



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS**

**HIBRIDACIÓN NATURAL Y VARIACIÓN MORFOLÓGICA
DEL COMPLEJO *Quercus crassifolia* × *Q. crassipes*
(FAGACEAE) EN MÉXICO**

TESIS

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

P R E S E N T A

LUZ DEL CARMEN RUIZ AMARO

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ

COMITÉ TUTOR:

DRA. ANA ELENA MENDOZA OCHOA

DRA. SUSANA VALENCIA ÁVALOS

MÉXICO, D.F.

JUNIO 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 18 de enero de 2010, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA AMBIENTAL)** del (la) alumno (a) **RUIZ AMARO LUZ DEL CARMEN** con número de cuenta **85208867** con la tesis titulada **"HIBRIDACIÓN NATURAL Y VARIACIÓN MORFOLÓGICA DEL COMPLEJO *Quercus crassifolia* x *Q. crassipes* (Fagaceae) EN MÉXICO"**, realizada bajo la dirección del (la) **DR. EFRAIN TOVAR SÁNCHEZ:**

Presidente: DRA. ANA ELENA MENDOZA OCHOA
Vocal: M. EN C. IRENE PISANTY BARUCH
Secretario: DR. EFRAIN TOVAR SÁNCHEZ
Suplente: DRA. MARÍA GUADALUPE BARAJAS GUZMÁN
Suplente: DRA. SUSANA VALENCIA AVALOS

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

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 14 de junio de 2010.


Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa

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

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM; Por el apoyo brindado a mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

Muy especialmente a los miembros del comité tutor:

Dr. Efraín Tovar Sánchez

Dra. Ana Elena Mendoza Ochoa

Dra. Susana Valencia Ávalos

Por su apoyo, orientación y seguimiento oportuno a mi trabajo de investigación.

Por sus comentarios y sugerencias a mi documento de tesis.
A los miembros del jurado:

Dr. Efraín Tovar Sánchez
Dra. Ana Elena Mendoza Ochoa
Dra. Susana Valencia Ávalos
M. en C. Irene Pisanty Baruch
Dra. María Guadalupe Barajas Guzmán

A Efraín Tovar Sánchez y a Patricia Mussali por su tiempo y disposición para el desarrollo de mi tesis, su apoyo incondicional, paciencia en los momentos críticos y sobre todo por su amistad y cariño.

Por su acogida, apoyo, trato afectuoso y amable, pero principalmente por su valiosa amistad a Ana Elena Mendoza Ochoa.

Por su apoyo, consejos, calidez humana y amistad a Rocío Esteban Jiménez.

Por su guía y apoyo en el procesamiento y observación de muestras en el microscopio electrónico de barrido Zeiss DSM 950, pero sobre todo por su amistad a Armando Zepeda Rodríguez.

Por su apoyo en el procesamiento y digitalización fotográfica de la parte de MEB, por su calidez y amistad a Francisco Pasos Nájera.

Por su apoyo en la digitalización de imágenes en el microscopio Zeiss discovery V8 Stereo con el programa AxionVision a Rubén Pérez Ishiwara.

A mis maestros del Posgrado en Ciencias Biológicas, por su gran compromiso y pasión por la Ciencia.

A Antonio con todo mi amor, por llenar mi vida de alegría. Gracias por tu cariño, apoyo y comprensión.

A mis amig@s Lupita Sandoval, Maritza Rivera y Mariana Hernández y a mis amigos Mario Queen, Jabel Ramírez, Victor Peña y Emmanuel Alvarado por su apoyo en mis momentos de crisis, por su orientación, ejemplo y cariño.

Por su compañía, apoyo emocional y por todos los ratos agradables durante mi estancia en el Laboratorio de Poblaciones Vegetales, IE, UNAM a mis compañeros y amigos: Paco, Nadia, Ale, Nohemí, Elizabeth, Pachi, Laura y Soledad.

A los chicos del Laboratorio de Sistemática y evolución del CIByC, UAEM. Gracias por su valiosa ayuda en el trabajo de gabinete: Mauricio, Alfredo, Maribel, Fabi, Veronica, Poullette y Almendra.

Dedico este trabajo a:

A mi mamá que con su amor y apoyo me ha ayudado a superar los retos que la vida ofrece. Por su alegría ante mis triunfos y por inspirarme a crecer y a superarme cada día.

A Olga Thomas Vega, José Valero Palacios, Rosa Vega Carbajal y Oscar Thomas Vega, que con su apoyo incondicional, su cariño y comprensión han hecho posible mi desarrollo profesional y personal. Con su ayuda, he podido cumplir este anhelo. Gracias por estar en los momentos en que más los necesité. Mi amor y gratitud infinitos.

A mis tíos y primos Lourdes, Miguel, Luis, Matilde, Ernesto, Arturo, Oscar, Isabel, Miguel, Rubén, Luis, Alan, Oscar y Mauricio, que con su cariño y ejemplo me han enseñado la importancia del amor y la familia.

A toda mi familia y a todos mis amigos, quienes con su amor, y comprensión me han apoyado en este sueño de superación.
A todos ellos con todo mi cariño.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRAC	3
INTRODUCCIÓN.....	5
Hibridación natural.....	5
Hibridación introgresiva.....	9
Zonas híbridas.....	10
Herramientas para detectar hibridación	11
Caracteres micro-morfológicos	12
Hibridación en encinos.....	12
JUSTIFICACIÓN.....	19
OBJETIVOS.....	19
General:	19
Particulares:	19
HIPÓTESIS.....	20
Sistema de estudio	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
Datos morfológicos	21
Caracterización de estomas y tricomas mediante Microscopía Electrónica de Barrido	23
Caracteres macro-morfológicos foliares.....	24
Caracteres micro-morfológicos foliares	26
<i>Tricomas</i>	26
<i>Estomas</i>	27
Análisis estadísticos.....	28
RESULTADOS.....	29
Caracterización mediante MEB	29
Tricomas	29

<i>Estomas</i>	33
Caracteres macro-morfológicos y micro-morfológicos foliares	37
Conteo de caracteres	37
Análisis de función discriminante (caracteres macro-morfológicos).....	41
Análisis de regresión lineal.....	45
<i>Caracteres micro-morfológico foliares (tricomas)</i>	45
<i>Caracteres micro-morfológico foliares (estomas)</i>	46
DISCUSIÓN	50
Hibridación natural del complejo <i>Quercus crassipes</i> y <i>Q. crassifolia</i>	50
Efecto del ambiente en la formación de zonas híbridas	52
El Corredor Biológico del Eje Volcánico Transmexicano	53
Marcadores foliares específicos para cada especie.	55
Conservación de zonas híbridas (simpátridas/mixtas)	56
LITERATURA CITADA	58
ANEXO	70

Lista de Tablas

Tabla		Pág.
1	Estudios que utilizan caracteres macro-morfológicos foliares en el género <i>Quercus</i> .	23
2	Estudios que utilizan caracteres micro-morfológicos foliares en el género <i>Quercus</i> .	25
3	Lista de caracteres morfológicos examinados en el complejo <i>Q. crassifolia</i> × <i>Q. crassipes</i> en México.	35
4	Tipos de tricomas presentes en la superficie abaxial foliar del complejo <i>Quercus crassifolia</i> × <i>Q. crassipes</i> en México.	40
5	Promedio, error estándar y resultados de ANOVA anidado (<i>F</i>) para todos los caracteres macro y micro-morfológicos foliares de <i>Q. crassifolia</i> y <i>Q. crassipes</i> en México. Nivel de significancia $P < 0.001$ (***); $P < 0.01$ (**), $P < 0.05$ (*) y ns= diferencias no significativas	48
6	Conteo de caracteres morfológico foliares del complejo <i>Q. crassifolia</i> × <i>Q. crassipes</i> en siete zonas simpátridas/mixtas en México.	50-52
7	Análisis de función discriminante para la variación de los caracteres macro-morfológico foliares de siete zonas simpátridas/mixtas del complejo <i>Q. crassifolia</i> × <i>Q. crassipes</i> en México	55
Anexo 1	Frecuencia de los caracteres intermedios y transgresivos positivos, transgresivos negativos del complejo <i>Q. crassifolia</i> × <i>Q. crassipes</i> en México.	79

Lista de Figuras

Figura		Pág.
1	Sitios de estudio del complejo <i>Quercus crassifolia</i> × <i>Q. crassipes</i> en México. Zonas simpátridas/mixtas: 1)Cantera, 2)Canalejas, 3)Tlaxco, 4)Acajete, 5)Esperanza, 6)Agua Blanca, 7)Palo Bendito	33
2	Individuo de <i>Q. × dysophylla</i> perteneciente a la zona simpátrida/mixta. Canalejas, Estado de México. a) indica la parte de la muestra procesada para observar estomas, b) indica la parte donde no se retiraron los tricomas y c) indica el lugar en donde se retiraron los tricomas.	34
3	Tricoma glandular uniseriado simple, presente en <i>Q. crassifolia</i> en México.	41
4	Tricoma solitario unicelular, presente en <i>Q. crassifolia</i> en México.	41
5	Tricoma fasciculado sésil, presente en <i>Q. crassifolia</i> en México.	42
6	Tricoma fasciculado estipitado, presente en <i>Q. crassifolia</i> , <i>Q. crassipes</i> y <i>Q. × dysophylla</i> en México.	42
7	Tricoma estrellado, presente en <i>Q. crassipes</i> y <i>Q. × dysophylla</i> en México.	43
8	Tricoma multirradiado, presente en <i>Q. crassipes</i> y <i>Q. × dysophylla</i> en México.	43
9	Estoma anomocítico presente en el complejo <i>Quercus crassipes</i> × <i>Q. crassifolia</i> en siete zonas simpátridas/mixtas (Eje Volcánico Transmexicano) y dos sitios alopátridos en México	46-47
10	Análisis de función discriminante para la variación macro-morfológica foliar en el complejo <i>Q. crassifolia</i> × <i>Q. crassipes</i> en siete zonas simpátridas/mixtas en México	54

- 11 Regresión lineal de los caracteres macro-morfológicos foliares, ángulo de la vena secundaria (AV), área foliar (AF), área del peciolo (AP), porcentaje del área del peciolo/área foliar (AP%) y la distancia geográfica entre localidades del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en México en dirección oeste-este a través del Eje Volcánico Transmexicano (EVT). SMOc = Sierra Madre Occidental, SMOr= Sierra Madre Oriental. Zonas simpátridas/mixtas: 1)Cantera, 2)Canalejas, 3) Tlaxco, 4)Acajete, 5)Esperanza, 6)Agua Blanca, 7)Palo Bendito. Zonas alopátridas: 8)El Piñón, 9)Cuesta Colorada, 10)Cuesta blanca 1 y 11)Cuesta Blanca 2 57
- 12 Regresión lineal de los caracteres micro-morfológicos de los tricomas, longitud del radio (LR), longitud del estípite (LE), número de radios (NR), porcentaje de la relación longitud del estípite/longitud del radio (LES/LR%) y la distancia geográfica entre localidades del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en México en dirección oeste-este a través del Eje Volcánico Transmexicano (EVT). SMOc = Sierra Madre Occidental, SMOr = Sierra Madre Oriental. Zonas simpátridas/mixtas: 1)Cantera, 2)Canalejas, 3) Tlaxco, 4)Acajete, 5)Esperanza, 6)Agua Blanca, 7)Palo Bendito. Zonas alopátridas: 8)El Piñón, 9)Cuesta Colorada, 10)Cuesta blanca 1 y 11)Cuesta Blanca 2. 58
- 13 Regresión lineal de los caracteres micro-morfológicos de los estomas (LE) longitud del estoma, (AE) Ancho del estoma (CE) cobertura del estoma, (DE) densidad del estoma y la distancia geográfica entre localidades del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en México en dirección oeste-este a través del Eje Volcánico Transmexicano (EVT). SMOc = Sierra Madre Occidental, SMOr = Sierra Madre Oriental. Zonas simpátridas/mixtas: 1)Cantera, 2)Canalejas, 3) Tlaxco, 4)Acajete, 5)Esperanza, 6)Agua Blanca, 7)Palo Bendito. Zonas alopátridas: 8)El Piñón, 9)Cuesta Colorada, 10)Cuesta blanca 1 y 11)Cuesta Blanca 2. 59

Ruiz-Amaro, L. 2010. Hibridación natural y variación morfológica del complejo *Quercus crassifolia* × *Q. crassipes* (Fagaceae) en México. Tesis de Maestría, Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

RESUMEN

Dentro de la familia Fagaceae el género *Quercus* (encinos, encinas, robles) presenta la mayor distribución geográfica y en las regiones templadas del hemisferio norte. A nivel mundial se reconocen 531 especies y México es considerado uno de los principales centros de diversificación, ya que alberga 161 de las cuales 109 son consideradas endémicas. Se ha documentado que los encinos presentan una alta frecuencia de hibridación, producto de las incipientes barreras reproductivas. En general, las especies del género *Quercus* se han caracterizado por presentar una amplia variación fenotípica producto de la heterogeneidad ambiental y de la frecuencia de hibridación introgresiva. *Quercus crassifolia* H. & B. y *Q. crassipes* H. & B. (Subg. *Erythrobalanus*) son dos especies dominantes de los bosques templados en México. Se ha descrito que *Q. crassifolia* tiene una distribución geográfica en la Sierra Madre Occidental (SMOc), el Eje Volcánico Transmexicano (EVT), la parte más sureña de la Sierra Madre Oriental (SMOr) y la Sierra Madre del Sur (SMS). Por su parte, *Q. crassipes* se distribuye de la SMOr hacia el EVT y es en este último, donde se encuentran en simpatria/mixtas originando individuos híbridos que se han llamado (*Q.* × *dysophylla* Benth. pro sp.). En este estudio se evaluó mediante marcadores micro y macro-morfológicos foliares los niveles y patrones de hibridación de *Q. crassipes* y *Q. crassifolia* y el papel del Eje Volcánico Transmexicano como corredor biológico en la variación morfológica del complejo. En total, se evaluaron 12 caracteres morfológico foliares (cuatro macro y ocho micro-morfológicos) en 250 árboles contenidos en siete zonas simpátridas/mixtas (cinco en el EVT y dos en la SMOr), y cuatro sitios alopátridos puros (dos para cada especie parental putativa).

En general, los resultados soportan la hipótesis de hibridación, sugiriendo que los individuos de *Q.* × *dysophylla* son el resultado del flujo genético entre *Q. crassipes* y *Q. crassifolia*. El 64% de los caracteres mostraron una morfología intermedia. Asimismo, los análisis de función discriminante registraron que los caracteres macromorfológicos foliares son la herramienta más adecuada para detectar hibridación. El área del peciolo y el área foliar tuvieron el mayor peso en la ordenación de los datos en el eje 1, mientras que el ángulo de la vena presentó el mayor peso en el modelo de ordenación para el eje 2.

Seis tipos de tricomas estuvieron asociados al complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* (cinco no glandulares y uno glandular). El tricoma multirradiado fue específico de *Q. crassifolia*, mientras que el tricoma estrellado lo fue para *Q. crassipes*. Por su parte, los individuos de *Q. × dysophylla* soportaron la hipótesis aditiva.

Las regresiones entre la distancia geográfica entre poblaciones a través del EVT y los caracteres micro y macro-morfológicos foliares, soportan la hipótesis de que el EVT se comporta como un corredor biológico. En general, en *Q. crassipes* todos los caracteres micro-morfológicos foliares presentaron una relación negativa y significativas (menos la longitud del brazo del tricoma), exceptuando la densidad de estomas y número de brazos de los tricomas, las cuales fueron positivas y significativas. Por su parte, los caracteres macro-morfológico foliares presentaron una relación negativa y significativas con el área del peciolo y el porcentaje del área del peciolo y área foliar.

En *Q. crassifolia* todos los caracteres de los tricomas presentaron una relación negativa y significativa. Sin embargo, los caracteres de los estomas no mostraron una relación significativa. Por su parte, los caracteres macro-morfológico foliares presentaron una relación negativa y significativas con el área del peciolo y el porcentaje del área del peciolo y área foliar.

En general, ninguno de los caracteres macro- y micro-morfológicos foliares (tricomas) en *Q. × dysophylla* presentaron una relación significativas. Por su parte, los caracteres micro-morfológicos (estomas) presentaron una relación negativa y significativas con el ancho del estoma y la cobertura, y se registró una relación positiva y significativa con la densidad estomática.

Por lo anterior, se concluye que la micro y macro-morfología foliar son una poderosa herramienta para detectar individuos híbridos y resolver problemas de tipo taxonómico. Asimismo, a pesar de que las zonas simpátridas/mixtas son un mosaico de variación morfológica foliar y el EVT se comporta como un corredor biológico..

ABSTRAC

Among the Family Fagaceae, the genus *Quercus* (oaks) has the greatest geographic distribution on the temperate regions of the Northern Hemisphere. Mexico is considered one of the centers of diversification of this genus. There are about 531 species worldwide, from which 161 are found in Mexico and of these, 109 are endemic. It is well known that oaks have high frequency of hybridization due to incipient reproductive barriers. Species of the genus *Quercus* have a wide phenotypic variation as a result of environmental heterogeneity and the frequency of introgressive hybridization. *Quercus crassifolia* H. & B., and *Q. crassipes* H. & B. (Subg. *Erythrobalanus*) are two dominant species of the temperate forests of Mexico.

Q. crassifolia is distributed on the Sierra Madre Occidental (SMOc), on the Eje Volcánico Transmexicano (EVT), and the Southern part of the Sierra Madre Oriental (SMOr), while *Q. crassipes* is distributed on the Sierra Madre Oriental (SMOr) and towards the EVT. In this latter area (EVT), it is found in sympatry/mixed with *Quercus crassifolia* H. & B., producing hybrids called (*Quercus dysophylla* Benth. pro sp.). In this study, we evaluated levels and patterns of hybridization of *Q. crassipes* and *Q. crassifolia*, and the role of the Eje Volcánico Transmexicano as a biological corridor on the morphological variation of this complex. We evaluated 12 morphological leaf characters (four macro and eight micro characters) in 250 trees sampled in seven sympatrid/mixed zones (five in the EVT, and two in the SMOr), and four pure alopatric zones (two for each parental putative species).

Our results support the hybridization hypothesis, suggesting that individuals of *Q. x dysophylla* are the end result of the genetic flow between *Q. crassipes* and *Q. crassifolia*. Sixty-four percent of the characters showed an intermediate morphology. Likewise, discriminant function analyses showed that macro-morphological leaf characters are the most adequate tools to identify hybridization. Stalk and leaf area were the most important in the arrangement of the data in axis1, while the vein angle had the major weight in the arrangement in axis 2.

Six types of trichomes were associated to the complex *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* (five not glandular and one glandular). The multiradiate trichome was specific of *Q. crassifolia*, while the star-shaped trichome was it for *Q. crassipes*. In turn, the individuals of *Q. × dysophylla* support the additive hypothesis.

The regressions between/among the geographical distance between/among populations through the EVT and the leaf micro and macro-morphological characters support the hypothesis that the EVT behaves as a biological corridor (environmental gradient). In general, in *Q. crassipes* all the leaf micro-morphological characters presented a negative and significant relation, excepting the density of stomas and number of arms of the trichomes, which were positive and significant. In turn, the leaf macro-morphological characters presented a negative and significant relation with the area of the stalk and the percentage of the area of the stalk and foliar area.

In *Q. crassifolia* all the characters of the trichome presented a negative and significant relation in regard to the geographical distance between/among populations. Nevertheless, the characters of the stoma did not show a significant relation. In turn, the leaf macro-morphological characters presented a negative and significant relation with the area of the stalk and the percentage of the area of the stalk and foliar area.

In general, all the macro- and micro-morphological leaf characters (trichomes) in *Q. × dysophylla* did not present a significant relation. So, the micro-morphological characters (stomas) presented a negative and significant relation with the wide of the stoma and the cover, and a positive and significant relation with the stomatic density was registered. By the previous thing, it is concluded that the leaf micro and macro-morphology are a powerful tool to detect hybrid individuals and to solve taxonomic problems. Likewise, although the sympatric/mixed zones are a mosaic of leaf morphological variation, the EVT behaves as a biological corridor.

