



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

ECOLOGÍA

HIBRIDACIÓN INTROGRESIVA EN UN SISTEMA MULTIESPECIE DE ENCINOS

BLANCOS EN MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ELGAR CASTILLO MENDOZA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Efraín Tovar Sánchez
Instituto de Ecología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Zenón Cano Santana
Facultad de Ciencias, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dra. Susana Valencia Ávalos
Facultad de Ciencias, UNAM

MÉXICO, D.F. Mayo, 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

ECOLOGÍA

HIBRIDACIÓN INTROGRESIVA EN UN SISTEMA MULTIESPECIE DE ENCINOS

BLANCOS EN MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ELGAR CASTILLO MENDOZA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Efraín Tovar Sánchez
Instituto de Ecología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Zenón Cano Santana
Facultad de Ciencias, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dra. Susana Valencia Ávalos
Facultad de Ciencias, UNAM

MÉXICO, D.F. Mayo, 2014

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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, celebrada el día 03 de marzo de 2014, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **CASTILLO MENDOZA ELGAR** con número de cuenta **512026680** con la tesis titulada: **"HIBRIDACIÓN INTROGRESIVA EN UN SISTEMA MULTIESPECIES DE ENCINOS BLANCOS EN MÉXICO"**, bajo la dirección del **DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ**:

Presidente: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
Vocal: DRA. PATRICIA DOLORES DÁVILA ARANDA
Secretario: DR. ZENÓN CANO SANTANA
Suplente: DR. JAIME JIMÉNEZ RAMÍREZ
Suplente: DRA. SUSANA VALENCIA ÁVALOS

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



ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 13 de mayo de 2014.

M. del Coro Arizmendi
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

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

AGRADECIMIENTOS

Al posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM. Por permitirme llevar a cabo mi desarrollo profesional y otorgarme todas las facilidades para concluir mi proyecto de maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Por el apoyo recibido durante mis estudios (número de becario: 440788).

A los miembros del comité tutorial:

Dr. Efraín Tovar Sánchez (Tutor principal): mi eterno agradecimiento por todo el apoyo, conocimiento, paciencia, y sobre todo la confianza que, desde el momento en que me volví tu estudiante de licenciatura depositaste en mí. Tus enseñanzas tanto en el plano profesional como en el plano personal, han constituido un enorme crecimiento que hoy día se ve reflejado en este proyecto que termina y que a su vez es la antesala del siguiente proyecto, en verdad infinitas gracias.

Dr. Zenón Cano Santana: Dr, muchas gracias porque desde el primer momento que me presenté contigo para pedirte que fueras parte de mi comité tutorial, me brindaste todo el apoyo que te pedí, siempre atento a los cuestionamientos que te planteé y sobre todo siempre dispuesto a apoyar y mejorar este proyecto. Tus atinadas sugerencias, hicieron que este proyecto quedara mejor de lo que tenía planeado. Te estoy eternamente agradecido.

Dra. Susana Valencia Ávalos: Dra, gracias primero que nada por toda la disponibilidad para ayudar en el desarrollo y crecimiento de este proyecto. Asimismo, gracias por toda la ayuda con los sitios de colecta, con las dudas acerca de las especies y principalmente gracias porque tus comentarios y la disponibilidad hicieron que este proyecto llegara a buen puerto en tiempo y forma. Mi eterno agradecimiento hacia ti.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

A los sínodos del examen

Dr. Zenón Cano Zantana: Nueva en infinitamente gracias por toda la disposición mostrada en el desarrollo de este proyecto desde su inicio y hasta el final, tus atinados comentarios me sirvieron para “madurar” el proyecto hasta el nivel que quería llevarlo, tu “ojo clínico” detectó errores que yo ya era incapaz de detectar, muchas gracias por hacer de este, un gran proyecto.

Dra. Susana Valencia Ávalos: Gracias otra vez, por acompañarme en mi desarrollo y, aunque ha sido poco el tiempo que hemos compartido, siempre me has mostrado que puedo confiar en ti, mi admiración y agradecimiento por toda la ayuda e interés mostrados en el tiempo que llevo de tratarte y conocerte.

Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau: Gracias por el interés mostrado en el escrito, por tus comentarios y sobre todo por hacer de este proyecto algo completamente objetivo y dirigido en la intención en la cual fue concebido. Muchísimas gracias por todo.

Dra. Patricia Dolores Dávila Aranda: Te agradezco de sobremanera los comentarios que en aras del crecimiento de este proyecto hiciste, y, principalmente te agradezco las atenciones que tuviste.

Dr. Jaime Jiménez Ramírez: Por último, pero no menos importante gracias por los comentarios y las sugerencias hechas para la mejora del escrito.

Al grupo de trabajo del Dr. **Efraín Tovar Sánchez:**

Dra. Patricia Mussali Galante: antes que nada, Gracias Paty por la amistad que junto a Efraín y de manera personal se ha creado. Por la confianza que depositaste en mí y, por apoyar este proyecto. Porque las charlas junto a ti y Efraín sirvieron para que se aclararan muchas de las dudas y administrativas que a lo largo de mi paso por la maestría se generaron. ¡MUCHÍSIMAS GRACIAS!

Dra. Leticia Isabel Valencia Cuevas: Primero que nada nada GRACIAS Lety por la amistad que se generó en los tiempos de huelga y, que sirvieron para generar este lazo inquebrantable, por resolver siempre y no sé cuántas veces las mismas dudas que tenía en la teoría de la hibridación y otras teorías más. Por estar siempre dispuesta a escuchar mis ideas y confirmar mis “sospechas” o encauzarlas por el buen camino, de verdad. ¡MUCHÍSIMAS GRACIAS!

Biol. Guadalupe Rangel Altamirano: Primeramente Lupita gracias por toda la ayuda técnica que de tu parte recibí, y sin la cual el desarrollo de esta tesis no hubiese sido posible. Además, muchísimas gracias porque siempre has sido mi mentora en estas cuestiones de laboratorio desde que hice mi servicio social en la licenciatura y me toco entrenarme en la técnica de cargar cajas jejejeje. Mi eterno agradecimiento por la amistad, y el apoyo recibido durante todo el tiempo que llevo de conocerte.

M. en C. Alfredo López Caamal: Gracias “maestrín” por la amistad lograda en todos los años que llevo de conocerte y, por todas las dudas “técnico-administrativas” y las charlas sobre la inmortalidad de la vida que siempre eh tenido contigo y que han servido para fortalecer hartos puntos de crecimiento.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

Efraín, antes de decirte gracias por todas las cosas que me has enseñado en el aspecto académico, técnico y personal. Te quiero decir gracias por la amistad que me has brindado y que se ha fortalecido a lo largo del tiempo que llevamos de conocernos, siempre has encontrado las palabras y formas de apoyarme y sobre todo de no dejarme tirar la toalla cuando estuve realmente tentado a hacerlo. Todavía recuerdo cuando acepte ser tu primer estudiante de licenciatura en la UAEM y ya vez ahora, terminando los estudios de maestría. Gracias por todo Efraín, mi eterno agradecimiento y amistad para contigo.

Lety, para ti tengo únicamente palabras de agradecimiento, desde que me dejaste hacer mis primeros experimentos en la biología molecular y, por todas las enseñanzas que desde era tu “ayudante” me diste. Ahora con las discusiones constantes acerca de la hibridación y por todas tus atinadas observaciones que sin existir un papel de por medio me ayudaron a mejorar mi proyecto de maestría. Gracias por todo lo compartido en este proceso de crecimiento personal y académico.

Paty, a ti, debo agradecerte la confianza depositada en mí desde el momento que empecé en este proceso de crecimiento, gracias por hacerme ver que con el pago de una ficha de ingreso no sería más rico ni más pobre pero si podría cambiar mi destino. Gracias por no “dejar para siguiente convocatoria” mi ingreso a la maestría. Asimismo, quiero agradecerte que siempre estés dispuesta a ayudarme.

Lupita, gracias por la amistad, por ser tan “claridosa” al decirme las cosas y por apoyarme en un momento más complicados de mi vida. Gracias por todo el apoyo pero principalmente gracias por ser mi amiga.

Alfred, igualmente amigo gracias por la amistad por las eternas charlas acerca de los misterios del universo y principalmente porque siempre que necesite salir de alguna “duda técnica” estuviste ahí para resolverla. Infinitas gracias “maestrín”.

A todos los integrantes del equipo de laboratorio, tesistas tanto de Paty como de Efraín, porque al involucrarme en sus proyectos y, el saber la forma en como conciben y resuelven los retos que cada proyecto tiene, me llevaron encontrar soluciones para mi propio proyecto: Lety, Alfredo, Tatiana, Aby, Betel, Memo y Miguel. A todos, muchísimas gracias.

Paty Martínez, porque sin tu ayuda, en definitiva no habría llegado hasta el final, gracias por siempre resolver mis eternas dudas con la documentación que debía entregar, las fechas, por ser tan atenta al momento de apoyarme con todos los tramites. Muchísimas gracias.

Erika Rodríguez, porque tu ayuda fue fundamental para la conclusión de este proyecto, tus atenciones y el tiempo dedicado con toda la parte de los trámites me permitió llevar a buen término este proyecto. Muchísimas gracias.

Lilia Jimenez, como alguna vez te dije, gracias por adoptarme y consentirme tanto durante mi paso por la maestría, por ayudarme con las dudas de CONACyT desde ayudarme con mi CVU hasta el final llevar a buen término este trámite, por ayudarme a ser un “precario”. Pero principalmente te agradezco la amistad, el cariño y la paciencia que me has tenido durante el tiempo que llevo de conocerte, infinitamente gracias.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

A DIOS, gracias señor, por permitirme llegar y hacer básicamente lo que eh querido, siempre apoyando mis sueños y principalmente por darme a la familia que tengo y, que en todo momento ha sido cómplice de mis andanzas. No sé cómo termine esta aventura, pero por todo lo que me has dado hasta el día de hoy, infinitamente te amo.

A mí, porque a tuve siempre tuve el convencimiento de que hacia lo correcto, y hoy puedo decir que no me equivoque, porque defendí lo que creí a pesar de que muchas voces dijeron que debería dedicarme a otra cosa y sobre todo porque al final de esta aventura que hoy concluye puedo seguir de frente y, en camino del siguiente sueño.

A mi mamá, por siempre estar de mi lado, por apoyar todos mis proyectos, por estar al pendiente de las cosas que pudiera necesitar, pero principalmente por amarme de la manera que lo hace, incondicionalmente. Y, lo único que puedo decir a tan noble gesto es decirte que hoy que te amo profundamente y que eres la mejor mamá del mundo.

A mi papá, gracias por patrocinar económica, moral, social y sentimentalmente todos los proyectos que eh emprendido, porque a pesar de las dificultades que la vida te ha puesto, siempre has sido un ser humano maravilloso, gracias por enseñarme que la mejor manera de decirle a alguien cuanto lo amas, es sacrificando de ser necesario tu propia felicidad. Eres el mejor papá del mundo, inmensamente, te amo.

A mis hermanos, Juan y Cesar, ambos han sido parte fundamental en mi vida cada cual desde su forma de percibir al mundo han ayudado a fortalecer mi propia concepción del mismo. Mi eterno cariño y solidaridad para ustedes. Dios los bendiga ahora y siempre.

A mis sobrinos: chato, pao, china, danny y eli, por ser los hijos que aún no tengo, y, porque cada uno de ustedes ha hecho de mí, un mejor ser humano (falta mucho por mejorar, lo acepto) y sobre todo gracias por el cariño que para mí tienen, y que sin duda es infinitamente correspondido.

A mis abuelos, Dios los cuide siempre y bendiga siempre, gracias por darme la hermosa familia que tengo.

A mi otra familia, "los confis" (Rosy, gemes, chino, pao y principalmente a mi hija yosleydi) por hacerme parte de su familia y a su vez, integrarse a la mía, para hacer una sola, gracias Rosy por siempre estar dispuesta a dar todo por la gran familia que se ha formado.

A mis amigos de toda la vida, porque a pesar de que nuestros caminos han tomado rumbos a veces demasiado distintos, puedo jactarme de seguir contando con su amistad incondicional: Joan, Pedro, Omar, Pastora, Ratita, Marco, beto precioso, jove, dulce, aby, marichuy, José Alberto, Ellie, Hugo Macías, Gabo, Nicolás, Came, Miri, Héctor, Ruth, Migue, Dra Ludmila Vite Torres, Damaso y, a todos aquellos que por falta de memoria no nombré, mi eterno agradecimiento.

DEDICATORIA

*CON TODO EL AMOR, CARIÑO, RESPETO Y
SOBRE TODO AGRADECIMIENTO PARA:*

ELVIRA

REYNALDO

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

PRESENTACIÓN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
Hibridación en plantas.....	3
Hibridación introgresiva.....	4
El género <i>Quercus</i>	5
Zonas híbridas.....	7
Barreras reproductivas.....	8
Factores que influyen en la hibridación.....	10
Factores que favorecen la hibridación.....	10
A) Factores intrínsecos.....	10
B) Factores extrínsecos.....	11
JUSTIFICACIÓN.....	13
OBJETIVOS.....	13
HIPÓTESIS.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
Especies de estudio.....	14
Sitios de estudio.....	18
Datos moleculares.....	20
Análisis estadístico.....	21
RESULTADOS.....	23
DISCUSIÓN.....	29
Asignación genética de especies de encinos blancos.....	29
Hibridación de <i>Q. glabrescens</i> con encinos blancos en zonas mixtas.....	29

Hibridación de *Q. glabrescens* en zonas mixtas.....32

Relación entre diversidad genética e hibridación.....35

CONCLUSIONES37

LITERATURA CITADA.....39

Lista de Cuadros

Número de Cuadro		Número de Página
1	Fenología floral de cinco especies de encinos blancos (<i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i> , <i>Q. rugosa</i> , <i>Q. laeta</i> , y <i>Q. potosina</i>) en la región centro de la Faja Volcánica Transmexicana.	21
2	Distribución por estados y altitudinal (mínima y máxima) de cinco especies de encinos blancos en México. (DAMin = Distribución Altitudinal Mínima, DAMax = Distribución Altitudinal Máxima).	21
3	Nombre de la localidad, estado, especies de encinos por localidad, coordenadas geográficas, tamaño de muestra y altitud de sitios de colecta de <i>Q. glabrescens</i> (cuatro poblaciones simpátridas) y sitios alopátridos de <i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i> , <i>Q. rugosa</i> , <i>Q. laeta</i> y <i>Q. potosina</i> en la región centro de la Faja Volcánica Transmexicana.	23
4	Valores promedio de asignación genética poblacional (n = 30) de <i>Q. glabrescens</i> en cuatro zonas simpátridas basados en un método bayesiano implementado en el programa STRUCTURE. Valores ≥ 0.1 implican que la contribución genética presente en cada sitio alopátrido fue significativa (en negritas).	30
5	Valores de heterocigosis esperada (<i>He</i>) en poblaciones de <i>Q. glabrescens</i> a través de un gradiente de encinos blancos asociados en la FNT, mediante cuatro primers de microsatélites.	32

Lista de Figuras

Número de Figuras		Número de Página
1	Sitios de colecta alopátridos: 1= Tlaxco, Tlaxcala; 2= Molango, Hidalgo; 3= Tecatitlán, Jalisco; 4= Cerro del Muerto, Aguascalientes; 5= Coajomulco, Morelos. Sitios simpátridos: A= Mineral El Chico, Hidalgo; B= Cardonal, Hidalgo; C= Huitzilac, Morelos; D= Omitlán de Juárez, Hidalgo.	22
2	Grupos genéticos estimados (K) mediante el análisis de cluster STRUCTURE: (a) promedio y desviación estándar de $\ln P(D)$ de 10 corridas independientes de STRUCTURE y (b) gráfica del estadístico ΔK con respecto al cluster genético K (de 1 a 10). En ambos casos el pico y número más probable de grupos genéticos.	28
3	Asignación genética de cinco poblaciones alopátridas que representan las especies puras de <i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i> , <i>Q. laeta</i> , <i>Q. rugosa</i> y <i>Q. potosina</i> , así como cuatro sitios simpátridas basados en los análisis de cuatro nSSRs con métodos Bayesianos mediante el programa STRUCTURE.	29
4	Proporción de categorías genéticas en las poblaciones simpátridas de <i>Q. glabrescens</i> , determinados por el programa STRUCTURE.	31

RESUMEN

Castillo-Mendoza E. 2014. “Hibridación introgresiva en un sistema multiespecie de encinos blancos en México” Tesis de Maestría. Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México.

