



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES,
UNIDAD MORELIA

Biología Evolutiva

“Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México”

TESIS

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

PRESENTA:

ALBERTO ESTEBAN PÉREZ PEDRAZA

DIRECTOR DE TESIS: DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD MORELIA

COMITÉ TUTOR: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

MORELIA, MICH., ENERO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES,
UNIDAD MORELIA

Biología Evolutiva

“Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
ALBERTO ESTEBAN PÉREZ PEDRAZA

DIRECTOR DE TESIS: DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD MORELIA

COMITÉ TUTOR: DR. ANTONIO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, CD. MX.

ENERO 2018

UNAM
POSGRADO
Ciencias Biológicas

COORDINACIÓN

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

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

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 06 de noviembre de 2017, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **ALBERTO ESTEBAN PÉREZ PEDRAZA** con número de cuenta 516012368 con la tesis titulada: "Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México" bajo la dirección del **Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa**:

Presidente:	Dra. Susana Valencia Avalos
Vocal:	Dr. César Andrés Torres Miranda
Secretario:	Dr. Antonio González Rodríguez
Suplente:	Dra. Isolda Luna Vega
Suplente:	Dr. Juan Servando Núñez Farfán

Sin otro particular, quedo de usted.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, CD. MX., a 08 de noviembre de 2017.


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS

A las instituciones:

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Por abrirme sus puertas y por el apoyo recibido para los cursos y materias.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM. Que me ayudo a mí formación como persona y como profesional, que me ayudo a adquirir y a generar conocimiento que espero, sea de utilidad para la nación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca de maestría con no. de registro 707533, la cual facilito mí oportunidad de estudiar.

Alas instituciones que otorgaron el apoyo económico para la realización de este trabajo, con el financiamiento de los proyectos PAPIIT-DGAPA UNAM IN213113 e IV201015, CONACYT 240136 y CONACYT CONAFOR 176316 del doctor Ken Oyama.

A mí tutor, el doctor Alberto Ken Oyama Nakagawa. Quien me ayudo en mi formación profesional y me ayudo a encaminar este proyecto, del cual me siento muy orgulloso.

A los miembros del Comité Tutor, el doctor Antonio González Rodríguez y El doctor Juan Servando Núñez Farfán. Por ser excelentes guías en mí proceso de formación, lo cual concluyo en este proyecto, el cual se iba fortaleciendo cada tutorial que compartimos.

A los miembros de mí jurado, en especial a la doctora Susana Valencia, la más destacada taxónoma de encinos, con la cual tuve oportunidad de compartir algunos cursos y momentos, que me permitieron aprender de ella.

Agradecimientos personales:

A mí familia, la cual siempre me ha ayudado a alcanzar mis metas, y me ha brindado su apoyo incondicional.

A mis padres, Esteban Pérez Trujillo y María Araceli Pedraza Ibarra, quienes me apoyan en mis decisiones y me brindan su cariño.

A mis hermanos, Julio Cesar Pérez Pedraza e Ivonne Araceli Pérez Pedraza, los cuales han sido un apoyo muy importante para la realización de este proyecto. En especial Julio, el cual fue mí ayudante, un rato nomas.

A mis compañeros y amigos, el Dr. Cesar, al candidato a Dr. Rafa, al Dr. Jesus Janderel (Chucho) y al Dr. Hernando (Nando). Quienes me ayudaron durante todo el proceso tanto en el trabajo de campo como en el laboratorio de biología molecular.

A la candidata a Dra. Maribel Arenas Navarro, quien me ayudo en todo este proceso hasta el final y ha sido una gran amiga durante su estancia en Morelia.

A mis fieles amigos de toda la vida Carlos Blanco, Rubi Contreras (Drincks), Adolfo Montañez, Jesús Contreras, Dago Valentín y mis demás compas que quiero y estimo.

A Cristopher, Polo, Gloria y Manu, mis compañeros y amigos de ciencias ambientales, con los que vivimos grandes aventuras en campo, las cuales vivirán en mi memoria un buen tiempo.

A mis mascotas, Leia (mí hija la perrita, que tanto quiero), Ludovico (el viejito peleonero que es la onda) y la Alberta (que es bien latosa pero aguanta la carrilla), por darme tanta felicidad.

ÍNDICE	Página
1.ABSTRACT	1
1.INTRODUCCIÓN	3
Género <i>Quercus</i>	3
Diversidad de encinos en México	5
Hibridación e introgresión en <i>Quercus</i>	6
2.OBJETIVO GENERAL	11
Objetivos particulares	11
3.ANTECEDENTES	12
Sistema de estudio	12
Taxonomía	13
Estudios de diferenciación específica e hibridación en <i>Quercus</i>	14
4.METODOLOGÍA	23
Morfología foliar	25
Análisis de formas	29
Estructura genética y flujo génico	32
Divergencia de nicho ecológico.	35
5.RESULTADOS	36
Análisis de variación morfológica	36
Análisis de clúster (UPGMA)	36
Análisis de varianza (ANOVA)	39
Análisis de componentes principales (PCA)	40
Análisis de similaridad (ANOSIM)	42

Análisis canónico de discriminantes (CDA)	43
Correlación de los caracteres morfológicos con el gradiente geográfico	45
Análisis genéticos	48
Diversidad genética	48
Estructura genética (Asignación Bayesiana)	50
Análisis de clúster (UPGMA)	53
Análisis de coordenadas principales	54
Análisis de varianza molecular (ANOVA)	56
Flujo génico	56
Diferenciación de nicho ecológico	61
Análisis de componentes principales (PCA)	61
Análisis de similaridad (ANOSIM)	62
Modelado de nicho por máxima entropía (MAXENT)	63
6.DISCUSIÓN	66
7.CONCLUSIONES	73
8.LITERATURA CITADA	75

ÍNDICE DE TABLAS

Página

Tabla 1. Listado de caracteres útiles para la diferenciación de las especies <i>Q. acutifolia</i> y <i>Q. grahamii</i> (Valencia-Ávalos <i>et al.</i> , 2015).	14
Tabla 2. Trabajos relacionados con la diferenciación e hibridación de especies de encino (género <i>Quercus</i>).	21
Tabla 3. Localidades, estados, provincias biogeográficas (FVTM: Faja Volcánica Transmexicana , SMS: Sierra Madre del Sur, PCP: Planicie costera del Pacífico, AC: Altos de Chiapas, SC: Soconusco), altitud y coordenadas ITRF92 de las poblaciones colectadas.	25
Tabla 4. Listado de caracteres morfológicos utilizados en el análisis comparativo de las especies <i>Q. acutifolia</i> y <i>Q. grahamii</i> .	27
Tabla 5. Valores de medias con error estándar y resultados (F estadística) de ANOVA´s para todos los caracteres de <i>Q. acutifolia</i> y <i>Q. grahamii</i> . p 0.05, **p<0.01, ***p<0.001; ns= no significativo.	39
Tabla 6. Matriz pareada con los resultados del ANOSIM, con los valores de probabilidad generada para los 22 caracteres morfológicos y las 40 marcas de posición.*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; ns= no significativo.	42
Tabla 7. Resultados del test de validación cruzada obtenida a partir de los 22 caracteres seleccionados y las 40 marcas de posición (landmarks).	43

Tabla 8. Correlación de caracteres morfológicos foliares de ambas especies con la latitud, longitud y altitud. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; ns= no significativo. Los caracteres que no fueron significativos para ninguna especie fueron excluidos	47
Tabla 9. Valores de diversidad genética para ambas especies. Na: número de alelos, Ne: número específico de alelos, Pa: alelos privados, He: heterocigocidad esperada, Ho: heterocigocidad observada, Fis: índice de endogamia, Fst: índice de diferenciación genética.	49
Tabla 10. Matriz pareada resultante del ANOSIM, con los valores de probabilidad generada para cada uno de los casos.* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; ns= no significativo.	55
Tabla 11. Análisis de varianza molecular. La prueba fue significativa para los tres niveles.* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; ns= no significativo.	63

ÍNDICE DE FIGURAS	Página
Figura 1. Imágenes de los frutos, hojas y árboles de <i>Q. acutifolia</i> Née.	17
Figura 2. Imágenes de los frutos, hojas y árboles de <i>Q. grahamii</i> Benth.	18
Figura 3. Variación foliar de las especies <i>Q. grahamii</i> (A) y <i>Q. acutifolia</i> (B), presente en las poblaciones colectadas.	19
Figura 4. Sitios de colecta para las especies <i>Q. acutifolia</i> (17 poblaciones) y <i>Q. grahamii</i> (11 poblaciones), colectados a través de la distribución de ambas especies.	24
Figura 5. Imágenes de referencia y posición de las 40 marcas de posición (semi-landmarks) colocadas sobre las imágenes digitalizadas para realizar los análisis de formas (A) y método procrustes de ajuste de datos por mínimos cuadrados (B).	31
Figura 6. Dendograma UPGMA generado a partir de los 22 caracteres morfológicos seleccionados para todas las poblaciones. La barra lateral derecha nos muestra la pertenencia a las especies, el color rojo corresponde a <i>Q. grahamii</i> y el color azul a <i>Q. acutifolia</i> .	37
Figura 7. Análisis de disimilitud de dos vías, generado para el UPGMA. El grupo superior corresponde al grupo de <i>Q. acutifolia</i> , el grupo inferior a <i>Q. grahamii</i> , la población excluida de ambos grupos es la población de Ario de Rosales, la cual corresponde al grupo de <i>Q. acutifolia</i> .	38
Figura 8. Análisis de componentes principales generado a partir de los	41

22 caracteres morfológicos **(A)** y de 40 marcas de posición (landmarks) **(B)**. Los puntos rojos corresponden a *Q. grahamii* (1), los rombos azules a *Q. acutifolia* (2) y los triángulos verdes a las poblaciones de forma intermedia (3).

Figura 9. Análisis canónico de discriminantes generado a partir de las 22 variables morfológicas **(A)** y con las 40 marcas de posición (landmarks) **(B)**. Los triángulos rojos corresponden al grupo de *Q. acutifolia*, los rombos azules corresponden a *Q. grahamii* y los círculos verdes corresponden a las poblaciones que presentaron formas intermedias. 44

Figura 10. Grupos genéticos obtenidos a partir de la inferencia bayesiana en el programa STRUCTURE (K=2). 51

Figura 11. Distribución espacial de los grupos genéticos obtenidos a partir de la inferencia bayesiana, donde el grupo rojo corresponde a *Q. grahamii*, mientras que el grupo verde corresponde a la especie *Q. acutifolia*. 52

Figura 12. Dendograma UPGMA generado a partir del índice de diferenciación genética (F_{st}). Los recuadros de la parte lateral indican la pertenencia a los grupos genéticos, el color verde corresponde al grupo genético de *Q. acutifolia* y el color rojo al grupo genético de *Q. grahamii*. 53

Figura 13. Análisis de coordenadas principales de los grupos genéticos obtenidos a partir de la inferencia bayesiana. Los triángulos rojos corresponden al grupo genético de *Q. grahamii*, mientras que los rombos verdes nos indican el grupo genético de *Q. acutifolia*. 54

Figura 14. Correlación de la distribución de los grupos genéticos con respecto al gradiente altitudinal. Los puntos rojos corresponden <i>Q. grahamii</i> y los puntos azules a la especie <i>Q. acutifolia</i> .	55
Figura 15. Estimación de número de migrantes por generación obtenido en el software MIGRATE v4.0, para todas las poblaciones.	58
Figura 16. Tasas de migración recientes inferidas en el software BAYESASS v3.0, para todas las poblaciones.	59
Figura 17. Discontinuidades del flujo genético detectadas entre poblaciones, los números negros nos indican el valor de bootstrap para cada una de las barreras generadas.	60
Figura 18. PCA generado a partir de las 8 variables bioclimáticas seleccionadas de Cuervo-Robayo <i>et al.</i> (2013). Los puntos rojos corresponden a la especie <i>Q. grahamii</i> (1), los azules a <i>Q. acutifolia</i> (2) y los verdes a poblaciones de formas intermedias (3).	62
Figura 19. Modelado de nicho ecológico para las especies <i>Q. acutifolia</i> (A), <i>Q. grahamii</i> (B) y el área de simpatria calculada para ambas especies (C).	65

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

1. RESUMEN

En México, las especies del género *Quercus* presentan una gran variación fenotípica y una alta diversidad genética, probablemente debido a que sus poblaciones se distribuyen en sitios con una amplia heterogeneidad ambiental y a frecuentes eventos de hibridación e introgresión, por lo que su complejidad taxonómica ha representado un reto para su comprensión. *Quercus acutifolia* y *Q. grahamii* son especies pertenecientes a la serie *Acutifoliae* (Trelease, 1924) representativas de los bosques templados del sureste de México y comparten gran parte de su distribución geográfica. Estas especies presentan una gran variación en la mayoría de sus caracteres y el solapamiento de gran parte de los mismos. Aunado a esto, es posible encontrar individuos con características intermedias, por lo que la diferenciación de ambas especies suele ser problemática.

En este estudio se analizaron los patrones de variación foliar y genética de las poblaciones de estas dos especies en un gradiente latitudinal a nivel regional. Un total de 28 poblaciones (11 de *Quercus grahamii* y 17 de *Q. acutifolia*), fueron colectadas en la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM), en la Sierra Madre del Sur (SMS), en la Planicie Costera del Pacífico (PCP), en los Altos de Chiapas (AC) y en la región de Soconusco (SC). Se midieron 22 caracteres morfológicos foliares y se realizó un análisis de la morfometría geométrica de las hojas en 280 árboles adultos, a lo largo de la distribución de ambas especies. De igual modo, se extrajo ADN de todas las poblaciones y se analizó con 10 microsatélites nucleares. Todo esto con la finalidad de entender los patrones de variación morfológica presentes en ambas especies, conocer los patrones de flujo génico intra-específico e identificar posibles procesos de hibridación. Además, se realizó un análisis de diferenciación de nicho ecológico, para estimar el grado de solapamiento existente entre los nichos de ambas especies, así como modelos de distribución, con la finalidad de identificar las principales zonas potenciales de hibridación.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Los resultados mostraron que existe una diferenciación significativa en el 95% de los caracteres morfológicos estudiados y la formación de dos grupos de poblaciones bien definidos. Sin embargo, la aparición de un pequeño grupo de individuos con morfología intermedia evidenció la complejidad taxonómica de estas especies. Los valores de diversidad genética resultaron ser moderadamente altos para ambas especies, donde *Q. grahamii* ($N=9.42$, $N_a=4.12$, $N_e=2.73$, $H_o=0.557$, $H_e=0.592$) presentó valores de diversidad más altos que los obtenidos para *Q. acutifolia* ($N=9.46$, $N_a=4.02$, $N_e=2.63$, $H_o=0.493$, $H_e=0.556$). Los marcadores moleculares revelaron que existe flujo génico entre las poblaciones de estas dos especies ($N_m=1.56$), sobre todo en las zonas de contacto, en los estados de Guerrero y Oaxaca, sin embargo, existen marcadas discontinuidades al flujo génico entre las poblaciones que no se encuentran dentro del área de simpatria, por lo que se puede apreciar estructura entre las especies ($F_{st}= 0.164$, $G_{st}= 0.162$). Los resultados del análisis de divergencia de nicho indican que ambas especies presentan una distribución altitudinal diferencial, donde las poblaciones de *Q. acutifolia* están regularmente presentes a altitudes entre los 700 m y los 1500 m, mientras que las de *Q. grahamii* están generalmente presentes en zonas superiores a los 2000 m.

Se concluyó que la estructura y distribución de las poblaciones se asemeja al modelo de zona de hibridación por mosaico, ya que la respuesta morfológica y de los genotipos al gradiente altitudinal ha contribuido a mantener la divergencia entre las especies, formando parches aislados de poblaciones puras, rodeados de poblaciones híbridas, las cuales, gracias a su tolerancia ambiental, han logrado colonizar gran parte del gradiente geográfico.

Palabras clave: *Quercus acutifolia*, *Quercus grahamii*, morfología, nicho ecológico, flujo génico.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

1. ABSTRACT

In Mexico, the genus *Quercus* usually presents a wide phenotypic variation of its characters and a high genetic diversity; due mainly to the wide environmental heterogeneity and to its frequent events of introgressive hybridization, reason why its taxonomic complexity has represented a challenge for its understanding. *Q. acutifolia* and *Q. grahamii* are two sister species, belonging to the series *Acutifoliae* (Trelease, 1924), are representative elements of the temperate forests of southeastern Mexico and share much of their distribution. These species present great variation in most of their characters and the overlapping of much of them. In addition, it is possible to find individuals with intermediate characteristics, so that the differentiation of both species is usually problematic.

In this study the patterns of leaf and genetic variation of populations of these two species were addressed through a regional latitudinal gradient. A total of 28 populations were collected in the Transverse Neo-Volcanic Axis (EVTM), Sierra Madre del Sur (SMS), Coastal Plain of the Pacific (PCP), Altos de Chiapas (AC) and Soconusco region (SC). Twenty - two leaf morphological characters were used, as well as an analysis of the forms of 280 adult trees, along the distribution of both species. Similarly, DNA was extracted from all populations and analyzed with 10 nuclear microsatellites. All this in order to understand the patterns of morphological variation present in both species, to know the patterns of intra-specific gene flow and to identify possible hybridization processes. In addition, An ecological niche differentiation analysis was performed to estimate the degree of overlap between the niches of both species, as well as distribution models, in order to identify the main hybridization zones for these species.

The results showed that there is a significant differentiation in 95% of the morphological characters studied, so that the formation of two groups of well defined populations was observed; however, the appearance of a small group of

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

individuals with intermediate morphology, evidenced the taxonomic complexity of these species. The values of genetic diversity were found to be moderately high for both species, where *Q. grahamii* ($N=9.42$, $N_a=4.12$, $N_e=2.73$, $H_o=0.557$, $H_e=0.592$) showed divergence values higher than those obtained for *Q. acutifolia* ($N=9.46$, $N_a=4.02$, $N_e=2.63$, $H_o=0.493$, $H_e=0.556$). Molecular markers revealed that gene flow exists between the populations of these two species ($N_m = 1.56$), especially in the contact zones, in the states of Guerrero and Oaxaca, however, there are marked gene flow discontinuities between populations are not within the area of sympathy, so you can see structure within them ($F_{st}: 0.164$, $G_{st}: 0.162$). Similarly, the results of the analysis of niche divergence showed that both species present a differential distribution with respect to altitude, where the populations of *Q. acutifolia* are present at altitudes between 700msnm and 1500msnm, while *Q. grahamii* is present in areas higher than 2000m.

It was concluded that the structure and distribution of the populations resembles the hybrid mosaic zone model; since the morphological and genotype responses to the altitudinal gradient have helped maintain the divergence between the parental species, forming isolated patches of pure populations, surrounded by hybrid populations, which, thanks to their high environmental tolerance, have managed to colonize much of the geographical gradient.

Key words: *Quercus acutifolia*, *Quercus grahamii*, morphology, ecological niche, gene flow.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

1. INTRODUCCIÓN

Género *Quercus*.

Dentro de la familia Fagaceae, el género *Quercus* es el más representativo. Cuenta con alrededor de 500 especies (Nixon y Muller, 1997) y está dividido en dos subgéneros: *Quercus* y *Cyclobalanopsis*. Dentro del subgénero *Quercus* están presentes cinco secciones, tres de las cuales están presentes en México; éstas son, la sección *Lobatae* (encinos rojos), la sección *Quercus* (encinos blancos) y la sección *Protobalanus* (encinos intermedios) (Trelease, 1924; Nixon, 2006). Las secciones *Lobatae* y *Protobalanus* son exclusivas del Continente Americano, mientras que la sección *Quercus* también está presente en Eurasia (Trelease, 1924; Nixon, 1993b).

Las especies del género *Quercus* son árboles y arbustos de hasta 40 m de alto, con inflorescencias masculinas en forma de amentos largos e inflorescencias femeninas formando un racimo reducido con un raquis leñoso, de una o varias flores. Su fruto es una bellota unilocular protegido parcialmente en su base por una cúpula, generalmente cubierta de escamas (Rzedowski, 2005). Están presentes en el hemisferio norte de América y Eurasia, y constituyen uno de los elementos, junto con los pinos, más representativos de los bosques templados, aunque también es posible encontrarlos en algunas regiones tropicales y subtropicales (Manos, Doyle y Nixon, 1999; Challenger, 1998; Nixon, 2006).

Se cree que el género *Quercus* se originó en el sureste de Asia, en el Paleoceno temprano (Zhou, 1992); sin embargo, su mayor diversificación ocurrió durante el Eoceno medio, al finalizar el intercambio de especies entre América y Eurasia (Manos, Doyle y Nixon, 1999; Manos y Stanford, 2001). México y China, son considerados como los dos grandes centros de diversificación del género *Quercus* (Manos, Doyle y Nixon, 1999; Crepet y Nixon, 1989). Se tiene registro

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

fósil del género *Quercus* en América del Norte de cerca de 50-55 millones de años, pero se sabe que éstos son más abundantes a finales del Terciario, por lo que probablemente fueron una de las comunidades vegetales dominantes durante el Mioceno (Axelrod, 1983; Cevallos-Ferriz *et al.*, 2012. Nixon, 2006; Luna-Vega, 2008).

El género *Quercus* es un grupo taxonómico difícil de abordar, ya que las estructuras florales suelen ser poco informativas y presentan una enorme variación de sus caracteres foliares; por otra parte, la capacidad que tienen de formar híbridos suele ser muy elevada en algunas especies (Tovar-Sánchez, 2004, Nixon, 2006). El tratar de entender los patrones de variación foliar dentro del género juega un papel muy importante dentro de su clasificación. Sin embargo, las características foliares suelen estar sometidas a continuos procesos de selección (Meade y Parnell, 2003), ya que son el principal medio que tienen las plantas para intercambiar gases con el ambiente, por lo que entender los patrones de variación de las hojas nos permitiría conocer el efecto del ambiente sobre las formas, ayudando al estudio de grupos fósiles y actuales (Hickey, 1974; Bonfil, 2006).

Lo encinos son considerados como especies clave de sus ecosistemas, ya que proporcionan un hábitat a una amplia variedad de plantas y animales (Challenger, 1998; Fernández-Manjarrés, Idol y Sor, 2006), forman asociaciones con micorrizas y brindan una gran cantidad de servicios ecológicos, como son la generación de suelos y la captación de agua (Nixon, 1993a). Para el hombre son una importante fuente de obtención de madera; las comunidades los han utilizado en la manufactura de muebles, barricas para la fabricación del vino, para hacer carbón y para obtener celulosa.

En la actualidad la presencia de estos bosques se ha visto seriamente afectada por el hombre, ya que sus poblaciones suelen estar presentes en

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

ambientes propicios para la agricultura, ganadería y los asentamientos humanos; aunado a esto, la tala inmoderada para la producción de carbón y muebles han impactado fuertemente las poblaciones naturales de *Quercus* (Vázquez-Domínguez, 2003; Ducouso y Krémer, 1995; Challenger y Soberón, 2008; García-Mendoza *et al.*, 2004; Arizaga *et al.*, 2009; Encina y Villarreal, 2002; Bello y Labat, 1987; Scareli-Santos, 2013).

Diversidad de encinos en México.

La diversidad de especies del género *Quercus* presentes en México es difícil de precisar; las últimas revisiones consideran que existen 161 especies (Valencia-Ávalos, 2004), aunque algunos autores estiman que existen cerca de 200 especies (Martínez, 1977; Rzedowski, 1991), y un grupo de autores más conservador señalan que el número no rebasa las 150 especies (González, 1993; Zavala, 1998).

En México se encuentra cerca del 65 % de las especies presentes en el Continente Americano y el 35 % de las especies existentes a nivel mundial. Aunado a esto, la presencia y abundancia de encinos de la sección *Lobatae* (encinos rojos) en México es la más alta a nivel mundial (76 especies), ya que cuenta con cerca del 70% de los encinos rojos existentes. Además, México posee una elevada tasa de endemismos de encinos rojos (61 especies), por lo que se considera el principal centro de diversificación de la sección *Lobatae* (Valencia-Ávalos, 2004, Nixon, 2006; Zavala Chávez, 1998; Hickey, 1974).

