



4

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE BIOLOGÍA

**Variación morfológica y estructura genética en
poblaciones de *Quercus elliptica* Neé
(Fagaceae)**

Tesis

Que como requisito para obtener el grado académico de:

DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA

M. C. Reyna Maya García

Director de proyecto

Dr. Pablo Cuevas Reyes

Co-Director

Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa

Morelia, Michoacán, febrero del 2020



AGRADECIMIENTOS

A través de estas líneas quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que con soporte científico y humano han colaborado en la realización de este proyecto de investigación.

Agradezco en primer lugar a las instituciones que han hecho posible la realización del trabajo presentado en esta memoria de tesis, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, México) por la beca otorgada (270387). Al Programa Institucional de Doctorado en Ciencias Biológicas, (UMSNH), por la oportunidad de formarme académicamente. A la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES-UNAM), por el apoyo financiero (PAPIIT RV201015, IA204615 and PAPIIME PE213517) y por permitirme trabajar en sus instalaciones.

Agradezco al Dr. Pablo Cuevas por el apoyo recibido para llevar a cabo este proyecto, por la crítica y dirección que hicieron posible concluirlo.

Muy especialmente al Dr. Ken Oyama por ayudarme en mi formación académica, por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio, por la guía y por dejarme claro que la constancia y perseverancia son el camino para lograr las metas propuestas. Es un privilegio el haber trabajado con usted.

Al Dr. Luis Felipe Mendoza Cuenca, por sus acertados comentarios para enriquecer este proyecto, por su apoyo durante la candidatura y los tutorales, y por tener siempre la disposición para colaborar en el desarrollo del trabajo.

Al Dr. Antonio González Rodríguez, por orientarme, por ayudarme a resolver dudas y siempre tener la disponibilidad de atenderme aún cuando el tiempo era muy limitado.

Un sincero agradecimiento al Dr. Horacio Cano Camacho, por sus comentarios

que aportaron una visión completa de cómo desarrollar un trabajo de investigación, por hacer de su clase una actividad dinámica creativa y nada aburrida.

Especial mención merece el Dr. César Andrés Torres Miranda, por su valiosa colaboración en el desarrollo de este trabajo, por la logística para llevar a cabo las salidas a campo, por la tolerancia en las largas jornadas y por todas las situaciones buenas y no tan buenas por las que pasamos, por la forma de involucrarte en el trabajo y por ayudarme a sortear los obstáculos que se presentaron durante el desarrollo de este estudio.

También de manera especial al Dr. Jesús Llanderal, por ser un elemento indispensable en el laboratorio, por compartir su conocimiento e interesarse en el desarrollo del proyecto haciendo observaciones pertinentes.

A la Dra. Susana Valencia Ávalos, por contar con su valiosa colaboración en la revisión de los ejemplares muestreados, así como por aportar sus valiosos comentarios para enriquecer este proyecto.

A Claudia Citlali Pérez Farias por apoyo en la medición y escaneo del material foliar.

Al Dr. Orlando Hernández del Laboratorio de microscopía por apoyo en la observación de muestras, por la paciencia en las largas jornadas.

Al Dr. Diushi Keri por todo el tiempo invertido para llevar a cabo el análisis de datos y por las ideas para desarrollar este trabajo

A la Sra. Claudia por su apoyo en el laboratorio

A mis compañeros, Douglas Castillejo, Gabriela Barrera, Alberto Pedraza, Vanesa Sánchez, Ingrid Lara todas y a cada una de las personas que directa o

indirectamente han estado apoyándome para la realización de este proyecto, sin su apoyo esto simplemente no sería posible.

Finalmente a los integrantes de mi familia, Carlos, Ben, Said y Karla para quienes simplemente no tengo palabras para agradecerles por todo su apoyo, sé que están conmigo aunque sean ya pocos los momentos.