El fenómeno de hibridación es considerado un evento frecuente en plantas ya que se sugiere que entre el 50-70% de las angiospermas pudieron haber sido originadas por éste proceso. Las zonas híbridas (ZH) pueden ser vistas como etapas en un proceso de divergencia de poblaciones hasta el nivel de especie, 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. Es frecuente encontrar en la naturaleza individuos con morfología atípica, los cuales, pueden ser híbridos derivados de la hibridación entre dos o más especies. El fenómeno de hibridación ha sido reconocido preferentemente mediante herramientas moleculares como RAPD-PCR y microsatélites (SSRs) han resultado ser muy exitosas. El género *Quercus* (encinos, encinas, robles), contiene 531 especies. México es considerado como el principal centro de diversificación de especies del género *Quercus*, conteniendo 161 especies, de las cuales 109 son endémicas. Los encinos presentan una alta frecuencia de hibridación en condiciones naturales, debido a las incipientes barreras de flujo génico entre sus especies, generando complejos patrones de variación morfológica y genética intra e interespecífica. De manera general, los estudios de hibridación a nivel mundial se han realizado con solo dos especies parentales y el híbrido putativo y pocos estudios, han analizado a tres o más especies que presenten un fenómeno de hibridación multiespecífica. *Quercus glabrescens*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. laeta* y *Q. potosina*, son cinco especies dominantes de los bosques templados de México que cuando se encuentran en alopatría pueden distinguirse fácilmente por sus caracteres morfológicos. Sin embargo, cuando estas especies se encuentran en simpatría, muestran una morfología atípica sugiriendo que, parte de esa variación puede ser explicada por eventos de hibridación. Por lo que en el presente trabajo se pretende determinar mediante evidencias moleculares si, las poblaciones de *Q. glabrescens* que se establecen en simpatría con otras especies de encinos blancos en la región centro de la Faja Volcánica Transmexicana, registran hibridación. Se seleccionaron cinco sitios de *Q. glabrescens* con especies de encinos blancos en simpatría (*Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. laeta* y *Q. potosina*). Adicionalmente se eligieron cinco poblaciones alopatridas de cada una de las especies involucradas. Las poblaciones simpátridas a *Q. glabrescens* conforman un gradiente en el número de especies de encinos blancos asociados. Además, se colectaron hojas jóvenes sin daño aparente. Dichas hojas fueron transportadas al laboratorio para extracción y cuantificación de ADN. Las poblaciones alopatridas de Tlaxco (Tlaxcala), Molango (Hidalgo), Tecatitlán (Jalisco), Cerro del muerto (Aguascalientes) y Coajomulco (Morelos) registraron valores $Q > 0.9$, por lo que, se consideraron como individuos puros. En general, en las cinco zonas simpátridas se detectaron individuos híbridos. Los niveles de hibridación entre los distintos sitios simpátridos varían entre el 21% y el 50%. Asimismo, los niveles y dirección de la hibridación varía entre zonas simpátridas, es decir, a pesar de la presencia de las diversas especies involucradas en este sistema de estudio, se encontró que *Q. glabrescens* presenta cierta afinidad por unas especies. En Omitlán de Juárez se encontraron tres individuos “trihíbridos” conformados por el genoma de *Q. glabrescens*, *Q. rugosa* y *Q. obtusata*. Los resultados obtenidos apoyan que el incremento en la *He* en *Q. glabrescens* puede

estar siendo favorecido por los procesos de hibridación en este gradiente de encinos blancos asociados en la Faja Volcánica Transmexicana (FVT). Aunado a lo anterior, y, al menos para este estudio se encontró que no siempre que se encuentran en simpatría las especies de encinos blancos habrá flujo genético interespecífico y además, parece ser que la hibridación es afectada al menos de manera indirecta por la abundancia relativa de las especies que se encuentran interactuando en los distintos sitios. En contraparte, los resultados sugieren que *Q. glabrescens* presenta una mayor afinidad con *Q. rugosa* que con cualquiera de las otras tres especies involucradas en el estudio.

ABSTRACT

Castillo-Mendoza E. 2014. “Hibridación introgresiva en un sistema multiespecie de encinos blancos en México” Tesis de Maestría. Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México.

Hybridization phenomenon has been considered as a frequent event in plants, as nearly 70% of angiosperms may have arisen through this process. Hybrid zones can be seen as evolutionary gradients towards the speciation process, which offer an ideal system to study the role of natural selection on the speciation process. In natural conditions, it is common to find individuals with atypical intermediate morphology, which may be the results of interspecific genetic flow between two or more species. The hybridization phenomenon has been recognized with molecular evidence (RAPD-PCR and SSRs) of hybridization has also been used to identify hybrid individuals. In particular, the *Quercus* genus (oak's) is one of the most diversified groups of temperate forest trees of the northern hemisphere, with more than 500 species. Mexico is considered the center of diversification of this genus, including 161 species, out of which 109 are endemic. A common feature of the *Quercus* genus is the high frequency of hybridization and introgression in natural conditions, due to their incipient reproductive barriers, which generates complex morphological and genetic patterns. In general, hybridization studies worldwide have been done with only two parental species and their putative hybrid, and very few have analyzed three or more species involved in a multispecies hybridization system. *Quercus glabrescens*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. laeta* and *Q. potosina*, are five dominant elements of the Mexican temperate forests that when occur in allopatry can be easily distinguished by their morphology. However when they occur in sympatry they show atypical morphology. So in this paper is to determine if using molecular evidence, stocks *Q. glabrescens* established sympatric with other species of white oaks in the center of the Mexican Volcanic Belt region, recorded hybridization. Five sympatric sites of *Q. glabrescens* were chosen with different oak associated species (*Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. laeta* and *Q. potosina*). Also, five allopatric zones of each oak species were chosen. Sympatric populations of *Q. glabrescens* conform a gradient in the number of white oak associated species. Young leaves with no apparent damage were collected for DNA extraction. The allopatric populations of Tlaxco (Tlaxcala), Molango (Hidalgo), Tecatitlán (Jalisco), Cerro del muerto (Aguascalientes) and Coajomulco (Morelos) registered *Q* values of >0.9 , so these populations were considered as pure individuals. In general, hybrid individuals were detected in the five sympatric zones. Hybridization levels varied between 21% and 50%. Also, the level and direction of the hybridization process varied between sympatric zones. In other words, in spite of the occurrence of other white oak species involved in this gradient, we found three tri-hybrid individuals were found, that were formed by the genome of *Q. glabrescens*, *Q. rugosa* and *Q. obtusata*. Our results support the increase in *He* levels of *Q. glabrescens*, a fact that may be favored by the hybridization processes found in our study system. In study, we found that the frequency and direction of this phenomenon is dependent of the site in which these species grow and distribute. Moreover, we detected that white oak species that occur in sympatry not always have genetic flow between them and that the hybridization is also influenced by the relative abundance of the species involved. In contrast, our results suggest that *Q. glabrescens* has more affinity with *Q. rugosa* than any of the other species involved.

PRESENTACIÓN

Probablemente, uno de los paradigmas más importantes de la biología evolutiva es la hibridación existente en especies genéticamente cercanas. Así, la hibridación incluye diversas implicaciones genéticas, además parece ser que cada evento de hibridación está íntimamente relacionado con el ambiente en el cual se desarrolla (Lepais et al. 2009).

Algunas de las especies vegetales donde se han registrado frecuentes eventos de hibridación entre otras, son las pertenecientes al género *Quercus*. En general, la mayoría de los casos reportados de hibridación han sido entre dos especies pertenecientes a la misma sección. No obstante, la hibridación entre tres o más especies no se había considerado como un evento posible y/o no había podido determinarse por las técnicas desarrolladas y/o porque los programas estadísticos no permitían analizar dichos sistemas.

Debido a lo anterior, de manera general no se tiene información suficiente sobre las implicaciones genéticas, ecológicas y evolutivas que tiene un evento de hibridación multiespecífica. En diversos estudios realizados con encinos principalmente en Europa (e. g., Curtu et al. 2007, Lepais et al. 2009), se ha documentado que la hibridación es contexto-dependiente del sitio donde se encuentran en simpatría las especies parentales, además aunque se trate de las mismas especies, los patrones de hibridación difícilmente se repiten entre sitios.

Para disminuir los efectos del ambiente y del disturbio sobre los eventos de hibridación entre los sitios de muestreo, como lo señalado en el párrafo anterior, se eligieron sitios que tuvieran similitudes en altitud, tipo de suelo y grado de conservación.

En este estudio, se abordó el fenómeno de hibridación natural en un complejo multiespecífico de encinos blancos que se encuentran distribuidos en la Faja Volcánica Transmexicana y que de manera natural, están en simpatría a través de un gradiente de riqueza de especies. Así, se evaluó si *Quercus glabrescens* (especie endémica para México) hibrida con las especies de encinos que crece en simpatría y se determinó la influencia de la riqueza local de los encinos blancos sobre los patrones de hibridación.

INTRODUCCIÓN

La hibridación se puede definir como la cruce entre individuos de dos o más poblaciones que se pueden distinguir entre ellas en al menos un carácter heredable (Harrison 1990). Este evento involucra el apareamiento entre individuos que pertenecen a especie que se encuentran morfológica, fisiológica, genética y ecológicamente diferenciadas. Las ventajas de esta definición son: a) la aplicación no depende del concepto de especie, b) no se requiere de la asignación arbitraria de categorías taxonómicas particulares, y c) no es necesario conocer la aptitud relativa de los híbridos o las normas adaptativas de las especies parentales (esto, según la definición de especie enunciada por Stebbins [1959]) (Harrison 1990).

El concepto de especie ha sido definido con base en diversas características y utilizando en la mayoría de los casos el aislamiento reproductivo como plataforma. En la literatura existen por lo menos 10 conceptos de especie (Torretti 2010). En ese sentido, quizá el concepto de especie que más ha sido aceptado es el biológico, el cual define a las especies como “grupos de poblaciones naturales que pueden cruzarse y que están aislados reproductivamente de otros grupos” (Mayr 1963). Dicho concepto es útil para aplicarse en especies con reproducción sexual y que están aisladas reproductivamente de otras especies, no obstante, cuando se estudian poblaciones o especies que presentan flujo genético interespecífico este concepto no puede ser aplicado estrictamente.

Un concepto morfológico de especie ha sido formulado por Cain (1954), quien dice que ésta es un conjunto de individuos morfológicamente similares separados de otros grupos por disimilitudes morfológicas y que se distribuyen en intervalo bien definido. Aun cuando el concepto morfológico de especie no toma en consideración relaciones de parentesco éste es de gran utilidad. En los encinos, por ejemplo, el estudio de los caracteres morfológicos es clave para su identificación en campo y éstos registran variación atípica, la cual, en algunos casos, se ha atribuido a fenómenos de hibridación (Tovar-Sánchez y Oyama 2004, Cavender-Bares y Pahlich 2009, Peñaloza-Ramírez et al. 2010).

En este sentido, uno de los conceptos de especie que más se ha utilizado para definir a los individuos híbridos, es el propuesto por Rieseberg y Carney (1998), el que establece que las especies biológicas son grupos de organismos que se cruzan y están genética pero no

reproductivamente aislados. Además, Wu (2001) propone que en un evento de hibridación, el mantenimiento de la identidad genética de las especies se debe a que no todo el genoma se recombina y, que pequeñas regiones de ADN se mantienen aisladas. Por lo que, en este estudio y dada la naturaleza del género *Quercus* se utiliza el concepto propuesto por Rieseberg y Carney (1998).

Hibridación en plantas

En general, en condiciones naturales es casi imposible distinguir morfológicamente a los individuos híbridos de sus especies parentales (Naisbit et al. 2003). Así, la identificación a través de caracteres morfológicos es insuficiente dada la plasticidad fenotípica que pueden provocar que los individuos no presenten un *aspecto híbrido* (Mallet 2005). En este sentido, Rieseberg et al. (1999) encontraron que el 44% de los caracteres morfológicos medidos mostraron valores extremos con respecto a sus parentales (caracteres transgresivos, revisión llevada a cabo con 171 estudios: 58 con animales y 113 con plantas). Por lo que, la frecuencia con la que ocurren fenómenos de hibridación podría estar subestimada (Mallet 2005). Además, si una especie tiene diversas presiones ambientales en sus distintas poblaciones, esto puede provocar que dicha especie presente caracteres morfológicos distintos con respecto a otra especie, dando como resultado una interpretación errónea de hibridación (convergencia ecológica) (Holman et al. 2003). Por último, si una especie presenta una cierta tendencia evolutiva (e. g., cambio en el tamaño de las estructuras florales), el taxón que se encuentre en un paso evolutivo intermedio presentará caracteres intermedios entre dos especies pertenecientes al mismo linaje (Judd et al. 2002).

No obstante, se calcula que las plantas hibridan en promedio de dos a tres veces más que los animales (Mayr 1963), lo que sugiere que las propiedades intrínsecas (e. g., perfil bioquímico distinto al de los parentales, variación morfológica inusual, distribución intermedia con respecto a los parentales, etc.) de las plantas, pueden favorecer el establecimiento de los individuos híbridos (Gottlieb 1984). La hibridación natural se encuentra distribuida de manera irregular entre los taxones (Ellstrand et al. 1996). Así por ejemplo, entre el 21 y el 39% de familias de plantas y entre el 5 y el 19% de géneros tienen uno o más reportes de eventos de hibridación (Whitney et al. 2010).

Se ha sugerido que entre el 50-70% de las angiospermas pudieron haber sido originadas por eventos de hibridación (Whitham et al. 1991, Arnold 1994), y muchas parecen estar interconectadas por limitados flujos genéticos (Stebbins 1950; 1959, Grant 1981), que, a menudo son reconocidos por la presencia de *ejemplares híbridos* (Harrison 1990). Whitney et al. (2010) documentan que existen 25 familias de plantas que presentan alta posibilidad de hibridar, entre las cuales destacan Aspargaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Onagranaceae y Orchidaceae. Los resultados sugieren que la hibridación está más relacionada con las propiedades intrínsecas (e. g., poliploidía, rearrreglos cromosómicos) de las especies que, a las condiciones ambientales (Whitney et al. 2010).

Hibridación introgresiva

La hibridación no necesariamente está relacionada con la introgresión, (definida como la constante incorporación de genes de una especie a otra, por el continuo flujo génico que se da entre las especies parentales y los individuos híbridos [Harrison 1993]), ya que en muchos de los casos la totalidad de la descendencia híbrida es infértil (Rhymer y Simberloff 1996). Sin embargo, si la introgresión se llega a producir, ésta puede ser unidireccional (con intercambio génico de los híbridos hacia una sola especie parental) o bidireccional (con intercambio génico de los híbridos hacia ambos parentales) (Arnold 1997). Además, existe la posibilidad de generar *enjambres híbridos* cuando la introgresión se da en diversos grados y existen cruza entre los individuos híbridos (Rhymer y Simberloff 1996).

La hibridación introgresiva puede tener tanto repercusiones positivas como negativas para las especies involucradas. Dentro de los impactos negativos de la hibridación podemos mencionar los siguientes: a) reemplazo de ambas especies parentales (Anderson y Hubricht 1948) (esto mediante la introducción recurrente de germoplasma de una especie a otra, provocando un *efecto de dilución genética*), b) la pérdida de especies nativas (pérdida de haplotipos únicos de ADN), c) reducción de la diversidad genética (por endogamia y/o relativamente bajo éxito reproductivo de los híbridos) y d) descendencia fértil de un solo sexo (ya sea que los individuos machos o hembras híbridos sean infértiles) (Rhymer y Simberloff 1996).

Por otra parte, entre las implicaciones positivas podemos mencionar: a) cambios evolutivos relativamente rápidos por la formación de combinaciones genéticas novedosas (Anderson 1948,

Barton y Hewitt 1989, Arnold 1997), b) establecimiento en hábitats donde los parentales no pueden establecerse (permitiendo, potencialmente la formación de una nueva especie; Arnold 1994), c) mejoramiento de la adecuación (Harrison 1993), y d) transferencia de adaptaciones genéticas (Anderson 1948).

El género *Quercus*

Dentro de la familia Fagaceae, el género *Quercus* se caracteriza por presentar la mayor amplitud de distribución geográfica en las regiones templadas del Hemisferio Norte, así como algunas regiones tropicales y subtropicales del mismo (Nixon 1993b). A nivel mundial, el género *Quercus* está representado por ~531 especies (Govaerts y Frodin 1998), de las cuales 161 se encuentran en México y 67.7% de éstas son consideradas endémicas (Valencia 2004). Por lo anterior, México es considerado uno de los principales centros de diversificación de encinos, en particular la Faja Volcánica Transmexicana FVT (Nixon 1993b). México cuenta con tres de las cinco secciones del género *Quercus*: *Lobatae* (encinos rojos, 76 especies), *Protobalanus* (encinos intermedios, cuatro especies) y *Quercus* (encinos blancos, 81 especies) (Valencia 2004).

Los encinares son elementos representativos de los bosques templados, los cuales ocupan ~20.5% (41 millones de ha) del territorio mexicano, del cual 5.5% corresponde a los bosques de encino, 13.5% a los bosques de pino-encino y el 1.3% restante, a los bosques donde predominan otras coníferas (Rzedowski 1978). En general, las especies de encinos se caracterizan por presentar dos formas de crecimiento: arbórea y arbustiva, sus especies son monoicas, autoincompatibles y polinizadas por viento, esta dispersión de acuerdo a modelos matemáticos oscila entre los 2.5 y hasta los 30 Km (Lahtinen et al. 1996, Schueler y Schlünzen 2005). Por su parte, la mayor proporción de las bellotas se dispersan localmente (dispersión por gravedad). Sin embargo, su dispersión puede ocurrir a largas distancias (dispersión por aves o mamíferos pequeños; hasta 7 km) (Grivet et al. 2008), por lo que se puede sugerir que el flujo genético vía polen y semilla es alto.

