua a escala regional, se ve interrumpida por barreras geográficas naturales como el istmo de Tehuantepec (IT; México) y la Depresión de Nicaragua (ND; Nicaragua).



**Figura 14.** Modelo de conectividad climática para *Quercus insignis* bajo los escenarios de cambio climático, RCP 4.5 (A, B, C) y RCP 8.5 (D, E, F). A–B: ecorregiones del centro y sur de México; B–E: ecorregiones del sur de México, Guatemala, Honduras y norte de Nicaragua; C–F: ecorregiones de Costa Rica y Panamá.



## 11 DISCUSIÓN

### 11.1 Estructura poblacional de *Quercus insignis* en México

*Quercus insignis* es un encino en peligro crítico de extinción (CR) en México, encontrándose en un hábitat altamente restringido, aislado y fragmentado (González–Espinosa et al. 2011; Montes–Hernández y López–Barrera, 2013). Nuestros resultados demográficos muestran que en general las poblaciones muestreadas de *Q. insignis* en México presentan distintos valores de densidad y abundancia, reflejando diferencias en el estado de conservación de las poblaciones y el impacto de las perturbaciones antrópicas que han sufrido a lo largo del tiempo.

Comparar nuestros resultados de densidad poblacional con diferentes especies del BN es difícil debido a que los estudios usan distintos criterios de valores de DAP para la estimación de la densidad poblacional. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que la densidad de individuos pre-adultos y adultos (DAP >5 cm) de *Q. insignis* está entre 10–510 ind/ha<sup>-1</sup>, para otras especies de encinos del BN en Veracruz, se han reportado densidades de 1 730 ind/ha<sup>-1</sup> para *Quercus cortesii* Liebm, de 10–112 ind/ha<sup>-1</sup> para *Quercus corrugata* Hook, entre 60–140 ind/ha<sup>-1</sup> para *Quercus germana* Schltdl. y Cham., de 10–70 ind/ha<sup>-1</sup> para *Quercus sartorii* Liebm y de 20 ind/ha<sup>-1</sup> para *Quercus acutifolia* Neé (Williams–Linera, 2013). A partir de las comparaciones anteriores, es posible afirmar que los valores de densidad poblacional encontrados para *Q. insignis* son muy bajos para la población de Jalisco principalmente para árboles pre-adultos y adultos, mientras que Huatusco y Oaxaca mantienen valores moderados de densidad y se mantiene dentro del rango encontrado para otras especies. Por último la población de Zongolica exhibe una alta densidad de individuos en todas las categorías en comparación con las otras poblaciones de *Q. insignis* y las especies comparadas.

La población de Zongolica muestra la mayor densidad poblacional total a pesar de estar sometida durante largo tiempo a la tala para el autoconsumo y para generar campos de cultivo (Pérez–Ríos, 2018). Observaciones en el área de estudio, como la presencia de tocones, sugieren que la alta abundancia y densidad de plántulas e individuos jóvenes, comparada con las demás, puede estar dada

por la tala selectiva de árboles con tallas diamétricas grandes, tanto de *Q. insignis* como de otras especies leñosas. En primer lugar, esta práctica de tala ha favorecido la formación de claros que incentivan el crecimiento de plántulas por la alta disponibilidad de luz, sumado a la capacidad de *Q. insignis* de germinar bajo altas condiciones de sol (García de la Cruz et al. 2016). En segundo lugar, se ha eliminado la competencia interespecífica entre *Q. insignis* y otras especies leñosas, lo cual podría favorecer el crecimiento y la abundancia de la especie. Se conoce que la competencia interespecífica entre la vegetación herbácea y leñosa pueden restringir el crecimiento y la supervivencia de las plántulas de encinos (Jensen y Lof, 2017).

Las poblaciones de Oaxaca y Huatusco tienen una condición de conservación más favorable para la especie. La población de Oaxaca puede considerarse como la población con menor perturbación antrópica, ya que se encuentra en la región de los Chimalapas, uno de los lugares de conservación potencial más importante para México. Los Chimalapas están compuestos por un mosaico complejo de diferentes tipos de vegetación, entre las cuales se destacan grandes áreas de bosques nubosos altamente conservados (Peterson et al. 2003). Por otro lado, la población de Huatusco está inmersa en un área de conservación protegida desde 1996, por la cooperativa Las Cañadas. Esta iniciativa permitió que se redujera y mitigara el impacto que tuvo la deforestación y la potrerización para el ganado antes de 1995. Además, se llevó a cabo un proceso de restauración activa y regeneración natural que favoreció la recuperación del bosque de niebla (Díaz-García et al. 2020). Por el contrario, la población de Jalisco presenta la menor densidad total, puede ser considerada la más vulnerable ya que cuenta con pocos individuos adultos reproductivos y está restringida a una pequeña área que ha sufrido perturbaciones de tala para establecer tierras para ganado y cultivos.

La estructura y distribución de las categorías diamétricas de *Q. insignis* en todas sus poblaciones está representada por un gran número de individuos pequeños no reproductivos y un bajo número de individuos grandes. Este tipo de estructura poblacional en forma de *J*-invertida, se caracteriza por un reclutamiento continuo en las primeras etapas de desarrollo, así como una representación de individuos de todas las categorías y una declinación hacia los tamaños superiores.

Esta estructura se atribuye a poblaciones en expansión, que exhiben regeneración favorable y estabilidad a largo plazo (Sokpon y Biau, 2002). Los resultados coinciden con los encontrados por Pérez-Ríos (2018), quien determinó la estructura poblacional de *Q. insignis* en dos localidades del municipio de Zongolica, encontrando mayor abundancia de plántulas y juveniles y en menor medida individuos adultos. Resultados similares han sido obtenidos para otras especies de BN en México (*Oreomunnea mexicana* (Standl.) J.-F. Leroy (Pacheco-Cruz et al. 2018), *Myriocarpa longipes* Liebm., *Styrax radians* P.W. Fritsch, *Symplocarpon purpusii* (Brandege) Kobuski, *Conostegia xalapensis* (Bonpl.) D. Don y *Quercus magnoliifolia* Née, (Sánchez-Rodríguez et al. 2003) y para algunas especies de encinos blancos (*Quercus alba* L. (Loewenstein et al. 2000)).

A pesar de la alta abundancia de plántulas y de la aparente regeneración en la mayoría de las poblaciones de *Q. insignis*, se espera que con el paso del tiempo se reduzca la supervivencia y aumente la mortalidad de plántulas. Experimentos de germinación de semillas y supervivencia de plántulas en la especie desarrolladas por Montes-Hernández y López-Barrera (2013), reportan que la supervivencia de plántulas en el primer año es relativamente alta (1 044 plántulas) pero llega a reducirse hasta en un 26% después de cuatro años, lo cual significa que podría existir una alta mortalidad en los primeros estadios de edad. Entre las causas de mortalidad de las plántulas estuvieron la depredación por mamíferos como ratones herbívoros y tuzas. Sin embargo, el estudio mencionado anteriormente está limitado a individuos provenientes de una sola localidad en un fragmento de vegetación riparia degradado y teniendo en cuenta que las poblaciones de *Q. insignis* están influenciadas por diferentes condiciones locales es de esperar que las dinámicas demográficas sean diferentes para cada población. Por ejemplo, cuando 62 plántulas provenientes de Huatusco fueron introducidas en un bosque secundario como parte de un proyecto de restauración, se encontró que la supervivencia fue de 82.3% después de tres años (Osorio-Salomón, 2021).

Las diferencias a escala local en las poblaciones de *Q. insignis* son explicadas por la alta variación en la estructura florística y en las características bioclimáticas del BN en México entre localidades y regiones del país (Ruiz-Jiménez et al. 2012; Jardel-Peláez, 2014). Además, las

presiones humanas y el cambio de uso del suelo han influido de distintas maneras en cada población de *Q. insignis*, por lo tanto, se esperaría que las tasas de regeneración y supervivencia poblacional de *Q. insignis* sean afectadas por diferentes factores que actúan a escala local. En este sentido, es necesario ampliar y establecer parcelas de monitoreo y experimentos de germinación en poblaciones distintas que permitan obtener un conocimiento específico de las dinámicas demográficas para cada población de *Q. insignis*.

## 11.2 Diversidad genética poblacional

Se espera que las especies raras y en peligro de extinción con distribuciones limitadas exhiban bajos niveles de variación genética debido a eventos estocásticos como la deriva génica o la endogamia (Frankhman, et al. 2004; Spielman et al. 2004). Por el contrario, nuestros resultados muestran alta diversidad genética para SSRn en las cuatro poblaciones de *Q. insignis*. La heterocigosidad observada ( $H_o = 0.716$ ) fue alta con numerosos alelos en todas las poblaciones, con excepción de la población de Zongolica que presentó una riqueza alélica baja ( $A = 3.132$ ). Kremer y Hipp (2019), reportan que en general en especies de encinos la diversidad genética que reside dentro de las poblaciones es alta ( $H_o > 0.7$ ) tanto para especies de encinos de amplia distribución como de distribución reducida.

En especies de encinos más comunes y abundantes que *Q. insignis* de regiones montañosas, de México, específicamente de la Sierra de Zongolica se han reportado altos valores de diversidad genética (*Quercus laurina* M. Martens & Galeotti ( $H_o = 0.679$ ), *Quercus calophyla* Schltdl. y Cham. ( $H_o = 0.646$ ), y *Quercus rugosa* Née ( $H_o = 0.574$ )), detectados por ocho SSRn (Vega-Ortega et al. 2020). En especies amenazadas con distribuciones mucho más aisladas y restringidas que la de *Q. insignis* también se han encontrado altos niveles de diversidad genética como en *Quercus hinckleyi* C.H. Mull. ( $H_o = 0.853$ ; Backs et al. 2015) y *Quercus tomentella* Engelm. ( $H_o = 0.557$ , Ashley et al. 2018). La alta diversidad genética encontrada en las cuatro poblaciones de *Q. insignis* demuestra y apoya la premisa de que el declive genético en forma de mayor homocigosidad no es una preocupación inmediata para las especies de encinos amenazados (Ashley et al. 2018).

Las estimaciones del índice de fijación ( $F_{is}$ ) fueron positivas sólo para las poblaciones de Huatusco y Oaxaca. Esto indica que las poblaciones son exógamas, con bajos niveles de endogamia o consanguinidad. Por el contrario, la población de Jalisco presentó un ligero exceso de heterocigotos mientras que la población de Zongolica presentó valores negativos de  $F_{is}$  muy altos ( $F_{is} = -0.775$ ). El exceso de heterocigotos ha sido reportado en otros estudios de encinos y se ha atribuido a diferentes causas como al alto nivel de entrecruza que existe entre las poblaciones de *Quercus* (Dutech et al. 2005; Craft y Ashley, 2007; 2010; Ashley et al. 2015). Otros autores lo atribuyen a la fusión de poblaciones anteriormente aisladas o al mantenimiento de ventajas adaptativas de los individuos heterocigotos (Carabeo et al. 2007).

Sin embargo, existen otras causas potenciales que pueden explicar el exceso de heterocigotos en las poblaciones (Stoeckel et al. 2006). Estas causas pueden estar dadas por: (i) un tamaño efectivo poblacional pequeño, donde pocos individuos aportan al *pool* genético de la próxima generación (Pudovkin et al. 1996, Balloux, 2004); (ii) la sobredominancia en genes adaptativos, debido a una selección progresiva en contra de los alelos recesivos deletéreos en estado homocigoto o a la selección que favorece a los individuos que portan alelos distintos (Karlin, 1990); (iii) el apareamiento selectivo negativo entre individuos portadores de alelos diferentes ya que se evita el entrecruzamiento consanguíneo y por tanto aumenta la heterocigosidad (Glémin et al. 2001); por último, (iv) la reproducción asexual también puede contribuir al incremento de la heterocigosidad a través de las generaciones (Stoeckel et al. 2006).

Por otro lado, teniendo en cuenta que la población de Zongolica ha sufrido una severa fragmentación, el exceso de heterocigotos también podría ser el resultado de recientes cuellos de botella demográficos, que promovieron la posibilidad de perder alelos por deriva genética ya que se evidencia una reducción de la riqueza de alelos en lugar de una reducción de la heterocigosidad genética general (Cournet, 1996; Laroche y Duran, 2004). A pesar de ser la población con mayor densidad de adultos, la fragmentación ha ocasionado una drástica reducción del tamaño poblacional de individuos adultos que aportaban al *pool* genético en el pasado y es probable que los individuos

heterocigotos adultos sobrevivientes tengan una alta eficacia o aptitud biológica. Sin embargo, las afirmaciones mencionadas debe ser ser probadas como parte de una nueva investigación que intente explicar y evaluar las causas del alto exceso de heterocigotos en Zongolica.

Las estimaciones de la diversidad genética para SSRcp dentro de cada población ( $h_s=0.129$ ) y la diversidad total ( $h_t=0.507$ ) observadas en *Q. insignis* fueron bajas comparadas con lo reportado por Rodríguez–Correa et al. (2017) para 14 poblaciones de *Q. insignis* ( $h_s=0.65$  y  $h_t= 0.950$ ). Sin embargo, los autores reportan que la riqueza haplotípica fue menor para las poblaciones de México ( $h_s=0.51$  y  $h_t=0.42$ ), las cuales corresponden a cuatro poblaciones diferentes a las poblaciones muestreadas en el presente estudio. Comparando la diversidad encontrada para SSRcp en otras especies de encinos en México, encontramos que la diversidad *Q. insignis* también fue baja ( $h_s=0.610$  para adultos y  $h_s= 0.635$  para plántulas en *Quercus castanea* Née; Herrera–Arroyo et al. 2013; *Q. affinis* × *Q. laurina*  $h_s=0.9$  y  $h_t=0.997$  para el complejo híbrido; Ramos–Ortiz et al. 2015) y cercanamente comparable para especies con distribución reducida ( $h_s = 0.285$  y  $h_t = 0.979$  en *Quercus lobata* Née; Grivet et al. 2006) y especies sujetas a erosión genética ( $h_s=0.06$  en *Quercus infectoria* Olivier; Mohammad–Panah et al.2017). Sin embargo, estas comparaciones deben tratarse con cautela al considerar que el tamaño de muestra del presente estudio es mayor y el número de marcadores SSRcp es menor a los estudios mencionados anteriormente.