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

Programa Institucional de
Doctorado en Ciencias Biológicas

DRA. ESPERANZA MELÉNDEZ HERRERA
COORDINADORA GENERAL DEL PROGRAMA INSTITUCIONAL DE
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
P R E S E N T E

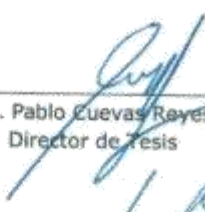
Por este conducto nos permitimos comunicarle que después de haber revisado el manuscrito final de la Tesis Titulada: "Morfología foliar y estructura genética en poblaciones de *Quercus elliptica* Neé (Fagaceae)," presentado por la M.C Reyna Maya García con matrícula No. 0316859C, consideramos que reúne los requisitos suficientes para ser publicado y defendido en Examen de Grado de Doctora en Ciencias.

Sin otro particular por el momento, reiteramos a usted un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Morelia, Mich., a 11 de febrero de 2020

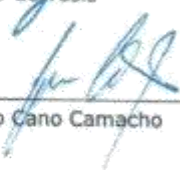
MIEMBROS DE LA COMISIÓN REVISORA



Dr. Pablo Cuevas Reyes
Director de Tesis



Dr. Ken Oyama Nakagawa
Co director



Dr. Horacio Cano Camacho
Vocal



Dr. Luis Felipe Mendoza Cuenca
Vocal



Dr. Antonio González Rodríguez
Vocal

c.c.p. Archivo de la O CyMRN

Coordinación de Posgrado de la Facultad de Biología. Edif. "R" Planta Baja. Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán.
CP 58060. Tel/Fax. (443) 3167412. Email: oazul74@yahoo.com.mx o pcceritosbarriga@gmail.com

ÍNDECE	PÁGINA
I. Resumen general	8
II. Introducción general	10
Estructura y objetivos de estudio	13
Origen del género <i>Quercus</i>	17
Registros glaciales en México	18
Estomas	22
Tricomas	23
III. Capítulo I Morphological differentiation among populations of <i>Quercus elliptica</i> Neé (Fagaceae) along an environmental gradient in Mexico and Central America	
	25
Abstrac	26
Maerials and methods	31
Results	36
Discution	39
IV Capítulo II Diversidad y estructura genética en poblaciones de <i>Quercus elliptica</i> Neé (Fagaceae)	73
Introducción	74
Estructura genética	75
Filogeografía	77
Modelos de nicho ecológico MNE	79
Objetivo general	80
Materiales y métodos	80
Resultados	89
Diversidad genética	92

Marcadores de cloroplasto	98
Modelos de Nicho ecológico	102
Discusión	105
Conclusiones	112

V Capítulo III Variación micro morfológica a nivel foliar en *Quercus elliptica* (Née,

Fagaceae) relacionada a gradientes de temperatura y precipitación	121
Introducción	122
Objetivos	127
Materiales y métodos	127
Resultados y discusión	130
Densidad de estomas	133
Densidad de tricomas	135
Tejidos de parénquima empalizada y esponjoso	138
Conclusiones	142

Table 1. Localities of *Quercus elliptica* along its distribution in Mexico and Central America. Vegetation types: pine oak forest (POF), oak forest (OF), oak pine *Juniperus* forest (OPJF), deciduous low forest (DLF), cloud forest (CF) and pine - oak tropical forest (POTF). 57

Table 2. Leaf morphological and functional traits of *Quercus elliptica* used in the analyses of leaf variation and bioclimatic variables without collinearity included in this study. 60

Table 3. Relationships between leaf morphological and functional traits of *Quercus elliptica* with environmental variables. 61

Table 4. Description of the explanatory variables (climatic variables) on the response variables (morphological variables) used in the study. The contribution of each variable was estimated according to its parameter and level of significance ($P < 0.05$; in bold), as well as the confidence interval for each of the variables. SE: Standard error. Names of leaf traits and bioclimatic variables as indicated in Table 2. 62

Table 5. Differences in leaf morphological and functional traits among the populations of *Q. elliptica* analyzed. Different letters indicate significant differences in mean values according to Tukey-Kramer test ($P < 0.05$). Names of populations as indicated in Table 1 and names of leaf traits as in Table 2. 64