Aunque estudios recientes han mostrado la fortaleza de las barreras reproductivas presentes en el género *Quercus* (Abadie et al. 2012, Lagache et al. 2013), de manera general, las especies que conforman este género han sido definidas como especies que presentan incipientes barreras

reproductivas, lo que promueve una alta frecuencia de hibridación natural entre especies de una misma sección (Jensen y Eshbaugh 1976, Whittemore y Schaal 1991, Dumolin-Lapègue et al. 1997, Manos et al. 1999, Rosabelle 1999, Bruschi et al. 2000). Tradicionalmente, los estudios de hibridación se han realizado entre pares de especie parentales (e. g., González-Rodríguez et al. 2004, Tovar-Sánchez y Oyama 2004, Núñez-Castillo et al. 2010). No obstante, los avances en el desarrollo de técnicas moleculares han permitido abordar los estudios en sistemas multiespecie (Dodd y Afzal-Rafii 2004, Mallet 2005, Craft y Ashley 2006, Curtu et al. 2007, Peñaloza-Ramírez et al. 2010), evidenciando que la hibridación entre especies de encinos genera complejos patrones de flujo genético que pueden ser considerados como *enjambres híbridos*. En general, se ha documentado que el fenómeno de hibridación es más recurrente entre especies de la sección *Quercus* (Petit et al. 2002).

A esta sección pertenece *Q. glabrescens* Benth. (*Quercus*, Nixon 1993a) que es una especie considerada endémica para México y se encuentra bien representada en los bosques templados asociados a la FVT y la región norte de la Sierra de Oaxaca, además de distribuirse a través de un amplio gradiente altitudinal (Zavala-Chávez 1995, Zavala 2003). Lo anterior ha favorecido que *Q. glabrescens* se encuentre asociada a diversos tipos de vegetación (bosque mesófilo de montaña, bosque de *Pinus-Quercus* y bosque de *Abies-Quercus*) y, de manera natural se encuentre en simpatría con diferentes especies de encinos blancos (*Q. laeta*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. greggii* y *Q. frutex*), lo que incrementa la posibilidad de que se lleve a cabo el fenómeno de hibridación (dicho fenómeno ya ha sido reportado entre *Q. glabrescens* y *Q. rugosa*, por Núñez-Castillo et al. 2010). De manera particular, en un estudio realizado por Sánchez-Ortiz (2012), se caracterizó la estructura y diversidad genética de *Q. glabrescens* en sitios que se encuentran en simpatría a través de un gradiente de encinos blancos en la FVT, donde se documenta que existe una asociación positiva y significativa entre el número de especies de encinos blancos creciendo en simpatría con *Q. glabrescens* y su diversidad genética. Derivado de lo anterior, se propone que el incremento en la diversidad genética de esta especie podría ser explicado por un fenómeno de hibridación multiespecie.

Zonas híbridas

Las zonas híbridas son áreas de contacto donde dos o más poblaciones genéticamente distintas se encuentran, se cruzan y tienen híbridos fértiles o al menos parcialmente viables (Arnold 1997). Su extensión depende del equilibrio entre la dispersión que lleva a la formación de genotipos recombinantes y la selección que se hace de ellos tomando como base su adecuación relativa (Dodd y Afzal-Rafii 2004). Por lo general, las zonas híbridas se forman en sitios donde se han presentado disturbios ya sea naturales (actividad volcánica, terremotos y huracanes, entre otros) o antrópicos (cambio de uso de suelo, deforestación, agricultura y ganadería) (Arnold et al. 1990). En la naturaleza es frecuente encontrar que el aislamiento geográfico o de hábitat es una barrera que comúnmente impide que se lleve a cabo la hibridación entre especies que están estrechamente relacionadas genéticamente (Arnold 1997).

Las actividades humanas alteran el ambiente y generan nuevos hábitats, que pueden favorecer la hibridación natural (esto, por la generación de espacios donde las especies pueden converger e intercambiar material genético y/o eliminación de las especies que originalmente se encontraban ahí), y el establecimiento de híbridos (Riley 1938, Fontdevila y Moya 2003). Así, la presencia de individuos híbridos en sitios donde ninguna de las especies parentales se encuentra (Rieseberg 1991) sugiere que ciertos genotipos híbridos tienen una alta capacidad de establecerse en hábitats nuevos (Rieseberg 1997).

En la literatura existen diversos modelos para el estudio y entendimiento de las zonas híbridas. Tomando como base la descripción de Harrison y Bogdanowicz (1997), se han desarrollado dos modelos de zonas híbridas que se describen a continuación:

A) Zonas híbridas bimodales o de mosaico: este tipo de zonas se caracteriza por no presentar incompatibilidades de cruce (especificidad del sistema de reconocimiento genético), al menos de manera experimental (McMillan et al. 1997), presentan barreras precigóticas bastante fuertes y bien definidas aunque con respecto a las barreras poscigóticas no se observa un patrón claro y el aislamiento reproductivo no está muy desarrollado (Jiggins y Mallet 2000). Dentro de las zonas híbridas de mosaico, los taxa que son morfológicamente indistinguibles y solo pueden separarse genéticamente (Howard y Waring 1991).

Se considera que dentro de éstas, la distribución irregular (en parches) que presentan las especies pueden facilitar el reforzamiento de las barreras reproductivas de las mismas, como resultado de las diferencias entre los sitios de distribución (Cain et al. 1999), logrando con ello que las especies se mantengan bien diferenciadas en los sitios alopátridos a pesar del intercambio genético existente en los sitios simpátricos.

B) Zonas híbridas unimodales o clinales: en contraparte, este tipo de zonas híbridas, presenta un intervalo continuo de individuos intermedios estables y que además tienen una diferenciación clinal con las especies parentales. Este tipo de modelo es presentado como la explicación a un escenario en donde las especies pudieron haber evolucionado en parapatria (Jiggins y Mallet 2000).

Dentro de los límites de distribución de las especies, los sitios que ahí se encuentran pueden conferir ventajas para los individuos híbridos que presentan caracteres intermedios o que sean capaces de romper los sistemas de reconocimiento genético que presentan las especies parentales, esto como resultado de las condiciones ecológicas presentes en los límites de distribución de las especies parentales (Williams et al. 2001).

Barreras reproductivas

Generalmente, el aislamiento reproductivo es la barrera más difícil de sortear por los diversos mecanismos que este presenta y generalmente se dividen en dos, aquéllos que ocurren antes de la fertilización (precigóticos) y los que se presentan después de la misma (poscigóticos) (Fontdevila y Moya 2003). Dentro de las barreras precigóticas están: la separación de hábitats, las barreras temporales y etológicas, así como la competencia gamética y la incompatibilidad genética (Rieseberg y Carney 1998). Por otro lado, dentro de las barreras postcigóticas se pueden incluir: la inviabilidad del híbrido, las interacciones genéticas y la esterilidad del híbrido (Rieseberg 1997).

En las zonas híbridas unimodal y bimodal (McMillan et al. 1997, Cain et al. 1999, Jiggins y Mallet 2000), se han encontrado patrones muy heterogéneos de hibridación (Williams et al. 2001, Lepais et al. 2009), que han sido explicados desde diferentes perspectivas, entre las cuales se encuentran: a) disimilitudes en la abundancia relativa de las especies que están en un sitio

determinado (Lepais et al. 2009), y, b) condiciones ecológicas locales (variación microclimática, topografía, tipo de suelo, entre otros) que repercuten en la tasa de producción de híbridos (Aldridge y Campbell 2009). Dichas diferencias en la generación de individuos híbridos en las zonas híbridas pueden ser provocadas por una selección del medio a favor de las especies parentales y en contra de los individuos híbridos (Dodd y Afzal-Rafii 2004, Peñaloza-Ramírez et al. 2010).

Otra posibilidad para explicar las variaciones en los patrones de hibridación que presentan los encinos es el grado de aislamiento reproductivo. Existen algunos estudios en donde se han encontrado sitios en donde existe un mayor grado de aislamiento reproductivo, especialmente de las barreras precigóticas en sitios de contacto donde las especies llevan mucho tiempo coexistiendo (Servedio y Noor 2003, Ortiz-Barrientos et al. 2009). En este sentido, se ha sugerido que en condiciones naturales, la selección en contra de los genotipos híbridos puede estar provocando que exista un refuerzo de las barreras reproductivas precigóticas (Dobzhansky 1937, Butlin 1987). Lo anterior tendría como consecuencia una menor producción de individuos híbridos, sobre todo en aquellas zonas simpátricas en donde la coexistencia de las especies tenga mucho tiempo de existir comparada con otras zonas en donde el contacto sea relativamente reciente. En el caso de especies simpátricas con contacto reciente, las barreras reproductivas precigóticas y poscigóticas podrían aún no encontrarse bien desarrolladas, dando como resultado altas tasas de hibridación (Lepais et al. 2009).

El desarrollo de las barreras precigóticas por selección natural como resultado de la hibridación y generación de individuos con baja adecuación (e. g., reforzamiento) ha sido propuesto para representar la etapa final de un proceso de especiación cuando dos especies previamente aisladas presentan contacto secundario (Dobzhansky 1940, Lewontin 1974). No obstante, para el caso de las plantas con flores no existen estudios suficientes (Silvertown et al. 2005, Kay y Schemske 2008) y estos pocos estudios no han considerado la historia de la zona de contacto.

Factores que influyen en la hibridación

La hibridación produce individuos con genotipos que no han sido sometidos a la selección natural, por lo que esto puede provocar que dichos individuos sean menos exitosos que sus especies parentales (Burke y Arnold 2001). En este sentido, la reducción de la capacidad para adaptarse a

un ambiente específico por parte de la descendencia híbrida está totalmente relacionada con las aberraciones cromosómicas (translocaciones, deleciones), y provocando que dichos individuos presenten una menor adecuación en comparación con sus especies parentales (Dobzhansky 1936, Muller y Pontecorvo 1940, Mayr 1963, Edmands y Burton 1999).

El rompimiento de las barreras genéticas puede reducir el rendimiento de los genotipos híbridos por el establecimiento de los individuos híbridos en sitios donde no están bien adaptados y además, debido a las interacciones desfavorables que se dan entre las especies parentales y los híbridos (Muller y Pontecorvo 1940), lo que se traduce en la producción de descendencia con bajos niveles de viabilidad o fertilidad (Burke y Arnold 2001). Además, cuando un individuo producto de hibridación surge en una población, éste tiene problemas de fertilidad y probablemente no puede perpetuarse porque no encuentra fácilmente otra planta compatible (e. g., alguna de sus especies parentales) para reproducirse y desaparece sin dejar descendencia (Mayr 1992, Fontdevila y Moya 2003). Lo anterior sugiere que, la selección actúa en contra de ciertos genotipos híbridos lo que conduce a una baja tasa de introgresión (Burke y Arnold 2001).

Asimismo, se ha sugerido que para que se dé el establecimiento de individuos híbridos, éstos deben tener una producción de genotipos recombinantes (producto del rompimiento de las barreras genéticas) que superen a sus parentales en al menos algún hábitat (Anderson 1948, Moore 1977, Arnold 1997).

Factores que favorecen la hibridación

A) *Factores intrínsecos*. Existen diversos factores que pueden favorecer el establecimiento y la reproducción de los híbridos, entre los que se encuentran: las características de la historia de vida, si las especies son perennes o caducifolias, el sistema de reproducción sexual, los mecanismos de reproducción asexual y, la disponibilidad de ambientes que pueden ser utilizados por los individuos híbridos (Templeton 1981, Rieseberg 1997). Aunado a lo anterior; la presencia de rearrreglos cromosómicos (inversión, traslocación) en las poblaciones que se forman producto de la hibridación, puede provocar rompimientos cromosomales posteriores con los individuos parentales (Rieseberg et al. 1995).

Los cambios genéticos que se dan dentro de las distintas poblaciones que pertenecen a la misma especie frecuentemente son asimétricos, lo que provoca una “invasión” de otras poblaciones de la misma especie a bajas altitudes y/o latitudes (Pounds et al. 1999, Sangarin et al. 1999, Dodd y Afzal-Raffi 2004, Aitken et al. 2008). En este sentido, Zanetto y Kremer (1995) mencionan que la diversidad genética en los límites de distribución de *Q. petraea*, (de Irlanda a Turquía y de los Pirineos a Noruega) dentro de las áreas de refugio glacial es la misma. Lo que en última instancia, podría inducir que las especies que están hibridando tengan una fuente de variación genética que permita a las nuevas poblaciones híbridas adaptarse a las modificaciones en el ambiente (Dodd y Afzal-Rafii 2004, Kremer 2010, Moran et al. 2012).

La hibridación puede contribuir a la adaptación o especiación en una o dos formas (Burke y Arnold 2001). Primero, vía introgresión, transfiriendo las adaptaciones de un grupo a otro y provocando con esto que los individuos híbridos expandan el intervalo de distribución geográfica (Howard 1993, Rhymer y Simberloff 1996). Segundo, la hibridación puede conducir a la generación de nuevos linajes (Arnold 1997, Rieseberg 1997) debido a la capacidad de los individuos híbridos de combinar los alelos de ambos padres (Anderson 1848, Stebbins 1950, Grant 1958) y también a la producción de interacciones genéticas favorables (*epistasis*) (Burke y Arnold 2001).

B) Factores extrínsecos. Kerner (1895) sugiere que la disponibilidad del hábitat juega un papel crítico en el establecimiento de individuos híbridos. Asimismo, Anderson (1948) propone que diversos disturbios pueden facilitar el rompimiento de las barreras precigóticas entre las especies parentales, facilitando con esto la creación y establecimiento de individuos híbridos. Esto, mediante la selección y acumulación de ciertos genotipos híbridos que se encuentran en hábitats favorables (Rieseberg 1997).

En algunos casos, la selección exógena puede jugar un papel central en el establecimiento de los híbridos (Burke y Arnold 2001). Asimismo, de manera general, el establecimiento de los individuos híbridos se da en los bordes de distribución de las especies parentales, favoreciendo así la supervivencia y el desarrollo de los mismos (Anderson 1948), en áreas donde las especies parentales no se pueden establecer.

De este modo, Fitter y Fitter (2002), encontraron que diversas especies de plantas (estudio realizado con 557 especies) tienden a florecer más temprano desde hace 25 años independientemente de la edad de los árboles. En este mismo estudio se sugiere que el cambio en los picos de floración de las especies es un factor que puede incrementar las posibilidades de hibridación.

Por último, la distribución espacial es otro factor que promueve un incremento en la tasa de hibridación. En general, se ha establecido un decremento en la densidad de las especies conforme estas se alejan del centro de distribución. Dichos cambios pueden afectar: a) la migración, b) su capacidad de adaptación y c) los patrones de flujo genético (Aitken et al. 2008, Moran et al. 2012). Además, la capacidad de dispersión dentro y entre las especies puede verse afectada en intervalos muy amplios (Walther et al. 2002).

JUSTIFICACIÓN

A pesar de la alta diversidad de encinos en México, de su alto grado de endemismo de la dominancia de las especies del género *Quercus* en los bosques templados, del recurrente fenómeno de hibridación que se ha reportado dentro del género, de la alta variación morfológica atípica de *Q. glabrescens* en sitio simpátricos, existen muy pocos trabajos en donde se analicen complejos multiespecie, de que hay evidencias de hibridación entre *Q. glabrescens* y *Q. rugosa*. Por otro lado, no se han realizado estudios que evalúen los patrones de hibridación de *Q. glabrescens* a través de un gradiente de riqueza de encinos blancos creciendo en simpatría. Por lo que, en este estudio se planteó el siguiente objetivo general:

OBJETIVOS

Determinar mediante evidencias moleculares (microsatélites) si, las poblaciones de *Q. glabrescens* que se establecen en simpatría con otras especies de encinos blancos en la región centro de la Faja Volcánica Transmexicana, registran hibridación.

Los objetivos específicos son los siguientes:

Determinar los niveles de hibridación que se presentan en las zonas simpátricas de *Q. glabrescens* y, las especies de encinos blancos asociadas.

Caracterizar los niveles de hibridación introgresiva entre *Q. glabrescens* y sus especies de encinos blancos asociadas.

Determinar el grado de diversidad genética (H_e) presente en los sitios simpátricos de *Q. glabrescens* y especies de encinos blancos asociados en un gradiente de riqueza de especies.

Describir los patrones de hibridación que se establecen en este gradiente de encinos blancos presentes en la Faja Volcánica Transmexicana.

HIPÓTESIS

Asimismo, se formulan las siguientes hipótesis:

1. Si el fenómeno de hibridación es frecuente entre especies de encinos blancos (*Quercus*), se espera que los individuos de *Q. glabrescens* que se establecen en zonas simpátricas con otras especies de encinos blancos registren hibridación.
2. Si *Q. glabrescens* es una especie con endebles barreras reproductivas, se espera que conforme se incrementa el número de especies de encinos blancos asociados a ella aumenten sus niveles de genoma heteroespecífico vía hibridación e introgresión.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especies de estudio

Este estudio aborda al análisis de la posible hibridación de *Quercus rugosa*, *Q. obtusata*, *Q. laeta* y *Q. potosina* con *Q. glabrescens*, cuyos rasgos se describen a continuación, basados en las descripciones de Romero-Rangel et al. (2002), Valencia (2004) y Rzedowski et al. (2005), Arizaga et al. (2009) y Bárcenas-Pazos (2011).