INTRODUCCIÓN

Hibridación natural

El término hibridación se define como la cruce entre individuos de dos poblaciones o grupos de poblaciones, que son distinguibles con base en uno o más caracteres heredados (Harrison, 1990). Esta definición asume que la hibridación debe ocurrir bajo condiciones naturales y que las cruces antes mencionadas producen descendencia viable F_1 y poseen algún grado de fertilidad (Arnold, 1997). Para estudiar el fenómeno de hibridación natural es necesario considerar un concepto de especie que involucre al flujo génico como principal barrera reproductiva, por lo que, cuando estas barreras se rompan, se estará llevando a cabo un evento de hibridación. En este sentido, el concepto biológico de especie define a la especie como grupos de poblaciones naturales que se entrecruzan y los cuales están aislados reproductivamente de todos los otros grupos semejantes (Mayr, 1963). Este concepto resulta útil en el estudio de la hibridación, ya que al romperse el aislamiento reproductivo entre especies, estaría evidenciando el fenómeno de hibridación. De manera más específica, Rieseberg y Carney (1998) definen a la especie como grupos de poblaciones que se entrecruzan y que se encuentran genéticamente (más que reproductivamente) aisladas de otros grupos semejantes.

Los estudios científicos sobre hibridación natural comenzaron con los experimentos de Kölreuter en 1761, quien documenta que las plantas híbridas de cruces interespecíficas son algunas veces estériles o “mulas botánicas”, las cuales se reproducen con dificultad y probablemente no se presentan en la naturaleza sin la intervención humana o en hábitats alterados (Roberts, 1929). Posteriormente, las publicaciones de los trabajos de Heiser (1947), Anderson (1949) y Stebbins (1959), sobre el papel de la hibridación en la evolución de las especies fueron cuestionadas y debatidas por la comunidad científica de ese tiempo.

Actualmente, se reconoce que el fenómeno de hibridación se presenta de forma recurrente en la naturaleza, particularmente en plantas (Harrison, 1990; Ellstrand *et al.*, 1996). Se estima que entre el 50% y el 70% de las angiospermas pudieron haber sido originadas mediante este proceso, por lo que se ha considerado que la hibridación es un proceso importante en la especiación vegetal (Whitham *et al.*, 1991; Arnold, 1994).

Se ha documentado que la hibridación se concentra en una fracción de familias y géneros de plantas (Ellstrand, 1996). Las familias donde se han observado el fenómeno de hibridación son: Poaceae (Vega *et al.*, 2010), Cyperaceae (Nakamahe *et al.*, 2007), Salicaceae (Broberg *et al.*, 2010), Asteraceae (Gou *et al.*, 2006), Rosaceae (Olsen y Whittemore, 2009), Fagaceae (Jensen *et al.*, 1993,1984; Bacon y Spellenberg, 1996, Tovar-Sánchez y Oyama, 2004, Albarran-Lara *et al.*, 2010), Pinaceae (Paques *et al.*, 2006), Myrtaceae (Walker *et al.*, 2009), Orchidaceae (Worley *et al.*, 2009), Scrophulariaceae (Kikuchi y Tanaka, 2007) entre otras. Algunos de los géneros pertenecientes a estas familias como *Quercus*, *Pinus*, *Euphrasia*, *Salix*, *Rumex*, *Rosa*, se caracterizan por hábitos perenes, sistemas de entrecruzamientos interespecíficos, aislamiento reproductivo débil, plasticidad ecológica (que le permite a los híbridos desarrollarse hasta la madurez) y propagación vegetativa (Ellstrand, 1996).

Evolutivamente, la hibridación tiene diferentes consecuencias, entre las que se incluyen el incremento en la diversidad genética, origen de adaptaciones, origen de ecotipos o especies y el reforzamiento o ruptura de barreras reproductivas. Asimismo, se ha sugerido que la hibridación es un mecanismo que promueve invasiones de plantas y pueden contribuir a mayores niveles de dispersión genética (Arnold, 1997; Caraway *et al.*, 2001). Sin embargo, estudios hechos por Allendorf *et al.* (2001) mencionan que uno de los efectos negativos de la hibridación es la extinción directa o indirecta de poblaciones y especies. La tasa de

hibridación a nivel mundial está incrementándose por la translocación de organismos y por las modificaciones de los hábitats (disturbios) ocasionadas por las actividades humanas.

Barreras reproductivas en plantas

En la naturaleza existen barreras reproductivas que impiden el flujo génico entre especies relacionadas. El establecimiento de estas barreras es un proceso gradual que se debe a la acumulación de cambios genéticos (Szymura y Barton, 1986), y se clasifican en tres categorías: (1) **pre-polinización**, (2) **post-polinización** y (3) **post-fertilización** (Arnold, 1997).

Las barreras *pre-polinización* están limitadas por el tiempo de floración y por la preferencia de los polinizadores, ya sea por las visitas preferenciales o porque no pueden transferir el polen en visitas de hetero-taxones. Cuando las plantas tienen ciertas características florales que atraen a un grupo de polinizadores, (e.g., el aislamiento etológico), se dice que poseen diferentes síndromes de polinización (no se aplica a flores polinizadas por el viento) los cuales, cuando difieren entre taxones relacionados, pueden actuar como una barrera del flujo génico (Grant, 1994).

Por otro lado, las barreras de *post-polinización* están involucradas en una serie de eventos asociados al desarrollo del tubo polínico después de que ha sido depositado el polen. Estos eventos comprenden: (1) la germinación del polen, (2) la penetración en la superficie del estigma, (3) el crecimiento del tubo polínico a través del estigma, (4) el crecimiento del estilo en el ovario, (5) la penetración del micrófilo y (6) el depósito de los núcleos gaméticos ((Arnold, 1997). En las cruces, estos eventos se pueden limitar por el fenómeno de hibridación. Por ejemplo, la transferencia de polen entre taxa que tienen estilo diferente (ancho y largo) puede proporcionar una barrera tanto para el desarrollo del tubo polínico como para el intercambio génico (Williams *et al.*, 1986; Williams y Rouse, 1988). Las moléculas involucradas en estos eventos incrementan la capacidad de “auto-reconocimiento”.

Esta respuesta de auto reconocimiento puede ocurrir porque los gametos son muy similares o muy divergentes. Para uno de los extremos, se puede rechazar el gameto porque es muy similar al genotipo materno (e.g., la respuesta de auto-incompatibilidad) y para el otro extremo, la respuesta esperada del gameto masculino es muy divergente (Heslop-Harrison, 1986). Por lo tanto, la aplicación de auto- o hetero- compatibilidad del polen puede ser ventajosa en un proceso de rechazo (e.g., la auto-incompatibilidad del gen).

Finalmente, en las barreras *post-fertilización* actúan la selección exógena y endógena, las cuales afectan directamente la adecuación de los híbridos, determinando cuál de los genotipos híbridos se desarrollará, sobrevivirá, y contribuirá de manera efectiva (en términos numéricos) a la población. La selección endógena o independiente del ambiente actúa en contra de ciertos genotipos híbridos, reduciendo su viabilidad o su fertilidad y resulta de diferencias estructurales de los cromosomas o a la recombinación que lleva a la disrupción de genomas co-adaptados. La selección exógena puede ser positiva o negativa y actúa en los híbridos y en los parentales, esta selección se refleja en la supervivencia diferencial de los genotipos que resulta en la selección dependiente del ambiente (Arnold, 1997).

Las barreras antes mencionadas pueden representar condiciones adversas para el establecimiento de híbridos en la naturaleza y por lo tanto, éstos pudieran ser muy escasos o nulos (Curtu *et al.*, 2007). No obstante, a pesar de la dificultad de formar ciertas generaciones híbridas (e.g., individuos F_1), éstas llegan a establecerse con frecuencia en zonas de contacto biogeográfico o en ambientes con disturbio. En estos tipos de ambientes son favorecidas porque aumentan su establecimiento por la poca competencia con los parentales (e.g., que predominen individuos B_1 , en lugar, de individuos F_2). Por lo tanto, queda demostrado que las barreras, por fuertes que parezcan, pueden ser superadas por los híbridos. Estos eventos raros pueden ser importantes evolutivamente ya que un individuo híbrido (fértil o parcialmente fértil) puede ser suficiente para actuar como progenitor de una línea evolutiva nueva. Se han

realizado pocos estudios evaluando la supervivencia de plántulas y juveniles híbridos de encinos estrechamente relacionados y con cierto flujo genético. Sería importante conocer el desarrollo de estos híbridos hasta el estado adulto o saber si el polen de una especie fertiliza la ovocélula de la otra especie, lo que nos permitiría conocer el ciclo de vida de los híbridos (Craft *et al.*, 2002).

Hibridación introgresiva

El término introgresión o hibridación introgresiva se define como “la infiltración del germoplasma de una especie a otra mediante retrocruzas repetidas de los híbridos con las especies parentales” (Anderson y Hubricht, 1938), promoviendo un incremento en la diversidad genética y el desarrollo de nuevas adaptaciones de la especioreceptora, debido al número de combinaciones genéticas (Grant, 1981). Su papel en la evolución de las plantas ha sido tema de discusión desde la publicación del libro de Anderson (1949) “introgressive hybridization”, donde se establece que la transferencia interespecífica de genes es una potente fuerza evolutiva, y las variedades genéticas que se producen por introgresión deben exceder a las producidas por mutación.

La introgresión es considerada la principal consecuencia evolutiva de reproducción que involucra a híbridos semifértiles en una zona híbrida (Hardig *et al.*, 2000). Las posibles consecuencias genéticas y ecológicas de la introgresión son: 1) aumento de la variabilidad genética intraespecífica, 2) transferencia de adaptaciones genéticas, 3) origen de nuevas especies o la extinción de alguna de las especies parentales y 4) reforzamiento o ruptura de las barreras biológicas (Rieseberg y Wendel, 1993; Rieseberg, 1997; Hardig *et al.*, 2000).

El fenómeno de hibridación resulta en dos procesos de aislamiento genéticamente inestables, por un lado el mantenimiento del híbrido y por el otro su recombinación (Templeton, 1981). En el primero, la hibridación de dos especies es seguida por selección

para la subsistencia del estado híbrido, en plantas a veces implica un proceso de poliploidia (Ridley, 1996). La poliploidia es considerada como hibridación seguida de duplicación cromosómica en los individuos híbridos (Ridley, 1996). Por otro lado, la recombinación del híbrido, también llamada especiación por recombinación (Grant, 1981), considera que el arreglo cromosómico al azar en generaciones posteriores a la hibridación puede formar poblaciones que son homocigas para una nueva combinación de cromosomas (sin duplicación). La nueva población híbrida puede ser fértil y estable y tener la misma ploidia que los progenitores y puede ser parcial o totalmente aislada de los progenitores (Rieseberg y Noyes, 1998). Lo anterior, se establece después de que varias generaciones de híbridos se originan por autofecundación y por retrocruza (menos de diez generaciones) (Rieseberg y Noyes, 1998).

La hibridación introgresiva puede clasificarse de dos maneras: bidireccional (simétrica) cuando los individuos híbridos tienen una retrocruza con ambos individuos parentales o unidireccional (asimétrica) cuando los individuos híbridos tienen una retrocruza con uno de los individuos parentales o con ambos. resultar en la formación de una nueva especie, la extinción de los híbridos o la extinción de alguna especie parental (Rieseberg *et al.*, 1996).

Zonas híbridas

Las zonas híbridas (ZH) son sitios en la naturaleza donde dos poblaciones de diferentes especies coinciden espacial y temporalmente, se cruzan y dan origen a descendencia (híbrida) viable y parcialmente fértil (Harrison, 1990; Berton y Hewitt, 1998). Los disturbios tanto naturales como antropogénicos promueven nuevos escenarios que favorecen el establecimiento de zonas híbridas (Levin y Francisco-Ortega, 1996), facilitando la disolución

de las barreras reproductivas (Rhymer y Simerloff, 1996) y ayudando a el establecimiento de la progenie híbrida (Anderson, 1948; Levin y Francisco-Ortega, 1996).

Las ZH pueden ser vistas como etapas en un proceso de divergencia de poblaciones hasta el nivel de especie (Hewitt, 1988), por lo que ofrecen un escenario ideal para observar el papel de la selección natural en los procesos de especiación y las características que pueden delimitar a las especies (Harrison, 1993).

En general, se han propuesto dos posibles escenarios sobre el origen de las ZH. El primero considera que las ZH son el resultado de un contacto secundario entre las poblaciones, las cuales se diferenciaron en alopatria, mientras que el otro escenario propone que las ZH se originan en respuesta a gradientes ambientales (Endler, 1977).

Herramientas para detectar hibridación

Los fenómenos de hibridación e introgresión han sido reconocidos mediante características en la morfología (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004), anatomía (Stuessy, 1990), citogenética (Stuessy, 1990), palinología (Skvarla *et al.*, 1988), etología (Burtlin y Hewitt, 1985), química (Levin, 1967), aloenzimas (May, 1992) y por algunos otros marcadores moleculares como SSR (Short Sequence Repeat) (Tovar-Sánchez *et al.*, 2008), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004), AFLP (Amplified Fragment-Length Polymorphisms) (Simon *et al.*, 1993), pero el reconocimiento de estos fenómenos ha tenido más éxito cuando se ha usado una combinación de estos caracteres (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004). Sin embargo, los datos de la forma externa de los organismos continúan siendo los más usados para determinar organismos híbridos. Estos datos de forma macro- y micromorfológica son fáciles de obtener, presentan gran variabilidad y se utilizan para caracterizar grupos taxonómicos de cualquier nivel jerárquico (Stuessy, 1990).

En las plantas los caracteres más empleados para distinguir y delimitar organismos híbridos y posibles retrocruzas son las hojas, las flores, los frutos, la fisonomía general, las ramillas, las yemas, y las estípulas (e.g., Kleinschmit *et al.*, 1995; Bacon y Spellenberg, 1996; Bruschi *et al.*, 2000). Particularmente, los caracteres micromorfológicos en muchos casos han sido muy eficaces para resolver problemas de hibridación (Valencia y Delgado, 2003; Scareli-Santos *et al.*, 2007).

Caracteres micro-morfológicos

Frecuentemente, especies del género *Quercus* (Fagaceae) presentan variaciones complejas en sus patrones morfológicos foliares, los cuales conducen a problemas de determinación de taxa a nivel de especie (Bruschi *et al.*, 2000). La distinción entre las diferentes especies de encinos y de complejos híbridos típicamente ha sido inferida con base en los caracteres macro-morfológicos (Rushton, 1993) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Estudios que utilizan caracteres macro-morfológicos foliares en el género *Quercus*

Autor	Año	Complejo híbrido	Carácter morfológico	No. De caracteres	hibridación
Maze J.	1968	<i>Q. macrocarpa</i> × <i>Q. gambelii</i> <i>Q. alba</i> × <i>austrina</i> , <i>Q. alba</i> × <i>bicolor</i> , <i>Q. alba</i> × <i>lyrata</i> , <i>Q. alba</i> ×	morfología de la hoja y tricomas foliares	6	si
Hardin J.W.	1975	<i>macrocarpa</i> , <i>Q. alba</i> × <i>margareta</i> , <i>Q. alba</i> × <i>michauxii</i> , <i>Q. alba</i> × <i>muehlenbergii</i> , <i>Q. alba</i> × <i>prinoides</i> , <i>Q. alba</i> × <i>prinus</i> , <i>Q. alba</i> × <i>robur</i> , <i>Q. alba</i> × <i>stellata</i>	morfología de la hoja	12	si
Jensen <i>et al.</i>	1983	<i>Q. ellipsoidalis</i> , <i>Q. palustris</i> , <i>Q. rubra</i> , <i>Q. Velutina</i> .	morfología de la hoja	9	si
Dupouey y Badeau	1993	<i>Q. robur</i> × <i>Q. petraea</i> y <i>Q. petraea</i> × <i>Q. pubescens</i>	morfología de hoja y fruto	34	no
Jensen, <i>et al.</i>	1993	<i>Q. rubra</i> × <i>Q. ellipsoidalis</i>	morfología de la hoja	13	si
Aas	1993	<i>Quercus robur</i> y <i>Q. petraea</i>	morfología de la hoja	10	no
Kleinschmit <i>et al.</i>	1995	<i>Q. robur</i> × <i>Q. petraea</i>	morfología de hoja y fruto	hoja (18) fruto (8)	no
Bacilieri <i>et al.</i>	1995	<i>Q. petraea</i> × <i>Q. robur</i>	morfología de la hoja, aloenzimas, fenología, ecología	27	si
Howard <i>et al.</i>	1997	<i>Q. grisea</i> × <i>Q. gambelii</i>	morfología de la hoja, RAPD	si	si
Jensen	1998	<i>Q. coccinea</i> , <i>Q. falcata</i> , <i>Q. marilandica</i> y <i>Q. velutina</i>	morfología de la hoja, fruto y brotes	hoja (13) frutos y brotes (10)	si
Kremer <i>et al.</i>	2002	<i>Q. robur</i> × <i>Q. petraea</i>	morfología de la hoja	14	si
Brusch <i>et al.</i>	2003	<i>Q. petraea</i> × <i>Q. pubescens</i>	macro y micromorfología de la hoja y microsatélites	48	si
Ishida <i>et al.</i>	2003	<i>Q. crispula</i> × <i>Q. dentata</i>	morfología de la hoja, RAPD y herbívoro	12	si
Tovar-Sánchez y Oyama	2004	<i>Q. crassifolia</i> × <i>Q. crassipes</i>	Morfología de la hoja, RAPD	17	si
Neophytou <i>et al.</i>	2006	<i>Q. alnifolia</i> × <i>Q. coccifera</i>	morfología foliar	10	si con poco nivel de introgresión.
Curtu <i>et al.</i>	2007	<i>Q. robur</i> × <i>Q. petraea</i> y <i>Q. pubescens</i> × <i>Q. fraineto</i>	morfología foliar, pubescencia, isoenzimas y microsatélites	pubescencia(6) si con poco nivel de hoja (8) introgresión.	
Gugerli <i>et al.</i>	2007	<i>Q. petraea</i> × <i>Q. robur</i>	morfología de la hoja y microsatélites	14	si con pocos individuos adultos.

Dentro de los caracteres macro-morfológicos, los de tipo foliar se han empleado de manera consistente en el 100% de los estudios, y el número de caracteres evaluados varía entre estudios (de 6 a 48). Asimismo, en algunos estudios los caracteres macro-morfológicos foliares se han combinado con alguna otra herramienta para fortalecer los resultados, por ejemplo, caracteres del fruto (bellotas), de los brotes, los tricomas, así como marcadores moleculares como RAPD's, AFLP's, SSR's, Aloenzimas, e Isoenzimas.

A pesar de que los caracteres macro-morfológicos han sido muy utilizados, éstos generalmente registran una amplia plasticidad fenotípica y con frecuencia pueden conducir a interpretaciones equivocadas del fenómeno de hibridación (Rieseberg, 1995). Por ejemplo, la estimación de los niveles de hibridación entre los encinos europeos *Q. robur*, *Q. petraea* y *Q. pubescens*, documentan una amplia variación morfológica que en muchos casos dificulta la determinación taxonómica (Ass, 1993; Dupouey y Badaeu, 1993; Bruschi *et al.*, 2000).

Generalmente, la alta variación intra-específica en caracteres foliares, como: tamaño, forma, pubescencia, margen de la hoja y largo del pecíolo, entre otros, no permiten la separación de especies que están estrechamente relacionadas, Por lo que los caracteres antes mencionados pueden documentar un continuo morfológico sin una separación clara (Dupouey y Badaeu, 1993). La falta de discriminación en los caracteres evaluados en algunos complejos híbridos puede dar lugar a conclusiones equivocadas. Por ejemplo, es común considerar a la densidad de la pubescencia como un carácter específico para cada especie, sin embargo, la transición de una forma glabra a pubescente puede ser resultado de las condiciones ambientales relacionadas con el contenido de humedad, por lo que la densidad de la pubescencia puede ser resultado de una presión de selección externa más que interna (Bruschi *et al.*, 2000).