Table 6. AUC proportion values of the partial ROC analysis.	66
Tabla7. Índice de concordancia Kappa	88
Tabla 8. Parámetros genéticos para las distintas poblaciones incluidas en este estudio, número de alelos (A), número de alelos efectivos (Ne), Índice de información de Shannon (I), heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada (He), heterocigosidad esperada imparcial (uHe), índice de fijación F, para todas las poblaciones.	90
Tabla 9. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de la estructura genética poblacional de <i>Q. elliptica</i> .	97
Tabla 10. Índices de diferenciación genética y número de migrantes para <i>Q. elliptica</i> .	97
Tabla 11. Número de individuos en cada población(N), número de haplotipos detectados en cada población (A), número de haplotipos privados (P), número efectivo de haplotipos	100
Tabla12. Análisis de varianza con los seis marcadores de cloroplasto en toda el área de distribución de <i>Q. elliptica</i> .	102
Tabla 13. Grupos homogéneos al realizar la prueba de Tukey, para las distintas variables morfológicas en las diferentes poblaciones de <i>Q. elliptica</i> .	136
Tabla 14. Valores de media comparativos de acuerdo a los resultados obtenidos por Maya-García et al (2019 en prensa), para dos grupos morfológicos Pacífico (1) y Golfo-América Central. Para tejidos parénquima empalizada, esponjoso y de epidermis.	143

Figure 1. Geographic distribution of the 41 populations of *Quercus elliptica* collected for this study. Red circles represent the potential area of distribution of *Q. elliptica* according to herbarium records and collections. The black crosses represent the populations collected of *Q. elliptica*. 68

Figure 2. Pearson correlation analyses between leaf morphological traits and bioclimatic variables. Only significant ($P < 0.05$) correlations are shown. 69

Figure 3. Discriminant function analysis scattergram of leaf traits. Two main groups were identified: the Pacific group (red squares) and the Gulf of Mexico group (blue circles). Letters with numbers codes represent the populations studied. 70

Figure 4. Full redundancy analysis (RDA) on morphological, bioclimatic and geographical variables produced two main groups: the Pacific group (red squares) and the Gulf of Mexico group (blue circles) (A). Graphs of the most important morphological and environmental variables that differentiated populations identified by RDA (B). 71

Figure 5. Niche modeled distribution of the two groups of populations identified in this study: The Pacific group (+) and the Gulf of Mexico group (x). 72

Figura. 6 Distribución de los sitios de muestreo en todo el rango de distribución de *Q. elliptica* 81

Figura 7. Resultados del análisis de asignación bayesiana mediante el programa STRUCTURE para tres grupos genéticos, cada una de las barras delgadas representa a un individuo, el color indicar la proporción de ancestría derivada de cada uno de los

tres grupos genéticos. Las 36 poblaciones están separadas por líneas negras.

93

Figura 8. El pico con el valor máximo de ΔK corresponde al valor de K con mayor probabilidad, en este caso el valor máximo K=3.

94

Figura 9. Mapa de la distribución espacial de los grupos genéticos obtenidos a partir del análisis de inferencia. La proporción de color en cada círculo representa los grupos genéticos y las líneas negras las barreras

96

Figura10. Red de haplotipos inferida con los marcadores de cloroplasto de 347 individuos de *Q. elliptica*. El área de cada círculo es proporcional a la frecuencia de haplotipos encontrados con este haplotipo. Los colores de los círculos representan la proporción de cada grupo genético reportado con el análisis de Structure. Los círculos pequeños rojos representan los pasos mutacionales.

98

Figura 11. Distribución de haplotipos únicos y haplotipos compartidos en toda la distribución de la especie.

99

Figura. 12 Modelos de distribución de riqueza de haplotipos, actuales y durante el último máximo glacial y el inter glacial, obtenidos de 6 haplotipos compartidos entre *Q. elliptica*

104

Figura13. Correlación del número de tricomas con la altitud en poblaciones de *Q. elliptica*

131

Figura 14.Correlaciones significativas de largo y ancho del poro estomático, con distintas variables ambientales

132

Figura 15. Correlación del número de tricomas largos con variables de temperatura y latitud.