La baja diversidad genética mostrada por los marcadores SSRcp es consistente con las bajas tasas de sustitución del genoma de cloroplasto y la falta de recombinación comparado con el genoma nuclear (Provan 2001; Holderegger, 2006). Por tanto, es conocido que la variación de SSRcp muestra bajos niveles de polimorfismo dentro de las poblaciones (Deguillieux, 2004). Asimismo, el bajo potencial de dispersión de las bellotas de *Q. insignis* debido a su peso y gran tamaño (7–8 cm de diámetro; Montes–Hernández y López–Herrera, 2013), pueden explicar la baja diversidad haplotípica y la presencia de haplotipos exclusivos encontrados para cada población. La dispersión de las bellotas es principalmente por gravedad y generalmente caen muy cerca del árbol madre (Chybicki y Burczyk,

2010; Vranckx et al. 2014) y en consecuencia el intercambio del genoma de cloroplasto es difícil entre poblaciones, incluso entre poblaciones cercanas (Xu et al. 2016).

### 11.3 Estructura genética y flujo de genes

Los resultados muestran una alta diferenciación y estructura genética revelada por ambos marcadores SSR. La diferenciación genética entre poblaciones evidenciada por SSRcp muestra un valor más alto de diferenciación ( $F_{ST}=0.785$ ) que los marcadores SSRn ( $F_{ST}= 0.232$ ). Resultados similares han sido encontrados para *Quercus semiserrata* J. Roxb. ( $nF_{ST}=0.12$  y  $cpF_{ST}= 0.83$ ) (Pakkad et al. 2008), *Quercus agrifolia* Née ( $nF_{ST}=0.23$ ;  $cpF_{ST}= 0.94$ ) (Dodd et al. 2008) *Quercus castanea* ( $nF_{ST}=0.134$  y  $cpF_{ST}= 0.663$ ) (Valencia–Cuevas et al. 2014) y *Quercus infectoria* Olivier ( $nF_{ST}=0.12$  y  $cpF_{ST}=0.76$ ) (Mohammad–Panah et al. 2017).

La alta diferenciación entre poblaciones revelada por los SSRcp y las distribuciones geográficas bien definidas de los haplotipos (Figura 7) puede ser explicada como una consecuencia de la dispersión restringida de las semillas de *Q. insignis*. Adicionalmente, algunos autores mencionan que estos patrones de diferenciación poblacional mostrados por el genoma de cloroplasto posiblemente pueden reflejar un aislamiento drástico de las poblaciones en refugios durante el Pleistoceno (Petit et al. 2002; Birchenko, 2009).

Por otra parte, la alta diferenciación entre poblaciones revelada por los marcadores SSRn sustenta nuestra hipótesis inicial en la que se esperaba una alta estructura genética debido al grado de aislamiento de las poblaciones y al bajo flujo de genes existente entre ellas. Este resultado es soportado por el análisis de STRUCTURE que muestra una agrupación altamente delimitada en cuatro grupos genéticos ( $K=4$ ) correspondientes a la distribución geográfica de cada población (Figura 7). El flujo de genes es un factor clave para entender la estructura genética entre poblaciones, los encinos al ser polinizados por viento tienden a presentar alto flujo de genes y por tanto una alta mezcla genética entre poblaciones que se traduce finalmente en una baja estructura.

Estudios en otras especies de encinos basados en modelos simulados, han encontrado que el polen puede dispersarse hasta 30 km (Schueler y Schlünzen, 2006). En este sentido, nuestras cuatro poblaciones de estudio superan en distancia la capacidad de dispersión del polen y esto se refleja en alta estructura genética a causa de la baja tasa de migración reciente y limitado flujo de genes encontrado entre las poblaciones. De forma complementaria, la alta diferenciación y estructura genética revelada por ambos marcadores (principalmente por cpSSR) y el bajo flujo de genes pueden sugerir que las poblaciones han estado aisladas desde hace largo tiempo. Este patrón de aislamiento coincide con la distribución naturalmente fragmentada del BN en México, el cual se encuentra restringido a estrechas zonas altitudinales de las regiones montañosas (Gonzales–Espinoza, 2011; Helmer et al. 2019).

Además, el BN es caracterizado por una compleja historia biogeográfica, algunos autores sugieren que en el pasado geológico el BN probablemente estuvo sujeto a ciclos de expansión y contracción durante el Pleistoceno cómo ha ocurrido con otros tipos de vegetación, debido a la alternancia de los periodos glaciares e interglaciares (Jardel–Pelaez et al. 2014). Estas fluctuaciones climáticas han afectado los patrones de distribución geográfica y moldeado la diversidad genética de las especies de BN (Ramírez–Barahona y Eguiarte, 2013). Sin embargo, Rodríguez–Correa et al. 2016, sugiere que las oscilaciones climáticas del último glacial máximo aparentemente no son los principales impulsores de la diferenciación intraespecífica en poblaciones de *Q. insignis* en Centro America, sino el resultado de una compleja interacción geológica de barreras geográficas, tectónica de placas, vulcanismo y las oscilaciones climáticas.

A pesar de que la naturaleza fragmentada del BN en México y su compleja historia filogeográfica, junto con el bajo flujo de genes entre poblaciones y la dispersión restringida de las semillas puedan estar moldeando la fuerte estructura y diferenciación genética de *Q. insignis* en México, nuestros resultados pueden estar sesgados por el bajo número de poblaciones estudiadas. Por tanto, es necesario aumentar el esfuerzo de muestreo para localizar poblaciones cercanas dentro de cada región, que permitan realizar un análisis a escala local y de esta manera confirmar si la estructura



genética de las poblaciones de *Q. insignis* en México es debido al aislamiento geográfico histórico o si ha existido flujo de genes entre poblaciones más cercanas.

#### **11.4 Diversidad genética entre generaciones**

Las poblaciones de *Q. insignis* son propensas a la pérdida de su hábitat por el cambio de uso de suelo, ocasionando que sus poblaciones están sujetas a la degradación y fragmentación. Se ha reportado que la fragmentación de hábitat afecta negativamente la diversidad genética en poblaciones de plantas (Lowe et al. 2005; Aguilar, 2008, Schlaepfer et al. 2018). Sin embargo, los efectos negativos de la fragmentación sobre la diversidad genética suelen depender de varios factores asociados al tipo de hábitat tanto del fragmento como de la matriz circundante, a los rasgos del ciclo de vida de la especie y el tiempo transcurrido desde la fragmentación (Schlaepfer et al. 2018).

A diferencia de lo esperado en términos de cambios (pérdida) de la diversidad genética entre estadios de desarrollo para la especie, nuestros resultados sugieren que no hay diferencias significativas entre las categorías de edad. El análisis de AMOVA mostró que la principal fuente de variación está determinada entre las poblaciones (24.04% para SSRn y para 77.62 SSRcp) y muy poca variación entre las categorías (0.65% para SSRn y 2.65% para SSRcp). Este resultado, aunque sorprendente considerando la baja densidad poblacional y la fragmentación de las poblaciones ha sido observado en otras especies del género *Quercus* como *Q. ilex*, (Ortego et al. 2014) y *Q. robur* (Vranckx et al. 2014).

Resultados opuestos, es decir, hallazgos de pérdida de la diversidad genética intergeneracional, han sido reportados para especies mexicanas con distribuciones continuas como *Q. castanea* (Herrera–Arroyo et al. 2013; Oyama et al. 2017). Algunos estudios sugieren que las especies de plantas que tienen mayor probabilidad de verse afectadas por la fragmentación del hábitat son aquellas más abundantes, con distribución continua y una amplia distribución geográfica en lugar de las que presentan una distribución naturalmente irregular (Holsinger, 1993; Herrera–Arroyo et al. 2013).

En general, a pesar de que algunas poblaciones como la de Zongolica, Huatusco y Jalisco sufrieron eventos de deforestación y fragmentación, nuestros resultados sugieren que aún mantienen niveles altos de diversidad genética a través de las generaciones; la mayoría de los haplotipos (SSRcp) son compartidos entre las categorías de las cuatro poblaciones y no hay cambios significativos en la riqueza alélica ( $A_r$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y el índice de endogamia ( $F_{is}$ ). Estos resultados son lo que se pueden predecir bajo un escenario en el que los eventos de fragmentación pudieron haber ocurrido recientemente. Por lo tanto, la deriva génica y la endogamia no habrían tenido tiempo suficiente para generar cambios en las medidas de la diversidad genética entre generaciones y evidenciar patrones de erosión genética. Por último, la endogamia o la deriva génica pueden ser mitigados por otros factores como el flujo extenso de polen a larga distancia que pueda existir entre poblaciones pequeñas y aisladas dentro de unos pocos kilómetros (Vranckx et al. 2013; Ortego et al. 2014; Zeng y Fischer, 2020).

### **11.5 Nicho ecológico de *Quercus insignis* e impacto del cambio climático**

El nicho climático de *Q. insignis*, en todo su rango de distribución, está sujeto estrechamente a la distribución del BN, un ecosistema que se caracteriza por la presencia persistente o estacional de nubes y se encuentra restringido a altas elevaciones sobre las regiones montañosas del Neotrópico (Kappelle, 2001; Bruijnzeel, 2011). La distribución del nicho climático de *Q. insignis* en México es altamente fragmentada e irregular, principalmente para la vertiente del pacífico y con áreas más continuas hacia la vertiente del Golfo de México. Este patrón se ha encontrado en otras especies de encinos que se distribuyen en BN en México como *Quercus germana* Schltdl. & Cham., *Quercus sartorii* Liebm. y *Quercus xalapensis* Bonpl. (Jiménez-García y Peterson, 2019). Mientras que, en Centroamérica, *Q. insignis* sigue una distribución a lo largo de las principales cadenas montañosas mostrando una distribución fragmentada con una mayor continuidad en algunos rangos montañosos principalmente de Costa Rica y Panamá.

Los resultados de las proyecciones de cambio climático indican que se esperan cambios futuros en la distribución de las áreas ambientalmente adecuadas de *Q. insignis*, tanto dentro de las ANP como fuera de este. Bajo ambos escenarios (RCP 4.5 y 8.5) nuestros resultados sugieren que se presentará una pérdida drástica de las condiciones ambientalmente adecuadas para el establecimiento de la especie. La respuesta al cambio climático en los encinos ha sido demostrada para especies de bosques templados dónde se predijo que las respuestas a los diferentes escenarios de cambio climático será específicas por especie y relacionadas con la afinidad climática (Gómez–Mendoza et al. 2006); también para especies arbóreas en peligro de extinción encontradas en el BN de México (Jiménez–García y Peterson, 2019) y para algunas especies de encinos en Centroamérica (*Q. costarricensis*, Quesada–Quirós et al. 2006). Los estudios mencionados anteriormente revelan la alta vulnerabilidad de los encinos a la pérdida de áreas ambientalmente adecuadas bajo escenarios de cambio climático; incluso Jiménez–García y Peterson (2019) determinan que el género *Quercus* es el grupo más sensible al cambio climático dentro de las especies arbóreas amenazadas del BN de México.

Las proyecciones futuras de cambio climático para la distribución de *Q. insignis* sugieren la presencia de respuestas específicas asociadas a cada región geográfica. En México se predice una drástica disminución de áreas ambientalmente adecuadas ubicadas en las ecorregiones de la vertiente del Pacífico, con excepción de la Sierra Madre Occidental que exhibe una expansión de áreas con alta idoneidad ambiental. Estos resultados coinciden con lo encontrado por otros autores, quienes reportan que las áreas ambientalmente adecuadas del BN de México sufrirán una fuerte disminución (> 54%) bajo diferentes escenarios de cambio climático (Rojas–Soto, 2012; Ponce–Reyes et al. 2013; Jiménez–García y Peterson, 2019).

Nuestros resultados pronostican que la mayor cantidad de áreas ambientalmente adecuadas para *Q. insignis* en México, permanecen en las ecoregiones ubicadas hacia la vertiente del Golfo de México. Estas ecoregiones representan las áreas de mayor importancia para la conservación de *Q. insignis* en México. La importancia de esta región también ha sido sugerida por Jiménez–García y Peterson (2019), quienes reportan que la mayor diversidad de especies amenazadas para los BN de

México se presenta en las montañas de la vertiente del Golfo de México y resaltan la importancia de proteger las áreas del BN influenciadas por el mismo. A pesar de su gran diversidad las áreas con BN de esta región no están incluidas dentro del sistema de ANP del país, haciendo aún más vulnerable la permanencia de este ecosistema bajo un panorama de cambio climático (Toledo–Aceves et al. 2011; Rojas–Soto, 2012).

Por otro lado, las estimaciones de las proyecciones para Centroamérica evidencian una pérdida alta de áreas ambientalmente adecuadas en la mayoría de las ecorregiones, aunque los modelos sugieren que en Costa Rica y Panamá la reducción de área es menos drástica bajo los diferentes escenarios. Por lo anterior, la Cordillera de Talamanca, considerada la cordillera más alta y más grande del sur de Centroamérica (Kappelle, 2016), es fundamental para la conservación del nicho climático de *Q. insignis*. Esta cordillera es considerada como *hotspot* de biodiversidad global, con un alto porcentaje de endemismo; su aislamiento geográfico de otras formaciones montañosas ha favorecido que un alto porcentaje de especies están restringidas a esta cordillera convirtiéndola en una región de importancia mundial en la conservación (Kappelle, 2016).