Quercus glabrescens Benth. Es un árbol de 6 a 20 m de altura. Sus hojas tienen forma oblanceolada o elíptico-oblanceolada y un margen fuertemente revoluto, generalmente con dos a cuatro dientes de cada lado hacia la mitad apical de la hoja. Su haz es brillante y glabro, así como el envés pero éste no es brillante y glabro en la nervadura. Sus amentos masculinos tienen 2 cm de largo, en tanto que los femeninos contienen hasta tres flores de 1-1.8 cm de largo. Su fruto es solitario de 15 mm de largo. Se distribuye entre 2450 y 3300 msnm en el Valle de México, desde Real del Monte hasta Amecameca, en el Distrito Federal y en los estados de Hidalgo, Michoacán, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Tlaxcala y Veracruz. *Q. radlkoferiana* Trel. es un sinónimo reconocido.

Quercus obtusata Humb. & Bonpl. Es un árbol de 3 a 20 m de altura. Sus hojas tienen forma obovada, largamente obovada o elíptica y un margen engrosado y ligeramente revoluto,

regularmente presenta de tres a ocho dientes u ondulaciones de cada lado. Su haz es lustroso y tomentoso cerca de la base, por su parte el envés es pubescente y con pelos glandulares. Presenta amentos masculinos de 3 cm de largo, con muchas flores distribuidas a lo largo del raquis, los amentos femeninos de tres a seis o más flores distribuidas en la mitad distal de un pedúnculo de 2-3.5 cm de largo. Tiene frutos de uno a tres, de 17 a 20 mm de largo c/u. Se distribuye entre 620 y 2580 msnm en el valle de México, desde Tepetzotlán a Tlalpan y de Otumba y Texcoco, en el Distrito Federal y en los estados de; Durango, Guerrero, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Veracruz y Zacatecas. Además se ha descrito con las siguientes sinonimias: *Q. innuncupata* Trel., *Q. hartwegii* Benth., *Q. laxa* Liebm., *Q. centralis* Trel.

Quercus rugosa Née. Es un árbol de 3 a 25 m de altura. Tiene Hojas con forma cóncava por el envés, obovadas o elíptico-obovadas, y un margen engrosado, generalmente con tres y hasta 17 dientes u ondulaciones hacia la mitad distal de la hoja. Su haz es lustroso y glabro, el envés es tomentoso con pelos ramificados y pelos glandulares abundantes. Sus amentos masculinos tienen de 17 a 31 flores de 15-20 mm de largo, pubescentes, mientras que las flores femeninas se presentan de 2 a 20 en pedúnculos pubescentes. El fruto puede ser solitario o en grupos de 2 a 3, de 10 a 25 mm de largo c/u. Se distribuye de los 1800 a 2900 msnm, en el valle de México, desde Teoloyucan a Tlalpan y en Real del Monte y de Pachuca a Amecameca, y en los estados de; Aguascalientes, Chihuahua, Chiapas, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Durango, Guerrero, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Veracruz y Zacatecas. Así como el sur de los EUA. Además se ha descrito con las siguientes sinonimias: *Q. reticulata* Humb. & Bonpl., *Q. conglomerata* Trel.

Quercus laeta Liebm. Es un árbol de 2 a 12 m de altura. Presenta Hojas con forma oblongo-lanceolada, oblanceolado u obovado y un margen algo engrosado y ligeramente revoluto, generalmente de dos a 11 dientes en cada lado. Su haz es lustroso y pubescente cerca de la base, asimismo el envés también es pubescente. Las flores masculinas presentes en amentos de 4 a 6 cm de longitud, mientras que las femeninas de 1 a 3 en el ápice de un pedúnculo pubescente de 1 a 4 cm de longitud. El fruto puede ser solitario o agrupado por pares, de 12 a 18 mm de largo c/u. Se distribuye de los 1900 a 2700 msnm en el valle de México, desde Tepetzotlán a Tlalpan y de

Texcoco a Chalco, y en los estados de; Aguascalientes, Coahuila, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Nayarit, Nuevo León, Puebla, San Luis Potosí, Sinaloa, Oaxaca y Zacatecas. Además se ha descrito con las siguientes sinonimias: *Q. pallescens* Trel., *Q. obscura* Trel., *Q. transmontana* Trel., *Q. centralis* Trel., *Q. obtusata* Humb. & Bonpl.

Quercus potosina Trel. Es un árbol de 3 a 7 m de altura. Tiene hojas con forma obovada, suborbicular, oblonga u oblanceolado y un margen engrosado y algo revoluto, entero o con cuatro a 13 dientes mucronados de cada lado. Su haz presenta algunos pelos estrellados, y el envés con la epidermis pálida, casi lisa. Las flores masculinas presentes en amentos de 3 a 5 cm de longitud, mientras que las femeninas de dos a 10 arregladas en racimos sobre un pedúnculo de 1 a 3 cm de longitud. El fruto puede ser solitario o agrupado por pares, de 15 a 18 mm de largo c/u. Se distribuye de los 2000 a 2450 msnm en el valle de México, se encuentra en Epazoyucan, y en los estados de; Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, San Luis Potosí y Zacatecas. Se ha descrito con las siguientes sinonimias: *Q. potosina f. áptera* Trel., *Q. potosina f. exilis* Trel.

Con base en los datos obtenidos en la revisión bibliográfica se realizaron tres cuadros en donde se muestran: los periodos florales de las cinco especies involucradas en este estudio, la distribución altitudinal máxima y mínima de las mismas y por último, la distribución geográfica de las especies.

Al comparar la fenología floral (cuadro 1), se encuentra que cuatro de las cinco especies involucradas en este estudio coinciden entre Abril y Mayo, la duración es de 3 meses excepto en *Q. glabrescens* (en la cual la floración solo dura dos meses) y que entre Marzo y Junio al menos dos especies del conjunto florecen simultáneamente. Únicamente *Q. laeta* alarga su floración hasta Julio.

Por otra parte, con respecto a la distribución estatal y altitudinal (cuadro 2), se encontró que tres de las cinco especies se distribuyen en al menos 15 o más estados (46.8% del territorio nacional) y las otras dos especies se distribuyen en nueve estados. Aunado a lo anterior, la distribución altitudinal está en promedio por encima de los 1800 m y por debajo de los 3300 m (\neq 1500 m) con excepción de *Q. obtusata* en la distribución altitudinal mínima.

Por último, todos los sitios de colecta se encuentran ubicados dentro de la Faja Volcánica Transmexicana (figura 1) dentro de cinco estados (Aguascalientes [un sitio], Hidalgo [cuatro sitios], Jalisco [un sitio], Morelos [dos sitios] y Tlaxcala [un sitio])

Cuadro 1. Fenología floral de cinco especies de encinos blancos (*Q. glabrescens*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. laeta*, y *Q. potosina*) en la región centro de la Faja Volcánica Transmexicana (Romero-Rangel et al. 2002, Rzedowski et al. 2005, Bonfil 2006, Romero et al. 2007, Sabás-Rosales 2011).

Especie/mes	Ene	Feb	Mar	Abr	Mayo	Jun	Jul
<i>Q. glabrescens</i>			x	x			
<i>Q. obtusata</i>			x	x	x		
<i>Q. rugosa</i>				x	x	x	
<i>Q. laeta</i>					x	x	x
<i>Q. potosina</i>			x	x	x		

Cuadro 2. Distribución por estados y altitudinal (mínima y máxima) de cinco especies de encinos blancos en México (Romero-Rangel et al. 2002, Valencia 2004, Rzedowski et al. 2005, Bonfil 2006, Romero et al. 2007, Sabás-Rosales 2011).

Especie	Presencia por estados	Rango altitudinal (m)
<i>Q. glabrescens</i>	9	2450 – 3300
<i>Q. obtusata</i>	17	620 – 2580
<i>Q. rugosa</i>	22	1800 – 2900
<i>Q. laeta</i>	15	1900 – 2700
<i>Q. potosina</i>	9	2000 – 2450

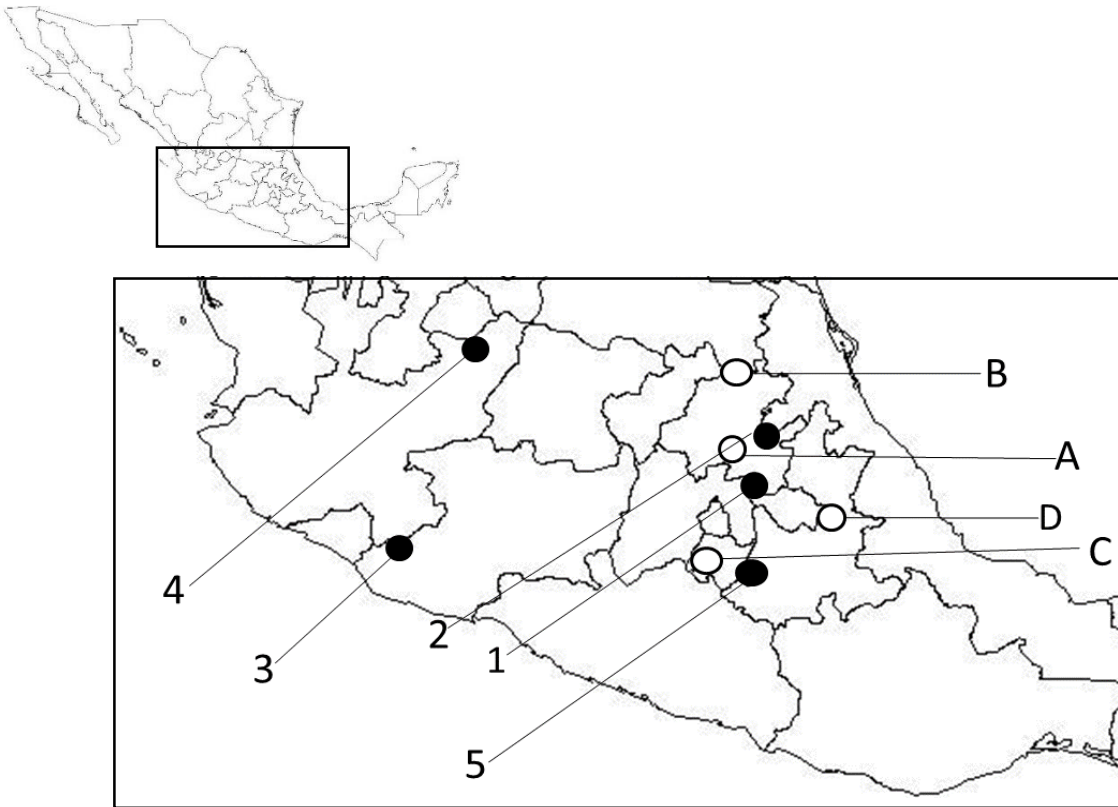


Figura 1. Sitios de colecta alopátridos: 1= Tlaxco, Tlaxcala; 2= Molango, Hidalgo; 3= Tecatitlán, Jalisco; 4= Cerro del Muerto, Aguascalientes; 5= Coajomulco, Morelos. Sitios simpátricos: A= Mineral El Chico, Hidalgo; B= Cardonal, Hidalgo; C= Huitzilac, Morelos; D= Omitlán de Juárez, Hidalgo.

Sitios de estudio

Se seleccionaron cuatro sitios simpátricos: Mineral del Chico (*Q. glabrescens*, *Q. obtusata*), Cardonal (*Q. glabrescens*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa*), Huitzilac (*Q. glabrescens*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. laeta*) y Omitlán de Juárez (*Q. glabrescens*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. laeta*, *Q. potosina*), entre *Q. glabrescens* y especies asociadas de encinos blancos a través de un gradiente de riqueza. Además, cinco zonas alopátridas: Tlaxco (*Q. glabrescens*), Molango (*Q. obtusata*), Tecatitlan (*Q. rugosa*), Cerro del Muerto (*Q. laeta*) y Coajomulco (*Q. potosina*) (Figura 1, Cuadro 3).

Cuadro 3. Nombre de la localidad, estado, especies de encinos por localidad, coordenadas geográficas, tamaño de muestra y altitud de sitios de colecta de *Q. glabrescens* (cuatro poblaciones simpátridas) y sitios alopátridos de *Q. glabrescens*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. laeta* y *Q. potosina* en la región centro de la Faja Volcánica Transmexicana.

Localidad	Estado	Especie	Latitud, longitud (N-O)	Tamaño de muestra	Altitud (m)
Alopátridas					
Tlaxco	Tlaxcala	<i>Q. glabrescens</i>	19°41'46'' - 98°04'54''	20	2588
Molango	Hidalgo	<i>Q. obtusata</i>	20°47'26'' - 98°43'31''	20	1655
Tecatitlán	Jalisco	<i>Q. rugosa</i>	19°24'39'' - 103°11'23''	20	1657
Cerro del Muerto	Aguascalientes	<i>Q. laeta</i>	21°52'23'' - 102°22'50''	20	1914
Coajomulco	Morelos	<i>Q. potosina</i>	19°02'08'' - 99°11'58''	20	2667
Simpátridas					
Mineral El Chico	Hidalgo	<i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i>	20° 12' 52'' - 98° 43' 14''	30	2580
Cardonal	Hidalgo	<i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i> , <i>Q. rugosa</i>	20° 11' 40'' - 98° 44' 32''	30	2898
Huitzilac	Morelos	<i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i> , <i>Q. rugosa</i> , <i>Q. laeta</i>	19° 00' 39'' - 99° 15' 14''	30	2318
Omitlán de Juárez	Hidalgo	<i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i> , <i>Q. rugosa</i> , <i>Q. laeta</i> , <i>Q. potosina</i>	20° 09' 44'' - 98° 39' 15''	30	2522

Antes de realizar todas las colectas botánicas se llevó a cabo una revisión de herbario y de literatura para conocer e identificar aquellos caracteres morfológico-foliareos distintivos de cada especie y así poderlas identificar de manera certera en el campo, esto en los sitios alopátridos. Asimismo, en todos los sitios simpátricos se colectaron hojas de individuos que morfológicamente eran identificados como *Q. glabrescens*. Los ejemplares de herbario fueron determinados por la especialista del grupo, Dra. Susana Valencia Ávalos (Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas, UNAM). Tanto las poblaciones alopátridas como las poblaciones simpátridas se encuentran ubicadas en la FVT, las zonas simpátridas se encuentran a una altitud promedio de 2579 m y las zonas alopátridas de 2096 m.

Datos moleculares

Se colectaron hojas jóvenes (10 hojas) sin daño aparente de 220 individuos, 120 provenientes de cuatro zonas de simpatria (30 plantas por sitio) y 100 de cinco zonas de alopatria (20 plantas por especie). El tejido de las hojas se congeló con nitrógeno líquido y fue transportado al laboratorio de Marcadores Moleculares del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC), UAEM, para la posterior extracción de ADN. El ADN total fue extraído por medio de un DNAeasy Plant Mini Kit (Qiagen Valencia; California, EE.UU.). La concentración de ADN de cada muestra se obtuvo mediante un análisis fluorométrico (Eppendorf, Biophotometer, Hamburgo, Alemania) y la calidad del ADN se estimó mediante la comparación de la intensidad de las bandas con las normas conocidas de ADN de lambda en un gel de agarosa al 0,8%. Finalmente, se diluyeron todas las muestras de ADN a una concentración de 15 ng/μl.

Un total de 18 secuencias cebadoras de microsatélites nucleares fueron probadas. De éstos, únicamente seis amplificaron y presentaron polimorfismo entre individuos, por lo que, los análisis genéticos se realizaron con cuatro loci de microsatélites para *Q. glabrescens*, *Q. rugosa*, *Q. laeta*, *Q. potosina* y *Q. obtusata*. Las secuencias cebadoras seleccionadas son (nSSR): QpZAGG110 (Steinkellner et al. 1997), QpZAG11 (Kampfer et al. 1998), Quru-GA-0E09, y Quru-GA-1C08 (Aldrich et al. 2002).

La mezcla de amplificación para cada muestra contenía 20 mM Tris-HCl (pH 8.4), 50 mM de KCl, 2 mM de MgCl₂, 0.13 mM de cada dNTP, 25 μM de primer, 15 ng de DNA genómico y

0.8 unidades de Taq polimerasa, en un volumen final de 15 μ l. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó en un termociclador marca Mastercycler Eppendorf (AG, Hamburgo) de la siguiente manera: 5 min a 95°C, seguido por 30 ciclos de: 1 min a 94°C c/u, 1 min a 50°C, 30 segundos a 72°C y una extensión final de 8 min a 72°C.