133

Figura 16. Correlaciones entre el número de tricomas glandulares con la estacionalidad de la precipitación y la latitud.	133
Figura 17. Electromicrografías de parte media del envés de la hoja de <i>Q. elliptica</i> , mostrando la cantidad de estomas de la población S. Blasen Nayarit (N3, Izquierda) y población Antenas ubicada en Chiapas (C4 Derecha).	135
Figura 18. Tricomas de forma estrellada con 5 a 7 ramas en la superficie foliar de <i>Q. elliptica</i> .	139
Figura 19. Correlación del Largo del parénquima de empalizada con variables de temperatura e índice de aridez	140
Figura 20. Correlación del tejido esponjoso con variables de precipitación e índice de aridez	140
Figura 21. Corte transversal de la hoja de <i>Q. elliptica</i> que muestra simetría dorsiventral (hoja bifacial), con proporciones de parénquima empalizada y parénquima esponjoso, en poblaciones del Pacífico y poblaciones ubicadas en el Golfo-Centroamérica	141

I Resumen general

Quercus elliptica es una de las pocas especies de encinos que presenta una amplia distribución y que tiene cierta afinidad a ambientes tropicales. En este estudio se analiza la variabilidad morfológica foliar y estructura genética usando marcadores nucleares, de cloroplasto y modelos de nicho ecológico, con el objetivo de conocer los cambios morfológicos foliares históricos y contemporáneos. En el primer capítulo, se encontró que las poblaciones estudiadas (N=41) fueron morfológicamente muy diversas, se identificaron dos grupos morfológicos foliares, (i) poblaciones del Pacífico y (ii) poblaciones del Golfo de México. Los caracteres que separan ambos grupos son el grosor de la hoja, el área foliar específica y peso foliar. La variable climática que estuvo correlacionada con estos caracteres morfológicos fue la altitud. En el segundo capítulo, encontramos mayor diferenciación genética dentro de las poblaciones: $F_{st} = 0.04$ y tasa de migración de $Nm = 4.93$, lo que indica que hay una baja estructura genética y moderado flujo génico. Se identificaron tres grupos genéticos ($K=3$). Con los marcadores de cloroplasto encontramos un total de 63 haplotipos, 10 ancestrales y 24 compartidos. Los modelos de nicho ecológico indicaron que la distribución actual de la especie es muy similar a la que se proyecta en escenarios de UMG último glacial y el interglacial, salvo en las localidades presentes en la FVTM y la provincia de la SMS, en donde se ubican la mayor parte de la diversidad de haplotipos. En el tercer capítulo encontramos diferencias en el número de estomas, tricomas y tejidos del mesófilo. El número de tricomas largos disminuye con la estacionalidad de temperatura, el parénquima empalizada se correlaciona positivamente con la temperatura anual promedio, el parénquima esponjoso estuvo correlacionado positivamente con la temperatura promedio anual. De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio *Quercus elliptica* es una especie que muestra gran variabilidad morfológica foliar asociada a una alta diversidad genética y a los factores ambientales locales. Propiciando con ello una respuesta tanto de caracteres morfológicos foliares y estructuras micromorfológicas que han modificado de acuerdo al sitio en donde se encuentren establecidas las poblaciones.

Palabras clave: *Quercus elliptica*, morfología foliar, estructura genética, haplotipos, marcadores moleculares

Abstrac

Quercus elliptica is one of the few species of oak that has a wide distribution and has a certain affinity to tropical environments. This study analyzes foliar morphological variability and genetic structure using nuclear markers, chloroplast and ecological niche models, with the objective of knowing the historical and contemporary foliar morphological changes. In the first chapter, it was found that the populations studied ($N = 41$) were morphologically very diverse, two foliar morphological groups were identified, (i) Pacific populations and (ii) populations of the Gulf of Mexico. The characters that separate both groups are the thickness of the leaf, the specific leaf area and leaf weight. The climatic variable that was correlated with these morphological characters was altitude. In the second chapter, we found greater genetic differentiation within the populations: $F_{st} = 0.04$ and migration rate of $Nm = 4.93$, indicating that there is a low genetic structure and moderate genetic flow. Three genetic groups were identified ($K = 3$). With the chloroplast markers we found a total of 63 haplotypes, 10 ancestral and 24 shared. The ecological niche models indicated that the current distribution of the species is very similar to that projected in the last glacial and interglacial UMG scenarios, except in the locations present in the FVTM and the SMS province, where locate most of the diversity of haplotypes. In the third chapter we find differences in the number of stomata, trichomes and mesophyll tissues. The number of long trichomes decreases with the seasonality of temperature, and palisade parenchyma correlates positively with the average annual temperature, the spongy parenchyma was positively correlated with the annual average temperature. According to the results obtained in this study, *Quercus elliptica* is a species that shows great morphological variability associated with high genetic diversity and local environmental factors. This leads to a response of both morphological foliar characters and micromorphological structures that have modified according to the site where the populations are established.