La respuesta de *Q. insignis* al cambio climático está estrechamente vinculada a su impacto sobre la distribución de su hábitat. Se espera que el BN del Neotrópico se vea seriamente afectado por el cambio climático y por otros procesos atmosféricos. Recientemente, Helmer et al. (2019) plantean que el cambio climático podría secar o reducir entre 57 al 80% de los BN del Neotrópico como consecuencia de la disminución en la inmersión de nubes, una característica distintiva del BN. Además, los autores sugieren que la totalidad de los BN de México y América Central sufrirá algún tipo de afectación. Las predicciones de la alta reducción de nicho climático para *Q. insignis* y la desaparición de lugares con condiciones adecuadas para la permanencia del BN (Foster, 2001; Helmer et al. 2019; Rangel et al. 2019) reflejan un panorama desfavorable para el establecimiento y posible migración de *Q. insignis* en el futuro a nuevos hábitats.

## 11.6 Estado del hábitat dentro y fuera de las ANP

Las ANP son fundamentales para la conservación de la biodiversidad y representan una herramienta principal en las estrategias de conservación (Duddley y Parish, 2006). La estimación del nicho climático de *Q. insignis* bajo las ANP de México y América Central es insuficiente pues sólo representa el ~21% del área de distribución potencial para *Q. insignis*. A partir de los resultados obtenidos, logramos identificar las ANP de mayor importancia en términos de mayor cantidad de áreas ambientalmente adecuadas y con mayor estabilidad climática. Entre las cuales se destaca la Reserva de la Biosfera Sierra de las Minas en Guatemala y la Reserva de la Biosfera Talamanca–La amistad en Costa Rica, así como el Parque Nacional Santa Fe en Panamá. Sin embargo, los resultados también predicen que todas las ANP tienden a reducir hasta el 100% del total del área idónea para la especie considerando los escenarios de cambio climático futuro.

La mayoría de las áreas ambientalmente adecuadas ubicadas dentro de las ANP que serán mayormente afectadas por la pérdida de nicho climático están localizadas en México. Estos resultados coinciden con lo esperado para los BN que se encuentran dentro de los sistemas de ANP en México, pues se espera que las condiciones climáticas para el futuro (2080) sean inadecuadas para el BN en el 87% de su distribución actual (Ponce–Reyes et al. 2012). Lo anterior demuestra que el pronóstico para la conservación de la especie en México dentro de ANP es bastante desfavorable. Un ejemplo de lo descrito anteriormente es que la presencia de la especie se ha confirmado en sitios protegidos como la Reserva de la Biosfera el Manantlán y nuestros resultados predicen que para esta área se reduce drásticamente o desaparecen por completo las áreas ambientalmente adecuadas para la presencia de *Q. insignis* bajo los diferentes modelos y escenarios de cambio climático.

Esperón–Rodríguez et al. (2020) destacan el riesgo del aumento de la temperatura para el año 2050 en algunas ANP ubicadas en regiones montañosas de México, dentro de las cuales incluyen la Reserva de la Biosfera de Manantlán. Los autores sugieren que el aumento de la temperatura en las ANP ubicadas en sistemas montañosos afectaría severamente las zonas altas de las montañas; estas afectaciones se verían reflejadas en una pérdida de hábitats adecuados, lo que a su vez limitaría los

procesos de migración de especies montanas (Nogués–Bravo et al. 2007). El panorama descrito anteriormente podría esperarse para otras ANP como la Reserva de Biosfera El Triunfo y La Sepultura, donde también se ha confirmado la presencia de *Q. insignis*, pues nuestras proyecciones ante el cambio climático para estas zonas sugieren una disminución severa de las áreas ambientalmente adecuadas dentro todos los escenarios y modelos climáticos.

Los cambios en las proyecciones del estado del hábitat bajo los escenarios de cambio climático sugieren que un alto porcentaje de las áreas ambientalmente adecuadas en la actualidad se perderán independientemente de si están dentro ANP como fuera del mismo. La pérdida de hábitat es drástica tanto fuera de las ANP (61–87%) como dentro de las ANP (60–83%). Las áreas ganadas que podrían representar futuras expansiones de hábitat bajo escenarios futuros, no compensan la pérdida de hábitat para la especie y con relación a las áreas estables éstas se mantienen en un porcentaje ligeramente mayor dentro de las ANP que fuera de las mismas.

Es importante resaltar la importancia de las áreas estables y que están bajo protección ya que podrían representar más ventajas para la conservación de *Q. insignis*. La ventaja de encontrar áreas estables dentro de las ANP es que éstas tienen menor presión por actividades antrópicas y por tanto representan un refugio adecuado para especies en peligro de extinción. Tanto las áreas estables como las áreas nuevas con condiciones climáticas adecuadas aseguran la posibilidad de acceso o establecimiento de poblaciones por migración asistida o natural. El acceso a dichas áreas representa una ventaja a la persistencia de *Q. insignis* ya que podrían servir de refugio potencial a la especie bajo cambios climáticos futuros (Keppel et al. 2012; Hannah et al. 2014; Keppel y Wardell–Johnson, 2015).

Ambos resultados de las proyecciones tanto dentro de las ANP como fuera de las mismas, predicen una tendencia en la conservación del nicho climático hacia el sur del continente. En Centroamérica, la ecorregión de los Bosques Montanos de Talamanca junto con la Reserva la Biosfera Talamanca–La Amistad, representan las zonas con mayor estabilidad climática bajo los diferentes escenarios. Sin embargo, algunos estudios revelan que la región del sur de Costa Rica no está exenta

de los efectos del cambio climático, pues se espera cambios en los patrones de temperatura y precipitación con tendencia a la sequía afectando en mayor medida las regiones montañosas de altas elevaciones de la vertiente del Pacífico en Costa Rica (Aguilar et al. 2005; Karmalkar et al. 2008).

Nuestros resultados indican que el tamaño de ANP no garantiza que se albergue mayor o menor cantidad de áreas de nicho climático bajo las proyecciones futuras. Es decir, las áreas ambientalmente adecuadas se reducirán por efectos del cambio climático tanto en áreas naturales protegidas grandes como pequeñas. Estos resultados sugieren que el tamaño de las ANP no es una variable determinante en la conservación del nicho climático de *Q. insignis*. En cambio, para la conservación de *Q. insignis* es de mayor importancia el número de áreas estables ambientalmente adecuadas que se puedan conservar dentro de las ANP más que el tamaño de las mismas. Este resultado es consistente con la distribución restringida de las poblaciones de la especie pues *Q. insignis* no forma rodales continuos de gran extensión y en cambio está distribuida en pequeños fragmentos de hábitat.

La estrategia de conservación para las poblaciones aisladas y restringidas de *Q. insignis*, debe estar dirigida a aumentar el número de áreas y garantizar la conectividad entre las mismas; con el fin de reducir la brecha existente entre hábitats. Esta estrategia representa un gran desafío teniendo en cuenta que las ANP no han sido diseñadas para mantener la conectividad entre hábitats, principalmente en México donde la conectividad entre ANP es menos del 4% mientras que para Centroamérica la conectividad entre ANP está entre 17–25% (Saura et al. 2018). Es prioridad replantear las ANP o los sitios potenciales de protección para la especie, en función de los cambios que se esperan, de la conectividad entre ANP y de la ecología de la especie.

### **11.7 Conectividad de hábitat**

Las regiones con alta conectividad coinciden con aquellas que presentan alta idoneidad ambiental. Estas áreas corresponden a las ecorregiones que están ubicadas al sur de Centroamérica, especialmente para Costa Rica, Panamá y los bosques montanos de Guatemala, Honduras y

Nicaragua. La menor conectividad de áreas entre los nodos ocurrió en México. Sin embargo, algunas áreas al sur de México mantendrán la conectividad entre sí. La conectividad no es continua, incluso a escala local, hay discontinuidad entre las áreas ambientalmente conectadas.

La discontinuidad está dada principalmente por las barreras geográficas del Istmo de Tehuantepec (IT) y la Depresión de Nicaragua (DN). Estas barreras representan límites naturales para la dispersión actual de la especie, impidiendo la conectividad entre las poblaciones. El efecto del IT y la DM como barreras naturales para la especie a través del tiempo ha sido estudiado por autores como Rodríguez–Correa et al. (2017), quienes sugieren que los cambios climáticos durante el Pleistoceno han afectado los patrones de distribución, estructura genética y el flujo génico de la especie.

En el caso de escenarios futuros, la dispersión y conectividad entre las poblaciones de *Q. insignis* dependerá principalmente de la dispersión del polen. En las especies de encinos, se ha demostrado que la polinización por viento les permite superar las consecuencias de la fragmentación del paisaje (Zeng y Fischer, 2018). Autores como Oyama et al. (2017) han propuesto que los árboles aislados representan un puente potencial de conectividad genética en poblaciones de *Q. castanea* a través del polen. Por lo tanto, las áreas ambientalmente adecuadas con alta conectividad que se encuentren cercanas podrían representar los sitios potenciales de conservación y conectividad para *Q. insignis*.

Los datos genéticos sugieren que el principal factor de divergencia genética entre las poblaciones de *Q. insignis* es el aislamiento geográfico y fragmentado de sus poblaciones. Dicho patrón es confirmado en los modelos de distribución potencial, los cuales demuestran que la estructura geográfica de la especie es fragmentada, con baja conectividad y climáticamente restringida. Esta estructura geográfica del nicho climático es más pronunciada en México que en el resto del rango de la distribución. En este sentido, se espera que las características genéticas de *Q. insignis* sean expresadas en función de la distribución del nicho climático y su conectividad. Es decir, para las áreas de distribución con mayor continuidad y conectividad se espera que la diferenciación genética entre



poblaciones sea menor que para las áreas más discontinuas y con menor conectividad entre ellas, siendo este último el caso de las poblaciones de México.

### **11.8 Implicaciones en la conservación**

Las poblaciones de *Q. insignis* en México exhibieron una estructura demográfica con regeneración favorable y altos niveles de diversidad genética. Los resultados demográficos y genéticos son positivos teniendo en cuenta que mantener altos niveles de diversidad genética permiten la supervivencia, evolución y adaptación de las especies a los cambios y condiciones ambientales (Rao y Hodgkin, 2002; Ratman et al. 2014). Por tanto, para conservar la diversidad genética de las poblaciones de *Q. insignis*, uno de los objetivos primarios en las estrategias de conservación debe estar enfocado en revertir o detener el declive poblacional y la pérdida de hábitat.

Las observaciones en campo sugieren que *Q. insignis* aparentemente no es una especie de alto valor comercial. A pesar de que es usada para obtener leña y la construcción de vigas, estas acciones no representan una fuerte amenaza para sus poblaciones. Incluso algunas comunidades en Zongolica, Veracruz se benefician de la asociación mutualista que tiene *Q. insignis* con *Cantharellus lateritius*, un hongo comestible que se desarrolla en sus raíces y hojarasca sirviendo de sustento económico para algunas familias (Pérez-Ríos, 2018).

Los problemas principales para la conservación de *Q. insignis* son más complejos. La principal amenaza que enfrentan sus poblaciones es la conversión del hábitat por acciones como la agricultura y la potrerización para la ganadería. Las comunidades se ven obligadas a talar el bosque para generar nuevas tierras de cultivo principalmente para la siembra de café, maíz y huertos frutales. Desafortunadamente, estas actividades han ocasionado que la condición insular de sus poblaciones sea cada vez más pronunciada.

Se estima que en México más del 50% del BN ha desaparecido y la tendencia continua (Luna et al. 2001). En Centroamérica la situación es similar, en Guatemala la deforestación a causa de la expansión agrícola y la extracción de madera ha reducido al BN a fragmentos aislados (Islebe et al.

2001; Pope et al. 2015). En Honduras y Nicaragua la principal causa de pérdida de BN es la expansión de la agricultura migratoria, los cultivos de café, la extracción de madera y los incendios para establecer pastos para ganado (Mejía–Valdivieso, 2001; Walsh, 2001). En Costa Rica y Panamá los BN también exhiben diversas perturbaciones por actividades agrícolas y de deforestación.

Además de las amenazas antrópicas y vulnerabilidades de BN para la persistencia de *Q. insignis*, el cambio climático también pone en alto riesgo la conservación de la especie y su ecosistema. *Quercus insignis* enfrentará una reducción de áreas climáticas bastante drástica y la conectividad de las áreas ambientalmente adecuadas se mantendrá en pocos lugares. Es urgente generar estrategias de conservación *in situ* y *ex situ* que permitan reducir el impacto tanto de las actividades antrópicas como del cambio climático sobre las poblaciones de *Q. insignis*.

De manera general, nuestros resultados resaltan la importancia de algunas regiones que mantendrán áreas con alta idoneidad ambiental para la conservación de la especie. Algunas de ellas ya cuentan con alguna categoría de protección, sin embargo, la mayoría no están dentro de un sistema de áreas naturales protegidas. Dentro de las estrategias de conservación *in situ* que permitan seguir conservando la alta diversidad genética y un tamaño poblacional adecuado, es imprescindible aumentar la calidad de hábitat, la migración asistida así como detener la perturbación y la fragmentación causada por actividades antrópicas.