En México, los representantes del género *Quercus* se encuentran en casi todos los estados, a excepción de los estados de la península de Yucatán (Valencia-Ávalos, 2004; Vázquez, 1992). Son una de las comunidades vegetales más predominantes del país; se calcula que actualmente el 4.5% de la superficie está cubierta por bosques de encino (Aldrich y Cavender-Bares, 2011), y junto con

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

los pinos abarcan hasta el 13.7% del territorio nacional (Rzedowski, 2006). Los integrantes del género *Quercus* en México están presentes a alturas que van desde los 0 a los 3000 msnm, y ocupan una amplia variedad de nichos, estando presentes en bosque mesófilo de montaña, bosques templados e inclusive en bosques tropicales secos (Challenger, 1998; Vázquez, 2004; Álvarez-Zúñiga, 2010).

Hibridación e introgresión en *Quercus*.

Se cree que los fenómenos de hibridación son comunes dentro del género *Quercus*, ya que los límites de las especies, a nivel morfológico y genético no están bien delimitados (Curtu, Gailing y Finkeldey, 2007; Trelease, 1924; Sullivan *et al.*, 2016). La hibridación es el resultado de la cruce entre individuos de poblaciones distintas, e incluso entre diferentes especies, que difieren por la presencia de uno o más caracteres de ambos progenitores (Harrison, 1993; Ruiz-Amaro, 2010; Valencia-Cuevas, 2006). Es un fenómeno natural frecuentemente encontrado en plantas y es reconocido como un importante factor evolutivo (Whitham *et al.*, 1991), ya que, la transferencia génica interespecífica es superior a la que se produce directamente por eventos mutacionales, lo que puede derivar en rearreglos cromosómicos, expresión diferencial de los genes e inclusive a expandir el genoma (Anderson, 1949; Anderson 1953). Se estima que cerca del 70% de las angiospermas se originaron gracias a este fenómeno.

Existen varios factores que favorecen la hibridación, entre ellos se encuentran la densidad y abundancia relativa de las especies involucradas en este fenómeno, el medio ambiente, la historia de las poblaciones y el grado de perturbación al que estén sometidas (Muller, 1952; Fernández-Manjarres *et al.*, 2006; Zeng *et al.*, 2011; Lagache *et al.*, 2013).

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

En la naturaleza existen dos tipos de hibridación: 1) hibridación por contacto primario, donde los individuos de una especie se diferencia morfológicamente a través de un gradiente geográfico, debido a que la selección natural actúa diferencialmente sobre los alelos de la especie, por lo que se producen dos morfos que responden de distinta manera al gradiente ambiental, sin pertenecer a dos linajes evolutivos distintos y 2) la hibridación por contacto secundario, donde dos especies que divergieron alopátricamente se traslapan en algún sitio de su distribución, generando las denominadas zonas de hibridación (González-Rodríguez, 2005b).

Las zonas de hibridación son sitios donde las especies progenitoras se encuentran en simpatría, formando poblaciones mixtas. Es posible encontrar formas raras o intermedias en estos sitios, las cuales generalmente son atribuidas a procesos de dehibridación (Valencia-Cuevas, 2006; Curtu, Gailing y Finkeldey, 2007). La presencia de las zonas de hibridación depende del equilibrio de los genotipos recombinantes y de la presión ejercida por la selección natural, la cual actuará diferencialmente sobre las especies progenitoras y los híbridos, favoreciendo a alguno de los genotipos dependiendo de su adecuación relativa (Hewitt, 2001).

Existen dos propuestas para explicar los patrones de variación existentes dentro de las zonas de hibridación: la primera se basa únicamente en la inviabilidad híbrida o esterilidad de los híbridos, debido a la incompatibilidad por diferencias en la estructura o el número de cromosomas en el genoma de los mismos, por lo que estos genotipos serían rápidamente suprimidos por las fuerzas de selección. En este supuesto se incorpora el modelo de “zona de tensión”, en el que se considera que la selección natural tiene un efecto negativo sobre los genotipos híbridos, ya que su adecuación se puede ver reducida por la incorporación y mezcla de los genes de los progenitores (Hewitt, 2001; Coleman y

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Abbott 2003). La segunda propuesta sugiere que el efecto del ambiente sobre las poblaciones híbridas determina su estructura genética (Slatkin, 1973). Dentro de esta propuesta entra el supuesto de “la superioridad híbrida y el modelo de mosaico”. La superioridad híbrida sugiere que las zonas de hibridación generalmente son estrechas y con limitada presencia de las especies progenitoras, ya que los genotipos híbridos les confieren una mejor adaptación local que cualquiera de sus especies progenitoras, por lo que los factores ecológicos determinan la adecuación de los individuos (Moore, 1977). Por otro lado, “el modelo de mosaico” sugiere que las zonas de hibridación están formadas por parches de poblaciones de especies puras y parches de individuos híbridos, estos parches están presentes a través de la zona de hibridación y la distribución de los genotipos está limitado por el grado de especialización de las especies progenitoras a los distintos hábitats (Howard *et al.* 1997).

Por otro lado, la introgresión es el proceso natural de intercambio de genes entre especies como resultado de la reproducción entre organismos, donde alguno de los progenitores presenta cierto grado de hibridación (F1, F2, o retrocruzas) (Anderson 1949; 1954; Albarrán-Lara, 2010; González-Rodríguez, 2005b). Se ha demostrado que este fenómeno pudiera llegar a introducir genes de una especie en el genoma de otra, y así favorecer el flujo de material genético, lo que pudiera derivar, inclusive, en la transferencia de caracteres adaptativos, que se pudieran ver favorecidos por la selección natural. Entonces la introgresión pudiera estar fungiendo como un filtro selectivo entre las especies que hibridan (An *et al.*, 2017). Se cree que en algunos casos la introgresión ha favorecido procesos de invasión y colonización de nuevos hábitats ocupados inicialmente por especies progenitoras, donde los genotipos introgresados se ven favorecidos mediante presiones de selección, desplazando a sus progenitores (Petit *et al.*, 2002). Los híbridos pueden definirse como especies, sub-especies, variantes o razas, dependiendo del grado de divergencia que presenten (Futuyma, 1995; Ortego, Gugger y Sork, 2017). Si

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

bien el flujo genético entre especies ayuda a generar variación genética adaptativa dentro de las poblaciones, existe la teoría de que este fenómeno pudiera estar homogeneizando grupos de genes previamente distintos, lo cual es vinculado con la alteración de la adaptación local y la pérdida de especies (An *et al.*, 2017).

Existen diversos métodos para poder identificar los eventos de hibridación e introgresión entre especies del género *Quercus*. Uno de los más utilizados es evaluar los patrones de variación morfológica foliar de las poblaciones para detectar formas intermedias con respecto a las especies progenitoras, inclusive considerando micro-estructuras como estomas y tricomas, así como caracteres anatómicos (González-Rodríguez, 2005b, Tovar-Sánchez, 2004; Herrera-Arroyo, 2005; Núñez-Castillo *et al.*, 2011). Sin embargo, los patrones de variación foliar se encuentran bajo múltiples procesos de selección y están estrechamente relacionados con el ambiente donde los individuos se desarrollan. Factores como la disponibilidad de agua, la intensidad del viento, el régimen lumínico y las interacciones intra e inter-específicas, determinan la forma de las hojas dentro de las poblaciones, e inclusive la variación dentro del mismo individuo, por lo que el solapamiento de los patrones de variación foliar es frecuente (Futuyma, 1995; González-Rodríguez y Oyama, 2005b).

Otra técnica de gran utilidad es emplear la morfometría geométrica foliar, ya que al evaluar cuantitativamente las formas es posible detectar la forma intermedias o desviaciones en la simetría de las hojas. Tovar-Sánchez (2004) y Albarrán-Lara *et al.* (2010) sugieren que al evaluar los patrones de asimetría fluctuante de las poblaciones es posible identificar zonas de alta hibridación.

El estudio del genoma de los organismos es otra valiosa herramienta para poder comprender los eventos de hibridación e introgresión. Esto debido a que la variación de las frecuencias alélicas, así como la aparición de fragmentos de

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

genoma de especies externas, nos ayudan a determinar la dinámica del flujo de genes intra-específico. Existen diversos marcadores moleculares que se basan en la detección de polimorfismos dependiendo de la cantidad de variación que sea requerida. Los más utilizados son los microsatélites (SSRs), polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLPs), amplificación de fragmentos de longitud polimórfica (AFLPs), polimorfismos de ADN amplificados al azar (RAPDs), isoenzimas, entre otros (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004; González-Rodríguez *et al.*, 2005a; Cavender-Bares *et al.*, 2015; Sullivan *et al.*, 2016).

El análisis de la comparación del nicho ecológico de las especies es una poderosa herramienta que nos ayuda detectar las relación existente entre la distribución espacial de la especie con los procesos evolutivos a los que están sometidas, además de ayudar a encontrar o definir nuevas especies o linajes (Núñez-Castillo *et al.*, 2011, Ortiz-Medrano, 2017). El nicho ecológico hace referencia a las condiciones ecológicas que las especies requieren para mantener a sus poblaciones en una región dada. Está determinado principalmente por la interacción de factores abióticos, bióticos, así como de la movilidad de la especie en cuestión (Peterson *et al.*, 2011). Al utilizar estos modelos es posible calcular el grado de solapamiento de nicho ecológico de las especies estudiadas, identificar las zonas donde las especies pudieran estar interactuando en simpatria, además de determinar procesos de divergencia climática, inclusive con proyecciones al pasado y futuro (Albarrán-Lara *et al.*, 2010).

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

2. OBJETIVO GENERAL

Determinar los patrones de variación morfológica foliar y genética de las poblaciones de *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* a lo largo de un gradiente geográfico, así como determinar patrones de divergencia ambiental presentes entre ambas especies, a través de su distribución en México.

Objetivos particulares

- Comparar los patrones de variación morfológica foliar y genética de las poblaciones de *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii*, e identificar caracteres morfológicos adicionales para la determinación de ambas especies.
- Determinar los patrones de estructura y flujo genético intra-específicos, así como los eventos de hibridación e introgresión presentes a lo largo de su distribución en México.
- Determinar los patrones de divergencia ambiental e identificar las posibles zonas de hibridación presentes en la distribución de las especies *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* en México.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

3. ANTECEDENTES

Sistema de estudio

La serie *Acutifoliae*, propuesta por Trelease (1924), es una de las series más grandes dentro de la sección *Lobatae* (Nixon 1993). Son árboles grandes con ramas delgadas glabrescentes y brotes ovoides-fusiformes; sus hojas son predominantemente lanceoladas de margen aristado-dentado, pecíolos largos y delgados, venas secundarias bien marcadas, envés de las hojas glabrescente, excepto en algunas especies; frutos anuales o bien bianuales, de pedúnculo corto. Sus frutos son grandes con escamas finas (Trelease, 1924); cuenta con alrededor de 10 especies (Romero-Rangel, 2006) distribuidas al interior de México, aunque algunas pueden llegar hasta Guatemala y Honduras (Romero-Rangel, 2006; Valencia-Ávalos et al., 2015).

Dentro de los integrantes de la serie *Acutifoliae* es común encontrar problemas taxonómicos. Tal es el caso de *Quercus acutifolia* y *Q. grahamii* (Figura 1 y Figura 2). Estas especies están sujetas a gran número de cuestionamientos debido a la gran variación que presentan y al frecuente solapamiento de sus caracteres (Figura 3), así como a la aparición de formas intermedias en un considerable número de poblaciones, por lo que el resolver la identidad taxonómica de estas especies es de gran importancia para la comprensión de la taxonomía de este complejo.

Quercus acutifolia fue descrita por el botánico Luis Née en 1801, en la obra titulada “Descripciones de varias especies nuevas de encinos (*Quercus* de Linneo)”, con un ejemplar de Guerrero, ubicado cerca del Río Mezcala, por la carretera Acapulco-México (lectotipo MA25953!; isolectotipo: MA152482!, MA232909!, MA25953!, MA25954! y MA25955!) (Valencia-Ávalos et al., 2015). Por su parte, *Q. grahamii* fue descrita por Bentham en 1839, en la obra titulada

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

“Plantas Hartwegianas Imprimis Mexicanas”, con un ejemplar del estado de Oaxaca, México (GH00055660!, P00754098!, US00089535!, MICH11093521, BM000583241!, C10012490!).

Quercus acutifolia está presente en una amplia gama de tipos de vegetación, pudiendo estar presente en bosques de pino-encino, bosques de pino, encinares y en bosques tropicales semi-decíduos. Por otro lado, *Q. grahamii* se encuentra generalmente en bosques de pino-encino (Valencia-Ávalos *et al.*, 2015).

Ambas especies presentan una amplia distribución dentro del territorio nacional (Romero-Rangel, 2000; Valencia-Ávalos, 2004). *Quercus acutifolia* se encuentra distribuido en los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, Veracruz, Oaxaca, México, Chiapas, inclusive llegando hasta Guatemala y Honduras, a altitudes que van de los 750 hasta los 2450 m. Por su parte, *Q. grahamii* está presente en los estados de Colima, Guerrero, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Puebla, Tlaxcala y Veracruz, a altitudes de 1540 a 2480 m (Valencia-Ávalos *et al.*, 2015). Al presentar una distribución simpátrica en varias zonas del país, la aparición de formas intermedias dificulta en gran medida la determinación de las poblaciones en el campo. Valencia-Ávalos *et al.* (2015) sugiere una serie de caracteres, tales como la presencia de tricomas glandulares en el envés de la hoja, la textura de la hoja y el enroscamiento del borde de la cúpula, como clave para su diferenciación (Tabla1).

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Tabla 1. Listado de caracteres útiles para la diferenciación de las especies *Q. acutifolia* y *Q. grahamii* (Valencia-Ávalos *et al.*, 2015).

<i>Q. acutifolia</i>	<i>Q. grahamii</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Hojas coriáceas • Hojas lanceoladas con base redondeada • Hoja de margen aristado-dentado o entero • Envés con tricomas glandulares color ámbar • Margen de la copa envuelto hacia adentro, raramente erecto 	<ul style="list-style-type: none"> • Hojas subcoriáceas • Hojas oblongas o lanceoladas con bases oblicuas • Margen de la hoja siempre aristado • Envés de la hojas sin tricomas glandulares • Margen de la copa nunca envuelto

Las principales organizaciones dedicadas a la protección de especies en peligro de extinción, como la International Union for Conservation of Nature (IUCN), consideran a *Q. acutifolia* como una especie vulnerable, ya que mencionan que esta especie habita zonas sensibles al cambio climático, como los bosques de pino-encino. Esta afirmación no es del todo correcta, ya que como se mencionó anteriormente *Q. acutifolia* está presente en una amplia variedad de hábitats, por lo que seguramente existe un error en la determinación de las poblaciones de las especies. Por su parte, *Q. grahamii* no se menciona en la lista de especies en peligro, solamente es mencionada como una de las sinonimias de *Q. acutifolia* y *Q. conspersa*. Otro hecho a destacar es que dentro de la normatividad mexicana para la protección de especies (NOM-059-SEMARNAT), no se encuentra enlistada ninguna especie del género *Quercus*. El poco entendimiento de estas especies y el estado de sus poblaciones está derivando en la subestimación del estado de riesgo de cada una de ellas, por lo que establecer con claridad las relaciones de estos taxa es de crucial importancia para el establecimiento de planes de manejo.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Taxonomía

El estudio más reciente, realizado por Valencia-Ávalos *et al.* (2015), en el que se hizo una revisión de los ejemplares tipo y de las colecciones científicas en diferentes herbarios, propone considerar como una sinonimia de *Quercus acutifolia* a *Q. conspersa*, y considerar a *Q. grahamii* como una entidad independiente. Esto es congruente con lo propuesto McVaugh (1974) quién sugirió considerar a *Q. conspersa* como una sinonimia de *Q. acutifolia*; DeCandolle (1864) hace este mismo señalamiento en su libro Flora de Novo Galicia. Sin embargo, ninguno de estos autores hace referencia a *Q. grahamii*. Son Trelease (1924), Muller (1936) y Camus (1954), quienes incorporan a esta especie dentro del complejo.

Por otro lado, existen otros autores que no comparten este criterio, Bello y Labat (1987), en su libro “Los encinos de Michoacán” no contemplan la existencia de *Quercus grahamii* dentro de su lista de especies reportadas, pero si a las especies *Quercus acutifolia* y *Q. conspersa*. Del mismo modo, González-Villareal (1986), en su libro “Contribución al conocimiento del genero *Quercus* en el estado de Jalisco”, nos muestra en su listado de especies a *Quercus acutifolia* y a *Q. conspersa*. Menciona que es frecuente confundir a estas especies, sin embargo, según la autora, *Q. conspersa* en el estado de Jalisco presenta margen entero, por lo que es fácil de diferenciar a ambas especies en dicho estado. En dicho trabajo no se hace mención de *Q. grahamii*.

En la actualidad esta discusión no ha dejado de ser trascendente. Romero-Rangel en el año 2000, realizó una delimitación taxonómica entre las especies *Quercus acutifolia* y *Q. conspersa*, utilizando caracteres morfológicos foliares y de fruto, donde es evidente la segregación de ambas especies. Esta misma autora, en su obra titulada “Revisión taxonómica del complejo *Acutifoliae*”, del año 2006, toma a *Quercus acutifolia* y a *Q. conspersa* como especies distintas, sin

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

considerar la existencia de *Q. grahamii*. Arizaga *et al.* (2009), en su obra “Manual de la biodiversidad de encinos de Michoacán”, lo utiliza del mismo modo. En 2015, Romero-Rangel, en su libro “Encinos de México”, conserva esta clasificación dejando de lado a *Q. grahamii*.

Si bien es cierto que esta discusión aún está arraigada dentro de los especialistas del estudio del género *Quercus*, se decidió tomar la consideración taxonómica de Valencia-Ávalos *et al.* (2015), puesto que al observar los ejemplares tipo de cada una de las especies y las muestras colectadas en campo, es posible observar que *Q. acutifolia* y *Q. conspersa* están descritas sobre tipos semejantes, correspondientes a la misma especie, y como menciona Valencia-Ávalos *et al.* (2015), siguiendo el principio de prioridad del Código internacional de nomenclatura para algae, fungi y plantas (Mc. Neill *et al.*, 2011), *Q. acutifolia* debería ser el nombre con prioridad para esta especie.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.



Figura 1. Imágenes de los frutos, hojas y árboles de la especie *Q. acutifolia* Née.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.



Figura 2. Imágenes de los frutos, hojas y árboles de la especie *Q. grahamii* Benth.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

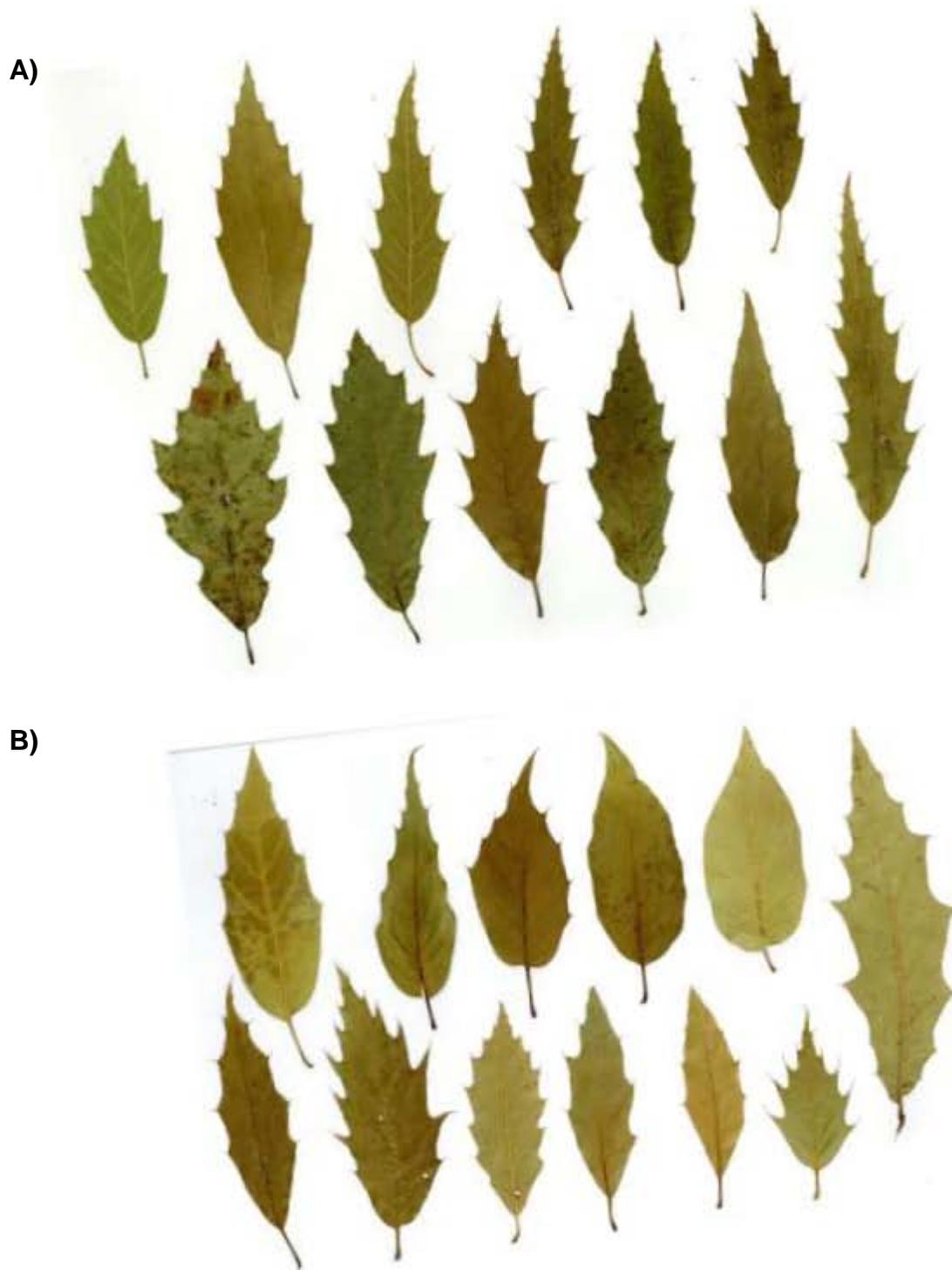


Figura 3. Variación foliar de las especies *Q. grahamii* (A) y *Q. acutifolia* (B), en las poblaciones colectadas.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Estudios de diferenciación específica e hibridación en *Quercus*

Los trabajos de diferenciación específica e hibridación son comunes dentro de las especies del género *Quercus*. Los estudios de morfología y de análisis genéticos han ayudado a resolver varias de estas interrogantes, inclusive entre especies hermanas. Dentro de los trabajos relacionados con la variación morfológica foliar en encinos en México, destacan los realizados por Martínez-Cabrera *et al.* (2003; 2011) (*Q. xalapensis* y *Q. sartorii*), Tovar-Sánchez y Oyama (2004) (*Q. crassifolia* y *Q. crassipes*), Herrera-Arroyo (2005) (*Q. urbanii*, *Q. konzattii* y *Q. eduardii*), González-Rodríguez y Oyama (2005b) (*Q. laurina* y *Q. affinis*), Albarrán Lara (2011) (*Q. resinosa* y *Q. magnoliifolia*), Núñez-Castillo *et al.* (2011) (*Q. glabrescens* y *Q. rugosa*), donde se reporta que gran parte de la variación, sobre todo de la morfología foliar, es causada principalmente por la variación ecológica y geográfica de su hábitat.

Por otra parte, dentro de los estudios de variación genética es posible encontrar una amplia gama de marcadores moleculares, sin embargo los más empleados son los microsatélites (SSRs) (Petit *et al.* 2002; Pakkad *et al.*, 2007; Viscosi *et al.* 2009; Albarrán-Lara, 2011; Valencia-Cuevas, 2014; Ortego, Gugger y Sork, 2017; Oyama, 2017), polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLPs) (Belahbib *et al.*, 2001), amplificación de fragmentos de longitud polimórfica (AFLPs) (An *et al.*, 2017), polimorfismos de ADN amplificados al azar (RAPDs) (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004; González-Rodríguez y Oyama, 2005a; Ruiz-Amaro, 2010; Paz, 2012), isoenzimas (Streiff *et al.*, 1998; Curtu, Gailing y Finkeldey, 2007), entre otros. En estos estudios es posible apreciar que la mayor parte de la variación se encuentra dentro de las poblaciones, las cuales suelen presentar altos niveles de heterocigocidad y un continuo flujo génico, inclusive entre especies distintas.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Tabla 2. Trabajos relacionados con la diferenciación e hibridación de especies de encino (género *Quercus*).