Keywords: *Quercus elliptica*, leaf morphology, genetic structure, haplotypes, molecular marker

II Introducción general

Los encinos son árboles que pertenecen a uno de los géneros más importantes del mundo *Quercus*. Estimaciones recientes sugieren que existen alrededor de 435 especies de encinos (Denk *et al.* 2017). Además de *Salix*, el género *Quercus* es definitivamente uno de los más ricos en especies y biomasa en el hemisferio Norte y es el más importante en el continente Americano (Cavender-Bares *et al.* 2016^a; Cavender-Bares, 2019). Este género es uno de los más extensos de la familia Fagaceae e incluye alrededor de 350 a 500 especies. Se distribuye por todo el mundo, principalmente en el hemisferio norte (Nixón, 1997). Y se estableció en regiones montañosas en condiciones de clima templado, formando parte de bosques mixtos, bosques mesófilos de montaña o grupos de diferentes especies de encinos e incluso en bosques de una especie o en algunos casos forman grupos de distintas especies de encinos (Zavala, 1995). El número exacto de especies de *Quercus* en México es aún es incierto. Sin embargo, varios autores han estimado entre 135 y 350 especies, distribuidos en todos los estados de la República Mexica, excepto Yucatán, donde, más de la mitad son endémicos de este país (Zavala, 1995).

Los bosques de *Quercus* y de *Pinus* en México son considerados de gran importancia, porque forman la mayoría de la cubierta vegetal de zonas con clima templado y semihúmedo. Aunque no se limitan a estas condiciones, ya que se extienden en regiones de clima cálido formando bosques. También son elementos de bosque tropical, existen en áreas semiáridas que forman parte de matorral xerófilo en forma de arbustos (Rodríguez & Romero, 2007).

Siendo un género tan vasto en cuanto el número de especies ha generado que exista una enorme complejidad, ocasionando problemas a nivel taxonómico, debido a la gran variación morfológica intra e interespecífica, causada por factores físicos y bióticos (Bacilieri *et al.* 1995; Manos *et al.* 1999; Romero *et al.* 2000; Zavala, 2000; Bruschi *et al.* 2003a; González-Rodríguez *et al.* 2004; Valencia, 2004). Por ejemplo, existe una gran variación morfológica foliar entre árboles dentro de la misma población aún dentro del mismo individuo (Bruschi *et al.* 2003a). La morfología foliar está determinada por factores genéticos, y por factores ambientales dependiendo de las presiones de selección a la que están sometidas las hojas de los árboles a lo largo de su distribución, resultado en diferentes fenotipos dependiendo de las condiciones ambientales locales en las que se desarrollan (Bacilieri *et al.* 1995). Por ejemplo, el flujo de genes interespecífico entre dos o más especies de encinos es un fenómeno común que promueve la transferencia de material genético. Existe intercambio de genes entre especies de encino cuando poblaciones de especies de la misma sección del género *Quercus* se encuentran en simpatría (Manos *et al.* 1999), y cuando la fenología se sobrepone en una misma zona (Whittemore y Schaal, 1991, Dumolin-Lapègue *et al.* 1999; González-Rodríguez *et al.* 2004; Curtu, 2007). Dado que los encinos presentan polinización anemófila y que es común encontrar varias especies entremezcladas que conviven de forma natural en diferentes sitios.