La conservación de *Q. insignis* y de los BN demanda mecanismos integrales (políticos, económicos y sociales) de protección que eviten la degradación o destrucción de su hábitat en los cuales haya una participación activa de las comunidades. Actualmente existen instrumentos de protección de la biodiversidad que bajo una gestión adecuada podrían ser aplicados como el Pago por Servicios Ambientales (PSA). A través de este instrumento se ofrece un incentivo económico para los dueños de los terrenos forestales donde se generan servicios ecosistémicos y ha sido un caso de éxito de la conservación de la biodiversidad en países centroamericanos como Costa Rica (Sánchez–Chávez y Navarrete–Chacón, 2017).

Además, las estrategias de conservación deben estar pensadas en las características restringidas de *Q. insignis* y es necesario conservar una gran cantidad de áreas que puedan estar conectadas para garantizar el flujo de genes y la migración de individuos. Un aspecto importante, es que, en las poblaciones localizadas en este estudio, se identificaron árboles reproductivamente activos que generan grandes bancos de semillas cada año. La dificultad radica en la limitada dispersión y la pérdida de condiciones microclimáticas para la germinación. Es importante considerar que la bellota de *Q. insignis* es considerada una de las más grandes y de mayor peso dentro de las especies de encinos en el mundo y el conocimiento relacionado con la dispersión de su semilla a larga distancia por vertebrados es escaso. La defaunación de animales de tallas grandes desde el Pleistoceno (Dirzo et al. 2014) que probablemente actuaron como dispersores de su bellota puede estar limitando las oportunidades de dispersión de la semilla a larga distancia, dejando como único mecanismo la dispersión por gravedad.

La reducción en la distancia de dispersión de las semillas ocasiona que la conectividad también disminuya y el intercambio genético entre poblaciones se reduzca reflejándose en los patrones de estructuración y diversidad genética, como fue confirmado por los marcadores genéticos de cloroplasto en el presente estudio. Montes–Hernández y López–Barrera (2013), proponen la necesidad de establecer procesos de restauración activa para la especie incluyendo la posibilidad de sembrar y proteger directamente las bellotas en micrositios adecuados. La práctica de esta estrategia está dirigida a introducir plántulas de *Q. insignis* en pastizales abandonados bajo arbustos y árboles aislados que actúan como especies nodrizas.

Sin embargo, las poblaciones de *Q. insignis* al menos en México, tienden a ser genéticamente distintas y su hábitat está restringido climáticamente. Además, el contexto socioambiental de las comunidades que habitan los BN varía para cada región. Por lo tanto, se requiere plantear acciones de conservación a escala local. Una de dichas estrategias es la conservación *ex-situ*, pero es necesario tener en cuenta que las semillas de los encinos son recalcitrantes y no se pueden almacenar de manera convencional (por largos periodos de tiempo). Por tanto, las estrategias de conservación *ex-situ* para

la especie deben estar dirigidas hacia la creación de colecciones vivas en jardines botánicos o viveros, además de la aplicación de alternativas de micropropagación o la criopreservación como herramientas para la conservación *ex situ* (Kramer y Pence, 2012). La creación de estas colecciones *ex situ*, deben estar constituidos por individuos provenientes de diferentes poblaciones con alta diversidad genética que logren garantizar y conservar el pool genético de cada población.

## 12 CONCLUSIONES

- (i) Las poblaciones de *Q. insignis* en México son potencialmente estables a largo plazo y la principal amenaza a su persistencia son las perturbaciones antrópicas a su ecosistema más que la pérdida de la diversidad genética, pues mantienen altos niveles de diversidad intrapoblacional y no hay evidencia de procesos propios de la erosión genética o la endogamia entre generaciones.
- (ii) La diferenciación poblacional se refleja en marcadores moleculares tanto de núcleo como de cloroplasto, indicando que la estructura genética está influenciada tanto por la limitada capacidad de dispersión de las semillas de la especie y el bajo flujo de genes relacionado con el grado de aislamiento de sus poblaciones.
- (iii) El cambio climático reducirá drásticamente las áreas de distribución adecuada para la especie bajo escenarios futuros, sin embargo, se mantendrán áreas climáticamente estables al sur de su distribución que representan áreas potenciales para la conservación de sus poblaciones.
- (iv) La cantidad de área ambientalmente adecuada dentro del sistema de ANP es insuficiente y no garantiza una mayor protección del nicho climático de *Q. insignis* en el futuro. Sugiriendo que es más importante conservar numerosos parches de hábitat con tamaños variables, climáticamente estables y con alta conectividad.
- (v) Las poblaciones de *Q. insignis* están diferenciadas genéticamente, con alta restricción climática y limitada dispersión de semillas, por tanto, para garantizar la conservación y restauración de la especie es necesario aplicar medidas a escalas locales y específicas para cada región.

### 13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, R., Quesada, M., Ashworth, L., Herrerias–Diego, Y. y Lobo, J. (2008). Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: Susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology*, 17(24), 5177–5188. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03971.x>.
- Aldrich, P.R., Cavender–Bares, J. (2011). *Quercus*. En: C. Kole (Ed.). *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Forest Trees*. (pp. 89–129). New York, USA: Springer.
- 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.
- Anderson, R. P., Lew, D. y Peterson, A. T. (2003). Evaluating predictive models of species' distributions: criteria for selecting optimal models. *Ecological Modelling*, 162, 211–232. <https://doi.org/10.1088/0253-6102/55/5/11>.
- Arizaga, S., Martínez–Cruz, J., Salcedo–Cabrales, M. & Bello–González, M. A. 2009. Manual de la biodiversidad de encinos michoacanos. SEMARNAT, INE. México. 147 pp.
- Ashley, M. V., Abraham, S. T., Backs, J. R. y Koenig, W. D. (2015). Landscape genetics and population structure in valley oak (*Quercus lobata* née). *American Journal of Botany*, 102(12), 2124–2131. <https://doi.org/10.3732/ajb.1500182>.
- Ashley, M. V., Backs, J. R., Kindsvater, L. y Abraham, S. T. (2018). Genetic variation and structure in an endemic island oak, *Quercus tomentella*, and mainland canyon oak, *Quercus chrysolepis*. *International Journal of Plant Sciences*, 179(2), 151–161. <https://doi.org/10.1086/696023>.
- Avendaño–Yáñez, M. L., Ortíz–Ceballos, A. I., SánchezVelásquez, L. R., Pineda–López, M. R. y Meave, J. A. (2014). Growth of *Quercus insignis* (Fagaceae) seedling, a native species of the Mexican Cloud Forest. *Open Journal of Forestry*. 4(1), 1–7.
- Backs, J. R., Terry, M., Klein, M. y Ashley, M. V. (2015). Genetic analysis of a rare isolated species: A tough little West Texas oak, *Quercus hinckleyi* C.H. Mull. *Journal of the Torrey Botanical Society*, 142(4), 302–313. <https://doi.org/10.3159/TORREY-D-14-00091.1>
- Balloux, F. (2004). Heterozygote excess in small populations and the heterozygote–excess effective population size. *Evolution*, 58(9), 1891–1900. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2004.tb00477.x>.
- Barbará, T., Lexer, C., Martinelli, G., Mayo, S., Fay, M. F., & Heuertz, M. (2008). Within–population spatial genetic structure in four naturally fragmented species of a neotropical inselberg radiation, *Alcantarea imperialis*, *A. geniculata*, *A. glaziouana* and *A. regina* (Bromeliaceae). *Heredity*, 101(3), 285–296. <https://doi.org/10.1038/hdy.2008.65>
- Benítez, G., Pulido, Ma. T. y Equihua, M. (2004). Árboles multiusos nativos de Veracruz para reforestación, restauración y plantaciones. Instituto de Ecología, A.C.; SIGOLFO, CONAFOR. Xalapa, Veracruz, México. 288 pp.

- Besnier, F., Glover, K. A. (2013). ParallelStructure: A R Package to Distribute Parallel Runs of the Population Genetics Program STRUCTURE on Multi-Core Computers. *PLoS ONE* 8(7): e70651. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070651>.
- Birchenko, I., Feng, Y. I. y Romero-Severson, J. (2009). Biogeographical distribution of chloroplast diversity in northern red oak (*Quercus rubra* L.). *American Midland Naturalist*, 161(1), 134–145. <https://doi.org/10.1674/0003-0031-161.1.134>
- Brewster, C. L., Beaupre, S. J., & Willson, J. D. (2018). Habitat Loss and Local Extinction: Linking Population Declines of Eastern Collared Lizards (*Crotaphytus collaris*) to Habitat Degradation in Ozark Glades. *Journal of Herpetology*, 52(3), 352–360. <https://doi.org/10.1670/18-002>
- Bruijnzeel, L., Scatena, F. y Hamilton, L. (Eds.). (2011). Tropical Montane Cloud Forests: Science for Conservation and Management (International Hydrology Series). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO978051177838.
- Camus, A. (1936–1938). Les Chênes. Monographie du genre *Quercus*. Tome I. Genre *Quercus*, sous-genre *Cyclobalanopsis*, sous-genre *EuQuercus* (sections *Cerris* et *Mesobalanus*). Texte. Paul Lechevalier, Paris.
- Carabeo, M., Simeone, M. C., Cherubini, M., Mattia, C., Chiocchini, F., Bertini, L., Mattioni, C. (2017). Estimating the genetic diversity and structure of *Quercus trojana* webb populations in Italy by SSRs: Implications for management and conservation. *Canadian Journal of Forest Research*, 47(3), 331–339. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2016-0311>
- Carr, D. E. y Dudash, M. R. (2003). Recent approaches into the genetic basis of inbreeding depression in plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 358(1434), 1071–1084. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1295>
- Cavender-Bares, J. y Holbrook, N. M. (2001). Hydraulic properties and freezing-induced cavitation in sympatric evergreen and deciduous oaks with contrasting habitats. *Plant, Cell and Environment*, 24(12), 1243–1256. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00797.x>
- Cavender-Bares, J., Cortes, P., Rambal, S., Joffre, R., Miles, B. y Rocheteau, A. (2005). Summer and winter sensitivity of leaves and xylem to minimum freezing temperatures: A comparison of co-occurring Mediterranean oaks that differ in leaf lifespan. *New Phytologist*, 168(3), 597–612. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01555.x>
- Cavender-Bares, J., Kitajima, K. y Bazzaz, F. A. (2004). Multiple trait associations in relation to habitat differentiation among 17 Floridian oak species. *Ecological Monographs*, 74(4), 635–662. <https://doi.org/10.1890/03-4007>
- Cavender-Bares, J. (2016). Diversity, distribution and ecosystem services of the North American oaks. *International Oaks*, 27(27), 37–48.
- Cavender-Bares, J. (2019). Diversification, adaptation, and community assembly of the American oaks (*Quercus*), a model clade for integrating ecology and evolution. *New Phytologist*, 221(2), 669–692. <https://doi.org/10.1111/nph.15450>.
- Ceballos, G., & García, A. (2013). Challenges and Opportunities for Conservation of Mexican

- Biodiversity. *Conservation Biology: Voices from the Tropics*, 105–112. <https://doi.org/10.1002/9781118679838.ch13>.
- Ceballos, G., Ehrlich, P. R., Barnosky, A. D., García, A., Pringle, R. M., & Palmer, T. M. (2015). Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. *Science Advances*, 1(5), 9–13. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1400253>.
- Ceballos, G., García, A., & Ehrlich, P. R. (2010). The Sixth Extinction Crisis Loss of Animal Populations and Species. *Journal of Cosmology*, 8(November 2009), 1821–1831.
- Challenger, A. (1998). Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: Pasado, presente y futuro. CONABIO–Instituto de Biología, UNAM–Agrupación Sierra Madre, México.
- Chapman, J. R., Nakagawa, S., Coltman, D. W., Slate, J. y Sheldon, B. C. (2009). A quantitative review of heterozygosity–fitness correlations in animal populations. *Molecular Ecology*, 18(13), 2746–2765. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04247.x>
- Chapuis, M. P. y Estoup, A. (2007). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular biology and evolution*, 24(3), 621–631. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl19>.
- Charlesworth, B. & Charlesworth, D. (1999). The genetic basis of inbreeding. *Genetics Research Cambridge*, 74, 329–340.
- Chasse, B. (2016). Eating acorns: what story do the distant, far, and near past tell us, and why?. *International Oaks*, 27, 107–136.
- Chybicki, I. J. y Burczyk, J. (2010). Realized gene flow within mixed stands of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) L. revealed at the stage of naturally established seedling. *Molecular Ecology*, 19(10), 2137–2151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04632.x>.
- 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. <https://doi.org/10.1093/genetics/144.4.2001>
- Craft, K. J. y Ashley, M. V. (2007). Landscape genetic structure of bur oak (*Quercus macrocarpa*) savannas in Illinois. *Forest Ecology and Management*, 239(1–3), 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.11.005>.
- Craft, K. J. y Ashley, M. V. (2010). Pollen-mediated gene flow in isolated and continuous stands of bur oak, *Quercus macrocarpa* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 97(12), 1999–2006. <https://doi.org/10.3732/ajb.0900390>
- Curtu, A. L., Gailing, O. y Finkeldey, R. (2007). Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus spp.*) community. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-218>
- De la Paz Pérez Olvera, C., Dávalos Sotelo, R. y Guerrero Cuacuil, E. (2016). Aprovechamiento de la madera de encino en México. *Madera y Bosques*, 6(1), 3–13. <https://doi.org/10.21829/myb.2000.611338>