Autor	Año	Especie	Método	Evaluación
Jensen <i>et al.</i>	1993	<i>Q. rubra</i> , <i>Q. elipsoidales</i>	Morfología	Hibridación y diferenciación morfológica de las especies
Streiff <i>et al.</i>	1998	<i>Q. robur</i> , <i>Q. petraea</i>	Isoenzimas y microsatélites	Estructura genética y diferenciación especial de las poblaciones
Bruschi <i>et al.</i>	2000	<i>Q. petraea</i> , <i>Q. pubescens</i>	Morfología, Micro-estructuras y microsatélites nucleares	Diferenciación morfológica y genética de las especies
Craft <i>et al.</i>	2002	<i>Q. lobata</i> , <i>Q. douglasiana</i>	Morfología y Microsatélites	Hibridación y diferenciación morfológica de las especies
Romero-Rangel	2004	<i>Q. acutifolia</i> , <i>Q. conspersa</i>	Morfología	Patrones de variación y diferenciación Morfológica
Tovar-Sánchez y Oyama	2004	<i>Q. crassifolia</i> , <i>Q. cassipes</i>	Morfología y RAPD's	Hibridación e identificación de zonas híbridadas
Cristofolini y Crema	2005	<i>Q. crenata</i> , <i>Q. cerris</i> , <i>Q. suber</i> , <i>Q. pseudosuber</i>	Morfología	Hibridación y diferenciación morfológica de las especies
González-Rodríguez y Oyama	2005b	<i>Q. affinis</i> , <i>Q. laurina</i>	Morfología	Patrones de variación morfológica y diferenciación de especies
Herrera-Arroyo	2005	<i>Q. urbanii</i> , <i>Q. conzattii</i> , <i>Q. eduardii</i>	Morfología	Hibridación y diferenciación morfológica de las especies
Álvarez-Delgadillo	2006	<i>Q. crassifolia</i>	Morfología	Patrones de variación morfológica en microambientes
Valencia-Cuevas	2006	<i>Q. affinis</i> , <i>Q. laurina</i>	Morfología y micro-estructuras	Patrones de variación morfológica y genética

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Curtu, Gailing y Finkeldey	2007	<i>Q. petraea</i> , <i>Q. pubescens</i> , <i>Q. robur</i> , <i>Q. frainetto</i>	Morfometría, micro- estructuras, Microsatélites e isoenzimas	Hibridación e introgresión
Viscosi <i>et al.</i>	2009	<i>Q. petraea</i> , <i>Q. pubescens</i> , <i>Q. robur</i> , <i>Q. pyrenaica</i>	Morfología y microsatélites nucleares	Hibridación y diferenciación morfológica de las especies
Cavender-Bares y Pahlich	2009	<i>Q. virginiana</i> , <i>Q. geminata</i>	Morfometría, modelado de nicho, microsatélites nucleares y citoplasmáticos, experimentos de jardín común y variación ecofisiológica	Diferenciación morfológica, molecular y de nicho ecológico de especies simpátrica
Ruiz-Amaro	2010	<i>Q. crassifolia</i> , <i>Q. crassipes</i>	Morfología y RAPD's	Hibridación y diferenciación morfológica de las especies
Albarrán-Lara	2010	<i>Q. magnoliifolia</i> , <i>Q. resinosa</i>	Morfología, modelado de nicho y microsatélites nucleares y citoplasmáticos	Estructura genética, filogeografía e identificación de zonas híbridas
Martínez-Cabrera <i>et al.</i>	2011	<i>Q. sartorii</i> , <i>Q. xalapensis</i>	Morfología y micro estructuras	Diferenciación morfológica de las especies
Núñez-Castillo <i>et al.</i>	2011	<i>Q. glabrescens</i> , <i>Q. rugosa</i>	Morfología y modelado de nicho	Diferenciación morfológica y de hábitat
Valencia-Cuevas	2014	<i>Q. castanea</i>	Microsatélites	Hibridación
Sullivan <i>et al.</i>	2016	<i>Q. coccinea</i> , <i>Q. ellipsoidalis</i> , <i>Q. vetulina</i> , <i>Q. rubra</i>	Microsatélites y EST- SSRs	Hibridación y divergencia entre especies
Ortego, Gugger y Sork	2017	<i>Q. durata</i> , <i>Q. berbedifolia</i>	Microsatélites nucleares y evaluación ambiental	Efecto de la fragmentación sobre la hibridación de especies ecológicamente diferenciadas

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

4. METODOLOGIA

Se realizó una revisión de los ejemplares tipo digitalizados de *Quercus acutifolia* (MA152482, MA232909, MA25933, MPU012407) y *Quercus grahamii* (P00754098, US00089535, BM000583241), que están presentes en la página de JSTOR (<http://plants.jstor.org/>). De igual modo se llevó a cabo una revisión de ejemplares en las colecciones científicas del MEXU y del centro INECOL Bajío, para conocer e identificar los caracteres particulares de las especies *Q. acutifolia* y *Q. grahamii*, conocer su distribución y determinar los posibles sitios de muestreo para ambas especies. Se colectaron un total de 28 poblaciones a lo largo de la distribución de ambas especies (Figura 4); 17 poblaciones de *Q. acutifolia*, en los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, México y 11 poblaciones de *Q. grahamii* en los estados de Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Puebla.

Las muestras se obtuvieron de árboles adultos que se encontraban a una distancia no menor de 40 metros entre sí, con la finalidad de evitar a los individuos de reproducción vegetativa, así como minimizar el grado de parentesco entre individuos. El tejido foliar se tomó de la cobertura expuesta del follaje de los individuos, siempre tratando de obtener tejido foliar sano, completamente desarrollado y con el menor daño posible. Las muestras fueron prensadas y herborizadas, tratando de conservando una ramilla con estructuras reproductivas para su posterior comparación en los herbarios.

De igual modo se colectaron cinco hojas por individuo para los estudios genéticos. Se etiquetaron y se colocaron en bolsas herméticas dentro de recipientes con nitrógeno líquido para conservar en buen estado el tejido de los individuos, posteriormente fueron depositados en refrigeradores a una temperatura de -18°C, con la finalidad de conservar lo mejor posible sus tejidos hasta su procesamiento en el laboratorio.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Se tomó registro de la posición espacial (longitud-latitud) de cada población, que posteriormente fueron empleados para obtener la distancia geográfica existente entre las diversas poblaciones. De igual modo, se calculó la pendiente de la ladera y la orientación de exposición de la misma para ser incluidos en los análisis dentro de los parámetros ambientales.

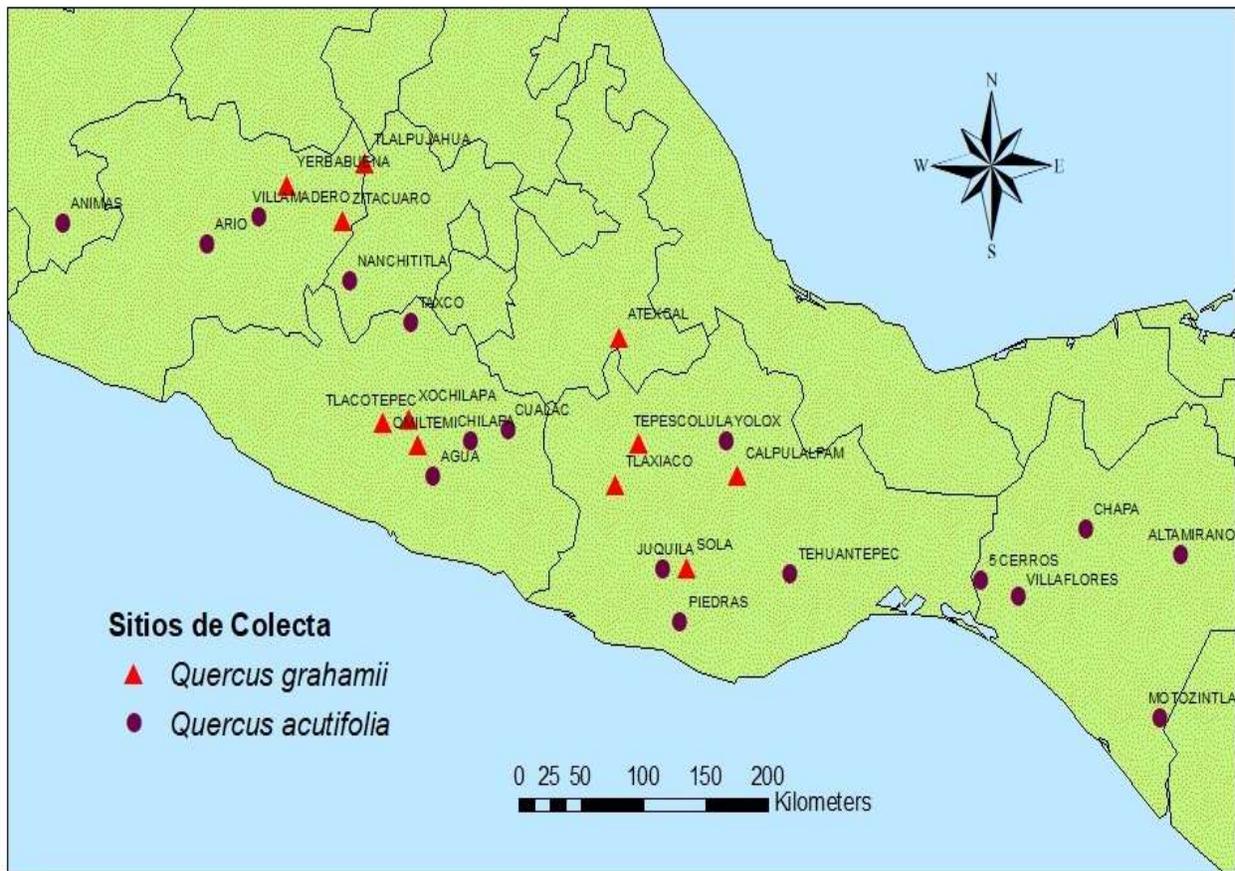


Figura 4. Sitios de colecta para las especies *Q. acutifolia* (17 poblaciones) y *Q. grahamii* (11 poblaciones), colectados a través de la distribución de ambas especies.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Tabla 3. Localidades, estado, provincias biogeográficas (FVTM: Faja volcánica Transmexicana, SMS: Sierra Madre del Sur, PCP: Planicie Costera del Pacifico, AC: Altos de Chiapas, SC: Soconusco), altitud y coordenadas ITRF92 de las poblaciones colectadas.

N	Localidad	Estado	Provincia Biogeográfica	Altitud (msnm)	Latitud (N)	Longitud (W)
<i>Q. acutifolia</i>						
10	Las Animas	Jalisco	EVTM	1721	19°21'07.56"	103°09'41.76"
10	Ario de Rosales	Michoacán	EVTM	1675	19°11'10.68"	101°43'40.80"
10	Villa Madero	Michoacán	EVTM	2224	19°23'55.68"	101°12'31.68"
10	Nanchititla	Edo. México	EVTM	1836	18°52'57.00"	100°18'07.92"
10	Taxco	Guerrero	EVTM	2050	18°33'14.04"	99°41'33.72"
10	Cualac	Guerrero	SMS	2142	17°40'58.80"	98°43'52.68"
10	Chilapa	Guerrero	SMS	1764	17°35'59.28"	99°06'08.64"
10	Yolox	Oaxaca	SMS	1910	17°35'32.28"	96°33'32.76"
10	Juquila	Oaxaca	SMS	1695	16°33'50.76"	97°11'00.24"
10	Agua de Obispo	Guerrero	PCP	947	17°18'48.24"	99°28'29.28"
10	Las Piedras	Oaxaca	PCP	1032	16°08'18.24"	97°00'54.72"
10	Tehuantepec	Oaxaca	PCP	1025	16°31'26.04"	95°55'11.64"
10	5 Cerros	Chiapas	PCP	788	16°28'07.32"	94°01'42.60"
10	Altamirano	Chiapas	AC	1265	16°40'37.20"	92°01'55.56"
10	Chapa de Corzo	Chiapas	AC	924	16°53'19.32"	92°58'13.44"
10	Villa Flores	Chiapas	SC	1110	16°20'46.68"	93°38'42.00"
10	Motozintla	Chiapas	SC	1424	15°21'24.84"	92°14'26.52"
<i>Q. grahamii</i>						
10	Zitácuaro	Michoacán	EVTM	2151	19°22'24.96"	100°22'28.56"
10	Yerbabuena	Michoacán	EVTM	2261	19°39'50.76"	100°55'33.24"
10	Tlalpujahuá	Michoacán	EVTM	2330	19°50'38.76"	100°09'06.12"
10	Atexcal	Puebla	EVTM	2186	18°26'08.16"	97°37'18.12"
10	Omiltemi	Guerrero	SMS	1812	17°33'51.48"	99°36'57.60"
10	Tlacotepec	Guerrero	SMS	2071	17°44'52.80"	99°57'50.04"
10	Xochilapa	Guerrero	SMS	1727	17°46'33.60"	99°42'16.20"
10	Tepescolula	Oaxaca	SMS	2433	17°34'38.64"	97°25'00.12"
10	Tlaxiaco	Oaxaca	SMS	2113	17°14'59.28"	97°39'28.80"
10	Sola de Vega	Oaxaca	SMS	1887	16°34'26.40"	96°56'21.48"
10	Calpulalpam	Oaxaca	SMS	1987	17°19'10.20"	96°26'45.96"

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Morfología foliar

Se tomaron al azar 10 o más hojas por individuo de las poblaciones colectadas, con la finalidad de captar la mayor parte de la variación dentro de los individuos. Las mediciones se realizaron utilizando un vernier electrónico digital Stanley y una báscula analítica OHAUS PA224.

Se trabajó con un total de 2827 muestras, las cuales fueron comparadas mediante 22 caracteres foliares, seleccionados del trabajo de Romero-Rangel (2000) propuestos para *Q. acutifolia*, así como los señalados en el trabajo de Valencia-Ávalos *et al.* (2015) para ambas especies. También se incluyeron algunos caracteres de Martínez-Cabrera (2011) empleados para *Q. xalapensis* y *Q. sartorii*, especies que también pertenecen al complejo *Acutifoliae*. Adicionalmente se incluyeron algunos caracteres funcionales como el área foliar y el peso seco de las hojas, los cuales nos ayudarían a conocer la respuesta de la variación foliar de las especies al ambiente (Álvarez-Delgadillo, 2006) (Tabla 4).

Los caracteres discontinuos como el número de dientes y venas fueron transformados con $x = (X)^{0.5} + 0.5$, y los valores de porcentaje con $x = \arcsen (X)^{0.5}$, según Zar (1999).

Posteriormente, las muestras seleccionadas fueron digitalizadas en un escáner Epson Work Force DS-60000, a una resolución de 800 ppp, por el envés de la hoja, para poder apreciar de mejor manera la distribución de las venas secundarias sobre la lámina. Todas las imágenes presentaron una escala asociada de 1 cm, para posteriormente hacer el ajuste de dimensiones sobre los programas utilizados para el análisis de formas.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Tabla 4. Listado de caracteres morfológicos utilizados en el análisis comparativo de las especies *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii*.

Número	Carácter	Abreviatura	Unidad
1	Numero de dientes	ND	#
2	Número de venas	Venas	#
3	Diámetro del peciolo en la base	DPB	cm
4	Diámetro del peciolo en el centro	DPC	cm
5	Grosor de la lámina en el centro	GH	cm
6	Diámetro de la vena principal en el centro	DVM	cm
7	Largo del peciolo	LP	cm
8	Ancho máximo de la lamina	AML	cm
9	Largo máximo de la lamina	LML	cm
10	Largo total de la hoja	LT	cm
11	Longitud de la lámina al primer tercio de la lamina	Primer	cm
12	Longitud de la lámina al tercer tercio de la lamina	Tercer	cm
13	Longitud de la lámina al centro	Centro	cm
14	Ángulo formado por la vena principal con respecto a las venas secundarias	Ángulo venas	grados
15	Ángulo formado por el primer tercio de la hoja con respecto a la base	Ángulo base	grados
16	Ángulo formado por el primer tercio de la hoja con respecto al ápice	Ángulo ápice	grados
17	Área foliar	Área foliar	cm ²
18	Peso seco de las hojas	Peso seco	gr
19	Área foliar específica (área foliar sobre peso seco)	AFESP	cm ² /gr
20	Forma de la hoja (cociente del tercer tercio de la lámina sobre el primero)	Tercer/primer	%
21	Aproximación de la forma de la hoja (largo máximo de la lámina sobre el ancho máximo de la lámina sobre)	L/A	%
22	Longitud del peciolo con respecto al tamaño de la lámina (Lp*100/LML)	LP%	%

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Para el análisis estadístico de las muestras se realizó un análisis de clúster, utilizando los promedios de los caracteres por población, por medio de una matriz pareada de distancias euclidianas, empleando el método de grupos de pares no ponderado y promedio aritmético (UPGMA), con la finalidad de conocer las relaciones morfológicas existentes entre las poblaciones. Conjuntamente se efectuó un análisis de disimilitud de dos vías para conocer los caracteres de importancia para dicha clasificación. Ambos análisis se realizaron mediante el programa PATN v3.

Posteriormente, los datos individuales fueron analizados mediante las técnicas univariadas ANOVA y ANOSIM. El análisis de varianza (ANOVA) permite comparar los patrones de variación de los caracteres entre las especies, por lo que nos permitió determinar cuáles son los caracteres que permiten diferenciar significativamente a ambas entidades. Esta prueba se efectuó en el paquete estadístico R stats, siguiendo los supuestos de normalidad y homogeneidad de la varianza propuestos por Zar (1999). Por su parte, el análisis de similitudes (ANOSIM) es una prueba estadística no paramétrica que parte del supuesto de que la similitud entre grupos es mayor o igual a la similitud dentro de los grupos, por lo que nos permitió probar estadísticamente si hay una diferencia significativa entre los grupos encontrados. Este análisis se realizó en el paquete estadístico R vegan, a partir de una matriz de disimilitud, empleando distancias euclidianas y 999 permutaciones, con un nivel de significancia $p < 0.05$.

De igual modo, se emplearon las técnicas multivariadas PCA y CDA para el análisis de los datos (Tabachnick, Fidelly y Osterlind, 2001). El análisis de componentes principales (PCA) condensa las variables iniciales en nuevas variables sintéticas (PC), hasta generar un resumen lo más completo posible del conjunto de datos originales, lo que nos permitió determinar la contribución de todos los caracteres en un simple resultado, así como visualizar cierta estructura

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

dentro de los datos. Este análisis se realizó en el paquete estadístico R stats, utilizando una matriz de correlación. Por su parte, el análisis de canónico de discriminantes (CDA) nos permitió clasificar las unidades experimentales a cada uno de los grupos establecidos y determinar la importancia de cada uno de los caracteres, para la segregación de los grupos. Este análisis se realizó en el programa IBM SPSS Statistics, empleando un valor de tolerancia de 0.001 y un valor de significancia $p < 0.05$.

Para evaluar los patrones de variación de los caracteres dentro del gradiente geográfico (Latitud, Longitud y Altitud) se realizaron correlaciones de Pearson, con un valor de significancia $p < 0.05$, en el paquete estadístico R stats.

Análisis de formas

El análisis de formas se realizó mediante la colocación de 40 marcas anatómicas bidimensionales en la periferia de las imágenes digitalizadas de las hojas, por medio del programa TPSdig del paquete IMP8 (Integrated Morphometrics Package) (Rohlf, 2005; Toro-Ibacache, Manríquez-Soto y Suazo-Galdames, 2010), para tratar de capturar el total de la forma de las hojas.

Dos marcas homólogas fueron colocadas entre todas las muestras, las cuales fueron consideradas como marcas naturales para todas las hojas (ápice y base de la lámina). A partir de ellos se trazaron tres imágenes de referencia, por medio del programa Makefan6 del paquete IMP8. Una escalera de 15 secciones y dos peines circulares de 20 radios se superpusieron sobre las imágenes digitalizadas de las hojas. Una de los peines circulares se colocó en la base de la lámina y el otro en el ápice de la hoja, esto con la finalidad de capturar la mayor variación posible en la forma del ápice y de la base de las hojas. Estas imágenes superpuestas se utilizaron como puntos de referencia para la colocación de las 40 marcas de posición (pseudo-landmarks) en todas las muestras (Figura 5).

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Posteriormente, se hizo una superposición generalizada por ajuste de mínimos cuadrados con la finalidad de minimizar las diferencias entre las configuraciones de referencia. Esto se realizó mediante el programa Coordgene6, de la serie IMP8.

Algunos de los caracteres seleccionados en la morfología tradicional, como el ángulo de las venas secundarias del ápice y la base, el ancho de la lámina en el primer y tercer tercio, así como ancho de la lámina en el centro, se midieron utilizando las marcas de posición sobre las hojas en el programa Tmorphgen6 del paquete IMP8.

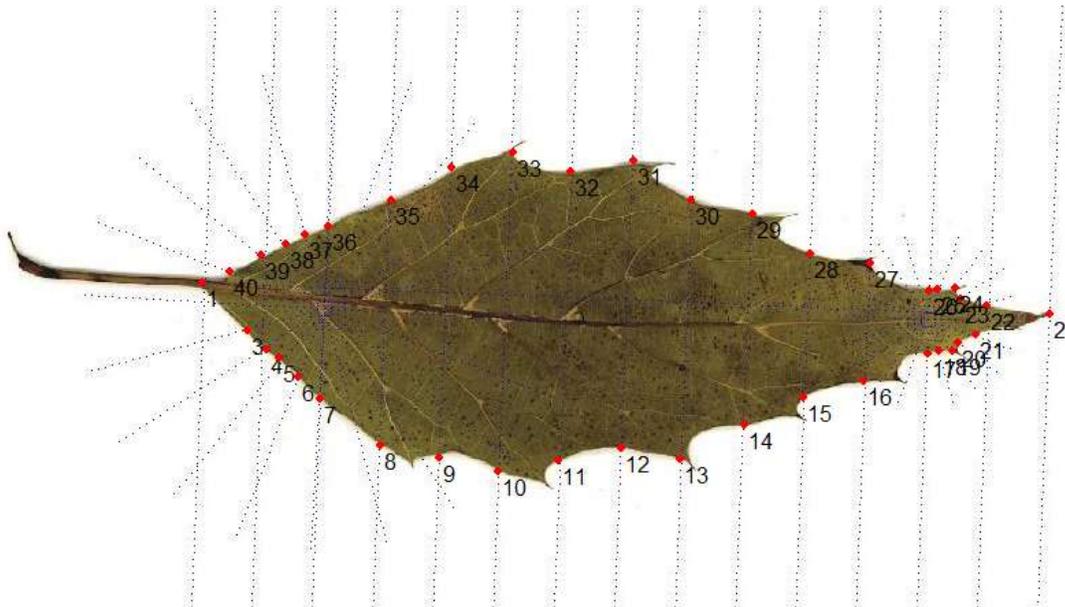
Para el análisis estadístico de las muestras se emplearon las técnicas multivariadas PCA y CDA. El análisis de componentes principales (PCA) se efectuó utilizando los datos ajustados (Procrustes), en el programa MorphoJ v.2.0, utilizando una matriz de covarianza. Por su parte, el análisis canónico de discriminantes (CDA), se realizó en el programa MorphoJ v.2.0 y en el programa IBM SPSS Statistics, empleando un valor de tolerancia de 0.001 y un valor de significancia $p < 0.05$.

Al igual que con los datos obtenidos en la morfología tradicional, se realizó un análisis de similaridad (ANOSIM) en el paquete estadístico R vegan, para conocer si existen diferencias significativas entre los grupos o entre las poblaciones de formas intermedias, utilizando distancias euclidianas sobre una matriz de disimilitud, con 999 permutaciones, con un nivel de significancia $p < 0.05$.