Los encinos se caracterizan por presentar altos niveles de variación morfológica foliar entre poblaciones de una especie (Bruschi *et al.* 2003); entre árboles de la misma población y aún entre hojas dentro del mismo individuo. Se considera que los patrones de variación morfológica foliar en gradientes ambientales, son el resultado tanto de

respuestas ecológicas como de diferenciación genética entre y dentro poblaciones (Bruschi et al. 2003, González-Rodríguez y Oyama, 2005, Warren *et al.* 2005). Por lo tanto, los encinos son notoriamente variables en sus caracteres de la hoja (Bruschi *et al.* 2003), a pesar de que las hojas se utilizan con frecuencia para las identificaciones. No sólo los caracteres morfológicos foliares pueden ser afectados por factores genéticos y/o ambientales, sino también los rasgos funcionales, es decir las características morfo-fisio-fenológicas que influyen directa o indirectamente en la adecuación (fitness) de la planta a través de sus efectos sobre el crecimiento, la reproducción y la “supervivencia” (Violle *et al.* 2007). En las especies de encinos, tanto factores ambientales como la hibridación y/o flujo genético podrían estar jugando un papel importante en la variación de rasgos funcionales, debido a que la hibridación favorece el flujo génico interespecífico, provocando el intercambio de genes entre diferentes especies y de forma potencial incrementado la diversidad genética en estas comunidades (Hardin, 1975; Whittemore y Schaal 1991; Dumolin-Lapègue *et al.* 1997).

Una peculiaridad del género *Quercus* es la gran capacidad de adaptación a los distintos medios donde se desarrolla, lo que favorece la aparición de individuos con diferentes fenotipos (Jiménez *et al.* 1996). Por lo tanto, los encinos se han, establecido desde bosques de tierras bajas hasta pastizales y sabanas abiertas, con suelos alcalinos hasta ácidos (Abrams, 1992; Nixon, 1997). México es considerado como uno de los principales centros de diversificación de especies de encinos, con alrededor de 164 especies, de las cuales 109 son endémicas (Valencia-Avalos, 2004). Otras características importantes es que son considerados como: a) Especies ejes, para la conservación de las biodiversidades relacionada a ellos b) formadoras de suelos

forestales e importantes elementos de reciclaje de nutrientes c) conservadores de mantos acuíferos in situ y remotas d) reguladoras climáticas y secuestro de carbono (Challenger, 1998; Valencia-Avalos, 2004)

Estructura y objetivos de estudio.

Esta tesis está formada por tres capítulos. En el primer capítulo se estudió la variabilidad morfológica foliar de (N=41) poblaciones de *Q. elliptica* a lo largo de su distribución geográfica. Los cambios morfológicos pueden estar asociados a la plasticidad fenotípica que hace referencia a los múltiples fenotipos que puede expresar un mismo genotipo, es decir, la capacidad de un organismo de producir fenotipos diferentes en respuesta a cambios en el ambiente (Schlichting, 1986). La estructura foliar de los encinos es un órgano que presenta una gran cantidad de caracteres morfológicos que permiten diferenciar a las especies (Borazan y Bacabac, 2003)

Recientes trabajos han reconocido la importancia de los rasgos funcionales para explicar la respuesta de especies a gradientes y cambios ambientales (Paine *et al.* 2011; Sterck *et al.* 2011; Buisson *et al.* 2013; Lohbeck *et al.* 2013; Salgado-Negrete *et al.* 2013), y cómo pueden influir en la morfología, supervivencia, contenido de nutrientes y tasas fotosintéticas en plantas, evidenciando distintas respuestas fenotípicas y fisiológicas vinculadas a las localidades en una escala de población o escala regional, (Albert *et al.* 2010; Nicotra, 2011; Fajardo *et al.* 2011). Por ejemplo, la respuesta de caracteres morfológicos correlacionada con factores ambientales se puede observar en el tamaño de la hoja, que se incrementa con el aumento de la precipitación, humedad y fertilidad del suelo. Por el contrario el tamaño de la hoja tiende a decrecer con el

aumento de la intensidad luminosa; dónde las hojas pueden ser más glaucas en zonas más soleadas, áridas o infértiles; las hojas perennes son comunes en suelos pobres en nutrientes, las hojas lobuladas son más comunes en árboles de ambientes templados y en árboles tropicales, las hojas que presentan ápices acuminados, son más comunes en bosques lluviosos y nublados (Givnish, 2008).