- De Vos, J. M., Joppa, L. N., Gittleman, J. L., Stephens, P. R. y Pimm, S. L. (2015). Estimating the normal background rate of species extinction. *Conservation Biology*, 29(2), 452–462. <https://doi.org/10.1111/cobi.12380>
- Dempster, A. P., Laird, N. M. y Rubin, D. B. (1977). Maximum Likelihood from Incomplete Data via the EM Algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society*, 39(1), 1–38. <https://doi.org/10.1111/1.3424485>
- Denk, T., Grimm, G. W., Manos, P. S., Deng, M. y Hipp, A. L. (2017). An Updated Infrageneric Classification of the Oaks: Review of Previous Taxonomic Schemes and Synthesis of Evolutionary Patterns. En E. Gil–Pelegrín, J. J. Peguero–Pina, y D. Sancho–Knapik (Eds.), *Oaks Physiological Ecology. Exploring the Functional Diversity of Genus Quercus L.* (pp. 13–38). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-69099-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-69099-5_2)
- Díaz–García, J. M., López–Barrera, F., Pineda, E., Toledo–Aceves, T. y Andresen, E. (2020). Comparing the success of active and passive restoration in a tropical cloud forest landscape : A multi–taxa fauna approach. *PLoS ONE*, 15(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242020>
- Dickson, B. G., Albano, C. M., Anantharaman, R., Beier, P., Graves, T. A., Gray, M. E., Theobald, D. M. (2019). Circuit–theory applications to connectivity science and conservation. *Conserv Biol.*, 33(2), 239–249. <https://doi.org/10.1111/cobi.13230.Submit>.
- Dodd, R., Afzal–Rafii, Z. y Mayer, W. (2008). Molecular markers show how pollen and seed dispersal affect population genetic structure in coast live oak (*Quercus agrifolia* Née). *of the Sixth Symposium on Oak*, 485–495. Recuperado de [http://www.fs.fed.us/psw/publications/documents/psw\\_gtr217/psw\\_gtr217\\_485.pdf](http://www.fs.fed.us/psw/publications/documents/psw_gtr217/psw_gtr217_485.pdf).
- Doyle, J.J. y J.L. Doyle, (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13–15.
- Drake, J. M. (2014). Ensemble algorithms for ecological niche modeling from presence–background and presence–only data. *Ecosphere*, 5(6), 1–16. <https://doi.org/10.1890/ES13-00202.1>
- Ducouso, A., Michaud, H., & Lumaret, R. (1993). Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. *Annals of Forest Science*, 50(January), 91–106. <https://doi.org/10.1051/forest>
- Dudley, B. Y. N. y Parish, J. (2006). Closing the gap. Creating ecologically representative protected area systems: A guide to conducting the gap assessments of protected area systems for the Convention on Biological Diversity. En *CBD Technical Series No. 24*.
- Dutech, C., Sork, V. L., Irwin, A. J., Smouse, P. E., Frank, W., Fagaceae, Q. L., Davis, F. W. (2005). Gene Flow and Fine–Scale Genetic Structure in a Wind–Pollinated Tree Species , *Quercus lobata* ( Fagaceae ). *American Journal of Botany*, 92(2), 252–261.
- Earl, D. A. y vonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>.

- Eaton, D.A., Hipp, A.L., Gonzalez-Rodríguez, A. y Cavender-Bares, J. (2015). Historical introgression among the American live oaks and the comparative nature of tests for introgression. *Evolution*. 69, 2587–2601.
- Edwards, J. L. (2004). Research and Societal Benefits of the Global Biodiversity Information Facility. *BioScience*, 54(6), 486. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054).
- Eliades N-G., Eliades D. G. (2009). HAPLOTYPE ANALYSIS: Software for analysis of haplotype data. Distributed by the authors. Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Georg-August University Goettingen, Germany. URL <http://www.uni-goettingen.de/en/134935.html>.
- Ellegren, H. (2004). Microsatellites: Simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5(6), 435–445. <https://doi.org/10.1038/nrg1348>
- Ellstrand, N. C. (1993). Population Genetic Consequences of Small Population Size: Implications for Plant Conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24(1), 217–242. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.24.1.217>
- Ennos, R. A. (1994). Estimating the relative rates of pollen and seed migration among plant populations. *Heredity*, 72(3), 250–259. <https://doi.org/10.1038/hdy.1994.35>
- Ennos, R.A., Langdon, A., Hu, X., & Sinclair, W.F. (1999). Using organelle markers to elucidate the history, ecology and evolution of plant populations. *Molecular Systematics and Plant Evolution*
- Esperon-Rodríguez, M., Beaumont, L. J., Lenoir, J., Baumgartner, J. B., McGowan, J., Correa-Metrio, A. y Camac, J. S. (2019). Climate change threatens the most biodiverse regions of Mexico. *Biological Conservation*, 240(2019), 108215. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.108215>.
- ESRI 2011. ArcGIS Desktop: Release 10. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute.
- Excoffier, L. y Lischer, H. E. (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. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>.
- Faubet, P., Waples, R. S. y Gaggiotti, O. E. (2007). Evaluating the performance of a multilocus Bayesian method for the estimation of migration rates. *Molecular Ecology*, 16, 1149–1166. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03218.x>.
- Fick, S.E. y Hijmans, R. J. (2017). WorldClim 2: new 1km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 37 (12): 4302–4315.
- Figueroa-Rangel, B. L., Willis, K. J. y Olvera-Vargas, M. (2012). Late-Holocene successional dynamics in a transitional forest of west-central Mexico. *Holocene*, 22(2), 143–153. <https://doi.org/10.1177/0959683611414929>
- Figueroa-Rangel, B. L., Willis, K. J. y Olvera-Vargas, M. (2010). Cloud forest dynamics in the Mexican neotropics during the last 1300 years. *Global Change Biology*, 16(6), 1689–1704. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.02024.x>.
- Foster, P. (2001). The potential impacts of global climate change on tropical montane cloud forests.

- Earth–Science Reviews*, 55(1–2), 73–106. [https://doi.org/10.1016/S0012–8252\(01\)00056–3](https://doi.org/10.1016/S0012–8252(01)00056–3).
- Frankham, R., Ballou, J., & Briscoe, D. (2010). *Introduction to Conservation Genetics* (2nd ed.). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511809002
- Fulé, P. Z. y Covington, W. W. (1998). Spatial patterns of Mexican pine–oak forests under different recent fire regimes. *Plant Ecology*, 134(2), 197–209. <https://doi.org/10.1023/A:1009789018557>
- Gao, W. Q., Ni, Y. Y., Xue, Z. M., Wang, X. F., Kang, F. F., Hu, J., Liu, J. F. (2017). Population structure and regeneration dynamics of *Quercus variabilis* along latitudinal and longitudinal gradients. *Ecosphere*, 8(4). <https://doi.org/10.1002/ecs2.1737>
- García–de la Cruz, Y., Becerra–Zalaveta, J., Quintanar– Isaías, P. A., Ramos–Prado, J. M. y Hernández–Ramírez, A. M. (2014). La bellota de *Quercus insignis* Martens y Galeotti, 1843, la más grande del mundo. *Cuadernos de Biodiversidad*, 46, 1–8.
- Gerber, S., Chadoeuf, J., Gugerli, F., Lascoux, M., Buiteveld, J., Cottrell, J., ... Kremer, A. (2014). High rates of gene flow by pollen and seed in oak populations across Europe. *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085130>
- Gil–Pelegrín, E., Peguero–Pina, J. J. y Sancho–Knapik, D. (2017). Oaks and People: A Long Journey Together. En E. Gil–Pelegrín, J. J. Peguero–Pina, y D. Sancho–Knapik (Eds.), *Oaks Physiological Ecology. Exploring the Functional Diversity of Genus Quercus L.* (pp. 1–11). [https://doi.org/10.1007/978–3–319–69099–5\\_1](https://doi.org/10.1007/978–3–319–69099–5_1).
- Giorgetta, M. A., Jungclaus, J., Reick, C. H., Legutke, S., Bader, J., Böttinger, M., Stevens, B. (2013). Climate and carbon cycle changes from 1850 to 2100 in MPI–ESM simulations for the Coupled Model Intercomparison Project phase 5. *Journal of Advances in Modeling Earth Systems*, 5(3), 572–597. <https://doi.org/10.1002/jame.20038>.
- Glémin, S., Bataillon, T., Ronfort, J., Mignot, A. y Olivieri, I. (2001). Inbreeding depression in small populations of self–incompatible plants. *Genetics*, 159(3), 1217–1229.
- Goldstein, D. B., Ruiz Linares, A., Cavalli–Sforza, L. L. y Feldman, M. W. (1995). An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. *Genetics*, 139(1), 463–471.
- Gómez–Mendoza, L. y Arriaga, L. (2007). Modeling the effect of climate change on the distribution of oak and pine species of Mexico. *Conservation Biology*, 21(6), 1545–1555. <https://doi.org/10.1111/j.1523–1739.2007.00814.x>
- González–espinosa, E. M., Meave, J. A., Lorea–hernández, F. G., Ibarra–manríquez, G., Newton, A. C., Fauna, P. y International, F. (2011). *The Red List of Mexican Cloud Forest Trees*. Cambridge, U. K.: Fauna and Flora International.
- González–Espinosa, M., Meave, J. A., Ramírez–Marcial, N., Toledo–Aceves, T., Lorea–Hernández, y F.G., I.–M. (2012). Los bosques de niebla de México : conservación y restauración de su componente arbóreo. *Ecosistemas*, 21 (1–2), 36–52. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/540/54026849004.pdf>
- Goren–Inbar, N., Sharon, G., Melamed, Y. y Kislev, M. (2002). Nuts, nut cracking, and pitted stones

- at Gesher Benot Ya'aqov, Israel. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(4), 2455–2460. <https://doi.org/10.1073/pnas.032570499>
- Graham, C. H., Ferrier, S., Huettman, F., Moritz, C. y Peterson, A. T. (2004). New developments in museum-based informatics and applications in biodiversity analysis. *Trends in Ecology and Evolution*, 19(9), 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.07.006>
- Grivet, D., Deguilloux, M. F., Petit, R. J. y Sork, V. L. (2006). Contrasting patterns of historical colonization in white oaks (*Quercus spp.*) in California and Europe. *Molecular Ecology*, 15(13), 4085–4093. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03083.x>
- Gual-díaz, M. y González-medrano, F. (2017). Los BN en México. En M. Gual-Díaz y A. Rendón-Correa (Eds.), *Bosques Mesofilos de México. Diversidad, ecología y manejo* (pp. 27–67). Mexico: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Hannah, L., Flint, L., Syphard, A. D., Moritz, M. A., Buckley, L. B. y McCullough, I. M. (2014). Fine-grain modeling of species' response to climate change: Holdouts, stepping-stones, and microrefugia. *Trends in Ecology and Evolution*, 29(7), 390–397. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.04.006>
- Hasumi, H., Emori, S., Eds. (2004). K-1 coupled model (MIROC) description, K-1 technical report, 1, Center for climate system research, University of Tokyo, 34 pp. Disponible en: <http://www.ccsr.utokyo.ac.jp/kyosei/hasumi/MIROC/tech-repo.pdf>.
- Hedrick, P. (2011). *Genetics of Populations*, Boston, Massachusetts, USA.: Jones and Bartlett.
- Hedrick, P. W. (2001). Conservation genetics: Where are we now? *Trends in Ecology and Evolution*, 16(11), 629–636. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02282-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02282-0).
- Hedrick, P. W., y Miller, P. S. (1992). Conservation genetics: techniques and fundamentals. *Ecological Applications*, 2(1), 30–46. <https://doi.org/10.2307/1941887>.
- Helmer, E. H., Gerson, E. A., Scott Baggett, L., Bird, B. J., Ruzycski, T. S. y Voggesser, S. M. (2019). Neotropical cloud forests and páramo to contract and dry from declines in cloud immersion and frost. En *PLoS ONE* (Vol. 14). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213155>
- Herrera-Arroyo, M. L., Sork, V. L., González-Rodríguez, A., Rocha-Ramírez, V., Vega, E. y Oyama, K. (2013). Seed-mediated connectivity among fragmented populations of *Quercus castanea* (Fagaceae) in a Mexican landscape. *American Journal of Botany*, 100(8), 1663–1671. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200396>.
- Hipp, A. L., Eaton, D. A. R., Cavender-Bares, J., Fitzek, E., Nipper, R. y Manos, P. S. (2014). A framework phylogeny of the American oak clade based on sequenced RAD data. *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093975>
- 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. <https://doi.org/10.1111/nph.14773>

- Holderegger, R., Kamm, U. y Gugerli, F. (2006). Adaptive vs. neutral genetic diversity: Implications for landscape genetics. *Landscape Ecology*, 21(6), 797–807. <https://doi.org/10.1007/s10980-005-5245-9>
- Holsinger, K. S. (1993). The evolutionary dynamics of fragmented plant populations. En: Herrera–Arroyo, M. L., Sork, V. L., González–Rodríguez, A., Rocha–Ramírez, V., Vega, E. y Oyama, K. (2013). Seed–mediated connectivity among fragmented populations of *Quercus castanea* (Fagaceae) in a Mexican landscape. *American Journal of Botany*, 100(8), 1663–1671.
- Hughes, A. R., Inouye, B. D., Johnson, M. T. J., Underwood, N. y Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11(6), 609–623. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01179.x>.
- Humphrey, L.T., De Groote I., Morales, J., Barton, N., Collcutt, S., Ramsey, C.B., Bouzouggar, A. (2014). Earliest evidence for caries and exploitation of starchy plant foods in Pleistocene hunter–gatherers from Morocco. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 111: 954–959.
- INEGI. (2009). Prontuario de Información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Zongolica, Veracruz.
- INEGI. (2009). Prontuario de Información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Talpa de Allende, Jalisco
- INEGI. (2009). Prontuario de Información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Huatusco, Veracruz.
- INEGI. Conjunto de Datos Vectoriales de Uso del Suelo y Vegetación. Escala 1:250 000. Serie VI, 2017.
- Islebe, G. A., Veliz–Pérez, M. E. (2001). Guatemala. En M. Kappelle y A.D. Brown (Eds), *Bosques nublados del Neotropico* (pp.231–241). Santo Domingo de Heredia, Costa Rica: INBio.
- Jardel Peláez, E., Cuevas Guzmán, R., Santiago Pérez, A. L. y Rodríguez Gómez, J. M. (2014). Ecología y manejo de los BN en México. En *BN de México diversidad, ecología y manejo* (pp. 141–187).
- Jensen, A. M. y Löf, M. (2017). Effects of interspecific competition from surrounding vegetation on mortality, growth and stem development in young oaks (*Quercus robur*). *Forest Ecology and Management*, 392(September), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.03.009>.
- Jerome, D. (2018). *Quercus insignis*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2018: e.T194177A2302931. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20181.RLTS.T194177A2302931.en>. Downloaded on 14 February 2021.
- Jiménez–García, D. y Peterson, A. T. (2019). Climate change impact on endangered cloud forest tree species in Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90. <https://doi.org/10.22201/IB.20078706E.2019.90.2781>