Algunos autores han documentado la importancia de utilizar caracteres micro-morfológicos foliares para resolver problemas taxonómicos (Hardin, 1975; Jones, 1986). En México, estudios como los de Valencia (2003) y Vázquez (2005) han caracterizado, con fines taxonómicos, los tricomas foliares de algunas especies del género *Quercus* (sección Lobatae). Sin embargo, existen pocos estudios en donde se evalúen las características micro-morfológicas (e.g., tricomas, ceras y estomas) de la superficie foliar para determinar especies y complejos híbridos (Scarelli-Santos *et al.*, 2007). Estos estudios corroboran la utilidad de los caracteres micro-morfológicos para la determinación de especies y complejos híbridos en encinos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Estudios que utilizan caracteres micro-morfológicos foliares en el género *Quercus*

Autor	Año	Estudio	Carácter micromorfológico
Hardin, J. W.	1979	Patrones de variación en tricomas foliares de encinos del este de Norte América	tricomas
Thomson y Mohlenbrock	1979	Tricomas foliares de <i>Quercus</i> subgénero <i>Quercus</i> en el este de los Estados Unidos	tricomas
Jones, J. H.	1986	Estudio evolutivo de las Fagaceae y las implicaciones de las características de foliares	tricomas
Manos, P.S.	1993	Variación de tricomas foliares en <i>Quercus</i> sección Protobalanus (Fagaceae)	tricomas
Llamas <i>et al.</i>	1995	Tricomas foliares de especies de <i>Quercus</i> en la Península Ibérica	tricomas
Bussotti y Grassoni	1997	Caracterización micromorfológica de encinos europeos y mediterráneos	tricomas, estomas, ceras
Bruschi <i>et al.</i>	2000	Complejo <i>Q. petraea</i> × <i>Q. pubescens</i>	tricomas, estomas
Valencia, S.	2003	Caracterización de especies del género <i>Quercus</i> , sección Lobatae (Fagaceae)	tricomas
Bruschi <i>et al.</i>	2003	Estudio de diferentes poblaciones de <i>Q. petraea</i> en Italia	tricomas y estomas
Ishida <i>et al.</i>	2003	Complejo <i>Q. crispula</i> × <i>Q. dentata</i>	tricomas
Cristofolini y Crema	2005	Complejo <i>Q. cerris</i> × <i>Q. suber</i> en Italia	tricomas
Vázquez, L.M.	2006	morfología de tricomas en especies seleccionadas de encinos rojos (<i>Quercus</i> sección Lobatae)	tricomas
Scarelli-Santos <i>et al.</i>	2007	Caracterización micromorfológica de <i>Q. conzattii</i> × <i>Q. eduardii</i>	tricomas, estomas, ceras, polen

Asimismo, los caracteres micro-morfológicos foliares presentes en encinos europeos y mediterráneos han permitido determinar especies de encinos (Llamas *et al.*, 1995; Bussotti y Grossoni, 1997). Por ejemplo, Bruschi *et al.* (2000) documentan que caracteres como tricomas y estomas son de gran utilidad en la solución de problemas taxonómicos, ya que

podieron diferenciar a *Q. petraea* de *Q. pubescens* en el centro y norte de Italia. En particular, mencionan que el número de tricomas glandulares y la presencia/ausencia de cera epicuticular sobre la abertura del estoma y el largo de los brazos de los tricomas (estrellados), son caracteres específicos para estas especies de encinos. Asimismo, estos caracteres han sido utilizados para evaluar el efecto de las condiciones climáticas sobre la variación morfológica entre diferentes poblaciones de *Q. petraea*. En general, se documentó que el tamaño y la densidad de los estomas brindaron información de las adaptaciones de las especies a las condiciones ambientales (Bruschi *et al.*, 2003).

En general, los caracteres micro-morfológicos son una poderosa herramienta para determinar el fenómeno de hibridación interespecífica en encinos (Cristofolini y Crema, 2005). La variación morfológica de los tricomas foliares (estrellados y simples) en el complejo *Q. cerris* × *Q. suber* en Italia, por ejemplo, permitieron determinar la presencia de individuos híbridos en este complejo.

Por su parte, Scareli-Santos *et al.* (2007) determinaron el grado de diferenciación entre *Q. conzattii*, *Q. eduardii* y sus híbridos putativos en México, con base en caracteres micro-morfológicos (tipo de cera epicuticular, tipo de tricoma, características de los estomas y del polen). En general, encontraron que los híbridos pueden presentar caracteres intermedios, transgresivos positivos o transgresivos negativos.

Hibridación en encinos

Dentro de la familia Fagaceae, el género *Quercus* (encino, encinas, robles) es el que presenta la más amplia distribución geográfica, pues abarca las regiones templadas del hemisferio Norte. Este género agrupa aproximadamente 531 especies a escala mundial (Govaerts y Frodin, 1998), siendo México el sitio donde alcanza su mayor diversificación, dado que incluye 161 especies, de las cuales 109 son consideradas endémicas (Valencia, 2004).

Los bosques de encinos en el territorio nacional son característicos de las zonas templadas, aunque también se les puede encontrar en zonas cálidas, semiáridas y húmedas (Rzedowski, 1978; Challenger, 1998). Están distribuidos desde el nivel del mar hasta 3500 m de altitud, aunque la mayoría se encuentran entre 1500 y 3000 m s.n.m. La altura de los encinares varía de 5 a 30 m, aunque en ocasiones alcanzan alturas mayores. Los bosques presentan una fenología que oscila desde totalmente caducifolios a totalmente perennifolios. Pueden formar bosques monoespecíficos, pero es más frecuente que la dominancia se reparta entre varias especies del género y que compartan el hábitat con otras especies como pinos y oyameles (Rzedowski, 1978).

Se calcula que los bosques templados ocupaban 20.5% de la superficie territorial (41 millones de hectáreas), de las cuales, 5.5% corresponde a los bosques de encinos y 13.7% a los bosques de pino y a los de pino-encino, de modo que el restante 1.3% son bosques en los que predominan otras coníferas, principalmente *Abies* y *Juniperus* (Rzedowski y Rzedowski, 1989). Estos bosques se han eliminado en un 37% de su distribución original, debido a disturbios como deforestación, agricultura, ganadería, asentamientos humanos, e incendios (Toledo y Ordoñez, 1993).

Los encinos presentan una alta frecuencia de hibridación en condiciones naturales (Palmer, 1948; Muller, 1952; Tucker, 1961; McVaugh, 1974; Cottam *et al.*, 1982; Boecklen y Spellenberg, 1990; Whitemore y Schaal, 1991; Rushton, 1993; Preszler y Boecklen, 1994;

Spellenberg, 1995; Spellenberg y Bacon, 1996; Howard *et al.*, 1997; González-Rodríguez *et al.*, 2004, Tovar-Sánchez y Oyama, 2004; Curtu *et al.*, 2007; Peñaloza-Ramírez *et al.*, 2010), debido a sus incipientes barreras de flujo génico entre especies (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004), lo que genera patrones complejos de variación morfológica y genética intra e interespecífica (Rieseberg y Wendel, 1993).

En la naturaleza se ha observado que varios grupos de plantas han pasado por procesos de hibridación (Grant, 1981). De los 165 casos reportados de introgresión en plantas superiores, más de 90% corresponden a regiones templadas (Harrison, 1993).

En México, las zonas templadas son consideradas centros de diversificación de pinos (*Pinus*) y encinos (*Quercus*), dos géneros importantes y dominantes del dosel de los tipos de vegetación que se desarrollan en las zonas templadas (Challenger, 1998).

Quercus crassifolia Humb. & Bonpl. y *Q. crassipes* Humb. & Bonpl. (Subg. *Erythrobalanus*) son dos elementos dominantes de los bosques templados en nuestro país. Estas especies cuando se encuentran en simpatria/mixtas se han detectado individuos con características morfológicas intermedias, los cuales han sido determinados como *Q. dysophylla* Benth. pro sp. Sin embargo, recientemente Tovar-Sánchez y Oyama (2004), utilizando caracteres macro-morfológico foliares y RAPDs determinaron que se trata de individuos de origen híbrido. Además, señalan que la hibridación entre estas especies ha generado patrones complejos de variación morfológica y genética intra e interespecífica. Los encinos se caracterizan por ser anemófilos y debido a esta característica, se observan grandes niveles de flujo genético interespecífico en poblaciones de encinos que ocupan un área común, en relación con el flujo intraespecífico que puede darse entre poblaciones distantes (Whitemore, 1991).

Es por esto que los estudios de los caracteres morfológicos dentro de este género además de ser una herramienta que ayuda a resolver problemas taxonómicos de las especies (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004; González-Rodríguez, 2004; Vázquez, 2006; Scarelli-Santos

et al., 2007), han permitido reconocer los altos niveles de plasticidad fenotípica (Valencia, 2005).

JUSTIFICACIÓN

A pesar de la extensa área que en México ocupan los bosques de encinos, de la alta diversidad de especies del género *Quercus* en el país, de su alto grado de endemismo, del frecuente fenómeno de hibridación introgresiva que ocurre en este género, de la gran variación morfológica foliar registrada en especies de encinos, de la hibridación documentada entre *Q. crassipes* y *Q. crassifolia* cuando se encuentran en simpatria/mixtas a través del Eje Volcánico Transmexicano (EVT), no se han realizado estudios que caractericen la hibridación natural mediante el uso de caracteres micro-morfológicos foliares, ni se ha evaluado el papel que tiene EVT como corredor biológico en la variación morfológica foliar del complejo.

OBJETIVOS

General:

Caracterizar morfológicamente la hibridación introgresiva del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en México para reconocer los niveles de hibridación a lo largo del EVT.

Particulares:

- (1) Caracterizar con marcadores micro y macro-morfológicos foliares la hibridación del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en México.
- (2) Conocer, mediante marcadores micro y macro-morfológicos foliares, los niveles y patrones de hibridación de *Q. crassipes* y *Q. crassifolia* a lo largo de su distribución geográfica en México.

- (3) Evaluar el papel del Eje Volcánico Transmexicano sobre la expresión de los caracteres micro y macro-morfológicos del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en México.

HIPÓTESIS

(1) Si en las zonas simpátridas/mixtas se detecta el fenómeno de hibridación, entonces se espera que estas poblaciones presenten una mayor variedad en los caracteres morfológico foliares en comparación con sus especies parentales.

(2) Si *Q. crassifolia* se ha dispersado desde la Sierra Madre Occidental hacia el centro de México por el Eje Volcánico Transmexicano y *Q. crassipes* se ha dispersado desde la Sierra Madre Oriental hacia el mismo eje, se espera que éste funcione como un corredor biológico favoreciendo que, conforme se incrementa la cercanía geográfica entre un individuo híbrido a un sitio alopátrido, aumente la similitud morfológica foliar entre el parental y el híbrido.

Sistema de estudio

Para este estudio se eligieron dos especies de encinos rojos (subg. *Erythrobalanus*), *Q. crassifolia* y *Q. crassipes*. Estas dos especies presentan diferencias morfológico foliares (Romero, 1993; Valencia, 2003; Vázquez, 2006) cuando se distribuyen en sitios alopátricos. Sin embargo, cuando están en simpatria/mixtas se observan árboles con características intermedias atípicas en la forma de la hoja, los cuales han sido determinados como *Q. × dysophylla* (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004).

Q. crassifolia y *Q. crassipes* son dos especies de encinos bien estudiados desde el punto de vista taxonómico (Romero, 1993; Valencia, 2003; Vázquez, 2006). Pueden diferenciarse fácilmente porque *Q. crassipes* presenta hojas de forma angostamente-elíptica o lanceolada, con borde entero y el ápice aristado y el envés con tomento denso a esparcido blanco grisáceo (Romero, 1993). En contraste, *Q. crassifolia* presenta hojas con forma obovadas u oblongo-

obovadas, con envés amarillento pardo claro, lanoso-tomentoso, el borde a veces entero, ondulado o dentado con 1-10 aristas.

Q. crassifolia presenta una amplia distribución geográfica en México, se encuentra en la Sierra Madre Occidental (SMOc), la Sierra Madre Oriental (SMOr), la Sierra Madre del Sur (SMS) y el Eje Volcánico Transmexicano (EVT); en este último y a lo largo de la SMOr se encuentra distribuido también *Q. crassipes*. Tovar-Sánchez y Oyama (2004) detectaron siete zonas híbridas en México, cinco en el EVT y dos en la parte más sureña de la SMOr

Por otro lado, mediante un estudio filogeográfico con microsatélites de cloroplasto, Tovar-Sánchez *et al.* (2007) proponen que la ruta de colonización que *Q. crassifolia* ha tenido en México. Se sugiere que esta especie inició su incursión a través de la SMOc y posteriormente colonizó el EVT y finalmente la región más sureña de la SMOr. Después pudo haber colonizado la SMS, Sierra de Oaxaca y Chiapas. Por otra parte, la ruta histórica de colonización de *Q. crassipes* fue desde la SMOr hacia el EVT.

MATERIALES Y MÉTODOS

Datos morfológicos

Para determinar mediante caracteres morfológicos los niveles de hibridación entre *Q. crassifolia* y *Q. crassipes* en México, se llevó a cabo la preparación y revisión del material de herbario colectado por Tovar-Sánchez y Oyama (2004). En total, se estudiaron siete zonas simpátridas/mixtas y cuatro poblaciones alopátridas (dos para *Q. crassifolia* y dos para *Q. crassipes*) (Figura 1).

Las dos zonas alopátridas se sitúan para *Q. crassifolia* en la SMOc, en la Reserva de la Biosfera, La Michilía, Durango y para *Q. crassipes* dos localidades en la SMOr, una entre los

estados de San Luis Potosí e Hidalgo y otra localidad en el estado de Hidalgo (Figura 1). Se seleccionaron 20 árboles en cada sitio alopátrido. Se eligieron 20 hojas por individuo sin daño, en total se muestrearon 1600 hojas.

Las zonas simpátridas/mixtas se localizan en el EVT (cinco localidades) y en la parte más sureña de la Sierra Madre Oriental (dos localidades) (Figura 1). Se seleccionaron 30 árboles: 10 de *Q. crassipes*, 10 de *Q. crasifolia* y 10 *Q. × dysophylla*. Se eligieron 20 hojas por individuo sin daño, en total se muestrearon 4200 hojas. Ambas zonas (alopátrida y simpátrida) comprenden en total 5,800 hojas contenidas en 290 individuos en el complejo de estudio.

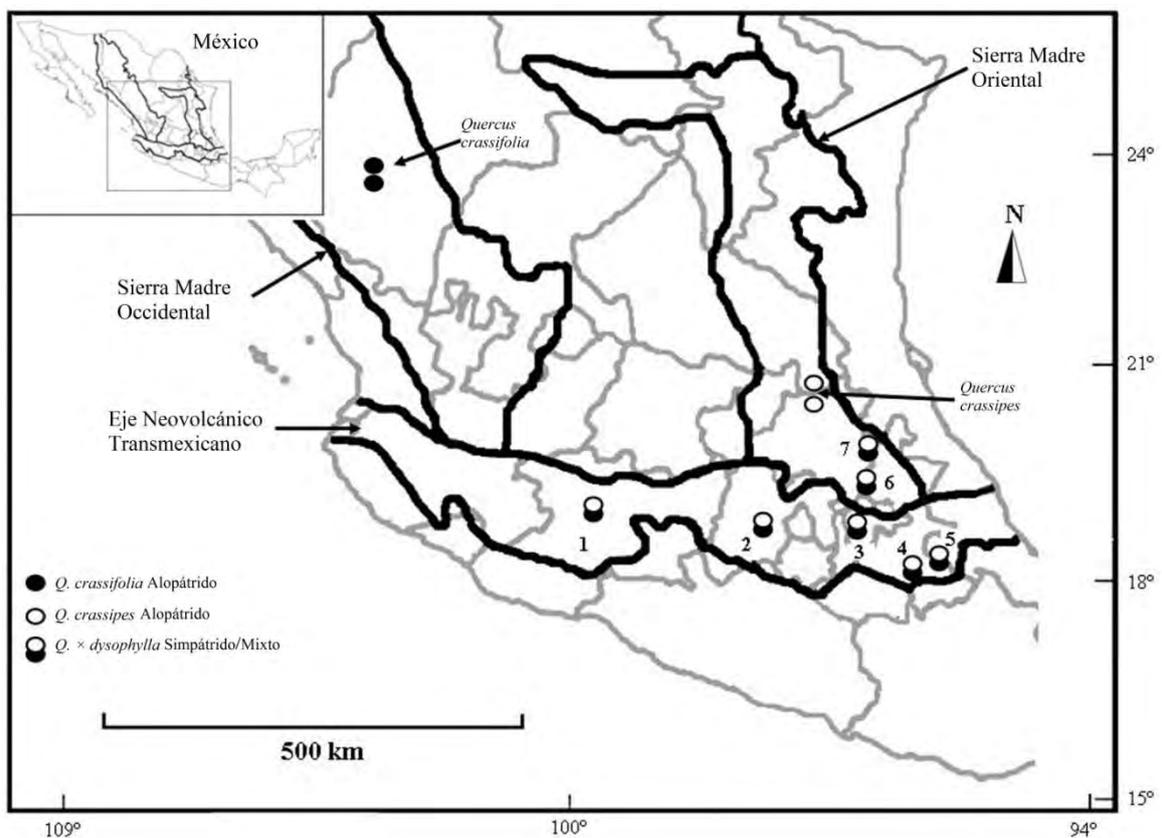


Figura 1. Sitios de estudio del complejo *Quercus crassifolia* × *Q. crassipes* en México. Zonas simpátridas/mixtas: 1)Cantera, 2)Canalejas, 3)Tlaxco, 4)Acajete, 5)Esperanza, 6)Agua Blanca, 7)Palo Bendito.

Caracterización de estomas y tricomas mediante Microscopía Electrónica de Barrido

Para caracterizar los tipos de tricomas y estomas foliares del complejo *Q. crassifolia* × *Q. crassipes* en México se utilizó la clave de Jones (1986) y los datos presentados por Valencia (2005) y Vázquez (2006).

En total, se prepararon 25 muestras permanentes para Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) Se eligió de forma aleatoria a un individuo de cada taxa por localidad (uno de *Q. crassipes*, uno de *Q. crassifolia* y uno de *Q. × dysophylla* en cada zona simpátrida/mixta), y un individuo en cada zona alopátrida (dos sitios por cada especie parental putativa).

Las preparaciones se procesaron de la siguiente manera: se hizo un corte circular utilizando un cortador de un centímetro de diámetro en la zona media de la hoja, incluyendo la vena primaria. En el envés se eliminaron los tricomas de la mitad de la muestra mediante el uso de un cepillo de dientes de cerdas suaves (Fig. 2a) y en la otra mitad se conservaron los tricomas (Fig. 2b). Debido a que el envés de la lámina foliar en este complejo es tomentosa y con el fin de disminuir la densidad de éstos para tener un mejor campo de observación, se entresacaron algunos tricomas con ayuda de pinzas de relojero (Fig. 2c).