La temperatura de alineación fue cambiada para cada uno de los diferentes primers de microsatélites: 53°C para QpZAGG110 QpZAG11 y Quru-GA-0E09, 50°C para Quru-GA-1C08, 48°C para Mdt1, 46°C para Mdt3 y 44°C para Mdt4. Todos los ciclos de hibridación se prolongaron durante 1 min. Todos los primers utilizados fueron 5' marcados con fluoresceína. Los productos del PCR se solucionaron en geles de agarosa al 4% a 60 W durante 1.5 h. Dependiendo de la intensidad de las bandas en el gel de agarosa de prueba, éstos se diluyeron 1:10 - 1:90 con agua desionizada. Los fragmentos polimórficos obtenidos fueron secuenciados en un secuenciador automático marca ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems, CA, EE.UU.) utilizando 9,5 ml de formamida (Applied Biosystems, CA, EE.UU.), 0,5 ml de ROX 500 (Applied Bisystems, CA, EE.UU.) además, se utilizó como estándar de tamaño y 1 ml de cada producto de PCR. Los alelos fueron evaluados utilizando el software GeneMapper ver. 3.7 (Applied Biosystems, CA, EE.UU.).

Análisis estadístico

Se decidió realizar los análisis con el programa estadístico STRUCTURE versión 2.1 (Pritchard et al. 2000), debido al hecho de que es un programa que ha sido ampliamente utilizado en sistemas de hibridación y, a que ha sido el programa más utilizado en complejos multiespecie.

El programa STRUCTURE se basa en un método bayesiano de agrupamiento de datos no agrupados. Las ventajas de este programa se basan en el hecho de que a partir de las frecuencias alélicas de los individuos presentes en cada locus, asigna a los individuos a poblaciones “K” (donde “K” puede ser desconocido) al cluster correspondiente (poblaciones separadas), además, indica el número de clusters o poblaciones involucradas en la muestra. Si las frecuencias alélicas indican que los individuos se mezclan, STRUCTURE los asigna a dos o más poblaciones.

Además, realiza la asignación de individuos a Clusters en función de su parecido genético “Q” (Representa una estimación de la proporción que el genoma de un individuo tiene de las

poblaciones parentales). En este estudio y, tomando como base los criterios de Evanno et al. (2005) y Curtu et al. (2009) se decidió que todos aquellos individuos con una “ Q ” ≥ 0.9 serían considerados como individuos puros dentro de los sitios alopátridos, mientras que, en los sitios simpátricos todos aquellos individuos con una “ Q ” ≤ 0.89 serían considerados como individuos híbridos. Por último, dentro de los sitios simpátricos en caso de encontrar individuos con genoma de tres o más especies en un porcentaje ≥ 0.10 estos serían considerados como trihíbridos, y/o (en caso de existir) tetra o penta-híbridos.

Para poder analizar a las cinco poblaciones alopátridas, dentro del programa STRUCTURE se eligió el “modelo no mixto” (los individuos son discretamente de una población o de otra población “ K ”).

En contraparte, para analizar a las cuatro poblaciones simpátridas, dentro del programa STRUCTURE se eligió el “modelo de vinculación” (como el modelo anterior, pero con loci ligados, tienen más probabilidades de provenir de la misma población). Se analizó en cada sitio a las especies involucradas de cada sitio simpátrido, (debemos recordar que los individuos colectados en dicho sitios morfológicamente pertenecían a la especie *Q. glabrescens*).

Para la realización de los análisis estadísticos, STRUCTURE fue corrido utilizando el modelo de mezcla con las frecuencias alélicas correlacionadas y sin información previa. Asimismo, para todas las corridas se utilizó un periodo de quema de 50,000 repeticiones seguido de 100,000 iteraciones de la cadena Markov-Montecarlo. De manera adicional para darle mayor fortaleza a los datos obtenidos y con base en los criterios propuestos por Evanno et al. (2005), se eligió el valor más probable de K , que resultó de utilizar el valor máximo de ΔK .

Para poder visualizar y editar los gráficos de los resultados otorgados por el programa STRUCTURE, se utilizó la versión 9.01 del programa “GHOSTSCRIP” (www.ghostscript.com) y la versión 5.0 del programa “GHOSTVIEW” (pages.cs.wisc.edu).

Por último, para obtener la heterocigosis esperada (He), dentro del programa estadístico STRUCTURE, se utilizó el “modelo no mixto” (individuos son discretamente de una población o de otra).

RESULTADOS

De acuerdo a los valores de probabilidad logarítmica se obtuvieron cinco grupos: $\ln P(D) = -7337.23$. En consecuencia, STRUCTURE determinó cinco grupos genéticos bien delimitados, lo que concuerda con los cinco fenotipos de especies puras. Además, estos resultados fueron confirmados por los valores de ΔK , indicando que una $K = 5$ es el número más probable de grupos genéticos (Fig. 2). Utilizando el modelo no mixto de mezcla genética en el programa STRUCTURE, las poblaciones alopátridas denotaron una alta proporción de ancestría ($Q > 0.9$) de un solo grupo genético (Fig. 3). En general, estos resultados muestran una clara correspondencia entre las especies designadas y las inferidas por los grupos genéticos.

En general, las poblaciones alopátridas de Tlaxco (Tlax), Molango (Hgo), Tecatitlán (Jal), Cerro del Muerto (Ags) y Coajomulco (Mor) registraron valores $Q > 0.9$, por lo que, se consideraron como grupos genéticamente distintos. Excepto, un individuo de *Q. rugosa*, en la zona alopátrida de Tecatitlán debido a que presentó una $Q = 0.89$, por lo que, fue eliminado para los subsecuentes análisis (Figura 3).

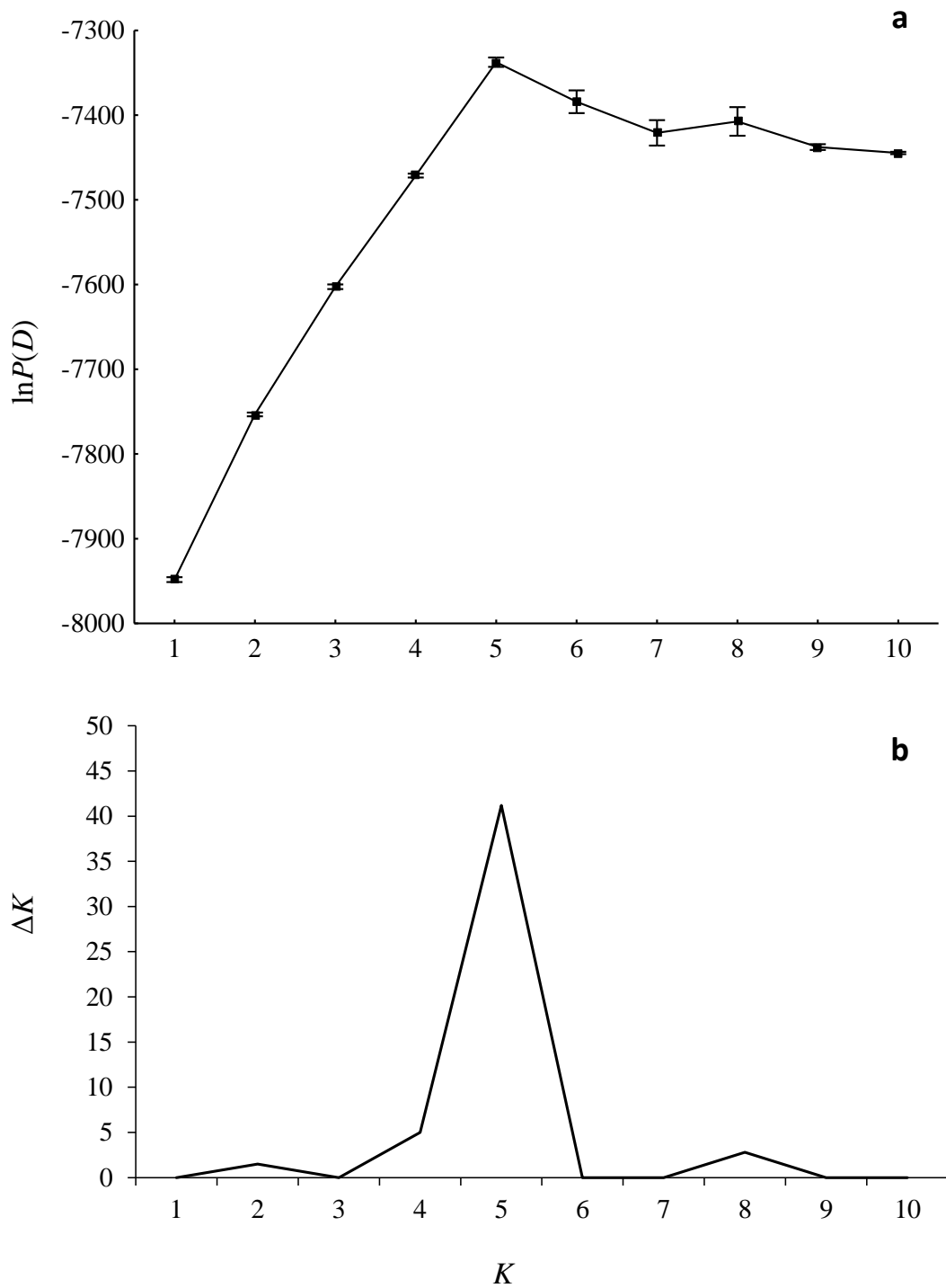


Figura 2. Grupos genéticos estimados (K) mediante el análisis de cluster STRUCTURE: (a) promedio y desviación estándar de $\ln P(D)$ de 10 corridas independientes de STRUCTURE y (b) gráfica del estadístico ΔK con respecto al cluster genético K (de 1 a 10). En ambos casos el pico y número más probable de grupos genéticos.

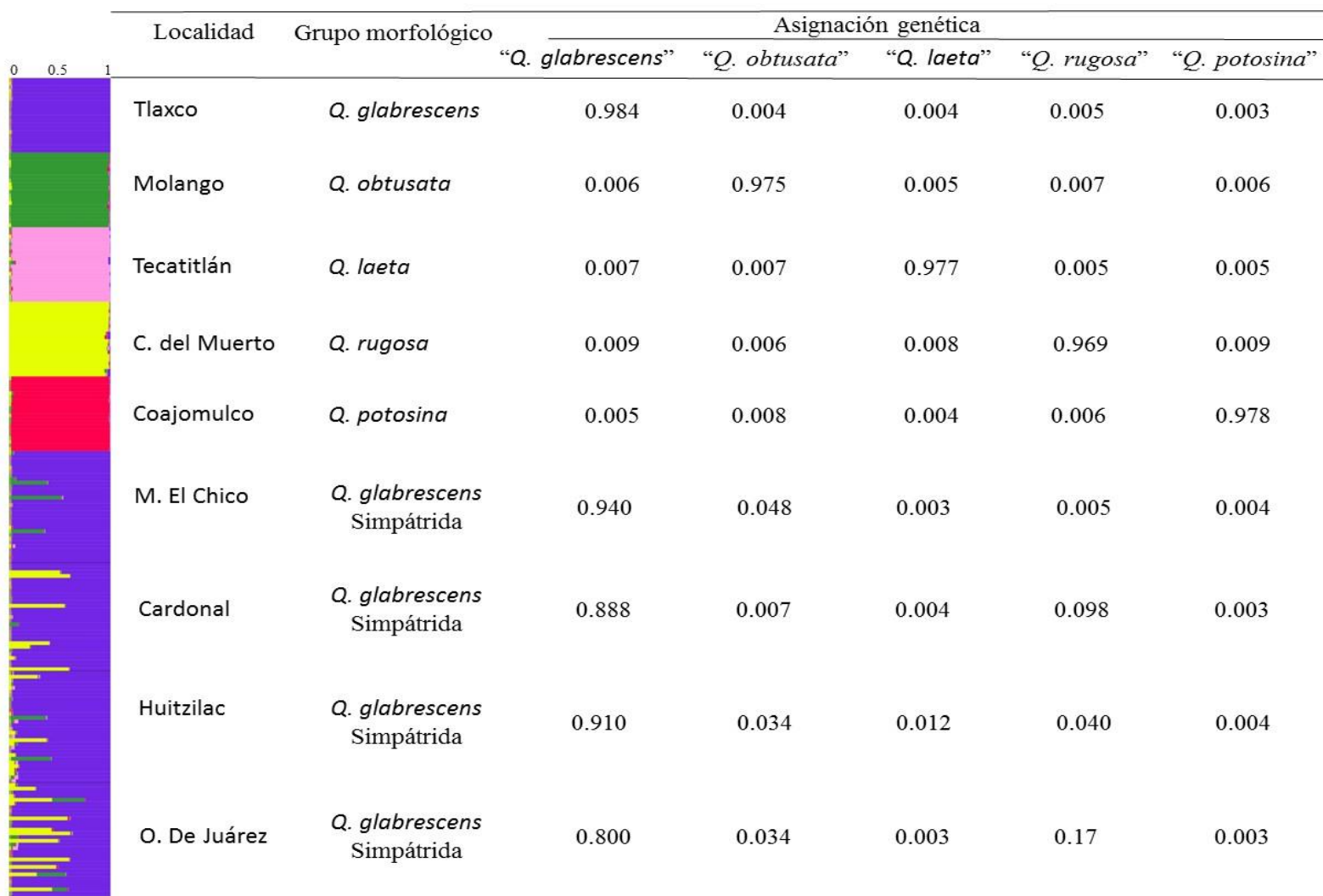


Figura 3. Asignación genética de cinco poblaciones alopátricas que representan las especies puras de *Q. glabrescens*, *Q. obtusata*, *Q. laeta*, *Q. rugosa* y *Q. potosina*, así como cuatro sitios simpátridas basados en los análisis de cuatro nSSRs con métodos Bayesianos mediante el programa STRUCTURE (Cada línea horizontal representa la probabilidad de que los individuos pertenezcan a un grupo genético).

Por otro lado, dentro de las cuatro zonas simpátridas se detectaron individuos híbridos. En la zona simpátrida del Mineral El Chico, se documentó que el 94% del genoma poblacional ($n = 30$) evaluado pertenece a *Q. glabrescens* y un 4.8% corresponde a *Q. obtusata* (Figura 3). Asimismo, en la zona simpátrida de Cardonal, se documentó que el 88.8% del genoma poblacional ($n = 30$) evaluado pertenece a *Q. glabrescens* y un 9.8% pertenece a *Q. rugosa* (Figura 3). Del mismo modo, en la zona simpátrida de Huitzilac el 91% del genoma poblacional ($n = 30$) analizado pertenece a *Q. glabrescens*, el 3.4% pertenece a *Q. obtusata* y un 4% pertenece a *Q. rugosa* (Figura 3). Por último, en la zona simpátrida de Omitlán de Juárez el 80% del genoma poblacional ($n = 30$) evaluado pertenece a *Q. glabrescens*, el 17% pertenece a *Q. rugosa* y el 3.4% pertenece a *Q. obtusata* y (Figura 3).

Q. glabrescens no hibrida con todas las especies de encinos blancos. La zona simpátrida de Huitzilac no se encontró evidencia genética de hibridación con *Q. laeta* (Figura 3). Asimismo, en la zona simpátrida de Omitlán de Juárez no se encontró evidencia genética de hibridación con *Q. potosina*, ni con *Q. laeta* (Figura 3).

En general, los niveles y dirección de la hibridación varía entre zonas simpátridas, es decir, a pesar de la presencia de las diversas especies involucradas en este sistema de estudio, se encontró que *Q. glabrescens* presenta cierta afinidad por hibridar con ciertas especies. Así, en la zona simpátrida de Mineral El Chico se encontró que *Q. glabrescens* hibrida con *Q. obtusata*. No obstante y, a pesar de la presencia de *Q. obtusata* en la zona simpátrida de Cardonal, *Q. glabrescens* hibrida con *Q. rugosa* y no así con *Q. obtusata*. Asimismo, en la zona simpátrida de Huitzilac se encontró que *Q. glabrescens* hibrida con *Q. obtusata* y *Q. rugosa*, además en este mismo sitio *Q. glabrescens* no hibrida con *Q. laeta*. Por último, en la zona simpátrida de Omitlán de Juárez se encontró que *Q. glabrescens* hibrida con *Q. rugosa* y con *Q. obtusata*. Aunado a lo anterior, en esta zona se encontraron tres individuos “trihíbridos” conformados por el genoma de *Q. glabrescens*, *Q. rugosa* y *Q. obtusata*. En contraparte, no hibrida con *Q. laeta* ni con *Q. potosina* (Figura 3).

Cuadro 4. Valores promedio de asignación genética poblacional ($n = 30$) de *Q. glabrescens* en cuatro zonas simpátridas basados en un método bayesiano implementado en el programa STRUCTURE. Valores ≥ 0.1 implican que la contribución genética presente en cada sitio alopátrido fue significativa (en negritas).