- Kalinowski, S. T. (2005). HP-RARE 1.0: A computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes*, 5(1), 187–189. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00845.x>.
- Kampfer, S., Lexer, C., Glossl, J., Steinkellner, H. (1998). Characterization of (GA)(n) microsatellite loci from *Quercus robur*. *Hereditas*, 129, 183–186.
- Kappelle, M. (Ed.). (2006). *Ecology and conservation of neotropical montane oak forests* (Vol. 185). Springer Science y Business Media.
- Kappelle, M. (2006). Structure and Composition of Costa Rican Montane Oak Forests. *Ecology and Conservation of Neotropical Montane Oak Forests*, (January 2006), 127–139. [https://doi.org/10.1007/3-540-28909-7\\_10](https://doi.org/10.1007/3-540-28909-7_10).
- Kappelle, M., Brown, A., D. (2001). Bosques Nublados del Neotropico. Santo Domingo de Heredia, Costa Rica: INBio.
- Karlin, S. (1990). Levels of multi-allelic overdominance fitness, heterozygote excess and heterozygote deficiency. *Theoretical Population Biology*, 37(1), 129–149. [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(90\)90031-P](https://doi.org/10.1016/0040-5809(90)90031-P)
- Karmalkar, A. V., Bradley, R. S. y Diaz, H. F. (2008). Climate change scenario for Costa Rican montane forests. *Geophysical Research Letters*, 35(11). <https://doi.org/10.1029/2008GL033940>
- Keppel, G., Van Niel, K. P., Wardell-Johnson, G. W., Yates, C. J., Byrne, M., Mucina, L., Franklin, S. E. (2012). Refugia: Identifying and understanding safe havens for biodiversity under climate change. *Global Ecology and Biogeography*, 21(4), 393–404. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00686.x>
- Keppel, G. y Wardell-Johnson, G. W. (2015). Refugial capacity defines holdouts, microrefugia and stepping-stones: A response to Hannah et al. *Trends in Ecology and Evolution*, 30(5), 233–234. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.01.008>.
- Kimura, M. (1983) *The Neutral Theory of Molecular Evolution*, New York, United State: Cambridge University Press
- Kittelson, P. M., Pinahs, C., Dwyer, J., Ingersoll, A., Mans, E., Rieke, J., Volenec, M. (2009). Age structure and genetic diversity of four *Quercus macrocarpa* (michx.) populations in fragmented oak savanna along the central Minnesota River Valley. *American Midland Naturalist*, 161(2), 301–312. <https://doi.org/10.1674/0003-0031-161.2.301>
- Kramer, A. y Pence, V. (2012). The challenges of ex situ conservation for threatened oaks. *International Oak Journal*, 23(23), 91–107.
- Kremer, A., & Hipp, A. L. (2020). Oaks: an evolutionary success story. *New Phytologist*, 226(4), 987–1011. <https://doi.org/10.1111/nph.16274>.
- Laroche, J., & Durand, J. D. (2004). Genetic structure of fragmented populations of a threatened endemic percid of the Rhône river: *Zingel asper*. *Heredity*, 92(4), 329–334.

<https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800424>

- Leimu, R., Vergeer, P., Angeloni, F., & Ouborg, N. J. (2010). Habitat fragmentation, climate change, and inbreeding in plants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1195(September 2018), 84–98. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05450.x>
- Leroy, T., Plomion, C. y Kremer, A. (2019). Oak symbolism in the light of genomics. *New Phytologist*. <https://doi.org/10.1111/nph.15987>
- Lev, E., Kislef, M. E. y Bar-Yosef, O. (2005). Mousterian vegetal food in Kebara Cave, Mt. Carmel. *Journal of Archaeological Science*, 32(3), 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2004.11.006>
- Lira-Noriega, A., Soberón, J., Townsend Peterson, A., Falconi, M., Contreras-Díaz, R.G., Martínez-Meyer, E., Barve, V. and Barve, N. (2020), ntbox: an R package with graphical user interface for modeling and evaluating multidimensional ecological niches. *Methods Ecol Evol.* 11, 1199–1206. doi:10.1111/2041-210X.13452. <https://github.com/luismurao/ntbox>.
- Loewenstein, E. F., Johnson, P. S. y Garrett, H. E. (2000). Age and diameter structure of a managed uneven-aged oak forest. *Canadian Journal of Forest Research*, 30(7), 1060–1070. <https://doi.org/10.1139/x00-036>
- Loudon, J.C. (1838). *Arboretum et Fruticetum Britannicum*, vol III. Printed for the author by A. Spottiswoode, London.
- Luna, I., Velázquez, A., Velazquez, E. (2001). México. En M. Kappelle y A.D. Brown (Eds), *Bosques nublados del Neotropico* (pp.183–229). Santo Domingo de Heredia, Costa Rica: INBio.
- Luna-José, A. de L., Montalvo-Espinosa, L. y Rendón-Aguilar, B. (2017). Los usos no leñosos de los encinos en México. *Botanical Sciences*, (72), 107. <https://doi.org/10.17129/botsci.1671>
- Manos, P. S., Doyle, J. J. y Nixon, K. C. (1999). Phylogeny, Biogeography, and Processes of Molecular Differentiation in *Quercus* Subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12(3), 333–349.
- MacArthur R.H., Wilson E.O.(1967). *The Theory of Island Biogeography*. Princeton University Press: New Jersey
- McRae, B. H. y Beier, P. (2007). Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(50), 19885–19890. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706568104>.
- McRae, B., Shah, V. y Edelman, A. (2016). Circuitscape: modeling landscape connectivity to promote conservation and human health. *The Nature Conservancy*, 1–14.
- McVay, J. D., Hipp, A. L. y Manos, P. S. (2017). A genetic legacy of introgression confounds phylogeny and biogeography in oaks. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1854). <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0300>.
- Meave, J. A. (2012). Los bosques de niebla de México: conservación y restauración de su componente arbóreo. *Ecosistemas*, 21(1–2), 36–52.

- Meirmans P. G. (2014). Nonconvergence in Bayesian estimation of migration rates. *Molecular ecology resources*, 14(4), 726–733. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12216>.
- Mejía–Valdivieso, D. A. (2001). Honduras. En M. Kappelle y A.D. Brown (Eds), *Bosques nublados del Neotropico* (pp.231–241). Santo Domingo de Heredia, Costa Rica: INBio.
- Mestre, F. (2018). Synergistic effects of climate change and habitat fragmentation on species range shifts and metapopulation persistence. *Frontiers of Biogeography*, 9(4), 0–6. <https://doi.org/10.21425/F59435859>
- Mohammad–Panah, N., Shabaniyan, N., Khadivi, A., Rahmani, M. S. y Emami, A. (2017). Genetic structure of gall oak (*Quercus infectoria*) characterized by nuclear and chloroplast SSR markers. *Tree Genetics and Genomes*, 13(3). <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1146-8>.
- Montes–Hernández, B. y López–Barrera, F. (2013). Seedling establishment of *Quercus insignis*: A critically endangered oak tree species in southern Mexico. *Forest Ecology and Management*, 310, 927–934. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.09.044>.
- Morrone, J. J. (2014). Biogeographical regionalisation of the neotropical region. En *Zootaxa* (Vol. 3782). <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3782.1.1>.
- Naimi, B., Hamm, Na., Groen, T. A., Skidmore, A. K. y Toxopeus, A.G. (2014). “Where is positional uncertainty a problem for species distribution modelling.” *Ecography*, 37, pp. 191–203. doi: 10.1111/j.1600-0587.2013.00205.x.
- Nixon, K. y Hortorium, L. H. B. (1993). Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names. *Annales des sciences forestières*, 50, 25–34.
- Nixon, K.C. (1997). Fagaceae. En (Rosado, Figueiredo, de Mattos, y Grelle, 2016)Flora of North America Editorial Committee. (Ed). Flora of North America North of Mexico. (pp. 436–437). New York: Oxford University Press.
- Nixon, K.C. (2006). Global and Neotropical Distribution and Diversity of Oak (genus *Quercus*) and Oak Forests. En M. Kapelle. (Ed.), *Ecology and Conservation of Neotropical Montane Oak Forest*. (pp. 3–12). Berlin, Heidelberg: Springer–Verlag.
- Oldfield, S. y Eastwood, A. (2007). *The Red List of Oaks*. Cambridge, UK.: Fauna y Flora International.
- Olson, D. M., Dinerstein, E., Wikramanayake, E. D., Burgess, N. D., Powell, G. V. N., Underwood, E. C., Kassem, K. R. (2001). Terrestrial ecoregions of the world: A new map of life on Earth. *BioScience*, 51(11), 933–938. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0933:TEOTWA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0933:TEOTWA]2.0.CO;2).
- Olvera–Vargas, M. y Figueroa–Rangel, B. L. (2012). Caracterización estructural de bosques montanos dominados por encino en el centro–occidente de México. *Ecosistemas*, 21(1–2), 74–84.



- Ørsted, A.S. (1871). Bidrag til Kundskab om Egefamilien. Kongl Danske Vidensk Selsk Biol Skr 5 naturvidensk math Afd. 6, 31–538.
- Ortego, J., Bonal, R., Muñoz, A. y Aparicio, J. M. (2014). *Extensive pollen immigration and no evidence of disrupted mating patterns or reproduction in a highly fragmented holm oak stand*. 7(4), 384–395. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtt049>.
- Osorio–Arce M M y Segura–Correa J C. (2013). Ficha informativa del IPCC: ¿Qué es el IPCC? *Livestock Research for Rural Development*, 2. Recuperado de [https://www.ipcc.ch/news\\_and\\_events/docs/factsheets/FS\\_what\\_ipcc\\_es.pdf](https://www.ipcc.ch/news_and_events/docs/factsheets/FS_what_ipcc_es.pdf).
- Ouborg, N. J., Pertoldi, C., Loeschcke, V., Bijlsma, R. K., & Hedrick, P. W. (2010). Conservation genetics in transition to conservation genomics. *Trends in Genetics*, 26(4), 177–187. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2010.01.001>.
- Pacheco–Cruz, N., Clark–Tapia, R., Campos–Contreras, J. E., Gorgonio–Ramírez, M., Luna–Krautle, M. D., Naranjo–Luna, F. J. y Alfonso–Corrado, C. (2018). Demography oreomunnea mexicana (Standl.) J. F. Leroy in the cloud forest of Sierra Juárez, Oaxaca. *Madera y Bosques*, 24(2), 1–11. <https://doi.org/10.21829/myb.2018.2421509>.
- Pakkad, G., Ueno, S. y Yoshimaru, H. (2008). Genetic diversity and differentiation of *Quercus semiserrata* Roxb. in northern Thailand revealed by nuclear and chloroplast microsatellite markers. *Forest Ecology and Management*, 255(3–4), 1067–1077. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.10.021>.
- Peakall, R. y Smouse, P. (2006). Gen Alex 6: Una guía para Analisis Geneticos en Excel. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288–295.
- Peréz–Rios, M. del C. (2018). *Conocimiento local y estructura poblacional de Quercus insignis Martens y Galeotti, en dos localidades de la Sierra de Zongolica, Veracruz*. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico Superior de Zongolica.
- Peterson, A. T. (2012). perspective: Phylogeography is not enough: The need for multiple lines of evidence. *Frontiers of Biogeography*, 1(1). <https://doi.org/10.21425/f5fbg12232>.
- Peterson, A. T., Navarro–Sigüenza, A. G., Hernández–Banos, B. E., Escalona–Segura, G., Rebón–Gallardo, F., Rodríguez–Ayala, E., Cabrera–García, L. (2003). The Chimalapas region, Oaxaca, Mexico: A high–priority region for bird conservation in Mesoamerica. *Bird Conservation International*, 13(3), 227–253. <https://doi.org/10.1017/S0959270903003186>.
- Peterson, A. T. y Soberón, J. (2012). Species distribution modeling and ecological niche modeling: Getting the Concepts Right. *Natureza a Conservacao*, 10(2), 102–107. <https://doi.org/10.4322/natcon.2012.019>.
- Peterson, A. T., Soberón, J., Pearson, R. G., Anderson, R. P., Martínez–Meyer, E., Nakamura, M. y Araújo, M. B. (2011). *Ecological Niches and Geographic Distributions*. <https://doi.org/10.23943/princeton/9780691136868.001.0001>.
- Petit, R. J., Csaikl, U. M., Bordács, S., Burg, K., Coart, E., Cottrell, J., Kremer, A. (2002). Chloroplast DNA variation in European white oaks. Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*, 156(1–3), 5–26.

[https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00645-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00645-4).