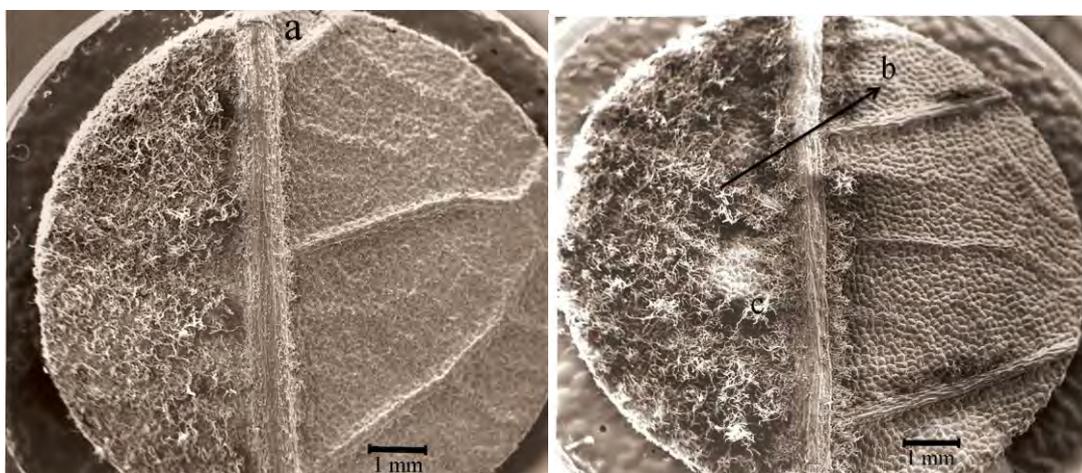


Figura 2. Individuo de *Q. × dysophylla* perteneciente a la zona simpátrida/mixta Canalejas, Estado de México. a) indica la parte de la muestra procesada para observar estomas, b) indica la parte donde no se retiraron los tricomas y c) indica el lugar en donde se retiraron los tricomas.

El montaje de las muestras se realizó con etiquetas para MEB y se recubrieron con oro sobre la superficie del envés de la hoja con un ionizador SEM Coating System, (Polaron). Las observaciones de los tricomas y estomas se realizaron con un microscopio electrónico de barrido Zeiss DSM 950 en el Laboratorio de Biología Celular y Tisular, UNAM, con la asesoría del Biol. Armando Zepeda Rodríguez.

De las 25 preparaciones para MEB elaboradas, se tomaron cinco fotos por muestra, utilizando los siguientes criterios de observación: los estomas de la hoja a 200X, 500X y 2000X y los tricomas a 100X y 200X de magnificación. En total se tomaron 125 fotos

Caracteres macro-morfológicos foliares

Debido a que los caracteres macro-morfológico foliares ya han sido evaluados en el complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* para documentar el fenómeno de hibridación, en este estudio se decidió completar la información utilizando los siguientes caracteres: área foliar, área del peciolo, ángulo de divergencia de la vena secundaria media y porcentaje de la relación área peciolo/área foliar (Cuadro 3).

Cuadro 3. Lista de caracteres morfológicos examinados en el complejo *Q. crassifolia* × *Q. crassipes* en México.

Abreviación	Descripción	Unidades
Caracteres macromorfológicos		
Lámina foliar		
AF	Área foliar	cm ²
AP	Área del peciolo	cm ²
AV	Ángulo de divergencia de la vena secundaria media	grados
AP%	Área del peciolo 100/área foliar	porcentaje
Caracteres micromorfológicos		
Estomas		
LE	Longitud del estoma	micras (μ)
AE	Ancho del estoma	micras (μ)
DE	Densidad de estomas	
CE	Cobertura del estoma	micras (μ ²)
Tricomas		
LES	Longitud del estípite	micras (μ)
LR	Longitud del radio	micras (μ)
NR	Número de radios	
LES/LR x 100	Longitud estípite/Longitud radio 100	porcentaje

Caracteres micro-morfológicos foliares

Tricomas

Se evaluaron los tricomas fasciculados estipitados foliares asociados al complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia*, en siete zonas simpátridas/mixtas y cuatro sitios alopátridos (dos para cada especie parental putativa).

En total, se realizaron 1,125 preparaciones semipermanentes (tres individuos de cada taxón × localidad, tres hojas × individuo, cinco preparaciones por hoja). Se evaluaron 135 tricomas foliares pertenecientes a *Q. crassipes*, *Q. crassifolia* y *Q. × dysophylla* por localidad. Se midieron 15 tricomas por hoja y tres hojas por individuo.

Los parámetros medidos en los tricomas fasciculados estipitados son: longitud del radio, longitud del estípite, relación longitud del estípite/longitud del radio y número de radios (Cuadro 3).

Las preparaciones se hicieron de la siguiente manera: 1) se desprendieron los tricomas de la lámina foliar utilizando un bisturí (raspando suavemente el envés), 2) los tricomas desprendidos se colocaron sobre un portaobjetos y se añadió una gota de agua destilada, 3) los tricomas fueron teñidos durante 10 minutos con azul de toluidina, 4) se retiró el exceso de colorante y se agregó gelatina glicerizada, y 5) se colocó un cubreobjetos evitando la formación de burbujas de aire que dificultaran la observación de la preparación.

La toma de datos se realizó con un microscopio estereoscópico marca Zeiss discovery V8 Stereo con cámara digital Power Shot A 620 y se analizaron con el programa AxionVision proporcionado por el Laboratorio de Interacción planta-animal del Instituto de Ecología, UNAM.

Estomas

En total, se realizaron 1,125 preparaciones permanentes (cinco individuos de cada taxón × localidad, tres hojas × individuo, tres preparaciones por hoja).

Se evaluó la densidad estomática en cinco individuos por taxón por localidad. En total, se analizaron 15 densidades estomáticas pertenecientes a *Q. crassipes*, *Q. crassifolia* y *Q. dysophylla* por sitio simpátrido/mixto. Se midieron cinco densidades estomáticas por sitio alopátrido puro (n=20).

En total, se caracterizaron 1,875 estomas pertenecientes al complejo (cinco individuos de cada taxón × localidad, tres hojas × individuo, cinco estomas por hoja). Los parámetros medidos son: longitud del estoma, ancho del estoma, cobertura estomática (Cuadro 3).

La cobertura estomática (*C*) fue calculada con la siguiente fórmula (Mueller-Dombois y Ellenberg, 1974):

$$C = \left(\frac{d_1 + d_2}{4} \right)^2 \pi$$

donde: d_1 = diámetro mayor del estoma y d_2 = diámetro perpendicular del estoma a d_1 .

El procedimiento para hacer las preparaciones fue el siguiente: 1) se retiraron los tricomas del envés de la hoja con la ayuda de un cepillo de cerdas suave, 2) en un portaobjetos limpio y libre de grasa se colocó pegamento cola loca y se depositó sobre él un corte de aproximadamente dos cm² por el lado del envés de la hoja sin tricomas, 3) se aplicó presión con una pesa de 81.5 g y se dejó secar por dos horas, 4) se retiró el exceso de tejido de la hoja y 5) los estomas impresos en el pegamento seco se observaron en un microscopio óptico con lente ocular graduado 40X.

Análisis estadísticos

Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANDeVA) para determinar el efecto de la especie parental putativa sobre la variabilidad morfológica foliar de los 12 caracteres micro y macro-morfológicos foliares muestreados en este estudio. Se anidó a los individuos en las localidades. Los datos porcentuales fueron transformados como $X = \arcsin (\%)^{1/2}$ y los datos continuos fueron transformados como $X = (x)^{1/2} + 0.5$ (Zar, 1999).

Para determinar el número de caracteres intermedios en la zona de contacto putativa se realizó el procedimiento de conteo de caracteres (Wilson, 1992), con algunas modificaciones para poder detectar caracteres transgresivos (Rieseberg *et al.*, 1999). Si al llevar a cabo el análisis, un carácter de la zona de contacto difería significativamente con algún carácter de las especies parentales, el carácter era registrado como transgresivo positivo cuando excedía positivamente el valor de las especies parentales, como transgresivo negativo cuando lo excedía negativamente, intermedio y tipo-*crassipes* o tipo-*crassifolia* cuando no difería significativamente de algún parental putativo.

Por otro lado, se realizó un análisis discriminante para cada una de las zonas simpátridas/mixtas (utilizando los caracteres macro y micromorfológicos (tricomas, estomas) por separado). Este análisis se realizó con el fin de encontrar el carácter más útil para la discriminación entre taxa. Asimismo, el análisis discriminante puede revelar la manera en la que los caracteres morfológico foliares separan a los individuos en grupos. El programa STATISTICA 6.0 para Windows fue utilizado para todos los análisis estadísticos (Statsoft, 1998).

Para determinar si el EVT se comporta como un corredor biológico, se realizaron regresiones entre la distancia geográfica de las localidades del complejo *Q. crassipes* y *Q. crassifolia* y los caracteres macro y micro-morfológico foliares medidos.

RESULTADOS

Caracterización mediante MEB

Tricomas

En total, se determinaron seis tipos de tricomas foliares asociados al complejo *Q. crassifolia* × *Q. crassipes* en México. Se reconoció un tricoma de tipo glandular y cinco son de tipo no glandular (Cuadro 4). En general, el tricoma glandular simple uniseriado y el tricoma no glandular fasciculado estipitado estuvieron presentes en todo el complejo (*Q.* × *dysophylla*, *Q. crassipes* y *Q. crassifolia*). De los tricomas no glandulares, el tipo fasciculado sésil y el tipo solitario unicelular sólo se observaron en *Q. crassifolia*, mientras que el tipo multirradiado se encontró en *Q. crassifolia* y *Q.* × *dysophylla*. Por último, el tipo estrellado se localizó en *Q. crassipes* y *Q.* × *dysophylla*.

Cuadro 4. Tipos de tricomas presentes en la superficie abaxial foliar del complejo *Quercus crassifolia* × *Q. crassipes* en México.

Taxa	Glandular			No glandular		
	Simple uniseriado	Solitario unicelular	Fasciculado sésil	Fasciculado estipitado	Multirradiado	Estrellado
<i>Q. crassifolia</i>	×	×	×	×	+	
<i>Q. crassipes</i>	×			×		+
<i>Q. dysophylla</i>	×			×	+	+

(×) tipos de tricomas ya descritos (+) tipos de tricomas nuevos

A continuación se describe la caracterización de los cinco tipos de tricomas asociados al complejo *Q. crassifolia* × *Q. crassipes*, utilizando la clasificación de Jones (1986).

El tricoma glandular uniseriado simple. Consiste en una sola columna de dos o más paredes delgadas y cortas, multicelular, aparentemente con función glandular (Fig. 3).

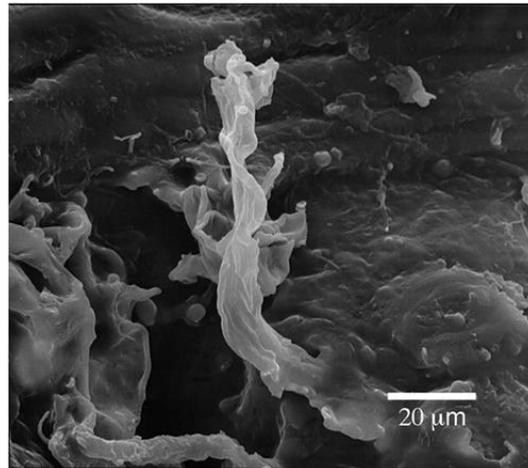


Figura 3. Tricoma glandular uniseriado simple, presente en *Q. crassifolia* en México.

Tricoma solitario unicelular. Paredes delgadas, cortos, ligeramente ondulados a rectos, adpresos a la vena media de la cual se origina (Fig. 4).

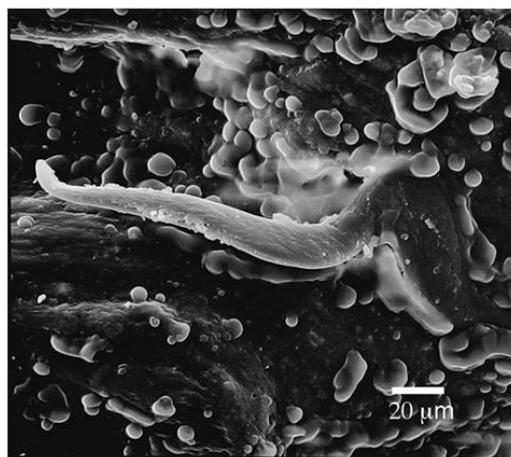


Figura 4. Tricoma solitario unicelular, presente en *Q. crassifolia* en México.

Tricoma fasciculado sésil. Caracterizado por presentar dos o más radios unidos en la base formando mechones; éstos pueden presentarse en forma sésil, unidos en un pedestal muy corto de donde nacen los radios (Fig. 5).

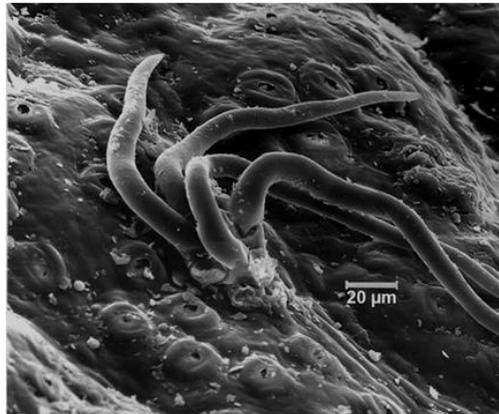


Figura 5. Tricoma fasciculado sésil, presente en *Q. crassifolia* en México.

Tricoma fasciculado estipitado. Caracterizado por presentar dos o más radios unidos en la base formando mechones; sus células están fusionadas formando una base o estípito donde nacen los radios. En algunos casos los radios son extremadamente largos y se entrelazan (Fig. 6).

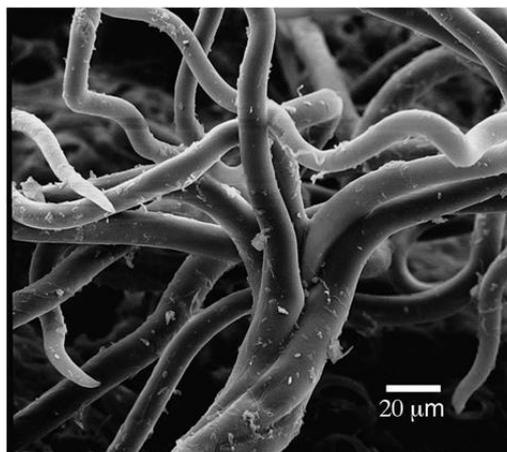


Figura 6. Tricoma fasciculado estipitado, presente en *Q. crassifolia*, *Q. crassipes* y *Q. dysophylla* en México.

Tricoma estrellado. Con tres o más radios que se originan de un punto común de fijación, en posición paralela a la superficie de la hoja. Los radios se disponen en un plano (Fig. 7).



Figura 7. Tricoma estrellado, presente en *Q. crassipes* y *Q. × dysophylla* en México.

Tricoma multirradiado. Es un tricoma compuesto por varios radios, que emergen al azar en varias direcciones de una base común (Fig. 8). Este tipo de tricoma se observó en las preparaciones para ser analizadas al microscopio estereoscópico.

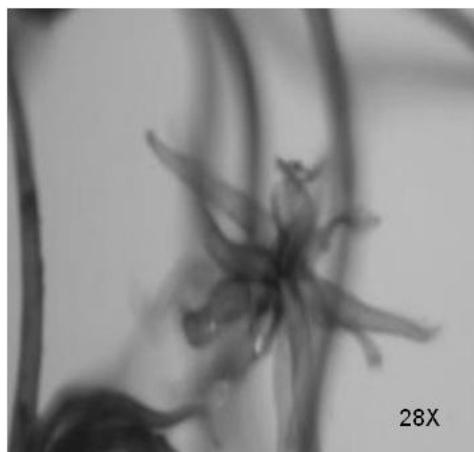


Figura 8. Tricoma multirradiado, presente en *Q. crassipes* y *Q. × dysophylla* en México.

Estomas

El complejo *Q. crassifolia* × *Q. crassipes* presentó en las zonas alopátridas y en la zona simpátrida/mixta el tipo de estoma anomocítico.

En general, *Q. crassipes* presenta una tendencia a la reducción en el tamaño del estoma (largo, ancho y cobertura) a lo largo de su distribución geográfica en el EVT, hacia la zona alopátrida (SMOr), esto es en dirección oeste-este a lo largo de su distribución en México (Figura 9). En las localidades ubicadas en la parte más sureña de la SMOr (Palo Bendito y Agua Blanca), la forma de la abertura del estoma es circular y muy abierta, lo que permitió ver las ornamentaciones internas del estoma (Fig. 10). En estas dos localidades, no se presentaron gran cantidad de ceras epicuticulares sobre el estoma. En las localidades de la parte central y oeste del EVT, los estomas y la epidermis fueron cubiertos por ceras epicuticulares. La forma de la abertura estomática fué elíptica en las demás localidades. En los sitios alopátridos, los estomas también presentaron poros más cerrados que en Agua Blanca y Palo Bendito y mayor cantidad de ceras epicuticulares (Fig. 9 y 10).

Q. crassifolia presentó en las localidades de la parte central del EVT, la presencia de una mayor cantidad de ceras sobre la abertura del poro estomático, lo que no permitió observar las ornamentaciones en la cavidad interna de los estomas (Figs. 9 y 10). En las localidades simpátridas/mixtas más sureña de la SMOr (Palo Bendito y Agua Blanca) se presentan estomas con poros abiertos que permiten ver directamente las ornamentaciones internas.

En las localidades de la parte central y oeste del EVT, los estomas presentaron una mayor cantidad de ceras epicuticulares sobre el poro del estoma y la epidermis; lo que dificultó observar las ornamentaciones internas. En los casos específicos de las localidades ubicadas en la zona centro del EVT (Tlaxco, Acajete y Esperanza), los poros se encuentran cubiertos por las ceras epicuticulares (Fig. 9).

Q. × dysophylla Se observó una ligera reducción del tamaño del estoma (ancho, largo y cobertura) conforme se distribuye dirección este-oeste, a lo largo del EVT (Fig. 9). Las células guarda se observaron elevadas y los poros de los estomas abiertos en todas las localidades. En localidades del centro y oeste del EVT se observaron pocos depósitos de ceras epicuticulares en forma de costras irregulares lisas (Figs. 9 y 10).