La gran variabilidad foliar presente en el género *Quercus*, puede presentarse en dimensiones lineares (i. e. largo y ancho de la hoja), tipos de márgenes, forma y tamaño del pecíolo, tipo de nervaduras, peso seco por unidad de área, contenido de nutrientes, distribución en el dosel, densidad estomática, presencia o ausencia de tricomas y composición cuticular (Parker, 1982; 1999). Todas estas estructuras son susceptibles de modificarse en función de diversas interacciones entre factores ambientales como: la altitud (Stoll y Schmid, 1998; Cardenas-Garrido y Lusk, 2002; Francisca y Torres, 2003), latitud, se ha registrado que hubo una reducción en la producción y número de hojas en poblaciones de las especies *Pinus silvestris*, *Nothofagus* spp y *Cahaetolepsis lindeniana* debido a cambios altitud (Rico-Gray y Palacios-Ríos, 1996) precipitación (McDonald, *et al.* 2003); temperatura, (Allen y Ort, 2001), posición de la hoja (Mitchell, *et al.* 1999; Klich, 2000; Valladares, *et al.*, 2000; Taiz y Zeiger, 2002; Bruschi *et al.* 2003). La disposición de estos componentes son atribuidos al ambiente físico, disponibilidad de agua, intensidad luminosa, nicho ecológico e interacción con herbívoros; por medio de las presiones de selección de estos parámetros (Culter *et al.* 2007), ha generado muchas explicaciones sobre las posibles causas de la gran variedad de formas en las hojas como, termorregulación (en especial es sitios áridos y con elevadas temperaturas), restricciones en el uso de agua, adaptaciones para optimizar la cantidad de luz, adaptaciones para evitar herbivoría (Nicotra *et al.* 2011).

Quercus elliptica Neé es una especie de amplia distribución que pertenece a la sección Lobatae (encinos rojos o *Erythrobalanus*). Su área de distribución incluye desde Sinaloa y Nayarit, en su extremo noroeste Veracruz, en el extremo noreste, hasta América Central (Honduras y El Salvador), en el extremo sur. La especie se localiza principalmente en barrancas, en bosque de pino-encino sobre suelos pedregosos y someros, a una altitud entre 700 a 2,300 msnm (Michoacán), en bosques de galería, de *Quercus* (Guerrero), Bosque de pino- encino, mesófilos de montaña y caducifolios (Romero *et al.* 2002; Valencia *et al.* 2002; Arizaga *et al.* 2009). El establecimiento de las poblaciones de la especie a lo largo de su distribución geográfica muestra una amplia variabilidad climática y ambiental. Al ser una de las pocas especies de amplia distribución geográfica y considerada de las pocas especies con afinidad tropical, la hacen un modelo biológico y por lo tanto uno de los mejores ejemplos para ser analizados, lo cual nos permitiría explorar las causas de la variabilidad morfológica foliar dentro de las poblaciones.

Por lo tanto, para conocer las respuestas de un organismo y sus modificaciones en caracteres morfológicos ante cambios ambientales, es importante identificar la variabilidad morfológica en un intervalo de condiciones ambientales (Moller y Schyckoff, 1999). Sin embargo, existen pocos estudios sobre *Quercus elliptica*, se desconocen aspectos sobre la morfología de la especie, por lo que se planteo como objetivo principal de este trabajo identificar si existen cambios en los diferentes caracteres morfológicos en las distintas localidades de *Quercus elliptica*, y evaluar los factores ambientales que pudieran estar implícitos en los cambios morfológicos.

En el segundo capítulo analizamos la estructura genética y filogeográfica de *Quercus elliptica* a lo largo de su distribución en México y Centro América utilizando marcadores moleculares de núcleo (SSRs) y marcadores de cloroplasto. Mediante el modelado de nicho ecológico se determinó tanto la divergencia entre las poblaciones analizadas, como la importancia de las características geográficas y ecológicas en las distintas localidades sobre la estructura genética. Con el estudio de marcadores de cloroplasto determinamos la variación del ADN de cloroplasto en toda el área de distribución, y la estructura filogeográfica de *Q. elliptica*, para así identificar los potenciales eventos demográficos ocurridos como expansiones y las contracciones a nivel poblacional. El objetivo de estimar aquellas asociaciones significativas entre haplotipos y su distribución geográfica de las poblaciones de *Q. elliptica*. Analizamos los resultados obtenidos con GeoDis por medio de una clave de inferencia ('clave de Templeton'; Templeton, 2004) para determinar cuál o cuáles escenarios explican más acertadamente los patrones observados en la distribución de los haplotipos; se parte de tres procesos posibles: i) aislamiento por distancia, debido a flujo génico restringido, ii) fragmentación histórica, y iii) expansión del área de distribución de las poblaciones, incluye acontecimientos de colonización a distancia. La explicación minuciosa del análisis de retrocesos alojados, así como las herramientas para llevarlo a cabo, se incluyen en Templeton *et al.* (1995), Templeton (1998) y Templeton (2004).