- Phillips, S. J., Dudik, M. y Schapire, R.E. (2004). A maximum entropy approach to species distribution modeling. Pages 655–662 in Proceedings of the 21st International Conference on Machine Learning. ACM Press, New York.
- Pinelo, G. (2004). Manual de inventario forestal integrado para unidades de manejo. En *Reserva de la Biosfera Maya, Petén, Guatemala* (Vol. 4).
- Ponce-Reyes, R., Nicholson, E., Baxter, P. W. J., Fuller, R. A. y Possingham, H. (2013). Extinction risk in cloud forest fragments under climate change and habitat loss. *Diversity and Distributions*, 19(5–6), 518–529. <https://doi.org/10.1111/ddi.12064>.
- Pope, I., Harbor, J., Zanotti, L., Shao, G., Bowen, D. y Burniske, G. R. (2016). Cloud Forest Conservation in the Central Highlands of Guatemala Hinges on Soil Conservation and Intensifying Food Production. *Professional Geographer*, 68(1), 1–13. <https://doi.org/10.1080/00330124.2015.1006556>.
- Provan, J., Powell, W., & Hollingsworth, P. M. (2001). Chloroplast microsatellites: New tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(3), 142–147. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)02097-8](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)02097-8)
- Pudovkin, A. I., Zaykin, D. V. y Hedgecock, D. (1996). On the potential for estimating the effective number of breeders from heterozygote-excess in progeny. *Genetics*, 144(1), 383–387.
- Pulido, M.T., Cavelier, J., Cortés-S, S.P. (2006). Structure and Composition of Colombian Montane Oak Forests. En Kappelle M. (Ed.). Ecology and Conservation of Neotropical Montane Oak Forests. *Ecological Studies* (pp. 141–150). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Quesada-Quirós, M., Acosta-Vargas, L. G., Arias-Aguilar, D. y Rodríguez-González, A. (2016). Modelación de nichos ecológicos basado en tres escenarios de cambio climático para cinco especies de plantas en zonas altas de Costa Rica. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 14(34), 01. <https://doi.org/10.18845/rfmk.v14i34.2991>.
- Ramanatha Rao, V., & Hodgkin, T. (2002). Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 68, 1–19. Recuperado de <https://www.cbd.int/doc/articles/2002-/A-00109.pdf>.
- Ramírez-Barahona, S. y 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. <https://doi.org/10.1002/ece3.483>
- Ramos-Ortiz, S., Oyama, K., Rodríguez-Correa, H. y González-Rodríguez, A. (2016). Geographic structure of genetic and phenotypic variation in the hybrid zone between *Quercus affinis* and *Quercus laurina* in Mexico. *Plant Species Biology*, 31(3), 219–232. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12109>
- Rangel, D. M. R., Mendoza, M. E., Gómez-Tagle, A. y Marín, C. T. (2019). Advances and challenges in the knowledge on the tropical mountain cloud forests of Mexico. *Madera y Bosques*, 25(1), 1–19. <https://doi.org/10.21829/myb.2019.2511759>

- Ratnam, W., Rajora, O. P., Finkeldey, R., Aravanopoulos, F., Bouvet, J. M., V., Kanashiro, M., Fady, B., Tomita, M. y Vinson, C. (2014). Genetic effects of forest management practices: Global synthesis and perspectives. *Forest Ecology and Management*, 333, 52–65. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.06.008>.
- Rawat, U., y Agarwal, N. (2015). Biodiversity: Concept, threats and conservation. *Environment Conservation Journal*, 16(3), 19–28. <https://doi.org/ISSN 2278-5124>
- Reed, D. H. y Frankham, R. (2003). Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*, 17(1), 230–237. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2003.01236.x>
- Rodríguez–Correa, H., González–Rodríguez, A. y Oyama, K. (2017). Perspectivas de la Ecología Molecular en un país megadiverso. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88, 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.002>
- Rodríguez–Correa, H., Oyama, K., Macgregor–Fors, I. y 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. <https://doi.org/10.1086/679904>.
- Rodríguez–Correa, H., Oyama, K., Quesada, M., Fuchs, E. J., Quezada, M., Ferrufino, L., González–Rodríguez, A. (2017). Complex phylogeographic patterns indicate Central American origin of two widespread Mesoamerican *Quercus* (Fagaceae) species. *Tree Genetics and Genomes*, 13(3). <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1147-7>.
- Rodríguez–Quilón, I., Santos–del–Blanco, L., Grivet, D., Jaramillo–Correa, J. P., Majada, J., Vendramin, G. G., González–Martínez, S. C. (2015). Local effects drive heterozygosity–fitness correlations in an outcrossing long–lived tree. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1820). <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.2230>.
- Rojas–Soto, O. R., Sosa, V. y Ornelas, J. F. (2012). Forecasting cloud forest in eastern and southern Mexico: Conservation insights under future climate change scenarios. *Biodiversity and Conservation*, 21(10), 2671–2690. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0327-x>.
- Rousset, F., (2008). Genepop'007: a complete reimplement of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology*. Resources 8: 103–106.
- RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ruiz–Alonso, M., Zapata, L., Pérez–Díaz, S., López–Sáez, J. A. y Fernández–Eraso, J. (2017). Selection of firewood in northern Iberia: Archaeobotanical data from three archaeological sites. *Quaternary International*, 431, 61–72. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2015.11.076>.
- Ruiz–Jiménez, C. A., Téllez–Valdés, O. y Luna–Vega, I. (2012). Clasificación de los BN de México: afinidades de la flora. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83(4), 1110–1144. <https://doi.org/10.7550/rmb.29383>.

- Rzedowski, J. (1988). *Vegetación de México*, México DF, México: Editorial Limusa.
- Sabás–Rosales, J. L., Sosa–Ramírez, J. y Luna–Ruiz, J. D. J. (2015). Diversidad, distribución y caracterización básica del hábitat de los encinos (*Quercus*: Fagaceae) del estado de San Luis Potosí, México. *Botanical Sciences*, 93(4), 881–897. <https://doi.org/10.17129/botsci.205>
- Sánchez–Chaves, O. y Navarrete–Chacón, G. (2017). La experiencia de Costa Rica en el pago por servicios ambientales: 20 años de lecciones aprendidas. *Revista de Ciencias Ambientales*, 51(2), 195. <https://doi.org/10.15359/rca.51–2.11>.
- Sánchez–Ramos, G. y Dirzo, R. (2017). El BN: Un ecosistema prioritario amenazado. En M. Gual–Díaz y A. Rendón–Correa (Eds.), *Bosques Mesofilos de México. Diversidad, ecología y manejo* (pp.109–136). Mexico: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Saura, S., Bertzky, B., Bastin, L., Battistella, L., Mandrici, A. y Dubois, G. (2018). Protected area connectivity: Shortfalls in global targets and country–level priorities. *Biological Conservation*, 219(July 2017), 53–67. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.12.020>.
- Schlaepfer, D. R., Braschler, B., Rusterholz, H. P. y Baur, B. (2018). Genetic effects of anthropogenic habitat fragmentation on remnant animal and plant populations: a meta–analysis. *Ecosphere*, 9(10). <https://doi.org/10.1002/ecs2.2488>.
- Schlötterer, C. (2004). The evolution of molecular markers – Just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics*, 5(1), 63–69. <https://doi.org/10.1038/nrg1249>
- Schueler, S. y Schlünzen, K. H. (2006). Modeling of oak pollen dispersal on the landscape level with a mesoscale atmospheric model. *Environmental Modeling and Assessment*, 11(3), 179–194. <https://doi.org/10.1007/s10666–006–9044–8>.
- Sebastiani, F., Carnevale, S. y Vendramin, G. G. (2004). A new set of mono– and dinucleotide chloroplast microsatellites in Fagaceae. *Molecular Ecology Notes*, 4(2), 259–261. <https://doi.org/10.1111/j.1471–8286.2004.00635.x>.
- Semarnat. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM–059– SEMARNAT–2010. Diario Oficial de la Federación (DOF), jueves 30 de diciembre de 2010.
- Soberón, J. (2007). Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecology Letters*, 10(12), 1115–1123. <https://doi.org/10.1111/j.1461–0248.2007.01107.x>.
- Soberón, J. y Nakamura, M. (2009). Niches and distributional areas: Concepts, methods, and assumptions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(SUPPL. 2), 19644–19650. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901637106>
- Soberón, J., Osorio–Olvera, L. y Peterson, T. (2017). Diferencias conceptuales entre modelación de nichos y modelación de áreas de distribución. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(2), 437–441. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.03.011>.
- Soberón, J. y Peterson, A. T. (2005). Interpretation of Models of Fundamental Ecological Niches and Species’ Distributional Areas. *Biodiversity Informatics*, 2(0), 1–10.

<https://doi.org/10.17161/bi.v2i0.4>.

- Sokpon, N. y Biaou, S. H. (2002). The use of diameter distributions in sustained-use management of remnant forests in Benin: Case of Bassila forest reserve in North Benin. *Forest Ecology and Management*, 161(1–3), 13–25. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00488-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00488-1).
- Sork, V. L., y P. E. Smouse.(2006). Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape Ecology* 21 : 821 – 836.
- Spielman, D., Brook, B. W. y Frankham, R. (2004). Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(42), 15261–15264. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403809101>.
- Steinkellner, H., Fluch, S., Turetschek, E., Lexer, C., Streiff, R., Kremer, A., Burg, K. y Glössl, J. (1997). Identification and characterization of (GA/CT)<sub>n</sub>-microsatellite loci from *Quercus petraea*. *Plant molecular biology*, 33(6), 1093–1096. <https://doi.org/10.1023/a:1005736722794>.
- Stoeckel, S., Grange, J., Fernández-Manjarres, J. F., Bilger, I., Frascaria-Lacoste, N. y Mariette, S. (2006). Heterozygote excess in a self-incompatible and partially clonal forest tree species – *Prunus avium* L. *Molecular Ecology*, 15(8), 2109–2118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02926.x>.
- Sun, S., Zhang, Y., Huang, D., Wang, H., Cao, Q., Fan, P., Wang, R. (2020). The effect of climate change on the richness distribution pattern of oaks (*Quercus* L.) in China. *Science of the Total Environment*, 744, 140786. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140786>.
- Toledo-Aceves, T., Meave, J. A., González-Espinosa, M. y Ramírez-Marcial, N. (2011). Tropical montane cloud forests: Current threats and opportunities for their conservation and sustainable management in Mexico. *Journal of Environmental Management*, 92(3), 974–981. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.11.007>.
- Trelease, W. (1924). *The American Oaks*. National Academy of Sciences. Washington Government Printing Office, Washington, DC.
- UNEP-WCMC y IUCN (2021), Protected Planet: The World Database on Protected Areas (WDPA) and World Database on Other Effective Area-based Conservation Measures (WD-OECM) [Online], February 2021, Cambridge, UK: UNEP-WCMC and IUCN. Disponible en: [www.protectedplanet.net](http://www.protectedplanet.net).
- Valencia-A, S. (2004). Diversidad del género *Quercus* (fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 75, 33–53. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.05.313>.
- Valencia-Ávalos, S. y Gual-Díaz Martha. (2014). La familia Fagaceae en el BN de México. *Botanical Sciences*, 92(2), 193–204.
- Valencia-Cuevas, L., Piñero, D., Mussali-Galante, P., Valencia-Ávalos, S. y Tovar-Sánchez, E. (2014). Effect of a red oak species gradient on genetic structure and diversity of *Quercus castanea* (Fagaceae) in Mexico. *Tree Genetics and Genomes*, 10(3), 641–652. <https://doi.org/10.1007/s11295-014-0710-8>.

- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M. y Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535–538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
- Vásquez-Morales, S. G. y Ramírez-Marcial, N. (2019). Seed germination and population structure of two endangered tree species: *Magnolia perezfarrerae* and *Magnolia sharpii*. *Botanical Sciences*, 97(1), 2–12. <https://doi.org/10.17129/botsci.1977>.
- Vega-Ortega, M. Á., Llanderal-Mendoza, J., Gerez-Fernández, P. y López-Binnquist, C. (2020). Genetic diversity in oak populations under intensive management for fuelwood in the Sierra de Zongolica, Mexico. *Annals of Applied Biology*. <https://doi.org/10.1111/aab.12639>.
- Villa, P. y Roebroeks, W. (2014). Neandertal demise: An archaeological analysis of the modern human superiority complex. *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096424>.
- Villaseñor, J. L. (2010). *El bosque húmedo en México y sus plantas vasculares: catálogo florístico-taxonómico* (Vol. 51). México, D.F: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad – Universidad Nacional Autónoma de México.
- Vranckx, G., Jacquemyn, H., Mergeay, J., Cox, K., Kint, V., Muys, B. y Honnay, O. (2014). Transmission of genetic variation from the adult generation to naturally established seedling cohorts in small forest stands of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Forest Ecology and Management*, 312, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.10.027>.
- Walsh, B. (2001). Nicaragua. En M. Kappelle y A.D. Brown (Eds), *Bosques nublados del Neotropico* (pp.231–241). Santo Domingo de Heredia, Costa Rica: INBio.
- Wei, T. y Simko, V. (2017). R package "corrplot": Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.84). Disponible en <https://github.com/taiyun/corrplot>.
- Weir, B. S. (1996). *Genetic Data Analysis II*. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.
- Whittemore, A. T. y Schaal, B. A. (1991). Interspecific gene flow in sympatric oaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(6), 2540–2544. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.6.2540>.
- Wiens, J. A., Stralberg, D., Jongsomjit, D., Howell, C. A. y Snyder, M. A. (2009). Niches, models, and climate change: Assessing the assumptions and uncertainties. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(SUPPL. 2), 19729–19736. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901639106>.
- Wiens, J. J. y Graham, C. H. (2005). Niche conservatism: Integrating evolution, ecology, and conservation biology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 519–539. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102803.095431>.
- Wilson, M. C., Chen, X. Y., Corlett, R. T., Didham, R. K., Ding, P., Holt, R. D., Yu, M. (2016). Habitat fragmentation and biodiversity conservation: key findings and future challenges. *Landscape Ecology*, 31(2), 219–227. <https://doi.org/10.1007/s10980-015-0312-3>
- Williams-Linera, G. (2012). *El bosque de niebla del centro de Veracruz: ecología, historia y destino*

*en tiempos de fragmentación y cambio climático*. Recuperado de <http://www.inecol.edu.mx/librobosquedeniebla.pdf>.