Finalmente, se realizaron correlaciones de Pearson para conocer si existe alguna influencia del gradiente geográfico (Latitud, Longitud, Altitud) sobre la distribución de las formas en ambas especies. Esto se efectuó en el paquete estadístico R stats, con un valor de significancia $p < 0.05$.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

A)



B)

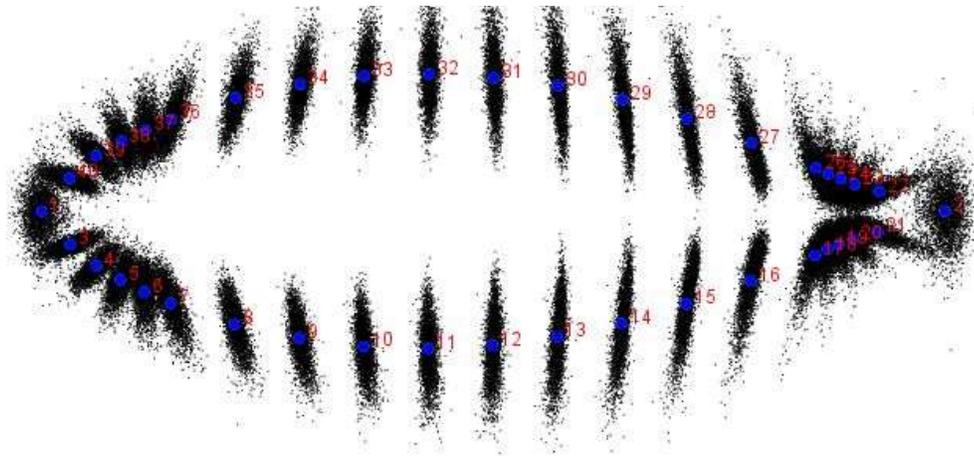


Figura 5. Imágenes de referencia y posición de las 40 marcas de posición (semi-landmarks) colocadas sobre las imágenes digitalizadas para realizar los análisis de formas **(A)** y método procrustes de ajuste de datos por mínimos cuadrados **(B)**.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Estructura genética y flujo génico

Se realizó el genotipado de las poblaciones con 10 primers nucleares de la serie QrGa de Aldrich *et al.* (2002; 2003), diseñados para *Quercus rubra* y *ssrQpZAG* de Steinkellner *et al.* (1997), diseñado para *Quercus petraea*. El ADN fue extraído empleando el protocolo propuesto por Leford y Douglas (1999), utilizando bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), con un protocolo de limpieza adicional de isopropanol-etanol. La concentración de las muestras se cuantificó mediante un NANODROP, y posteriormente se diluyeron hasta obtener una concentración de 20 ng/μl.

Se realizaron mezclas multi-locus de los microsatélites nucleares, y fueron amplificados en reacciones multiplex en PCR, usando el KIT Múltiplex PCR QIAGEN IX en 6 μl de solución, usando 1μl de primer, 1μl de agua desionizada, 3 μl del multiplex y 1 μl de la muestra de ADN (Albarrán-Lara, 2010). El programa de ciclado térmico se llevó a cabo en un termociclador Applied Biosystems, con una fase de desnaturalización a 95°C durante 15 minutos, seguido de un total de 28 ciclos iniciados a una temperatura de 95°C durante 30 segundos (desnaturalización), 1 minuto a 53.8°C (hibridación), 1 minuto a 72 °C (extensión), con un paso de extensión final de 30 min a 72°C.

Posteriormente realizó una revisión de los loci de microsatélites, mediante el programa MICRO-CHECKER v2.2.3, con 1000 permutaciones "bootstrap" y un intervalo de confiabilidad del 95%. Esto con la finalidad de identificar loci con presencia de alelos nulos, así como desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg.

Una vez seleccionados los loci, se realizó un análisis de asignación Bayesiana mediante el programa STRUCTURE v2.3.4 (Rockwell y Barrowclough, 1987; Aldrich *et al.*, 2005), para poder identificar los genotipos de la especie *Q. acutifolia* y *Q. grahamii*, así como de los posibles híbridos e individuos

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

introgresados presentes dentro de las poblaciones. Las simulaciones se realizaron cambiando el valor de K de 1 a 29 para determinar el número óptimo de grupos. El programa se corrió 10 veces por cada valor de K , con el fin de determinar el valor máximo de la probabilidad posterior Bayesiana [$\ln P(D)$]. Cada corrida se realizó utilizando 100,000 periodos de quemado de las cadenas de Markov y 10,000,000 de simulaciones de las cadenas de Markov (MCMC) después del quemado. Finalmente se determinó el valor más probable de grupos genéticos (K) usando el máximo valor de ΔK , que se obtuvo mediante el programa STRUCTURE Harvester v0.6.94 (Vaha y Primmer, 2007). Individuos con valores de K mayores a 0.90 se consideraron como individuos pertenecientes a las especies progenitoras, valores de $0.41 < q < 0.59$ como individuos híbridos "F1", y niveles de $0.6 < q < 0.89$ como posibles retrocruzas. (Albarrán-Lara *et al.*, 2006).

Para calcular el flujo génico se utilizó el programa MIGRATE v4.0, asumiendo un modelo de matriz de migración, con tasas de migración asimétricas y tamaños de subpoblación diferentes. El análisis se llevó a cabo mediante inferencia bayesiana, para estimar conjuntamente las tasas de migración y el tamaño efectivo para cada población. Se utilizó un número semilla de 100, con 10,000,000 de réplicas y 1,000,000 de quemas. La tasa de migración se transformó a número de migrantes con la fórmula Número de migrantes = $4Nem$ (N_e = tamaño efectivo, m =tasa de migración), propuesta para organismos diploides por Eguiarte, Souza y Aguirre (2007). Posteriormente, se estimaron los valores de flujo genético reciente, mediante el programa BAYESASS v3.0, con un número de semilla de 100, 10,000,000 réplicas, 1,000,000 quemas, un valor de captura de 100 muestras, delta A de 0.40, delta F 0.40 y delta M 0.40. BAYESASS estima las tasas de migración recientes entre poblaciones, asumiendo niveles relativamente bajos de migración y una proporción de migrantes no mayor a 1/3 de la población por generación (Wilson y Rannala, 2003). Para ello utiliza cadenas de Markov

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Monte Carlo (MCMC). Ambos programas nos ayudaron a visualizar la dinámica de flujo génico existente entre las poblaciones de ambas especies.

Las discontinuidades del flujo génico se evaluaron mediante el programa BARRIER 2.2. Este software nos permite inferir una jerarquía de importancia de las discontinuidades y su dirección en el paisaje, ya que utiliza una triangulación de Delaunay, que forma una red que conecta todas las localidades de muestra. Una vez interconectadas las poblaciones se utilizó el algoritmo de máxima diferencia de Monmonier, el cual emplea una matriz de distancias genéticas para identificar los límites donde las diferencias entre poblaciones son mayores (Manni *et al.*, 2004). Para nuestro análisis se utilizó una matriz de distancias genéticas estándar de Nei (NSD) (Slatkin, 1994; Goldstein *et al.*, 1995), reemplazando aleatoriamente individuos en las poblaciones en 100 réplicas, generando un valor de Bootstrap para cada una de las barreras generadas.

Los valores de diversidad, tales como la riqueza alélica, el número de alelos (N_a), el número efectivo de alelos (N_e), y los valores de heterocigosidad, tanto la observada (H_o) como la esperada (H_e), así como los índices de diferenciación genética (Wright, 1951), se obtuvieron a partir de los programas GENALEX v6.5 y Microsatellite analyzer (MSA) 4.05. También se efectuó un análisis de la varianza molecular (Excoffier *et al.*, 1992), empleando las frecuencias alélicas y el número de mutaciones entre los diferentes alelos encontrados. Esto se realizó en el programa ARLEQUIN v2.0, a partir de una matriz de distancias euclidianas al cuadrado. La importancia de los componentes de la varianza y la estadística de la diferenciación se probó con 10,000 permutaciones. Todo esto para tratar de determinar el nivel de variación genética encontrada entre los grupos, entre las poblaciones dentro de los grupos y dentro de las poblaciones.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Divergencia de nicho ecológico.

Para evaluar la divergencia de nicho ecológico entre ambas especies, se realizó un análisis de componentes principales (PCA). Se emplearon las 19 variables bioclimáticas propuestas por Cuervo-Robayo *et al.* (2013). Para evitar que la colinealidad de las variables sobreestimara los resultados, se excluyeron las variables que presentaban dicho fenómeno, por lo que en el análisis final, solamente se conservaron 8 variables bioclimáticas (Bio4=Estacionalidad de la Temperatura, Bio5=Temperatura máxima del periodo cálido, Bio6=Temperatura mínima del periodo más frío, Bio7=Oscilación anual de la temperatura, Bio11=Temperatura promedio del trimestre más frío, Bio12=Precipitación anual, Bio15=Estacionalidad de la temperatura, Bio17=Precipitación del trimestre más seco). De igual modo, se efectuó un análisis de similaridad (ANOSIM), para determinar si existe una diferenciación climática significativa entre ambas especies, así como conocer si las poblaciones de formas intermedias presentaban mayor parecido con alguna de las especies progenitoras.

El modelado espacial de nicho ecológico se obtuvo a partir de los sitios de colecta obtenidos en el trabajo de campo. Se utilizaron las variables bioclimáticas seleccionadas de Cuervo-Robayo *et al.* (2013), con capas de 1 km de definición, en el algoritmo de aprendizaje de máquina de máxima entropía (MAXENT) (Phillips *et al.*, 1999). Además, se usó el umbral de convergencia por default y un número máximo de interacciones de 1000, con 10 réplicas independientes. Finalmente, se generó un consenso de los diez mapas obtenidos y se binarizó en el 10 percentil para obtener un solo mapa de máxima entropía para cada una de las especies (Albarrán-Lara, 2010). Una vez obtenidos, se realizó un solape de los modelos de nicho generados en el programa ArcMap v.10.2 para conocer el área de contacto de la distribución de ambas especies.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

5. RESULTADOS

Análisis de variación morfológica

Análisis de clúster (UPGMA)

El análisis de clúster muestra la segregación de las poblaciones en dos grandes grupos, correspondientes a las especies *Q. acutifolia* y *Q. grahamii*, por lo que el separar a ambas especies mediante estudios de variación morfológica, no pareciera presentar ninguna dificultad (Figura 6).

Un fenómeno relevante fue la presencia de la población de “Ario de Rosales” como raíz del grupo principal de *Q. acutifolia*. Esto se debe a que esta población presenta dimensiones muy grandes en la mayoría de sus caracteres, por lo que el dendograma la expulsa del agrupamiento principal de *Q. acutifolia*, dejándolo en la base del grupo.

El análisis de disimilitud de dos vías derivado del UPGMA nos muestra que los caracteres más importantes para la diferenciación de las especies son el número de dientes, el cociente de la relación del largo máximo de la lámina contra el ancho máximo de la misma, el diámetro del peciolo en la base, el peso seco de las hojas, el grosor de la hoja y el largo total de las hojas (Figura 7).

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

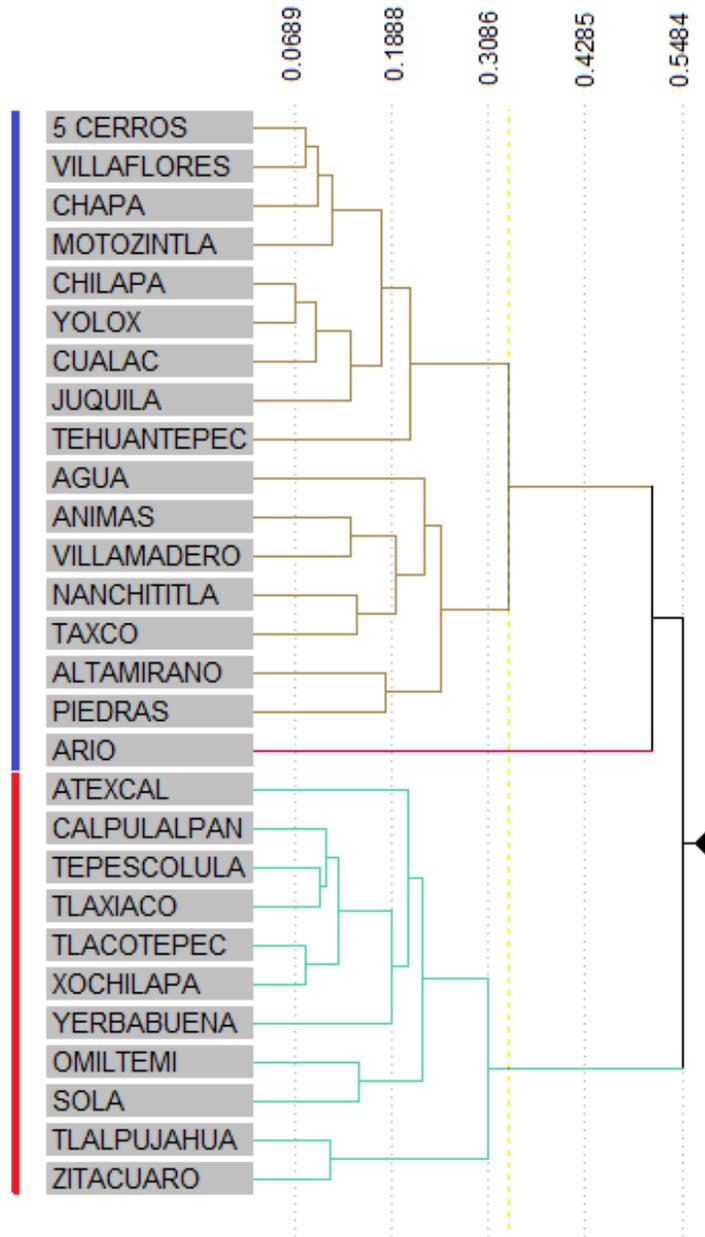


Figura 6. Dendrograma UPGMA generado a partir de los 22 caracteres morfológicos seleccionados para todas las poblaciones. La barra lateral derecha nos muestra la pertenencia a las especies, siendo el color rojo correspondiente a la especie *Q. grahamii* y el color azul a *Q. acutifolia*.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

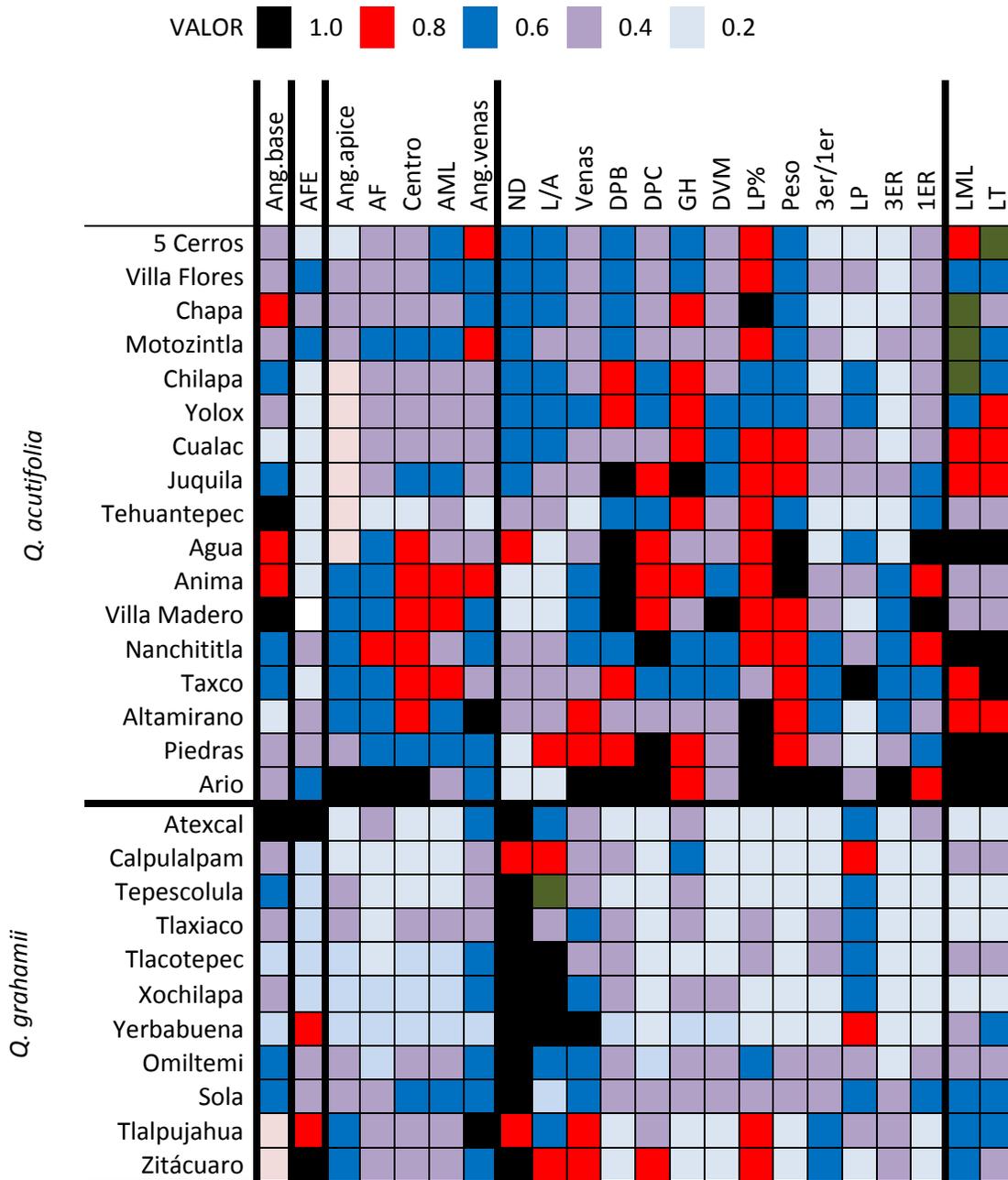


Figura 7. Análisis de disimilitud de dos vías generado para el UPGMA morfológico. El grupo superior corresponde al grupo de *Q. acutifolia*, mientras que el grupo inferior corresponde a *Q. grahamii*.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Análisis de varianza (ANOVA)

Los 22 caracteres estudiados resultaron ser altamente variables entre las especies, sin embargo, el 95% de los caracteres presentaron una diferenciación significativa a nivel de hoja. El único carácter que no resultó ser útil para la separación de estas especies fue el ángulo formado por las venas secundarias con respecto a la vena primaria (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de medias con error estándar (ES) de ANOVAs para todos los caracteres de *Q. acutifolia* y *Q. grahamii*. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; ns= no significativo.

Número	Carácter	<i>Q. grahamii</i> Media (E.S.)	<i>Q. acutifolia</i> Media (E.S.)	ANOVA (p)
1	ND	8.077(0.053)	3.582(0.072)	2e-16***
2	VENAS	8.696(0.036)	8.28(0.035)	1.61e-15***
3	DPB	0.150(0.0008)	0.197(0.0009)	2e-16***
4	DPC	0.080(0.0005)	0.114(0.0007)	2e-16***
5	GH	0.013(8.66e-5)	0.0175(7.5e-5)	2e-16***
6	DVM	0.054(0.003)	0.073(0.027)	1.25e-08***
7	LP	1.671(0.015)	1.488(0.015)	5.39e-16***
8	AML	3.354(0.025)	4.774(0.031)	2e-16***
9	LML	11.215(0.066)	13.432(0.07)	2e-16***
10	LT	12.887(0.073)	14.92(0.076)	2e-16***
11	Primer	2.130(0.015)	2.773(0.019)	2e-16***
12	Tercer	0.983(0.012)	1.387(0.02)	2e-16***
13	Centro	3.013(0.024)	4.173(0.03)	2e-16***
14	Ángulo venas	43.026(0.205)	42.971(0.192)	0.849
15	Ángulo base	67.047(0.307)	70.366(0.321)	6.42e-13***
16	Ángulo ápice	33.493(0.345)	37.503(17.297)	8.61e-12***
17	Área foliar	25.576(0.349)	43.596(0.509)	2e-16***
18	Peso seco	0.264(0.003)	0.533(0.005)	2e-16***
19	AFESP	108.777(1.711)	92.306(1.3)	9.8e-15***
20	Tercer/Primer	0.554(0.01)	0.526(0.007)	0.0251*
21	L/A	3.249(0.017)	2.893(0.013)	2e-16***
22	LP%	15.204(0.15)	11.229(0.108)	2e-16***

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Análisis de componentes principales (PCA)

El PCA nos muestra que el componente uno explica el 54% de la variación y el componente 2 el 21%, por lo que ambos componentes explican el 75% de la variación de la forma de la hoja. Los caracteres más importantes para el componente uno son el ancho máximo de la lámina (AML) y el número de dientes (ND), mientras que el número de venas (Venas) y el grosor de la hoja (GH), fueron los caracteres más importantes para el componente dos.

Dentro de la distribución espacial de las poblaciones es posible observar la presencia de dos grupos muy bien definidos, los cuales corresponden a las poblaciones de *Q. acutifolia* y *Q. grahamii*. Sin embargo, entre estos grupos existen algunas poblaciones con individuos de caracteres intermedios. Estas poblaciones corresponden a las localidades donde ambas especies comparten su distribución, tanto en la sierra Norte de Oaxaca (Yolox y Calpulalpam), como en la Sierra Sur de Oaxaca (Sola de Vega), por lo que es probable que estas poblaciones presenten algún tipo de hibridación (Figura 8).

Para el PCA, al considerar las formas de las hojas (morfología geométrica), se obtuvo un 70% de la variación explicada con los dos primeros componentes (44% PC1 y 26% PC2). Sin embargo, los agrupamientos existentes no son del todo claros, ya que es evidente que el solapamiento de las formas es mucho mayor que al utilizar mediciones lineares, en consecuencia, la forma de la hoja no pareciera ser un carácter de gran importancia para la diferenciación de ambas especies, por lo que los caracteres discretos resultaron ser más informativos que la geometría de las hojas (Figura 8).

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

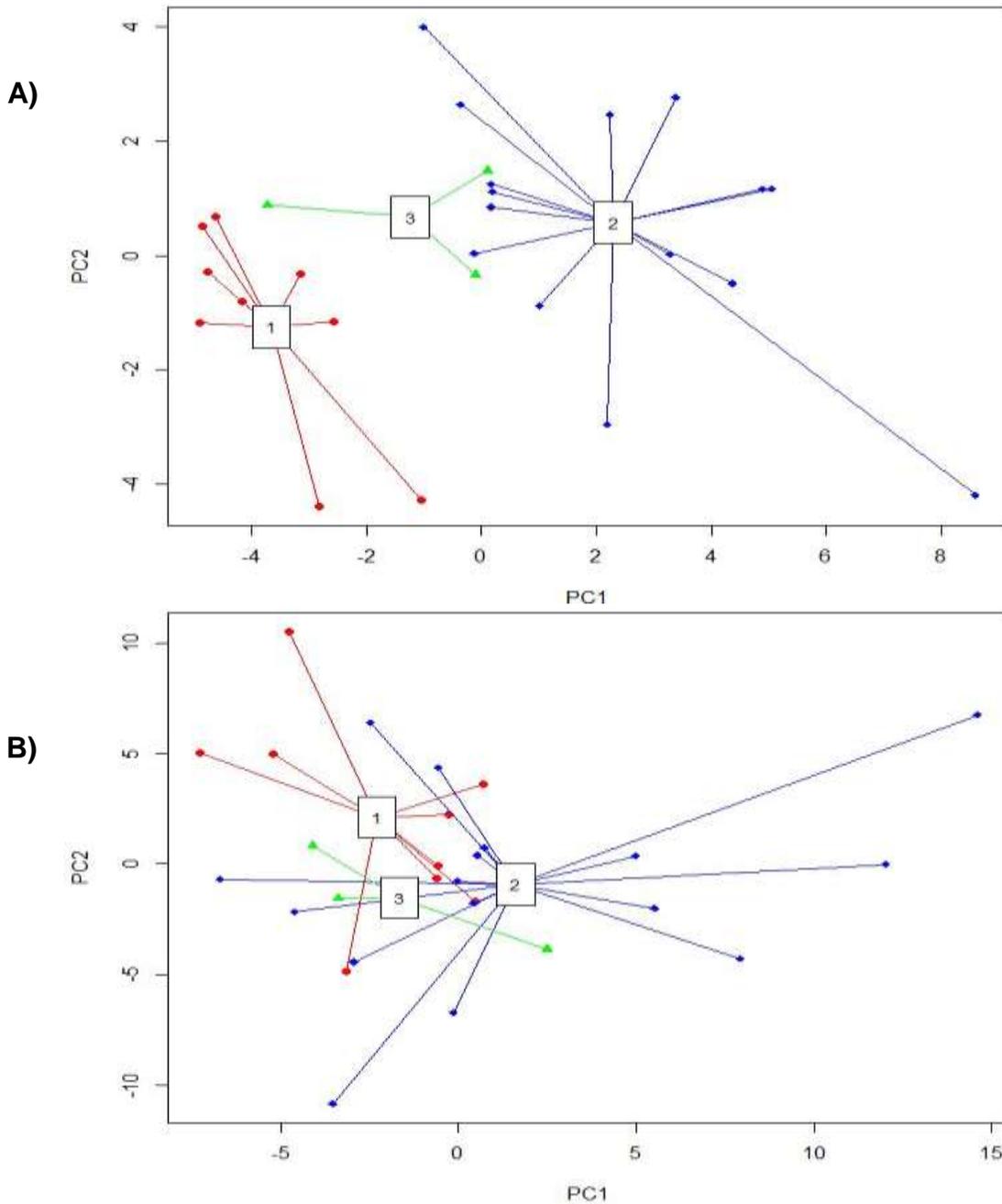


Figura 8. Análisis de componentes principales generado a partir de los 22 caracteres morfológicos **(A)** y de 40 marcas de posición (Landmarks) **(B)**. Los puntos rojos corresponden a *Q. grahamii* (1), los rombos azules a *Q. acutifolia* (2), y los triángulos verdes a las poblaciones de forma intermedia (3).