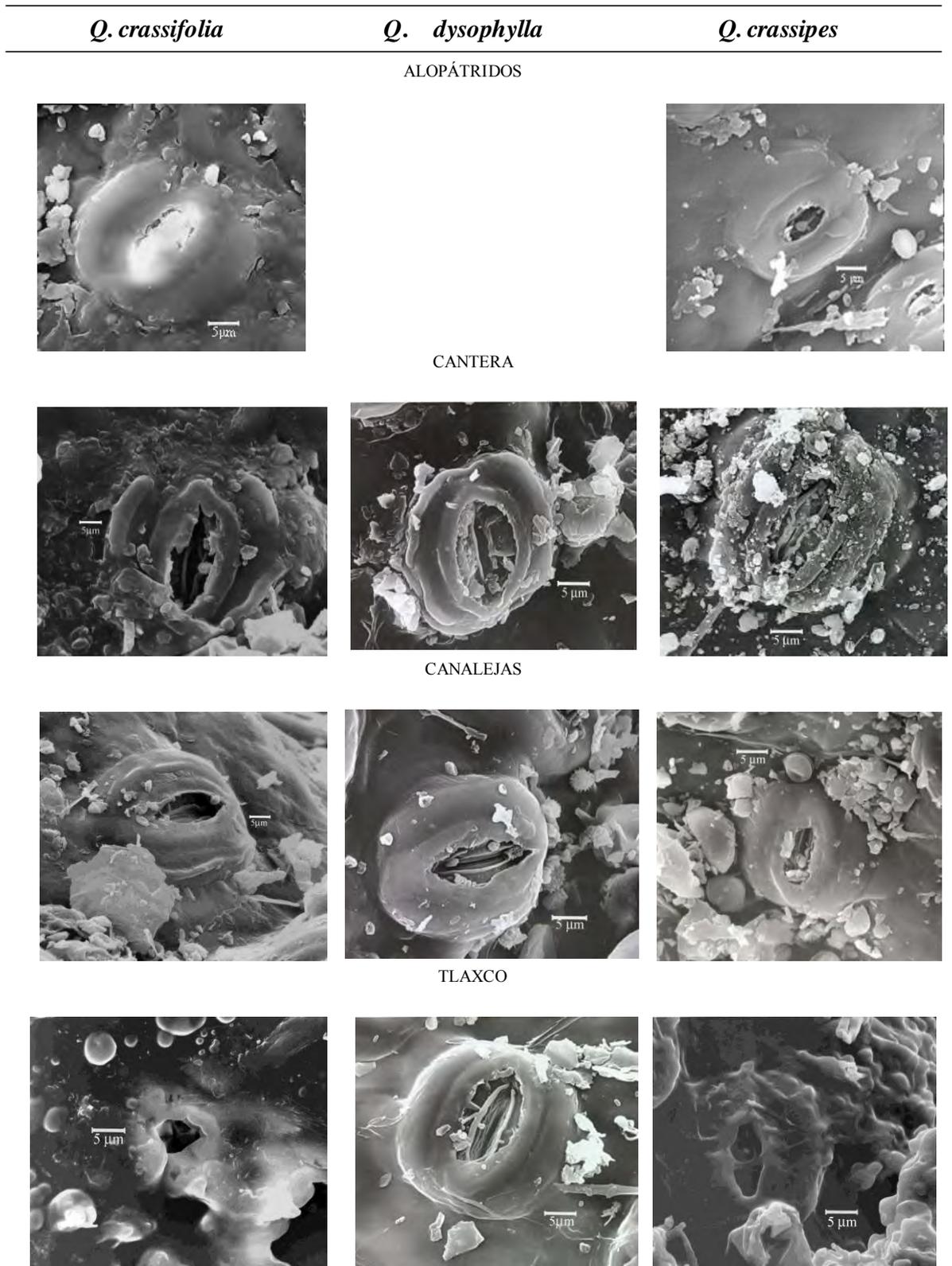


Figura 9. Estoma anomocítico presente en el complejo *Quercus crassipes* × *Q. crassifolia* en siete zonas simpátridas/mixtas (Eje Volcánico Transmexicano) y dos sitios alopátridos en México

CONTINUACIÓN

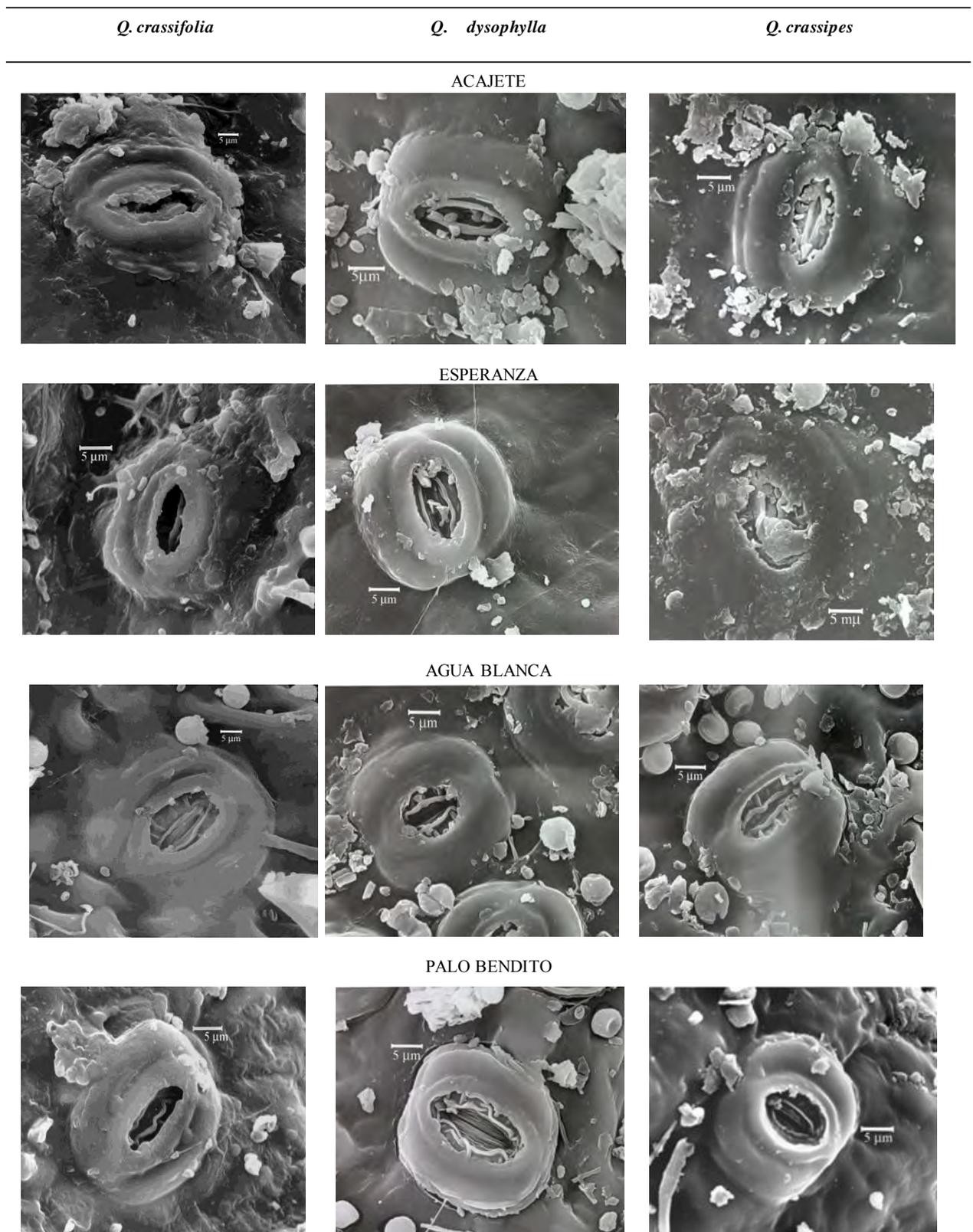


Figura 9. Estoma anomocítico presente en el complejo *Quercus crassipes* × *Q. crassifolia* en siete zonas simpátridas/mixtas (Eje Volcánico Transmexicano) y dos sitios alopátridos en México

Caracteres macro-morfológicos y micro-morfológicos foliares

En general, los análisis de varianza anidados detectaron un efecto significativo de la especie (*Q. crassipes* y *Q. crassifolia*), la localidad y el individuo (árbol) sobre cada uno de los caracteres morfológico foliares evaluados, exceptuando AP% y DE en la especie y en el individuo AE y D (Cuadro 5). Ninguno de los 12 caracteres macro y micromorfológicos foliares evaluados fueron caracteres específicos para las especies parentales putativas *Q. crassipes* y *Q. crassifolia*.

Cuadro 5. Promedio, error estándar y resultados de ANOVA anidado (*F*) para todos los caracteres macro y micro-morfológicos foliares de *Q. crassifolia* y *Q. crassipes* en México. Nivel de significancia $P < 0.001$ (***); $P < 0.01$ (**), $P < 0.05$ (*) y ns= diferencias no significativas.

Caracteres	Unidad	<i>Q. crassifolia</i>	<i>Q. crassipes</i>	Localidad <i>F</i>	Especie <i>F</i>	Árbol <i>F</i>
macromorfológicos						
AF	cm ²	46.45±0.50	8.16±0.09	45.76***	5774.88***	4.31***
AP	cm ²	0.59±0.01	0.11±0.01	129.29***	4382.43***	5.99***
AV	Grados	48.01±0.17	37.68±0.23	43.00***	1469.10***	7.10***
AP%	%	1.47±0.02	1.58±0.03	166.79***	0.01 ns	6.64***
micromorfológicos						
Estomas						
LE	micras(μ)	25.54±0.09	24.08±0.10	34.20***	167.10***	4.80***
AE	micras(μ)	24.38±0.09	22.68±0.10	18.40***	198.70***	1.80 ns
DE	No./μ ²	59.08±2.13	66.33±3.24	6.03***	0.19 ns	0.45 ns
CE	micras(μ ²)	2047.95±11.44	1732.00±12.24	36.37***	182.15***	4.77***
Tricomas						
LES	micras(μ)	136.98±1.64	95.05±1.29	27.08***	475.22**	3.91***
LR	micras(μ)	779.05±11.36	451.20±5.23	15.37***	400.79***	3.27**
NR	No.	2.66±0.01	3.15±0.01	62.20***	954.70***	22.3***
LES/LR x 100	%	19.07±0.24	22.06±0.45	14.28***	37.11***	2.46**

Conteo de caracteres

Por otro lado, mediante el análisis de conteo de caracteres macro y micromorfológicos de las siete zonas simpátridas/mixtas se encontró el siguiente patrón en el fenotipo de árboles híbridos: 64.3% fueron intermedios (n=54) > 15.5% tipo *Q. crassifolia* (n=13), > 11.9%

transgresivos negativos (n=10), > 5.9% tipo *Q. crassipes* (n=5), > 2.4% transgresivos positivos (n=2) (Cuadro 6 y anexo 1).

En particular en la localidad de Cantera, 83.3% de los caracteres fueron intermedios (n=10), y 16.7% (n=2) transgresivos negativos. En la localidad de Canalejas, 66.7% fueron intermedios (n=8), 33.3% tipo *Q. crassifolia* (n=4). En la localidad de Tlaxco, 58.3% de los caracteres fueron intermedios (n=7), 25% tipo *Q. crassipes* (n=3), 16.7% transgresivos negativos (n=2). En la localidad de Acajete, 75% de los caracteres fueron intermedios (n=9), 16.7% tipo *Q. crassifolia* (n=2), y 8.3% tipo *Q. crassipes* (n=1). En la localidad de Esperanza, 41.7% fueron intermedios (n=5), 33.3% tipo *Q. crassifolia* (n=4), 25% transgresivos negativos (n=3). En la localidad de Agua Blanca, 66.7% fueron intermedios (n=8), 16.7% transgresivo negativo (n=2), 8.3% tipo *Q. crassipes* (n=1), y 8.3% transgresivo positivo (n=1). Por último, en la localidad de Palo Bendito, 58.3% fueron intermedios (n=7), 25% tipo *Q. crassifolia* (n=3), 8.3% transgresivo positivo (n=1) y 8.3% transgresivo negativo (n=1) (Cuadro 6 y anexo 1).

Cuadro 6. Conteo de caracteres morfológico foliares del complejo *Q. crassifolia* × *Q. crassipes* en siete zonas simpátridas/mixtas en México.

Carácter	<i>Q. crassifolia</i> (promedio±d.e.)	Híbrido (promedio±d.e.)	<i>Q. crassipes</i> (promedio±d.e.)	El híbrido es diferente de (Tukey, P<0.05)	Fenotipo
CANTERA					
Caracteres macromorfológicos					
AV	7.30±0.46	6.79±0.43	6.41±0.50	Ambos	Intermedio
AF	53.04±6.54	45.85±5.88	40.96±7.50	Ambos	Intermedio
AP	0.68±0.30	0.28±0.12	0.16±0.09	Ambos	Intermedio
AP %	1.38±0.78	1.09±0.46	1.94±1.10	Ambos	Transgresivo (-)
Caracteres micromorfológicos					
LB	718.61±238.60	456.31±75.32	573.91±185.20	Ambos	Intermedio
LES	125.28±39.80	106.77±21.49	128.75±21.49	<i>Q. crassipes</i>	Intermedio
NB	2.66±0.25	2.90±0.29	2.92±0.30	<i>Q. crassifolia</i>	Intermedio
LES/LB%	18.68±6.73	23.78±6.93	23.79±5.10	<i>Q. crassifolia</i>	Intermedio
LE	26.53±2.37	26.34±2.08	26.76±2.18	Ninguno	Intermedio
AE	24.96±2.28	24.37±2.07	24.12±1.99	<i>Q. crassifolia</i>	Intermedio
DE	54.80±12.98	47.40±9.65	45.60±1.14	Ninguno	Intermedio
CE	2091.57±269.83	2027.81±243.03	2041.81±266.84	Ninguno	Transgresivo (-)
CANALEJAS					
Caracteres macromorfológicos					
AV	49.02±6.43	46.07±7.62	34.24±9.80	Ambos	Intermedio
AF	48.34±22.04	22.78±9.62	7.71±2.80	Ambos	Intermedio
AP	0.74±0.26	0.38±0.19	0.22±0.10	Ambos	Intermedio
AP %	1.74±0.77	1.84±0.99	3.45±7.19	<i>Q. crassipes</i>	Intermedio
Caracteres micromorfológicos					
LB	755.43±221.93	761.30±228.26	541.27±194.46	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>
LES	134.75±30.64	119.63±31.27	113.46±25.20	<i>Q. crassifolia</i>	Intermedio
NB	2.60±0.28	2.78±0.28	3.01±0.36	Ambos	Intermedio
LES/LB%	18.92±5.67	16.61±4.83	27.28±30.22	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>
LE	27.20±2.33	26.00±2.00	24.88±2.74	<i>Q. crassipes</i>	Intermedio
AE	24.50±2.16	24.42±2.44	23.55±2.63	Ninguno	Intermedio
DE	42.20±9.44	38.20±5.01	58.40±9.31	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>
CE	2109.16±284.60	2109.16±282.39	1851.16±265.64	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>

CONTINUACIÓN**TLAXCO**

Caracteres macromorfológicos

AV	46.09±5.65	41.16±7.75	42.30±7.85	<i>Q. crassifolia</i>	Tipo <i>Q. crassipes</i>
AF	48.05±19.10	18.20±9.92	7.55±2.72	Ambos	Intermedio
AP	0.37±0.15	0.10±0.09	0.08±0.07	<i>Q. crassifolia</i>	Tipo <i>Q. crassipes</i>
AP %	0.91±0.58	0.61±0.47	1.06±1.40	Ambos	Transgresivo (-)

Caracteres micromorfológicos

LB	795.79±295.113	663.01±160.40	336.59±102.27	Ambos	Intermedio
LES	150.62±40.78	95.69±18.29	60.26±17.29	Ambos	Intermedio
NB	5.30±1.46	4.70±1.04	8.00±1.07	Ambos	Transgresivo (-)
LES/LB%	20.66±7.46	15.09±3.93	15.88±4.65	<i>Q. crassifolia</i>	Tipo <i>Q. crassipes</i>
LE	27.37±1.67	26.02±2.11	21.53±1.56	Ambos	Intermedio
AE	25.44±3.05	24.20±2.02	20.53±1.40	Ambos	Intermedio
DE	61.60±13.57	70.00±9.13	85.00±31.05	Ninguno	Intermedio
CE	704.29±102.61	636.50±83.43	471.74±53.15	Ambos	Intermedio

ACAJETE

Caracteres macromorfológicos

AV	47.85±5.12	46.28±7.20	29.49±10.70	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>
AF	35.31±11.49	20.24±8.73	9.02±3.04	Ambos	Intermedio
AP	0.24±0.13	0.10±0.05	0.05±0.07	Ambos	Intermedio
AP %	0.74±0.43	0.57±0.38	0.67±0.76	<i>Q. crassifolia</i>	Tipo <i>Q. crassipes</i>

Caracteres micromorfológicos

LB	749.17±306.35	558.10±138.50	439.65±93.74	Ambos	Intermedio
LES	141.68±59.44	110.68±23.49	102.23±18.22	<i>Q. crassifolia</i>	Intermedio
NB	2.73±0.30	2.76±0.25	2.86±0.29	Ninguno	Intermedio
LES/LB%	19.86±7.15	20.75±5.70	24.00±5.51	<i>Q. crassipes</i>	Intermedio
LE	26.52±2.29	27.12±2.21	26.08±2.49	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>
AE	23.41±2.24	24.30±2.22	24.32±2.81	Ninguno	Intermedio
DE	48.80±77.125	55.20±6.22	61.00±10.72	Ninguno	Intermedio
CE	1968.93±290.83	2086.24±275.06	2012.02±379.4466	Ninguno	Intermedio

ESPERANZA

Caracteres macromorfológicos

AV	47.32±7.86	43.89±7.21	33.43±6.53	Ambos	Intermedio
AF	46.17±18.15	20.45±10.51	7.80±3.14	Ambos	Intermedio
AP	0.75±0.29	0.30±0.133	0.10±0.04	Ambos	Intermedio
AP %	1.75±0.70	1.72±0.85	1.38±0.63	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>

Caracteres micromorfológicos

LB	713.84±231.81	742.12±194.20	536.40±114.64	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>
LES	142.31±26.82	133.02±27.08	137.63±24.51	Ninguno	Transgresivo (-)
NB	2.91±1.34	2.78±0.33	3.33±0.26	Ambos	Transgresivo (-)
LES/LB%	21.33±5.50	18.89±5.18	26.32±5.16	Ambos	Transgresivo (-)
LE	26.72±2.07	26.04±1.79	24.90±1.39	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>
AE	25.24±2.10	24.27±2.32	23.42±1.37	Ambos	intermedio
DE	66.40±6.87	69.60±5.85	48.64±0.41	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>
CE	2130.28±289.84	1996.79±246.25	1837.44±140.85	Ambos	Intermedio

CONTINUACIÓN .

AGUA BLANCA

Caracteres macromorfológicos

AV	44.93±7.86	43.944±7.57	42.94±8.04	Ninguno	Intermedio
AF	36.77±15.18	23.74±99.80	9.89±3.77	Ambos	Intermedio
AP	0.37±0.14	0.32±0.13	0.15±0.07	Ambos	Intermedio
AP %	1.57±0.66	1.58±0.81	1.79±1.19	Ambos	Intermedio

Caracteres micromorfológicos

LB	558.10±138.50	679.81±208.59	471.83±21.25	Ambos	Transgresivo (+)
LES	110.68±23.49	118.13±29.53	120.87±29.53	Ninguno	Intermedio
NB	2.76±0.25	2.84±0.30	2.91±0.34	Ninguno	Intermedio
LES/LB%	20.73±5.70	17.98±5.12	26.73±7.76	Ambos	Transgresivo (-)
LE	25.78±2.04	24.86±1.83	24.09±2.39	Ninguno	Intermedio
AE	24.01±1.56	22.66±1.68	22.61±2.59	Ninguno	Intermedio
DE	74.80±8.04	71.60±13.04	76.20±0.44	Ninguno	Transgresivo (-)
CE	1954.42±229.55	1780.50±205.38	1722.25±233.55	<i>Q. crassifolia</i>	Tipo <i>Q. crassipes</i>

PALO BENDITO

Caracteres macromorfológicos

AV	45.90±5.94	43.58±6.18	39.93±6.20	Ambos	Intermedio
AF	60.43±26.20	24.8±11.08	8.83±3.98	Ambos	Intermedio
AP	0.61±0.31	0.19±0.07	0.09±0.06	Ambos	Intermedio
AP %	1.14±0.76	0.89±0.52	1.14±0.84	Ambos	Transgresivo (-)

Caracteres micromorfológicos

LB	829.28±295.34	73.61±234.55	399.82±119.94	Ambos	Intermedio
LES	128.36±34.98	110.24±51.21	84.60±22.50	Ambos	Intermedio
NB	2.77±0.24	2.90±0.28	3.10±0.33	Ambos	Intermedio
LES/LB%	17.29±7.51	16.80±13.02	21.88±5.15	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>
LE	25.20±1.94	25.93±2.98	24.18±1.76	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>
AE	23.08±1.71	23.14±3.34	23.21±1.52	Ninguno	Intermedio
DE	55.20±6.30	63.00±20.82	62.60±10.94	Ninguno	Transgresivo (+)
CE	1837.09±217.20	1916.43±385.54	1769.65±190.86	<i>Q. crassipes</i>	Tipo <i>Q. crassifolia</i>

Análisis de función discriminante (caracteres macro-morfológicos)

Por otro lado, los análisis de función discriminante utilizando los caracteres macro-morfológicos foliares muestran que los individuos de *Q. × dysophylla* son intermedios entre *Q. crassifolia* y *Q. crassipes*, en las siete zonas simpátridas/mixtas (Fig. 11). En general, los análisis de función discriminante de la variación morfológica foliar en las localidades simpátridas/mixtas de Cantera, Canalejas, Tlaxco, Agua Blanca y Palo Bendito mostraron que el área del peciolo (AP) contribuye con los valores más altos al modelo de ordenación en el

eje FD1. Por otro lado, en las localidades simpátridas/mixtas de Acajete y Esperanza fue el área foliar (AF) la que presentó el valor más alto. En general, en todas las localidades simpátridas/mixtas, el ángulo de la vena (AV) fue el carácter con mayor valor en el eje FD2, con excepción de Acajete, en donde el área del peciolo (AP) obtuvo el mayor valor (Cuadro 7).