- Williams–Linera, G., Toledo–Garibaldi, M., y Hernández, C. G. (2013). How heterogeneous are the cloud forest communities in the mountains of central Veracruz, Mexico? *Plant Ecology*, *214*(5), 685–701. <https://doi.org/10.1007/s11258-013-0199-5>.
- Williams, J. W. y Jackson, S. T. (2007). Novel climates, no–analog communities, and ecological surprises. *Frontiers in Ecology and the Environment*, *5*(9), 475–482. <https://doi.org/10.1890/070037>.
- Wilson, G. A. y Rannala, B. (2003). Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics*, *163*(3), 1177–1191.
- Yesuf, G. U., Brown, K. A., Walford, N. S., Rakotoarisoa, S. E., & Rufino, M. C. (2021). Predicting range shifts for critically endangered plants: Is habitat connectivity irrelevant or necessary? *Biological Conservation*, 256. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.109033>
- Zeng, X. y Fischer, G. A. (2020). Wind pollination over 70 years reduces the negative genetic effects of severe forest fragmentation in the tropical oak *Quercus bambusifolia*. *Heredity*, *124*(1), 156–169. <https://doi.org/10.1038/s41437-019-0258-3>.

## 14 ANEXOS

### Anexo 1. Protocolo de extracción de ADN para *Quercus insignis*

El tejido foliar se molió previamente con nitrógeno líquido en un mortero de porcelana. Posteriormente, se homogeneizó 0.06 g de tejido en 700 ul de buffer de extracción [100 mM tris-HCl (pH 8.0), 20 mM EDTA (pH 8.0), 1 M NaCl, 3% CTAB] y 0.3% de  $\beta$ -mercaptoetanol en un tubo de centrifuga de 1.5 ml. Se centrifugó las muestras a 10 000 rpm durante 8 min, se eliminó el sobrenadante y se añadió nuevamente 700 ul del buffer de extracción. Después, se incubaron las muestras a 65°C durante 20 min y se realizó vortex cada 5 min, seguidamente se colocaron las muestras en hielo durante 5 min. La suspensión fue purificada con 600 ul de cloroformo isoamílico (24:1) y se centrifugó a 13 000 rpm durante 12 min. Se recuperaron 400 ul de sobrenadante, se adicionaron 240 ul de isopropanol frío y se mezcló por inversión cada muestra. El ADN se precipitó mediante centrifugación a 10 000 rpm durante 10 min. Después se lavó con alcohol etílico al 70%, se centrifugó nuevamente a 10 000 rpm durante 5 min y después se dejó secar utilizando una centrifuga de vacío. Por último, el ADN se resuspendió en 75  $\mu$ l de agua destilada estéril



**Anexo 2.** Estimaciones del nivel de significancia para el equilibrio Hardy–Weinberg por locus y para cada población. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001.

Locus	Población			
	Jalisco	Oaxaca	Huatusco	Zongolica
IF02	***	ns	**	***
OC11	***	*	*	***
QrZag 96	**	ns	ns	***
QpZag 39	**	ns	ns	***
QrZag 110	ns	***	ns	—
OM07	***	***	ns	—
OM05	ns	ns	***	***
QrZag 58	***	***	***	***

**Anexo 3.** Genotipos de los haplotipos detectados a partir de cuatro SSRcp y la frecuencia para cada haplotipo por población (Jal: Jalisco, Oax: Oaxaca, Hut: Huatusco, Zon: Zongolica) de *Q. insignis*.

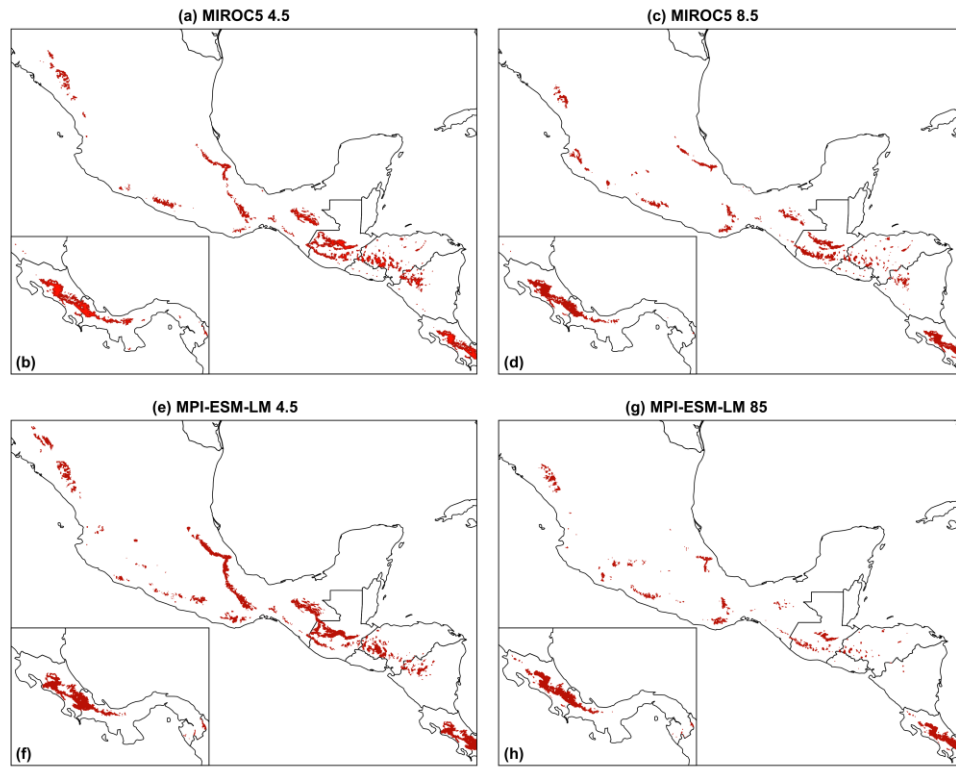
Hap					Frecuencia			
	Cmcs6	Cmcs8	Cmcs13	Cmcs12	Jalisco	Oaxaca	Huatusco	Zongolica
H1	191	175	123	219	0.07			
H2	191	175	121	219	0.51			
H3	191	175	119	219	0.27			
H4	191	173	121	219	0.01			
H5	191	175	121	221	0.14			
H6	193	175	121	221		0.69		
H7	193	175	121	219		0.18		
H8	193	175	119	221		0.09		
H9	193	175	119	219		0.04		
H10	193	177	121	219		0.01		
H11	195	175	119	223			0.06	
H12	195	175	121	223			0.82	
H13	195	175	121	221			0.10	
H14	195	175	119	221			0.01	
H15	195	177	121	223			0.01	
H16	189	177	121	221				0.77
H17	189	177	121	219				0.19
H18	189	177	119	221				0.03

**Anexo 4.** Tasa de migración reciente entre las poblaciones de *Quercus insignis* y desviación estándar estimadas por BAYESSAS. Las fuentes se enlistan en la primera fila y las poblaciones que reciben inmigrantes en la primera columna.

Hacia/Desde	Jalisco	Oaxaca	Huatusco	Zongolica
<b>Jalisco</b>	<b>0.9868(0.0074)</b>	0.0063(0.0053)	0.0034(0.0034)	0.0034(0.0034)
<b>Oaxaca</b>	0.0043(0.0043)	<b>0.9856(0.0076)</b>	0.0035(0.0034)	0.0034(0.0034)
<b>Huatusco</b>	0.0045(0.0044)	0.0041(0.0040)	<b>0.9897(0.0058)</b>	0.0034(0.0034)
<b>Zongolica</b>	0.0044(0.0043)	0.0040(0.0039)	0.0034(0.0034)	<b>0.9897(0.0058)</b>

**Anexo 5.** Variables ambientales seleccionadas y no correlacionadas con el porcentaje relativo de contribución al modelo de nicho ecológico de *Quercus insignis*.

Abreviación	Variable ambiental	(%) contribución
Bio 08	Temperatura media del trimestre más lluvioso	57.1
Bio 13	Precipitación del mes más lluvioso	12.9
Bio 19	Precipitación del trimestre más frío	8.8
Bio 14	Precipitación del mes más seco	7.5
Bio 02	Rango de temperaturas diurnas	5.8
Bio 18	Precipitación del trimestre más cálido	5.2
Bio 03	Isotermalidad (BIO2/BIO7) (* 100)	2.3
Bio 15	Estacionalidad en la precipitación	0.4



**Anexo 6.** Proyección de modelos de nicho ecológico para *Quercus insignis*. (a–b) MIROC5 4.5; (c–d) MIROC5 8.5; (e–f) MPI–ESM–LM 4.5 y (g–h) MPI–ESM–LM 8.5 con valores de idoneidad ambiental bajo dos escenarios climáticos RCP 4.5 y RCP 8.5 para el año 2080. El área sombreada representa alturas mayores a los 1000 m snm.

**Anexo 7.** Lista de Áreas Naturales protegidas que albergan más de 100 km<sup>2</sup> de áreas ambientalmente adecuadas de nicho ecológico para *Quercus insignis* en toda su distribución.

No	ÁREA NATURAL PROTEGIDA	ÁREA (km <sup>2</sup> )	PAÍS
1	Reservas de la Cordillera de Talamanca–La Amistad /Parque Nacional de la Amistad	3298	Costa Rica–Panamá
2	Reserva de la Biosfera Bosawas	2300	Nicaragua
3	Reserva de la Biosfera Sierra de las Minas	1127	Guatemala
4	C.A.D.N.R. 043 Estado de Nayarit	858	México
5	Zona de Protección Forestal en los terrenos que se encuentran en los municipios de La Concordia, Ángel Albino Corzo, Villa Flores y Jiquipilas	762	México
6	Reserva de la Biosfera El Triunfo	732	México
7	Parque Nacional Santa Fe	425	Panamá
8	Reserva de Uso Múltiple la Cuenca del Lago de Atitlán	345	Guatemala
9	Reserva forestal Los Santos	327	Costa Rica
10	Parque Nacional Braulio Carrillo	311	Costa Rica
11	Bosque Protector Palo Seco	282	Panamá
12	Reserva de la Biosfera Opalaca	279	Honduras
13	Reserva de la Biosfera La Sepultura	266	México
14	Parque Nacional Celaque	260	Honduras
15	Área de usos múltiples Lago de Yojoa	259	Honduras
16	Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán	246	Mexico
17	Reserva Forestal Cordillera Volcánica Central	240	Costa Rica
18	Zona Protectora Las Tablas	231	Costa Rica
19	Reserva Biológica Montecillos	217	Honduras
20	Parque Nacional Azul Meámbar	204	Honduras
21	Reserva Natural Cordillera Dipilto y Jalapa	192	Nicaragua

---

22 Reserva Natural Miraflores–Moropotente	188	Nicaragua
23 Reserva de la Biosfera Isis Cabá	185	Guatemala
24 Parque Nacional Volcán Barú	157	Panamá
25 Pico El Loro–Paxtal	156	México
26 Parque Nacional Montaña Santa Bárbara	142	Honduras
27 Refugio de vida silvestre Mixcure	136	Honduras
28 Reserva de vida silvestre Montaña Verde	133	Honduras
29 Reserva Natural Macizo de Peñas Blancas	127	Nicaragua
30 Zona protectora Arenal–Monteverde	122	Costa Rica
31 Reserva Biológica Guajiquiro	121	Honduras
32 Parque Nacional Patuca	116	Honduras
33 Parque Nacional Congolón, Piedra Parada y Coyocutena	111	Honduras
34 Reserva de la Biosfera Sierra de San Juan	111	México
35 Reserva Biológica Volcán Pacayita	110	Honduras
36 Reserva de la biosfera transfronteriza Trifinio–Fraternidad	165	Guatemala
37 Parque Nacional Montaña de Comayagua	102	Honduras
38 Reserva Natural Cerro Cumaica–Cerro Alegre	101	Nicaragua

---

**Anexo 8.** Áreas de distribución potencial para los modelos de nicho ecológico (km<sup>2</sup>) de *Quercus inisignis* y porcentajes de área estable, área ganada y área perdida bajo diferentes escenarios (RCP 4.5 y 8.5) modelos climáticos (MIROC5, MPI-ESM-LM) y dentro sistema Nacional de Áreas Protegidas (ANP).

<b>Modelo</b>	<b>Área Total</b>	<b>% Área estable</b>	<b>% Área ganada</b>	<b>% Área perdida</b>
<b>Modelo de Nicho Ecológico</b>				
Área de distribución potencial actual	87209			
<b>Modelos bajo escenario RCP 4.5</b>				
MIROC5	36414	33.76	19.15	66.24
MPI-ESM-LR	44023	39.24	22.27	60.76
<b>Modelos bajo escenario RCP 8.5</b>				
MIROC5	26659	21.07	31.09	78.95
MPI-ESM-LR	17259	11.48	42.01	88.52
<b>Área del Modelo dentro ANP</b>				
Área de distribución potencial actual	18809			
<b>Modelos bajo escenario RCP 4.5</b>				
MIROC5	10379	44.85	18.73	55.15
MPI-ESM-LR	9155	40.68	16.42	59.32
<b>Modelos bajo escenario RCP 8.5</b>				
MIROC5	8988	33.79	29.30	66.21
MPI-ESM-LR	7289	24.52	36.73	75.48