Sitio	<i>Q. glabrescens</i>	<i>Q. obtusata</i>	<i>Q. rugosa</i>	<i>Q. laeta</i>	<i>Q. potosina</i>
M. El Chico	0.940	0.048	0.005	0.003	0.004
Cardonal	0.888	0.007	0.098	0.004	0.003
Huitzilac	0.910	0.034	0.040	0.012	0.004
Omitlán de Juárez	0.800	0.034	0.170	0.003	0.003

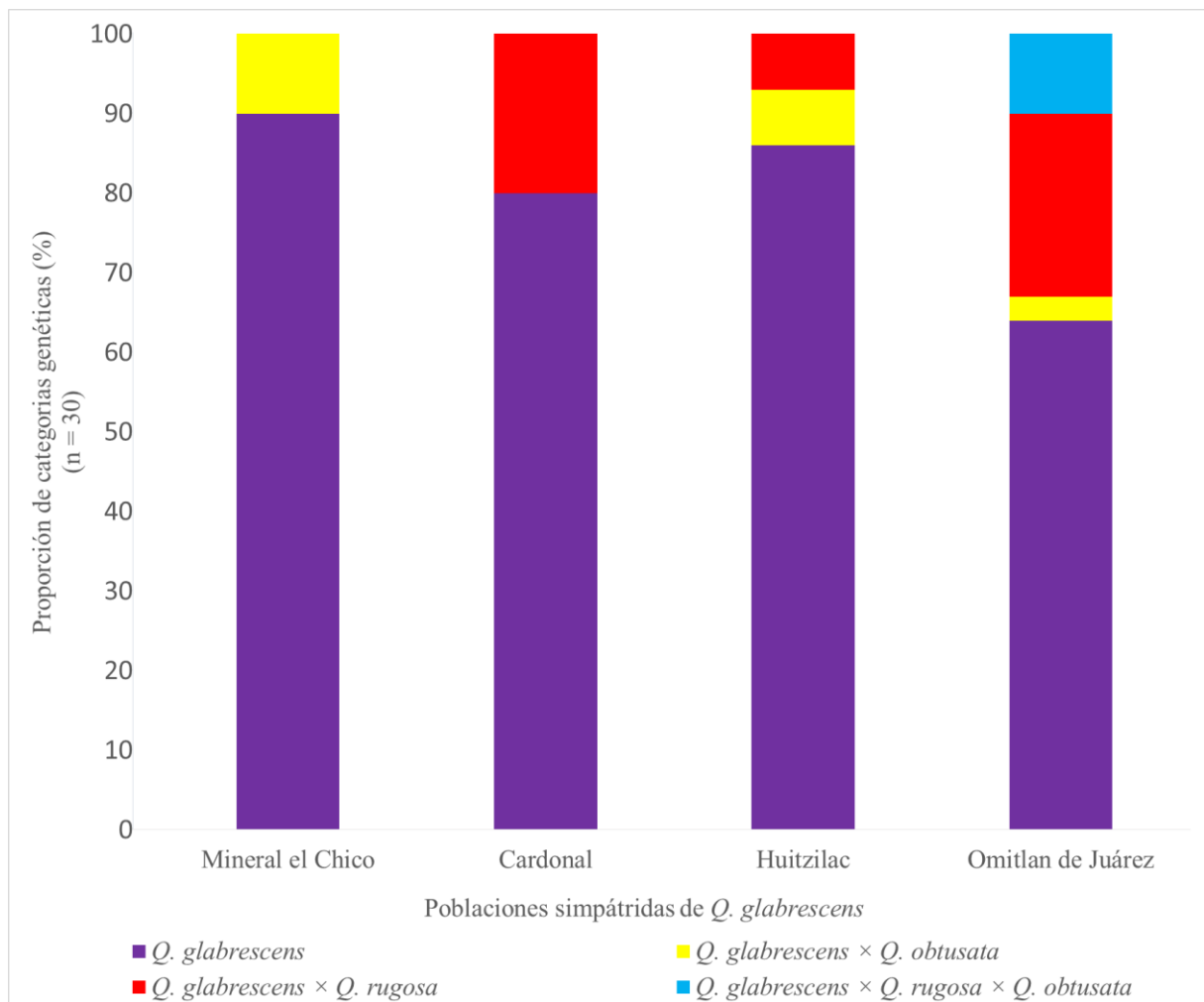


Figura 4. Proporción de categorías genéticas en las poblaciones simpátridas de *Q. glabrescens*, determinados por el programa STRUCTURE.

Los resultados proporcionados por el programa STRUCTURE indican que en el sitio de Mineral el Chico el 90% ($n = 30$) de los individuos analizados son *Q. glabrescens* “puros” mientras que el 10% ($n = 30$) son individuos híbridos entre *Q. glabrescens* × *Q. obtusata*. Asimismo, en el sitio de Cardonal el 80% ($n = 30$) de los individuos analizados son *Q. glabrescens* “puros” mientras que el 20% ($n = 30$) son individuos híbridos entre *Q. glabrescens* × *Q. rugosa*. Por su parte, en el sitio de Huitzilac el 86% ($n = 30$) de los individuos analizados son *Q. glabrescens* “puros” mientras que el 7% ($n = 30$) son individuos híbridos entre *Q. glabrescens* × *Q. obtusata* y el 7% ($n = 30$) restante pertenece a individuos híbridos entre *Q. glabrescens* × *Q. rugosa*. Por último, en el sitio de Omitlán de Juárez el 64% ($n = 30$) de los individuos analizados son *Q. glabrescens* “puros” mientras que el 23% ($n = 30$) son individuos híbridos entre *Q. glabrescens* × *Q. rugosa*, el 10% ($n = 30$) pertenece a individuos “tri-híbridos” entre *Q. glabrescens* × *Q. rugosa* × *Q. glabrescens* y el 3% ($n = 30$) corresponde a individuos híbridos entre *Q. glabrescens* × *Q. obtusata* (Figura 4).

Por último, mediante la utilización del programa STRUCTURE de manera general se encontró que, conforme se incrementaban el número de especies asociadas a *Q. glabrescens*, se incrementaba su *He*. Por lo que, los resultados obtenidos en este estudio apoyan que el incremento en la *He* en *Q. glabrescens* puede estar siendo favorecido por los procesos de hibridación en este gradiente de encinos blancos asociados en la FVT (Cuadro 5).

Cuadro 5. Valores de heterocigosis esperada (*He*) en poblaciones de *Q. glabrescens* a través de un gradiente de encinos blancos asociados en el ENT, mediante cuatro primers de microsatélites.

Localidad	<i>Q. glabrescens</i> (<i>He</i>)	Especies Asociadas	Especies
Tlaxco	0.4770	0	<i>Q. glabrescens</i>
Mineral El Chico	0.4091	2	<i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i>
Cardonal	0.6414	3	<i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i> , <i>Q. rugosa</i>
Huitzilac	0.6119	4	<i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i> , <i>Q. rugosa</i> , <i>Q. laeta</i>
Omitlán de Juárez	0.7875	5	<i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. obtusata</i> , <i>Q. rugosa</i> , <i>Q. laeta</i> , <i>Q. potosina</i>

Tomando como base a los cuatro microsatélites analizados en este estudio, y, la utilización del programa estadístico STRUCTURE sin ninguna información previa de la morfología fueron asignados tanto los individuos puros como híbridos, existiendo una excelente correspondencia entre los sitios de colecta (alopátridos) y la asignación genética en las poblaciones alopátridas. Asimismo, para la asignación de los individuos híbridos en las zonas simpátridas, se utilizó el

modelo de mezcla con 10^6 iteraciones y un periodo de quema 50 000 repeticiones obteniendo los resultados previamente mostrados.

DISCUSIÓN

Asignación genética de especies de encinos blancos

En general, la identificación morfológica-foliar de especies de encinos fue apoyada por los análisis de cuatro microsatélites nucleares que detectaron un número similar de grupos genéticos bien definidos. Lo anterior, coincide con el mismo número de especies de encinos blancos que están comprendidas en este estudio. En este sentido, Evanno et al. (2005) documentan que tanto el número de secuencias cebadoras empleadas como el tamaño de muestra (número de individuos) son relevantes en la adecuada detección del número de grupos genéticos. Diversos autores proponen que cuando las poblaciones se encuentran fuertemente aisladas, el uso de 5 o 6 secuencias cebadoras de microsatélites puede ser suficiente para identificar las especies puras utilizando el programa STRUCTURE (Craft et al. 2002, Salvini et al. 2009, Moran et al. 2012). En este estudio la utilización de cuatro secuencias cebadoras (nSSR's) y el uso de 30 individuos por zona simpátrida fueron suficientes para delimitar adecuadamente el número de grupos genéticos, lo que sugiere que cada una de las especies de encinos estudiadas está bien delimitada genéticamente.

Asimismo, en este estudio se detectó que los individuos de cada población alopátrida de *Q. glabrescens*, *Q. rugosa*, *Q. laeta*, *Q. potosina* y *Q. obtusata* fue asignada de manera particular a un grupo genético ($Q > 0.9$), lo que sugiere que las especies no tienen una contribución significativa de otra especie de encino (Lepais et al. 2009), por lo que, fueron asignadas como “puras” indicando que cada especie de encino sigue manteniendo su propia identidad genética.

Hibridación de *Q. glabrescens* con encinos blancos en zonas mixtas

En este estudio, se registró que el porcentaje de hibridación entre sitios varía de 10% a 36% (promedio \pm D.E., 23 ± 14.1 %). Estos valores son similares a los reportados por Lepais et al. (2009) quienes documentan que el porcentaje de hibridación entre sitios varía entre 10.7% y 30.5% (*Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pirenaica*, y *Q. pubescens*). Por su parte, Curtu et al. (2007) evaluaron el

flujo genético interespecífico entre las especies *Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*, y *Q. frainetto* registrando que los niveles de hibridación varían 1.7 % a 16.2 % entre pares de especies. Asimismo, Curtu et al. (2009) reporta en un complejo multiespecie que el porcentaje promedio de hibridación es de 27.5%.

Las variación entre los porcentajes de hibridación y entre los pares de especies en las zonas mixtas pueden ser explicadas debido a las diferencias en las barreras reproductivas entre especies de encinos, así como por las variaciones ambientales entre las zonas (Petit et al. 2002; Abadie et al. 2012). Por ejemplo, Lepais et al. (2009) sugieren que la fortaleza de las barreras reproductivas en encinos puede ser un factor que limite el fenómeno de hibridación en las especies *Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens* y *Q. pyrenaica*. Por lo anterior, es probable que algunas especies de encinos blancos que se encuentran en simpatría con *Q. glabrescens* sean más propensas de hibridar con ésta, lo que puede explicar en parte la mayor frecuencia de hibridación de *Q. glabrescens* × *Q. rugosa*, *Q. glabrescens* × *Q. obtusata* y la no presencia de híbridos entre *Q. glabrescens* y las especies *Q. laeta* o *Q. potosina*.

En cada zona simpátrida las especies de encinos blancos seleccionados se caracterizaban por ser dominantes del dosel, sin embargo, no se evaluó la densidad de cada especie por localidad. Lo anterior, puede ser un factor que influya en los patrones de hibridación entre especies, como proponen Lepais et al. (2009), quienes sugieren que la abundancia relativa de las especies parentales pueden ser una de las principales barreras reproductivas, afectando la dinámica con la que se lleva a cabo la hibridación entre especies.

La no detección de individuos híbridos entre *Q. glabrescens* y las especies *Q. laeta* o *Q. potosina*, puede deberse a mecanismos de aislamiento reproductivos asimétricos (Lowry et al. 2008). Por ejemplo, Abadie et al. (2012) encontraron que el aislamiento reproductivo existente entre *Quercus robur* y *Q. petraea* se debe principalmente a las barreras que presentan el tubo polínico, la tasa de germinación y la producción de bellotas. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que más del 60% del aislamiento reproductivo puede ser explicado por barreras precigóticas. Los autores sugieren que, diferencias genéticas existentes entre las especies parentales sumadas a una alta sensibilidad a variaciones microambientales pueden explicar una tasa de aislamiento reproductivo tan alta. Por lo anterior, se sugiere realizar futuros estudios que evalúen las barreras reproductivas entre *Q. glabrescens*, *Q. laeta* y *Q. potosina*.

En general, los sitios de estudio se caracterizaron por tener la misma historia geográfica, todos ubicados en la región centro de la Faja Volcánica Transmexicana (FVT), tener el mismo tipo de clima (templado subhúmedo), la misma altitud (entre 2318 a 2898 m), el mismo tipo de vegetación (bosque maduro) y, además, todas las localidades estaban asociadas a suelos profundos y con pendientes. La FVT es un sistema orográfico que atraviesa al país de costa a costa por su parte central en dirección este-oeste, y es considerada geológicamente como el sistema montañoso más joven. Se sugiere que su evolución inició durante el Terciario Medio con la formación de la porción occidental, seguida del desarrollo de la porción central y oriental durante el Plioceno-Cuaternario (Ferrusquía-Villafranca 1993). La FVT se caracteriza por presentar una topografía compleja, que favorece una amplia variedad de ambientes, hábitats y microhábitats (Challenger 1998), por lo que, ésta variación ecológica entre sitios puede promover la variación en el aislamiento de barreras entre especies (Lepais et al. 2009, Abadie et al. 2012). Lo anterior, puede ser un factor que explique la dirección y la frecuencia de hibridación entre *Q. glabrescens* y las especies de encinos blancos que crecen en simpatría con ésta en la FVT.

Asimismo, se sugiere que, al estar ubicados los sitios de estudio en la cercanía de carreteras y asentamientos humanos, éstos pueden promover algún grado de disturbio en la zona. En este sentido, ha sido documentado que un factor importante que puede modificar la dinámica de las poblaciones estudiadas son los disturbios (e.g., tala de árboles para incrementar el área para construir viviendas), ya que éstos pueden afectar la dirección en los patrones de hibridación, así como la abundancia de las especies y por último puede determinar el éxito potencial de los individuos híbridos o de los parentales (determinado por las características fenotípicas de los individuos). Por ejemplo, Tovar-Sánchez y Oyama (2004) estudiaron a *Q. crassipes* y *Q. crassifolia* en cinco zonas híbridas en la FVT encontrando que, conforme se incrementaba el grado de disturbio, mayor era la cantidad de individuos híbridos encontrados. Además, los disturbios pueden provocar cambios en los patrones fenológicos de las especies (debilitando barreras precigóticas), facilitando con ello la hibridación entre especies (Carlquist 1974, Soltis y Soltis 2009).

En ese sentido, estudios recientes mencionan que la estructura espacial de las poblaciones y las abundancias relativas de las especies parentales tienen un efecto significativo sobre la hibridación, así como su dirección (Buerkle 2009, Lepais et al. 2009, Field et al. 2010). Curtu et

al. (2009) encontraron que cuando convergen diversas especies y se forma un *enjambre híbrido* (cuando la introgresión se da en diversos grados y existen cruza entre los individuos híbridos, Rhymer y Simberloff 1996), la mayoría del polen efectivo presente en el sitio de estudio, pertenecía a una sola especie parental, lo que podría indicar que la frecuencia de hibridación entre *Q. glabrescens* × *Q. rugosa* puede estar favorecida por la abundancia de los individuos de *Q. rugosa* en los sitios de estudio y en consecuencia por la alta cantidad de polen que producen en relación a las otras especies que se establecen en simpatria.

A pesar del recurrente fenómeno de hibridación que registró *Q. glabrescens* con *Q. rugosa* y *Q. obtusata* en este estudio, los análisis de STRUCTURE sugieren que las poblaciones de *Q. glabrescens* sigue manteniendo su propio grado de cohesión genética. Lo anterior, es apoyado por los estudios de Kremer et al. (2002) (*Q. robur* y *Q. petraea*) y Tovar-Sánchez y Oyama (2004) (*Q. crassipes* y *Q. crassifolia*) quienes documentan que las especies parentales putativas que evaluaron se mantenían distintas, a pesar de la recurrente hibridación entre ellas.

Hibridación de *Q. glabrescens* en zonas mixtas

En la zona mixta del Mineral El Chico, conformada por *Q. glabrescens* y *Q. obtusata* se encontró que hay un porcentaje de hibridación de 10% (Figura 3). Esto podría explicarse porque el pico de floración de estas dos especies coincide durante los meses de abril y mayo. Asimismo, *Q. obtusata* en este sitio de estudio se encuentra en los límites superiores de su distribución altitudinal (2580 m) (Valencia 2004), por lo que, la presencia de individuos híbridos en dichas zonas puede deberse al rompimiento de las barreras reproductivas provocado por el estrés de encontrarse en el límite de la distribución (Williams et al. 2001). Por ejemplo, se ha sugerido que las poblaciones que se encuentran en los límites de su distribución espacial (poblaciones periféricas), presentan una menor abundancia debido a que suelen ocupar una menor área en comparación con las poblaciones con distribución más céntrica (Abbitt et al. 2000), así como una menor cantidad de polen y son más susceptibles a presentar hibridación con sus especies cercanas filogenéticamente. Por lo anterior, se puede sugerir que la población periférica de *Q. obtusata* puede estar propensa a eventos de hibridación, ya que está asociada directamente con la altitud, siendo una periferia geográfica y ecológica (Lesica y Allendorf 1995).

Asimismo, se considera que la supervivencia de los individuos híbridos en las poblaciones periféricas puede deberse a que ellos se establecen en diferentes gradientes en donde se encuentran mejor adaptados que las especies parentales (Freeman et al. 1999). Por ejemplo, Himrane et al. (2004) proponen que las variaciones morfológicas y ecofisiológicas del híbrido *Q. subpyrenaica* favorecen que tengan una mayor amplitud de distribución geográfica en relación a las especies parentales (*Q. faginea* y *Q. pubescens*).