Por su parte, los análisis de función discriminante basados en los caracteres micro-morfológicos foliares (tricomas y estomas) no mostraron una separación entre taxa, por lo que se decidió no incluirlos.

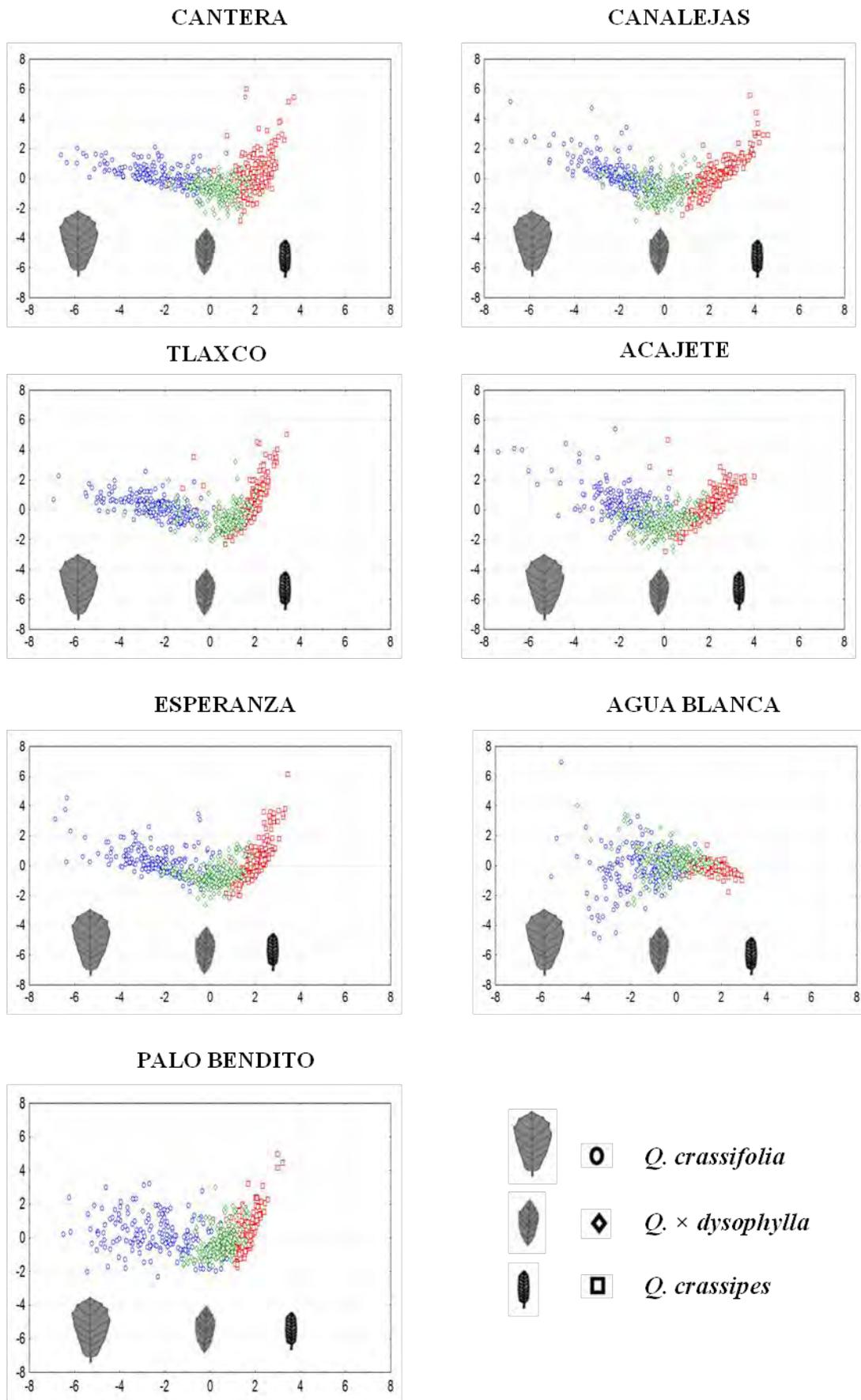


Figura 10. Análisis de función discriminante para la variación macro-morfológica foliar en el complejo *Q. crassifolia* × *Q. crassipes* en siete zonas simpátricas/mixtas en México.

La comparación del complejo presentó un alto nivel de significancia ($P < 0.001$) en la variación entre taxa de los ejes discriminantes, que varió entre el 85.56% (Esperanza) y el 96.97% (Agua Blanca) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Análisis de función discriminante para la variación de los caracteres macro-morfológico foliares de siete zonas simpátridas/mixtas del complejo *Q. crassifolia* × *Q. crassipes* en México.

Variable	DF1	DF2	Variable	DF1	DF2
CANTERA			CANALEJAS		
AF	-0.45	0.48	AF	0.02	0.91
AP	-1.68	-0.41	AP	-1.05	-0.22
AV	0.53	-5.74	AV	-0.21	-1.72
AP%	0.33	1.18	AP%	0.87	0.96
Eigenvalor	3.29	0.25	Eigenvalor	3.6	0.24
% variación	92.97	7.03	% variación	93.78	6.22
Significancia	<0.001	<0.001	Significancia	<0.001	<0.001
TLAXCO			ACAJETE		
AF	-0.59	0.15	AF	-0.68	0.16
AP	-1.62	0.37	AP	-0.31	1.72
AV	-0.12	-1.69	AV	0.18	0.2
AP%	0.09	0.0	AP%	-0.04	-0.24
Eigenvalor	3.13	0.20	Eigenvalor	2.61	0.28
% variación	89.4	10.60	% variación	90.17	9.83
Significancia	<0.001	<0.001	Significancia	<0.001	<0.001
ESPERANZA			AGUA BLANCA		
AF	-1.66	-0.29	AF	-0.45	-1.1
AP	-0.35	0.76	AP	-0.82	1.25
AV	-0.30	-4.67	AV	0.13	2.15
AP%	-0.26	-0.6	AP%	0.5	-0.72
Eigenvalor	3.12	0.2	Eigenvalor	1.54	0.05
% variación	85.56	14.44	% variación	96.97	3.03
Significancia	<0.001	<0.001	Significancia	<0.001	<0.001
PALO BENDITO					
AF	-0.60	-0.24			
AP	-1.61	0.47			
AV	-1.56	-4.77			
AP%	0.10	0.3			
Eigenvalor	2.58	0.05			
% variación	94.00	6.0			
Significancia	<0.001	<0.001			

Análisis de regresión lineal

El análisis de regresión lineal mostró las siguientes relaciones significativas entre los caracteres macro y micro-morfológicos foliares del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* y la distancia geográfica entre localidades en dirección oeste-este (siguiendo la ruta histórica propuesta de colonización de ambas especies parentales putativas en México):

Caracteres macro-morfológico foliares. *Q. crassifolia* y *Q. crassipes* registraron una relación negativa y significativa entre el área del peciolo (AP) y el porcentaje de la relación área del peciolo y lámina foliar (AP%) con la distancia geográfica entre las localidades. Por su parte, *Q. × dysophylla* no registró ninguna relación significativa (Fig.12). El ángulo de divergencia de la vena secundaria media(AV) y el área foliar (AF) no presentaron una relación significativa, con respecto a la distancia geográfica entre localidades, en ninguno de los taxa analizados.

Caracteres micro-morfológico foliares (tricomas)

En general, *Q. crassifolia* y *Q. crassipes* registraron una relación negativa y significativa entre todos los caracteres del tricoma y la distancia geográfica entre las localidades en dirección oeste-este a través del EVT, exceptuando a *Q. crassipes*, especie en la que la relación longitud del radio (LR) y distancia geográfica no fue significativa. Por su parte, *Q. × dysophylla* no presentó ninguna relación significativa entre las características evaluadas de los tricomas y la distancia geográfica (Fig. 13).

Caracteres micro-morfológico foliares (estomas).

Q. crassipes y *Q. × dysophylla* mostraron una relación negativa y significativa entre todos los caracteres del estoma y la distancia geográfica entre localidades en dirección oeste-este a través del EVT, exceptuando la relación longitud del estoma en *Q. × dysophylla* cuya relación no fue significativa. Por otra parte, no registró ninguna relación significativa en los caracteres micro-morfológicos evaluados en los estomas en *Q. crassifolia* (Fig. 14).

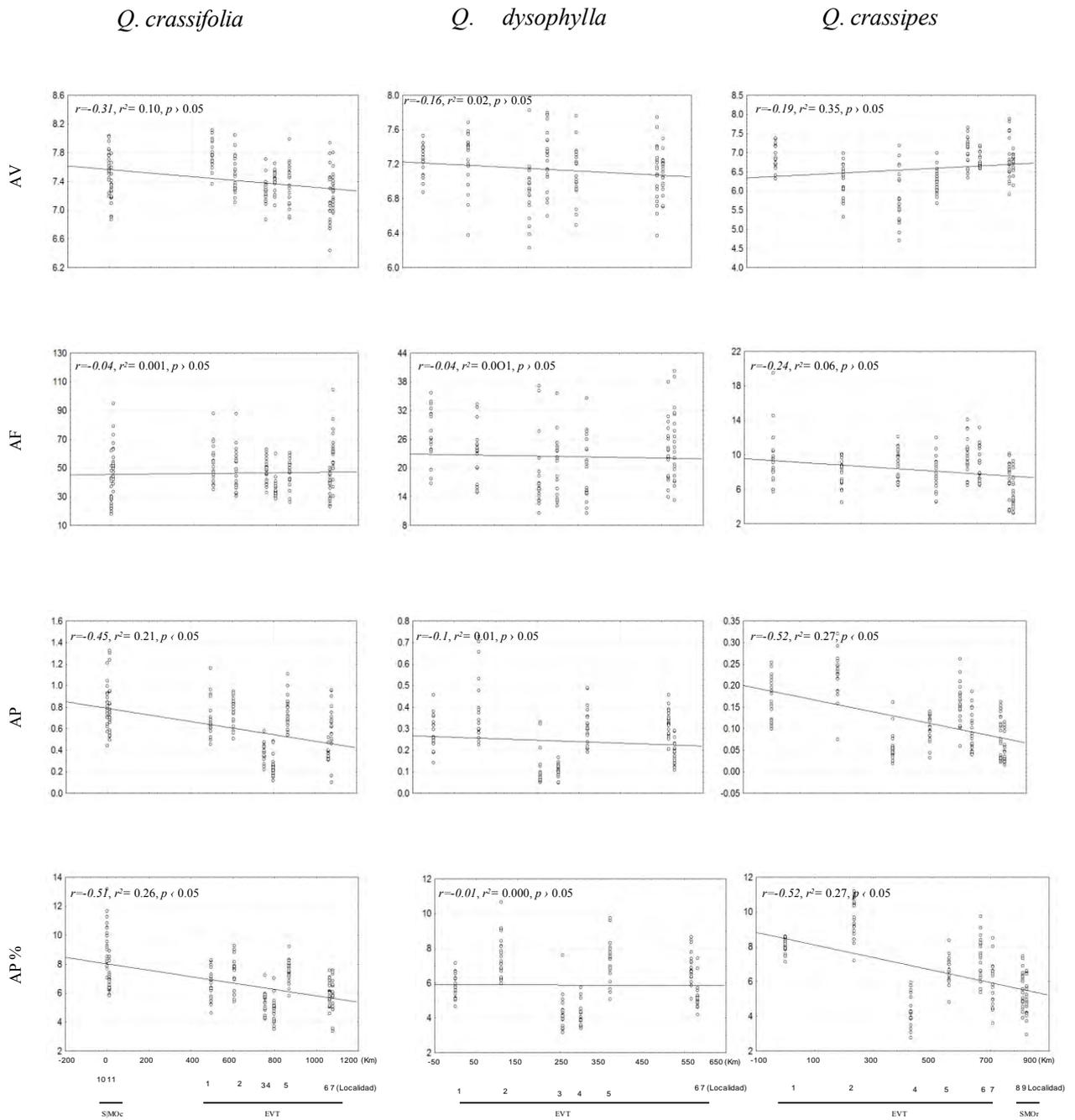


Figura 11. Regresión lineal de los caracteres macro-morfológicos foliares, ángulo de la vena secundaria (AV), área foliar (AF), área del peciolo (AP), porcentaje del área del peciolo/área foliar (AP%) y la distancia geográfica entre localidades del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en México en dirección oeste-este a través del Eje Volcánico Transmexicano (EVT). SMOc = Sierra Madre Occidental, SMOr = Sierra Madre Oriental. Zonas simpátridas/mixtas: 1)Cantera, 2)Canalejas, 3) Tlaxco, 4)Acajete, 5)Esperanza, 6)Agua Blanca, 7)Palo Bendito. Zonas alopátridas: 8)El Piñón, 9)Cuesta Colorada, 10)Cuesta blanca 1 y 11)Cuesta Blanca 2.

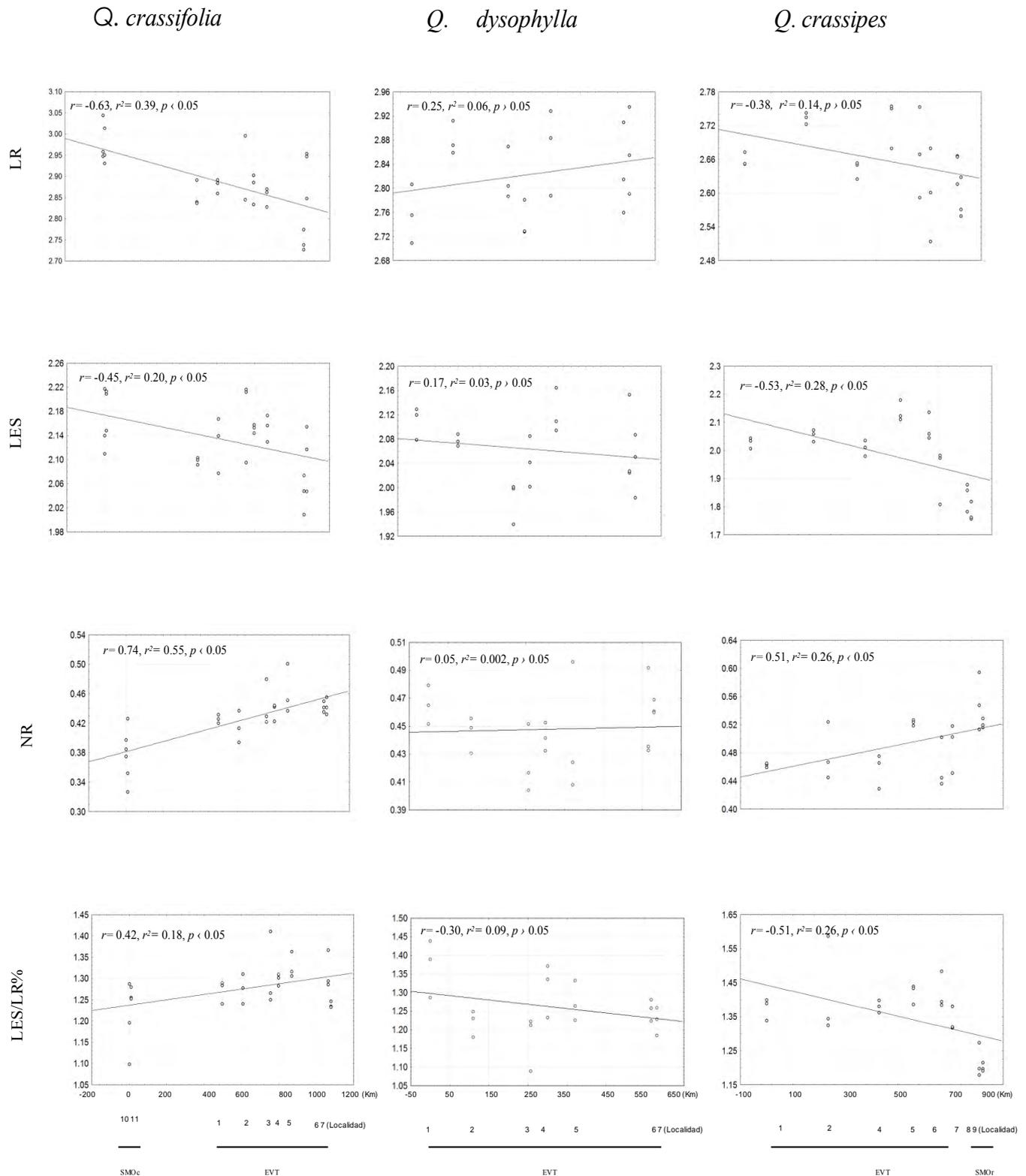


Figura 12. Regresión lineal de los caracteres micro-morfológicos de los tricomas, longitud del radio (LR), longitud del estípite (LE), número de radios (NR), porcentaje de la relación longitud del estípite/longitud del radio (LES/LR%) y la distancia geográfica entre localidades del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en México en dirección oeste-este a través del Eje Volcánico Transmexicano (EVT). SMOc = Sierra Madre Occidental, SMOr = Sierra Madre Oriental. Zonas simpátridas/mixtas: 1)Cantera, 2)Canalejas, 3) Tlaxco, 4)Acajete, 5)Esperanza, 6)Agua Blanca, 7)Palo Bendito. Zonas alopátridas: 8)El Piñón, 9)Cuesta Colorada, 10)Cuesta blanca 1 y 11)Cuesta Blanca 2.

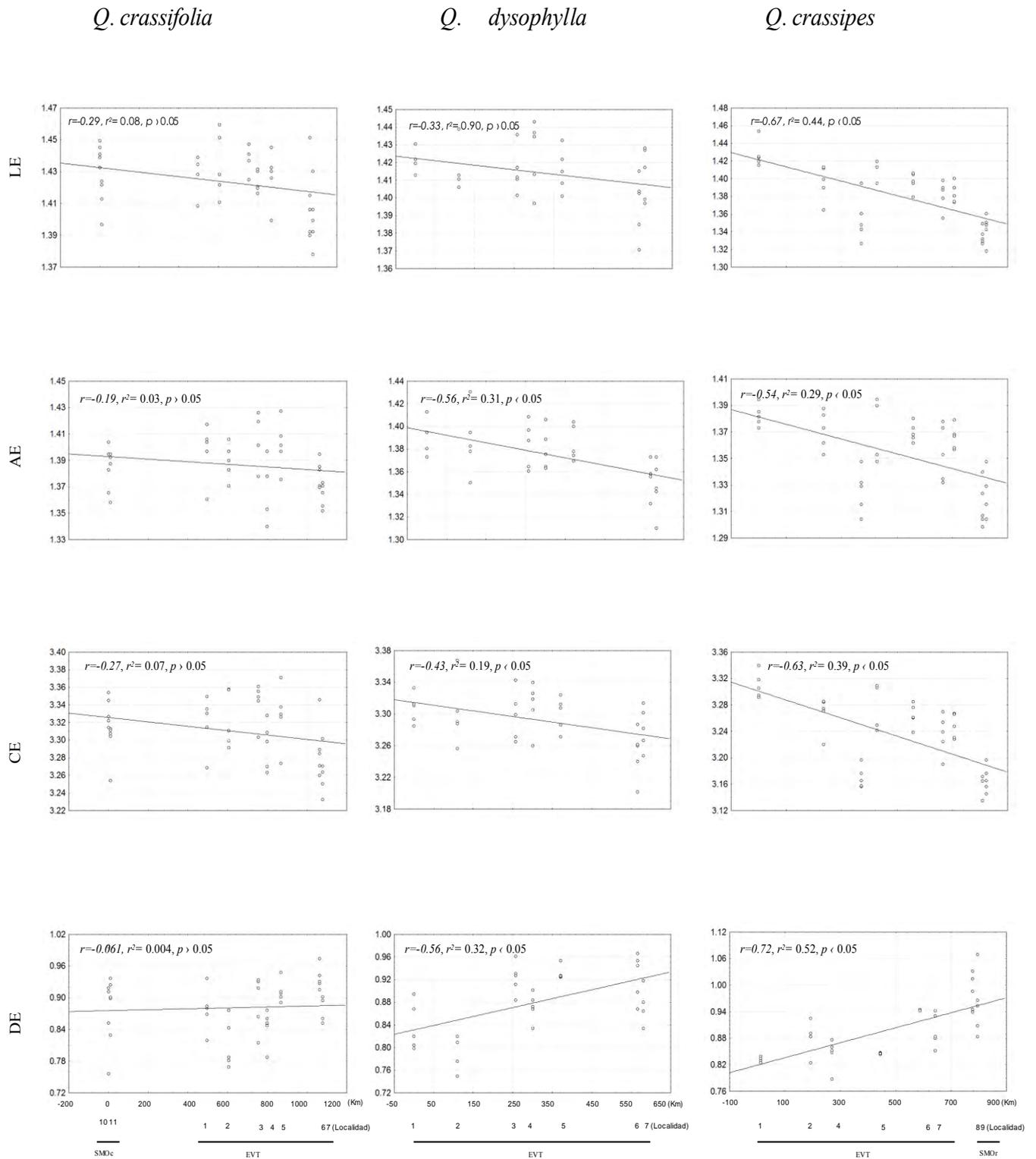


Figura 13. Regresión lineal de los caracteres micro-morfológicos de los estomas (LE) longitud del estoma, (AE) Ancho del estoma (CE) cobertura del estoma, (DE) densidad del estoma y la distancia geográfica entre localidades del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en México en dirección oeste-este a través del Eje Volcánico Transmexicano (EVT). SMOc = Sierra Madre Occidental, SMOr = Sierra Madre Oriental. Zonas simpátridas/mixtas: 1)Cantera, 2)Canalejas, 3) Tlaxco, 4)Acajete, 5)Esperanza, 6)Agua Blanca, 7)Palo Bendito. Zonas alopátridas: 8)El Piñón, 9)Cuesta Colorada, 10)Cuesta blanca 1 y 11)Cuesta Blanca 2.