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Análisis de similitud (ANOSIM)

El análisis de similitud nos muestra que existe una diferenciación significativa entre las especies *Q. acutifolia* y *Q. grahamii* (Tabla 5). Sin embargo, las formas intermedias no presentaron una diferenciación significativa con las poblaciones de *Q. acutifolia*, pero sí con respecto a las poblaciones de *Q. grahamii*, por lo que morfológicamente parecieran estar más cercanas a las poblaciones de *Q. acutifolia* (Tabla 6).

Por otra parte, el análisis de similitud generado a partir de las 40 marcas de posición no mostró ninguna diferencia significativa para ninguno de los grupos analizados. Aparentemente la forma de la hoja no es un carácter clave para la determinación de ambas especies, lo cual se refleja en el alto grado de solapamiento encontrado entre los grupos dentro del análisis.

Tabla 6. Matriz pareada con los resultados del ANOSIM, con los valores de probabilidad generada para los 22 caracteres morfológicos y las 40 marcas de posición. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; ns= no significativo.

22 caracteres morfológicos						
	<i>Q. acutifolia</i>	p	<i>Q. grahamii</i>	p	Formas intermedias	p
<i>Q. acutifolia</i>	-	-	0.6206	0.001***	0.04878	0.376
<i>Q. grahamii</i>	0.6206	0.001***	-	-	0.3846	0.045*
Formas intermedias	0.04878	0.376	0.3846	0.045*	-	-
40 marcas de posición (Landmarks)						
	<i>Q. acutifolia</i>	p	<i>Q. grahamii</i>	p	Formas intermedias	p
<i>Q. acutifolia</i>	-	-	-0.043	0.653	-0.09	0.629
<i>Q. grahamii</i>	-0.043	0.653	-	-	-0.333	0.961
Formas intermedias	-0.09	0.629	-0.333	0.961	-	-

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Análisis canónico de discriminantes (CDA)

El análisis canónico de discriminantes generado a partir de los 22 caracteres morfológicos, obtuvo un valor de 85.9% de correcta asignación. Este resultado muestra la existencia de dos grupos claramente separados, además de la presencia de un pequeño grupo que se encuentra justo en medio de la distribución de los grupos de las especies progenitoras. Este grupo corresponde al grupo de formas intermedias, identificado en el análisis de componentes principales (Tabla 7; Figura 9).

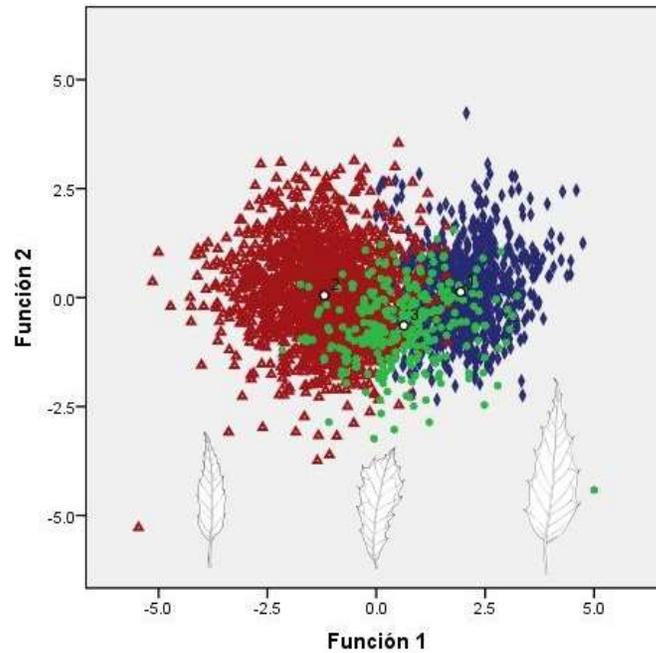
Por otra parte, el análisis canónico de discriminantes obtenido a partir de las 40 marcas de posición (landmarks) no resultó ser igualmente explicativo, ya que solo se obtuvo el 77.5% de correcta asignación dentro del análisis y la diferenciación de los grupos es poco clara (Tabla 7; Figura 9).

Tabla 7. Resultados del test de validación cruzada del análisis canónico de discriminantes, obtenidos a partir de los 22 caracteres seleccionados y las 40 marcas de posición (landmarks), para todas las poblaciones de *Q. acutifolia* y *Q. grahamii*.

Variables	<i>Q. acutifolia</i>	<i>Q. grahamii</i>	Formas intermedias	Total
22 caracteres morfológicos				
	92.0	6.1	1.9	100
	2.9	96.2	0.8	100
	42.5	44.8	12.7	100
40 marcas de posición (landmarks)				
	79.9	18.4	1.8	100
	11.2	86.6	2.0	100
	31.1	49.5	19.4	100

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

A)



B)

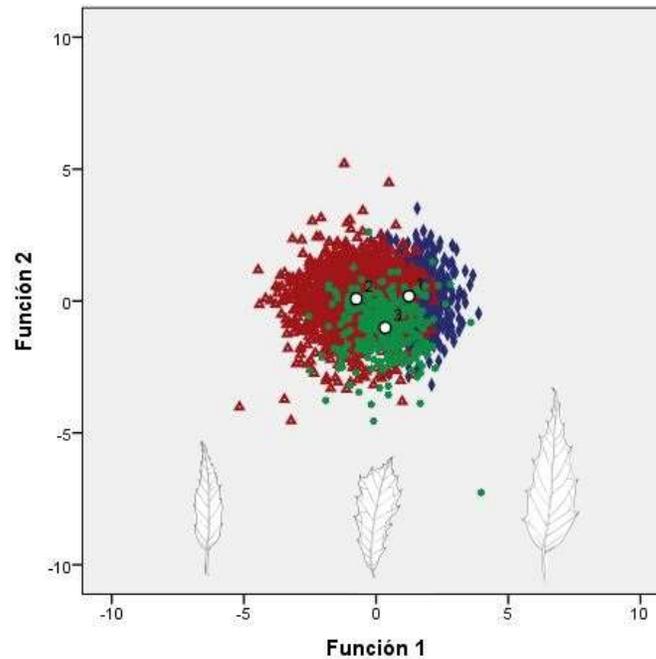


Figura 9. Análisis canónico de discriminantes generado a partir de las 22 variables morfológicas **(A)** y con las 40 marcas de posición (landmarks) **(B)**. Los triángulos rojos corresponden al grupo de *Q. acutifolia*, los rombos azules corresponden a *Q. grahamii* y los círculos verdes corresponden a las poblaciones que presentaron morfología intermedia.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Correlación de los caracteres morfológicos con el gradiente geográfico

El gradiente latitudinal resultó ser de gran importancia para la distribución de los morfos en ambas especies. Cerca del 55% de los caracteres de la especie *Q. acutifolia*, respondieron significativamente al gradiente latitudinal. La mayor parte de estos caracteres fueron los correspondientes al tamaño de las hojas. Contrario a lo esperado las hojas más grandes se encontraron en latitudes mayores. Así mismo, el número de dientes, otro carácter que se ha observado responde al gradiente latitudinal, reaccionó de la misma manera, ya que las hojas de latitudes mayores presentaban pocos o nulos dientes dentro de los individuos (Tabla 8).

De igual modo, el gradiente longitudinal también tuvo un gran efecto sobre la expresión foliar de las poblaciones de *Q. acutifolia* (55% de sus caracteres reaccionaron significativamente a este gradiente). Al igual que con la latitud, los caracteres de mayor influencia son los correspondientes al tamaño de las hojas y el número de dientes, debido a que las poblaciones de Chiapas y Oaxaca siempre resultaron ser más pequeñas y generalmente dentadas, contrario a las presentes en Michoacán y Jalisco. Estos patrones son semejantes a lo encontrado con el gradiente latitudinal, por lo que se cree la respuesta de las hojas al gradiente longitudinal, no es más que el reflejo de la reacción de las hojas a la latitud, la cual afecta directamente a la longitud (Tabla 8).

El gradiente altitudinal resultó tener poca influencia sobre los morfos de *Quercus acutifolia*, solamente el 9% de los caracteres reaccionaron significativamente a la altitud. Estos caracteres son la longitud del peciolo y el diámetro de la vena media.

En el caso de *Q. grahamii*, el gradiente latitudinal resultó tener poca influencia sobre la distribución de sus morfos, solamente el 22% de sus caracteres estudiados respondieron significativamente al gradiente, la mayor parte de ellos

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

en relación al peso y grosor de las hojas (peso seco, APB, DVM y AFESP), por lo que al parecer, hojas más pesadas y densas se distribuyen a latitudes mayores.

Para el gradiente longitudinal, solamente el número de venas, el grosor de la hoja, el ángulo de la base y el cociente de la relación ancho-largo, se relacionaron significativamente, por lo que se deduce que la longitud no influye en gran manera sobre la expresión foliar de las poblaciones de *Q. grahamii* (Tabla 8).

Por otro lado, cerca el 14% de los caracteres estudiados para *Q. grahamii*, respondieron significativamente al gradiente altitudinal, siendo el grosor de la vena media, el diámetro del peciolo en la base y el número de dientes, los únicos caracteres que respondieron a este gradiente (Tabla 8).

La forma de las hojas no resultó ser significativa para ninguno de los gradientes geográficos estudiados (latitud, longitud, altitud). Es posible encontrar una amplia gama de formas, aun dentro de la misma población, por lo que, la variación de la forma de la hoja no sigue un patrón claro.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Tabla 8. Correlación de caracteres morfológicos foliares de ambas especies con la latitud, longitud y altitud. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001; ns= no significativo. Los caracteres que no fueron significativos para ninguna especie fueron excluidos.

	<i>Q. acutifolia</i>				<i>Q. grahamii</i>			
	r	r ²	f	p	r	r ²	f	p
LATITUD								
ND	0.330	0.286	7.41	0.015*	0.370	0.300	5.29	0.046*
VENAS	ns	ns	ns	ns	0.501	0.445	9.03	0.014*
DPB	0.293	0.246	6.22	0.024*	0.670	0.634	18.32	0.002**
DPC	0.329	0.283	7.33	0.016*	ns	ns	ns	ns
DVM	0.477	0.442	13.71	0.002**	0.81	0.789	38.46	0.000***
AML	0.358	0.315	8.36	0.011*	ns	ns	ns	ns
Primer	0.268	0.220	5.51	0.032*	ns	ns	ns	ns
Tercer	0.364	0.321	8.59	0.010*	ns	ns	ns	ns
Centro	0.477	0.443	13.73	0.002**	ns	ns	ns	ns
Ángulo ápice	0.361	0.318	8.49	0.01*	ns	ns	ns	ns
Área foliar	0.238	0.187	4.69	0.046*	ns	ns	ns	ns
Peso seco	0.395	0.355	9.82	0.006**	0.516	0.463	9.62	0.012*
AFESP	ns	ns	ns	ns	0.552	0.502	11.11	0.008***
L/A	0.407	0.368	10.33	0.005**	ns	ns	ns	ns
LONGITUD								
ND	0.308	0.262	6.69	0.020*	ns	ns	ns	ns
VENAS	ns	ns	ns	ns	0.515	0.461	9.58	0.012*
GH	ns	ns	ns	ns	0.68	0.644	19.15	0.001**
DPB	0.541	0.510	17.71	0.000***	ns	ns	ns	ns
DPC	0.506	0.474	15.42	0.001**	ns	ns	ns	ns
DVM	0.436	0.399	11.62	0.003**	ns	ns	ns	ns
AML	0.373	0.331	8.94	0.009**	ns	ns	ns	ns
LML	0.237	0.186	4.67	0.047*	ns	ns	ns	ns
LT	0.305	0.259	6.59	0.021*	ns	ns	ns	ns
Primer	0.390	0.349	9.6	0.007**	ns	ns	ns	ns
Centro	0.368	0.326	8.74	0.009**	ns	ns	ns	ns
Ángulo base	ns	ns	ns	ns	0.479	0.421	8.28	0.018*
Peso seco	0.581	0.553	20.82	0.000***	ns	ns	ns	ns
L/A	0.323	0.278	7.17	0.017*	0.370	0.300	5.29	0.046*
LP	0.236	0.185	4.63	0.048*	ns	ns	ns	ns
ALTITUD								
ND	ns	ns	ns	ns	0.370	0.300	5.29	0.046*
DPB	ns	ns	ns	ns	0.402	0.342	6.724	0.028*
DVM	0.342	0.298	7.80	0.013*	0.358	0.293	5.576	0.039*
LP	0.277	0.228	5.74	0.02*	ns	ns	ns	ns

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Análisis genéticos

Diversidad genética

Se encontraron un total de 70 alelos para las poblaciones de *Q. grahamii* y 71 alelos para *Q. acutifolia* en todos los loci. Los valores de diversidad resultaron ser moderadamente más altos para *Q. grahamii* ($N=9.42$, $N_a=4.12$, $N_e=2.73$, $H_o=0.557$, $H_e=0.592$) que para *Q. acutifolia* ($N=9.46$, $N_a=4.02$, $N_e=2.63$, $H_o=0.493$, $H_e=0.556$) (Tabla 9).

Las poblaciones de *Q. grahamii* con mayor diversidad alélica fueron Calpulalpam ($N_a=4.6$, $N_e=3.159$), Tlacotepec ($N_a=4.1$, $N_e=2.964$) y Zitácuaro ($N_a=4.5$, $N_e=2.861$). Por su parte, dentro de las poblaciones de *Q. acutifolia* las que presentaron mayor diversidad genética fueron Motozintla ($N_a=4.7$, $N_e=3.09$), Altamirano ($N_a=4.4$, $N_e=2.808$), Villa Madero ($N_a=4.7$, $N_e=2.765$) y Chapa de Corzo ($N_a=4.3$, $N_e=2.797$). En cuanto a la presencia de alelos únicos las poblaciones de *Q. grahamii* presentaron 7 alelos únicos, localizados en las poblaciones de Omiltemi (Guerrero), Calpulalpam (Oaxaca), Sola de Vega (Oaxaca) y Zitácuaro (Michoacán). Las poblaciones de Sola de Vega y de Calpulalpam son poblaciones que pertenecen al grupo que presentó morfología intermedia. Para *Q. acutifolia* se encontraron 3 alelos únicos, distribuidos en las poblaciones de Chilapa (Guerrero), Nanchititla (México) y Villa Madero (Michoacán).

Ambas especies presentaron patrones de heterocigocidad similares, donde la heterocigocidad esperada fue mayor a la observada en casi todos los loci, sin embargo, el índice de fijación "F" de Wright (1953) mostró que las poblaciones de *Q. grahamii* ($F= 0.064$) se encuentran cercanas al equilibrio HW, mientras que las poblaciones de *Q. acutifolia* ($F= 0.108$) presentan cierto grado de endogamia.

Tabla 9. Valores de diversidad genética para ambas especies. **Na:** Número de alelos, **Ne:** Número específico de alelos, **Pa:** Alelos privados, **He:** Heterocigocidad esperada, **Ho:** Heterocigocidad observada, **Fis:** Índice de endogamia, **Fst:** Índice de diferenciación genética (Por especies y entre especies).

Locus	N		Na		Ne		Pa		He		Ho		Fis		Fst inter-especifico		Fst intra-especifico
	Q.gr	Q.ac	Q. gr	Q. ac	Q. gr	Q. ac	Q. gr	Q. ac	Q. gr vs Q. ac								
IC08	7	6	3.7	4.2	2.7	2.5	1	0	0.57	0.59	0.56	0.61	0.017	-0.023	0.096	0.073	0.105
IF02	8	7	3.3	3.7	2.3	2.4	2	0	0.52	0.55	0.40	0.34	0.219	0.385	0.212	0.184	0.197
IF07	7	8	5.0	4.9	3.3	3.4	0	0	0.68	0.67	0.78	0.69	-0.136	-0.022	0.079	0.115	0.148
OE09	8	8	5.1	2.9	3.2	1.4	0	0	0.66	0.24	0.61	0.26	0.080	-0.093	0.104	0.109	0.204
2F05	10	10	4.4	4.9	3.2	3.3	2	1	0.66	0.68	0.63	0.51	0.039	0.257	0.134	0.083	0.108
O101	4	5	3.3	2.9	2.2	1.8	0	0	0.54	0.40	0.56	0.32	-0.045	0.212	0.261	0.284	0.317
OA01	5	5	3.0	2.8	1.5	1.9	0	0	0.32	0.46	0.35	0.49	-0.102	-0.057	0.061	0.088	0.101
ZAG96	7	9	4.8	4.8	3.1	3.2	0	2	0.66	0.67	0.69	0.66	-0.055	0.018	0.145	0.108	0.155
ZAG110	8	7	4.5	4.7	2.9	3.4	1	0	0.64	0.69	0.62	0.65	0.033	0.051	0.125	0.136	0.142
OC19	6	6	4.0	3.9	2.9	2.8	1	0	0.63	0.61	0.27	0.43	0.576	0.290	0.150	0.172	0.165
total	70	71	4.1	4.0	2.7	2.6	7	3	0.59	0.56	0.55	0.49	0.063	0.102	0.137	0.135	0.164

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Estructura genética (Asignación Bayesiana)

El análisis de asignación Bayesiana nos muestran la existencia de dos grupos genéticos ($K=2$), sin embargo, es posible apreciar que ambos grupos se entremezclan, en mayor o menor medida, entre el total de las poblaciones estudiadas. Las únicas poblaciones que fueron asignadas con un valor superior al 90% en alguno de los grupos genéticos fueron Calpulalpam, para *Q. grahamii* y las poblaciones de 5 cerros, Chilapa, Taxco y las Piedras para *Q. acutifolia* (Figura 10).

Solamente 2 poblaciones presentaron procesos de hibridación primaria "F1". Estas son, las poblaciones de Agua de Obispo, en Guerrero y la población de Ario de Rosales, en Michoacán, ambas pertenecientes a la especie *Q. acutifolia*.

El 75% de las poblaciones presentaron introgresión en su genoma. Las poblaciones de *Q. grahamii* que presentaron este fenómeno fueron la población de Omiltemi, Xochilapa y Tlacotepec, del estado de Guerrero; Tlaxiaco, Tepescolula y ola de Vega, en el estado de Oaxaca; Atexcal, para el estado de Puebla y Tlalpujahuá, Zitácuaro y Yerbabuena, en el estado de Michoacán.

Para las poblaciones de *Q. acutifolia* con presencia de introgresión, están las poblaciones de Villa Flores, Altamirano, Chapa de Corzo y Motozintla, para el estado de Chiapas; Juquila, Tehuantepec y Yolox en el estado de Oaxaca; Cualac, del estado de Guerrero; Villa Madero de Michoacán y las Animas de Jalisco. De estas poblaciones.

Estos resultados nos muestran que la mayor parte de los individuos introgresados están presentes dentro de la zona simpátrica, en los estados de Oaxaca, Guerrero y Michoacán. Sin embargo, las poblaciones de Chiapas que no

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

están en contacto cercano con las poblaciones de *Q. grahamii*, también presentaron introgresión dentro de sus genotipos.

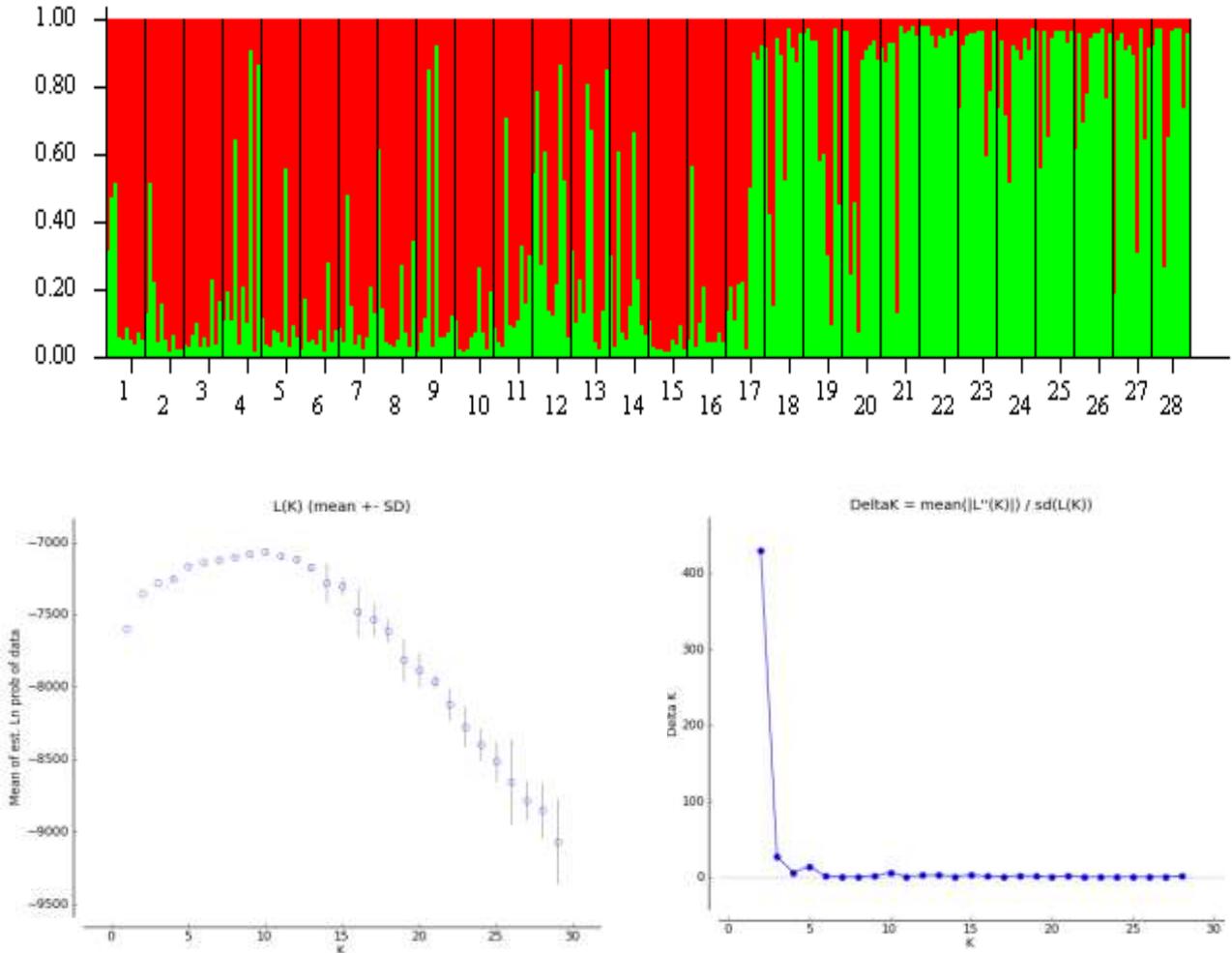


Figura 10. Grupos genéticos obtenidos a partir de la inferencia bayesiana en el programa STRUCTURE (K=2).

Por otra parte, es posible observar que la distribución de los grupos genéticos no es aleatoria, ya que las poblaciones que presentaron un mayor grado de asignación a la especie *Q. grahamii* se encuentran sobre las cadenas montañosas de la Faja Volcánica Transmexicana en Michoacán y Puebla, así

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Análisis de coordenadas principales (PCoA)

El análisis de coordenadas principales generado con base en las distancias genéticas pareadas de todos los individuos nos muestra una marcada separación entre los grupos principales de ambas especies. Esto es corroborado por los valores moderadamente altos obtenidos por los índices de diferenciación genética ($F_{st} = 0.164$, $G_{st} = 0.162$), por lo que es posible visualizar estructura entre las poblaciones estudiadas. Sin embargo, también es posible apreciar que existe un solapamiento de los mismos en los límites de su distribución. Estos individuos representan genotipos con un elevado grado de introgresión, los cuales son el resultado de flujo génico continuo entre ambas especies progenitoras (Figura 13).