Para el caso Cardonal, zona mixta formada por *Q. glabrescens*, *Q. obtusata* y *Q. rugosa* se documentó que *Q. glabrescens* hibrida únicamente con *Q. rugosa*, de los 30 individuos analizados el 20% son híbridos (Figura 3). Lo anterior, sugiere que la presencia física de individuos de *Q. glabrescens* y *Q. obtusata* en esta localidad no necesariamente implica el establecimiento de individuos híbridos, sugiriendo que las variaciones ecológicas entre ambientes son un factor que promueve cambios en la expresión de barreras reproductivas entre especies. Por ejemplo, Jensen et al. (2009) evaluaron los niveles de hibridación entre *Q. robur* y *Q. petrea* en diferentes sitios de un bosque mixto en Dinamarca. Los autores sugieren que los cambios en la presencia/ausencia de hibridación entre localidades, pueden ser promovidas por las condiciones ambientales que originan cambios en la expresión de barreras reproductivas. Por otro lado, los resultados obtenidos en este estudio muestran que la hibridación entre *Q. glabrescens* y *Q. rugosa* está presente en todas las zonas de simpatria, cambiando el porcentaje de hibridación entre sitios. Estos resultados son congruentes con lo reportado por Núñez-Castillo et al. (2010) quienes documentan hibridación en este mismo complejo mediante morfología foliar. Lo anterior, sugiere que *Q. rugosa* presenta una mayor afinidad genética con *Q. glabrescens* que las otras especies de encinos blancos involucrados en este estudio. Probablemente, la amplitud del intervalo de distribución geográfica que registra *Q. rugosa* (se distribuye en 22 estados de la República Mexicana, Valencia 2004) y su dominancia en el dosel de los encinares sea un factor que contribuya a que el fenómeno de hibridación sea más frecuente con *Q. glabrescens*.

En la zona híbrida de Huitzilac conformada por *Q. glabrescens*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa* y *Q. laeta* se encontró que de los 30 individuos analizados 14% son híbridos. En esta zona híbrida, el fenómeno se dividió entre tres de las cuatro especies involucradas, ya que *Q. laeta* no registró eventos de hibridación, el 7% de los individuos híbridos está conformado por *Q. glabrescens* y *Q.*

obtusata y el 7% de los híbridos restante está conformado por *Q. glabrescens* y *Q. rugosa* (Figura 3).

En particular, en este estudio no se detectaron individuos híbridos entre *Q. glabrescens* y *Q. laeta*, lo que sugiere que las barreras reproductivas entre estas dos especies son muy fuertes. También, el no solapamiento en los picos florales puede estar limitando el flujo genético horizontal entre estas especies, ya que *Q. glabrescens* florece de marzo a abril y *Q. laeta* florece de mayo a julio. Esta diferencia fenológica, al menos en este sitio forma una fuerte barrera precigótica que impide que la hibridación se lleve a cabo. Sin embargo, es importante considerar que un muestreo más exhaustivo podría corroborar si efectivamente la hibridación entre estas especies puede o no ocurrir. Por ejemplo, Lepais et al. (2009) documentan que registraron un incremento de individuos híbridos conforme se intensificó el tamaño de muestra, por lo que, se sugieren realizar estudios futuros con una mayor intensidad de muestreo y realizar pruebas de cruces entre especies para apoyar o rechazar esta hipótesis.

Por último, en la zona mixta de Omitlán de Juárez formada por *Q. glabrescens*, *Q. obtusata*, *Q. rugosa*, *Q. laeta* y *Q. potosina* se documentó que de los 30 individuos analizados, el 36% son híbridos. De estos individuos, el 23% está conformado por el complejo *Q. glabrescens* × *Q. rugosa*, el 3% está conformado por el complejo *Q. glabrescens* × *Q. obtusata* y el 10% está conformado por individuos “tri-híbridos” conformados por *Q. glabrescens* × *Q. rugosa* × *Q. obtusata* (Figura 3). Este sitio contiene el mayor número de encinos blancos con los que está en simpatria *Q. glabrescens* y, donde más híbridos fueron detectados con un mayor número de combinaciones genéticas. Probablemente, la pérdida de heterogeneidad y/o la reducción en la densidad de las poblaciones puede provocar que las comunidades multiespecie lleguen a formar *enjambres híbridos* en algunas poblaciones, aunque en otras poblaciones estas mismas especies se mantengan coexistiendo sin formar híbridos (Seehausen et al. 2008).

Debido al estudio tradicional con dos especies parentales y la contribución genética que estas representan dentro de las zonas híbridas, se tienen pocos datos que puedan ser considerados como parte de la explicación a la formación de individuos trihíbridos. A pesar de ello, Rieseberg y Wendell (1993) y Kaplan y Fehrer (2007) sugieren que para que se forme un tri-híbrido debe de haber primero la formación de individuos híbridos fértiles entre al menos dos especies parentales, posteriormente debería de haber cruces entre estos híbridos y una tercer especie o con individuos

híbridos provenientes del flujo genético entre la combinación de diferentes especies. Por ejemplo, se han detectado individuos tri-híbridos en sus sistemas de estudio naturales entre los siguientes complejos *Q. robur* × *Q. petraea* × *Q. pubescens* (Lepais et al. 2009), *Q. sideroxylla* × *Q. hypoleuroides* × *Q. scytiphylla* (Peñaloza-Ramírez et al. 2010) y *Q. castanea* × *Q. crassipes* × *Q. crassifolia* (Valencia-Cuevas 2014).

Relación entre diversidad genética e hibridación

En un estudio previo, Sánchez-Ortiz (2012) documentó que existe un incremento en los niveles de diversidad genética en las poblaciones de *Q. glabrescens* a través de un gradiente de riqueza de encinos blancos. La autora, propone que este patrón puede ser atribuido a eventos de hibridación entre las especies asociadas. Los resultados obtenidos en este estudio, apoyan la hipótesis propuesta por Sánchez-Ortiz (2012), ya que los individuos con morfología atípica de *Q. glabrescens* resultaron ser la combinación genética entre *Q. glabrescens* y algunas de las especies de encinos blancos con los que crece en simpatria. Estos resultados son similares con los obtenidos por Valencia-Cuevas (2014), en un gradiente de encinos rojos asociados a *Q. castanea* en México.

Además, se detectó una relación positiva y significativa entre los valores de diversidad genética de *Q. glabrescens* y el número de individuos híbridos presentes en los sitios simpátricos ($r = 0.87$, $P < 0.01$). Lo anterior, apoya la hipótesis de que la hibridación es un mecanismo que incrementa la diversidad genética de las especies involucradas en dicho proceso (Collado-Romero et al. 2010, Field et al. 2010, Zapala et al. 2010, Sánchez-Ortiz 2012, Valencia-Cuevas 2014). Además, la hibridación incrementa los niveles de heterocigocidad y genera una nueva combinación de la información genética que contienen aquellos individuos que están pasando por este proceso (Moody y Les 2007, Wolfe et al. 2007).

Estos resultados son consistentes con los encontrados con Field et al. (2010) en un estudio realizado con *Eucalyptus aggregata* y *E. rubida*. Los autores encontraron que existía una introgresión hacia *E. aggregata* y que, en la zonas híbridas la *He* era mayor que en cualquiera de las zonas alopátricas. Por su parte, Tovar-Sánchez et al. (2008), utilizando microsátélites de cloroplasto, encontraron que la diversidad genética que se encontraba en las zonas híbridas de

Quercus crassifolia y *Q. crassipes* era mayor que en las zonas en donde se encontraba únicamente alguna de las especies parentales.

CONCLUSIONES

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

- 1.- La frecuencia y la dirección de la hibridación es contexto-dependiente de la localidad. En general, el hecho de que las especies de encinos blancos se establezcan en simpatría no necesariamente implica eventos de hibridación.
- 2.- La hibridación es un fenómeno que incrementa la diversidad genética de las especies involucradas en dicho proceso.
- 3.- En este estudio no se detectó que *Q. glabrescens* hibride con *Q. laeta* o *Q. potosina*.
- 4.- Se registró una mayor frecuencia de hibridación entre *Q. glabrescens* y *Q. rugosa*, seguida de *Q. glabrescens* y *Q. obtusata*. La frecuencia de hibridación varía entre sitios simpátricos.
- 5.- En el sitio con el mayor número de encinos blancos (Omitlán de Juárez) establecidos en simpatría, se documentó la presencia de individuos tri-híbridos (*Q. glabrescens* × *Q. rugosa* × *Q. obtusata*).
- 6.- Se deben realizar más estudios de hibridación en complejos multiespecie para conocer la dinámica que ocurre cuando se involucran a tres o más especies.
- 7.- Se considera que se deben realizar más muestreos en otros sitios de simpatría donde se encuentren las especies involucradas en este estudio, con la finalidad de robustecer los eventos de hibridación detectados en este estudio.
- 8.- Ahora que ha sido confirmado que, en este gradiente de encinos blancos asociados se presentan eventos de hibridación multiespecífica, se sugiere que, sería de gran utilidad realizar otro estudio pero utilizando marcadores macro y micro morfológicos para ver cuáles son los impactos que tiene la hibridación tanto en las especies parentales como en los individuos híbridos.
- 9.- En diversos estudios realizados con comunidades de artrópodos asociadas a especies de encinos, se ha encontrado que la diversidad genética de las especies hospederas tiene repercusiones directas sobre las comunidades asociadas (a mayor diversidad genética, mayor

diversidad de artrópodos asociados), por lo que, se considera relevante evaluar los efectos de la diversidad genética sobre las comunidades de artrópodos asociadas al dosel.

LITERATURA CITADA

- Abadie P, Roussel G, Dencausse B, Bonnet C, Bertocchi E, Louvet JM, Kremer A, Garnier-Géré P. 2012. Strength, diversity and plasticity of postmating reproductive barriers between two hybridizing oak species (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl.). *Journal of Evolutionary Biology*. 25: 157-173.
- Abbitt RJF, Scott JM, Wilcove DS. 2000. The geography of vulnerability: incorporating species geography and human development patterns into conservation planning. *Biological Conservation*. 96: 169-175.
- Aitken SN, Yeaman S, Holliday JA, Wang T, Curtis-McLane S. 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Journal compilation*. Blackwell Publishing. 95-111.
- Aldrich PR, Michler CH, Sun W, Romero-Severson J. 2002. Microsatellite markers for northern red oak (Fagaceae: *Quercus rubra*). *Molecular Ecology Notes*. 2: 472-474.
- Anderson E. 1948. Hybridization of the habitat. *Evolution*. 2: 1-9.
- Anderson E, Hubricht L. 1938. Hybridization in *Tradescantia*. III. The evidence for introgressive hybridization. *American Journal of Botany*. 25: 396-402.
- Aldridge G, Campbell DR. 2009. Genetic and morphological patterns show variation in frequency of hybrids between Ipomopsis (Polemoniaceae) zones of sympatry. *Heredity*. 102: 257-265.
- Arif IA, Khan HA. 2009. Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32: 9-17.
- Arizaga S, Martínez-Cruz J, Salcedo-Cabrales M, Bello-González MA. 2009. Manual de la biodiversidad de encinos michoacanos. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat)/Instituto Nacional de Ecología (INE-Semarnat). México, D.F.
- Arnold ML. 1994. Natural Hybridization and Louisiana Irises. *BioScience*. 44: 141-147.
- Arnold ML. 1997. Natural hybridization and evolution. Oxford: Oxford University Press. Nueva York.
- Arnold ML, Hamrick JL, Bennett BD. 1990. Allozyme variation in Louisiana irises: a test for introgression and hybrid speciation. *Heredity*. 65: 297-306.
- Athrey NRG, Leberg PL, Klerks PL. 2007. Laboratory culturing and selection for increased resistance to cadmium reduce genetic variation in the least killifish, *Heterandria Formosa*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 26: 1916-1921.
- Bacilieri R, Ducouso A, Petit R, Kremer A. 1996. Mating system and asymmetric hybridization in a mixed stand of European oaks. *Evolution*. 50: 900-908.
- Bárceñas-Pazos GM. 2011. Evaluación tecnológica de la madera de los encinos de la sierra de Álvarez, SLP. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí. 147 pp.
- Barton NH, Hewitt GM. 1989. Adaptation, speciation and hybrid zones. *Nature*. 341: 497-503.
- Bonfil C. 2006. Regeneration and population dynamics oak *Quercus rugosa* at the Ajusco volcano, Mexico. *Ecological Studies*. 185: 155-163.
- Bruschi P, Vendramin G, Busotti F, Grossoni P. 2000. Morphological and molecular differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) in Northern and Central Italy. *Annals of Botany*. 85: 325-333.
- Buerkle CA. 2009. Ecological context shapes hybridization dynamics. *Molecular Ecology*. 18: 2077-2079.
- Burke JM, Arnold ML. 2001. Genetics and the fitness of hybrids. *Annual Review of Genetics*. 35: 31-52.
- Butlin R. 1987. Speciation by reinforcement. *Trends in Ecology & Evolution*. 2: 8-13.
- Caetano-Anollés G, Gresshoff P. 1997. DNA markers: Protocols, applications and overviews. Wiley-Liss, Inc. Nueva York. 5: 173-185.

- Cain AJ, 1954. Animal species and their evolution. Princeton University Press, Princeton. Princeton, Nueva Jersey.
- Cain ML, Andreassen V, Howard DJ. 1999. Reinforcing selection is effective under a relatively broad set of conditions in a mosaic hybrid zone. *Evolution*. 53: 1343-1353.
- Carlquist S. 1974. Island Biology. Columbia University Press. Nueva York.
- Cavender-Bares J, Pahlich A. 2009 Molecular, morphological, and ecological niche differentiation of sympatric sister oak species, *Quercus virginiana* and *Q. geminate* (Fagaceae). *American Journal of Botany*. 96: 1690-1702.
- Challenger A. 1998. UTILIZACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS ECOSISTEMAS TERRESTRES DE MÉXICO: PASADO, PRESENTE Y FUTURO. Comisión Nacional para la Biodiversidad-Universidad Nacional Autónoma de México-Sierra Madre.
- Craft KJ, Ashley MV. 2006. Population differentiation among three species of white oak in northeastern Illinois. *Canadian Journal of Forest Research*. 36: 206-215.
- Craft KJ, Ashley MV, Koenig WD. 2002. Limited hybridization between *Quercus lobata* and *Quercus douglasii* (Fagaceae) in a mixed stand in central coastal California. *American Journal of Botany*. 89: 1792-1798.
- Cuenca A. 2001. Variación y estructura genética de una especie de Pino endémica de México (*Pinus nelsonii* SHAW). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria. México D.F. 89 pp.
- Curtu AL, Gailing O, Finkeldey R. 2007. Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community. *BMC Evolutionary Biology*. 7: 218.
- Curtu AL, Gailing O, Finkeldey R. 2009. Patterns of contemporary hybridization inferred from paternity analysis in a four-oak-species forest. *BMC Evolutionary Biology*. 9: 284.
- Dodd RS, Afzal-Rafii Z. 2004. Selection and dispersal in a multispecies oak hybrid zone. *Evolution*. 58: 261-269.
- Dobzhansky T. 1936. Studies on hybrid sterility. II. Localization of sterility factors in *Drosophila pseudoobscura* hybrids. *Genetics*. 21: 113-135.
- Dobzhansky T. 1937. Genetics and the origin of species. Columbia University Press. Nueva York.
- Dobzhansky T. 1940. Speciation as a stage in evolutionary divergence. *American Naturalist*. 74: 312-321.
- Dumolin-Lapègue S, Demesure B, Fineschi S, Le Corre V, Petit RJ. 1997. Phylogeographic structure of white oaks throughout the European Continent. *Genetics*. 146: 1475-1487.
- Dumolin-Lapègue S, Pemonge M, Petit R. 1998. Association between chloroplast and mitochondrial lineages in oaks. *Molecular Biology and Evolution*. 15: 1321-1331.
- Edmands S, Burton RS. 1999. Cytochrome-c oxidase activity in interpopulation hybrids of the marine copepod *Tigriopus californicus*: a test for nuclear-nuclear or nuclear-cytoplasmic coadaptation. *Evolution*. 53: 1972-1978.
- Ellstrand NC, Whitkus R, Rieseberg LH. 1996. Distribution of spontaneous plant hybrids. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 93: 5090-5093.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*. 14: 2611-2620.
- Ferrusquía-Villafranca I. 1998 Geología de México: Una sinopsis. En: Ramamoorthy TP, Bye R, Lot A, Fa J. (Eds.) Diversidad biológica de México: Orígenes y distribución. Instituto de Biología, UNAM. Mexico D.F.: pp. 3-108.
- Field DL, Ayre DJ, Whelan RJ, Young AG. 2010. Patterns of hybridization and asymmetrical gene flow in hybrid zones of the rare *Eucalyptus aggregata* and common *E. rubida*. *Heredity*. 1-13.
- Fitter AH, Fitter RSR. 2002. Rapid changes in flowering time in British plants. *Science*. 296: 1689-1691.
- Fontdevila A, Moya A. 1999. Introducción a la genética de poblaciones. Ed. Síntesis. Madrid.
- Fontdevila A, Moya A. 2003. Evolución: origen, adaptación y divergencia de las especies. Ed. Síntesis. Madrid.