DISCUSIÓN

Hibridación natural del complejo *Quercus crassipes* y *Q. crassifolia*

Q. crassipes y *Q. crassifolia* son dos especies de encinos rojos que registran un frecuente fenómeno de hibridación cuando se encuentran en simpatria/mixtas a través del EVT y en la parte más sureña de la SMO. A pesar de la frecuente hibridación introgresiva documentada en este complejo (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004), los resultados obtenidos en este estudio con caracteres foliares micro y macro-morfológicos sugieren que ambas especies continúan siendo morfológicamente distintas en su distribución alopátrida y simpátrida, por lo que estas especies siguen conservando algún grado de cohesividad genética.

Generalmente, los individuos híbridos en las zonas híbridas han sido reconocidos por la presencia de caracteres morfológicos intermedios entre las dos especies parentales putativas. Asimismo, dentro de los caracteres morfológicos, los de tipo foliar son considerados una poderosa herramienta para la detección de individuos híbridos dentro de especies del género *Quercus* (Rieseberg y Ellstrand, 1993; Kleinschmit *et al.*, 1995; Bacon y Spellenberg, 1996; Hardig *et al.*, 2000; Bruschi *et al.*, 2000; González-Rodríguez *et al.*, 2004; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004; Gugerli *et al.*, 2008). En este estudio, los caracteres macro y micro-morfológicos evaluados mostraron, en general, la morfología foliar intermedia de los híbridos en comparación con sus especies parentales putativas. Lo anterior respalda los resultados de Tovar-Sánchez y Oyama (2004) quienes documentan una hibridación morfológica foliar intermedia del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* en siete zonas simpátridas/mixtas en México. Asimismo, la morfología foliar intermedia en este complejo produce una variación compleja, producto del fenómeno de hibridación introgresiva en las zonas simpátridas/mixtas.

En general, son muy pocos casos en los que la morfología foliar intermedia en encinos no ha reflejado hibridación, por ejemplo, en el complejo formado por *Q. lobata* y *Q. douglasii* los aparentes fenotipos intermedios entre estas dos especies parentales putativas no son necesariamente híbridos y los híbridos verdaderos no son necesariamente fenotípicamente intermedios (Craft *et al.*, 2002).

Por otro lado, en el complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* sólo 14% de los caracteres micro y macro-morfológico foliares fueron transgresivos o “extremos” (Rieseberg y Ellstrand, 1993; Schwarzbach *et al.*, 2001). Se ha sugerido que la presencia de estos caracteres nuevos o “extremos” encontrados en estos estudios pueden explicarse por: i) una mayor tasa de mutación en los híbridos, ii) la acción complementaria que tiene una nueva combinación de alelos en los híbridos, iii) los alelos no expresados en los parentales pueden estar sometidos a un nuevo patrón de regulación en los híbridos o iv) a una baja estabilidad en la ontogenia de los híbridos (Rieseberg, 1995). Por lo anterior, en este estudio se está evidenciado que el complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* contiene una mezcla de caracteres intermedios y transgresivos, los cuales varían entre sitios de simpatria/mixtos reflejando complejos patrones morfológico foliares que pueden favorecer el establecimiento y la amplitud de distribución geográfica de estos individuos.

Por otro lado, los tricomas foliares han sido propuestos como un carácter confiable que permite evidenciar hibridación y diferenciar a las especies parentales putativas (Cuadro 2). En este estudio se describió por primera vez el tricoma multirradiado en *Q. crassifolia* y el tricomas estrellado en *Q. crassipes*. Asimismo, los tricomas antes mencionados fueron detectados en *Q. × dysophylla*, lo que refleja una aditividad de los tipos de tricomas presentes en los parentales putativos, por lo que se sugiere que los tipos de tricomas presentes en los híbridos pueden definir el origen de las especies parentales putativas de donde proviene el tricoma (Thomson y Mohlenbrock, 1979). Además, se puede considerar que el tipo de tricoma

es un carácter clave para detectar hibridación entre las dos especies parentales de este complejo (Hardin, 1979; Thomson y Mohlenbrock, 1979).

Los tipos de tricomas, tanto en las especies parentales como en los híbridos, son caracteres determinados genéticamente, por lo que no varían; lo que si puede modificarse son sus características cuantitativas, como la densidad, el número de rayos y su distribución en la lámina foliar. Estos rasgos están relacionados con la amplitud de su distribución geográfica y están modificadas por el ambiente en donde se establecen las poblaciones (Thomson y Mohlenbrock, 1979).

Efecto del ambiente en la formación de zonas híbridas

En general, todas las zonas simpátridas/mixtas detectadas en el complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia*, se caracterizan por presentar disturbios tanto naturales como antropogénicos. Los disturbios en los sitios de estudio fueron deforestación, introducción de ganado, incendios, urbanización, eliminación del bosque para campos de cultivo y tala de árboles para carbón. Se sugiere que los ambientes con disturbio son un factor que promueve la hibridación y el establecimiento de la progenie híbrida, ya que modifica las condiciones y los recursos donde se desarrollan las especies parentales, por lo que en ambientes alterados, los individuos híbridos viables o por lo menos parcialmente fértiles serán más competitivos (vigor híbrido) que los parentales. Sin embargo, se ha sugerido también que si los ambientes alterados retornan a un estado de predisturbio, entonces los híbridos serían eliminados (Arnold *et al.*, 1990; Klier *et al.*, 1991; Arnold, 1997). No obstante, esto sería muy poco probable que se presentara en este complejo porque en las visitas realizadas se observó un incremento en la extensión del área perturbada y una mayor frecuencia de individuos híbridos.

En algunas zonas simpátridas/mixtas la introducción de ganado es una actividad frecuente que deteriora los ambientes (Rieseberg *et al.*, 1995) y evita el establecimiento de nuevos individuos, lo que favorece que especies como los encinos tengan una combinación en

los tipos de propagación, combinando una reproducción sexual y un crecimiento vegetativo. Por lo tanto, se esperaría que los individuos híbridos viables puedan establecerse e incrementar su cobertura de forma clonal y aumentar de esta manera la posibilidad de reproducirse con otro individuo híbrido o con alguna especie parental putativa (Ellstrand, 1996).

El Corredor Biológico del Eje Volcánico Transmexicano

Se ha documentado que la ruta histórica de colonización que tuvo *Q. crassifolia* en México fue de la SMOc hacia el EVT y la región más sureña de la SMOr. Por su parte, *Q. crassipes* incursionó en México de la SMOr hacia el EVT (Tovar-Sánchez y Oyama, 2008). Lo anterior apoyaría que la ruta de colonización de algunas especies de encinos siguió la trayectoria de los pinos, de norte a sur (Styles, 1993); esto propiciado por las características de historia de vida de las especies de ambos géneros, por ejemplo, ser especies pioneras y capaces de colonizar rápidamente los flujos de lava resultantes de la intensa actividad volcánica que caracterizó al EVT a partir del Mioceno (Granham, 1993).

El escenario antes mencionado, debió facilitar que las especies que se encontraban aisladas geográficamente en la SMOr (*Q. crassipes*) y SMOc (*Q. crassifolia*), pudieran entrar en simpatria/mixtas a través de las montañas del EVT. Este sistema orográfico es considerado geológicamente como el sistema montañoso más joven de México y atraviesa al país desde el Golfo de México al Océano Pacífico por su parte central, en dirección este-oeste. Se ha descrito que la evolución del EVT inició en el Terciario Medio con el surgimiento de la fracción occidental, seguida del levantamiento de la parte central y oriental durante el Plioceno-Cuaternario (Ferrusquía-Villafranca, 1993).

Tovar-Sánchez y Oyama (2004) han documentado que el complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* presenta una hibridación introgresiva que varía espacialmente (entre zonas

híbridas), y que la dirección de la introgresión (simétrica o asimétrica) muestra que en el EVT, los híbridos que se encuentran geográficamente más cercanos a la SMOr muestran una hibridación introgresiva unidireccional hacia *Q. crassipes*, evidenciando una mayor semejanza genética y morfológica con esta especie parental putativa. Por otro lado, los individuos híbridos que se localizan en la parte más cercana a la SMOc tienen una mayor semejanza con la especie parental putativa *Q. crassifolia*.

Este estudio permitió reconocer el papel de las cadenas montañosas del EVT sobre la variación macro y micro-morfológica de tipo foliar del complejo *Q. crassipes* × *Q. crassifolia*. Los resultados obtenidos muestran que existe un efecto significativo de la localidad sobre el 100% (12) de los caracteres micro y macro-morfológico foliares evaluados, lo cual puede ser el reflejo de la amplia distribución geográfica que estas especies tiene sobre las principales cadenas montañosas de México y revelan además la amplia variedad topográfica, de climas, así como la compleja historia tanto geológica como biológica que existe en nuestro país. A partir de nuestros resultados, sugerimos un régimen heterogéneo de selección en el que, debido a la estrecha relación que mantienen las plantas con su hábitat, las poblaciones se diferenciaron morfológicamente como adaptación a su entorno por efecto de las condiciones heterogéneas ambientales que se presentan entre localidades (Ricklefs y Millar, 2000). Lo antes mencionado es apoyado por las correlaciones significativas obtenidas entre la distancia geográfica entre poblaciones y su micro y macro-morfología foliar (ver Figs. 12-14). Es decir, las poblaciones son más similares morfológicamente mientras más cercanas estén geográficamente, lo que sugiere una estructuración geográfica de las poblaciones de *Q. crassifolia*, *Q. crassipes* y *Q. × dysophylla*.

Asimismo, se sugiere que las poblaciones con mayor proximidad geográfica han estado expuestas a presiones selectivas similares y por ende reflejan una mayor similitud morfológica foliar. Además, otro factor que puede influir en la diferenciación morfológica

entre poblaciones es el propuesto por Tovar-Sánchez y Oyama (2008) quienes encontraron que conforme se incrementa la distancia geográfica entre poblaciones de *Q. crassifolia* se incrementa la diferenciación genética y se reduce significativamente el nivel de flujo genético. Por lo antes mencionado, sugerimos que conforme se incrementa la proximidad geográfica entre poblaciones se incrementa su similitud morfológica y genética. El mismo patrón se documenta para *Q. crassipes*.

Marcadores foliares específicos para cada especie.

La comparación de los caracteres macro y micromorfológicos foliares entre las especies parentales de este complejo, no permitieron determinar un carácter especie específico dada la gran variedad morfológica de *Q. crassifolia* y *Q. crassipes* a lo largo de su distribución geográfica en México. *Q. crassifolia* es una especie con una amplia distribución geográfica ya que se distribuye en las principales cadenas montañosas del territorio mexicano, abarcando desde los límites geográficos con Estados Unidos e incursionando hasta la parte norte de Guatemala. Por su parte, *Q. crassipes* se distribuye en la SMOr, y en el EVT. Este estudio muestra un efecto significativo de la localidad, el taxón y el individuo sobre los caracteres morfológicos foliares, lo que apoya la amplia variabilidad y plasticidad morfológica foliar que se registran en estas especies, producto de su alta diversidad genética (Tovar-Sánchez y Oyama, 2008) y la heterogeneidad ambiental registrada en los sitios donde se distribuyen. Lo anterior es apoyado por el estudio de Takahide (2003), quien evaluó la variación morfológica de *Q. crispula* y *Q. dentata* en Japón y no detectó caracteres específicos para estas especies, producto de la amplia distribución geográfica que presentaron las especies.

En este estudio, los tipos de tricomas fueron una herramienta robusta que permitieron diferenciar a las especies parentales y a los híbridos. *Q. crassifolia* por ejemplo, presentó

como carácter específico el tipo de tricoma multirradiado y *Q. crassipes* mostró el tipo estrellado. Asimismo, los individuos híbridos (*Q. × dysophylla*) mostraron todos los tipos de tricomas específicos de ambas especies parentales, por lo que proponemos una aditividad de estos caracteres en este complejo híbrido. Lo anterior resalta la importancia de los caracteres micro-morfológicos en la detección de híbridos y la determinación de especies parentales putativas. Lo antes mencionado es apoyado por los trabajos de Scareli-Santos *et al.* (2007) en el complejo *Q. conzartii × Q. eduardii*, quienes documentan que los tricomas pueden diferenciar a las especies parentales y apoyar la hipótesis de hibridación en este complejo.

Conservación de zonas híbridas (simpátricas/mixtas)

Las zonas híbridas formadas por el complejo *Q. crassipes × Q. crassifolia* son importantes desde el punto de vista evolutivo, ya que los individuos que presentan hibridación introgresiva incrementan la diversidad genética de las especies parentales, lo cual es muy probable por la presencia de hibridación introgresiva unidireccional y bidireccional, que depende en este sistema de la cercanía con los sitios alopátridos puros. Por esto sugerimos que el EVT pueda estar funcionando como un corredor biológico. Además, se ha documentado que los híbridos de este complejo actúan como un reservorio de biodiversidad, ya que contienen una alta diversidad (H'), un elevado número de especies raras y una alta abundancia de la artropodofauna asociada. La importancia de estos organismos radica en el papel ecológico que desempeñan, pues actúan como polinizadores, herbívoros, depredadores, presas, parásitos, parasitoides y detritívoros (Castillo-Mendoza, 2007; Martí-Flores, 2008; Tovar-Sánchez, 2009). Por lo anterior, si los programas de conservación tienen como objetivo mantener la biodiversidad, entonces es indispensable generar estrategias que permitan el manejo de estos nuevos ambientes.

Las zonas simpátricas/mixtas evaluadas registraron una hibridación introgresiva, como resultado de incipientes barreras reproductivas, lo cual es un fenómeno frecuente entre especies del género *Quercus* (Rieseberg y Ellstrand, 1993; Kleinschmit *et al.*, 1995; Bacon y Spellenberg, 1996; Hardig *et al.*, 2000; Bruschi *et al.*, 2000; González *et al.*, 2004; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004; Gugerli *et al.*, 2008). Esto hace necesario el incremento de estudios relacionados con el rompimiento de barreras reproductivas entre especies, así como evaluar la adecuación de las poblaciones híbridas. Lo anteriormente propuesto podría ayudar a entender el efecto que tienen los híbridos en la extinción de poblaciones parentales (e.g., erosión genética) y en el establecimiento de poblaciones híbridas.

LITERATURA CITADA

- Albarran-Lara, A. L., L. Mendoza-Cuenca, y S. Valencia-Avalos. 2010.** Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and introgression between *Quercus magnifolia* and *Quercus resinosa* (Fagaceae) through an altitudinal gradient in México. *International Journal of Plant Sciences* **171**: 310-322.
- Allendorf, F., R. F. Leary, P. Spruell y J. K. Wenburg. 2001.** The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends Ecology and Evolution* **16**: 613-622.
- Anderson, E. y L. Hubricht. 1938.** The evidence for introgressive hybridization. *American Journal of Botany* **25**: 396-402.
- Anderson, E. 1949.** Introgressive hybridization. John Wiley and Sons, Nueva York.
- Arnold, M. L., J. L. Hamrick y B. D. Bennett. 1990.** Allozyme variation in *Louisiana irises*: A test for introgression and hybrid speciation. *Heredity* **65**: 297–306.
- Arnold, M. L. 1994.** Natural hybridization in *Louisiana irises*. *Science* **44**: 141-147.
- Arnold, M. L. 1997.** Natural Hybridization and Evolution. Oxford University Press, Oxford.
- Ass G. 1993.** Taxonomical impact of morphological variation in *Quercus robur* and *Q. petraea*: a contribution to the hybrid controversy. *Annales des Sciences Forestières*. **50**:107-113.
- Bacilieri, R., A. Ducouso y A. Kremer. 1995.** Genetic, morphological, ecological and phenological differentiation between *Quercus petrae* (Matt.) Liebbl. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of Northwest of France. *Silvae Genetica* **44**: 1-10.
- Bacon, J. R. y R. Spellenberg. 1996.** Hybridization in two distantly related Mexican black oaks *Quercus conzattii* and *Q. eduardii* (Fagaceae: *Quercus*: Section Lobatae). *Sida* **17**: 17-41.
- Barton, N. H., y G. M. Hewitt. 1985.** Analysis of hybrid zones. *Annual Review of Ecology and Systematics* **16**: 113–148.

- Barton, N. H. y M. Hewitt. 1998.** Adaptation, speciation and hybrid zones. *Nature* **341**: 497-503.
- Boecklen, W. J. y R. Spellenberg. 1990.** Structure of herbivore communities in two oak (*Quercus* spp.) hybrid zones. *Oecologia* **85**: 92–100.
- Broberg, C. L., J. A. Howard-Inkster y J. H. Borden. 2010.** Phenological and chemical differences among hybrid poplar clones (Salicaceae) varying in resistance to *Cryptorhynchus lapathi* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Biochemical Systematics and Ecology* **38**: 29-48.
- Bruschi, P., G. G. Vendramin, F. Bussotti y P. Grossoni. 2000.** Morphological and molecular differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) in northern and central Italy. *Annals of Botany* **85**: 325-333.
- Bruschi, P., G. G. Vendramin, F. Bussotti y P. Grossoni. 2003.** Morphological and molecular diversity among Italian populations of *Quercus petraea* (Fagaceae). *Annals of Botany* **91**: 707-716.
- Bussotti, F. y P. Grossoni 1997.** European and Mediterranean oaks (*Quercus* L.; Fagaceae): SEM characterization of the micromorphology of the abaxial leaf surface. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **124**: 183-199.
- Caraway, V. Carr, J. D. y Clifford W. M. 2001.** Assessment of hybridization and introgression in lava-colonizing Hawaiian *Dubautia* (Asteraceae: Madiinae) using RAPD markers. *American Journal of Botany* **88**: 1688–1694.
- Castillo-Mendoza, E. 2007.** Estructura de la comunidad de artrópodos asociados al dosel de *Quercus crassipes* y *Q. castanea* en el Parque Ecológico Ciudad de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.E.M.