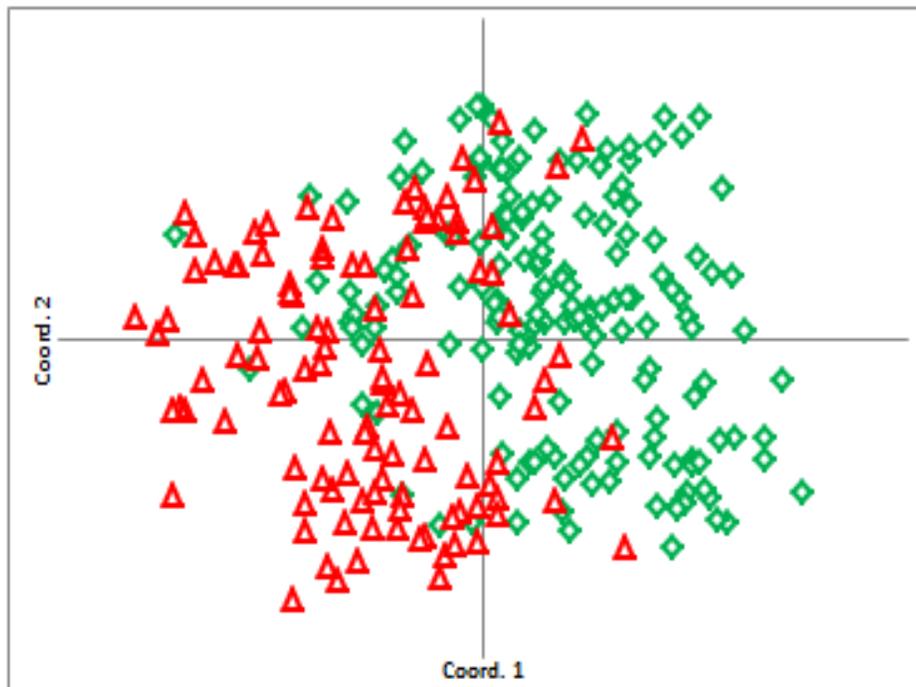


Figura 13. Análisis de coordenadas principales de los grupos genéticos obtenidos a partir de la inferencia bayesiana. Los triángulos rojos corresponden al grupo genético de *Q. grahamii*, mientras que los rombos verdes nos indican el grupo genético de *Q. acutifolia*.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Se encontró una correlación significativa entre el grado de asignación genética a los grupos con respecto a la altitud ($S=1456.7$, $p\text{-value}=0.0007$, $\rho=0.6013$), por lo que la presencia de los genotipos no es aleatoria, sino que está definida principalmente por el gradiente altitudinal (Figura 14).

Por otra parte, el gradiente latitudinal ($S=2143.8$, $p\text{-value}=0.0288$, $\rho=0.4133$) tuvo una leve influencia sobre la distribución de los genotipos, ya que *Q. acutifolia* es más abundante a latitudes menores, principalmente en el estado de Chiapas. El gradiente longitudinal no tuvo ningún efecto significativo sobre la distribución de los genotipos ($S=4891.2$, $p\text{-value}=0.078$, $\rho=-0.3385$).

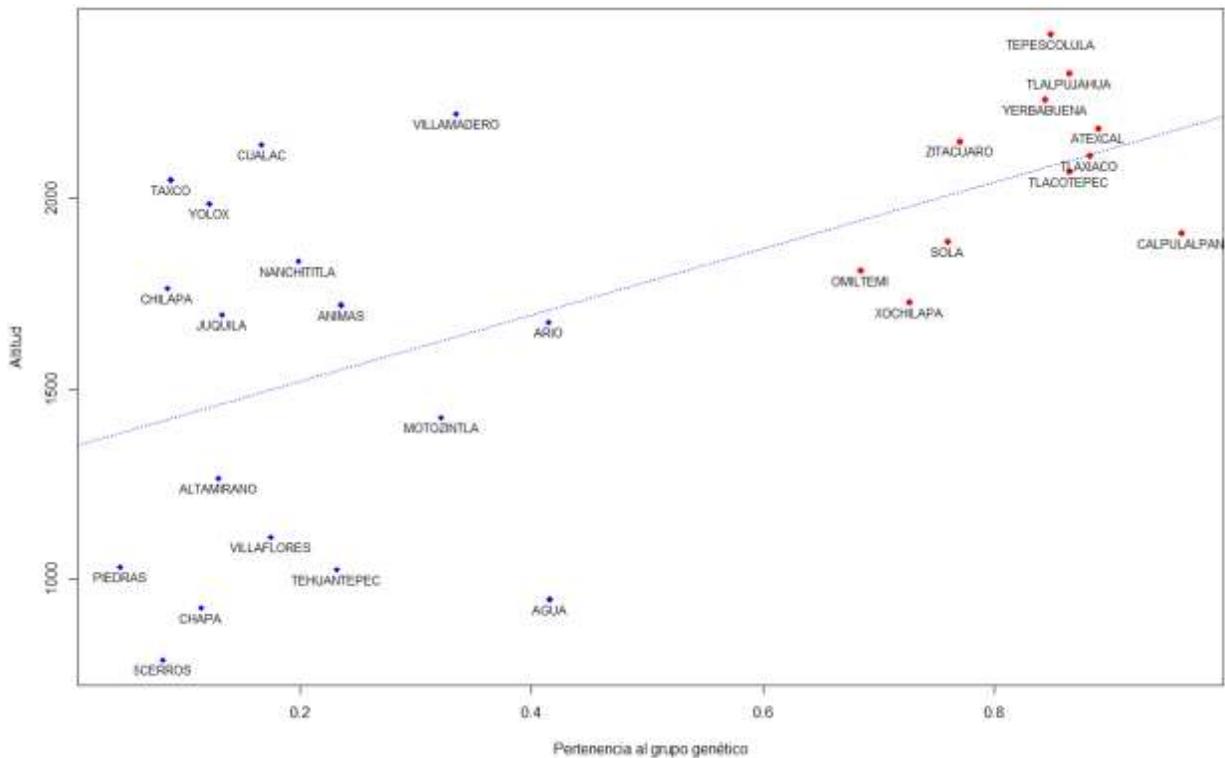


Figura 14. Correlación de la distribución de los grupos genéticos con respecto al gradiente altitudinal. Los puntos rojos corresponden *Q. grahamii* y los puntos azules a la especie *Q. acutifolia*.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Análisis de varianza molecular (AMOVA)

El AMOVA fue significativo para estos dos grupos asignados, en los tres niveles estudiados. Se obtuvo que la mayor parte de la variación se encuentra dentro de las poblaciones (83%), mientras que entre las poblaciones (11%) y entre los grupos (6%), el porcentaje de variación encontrada es menor (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis de varianza molecular. La prueba fue significativa para los tres niveles. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; ns= no significativo.

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza		Porcentaje de variación
Entre grupos	1	25.702	0.08113	Va	6.07***
Entre poblaciones dentro de los grupos	26	104.745	0.14597	Vb	10.92***
Dentro de las poblaciones	532	590.232	1.10946	Vc	83.01***
Total	559	720.679	1.33655		

Flujo génico

Los resultados de flujo génico nos muestran que existe un intercambio de cerca de 1.56 migrantes por generación entre todas las poblaciones de ambas especies. Sin embargo, los resultados obtenidos nos muestran que, solamente el 19.18% de las interacciones presentó valores superiores a 1 migrante por generación, por lo que el flujo es más limitado de lo esperado, y por ende, se puede encontrar cierta estructura entre poblaciones (Figura 15).

Es posible apreciar que las poblaciones de *Q. acutifolia* tienen un intercambio activo de polen con sus conespecíficos y con algunas poblaciones de *Q. grahamii*, mientras que las poblaciones de *Q. grahamii* no presentaron un flujo

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

significativo con las poblaciones de *Q. acutifolia*. Se observa que las poblaciones que presentaron los valores más altos de flujo génico fueron las ubicadas en la zona donde ambas especies habitan en simpatría, correspondientes a los estados de Oaxaca y Guerrero (Tehuantepec, Piedras, Agua de Obispo, Yolox y Sola de Vega). Las poblaciones de Yolox y Sola de Vega forman parte de las poblaciones de morfología intermedia y presentan un genotipo con un buen grado de introgresión, por lo que pudiera estar fungiendo como un corredor de genes entre ambas especies.

Un hecho destacado fue que una las poblaciones que presentaron los valores de flujo más activos fue la población de Motozintla, correspondiente al estado de Chiapas. Esta población es de las más aisladas, ya que *Q. grahamii* no está presente en el estado de Chiapas. Por lo que su elevado flujo pudiera deberse al sorteo incompleto de linajes más que a eventos de flujo génico reciente.

Esto es corroborado por el análisis de flujo génico reciente generado en el programa BAYESASS v3.0, donde se muestra que el flujo génico reciente es mucho mayor en poblaciones pertenecientes a la misma especie. Los valores de probabilidad más altos fueron los obtenidos de la población de Calpulalpam con Atexcal 0.0853 (0.0318), Cualac con Nanchititla 0.0705 (0.0237) y la población de 5 cerros con Nanchititla 0.0570 (0.0364) (Figura 16). Ninguna de las interacciones de flujo génico supero el 0.1 de probabilidad, por lo que el flujo no es tan alto como se esperaba.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

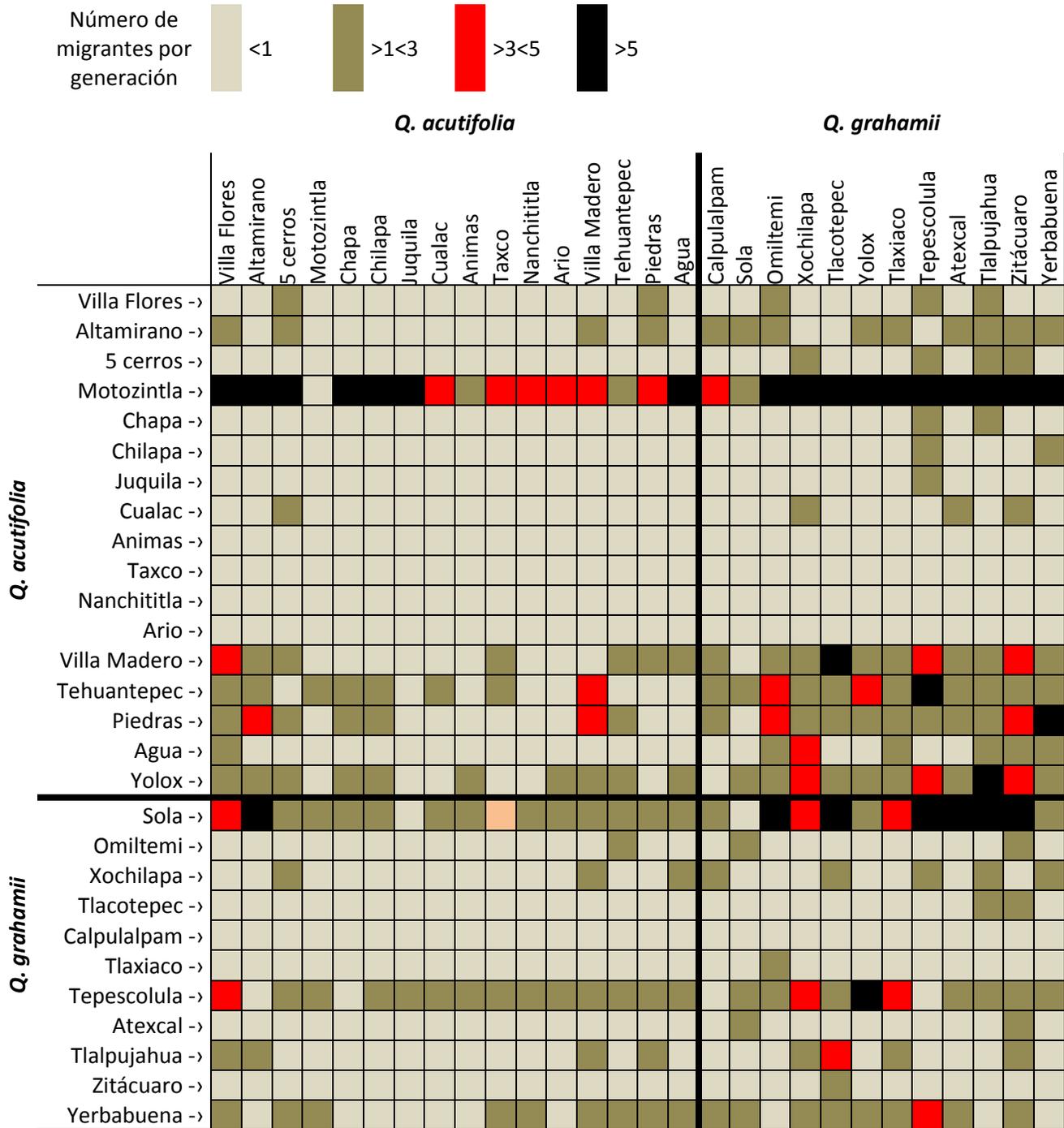


Figura 15. Estimación de número de migrantes por generación obtenido en el software MIGRATE v4.0 para todas las poblaciones.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

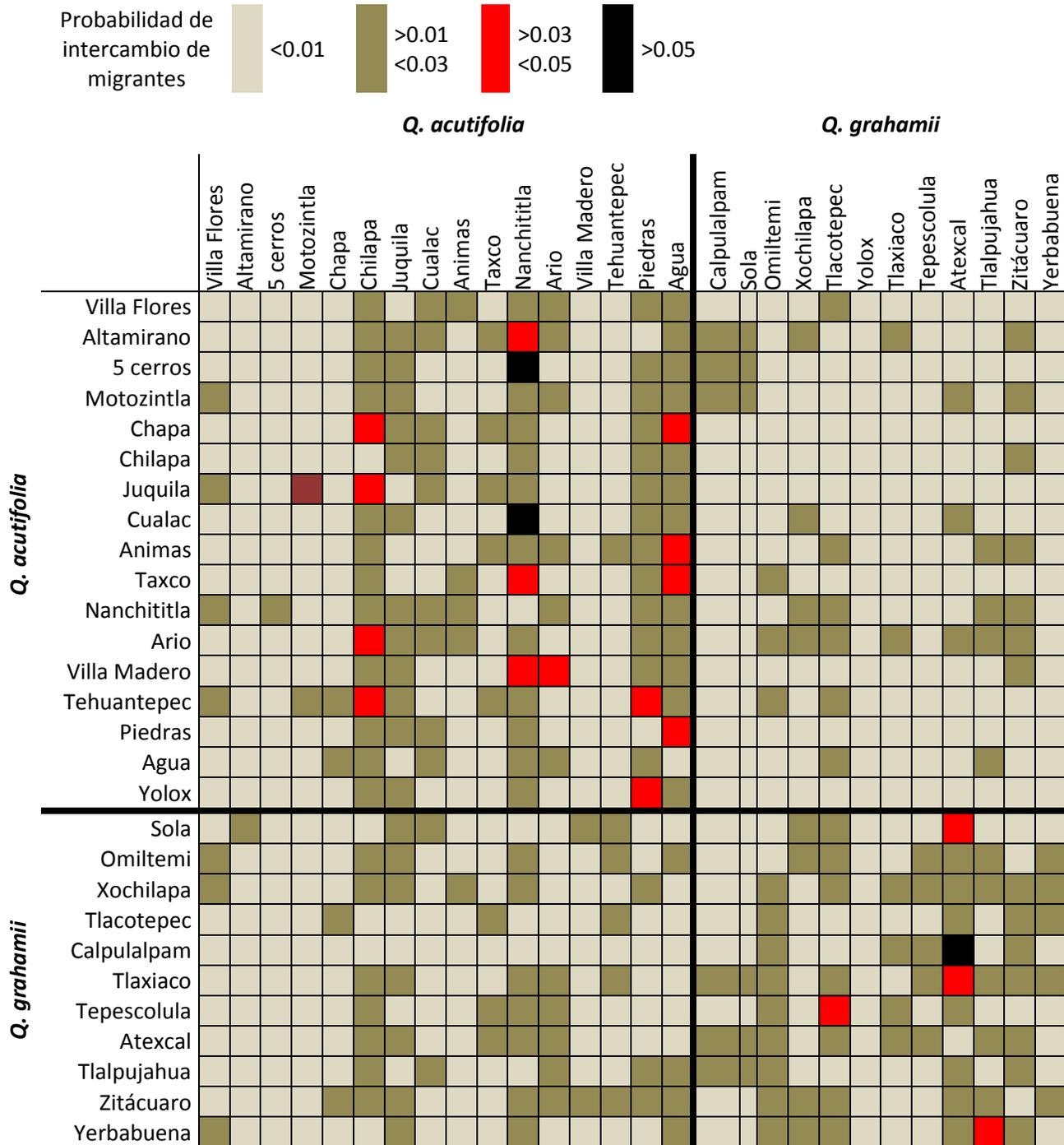


Figura 16. Tasas de migración recientes inferidas en el software BAYESASS v3.0 para todas las poblaciones.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Los resultados de discontinuidad de flujo genético nos muestran una marcada limitación de flujo entre las poblaciones de ambas especies. Las principales discontinuidades de flujo génico obtenidas, aíslan los cúmulos de poblaciones de *Q. grahamii* en las Sierras del norte de Michoacán, en las cadenas montañosas del estado de Guerrero y en la Sierra Mixteca de Oaxaca. Únicamente las poblaciones de *Q. grahamii* en la Sierra Norte y en la sierra Sur de Oaxaca parecieran no estar del todo aisladas de las poblaciones de *Q. acutifolia*, lo cual fue corroborado en el análisis de flujo génico realizado con anterioridad. El istmo de Tehuantepec no resultó ser una barrera de importancia para el intercambio de genes, ya que se detectó flujo génico entre las poblaciones de Chiapas y el resto de las poblaciones estudiadas (Figura 17).

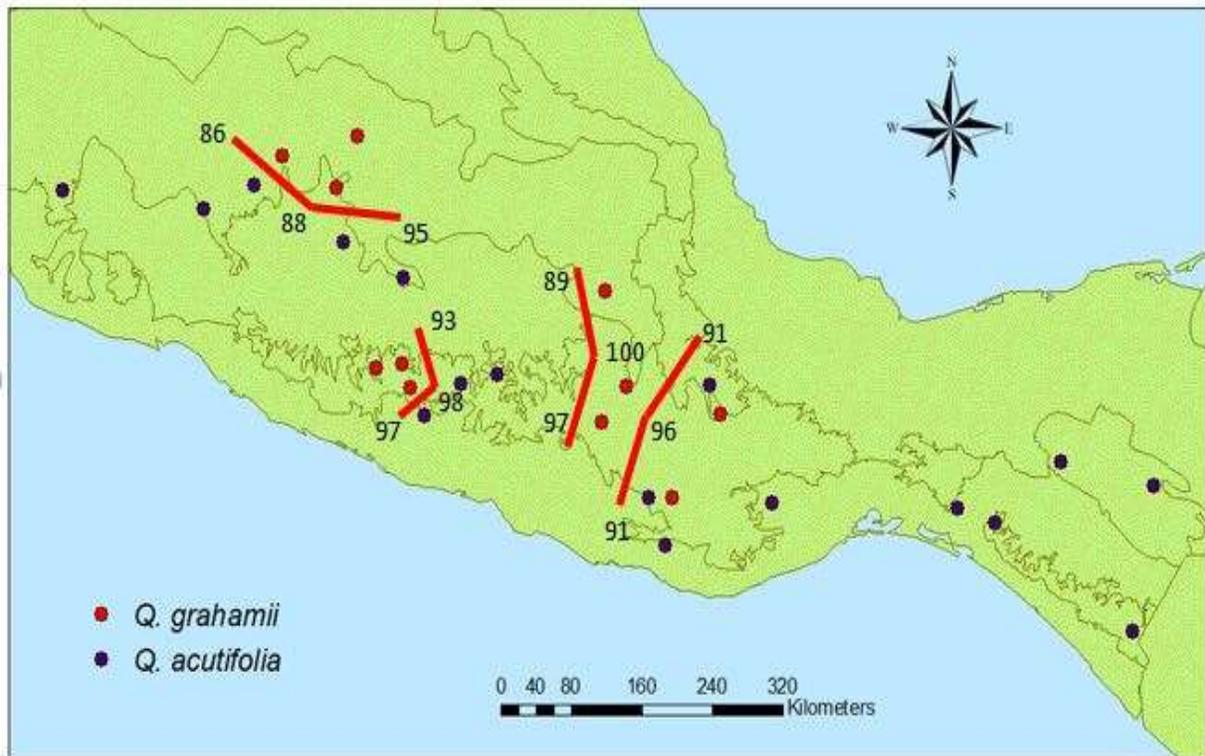


Figura 17. Discontinuidades del flujo genético detectadas entre poblaciones. Los números negros nos indican el valor de bootststrap para cada una de las barreras generadas.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Diferenciación de nicho

Análisis de componentes principales (PCA)

El análisis de componentes principales, generado a partir de las 8 variables bioclimáticas seleccionadas de Cuervo-Robayo *et al.* (2013) nos muestra que con los dos primeros componentes se explica el 74% de la variación, donde el componente uno incluye el 45% de la variación y es el componente que consigue separar notoriamente a ambas especies dentro del plano; por su parte, el componente dos conserva el 29 % de la variación.

Las variables más importantes del componente uno fueron la temperatura mínima del mes más frío (bio 6) y la estacionalidad de la temperatura (bio4), mientras que para el componente dos las variables de mayor importancia fueron la precipitación de la estación más seca del año (bio 17) y la estacionalidad de la precipitación (bio 15).

Se observa que la distribución de las poblaciones de *Q. acutifolia*, con base en su caracterización climática de nicho, es bastante amplia, ya que existen poblaciones como la de Motozintla (Chiapas) que se separan del grupo principal debido a las elevadas tasas de precipitación que recibe. Por otro lado, las poblaciones de *Q. grahamii* parecieran presentarse en condiciones de nicho un poco más restringidas (Figura 18).

Es evidente que existe un solapamiento considerable entre los grupos de ambas especies progenitoras, por lo que ambientalmente pudieran estar compartiendo su distribución en algunas zonas del país, lo que podría favorecer el contacto reproductivo entre ambas especies.

Por otro lado, es posible apreciar que el grupo de poblaciones de morfología intermedia se encuentra cerca de la zona donde ambas especies

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

progenitoras se solapan, por lo que este fenotipo intermedio pudiera ser el resultado de la presión ambiental ejercida sobre estas poblaciones, así como de frecuentes eventos de hibridación por contacto secundario.

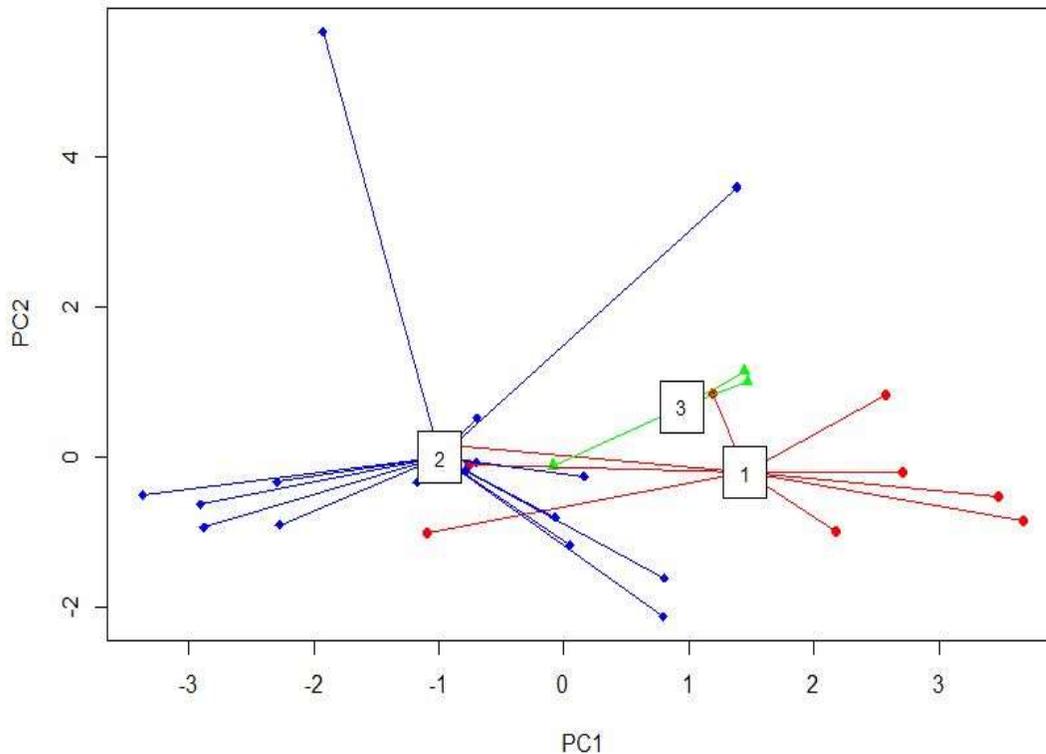


Figura 18. PCA generado a partir de las 8 variables bioclimáticas seleccionadas de Cuervo-Robayo *et al.* (2013). Los puntos rojos corresponden a la especie *Q. grahamii* (1), los azules a *Q. acutifolia* (2) y los verdes a poblaciones de formas intermedias (3).