Freeman DC, Wang H, Sanderson S, McArthur ED. 1999. Characterization of a narrow hybrid zone between two subspecies of big sagebrush (*Artemisia tridentata*, Asteraceae): VII. Community and demographic analyses. *Evolutionary Ecology Research*. 1: 487-502.

Gottlieb LD. 1984. Genetics and morphological evolution in plants. *American Naturalist*. 123: 681-709.

Govaerts R, Frodin DG. 1998 World checklist and bibliography of Fagales: Betulaceae, Corylaceae, Fagaceae and Ticodendraceae. Ed. Royal Botanic Garden. Londres.

González-Rodríguez A, Bain JF, Golden JL, Oyama K. 2004. Chloroplast DNA variation in the *Quercus affinis*-*Q. laurina* complex in Mexico: geographical structure and associations with nuclear and morphological variation. *Molecular Ecology*. 13: 3467-3476.

Grant V. 1958. The regulation of recombination in plants. In: Exchange of genetic material: mechanisms and consequences, cold spring harbor symposium on quantitative biology. (Ed. Cold Spring Harbor). Nueva York.

Grant V. 1981. Plant speciation. Columbia University Press. Nueva York.

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

Harrison RG. 1990. Hybrid zones: windows on evolutionary process. In: Oxford Surveys in Evolutionary Biology. (Ed. DJ. Futuyma and J. Antonovics). Oxford University Press. Oxford.

Harrison RG. 1993. Hybrid zones and the evolutionary process. (Ed. RG Harrison). Oxford University Press. Oxford.

Harrison RG, Bogdanowicz SM. 1997. Patterns of variation and linkage disequilibrium in a field cricket hybrid zone. *Evolution*. 51: 493-505.

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

Holman JE, Hughes JM, Fensham RJ. 2003. A morphological cline in *Eucalyptus*: a genetic perspective. *Molecular Ecology*. 12: 3013-3025.

Howard DJ. 1993. Reinforcement: origins, dynamics and fate of an evolutionary hypothesis. In Hybrid zones and the evolutionary process. (Ed. RG. Harrison): Oxford University Press. Oxford.

Howard DJ, Waring GL. 1991. Topographic diversity, zone width, and the strength of reproductive isolation in a zone of overlap and hybridization. *Evolution*. 45: 1120-1135.

<http://pages.cs.wisc.edu/~ghost/gsvie/get50.htm>

<http://www.ghostscript.com/download/gsdnld.html>

Jarne P, Lagoda JL. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *TREE*. 11: 424-429.

Jensen J, Larsen A, Nielsen LR, Cottrell J. 2009. Hybridization between *Quercus robur* and *Q. petraea* in a mixed oak stand in Denmark. *Annals of Forest Science*. 66: 1-12.

Jensen RJ, Eshbaugh WH. 1976. Numerical taxonomic studies of hybridization in *Quercus* populations of restricted aerial distribution and low taxonomic diversity. *Systematic Botany*. 1: 1-10.

Jiggins CD, Mallet J. 2000. Bimodal hybrid zones and speciation. *TREE*. 15: 250-255.

Judd W, Campbell CS, Kellogg E, Stevens PF, Donoghue MJ. 2002. Plant systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Assoc. Massachusetts.

Kaplan Z, Fehrer J. 2007. Molecular Evidence for a Natural Primary Triple Hybrid in Plants Revealed from Direct Sequencing. *Annals of Botany*. 99: 1213-1222.

Kampfer S, Lexer C, Glössl J, Steinkellner H. 1998. Brief report characterization of (Ga)_n microsatellite loci from *Quercus robur*. *Hereditas*. 129: 183-186.

- Karp A, Edwards KJ. 1998. DNA markers: a global overview. 1-13. En: DNA markers: protocols, applications and overviews: (editores: Caetano-Anollés G, Gresshoff PM.) Wiley, Nueva York.
- Kay KM, Schemske DW. 2008. Natural selection reinforces speciation in a radiation of neotropical rainforest plants. *Evolution*. 62: 2628-2642.
- Kerner A. 1895. The natural history of plants. Vols 1 and 2. Blackie and Son. Londres.
- Kremer A, Dupouey JL, Deans JD, Cottrell J, Csaiki U, Finkeldey R, Espinel S, Jensen J, Kleinschmit J, Van Dam B, Ducouso A, Forrest I, Lopez de Heredia U, Lowe AJ, Tutkova M, Munro RC, Steinhoff S, Badaeu V. 2002. Morphological variation in mixed oak stands (*Quercus robur* and *Quercus petraea*) is stable across western European populations. *Annals of Forest Science*. 59: 777-787.
- Kremer A. 2010. Evolutionary responses of European oaks to climate change. *Irish Forest*. 67: 53-66.
- Lagache L, Klein EK, Guichoux E, Petit RJ. 2013. Fine-scale environmental control of hybridization in oaks. *Molecular Ecology*. 22: 423-436.
- Lahtinen MJ, Pulkkinen P, Helander ML. 1996. Potential gene flow by pollen between English oak (*Quercus robur* L.) stands in Finland. *For Studies* 28: 47-50.
- Lepais O, Petit RJ, Guichoux E, Lavabre JE, Alberto F, Kremer A, Gerber S. 2009. Species relative abundance and direction of introgression in oaks. *Molecular Ecology*. 18: 2228-2242.
- Lesica P, Allendorf FW. 1995. When are peripheral populations valuable for conservation? *Conservation Biology* 9: 753-760.
- Lewontin RC. 1974. The Genetic Basis of Evolutionary Change. Columbia University Press. Nueva York.
- Li WH. 1997. Molecular Evolution. Sinauer. Canada. 388-395.
- Lowry DB, Modliszewski JL, Wright KM, Wu CA, Willis JH. 2008. The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 363: 3009-3021.
- Mallet J. 2005. Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology and Evolution*. 20: 229-237.
- Manos P, Doyle JJ, Nixon KC. 1999. Phylogeny, biogeography and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 12: 333-349.
- Mayr E. 1963. Animal species and evolution. Harvard University Press, Cambridge Massachusetts.
- Mayr E. 1992. A local flora and the biological species concept. *American Journal of botany*. 79: 222-38.
- McMillan WO, Jiggins CD, Mallet J. 1997. What initiates speciation in passion vine butterflies?. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 94: 8628-8633.
- Moody M, Les D. 2007. Geographic distribution and genotypic composition of invasive hybrid watermilfoil (*Myriophyllum spicatum* × *M. sibiricum*) populations in North America. *Biological Invasions*. 9: 559-570.
- Moore WS. 1977. An evaluation of narrow hybrid zones in vertebrates. *Quarterly Review of Biology*. 52: 263-77.
- Moran EV, Willis J, Clark JS. 2012. Genetic evidence for hybridization in red oaks (*Quercus* Sect. Lobatae, Fagaceae). *American Journal of Botany*. 99: 92-100.
- Muller HJ, Pontecorvo G. 1940. Recombinants between *Drosophila* species the F1 hybrids of which are sterile. *Nature*. 146: 199-200.
- Naisbit RE, Jiggins CD, Mallet J. 2003. Mimicry: developmental genes that contribute to speciation. *Evolution and Development*. 5: 269-280.
- Nixon KC. 1993a. Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names. *Annals of Forest Science*. 50: 25s-34s.
- Nixon KC. 1993b. The genus *Quercus* in Mexico. In: Biological Diversity of Mexico origins and distributions. (Ed KC Nixon). Oxford University Press. Nueva York.

- Núñez-Castillo SM, Álvarez-Moctezuma JG, Zavala-Chávez F, Espinosa-Robles P. 2010. Morfología y comportamiento meiótico en el híbrido natural *Quercus glabrescens* × *Quercus rugosa* (Fagaceae). *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 16: 171-177.
- Ortiz-Barrimentos D, Greal A, Nosil P. 2009. The genetics and ecology of reinforcement: implications for the evolution of prezygotic isolation in sympatry and beyond. In: *The Year in Evolutionary Biology 2009. Annals of the New York Academy of Sciences*. 1168: 156-182.
- Peñaloza-Ramírez JM, González-Rodríguez A, Mendoza-Cuenca L, Caron H, Kremer A, Oyama K. 2010. Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Annals of Botany*. 105: 389-399.
- Petit R, Csaikl UM, Bordács S, Burg K, Coart E, Cottrell J, Dam BV, Deans JD, Dumolin-Lapégue S, Fineschi S, Finkeldey R, Gillies A, Glaz I, Goicoechea PG, Jensen JS, König AO, Lowe AJ, Madsen SF, Mátyás G, Munro RC, Olalde M, Pemonge MH, Popescu F, Slade D, Tabbener H, Turchini D, de Vries SGM, Ziegenhagen B, Kremer A. 2002. Chloroplast DNA variation in European white oaks: phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*. 156: 5-26.
- Petit R, Kremer A, Wagner DB. 1993. Geographic structure of chloroplast DNA polymorphisms in European oaks. *Theoretical and Applied Genetics*. 87: 122-128.
- Piñero D, Barahona A, Eguiarte L, Rocha Olivares A, Salas Lizana R. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. En: *Capital Natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. CONABIO, México D.F.: 415-435.
- Powell W, Morgante M, MacDevitt R, G. G. Vendramin GG, Rafalski JA. 1995. Polymorphic simple sequence repeat regions in Chloroplast genomes: Applications to the population genetics of pines. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 99: 7759-7763.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155: 945-959.
- Pounds JA, Fogden MPL, Campbell JH. 1999. Biological response to climate change on a tropical mountain. *Nature*. 398: 611-615.
- Rhymer JM Simberloff D. 1996. Extinction by Hybridization and Introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 27: 83-109.
- Rieseberg LH. 1991. Homoploid reticulate evolution in *Helianthus*: evidence from ribosomal genes. *American Journal of Botany*. 78: 1218-1237.
- Rieseberg LH. 1997. Hybrid origins of plant species. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 28: 359-389.
- Rieseberg LH, Archer MA, Wayne RK. 1999. Transgressive segregation, adaptation and speciation. *Heredity* 83: 363-372.
- Rieseberg LH, Carney SE. 1998. Tansley Review No. 102 Plant hybridization. *New Phytologist*. 140: 599-624.
- Rieseberg, LH, Wendel JF. 1993. Introgression and its consequences in plants. Pages 70-109 in R. G. Harrison, ed. *Hybrid Zones and the Evolutionary Process*. Oxford University Press, Nueva York.
- Rieseberg LH, Van-Fossen C, Desrochers AM. 1995. Hybrid speciation accompanied by genomic reorganization in wild sunflowers. *Nature*. 375: 313-16.
- Riley HP. 1938. A character analyses of colonies of *Iris Fulva*, *Iris hexagona* var. *giganticaerulea* and natural hybrids. *American Journal of Botany*. 25: 727-738.
- Rodríguez-Rivera IS, Romero-Rangel S. 2007. Arquitectura foliar de diez especies de encino (*Quercus*, Fagaceae) de México. *Acta Botánica Mexicana*. 81: 9-34.
- Romero-Rangel S, Rojas C, Aguilar M. 2002. El género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 89: 551-593.
- Romero S, Rojas EC, Garay-Velázquez OH. 2007. Presencia de flores hermafroditas en *Quercus rugosa* (Fagaceae) en el estado de México (México). *Anales del Jardín Botánico de Madrid*. 62: 223-227.

- Rosabelle S. 1999. Identification of hybrids between *Quercus petrae* y *Q. robur* (Fagaceae): results obtained with RAPD markers confirm allozyme studies based on the Got-2 locus. *Plant Systematics and Evolution*. 217: 137-146.
- Rzedowski J. 1978. *Vegetación de México*. Ed. Limusa.
- Rzedowski GC de, Rzedowski J. y colaboradores. 2005. *Flora fanerogámica del valle de México*. 2a. ed., 1a reimp., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán).
- Sabás-Rosales JL. 2011. *Taxonomía, diversidad y distribución de los encinos (Quercus spp.) del estado de San Luis Potosí, México*. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes.
- Salvini D, Bruschi P, Fineschi S, Grossoni P, Kjær ED, Vendramin GG. 2009. Natural hybridization between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd. within an Italian stand as revealed by microsatellite fingerprinting. *Plant Biology*. 11: 758-765.
- Sánchez de Dios R, Benito-Garzón M, Sainz-Ollero H. 2006. Hybrid zones between two European oaks: a plant community approach. *Plant Ecology*. DOI: 10.1007/s11258-006-9136-1.
- Sánchez-Ortiz K. 2012. *Estructura y diversidad genética de Quercus glabrescens a través de un gradiente de encinos blancos asociados*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Morelos.
- Sangarin RD, Barry JP, Gilman SE, Baxter SE, Charles H. 1999. Climate-related change in an intertidal community over short and long time scales. *Ecological Monographs*. 69: 465-490.
- Schueler S, Schlünzen KH, F. Scholz F. 2005. Viability and sensitivity of oak pollen and its implications for pollen-mediated gene flow. *Trends in Ecology and Evolution*. 19: 154-161.
- Seehausen O, Takimoto G, Roy D, Jokela J. 2008. Speciation reversal and biodiversity dynamics with hybridization in changing environments. *Molecular Ecology*. 17: 30-44.
- Servedio MR, Noor MAF. 2003. The role of reinforcement in speciation: theory and data. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 34: 339-364.
- Soltis PS, Soltis DE. 2009. The Role of Hybridization in Plant Speciation. *Annual Review of Plant Biology*. 60: 561-588.
- Silvertown J, Servaes C, Biss P, Macleod D. 2005. Reinforcement of reproductive isolation between adjacent populations in the park grass experiment. *Heredity*. 95: 198-205.
- Stebbins GL Jr. 1950. *Variation and evolution in plants*. Columbia University Press. Nueva York.
- Stebbins GL Jr. 1959. The role of hybridization in evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society*. 103: 231-51.
- Templeton AR. 1981. Mechanisms of speciation a population genetic approach. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 12: 23-48.
- Torretti R. 2010. La proliferación de los conceptos de especie en la biología evolucionista. *THEORIA*. 69: 325-377.
- Tovar-Sánchez E, Mussali-Galante P, Esteban-Jiménez R, Piñero D, Arias DM, Dorado O, Oyama K. 2008. Chloroplast DNA polymorphism reveals geographic structure and introgression in the *Quercus crassifolia* x *Quercus crassipes* hybrid complex in Mexico. *Botany* 86: 228-239.
- Tovar-Sánchez E, Oyama K. 2004. Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: Morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany*. 91: 1352-1363.
- Tremblay A, Lesbarreres D, Merritt T, Wilson C, Gunn J. 2008. Genetic structure and phenotypic plasticity of yellow perch (*Perca flavescens*) populations influences by habitat, predation and contamination gradients. *Integrated Environmental Assessment and Management*. 4: 264-266.
- Valencia AS. 2004. Diversidad del genero *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 75: 33-53.
- Van Valen L. 1977. Ecological species, multispecies, and oaks. *Taxon*. 25: 233-239.
- Walther GR, Post E, Convey P, Menzel A, Parmesan C, Beebee TJC, Fromentin JM, Hoegh-Guldberg O, Bairlein F. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature*. 416: 389-395.

- Weber JL, Wong C. 1993. Mutation of human short tandem repeats. *Human Molecular Genetics*. 2:1123-1128.
- Williams JH, Boecklen WJ, Howard DH. 2001. Reproductive processes in two oak (*Quercus*) contact zones with different levels of hybridization. *Heredity*. 87: 680-690.
- Whitham TG, Morrow PA, Potts BM. 1991. The conservation of hybrid plants. *Science*. 254: 779-780.
- Whittemore AT, Schaal BA. 1991. Interspecific gene flow in sympatric oaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 88: 2540-2544.
- Whitney KD, Ahern JR, Campbell LG, Albert LP, King MS. 2010. Patterns of hybridization in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 12: 175-182.
- Wolfe L, Blair A, Penna B. 2007. Does intraspecific hybridization contribute to the evolution of invasiveness? An experimental test. *Biological Invasions*. 9: 515-521.
- Wu CI. 2001. The genic view of the process of speciation. *Journal of Evolution Biological*. 14: 851-865
- Yauk CL, Quinn JS. 1996 Multilocus DNA fingerprinting reveals high rate of heritable genetic mutation in herring gulls nesting in an industrialized urban site. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, USA*. 93: 12137-12141.
- Zanetto A, Kremer A. 1995. Geographical structure of gene diversity in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. I. Monolocus patterns of variation. *Heredity*. 75: 506-517.
- Zapala JE, Brunet J, Guries RP. 2010. The extent of hybridization and its impact on the genetic diversity and population structure of an invasive tree, *Ulmus pumila* (Ulmaceae). *Evolutionary Applications*. doi:10.1111/j.1752-4571.2009.00106.x
- Zavala-Chávez F. 1995. Consideraciones ecológicas de los encinos del Parque Nacional El Chico, Hidalgo. 98-112. En: III Seminario sobre la utilización de Encinos, Linares, N.L. del 4 al 6 de noviembre de 1992. *Memorias (Tomo II)*. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León
- Zavala F. 2003. Identificación de encinos de México (2ª ed.), Universidad Autónoma de Chapingo. División de Ciencias Forestales. Chapingo. Estado de México.