- Challenger, A. 1998.** Utilización y Conservación de los Ecosistemas Terrestres en México: Pasado, Presente y Futuro. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
- Cottam, W. P., J. M. Tucker y F. S. Santamour. 1982.** Oak hybridization at the University of Utah. *State Arboretum* of Utah, Salt Lake City, Utah.
- Craft, K. J., M. V. Ashley y W. D. Koenig. 2002.** Limited hybridization between *Quercus lobata* and *Q. douglassi* (Fagaceae) in a mixed stand in Central Coastal California. *American Journal of Botany* **89**: 1792-1798.
- Cristofolini G. y S. Crema. 2005.** A morphometric study of the *Quercus crenata* species complex (Fagaceae). *Bot. Helv.* **115**: 155–167.
- Curtu, A. L., O. Gailing y R. Finkeldey. 2007.** Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus spp.*) community. *BMC Evolutionary Biology* **7**: 218-233.
- Dupouey, J. L. y V. Badeau. 1993.** Morphological variability of oaks (*Quercus robur* L, *Q. petraea* (Matt) Liebl, *Q. pubescens* Willd) in northeastern France: preliminary results. *Annal of Forest Science* **1**: 35-40.
- Ellstrand, N. C., R. Whitkus y L. H. Rieseberg. 1996.** Distribution of spontaneous plant hybrids. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **93**: 5090-5093.
- Endler, J. A. 1977.** *Geographic variation, speciation and clines*. Princeton University Press. Nueva Jersey, E.U.
- Ferrusquía-Villafranca, I. 1993.** Geology of Mexico: a synopsis. Pp. 3–107. En: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, y J. Fa. (eds.), *Biological Diversity of Mexico: Origins and Distribution*. Oxford University Press, Nueva York.

- González-Rodríguez, A., D. D. Arias, S. Valencia y K. Oyama 2004.** Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two Mexican red oaks. *American Journal of Botany* **91**:401-409.
- Gou, Y.P., C. Vogl, M. Van Loo. 2006.** Hybrid origin and differentiation of two tetraploid *Achillea* species in East Asia: molecular, morphological and ecogeographical evidence. *Molecular Ecology* **15**: 133-144.
- Govarts, R., D.G. Frodin. 1998.** World Checklist and bibliography of Fagales (Betulaceae, Corylaceae, Fagaceae, and Ticodendraceae). *Royal Botanical Gardens, Kew*.
- Grant, V. 1981.** *Plant Speciation*. Columbia University Press, Nueva York.
- Grant, V. 1994.** Modes and origins of mechanical and ethological isolation in angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **91**: 3-10.
- Graham, A. 1993.** Historical factors and biological diversity in Mexico. Pp. 109–127. En: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. lot y J. Fa (eds.). *Biological Diversity of Mexico: Origins and Distributions*. Oxford University Press, Nueva York.
- Gugerli, F., Brodbeck S. y R. Holderegger. 2008.** Utility of Multilocus Genotypes for Taxon Assignment in Stands of Closely Related European White Oaks from Switzerland. *Annals of Botany* **99**: 1-9.
- Hardig, T. M., S. J. Brunfeld, R. S. Fritz, M. Morgan y C. M. Orians. 2000.** Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. *Molecular Ecology* **9**: 9-24.
- Hardin, J. M. 1975.** Hybridization and introgression in *Quercus alba*. *The Arnold Arboretum of Harvard University* **56**: 336-363.
- Hardin, J. M. 1979a.** Atlas of foliar surface features in woody plants, I. Vestiture and trichome types of Eastern North American *Quercus*. *Bolletín of the Torrey Botanical Club* **106**: 313-325.

- Hardin, J. M. 1979 b.** Patterns of variation in foliar trichomes of Eastern North America *Quercus*. *American Journal of Botany* **66**: 576-585.
- Harrison, R. G. 1993.** Hybrids and hybrid zones: Historical perspective. Pp. 3–12. *En*: R. G. Harrison (ed.). *Hybrid Zones and the Evolutionary Process*. Oxford. University Press, Oxford.
- Heiser C. 1947,** Hybridization between the sunflower species *Helianthus annuus* and *H. petiolaris*. *Evolution* **1**: 249-262.
- Heslop-Harrison, J., Y. Heslop-Harrison, M. Cresti, A. Tiezzi y F. Ciampolini. 1986.** Actin During Pollen Germination. *Journal of Cell Science* **86**: 1-8.
- Hewitt G.M. 1988.** Hybrid zones- natural laboratories for evolutionary studies. *Trends in Ecology & Evolution* **3**:77, 158-167.
- Howard, D. J., R. W. Preszler, J. Williams, S. Fenchel y W. Boecklen. 1997.** How discrete are oak species? Insights from a hybrid zone between *Quercus grisea* and *Quercus gambelii*. *Evolutio*. **51**: 747-755.
- Ishida, T. A., K. Hatori; H. Sato y M. T. Kimura. 2003.** Differentiation and hybridization between *Quercus crispula* and *Q. dentata* (Fagaceae): insights from morphological traits, amplified fragment length polymorphism markers, and leafminer composition. *American Journal of Botany* **90**: 769-776.
- Jensen, R. J., De Piero R. and Smith B. K. 1984.** Vegetative characters, population variation and the hybrid origin of *Quercus ellipsoidalis*. *The American Midland Naturalist* **111**: 364-370.
- Jensen, R. J. 1989.** The *Quercus falcata* Michx. complex in land between The Lakes, Kentucky and Tennessee: a study of morfological variation. *Am. Midl. Nat.* **121**:245-255.

- Jensen, R. J., S. C. Hokanson, J. G. Isebrands y J. F. Hancock. 1993.** Morphometric variation in oaks of the Apostle Islands in Wisconsin: evidence of hybridization between *Quercus rubra* and *Q. ellipsoidalis* (Fagaceae). *American Journal of Botany* **80**: 1358-1366.
- Jones, J. H. 1986.** Evolution of the Fagaceae: the implication of foliar features. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **73**: 228-275.
- Kikuchi, S. y H. Tanaka. 2007.** Centromere separation and association in the nuclei of an interspecific hybrid between *Torenia fournieri* and *T. baillonii* (Scrophulariaceae) during mitosis and meiosis. *Genes and Genetic Systems* **82**: 369-375.
- Kleinschmit, J. R. G., P. Bacilieri, A. Kremer y A. Roloff. 1995.** Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Q. robur* L.) and sessile oak (*Q. petraea* (Matt.) Liebl.). *Silvae Genetica* **44**: 256-269.
- Klier, K., M. J. Leoschke y J. F. Wendel. 1991.** Hybridization and introgression in white and yellow lady'slipper orchids (*Cypripedium candidum* and *C. pubescens*). *Journal of Heredity* **82**: 305-319.
- Kremer, A., J.L. Dupouey, J. D. Deans, J. C. Cottrell, U. Csaikl, R. Finkeldey, S. Espinel, J. Jensen, J. Kleinschmit, B. Van Dam, A. Ducouso, I. Forrest, U. Lopez de Heredia, A. J. Lowe, M. Tutkova, R. C. Munro, S. Steinhoff y V. 2002.** Leaf morphological differentiation between *Quercus robur* and *Quercus petraea* is stable across western European mixed oak stands. *Annals of Forest Science* **59**: 777-787.
- Kelleher, C. T., Hodkinson; G. C. Douglas y D. L. Kelly. 2005.** Species distinction in Irish populations of *Quercus petraea* and *Q. robur*: morphological versus molecular analyses *Annals of Botany* **96**: 1237-1246.
- Levin, D. A., J. Francisco-Ortega y R. Jansen. 1996.** Hybridization and the Extinction of Rare Plant Species. *Conservation Biology* **10**: 10-16.

- Levin, D. A y Kerster, H. W. 1967.** Natural Selection for Reproductive Isolation in *Phlox* *Evolution*.**21**: 679-687.
- Llamas, F., C. Perez-Morales, C. Acevedo y A. Penas. 1995.** Foliar trichomes of the evergreen and semideciduous species of the genus *Quercus* (Fagaceae) in the Iberian Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society* **117**: 47-57.
- Manos, P. S. 1993.** Foliar trichome variation in *Quercus* Section Protobalanus (Fagaceae). *Sida*. **15**: 391-403.
- Maze, J. 1968.** Past hybridization between *Quercus macrocarpa* and *Quercus gambelii*. *Brittonia*.**20**: 321-333
- Martí-Flores, E. A. 2008.** Estructura de la comunidad de artrópodos asociados al dosel de *Quercus crassifolia* en el Parque Nacional El Chico, Hidalgo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- May, B. 1992.** Starch gel electrophoresis of allozymes. Pp. 1-27. In: Hoelzel, A. R. (ed.). *Molecular Genetic Analysis of Populations: A practical Approach*. IRL Press, Oxford.
- Mayr E. 1963.** Animal species and evolution. Harvard Univ Press, Nueva York.
- McVaugh, R. 1974.** Fagaceae. Flora Novo-Galiciana. *Herb University of Michigan* **12**: 1–93.
- Mueller-Dombois, H. y P. Ellenberg. 1974.** *Aims and methods in vegetation ecology*. Wiley. Nueva York.
- Muller, C. 1952.** Ecological control of hybridization in *Quercus*: a factor in the mechanism of evolution. *Evolution* **6**: 147–161.
- Nakamahe, E. y K. A. Lye. 2007.** AFLP-based differentiation in North Atlantic species of *Carex* Sect. Phacocystis. *Nordic Journal of Botany* **25**: 318-328.
- Neophytou Ch., G. Palli, A. Dounavi y F. A. Ravanopoulsi. 2006.** Morphological differentiation and hybridization between *Quercus alnifolia* Poeh and *Quercus coccifera* L. (Fagaceae) in Cyprus. *Silvae Genetica* **56**:271-277.

- Olsen, R. T. y A. T. Whittemore. 2009.** Validation of the hybrid flowering *Cherry prunus* × *C. incam* (Rosaceae). *Novon* **19**: 490-493.
- Palmer, E. J. 1948.** Hybrid oaks of North America. *Journal Arnold Arboretum* **29**: 1-48.
- Paques, L. E., G. Philippe y D. Prat. 2006.** Identification of European and Japanese larch and their interspecific hybrid with morphological markers: application to young seedling. *Silvae Genetica* **55**: 123-134.
- Peñaloza-Ramírez, J. M., A. González-Rodríguez, L. Mendoza-Cuenca, H. Caron, A. Kremer y K. Oyama. 2010.** Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Annals of Botany* **105**: 389-399.
- Preszler R. W. y W. J. Boecklen. 1994.** A three-trophic-level analysis of the effects of plant hybridization on a leaf-mining moth. *Oecologia* **100**: 66–73.
- Rhymer, J. M. y D. Simerloff. 1996.** Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systemati.* **27**: 83-109.
- Ricklefs, R. E., y G. L. Miller. 2000.** Ecology. 4th ed. W. H. Freeman, Nueva York.
- Ridley, A. J. 1996.** Rho: theme and variations. *Current Biology* **6**: 1256-1264.
- Rieseberg, L. H., M. J. Kim, y G. J. Seiler. 1999.** Introgression between the cultivated sunflower and a sympatric wild relative, *Helianthus petiolaris* (Asteraceae). *Theoretical and Applied Genetics* **95**: 33-40.
- Rieseberg, L. H. y R. D. Noyes. 1998.** Genetic map based studies of reticulate evolution in plants. *Trends Plant Science* **3**: 254-259.
- Rieseberg, L. H. 1997.** Hybrid origins of plants species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**: 359-389.
- Rieseberg, L. H. 1996.** Homology among RAPD fragments in interspecific comparison. *Molecular Ecology* **5**: 99-105.

- Rieseberg, L. H. 1995.** The role of hybridization in evolution: old wine in new skins. *American Journal of Botany* **82**: 944-953.
- Rieseberg, L. H. y N.C. Ellstrand. 1993.** What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization. *Critical Reviews in Plant Science* **12**: 213-241.
- Rieseberg, L. H. y J. F. Wendel. 1993.** Introgresión and its consequences in plants. Pp. 70-109. *En*: Harrison, R. G. (ed.). *Hybrid zones and the evolutionary process*. Oxford University Press, Oxford.
- Romero, S. 1993.** El Género *Quercus* (Fagaceae) en el estado de México. México. Tesis de Maestría en Ciencias. (Biología). UNAM. México.
- Rushton, B. S. 1993.** Natural hybridization within the genus *Quercus* L. *Annals of Science Forestry Supplement* **50**: 73-90.
- Rzedowski, J. 1978.** Vegetación de México. Limusa. México. 432 pp.
- Rzedowski, J. y G. C. Rzedowski. 1989.** Transisthmic Mexico (Campeche, Chiapas, Quintana Roo, Tabasco and Yucatan). 270-280 p. *En*: Campbell, D. G. y H. D. Hammond (Eds.). *Floristic inventory of tropical countries*. The New York Botanical Garden, Nueva York.
- Scareli-Santos, C., M. L. Herrera-Arrollo, M. L. Sánchez-Mondragón, A. González-Rodríguez, J. Bacon y K. Oyama. 2007.** Comparative analysis of micromorphological characters in two distantly related Mexican oaks, *Quercus konzattii* and *Q. eduardii* (Fagaceae), and their hybrids. **59**: 37-48
- Schwarzbach, A. E., L. A. Donovan, L. H. Rieseberg. 2001.** Transgressive character expression in a hybrid sunflower species. *American Journal of Botany* **88**: 270-277.
- Simon, C., C. McIntosh y J. Deniega. 1993.** Standard restriction fragment length analysis of the mitochondrial genome is not sensitive enough for phylogenetic analysis or

- identification of 17 year periodical cicada broods (Hemiptera: Cicadaceae): The potencial for a new technique. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **86**: 228-238.
- Skvarla, J. J., J. R. Rowley y W. F. Chissoe. 1988.** Adaptability of scanning electron microscopy to estudios of pollen morphology. *Aliso*. **12**: 119-175.
- Spellenberg, R. 1995.** On the hybrid nature of *Quercus basaseachicensis* (Fagaceae: Sect. *Quercus*). *Sida* **16**: 427–437.
- Spellenberg, R. y J. R. Bacon. 1996.** Taxonomy and distribution of a natural group of black oaks of Mexico (*Quercus*, section *Lobatae*, subsection *Racemiflorae*). *Systematic Botany* **21**: 85–99.
- Stebbins, G. L. 1959.** The role of hybridization in evolution. *Proc. American Philadelphia Society* **103**: 231–251.
- Statsoft, 1998.** Statistica for Windows. ver. 6,0.
- Stuessy, T. F. 1990.** *Plant taxomomy. The systematic evaluation of comparative data.* Columbia University Press, Nueva York.
- Styles, B. T. 1993.** Genus *Pinus*: A Mexican purview. Pp. 394–420. *En*: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.). *Biological Diversity of Mexico: Origins and Distributions.* Oxford University Press, Nueva York.
- Szymura, J. M. y N. H. Barton. 1986.** Genetic analysis of a hybrid zone between the firebellied toads, *Bombina bombina* and *B. Variegata*, near Cracow in Southern Polans. *Evolution* **40**: 1141–1159.
- Takahide A. Ishida, K. Hattori, H. Sato y M. T. Kimura. 2003.** Differentiation and hybridization between *Quercus crispula* and *Q. dentate* (Fagaceae): insights from morphological traits, amplified fragment length polymorphism markers, and leafminer composition. *American Journal of Botany* **90**: 769-776.

- Templeton, A. R. 1981.** Mechanisms of speciation. A population Genetic Approach. *Ann. Rev. Ecol. Sys.* **12**: 23-48.
- Thomsom, P. M. y R.H. Mohlenbrock. 1979.** Foliar trichomes of *Quercus* in the Eastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum* **60**: 350-366.
- Toledo, V. M. y Ma. de J. Ordoñez. 1993.** The biodiversity scenario of Mexico: a review of terrestrial habitats. Pp. 757-777. *En: Biological diversity of Mexico: origins and distribution.* Oxford University Press, Nueva York
- Tovar-Sánchez, E. y N. K. Oyama. 2004.** Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Q. crassipes* (Fagaceae) in Mexico. *American Journal of Botany* **91**: 1352–1363.
- Tovar-Sánchez, E., P. Mussali-Galante, R. Esteban-Jiménez, D. Piñero, D. M. Arias, O. Dorado y K. Oyama. 2008.** Chloroplast DNA polymorphism reveals geographic structure and introgression in the *Quercus crassifolia* × *Quercus crassipes* hybrid complex in México. *Botany-Botanique* **86**: 228-239.
- Tovar-Sánchez, E. 2009.** Canopy arthropods community within and among oak species in central Mexico. *Current Zoology* **55**: 132-144.
- Tucker, J. M. 1961.** Studies in the *Quercus undulate* complex I. A preliminary statement. *American Journal of Botany* **48**: 202-208.
- Valencia A. S. 2005.** Análisis filogenético de la serie Lanceolate Trel. del género *Quercus*, Fagaceae. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias UNAM. México.
- Valencia, A. S. 2004.** Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **75**: 33-53.
- Valencia, A. S. y A. S. Delgado. 2003.** Los tricomas foliares en la caracterización de un grupo de especies del género *Quercus*, sección Lobatae (Fagaceae). *Anales del Instituto de Biología, UNAM* **74**: 5-15.

- Vázquez, M. L. 2006.** Trichome morphology in selected Mexican red oak species (*Quercus* section Lobatae). *SIDA* **22**: 1091-1110.
- Vega, A. S., Z. E. de Agrasar y F. S. Axelrod. 2010.** A new species of *Tarigidia* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae) from Puerto Rico and additional evidence for a hybrid origin of the genus. *Systematic Botany* **35**: 96-101.
- Walker, E., M. Byrne, B. Macdonald, D. Nicolle y J. McComb. 2009.** Clonality and hybrid origin of the rare *Eucalyptus bennettiae* (Myrtaceae) in Western Australian. *Australian Journal of Botany* **57**: 180-188.
- Whitham T. G., Morrow P. A., y B. M. Pootts. 1991.** Conservation of hybrid plants. *Science* **254**: 779-780.
- Whittemore, A. T. y B A. Schaal. 1991.** Interspecific gene flow in sympatric oaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **88**: 2540-2544.
- Williams, E. G., V. Kaul, J. L. Rouse y B. F. Palsler. 1986.** Overgrowth of pollen tubes in embryo sacs of *Rhododendron* following interspecific pollinations. *Australian Journal of Botany* **34**: 413-423.
- Williams E. G., y J. L. Rouse, 1988. Williams, E. G., J. L. Rouse. 1988.** Disparate style lengths contribute to isolation of species in *Rhododendrom*. *Australian Journal of Botany* **36**: 183-191.
- Wilson, P. 1992.** On inferring hybridity from morphological intermediacy. *Taxon* **41**: 11-23.
- Worley, A.C., L. Sawich y H. Ghazuini. 2009.** Hybridization and introgression between a rare nd a common lady's slipper orchid, *Cypripedium candidum* and *C. parviflorum* (Orchidaceae). *Botany-Botanique*. **87**: 1054-1065.
- Zar, J. H. 1999.** *Biostatistics analysis*, 4th ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, Nueva Jersey, E. U. A.

ANEXO

Anexo 1. Frecuencia de los caracteres intermedios, transgresivos positivos y transgresivos negativos del complejo *Q. crassifolia* *Q. crassipes* en México.

Caracter	CANTERA	CANALEJAS	TLAXCO	ACAJETE	ESPERANZA	AGUA BLANCA	PALO BENDITO	Totales
	n	n	n	n	n	n	n	
Macromorfológicos								
intermedios	3	4	1	2	3	4	3	20
transgresivos positivos	0	0	0	0	0	0	0	0
transgresivos negativos	1	0	1	0	0	0	1	3
Tipo <i>Q. crassifolia</i>	0	0	1	1	1	0	0	2
Tipo <i>Q. crassipes</i>	0	0	1	1	0	0	0	3
Micromorfológicos								
intermedios	7	4	6	7	2	4	4	34
transgresivos positivos	0	0	0	0	0	1	1	2
transgresivos negativos	1	0	1	0	3	2	0	7
Tipo <i>Q. crassifolia</i>	0	4	0	1	3	0	3	11
Tipo <i>Q. crassipes</i>	0	0	1	0	0	1	0	2