Análisis de similitud (ANOSIM)

Los resultados obtenidos en el análisis de similitud nos muestran que existe una diferenciación significativa entre el nicho ecológico de ambas especies. Por otra parte, el grupo de formas intermedias no mostró ser significativamente distinto al grupo de *Q. grahamii*, pero sí con respecto al grupo de *Q. acutifolia*. Las

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

poblaciones que presentaron morfología intermedia en principio pertenecen a la especie *Q. grahamii* (Tabla 11).

Tabla 11. Matriz pareada resultante del ANOSIM generada a partir de las variables bioclimáticas seleccionadas con los valores de probabilidad generada para cada uno de los casos. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; ns= no significativo.

Especie	<i>Q. acutifolia</i>	p	<i>Q. grahamii</i>	P	Formas intermedias	p
<i>Q. acutifolia</i>	-	-	0.191	0.026*	0.374	0.04*
<i>Q. grahamii</i>	0.191	0.026*	-	-	-0.214	0.98
Formas intermedias	0.374	0.04*	-0.214	0.98	-	-

Modelado de nicho por máxima entropía (MAXENT)

El modelo de distribución generado para *Q. acutifolia* sugiere que esta especie se distribuye principalmente en las zonas de altitud media de la Sierra Madre del Sur, en los Altos de Chiapas, la región de Soconusco, la depresión del Balsas y por la planicie costera del Pacífico. El límite de la distribución de esta especie al norte se encuentra en el estado de Colima. También es posible apreciar que existe una proyección de la distribución de esta especie hacia Guatemala y Honduras. En el caso de *Q. acutifolia*, si existen abundantes registros de esta especie en centro América, por lo que la estimación del nicho de esta especie está bien representada (Figura 19A).

Por su parte, el modelo de distribución generado para la especie *Q. grahamii*, nos muestra que esta especie se encuentra predominantemente distribuida sobre las cadenas montañosas, en la Faja Volcánica Transmexicana, en la Sierra Norte de Oaxaca y la Sierra Madre del Sur. El límite de la distribución de esta especie al norte se encuentra en el estado de Jalisco. También, es posible

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

apreciar que existe cierto error dentro del modelo, ya que se tienen proyecciones para el estado de Chiapas, sitio donde no se tiene registro de la presencia de esta especie. De igual modo, el modelo sugiere la presencia de esta especie en los estados de Hidalgo y Guanajuato, donde no se realizaron colectas, por el limitado número de registros existentes para la zona (Figura 19B).

Los modelos de distribución generados para las especies *Q. acutifolia* y *Q. grahamii* nos permitieron calcular el área donde ambas especies pudieran habitar en simpatría. Es posible observar que *Q. acutifolia* y *Q. grahamii* se solapan en gran parte de su distribución, sobre todo en los estados de Oaxaca y Guerrero sobre la Sierra Madre del Sur y en la Sierra Norte de Oaxaca. En esta zona se encuentran las poblaciones con morfología intermedia y se obtuvieron los valores de flujo génico intra-específico más altos, por lo que se puede considerar como la principal zona de hibridación para ambas especies (Figura 19C).

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

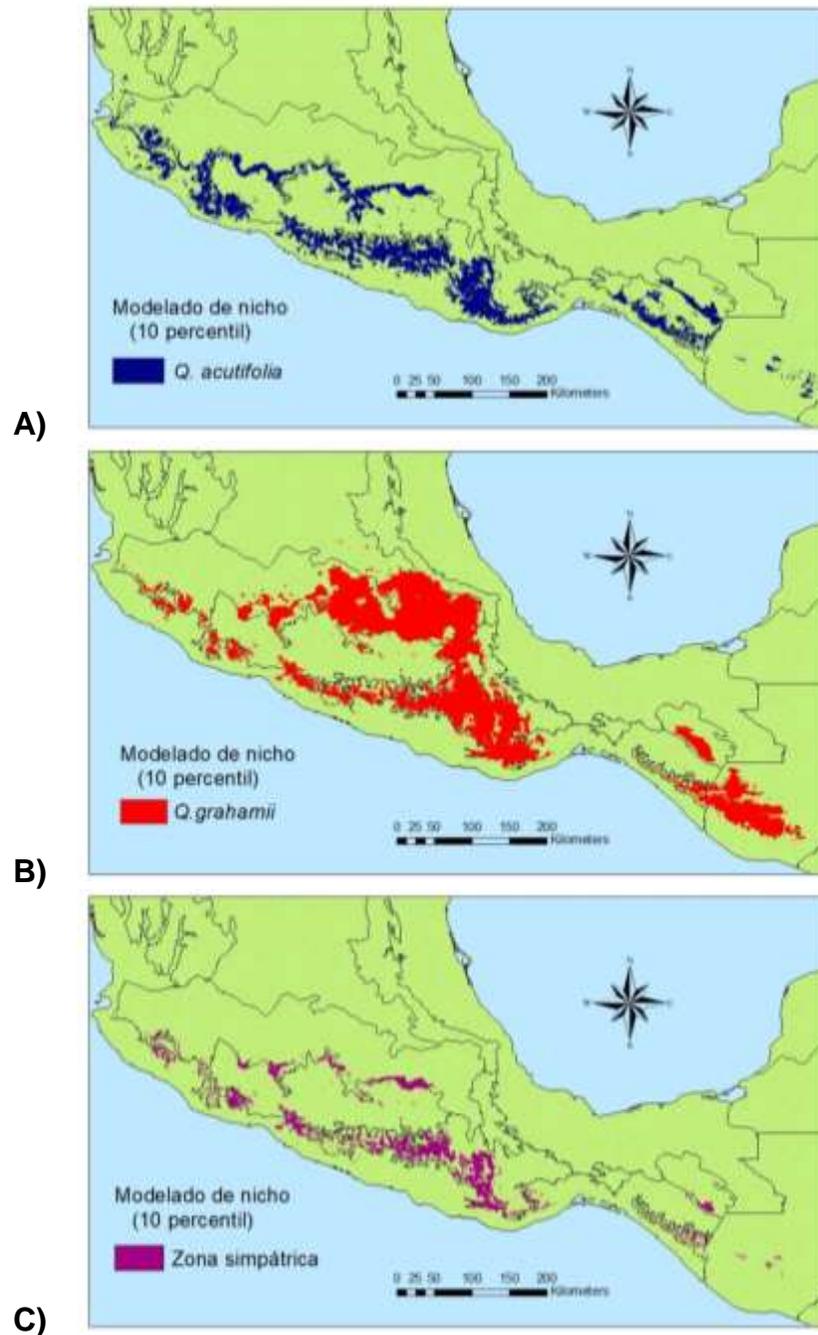


Figura 19. Modelado de nicho ecológico para las especies *Q. acutifolia* (A), *Q. grahamii* (B) y el área de simpatría calculada para ambas especies (C).

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

6. DISCUSIÓN

En este estudio se abordaron análisis de variación morfológica, genéticos y de nicho ecológico para entender los niveles de diferenciación y tratar de facilitar la identificación de las especies *Q. acutifolia* y *Q. grahamii*, dos especies estrechamente emparentadas, pertenecientes a la serie *Acutifoliae*. Ambas especies muestran frecuentes problemas de determinación, debido a la gran variación de sus caracteres y al gran solapamiento, tanto morfológico como ecológico, que éstas presentan.

Los resultados obtenidos por la caracterización morfológica nos mostraron que gran parte de los caracteres estudiados pueden ser usados para distinguir a ambas especies. En general, *Q. acutifolia* presentó hojas grandes y ovadas, oblanceoladas o elípticas, de consistencia coriácea, con peciolo robusto y margen dentado o entero. Por otro lado, *Q. grahamii* presentó hojas moderadamente pequeñas, en su mayoría lanceoladas, de consistencia coriácea-papirácea, fuertemente dentadas. Esto es consistente con lo reportado por Valencia-Ávalos *et al.* (2015), por lo que, aunque existieron algunas poblaciones con morfología intermedia, parecieran estar bien definidas ambas especies.

De igual modo, los patrones morfológicos obtenidos son similares a lo reportado por Valencia-Ávalos *et al.* (1994), donde para el complejo *Q. affiniis* - *Q. laurina* se encontró que las hojas pequeñas, angostas y lanceoladas, suelen estar presentes en zonas húmedas y protegidas como los valles y barrancas, mientras que hojas más grandes, anchas y ovadas suelen estar presentes en lugares más secos y expuestos (Howard *et al.* 1997; Ruiz-Amaro, 2010; Bruschi *et al.* 2003). *Quercus acutifolia* suele encontrarse en zonas templadas o cálidas, relativamente expuestas, en encinares o en bosques tropicales semi-decíduos, mientras que *Q. grahamii* se encuentra predominantemente en bosques de encino generalmente a

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

altitudes superiores a los 2000 m. Sin embargo, se ha encontrado que esta especie también puede estar presente en zonas expuestas, formando bosques mixtos con *Juniperus* e inclusive en ecotonos con palmares.

Las poblaciones que presentaron problemas de diferenciación morfológica fueron Yolox, Calpulalpam y Sola de Vega, las cuales se localizan en la Sierra Norte y en la Sierra Mixteca de Oaxaca. Estas poblaciones se encuentran dentro de la zona de contacto de ambas especies y en sitios donde las condiciones climáticas han favoreciendo el contacto entre ellas, lo que ha generado genotipos fuertemente introgresados, que junto a la presión ambiental han formado formas con características intermedias a las de ambos progenitores. En encinos se ha observado que los individuos con morfologías intermedia suelen ser escasos, ya que pequeñas secciones del genoma asociado con la diferenciación intra-específica se mantienen aisladas del flujo génico, a causa de la selección divergente, por lo que ayudan a mantener las diferencias entre las especies progenitoras (Bodenes *et al.*, 1997; Wu, 2001; Bruschi *et al.*, 2000; González-Rodríguez *et al.*, 2004; Kremer *et al.*, 2002).

En general, los análisis nos muestran que las poblaciones se segregaron diferencialmente de acuerdo a la correspondencia de cada una de las especies. Uno de los caracteres que tuvo mayor importancia dentro de la mayoría de los análisis fue el número de dientes. Valencia-Ávalos *et al.* (2015) encontró que la presencia de dientes en las poblaciones de *Q. acutifolia* puede variar en gran medida, llegando a tener ausencia de los mismos, mientras que *Q. grahamii* siempre presenta un margen fuertemente dentado. Se ha observado que las formas dentadas o lobuladas suelen estar presentes a latitudes mayores donde la temperatura media anual disminuye y donde la estacionalidad es más marcada (Edwards, 2016; Givnish, 1987; Olson y Arroyo-Santos, 2015). Se cree, que este carácter representa una adaptación encaminada a hacer más eficiente la

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

fotosíntesis en estadios tempranos del desarrollo foliar, favoreciendo el rápido desarrollo de las hojas, o que pudiera estar facilitando el traslado de fluidos dentro de las mismas (Baker, Brush y Peet, 1997). Sin embargo las poblaciones de *Q. acutifolia* no presenta este patrón. Las poblaciones de latitudes menores son las que presentaron un mayor número de dientes, mientras que las poblaciones de latitudes más altas fueron predominantemente de margen entero. Por su parte, *Q. grahamii* no presentó ningún patrón entre el número de dientes que presentaban las hojas y el gradiente latitudinal. Esto puede deberse principalmente, a que los sitios donde esta especie habita son más homogéneos en todo el gradiente, con temperaturas medias moderadamente bajas y una marcada estacionalidad en la temperatura a lo largo del año.

Por otra parte, el gradiente altitudinal no resultó ser tan importante con respecto a la distribución de los morfos como la latitud. El único carácter que varió significativamente en ambas especies con respecto a la altitud fueron las dimensiones del peciolo, el diámetro del peciolo en la base en *Q. grahamii* y el largo del peciolo para *Q. acutifolia*. El peciolo es una estructura meramente de soporte que ayuda a posicionar las láminas de las hojas en las ramillas, por lo que el engrosamiento del mismo en zonas de menor altitud es la respuesta de las plantas para soportar el peso de láminas más grandes y pesadas, mientras que el alargamiento de los mismos en zonas de altitudes mayores les ayuda a obtener una mejor posición a las hojas dentro de las ramillas.

Un hecho destacado fue que la distribución de los genotipos, tanto híbridos como puros, está estrechamente relacionada con la altitud, por lo que se deduce que la selección exógena es el principal factor que determina la distribución de los genotipos en el gradiente. Los genotipos predominantes de *Q. grahamii* ocupan altitudes superiores a los 2000 m, mientras que los genotipos de *Q. acutifolia* están generalmente presentes en altitudes bajas (700 a 1500 m), aunque también

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

es posible encontrar poblaciones en sitios con altitudes superiores a los 2000 m. Por su parte las poblaciones de altitudes intermedias (1500 a 2000 m), suelen presentar individuos con cierto grado de introgresión. Fue evidente que el número de híbridos “F1” y retrocruzas fue mucho mayor que el número de genotipos puros, además de que estos genotipos están bien distribuidos a lo largo de todo el gradiente. Esto sugiere que los genotipos híbridos son mucho más aptos que los de sus progenitores en zonas de características intermedias, ya que las dos especies progenitoras parecieran estar bien diferenciadas ecológicamente (Li, Cheny Li, 1998; González-Rodríguez *et al.*, 2005b).

En general, la tasa de flujo génico encontrada para todas las poblaciones fue moderadamente alta ($Nm = 1.56$), por lo que se logran minimizar los efectos de la pérdida de polimorfismos y heterocigocidad por deriva génica (Cottrell *et al.*, 2003), principalmente en las poblaciones de la misma especie, lo cual es corroborado por los bajos niveles de endogamia encontrados. Sin embargo, se ha conservado la divergencia de las frecuencias alélicas entre las poblaciones, por lo que es posible observar cierto grado de estructura intra-específica (Rockwell y Barrowclough, 1987; Mills, 1996; Barbadilla, 2009). Dentro del género *Quercus* es común encontrar tasas de flujo génico bastante altas (Albarrán-Lara, 2006; Ramos-Ortiz, 2015). Esto se debe a que el intercambio de genes entre poblaciones de encino se ve favorecido por su mecanismo polinización anemófila y exocruzamiento, ya que el polen, al ser transportado por el viento, puede franquear grandes barreras como lo son la distancia o la fragmentación de los hábitats. Se ha documentado que el polen de los encinos puede ser dispersado por el viento a una distancia de 7 a 199 km (Bacilieri *et al.*, 1993) y las semillas desde algunos cuantos metros hasta 5 km, gracias a la intervención de algunas aves (Craft y Ashley, 2010). Sin embargo, los patrones encontrados en este estudio nos muestran que las poblaciones de *Q. acutifolia* presentan un aislamiento más marcado que las poblaciones de *Q. grahamii*. Del mismo modo es

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

posible observar que la mayor parte del flujo génico se da dentro de la zona de contacto entre ambas especies, principalmente en los estados de Oaxaca y Guerrero.

La mayoría de los encinos presentan altos niveles de variación genética dentro de sus poblaciones y relativamente menos variación entre las poblaciones, esto debido a su longevidad, a su propensión a la exogamia y a su mecanismo de polinización anemófila (Moore, 1977; Valencia-Cuevas, 2006; Peñaloza-Ramírez, 2011; Martínez-Munguía, 2015). Esto es consistente con lo encontrado para las especies de este estudio, ya que en el AMOVA se encontró que el 83% de la variación se encuentra dentro de las poblaciones, mientras que solo el 11% se encuentra entre las poblaciones.

Se ha documentado que gran parte de las especies de árboles de zonas templadas, como los encinos, presentan altos niveles de diversidad genética y baja diferenciación genética entre sus poblaciones (Hamrick y Godt, 1990). Aunado a esto, se ha demostrado que al utilizar DNA nuclear se encuentran altos niveles de variación genética dentro de las poblaciones y bajos niveles de diferenciación genética entre ellas (Valencia-Cuevas, 2014). Esto es consistente con lo obtenido en este estudio, ya que los valores de diversidad genética resultaron ser moderadamente altos, un poco más en *Q. grahamii* ($N_a=4.12$, $H_o=0.557$, $H_e=0.592$) que en *Q. acutifolia* ($N_a= 3.98$, $H_o=0.493$, $H_e=0.556$), aunque menores a lo reportado por otros autores, como Albarrán-Lara (2006) en *Q. magnoliifolia* ($H_o=0.76$, $H_e=0.88$) y *Q. resinosa* ($H_o=0.79$, $H_e=0.89$), Streiff *et al.* (1998), para *Q. petraea* ($N_a= 8.6$, $H_o=0.82$, $H_e=0.87$) y *Q. robur* ($N_a= 8.8$, $H_o=0.79$, $H_e=0.86$), Sullivan *et al.* (2016) para *Q. coccinea* ($N_a=7$, $H_o=0.59$, $H_e=0.61$), *Q. ellipsoidalis* ($N_a=7$, $H_o=0.61$, $H_e=0.63$), *Q. rubra* ($N_a=8$, $H_o=0.63$, $H_e=0.68$) y *Q. velutina* ($N_a=8$, $H_o=0.64$, $H_e=0.686$), así como Ramos-Ortiz (2015),

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

para *Q. affinis* ($N_a= 7.7$, $H_o=0.58$, $H_e=0.76$) y *Q. laurina* ($N_a= 8.5$, $H_o=0.67$, $H_e=0.78$).

Por otra parte, los valores obtenidos por los índices de diferenciación genética F_{st} (0.164) y G_{st} (0.162), fueron moderadamente altos, por lo que es posible visualizar cierta estructura entre las poblaciones. Al parecer el moderado flujo génico ha logrado fijar algunos alelos de importancia sobre las poblaciones de ambas especies y junto a la selección exógena, ha logrado diferenciar a los genomas de acuerdo a su grado de especialización ambiental.

Los resultados obtenidos en el análisis de divergencia de nicho ecológico nos muestran que sí existe una diferenciación significativa entre los nichos de las especies progenitoras. Aparentemente, la relación precipitación-temperatura es muy importante para la distribución de estas especies. Las poblaciones de *Q. grahamii* están presentes en zonas donde las temperaturas en los meses fríos son bajas, con una marcada estacionalidad y con precipitaciones moderadamente altas. Por otro lado, las poblaciones de *Q. acutifolia* necesitan zonas más cálidas con menor estacionalidad en la temperatura para poder establecerse. Al parecer, *Q. acutifolia*, es una especie con un intervalo de tolerancia mayor, lo cual se ve reflejado en su distribución, ya que abarca gran parte de la región centro-sur de México, llegando hasta centro América.

Los modelos de distribución nos muestran que la zona simpatría ambiental de estas especies pudiera ser geográficamente extensa, centrándose principalmente en los estados de Oaxaca y Guerrero, aunque pudiendo llegar hasta Michoacán y Jalisco, por lo que aparentemente ambas especies no presentaron ninguna barrera geológica marcada, a excepción de la presente en el istmo de Tehuantepec, el cual marca el límite de la distribución de *Q. grahamii* en México. Sin embargo, las tasas de flujo génico encontrado nos muestran que aún

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

existe intercambio genético entre las poblaciones del estado de Chiapas, lo cual puede ser explicado por la presencia de poblaciones de *Q. acutifolia* cercanas al istmo que pudieran estar intercambiando genes y funcionar como corredor entre las poblaciones de Chiapas y las presentes en el estado de Oaxaca.

En conclusión, los resultados fueron consistentes con la hipótesis de hibridación por contacto secundario propuesta por González-Rodríguez (2005b), ya que la diferenciación ecológica y climática de ambas especies está bien marcada. Además, las discontinuidades del flujo génico encontradas nos muestran que existe cierto aislamiento entre las poblaciones de ambas especies.

De igual modo, los resultados obtenidos nos reflejan que la zona de contacto e hibridación de las especies *Q. acutifolia* y *Q. grahamii* se asemejan al modelo de mosaico, ya que los parches de ambas poblaciones se entremezclan en su distribución. Sin embargo la especialización de cada una de las especies progenitoras, les concede aislamiento en los distintos parches. Por su parte, las poblaciones introgresadas pueden estar presentes en zonas de características intermedias de nicho, lo que indica que la presión de selección sobre los híbridos es más fuerte en zonas donde solamente existen poblaciones puras. Sin embargo, la poca especialización de estos genotipos, les permite colonizar zonas que de otro modo serían inaccesibles para las especies puras, por lo que el grado de introgresión de las poblaciones está principalmente determinado por las características ambientales de la zona.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

7. CONCLUSIONES

Se encontró que dentro de los caracteres morfológicos considerados como clave para la determinación de ambas especies, como son el grosor de la lámina, el diámetro del peciolo y el número de dientes, se pudieran agregar otros, tales como el número de venas y el ancho máximo de la lámina, que facilitan la labor de separar a estas especies, aun estando en campo.

Los patrones de flujo génico presentes entre las poblaciones de las especies *Q. acutifolia* y *Q. grahamii* ha ayudado a definir los patrones morfológicos y genéticos existentes dentro de la distribución de ambas especies.

Los resultados muestran que la distribución de las poblaciones se asemeja al modelo de zona de hibridación de mosaico, ya que la respuesta morfológica y de los genotipos al gradiente altitudinal ha ayudado a mantener la divergencia entre las especies progenitoras, formando parches aislados de poblaciones puras rodeados por un gran número de poblaciones híbridas.

El área de simpatria de ambas especies abarca gran parte de su distribución, centrándose principalmente en los estados de Guerrero y Oaxaca. Las zonas de hibridación facilitan el incremento de la diversidad genética y de especialización entre los genotipos introgresados, por lo que son un mecanismo de respuesta ante los posibles cambios.

Se encontró que existe una divergencia ambiental entre las poblaciones de *Quercus acutifolia* y *Q. grahamii*, la cual está dada principalmente por la altitud.

Los resultados de la caracterización climática de nicho de ambas especies nos muestran que *Q. grahamii* es la especie más vulnerable ante una perspectiva

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

de cambio climático, ya que su distribución se encuentra restringida a zonas montañosas superiores a los 2000 m, mientras que *Q. acutifolia* puede estar presente en hábitats menos vulnerables, como es el bosque tropical subcaducifolio.

Se sugiere hacer una evaluación de la densidad poblacional, tasas de germinación y supervivencia de plántulas, de cada una de las especies, para lograr elaborar un plan de manejo adecuados para estas especies, especialmente en la normatividad y organizaciones de protección de especies, como son la NOM-059-SEMARNAT y la IUCN.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

8. LITERATURA CITADA

Albarrán-Lara A. L. 2006. “Estructura genética, filogeografía e identificación de zonas híbridas en *Quercus magnoliifolia*, *Q. resinosa*, *Q. platyphylla* y *Q. liebmanii* (Fagaceae) en México”. Tesis para obtener el grado académico de Doctora en Ciencias. CIECO. Universidad Nacional Autónoma de México.

Albarrán-Lara A. L., Mendoza-Cuenca S., Valencia-Avalos S., González-Rodríguez A. y Oyama K. 2010. Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and introgression between *Quercus magnoliifolia* and *Quercus resinosa* (Fagaceae) through an altitudinal gradient in México. *International Journal of Plant Sciences*, 171(3): 310–322.

Aldrich P.R., Michler C.H., Sun W. y Romero-Severson J. 2002. Microsatellite markers for Northern red oak (Fagaceae: *Quercus rubra*). *Molecular Ecology Notes*, 2: 472–474.

Aldrich P. R., Michler C. H., Jagtap M. y Romero-Severson J. 2003. Amplification of North American red oak microsatellite markers in European white oaks and Chinese chestnut. Forest Science, North Central Research Station, Hardwood Tree Improvement and Regeneration Center, Purdue University Department of Forestry and Natural Resources. 176-179 pp.

Aldrich P.R. , Glaubitz J.C., Parker G.R., Rhodes O.E. y Michler C.H. 2005. Genetic Structure Inside a Declining Red Oak Community in Old-Growth Forest. Department of Agriculture, Forest Service. Purdue University Department of Forestry and Natural Resources and Hardwood Tree Improvement and Regeneration Center, Purdue University Department of Forestry and Natural Resources, (Glaubitz). 627–634 pp.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Aldrich PR, y Cavender-Bares J. 2011. *Quercus*. En especies silvestres emparentadas: Genómica y Recursos de cría. *Springer Berlin Heidelberg*, 89-129 pp.

Álvarez-Delgadillo A. 2006. Análisis de la estructura morfológico foliar de *Quercus crassifolia* asociada a diferentes microambientes dentro del parque nacional El Chico, Hidalgo. Tesis de licenciatura. Instituto de ciencias básicas e ingeniería. Universidad autónoma del estado de Hidalgo. 76 pp.

Álvarez-Zúñiga E. y Álvarez-Zúñiga A. y Valencia-Ávalos S. 2010. Los encinos del Parque Nacional Los Mármoles, Hidalgo, México. *Madera y bosques*, 16 (4): 55-66.

An M., Deng M., Zheng S. S., Jiang X. L., y Song Y. G. 2017. Introgression threatens the genetic diversity of *Quercus austrocochinchinensis* (Fagaceae), an endangered oak: a case inferred by molecular markers. *Frontiers in plant science*, 8.

Anderson E. 1949. Introgressive hybridization. New York:John Wiley and Sons.

Anderson E. 1953. Introgressive hybridization. *Biological Reviews*, 28(3): 280-307.

Anderson E., Y Stebbins G. L. 1954. Hybridization as an evolutionary stimulus. *Evolution*, 8(4): 378-388.

Aranguren-Méndez J. A., Román B. R., Isea W., Villasmil Y., y Jordana J. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión; ALPA ; Facultad de Ciencias

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Veterinarias, La Universidad del Zulia.; Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.; Apartado 15252, Pp 1-6.

Arizaga S., Martínez C. J., Salcedo C. M., y Bello G. M. A. 2009. Manual de la biodiversidad de encinos de Michoacán. Instituto Nacional de Ecología (INECC- SEMARNAT).

Axelrod D.L. 1983. Biogeography of oaks in the Arcto-Tertiary province. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 70:629- 657.

Bacilieri R., Roussel G. y Ducouso A. 1993. Hybridization and mating system in a mixed stand of sessile and pedunculate oak. In *Annales des Sciences Forestières*, 50:122-127.

Barbadilla A. 2009. La genética de poblaciones. Departamento de Genética y Microbiología. Universidad Autónoma de Barcelona; Bellaterra (Barcelona).

Belahbib N., Pemonge M. H., Ouassou A., Sbay H., Kremer A. y Petit, R. J. 2001. Frequent cytoplasmic exchanges between oak species that are not closely related: *Quercus suber* and *Q. ilex* in Morocco. *Molecular Ecology*, 10(8):2003-2012.

Bello-González M. A. y Labat J.N. 1987. Los encinos (*Quercus*) del estado de Michoacán (No. 583.976097 B4). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales (INIFAP). 93 pp.

Bentham, G. 1839. Plantas Hartwegianas imprimis mexicanas adjectis non nullis Grahamianis.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

- Bodenes C., Joandet S., Laigret F. y Kremer A., 1997. Detection of genomic regions differentiating two closely related oak species *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. *Heredity*, 78:433–444.
- Bonfil C. 2006. Regeneration and population dynamics of *Quercus rugosa* at the Ajusco Volcano, Mexico. *Ecology and conservation of neotropical montane oak forests*, Pp155-163.
- Bruschi P., Vendramin G.G., Bussotti F. y Grossoni P. 2000. Morphological and molecular differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus pubescens* Willd (Fagaceae) in northern and central Italy. *Annals of Botany*, 85(3):325-333.
- Bruschi P., Grossoni P. y Bussotti F. 2003. Within-and among-tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. natural populations. *Trees-structure and function*, 17(2):164-172.
- Camus A. 1934-1955. Les Chênes. Monographie du Genere *Quercus*. Paul Lechevalier, París.
- Cavender-Bares J. y Pahlich A. 2009. Molecular, morphological, and ecological niche differentiation of sympatric sister oak species, *Quercus virginiana* and *Q. geminata* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 96(9): 1690-1702.
- Cavender-Bares J., González-Rodríguez A., Eaton D. A., Hipp A. A., Beulke A. y Manos, P. S. 2015. Phylogeny and biogeography of the American live oaks (*Quercus* subsection *Virentes*): a genomic and population genetics approach. *Molecular Ecology*, 24(14): 3668-3687.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

- Cevallos-Ferriz S.R., González-Torres E.A., y Calvillo-Canadell L. 2012. Perspectiva paleobotánica y geológica de la biodiversidad en México. *Acta botánica mexicana*, 100: 317-350.
- Challenger A. 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: Pasado, presente y futuro. CONABIO-Instituto de Biología, UNAM-Agrupación Sierra Madre, México.
- Challenger A., y J. Soberón. 2008. Los ecosistemas terrestres, en Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, 87-108 pp.
- Chávez F.Z. 1998. Observaciones sobre la distribución de encinos en México. *Polibotánica*, 8: 47-64.
- Coleman M., Liston A., Kadereit J. W., y Abbott R. J. 2003. Repeat intercontinental dispersal and Pleistocene speciation in disjunct Mediterranean and desert *Senecio* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, 90(10): 1446-1454.
- Cottrell J.E., Munro R.C., Tabbener H.E., Milner A.D., Forrest G.I. y Lowe, A.J. 2003. Comparison of fine-scale genetic structure using nuclear microsatellites within two British oakwoods differing in population history. *Forest Ecology and Management*, 176(1):287-303.
- Craft K. J., y Ashley M. V. 2010. Pollen-mediated gene flow in isolated and continuous stands of bur oak, *Quercus macrocarpa* (Fagaceae). *American journal of botany*, 97(12): 1999-2006.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Crepet W. y Nixon K. 1989. Earliest megafossil evidence of Fagaceae: Phylogenetics and Biogeographic implications. *American journal of botany*, 76(6): 842-855.

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

Curtu A. L., Gailing O., &Finkeldey R. 2007. Evidence for hybridization and introgression within a species-rich oak (*Quercus* spp.) community. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1):218.

De Candolle, A. P. (1864). *Quercus* L. *Candolle, De AP, Prod*, 1-69.

Ducousso A. y Krémer J.P. 1995. Latitudinal and altitudinal variation of bud burst in western populations of sessile oak (*Quercus petraea* (Matt) Liebl). *Annales of Forest Science*, 53: 775-782.

Edwards E.J., Spriggs E.L., Chatelet D.S. y Donoghue M.J. 2016. Unpacking a century-old mystery: Winter buds and the latitudinal gradient in leaf form. *American journal of botany*, 103(6):975-978.

Eguiarte L., Souza V. y Aguirre X. 2007. *Ecología Molecular*. Editorial SEMARNAT, INE, UNAM y CONABIO. México. 592 pp.

Encina D. J.A y Villarreal Q. J. A. 2002. Distribución y aspectos ecológicos del género *Quercus* (Fagaceae), en el estado de Coahuila, México. Departamento de Botánica. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. *Polibotánica*, 13: 1-23.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Excoffier L., Smouse E. P. y Quattro M.J. 1992. Analysis of Molecular Variance Inferred From Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction. Genetics Society of America "Center for Theoretical and Applied Genetics (CTAG), Cook College, Rutgers University. Department of Anthropology and Ecology and Department of Biological Sciences, Hopkins Marine Station. 479-491 pp.

Fernández-Manjarrés J. F., Idol J., y Sork V. L. 2006. Mating patterns of black oak *Quercus velutina* (Fagaceae) in a Missouri oak-hickory forest. *Journal of Heredity*, 97(5):451-455.

Futuyma D.J. y I.H. Shapiro 1995. Hybrid zones. *Evolution*, 49:222-226.

García-Mendoza A.J., Ordóñez D. M. J. y Briones-Salas M. 2004. Biodiversidad de Oaxaca. Worldwildlifefund. Instituto de biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo Oaxaqueño para la conservación de la naturaleza. 1-605 pp.

Givnish T. J. 1987. Comparative studies of leaf form: assessing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constraints. *New phytologist*, 106:131-160.

González R. 1993. La diversidad de los encinos mexicanos. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natura*. 44:125-142.

González-Rodríguez A., A. Bain, J. F., Golden J. L. y Oyama K. 2004. Chloroplast DNA variation in the *Quercus affinis*-*Q. laurina* complex in Mexico:

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

geographical structure and associations with nuclear and morphological variation. *Molecular Ecology*, 13(11): 3467-3476.

González-Rodríguez A., Arias D. M., Valencia S. y Oyama, K. 2005a. Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two Mexican red oaks. *American Journal of Botany*. 91(3): 401-409.

González-Rodríguez A. y Oyama, K. 2005b. Leaf morphometric variation in *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing Mexican red oaks. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147(4): 427-435.

Gonzales-Villareal L.M. 1986. Contribución al conocimiento del genero *Quercus* en el estado de Jalisco. Instituto de Botánica. Universidad de Guadalajara.

Hamrick J.L. y Godt M.W. 1990. Allozyme diversity in plant species. Plant population genetics, breeding, and genetic resources. 43-63 pp.

Harrison R.G. 1993. Hybrids and hybrid zones: historical perspective. *Hybrid zones and the evolutionary process*, 3-12 pp.

Herrera-Arroyo M.L. 2005. Análisis de la morfología foliar de tres especies de encinos mexicanos *Q. conzattii*, *Q. urbaniy* *Q. eduardii* (Fagaceae: Lobatae), variación, diferenciación e hibridación. Tesis para obtener el grado académico de Maestra en Ciencias. CIECO. Universidad Nacional Autónoma de México.

Hewitt G.M. 2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography—or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology* 10:537–549.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Hickey, J. 1974. Clasificación de la arquitectura de las hojas de dicotiledonias, bol. Soc. Arg. Bot. Vol. XVI. No. 12. Buenos aires argentina. 26 pp.

Howard D. J., Preszler R. W., Williams J., Fenchel S., yBoecklen W. J. 1997. How discrete are oak species? Insights from a hybrid zone between *Quercus grisea* and *Quercus gambelii*. *Evolution*, 51(3):747-755.

Jensen R. J., Hokanson S. C., Isebrands J. G. y Hancock, J. F. 1993. Morphometric variation in oaks of the Apostle Islands in Wisconsin: evidence of hybridization between *Quercus rubra* and *Q. ellipsoidalis* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, pp. 1358-1366.

Kremer A., Dupouey J. L., Deans J. D., Cottrell J., Csaikl U., Finkeldey R. y Ducouso, A. 2002. Leaf morphological differentiation between *Quercus robur* and *Quercus petraea* is stable across western European mixed oak stands. *Annals of Forest Science*, 59(7):777-787.

Lagache L., Klein E. K., Guichoux E., y Petit R. J. 2013. Fine-scale environmental control of hybridization in oaks. *Molecular Ecology*, 22(2): 423-436.

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

Li J., Chen K. y Li. B. 1998. The variation of genetic diversity of *Quercus aquifolioides* in different elevations. Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences. Beijing, China. *Acta Botanica Sinica*. 40: 761-767.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Loveless M.D. y Hamrick J.L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual review of ecology and systematics*, 15(1): 65-95.

Luna-Vega I. 2008. Aplicaciones de la biogeografía histórica a la distribución de las plantas mexicanas. *Revista mexicana de biodiversidad*, 79(1): 217-241.

Née L. 1801. Descripciones de varias especies nuevas de encinos (*Quercus* de Linneo). *Annales de Ciencias Naturales*, 3: 260–278.

Nikolic N., Orlovic S., Krstic B. y Kevrešan, Ž. 2006. Variability of acorn nutrient concentrations in pedunculate oak (*Quercus robur* L.) genotypes. *Journal of Forest Science*, 52:51-60.

Nixon K.C. 1993a. Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names. *Annales des Sciences Forestieres* 50:25-34.

Nixon K.C., 1993b. The genus *Quercus* in México. En: Ramamoorthy, T. P., Bye, R., Lot, A., y Fa, J. Biological diversity of Mexico: origins and distribution. 447-458 pp.

Nixon K.C. y Muller C.H. 1997. *Quercus*, Section *Quercus*. In Flora of North America North of Mexico, vol. 3., North America Editorial Committee (ed.). Oxford University Press, New York. 471–506 pp.

Nixon K.C. 2006. Global and Neotropical distribution and diversity of oak (genus *Quercus*) and oak forests. In Kappelle M. [ed.] Ecology and conservation of Neotropical montane oak forests. Ecological studies. *Springer, Berlin, Germany*, 185: 3–13.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Núñez-Castillo S. M., Álvarez-Moctezuma J. G., Zavala-Chávez F. y Espinosa-Robles P. 2011. Análisis morfológico y de hábitat en el híbrido *Quercus glabrescens* x *Q. rugosa*. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 2(3): 83-100.

Manos S.P., J.J. Doyle y K.C. Nixon. 1999. Phylogeny, Biogeography and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12:333-349.

Martínez-Cabrera D., Terrazas T. y Zavala-Chávez F. 2003. *Quercus sartorii* y *Q. xalapensis* (Fagaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 73: 63-72.

Martínez-Cabrera D., Zavala-Chávez F. y Terrazas T. 2011. Estudio morfométrico de *Quercus sartorii* y *Q. xalapensis* (Fagaceae). *Revista mexicana de biodiversidad*, 82(2): 551-568.

Martínez M. 1977. *Los encinos de México* (No. 583.97 M37).

Martínez-Munguía A., Ortiz-Ceballos G. C., Rebolledo-Camacho V., Andrade-Torres A., Iglesias-Andreu L. G. y Octavio-Aguilar P. 2015. Efecto de la fragmentación en la morfometría foliar y el ambiente de *Quercus germana* Schldl. & Cham. (Fagaceae) en Xalapa, Veracruz. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 21(3):267-280.

McNeill J., Barrie F.R., Buck W.R., Demoulin V., Greuter W., Hawksworth D.L., Herendeen P.S., Knapp S., Marhold K., Prado J., Prud'homme Van Reine W.F., Smith G.F., Wiersema J.H. y Turland N.J. 2012. International Code of

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code). Regnum Vegetabile 154. Koeltz Scientific Books, Königstein.

McVaugh R. 1974. Flora Novo-Galiciana. *Contributions from the University of Michigan Herbarium*, 12:1-93.

Meade C. y Parnell J. 2003. Multivariate analysis of leaf shape patterns in Asian species of the *Uvaria* group (Annonaceae) *Botanical Journal of the Linnean Society*, 143: 231-242.

Mills L.S. y Allendorf F.W. 1996. The one-migrant-per-generation rule in conservation and management. *Conservation Biology*, 10(6):1509-1518.

Moore W.S. 1977. An evaluation of narrow hybrid zones in vertebrates. *Quarterly Review Biology*, 52:263-277.

Muller C.H. 1936. Studies in the oaks of the mountains of northeastern Mexico. *Journal of the Arnold Arboretum*, 17:160-179.

Muller C. H. 1952. Ecological control of hybridization in *Quercus*: a factor in the mechanism of evolution. *Evolution*, 6(2):147-161.

Olson M.E. y Arroyo-Santos A. 2015. How to study adaptation (and why to do it that way). *Quarterly Review of Biology*, 90:167-191.

Ortego J., Gugger P. F., y Sork V. L. 2017. Impacts of human-induced environmental disturbances on hybridization between two ecologically differentiated Californian oak species. *New Phytologist*, 213(2):942-955.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Ortiz-Medrano A. 2017. Evolución del nicho ecológico y morfología en pinos piñoneros. Tesis que para obtener el grado de Doctorado en Ciencias Biomédicas. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México.

Owusu S. A., Sullivan A. R., Weber J. A., Hipp A. L. y Gailing, O. 2015. Taxonomic relationships and gene flow in four North American *Quercus* species (*Quercus* section Lobatae). *Systematic botany*, 40(2):510-521.

Pakkad G., Ueno S. y Yoshimaru H. 2008. Gene flow pattern and mating system in a small population of *Quercus semiserrata* Roxb. (Fagaceae). *Forest Ecology and Management*, 255(11):3819-3826.

Paz G.M. 2012. Variabilidad genética del roble común (*Quercus humboldtii* Bonpl.) en la región del macizo colombiano. *INGRESAR A LA REVISTA*, 10(2).

Peñaloza-Ramírez J.M. 2011. "Filogeografía e hibridación en cuatro especies del género *Quercus* (Fagaceae) en México". Tesis para obtener el grado académico de Doctor en Ciencias. CIECO. Universidad Nacional Autónoma de México.

Peterson A.T. 2011. Ecological niches and geographic distributions (MPB-49) (No. 49). Princeton University Press.

Petit R.J., Csaikl U.M., Bordács S., Burg K., Coart E., Cottrell J., van Dam B.C., Deans J.D., Dumolin-Lapègue S., Fineschi S., Finkelday R., Gillies A., Glazl., Goicoechea P.G., Jensen J.S., König A., Lowe A.J., Madsen S.F., Mátyás G., Munro R.C., Pemonge M.-H., Popescu F., Slade D., Olalde M., Tabbener H., Turchini D., de Vries S.M.G., Ziegenhagen B., Kremer A.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

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.

Pingarroni-Martín del Campo A. 2011. Variabilidad y estructura genética poblacional de *Quercus mulleri* (Fagaceae) encino endémico de la sierra sur de Oaxaca. Tesis de licenciatura. FES-Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.

Piñero D., et al. 2008. La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas, en Capital natural de México, vol.I : Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, 437-494 pp.

Rockwell R.F. y Barrowclough G.F. 1987. Gene flow and the genetic structure of populations. Avian genetics. *Academic Press*, London, 223-255 pp.

Romero-Rangel S., Lira R. y Davila P. 2000. A phenetic study of the taxonomic delimitation of *Quercus acutifolia* and *Q. conspersa* (Fagaceae). *Brittonia*, 52: 177-187.

Romero-Rangel S. 2002. El género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 89: 551-593.

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

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Romero-Rangel S., Rojas-Zenteno E.C. y Rubio-Licon L.E. 2016. Encinos de México. *Quercus*, Fagaceae. 100 especies. UNAM, FES Iztacala; primera edición. 304pp.

Ruiz-Amaro L.C. 2010. Hibridación natural y variación morfológica del complejo *Q. crassifolia* x *Q. Crassipes* (FAGACEAE) en México. Tesis para obtener el grado de maestra en ciencias biológicas. Facultad de ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.

Rzedowski J. 1991a. Diversidad y orígenes de la florafanerogámica de México. *Acta Botanica Mexicana*, 14:3-21.

Rzedowski J. 1991b. El endemismo en la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar. *Acta Botanica Mexicana*, 15:47-64.

Rzedowski J., 2006. Vegetación de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 1ra. Edición digital. 274-294 pp.

Rzedowski G. C. de, J. Rzedowski 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), 1406 pp.

Scareli-Santos C., Sánchez-Mondragón M. L., González-Rodríguez A. y Oyama K. 2013. Foliar micromorphology of Mexican oaks (*Quercus*: Fagaceae). *Acta Botanica Mexicana*, 104: 31-52.

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

Selkoe A. K. y Toonen J. R. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. Department of Ecology, Evolution and Marine Biology, University of California. USA. *Ecology Letters*. 615-629 pp.

Slatkin M. 1973. Gene flow and selection in cline. *Genetics*, 75:733-756.

Slatkin M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, 47:264-279.

Streiff R., Labbe T., Bacilieri R., Steinkellner H., Glossl J. y Kremer A. 1998. Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. assessed with isozymes and microsatellites. *Molecular Ecology*, 7(3):317-328.

Sullivan A. R., Owusu S. A., Weber J. A., Hipp A. L., y Gailing O. 2016. Hybridization and divergence in multi-species oak (*Quercus*) communities. *Botanical journal of the Linnean Society*, 181(1): 99-114.

Tabachnick B.G., Fidell L.S. y Osterlind S.J. 2001. Using multivariate statistics.

Tovar-Sánchez E. y Oyama K. 2004. Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. *American Journal of botany*. 91(9):1352-63.

Toro-Ibacache, M. V., Manriquez-Soto, G., y Suazo-Galdames, I. 2010. Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology*, 28(4): 977-990.

Trelease, W. 1924. The American oaks. *Memoirs of the National Academy of Sciences*, 20:1–255.

Vähä J. P., Erkinaro J., Niemelä E. y Primmer C.R. 2007. Life-history and habitat features influence the within-river genetic structure of Atlantic salmon. *Molecular Ecology*, 16(13): 2638-2654.

Valencia-Ávalos S. 1989. Contribución al conocimiento del género *Quercus*, Fagaceae, en el estado de Guerrero, México. Contribuciones del Herbario de la Facultad de Ciencias No. 1, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F

Valencia-Ávalos S., M. Gómez-Cárdenas y F. Becerra-Luna. 2002. Catálogo de Encinos del Estado de Guerrero, México. Libro Técnico No. 1. INIFAP. México. 180 pp.

Valencia-Ávalos S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. Sociedad botánica de México A.C. México. Distrito Federal. 33-53 pp.

Valencia, S. 2005. Análisis filogenético de la Serie Lanceolatae Trel. del género *Quercus*, Fagaceae. Tesis para obtener el grado académico de Doctora en Ciencias. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 104 pp.

Valencia-Ávalos S., Flores-Franco G. y Jiménez-Ramírez. 2015. A nomenclatural revision of *Quercus acutifolia*, *Q. conspersa* and *Q. grahamii*

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

(*Lobatae*, Fagaceae). Sociedad botánica de México A.C. México. Distrito Federal. 33-53 pp.

Valencia-Cuevas L.I. 2006. Variación Morfológica foliar y genética de complejo *Q. affinis-Q. laurina* (Fagaceae) en un gradiente latitudinal en México. Tesis para obtener el grado de maestra en ciencias, IIES-Morelia, Universidad Nacional Autónoma de México. 97pp.

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

Vázquez M.L. 1992. El género *Quercus* (Fagaceae) en el estado de Puebla, México. Tesis de Licenciatura, ENEP-Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 246 pp.

Vázquez M.L., Valencia-A. S. y Nixon K.C. 2004. Notes on red oaks (*Quercus* sect. *Lobatae*) in eastern Mexico, with description of a new species. *Quercus hirtifolia*. *Brittonia*, 56:136-142.

Vazquez-Dominguez E. 2003. Phylogeography, Historical Patterns, and Conservation of Natural Areas. *Protected Areas and the Regional Planning Imperative in North America: Integrating Nature Conservation and Sustainable Development*, 30: 369.

Viscosi V., Lepais O., Gerber S. y Fortini P. 2009. Leaf morphological analyses in four European oak species (*Quercus*) and their hybrids: A comparison of

Diferenciación morfológica, genética y de nicho ecológico de dos especies de la serie *Acutifoliae*, *Quercus acutifolia* y *Quercus grahamii* (Fagaceae), en México.

traditional and geometric morphometric methods. *Plant Biosystems*, 143(3): 564-574.

Wilson G.A. y Rannala B. 2003. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics*, 163(3): 1177-1191.

Wright S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15: 323–354.

Wu C.I. 2001. The genic view of the process of speciation. *Journal of Evolutionary Biology*, 14(6): 851-865.

Zavala Chávez F. 1998. Observaciones sobre la distribución de encinos en México. *Polibotánica*, (8).

Zar, J.H. 1999. Bioestatistical analysis. Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey, USA.

Zeng Y. F., Liao W. J., Petit R. J., y Zhang D. Y. 2011. Geographic variation in the structure of oak hybrid zones provides insights into the dynamics of speciation. *Molecular Ecology*, 20(23): 4995-5011.

Zhang Y.Y., Fang M.Y., Yu K.M., Li X.X. y Xia T. 2013. Molecular characterization and genetic structure of *Quercus acutissima* germplasm in China using microsatellites. *Molecular Biology Reports*, 40:4083-4090.

Zhou Z. 1992. The fossil history of *Quercus*. *Acta Botanica Yunnanica*, 15(1): 21-33.