Los objetivos específicos de este capítulo fueron i) Determinar la estructura genética y filogeográfica utilizando marcadores nucleares y de cloroplasto y ii) determinar la distribución geográfica y diferenciación ecológica entre las distintas poblaciones de estudio utilizando Modelo de Nicho Ecológico

Origen del género Quercus

Los encinos surgieron hace aproximadamente 56 millones de años (Ma) y posteriormente irradiaron y expandieron por todo el hemisferio norte (Manos y Stanford, 2001; Hipp *et al.* 2019 a). A partir del Oligoceno inferior, ocurrido hace aproximadamente 30 millones de años, se ubican los géneros fósiles Castaneoides, Trigonobalanoides, Quercoides y Fagoides (Crepet y Nixón, 1989), distribuidos por Asia, Europa y América del Norte, la migración fue por el estrecho de Bering durante el Oligoceno superior a Asia y Europa, hace alrededor de 17 millones de años (Axelrod, 1983).

Los refugios glaciares para las especies de árboles en América

La actual distribución de las especies en las zonas templadas del hemisferio boreal es explicada debido a las glaciaciones ocurridas en el Pleistoceno, como uno de los factores determinantes. Los ciclos glaciares e interglaciares del Cuaternario comprendieron fuertes cambios en factores ambientales como, temperatura, precipitación y concentración de CO₂ (Davis y Shaw, 2001). Por ejemplo, la mayoría de los taxones arbóreos en Europa son el resultado de las migraciones que ocurrieron a partir del tardiglacial (ca.13.000 años) originadas de poblaciones refugiadas que resistieron condiciones ambientales extremas de las contracciones glaciares del Pleistoceno (Bennett *et al.* 1991; Comes y Kadereit, 1998; Hewit, 1999). De este modo, se puede estimar que los árboles de forma cíclica pudieron contraerse y expandirse de

su especie (Hewit, 1996; Grivet y Petit, 2003). La rapidez en que ocurrieron las expansiones en especies forestales fueron producto de la capacidad de dispersarse (Grivet y Petit, 2003), del tiempo que requieren para generar nuevos individuos tras la fundación espacios vacíos (Austerlitz *et al.* 2000) además hay que considerar la competencia con otras especies (Comes y Kardereir, 1998). Es importante el estudio de los cambios ambientales ocurridos durante el UMG porque representan una visión diferente del clima actual y que se mantuvo durante varios milenios, de ahí su importancia para evaluar la sensibilidad de la respuesta de los sistemas ambientales o condiciones climáticas extremas y poder dilucidar los mecanismos del cambio climático (Mix *et al.* 2001).

Registros glaciales en México

Existen diferentes registros paleoecológicos, geomorfológicos y sedimentológicos muestran que el último máximo glacial ocurre entre 25 000 y 18 000 años antes del presente, las temperaturas en todo el territorio eran más bajas que hoy. Los indicadores glaciares de las altas montañas del centro de México muestran una disminución en la temperatura media anual de la región. La temperatura durante este período es de alrededor de 6°C (Lachniet y Vázquez-Selem, 2005). El resultado de una atmósfera y océanos más fríos fue una menor evaporación, menos nubosidad y reducción de precipitaciones. El área de confluencia intertropical que hoy llega al territorio mexicano durante la estación del verano con lluvias abundantes, fueron confinadas a áreas más próximas al Ecuador. Se estima que los niveles de precipitación que ocurren durante la estación de lluvias en México en el centro, el sur y

sureste, debió de haber disminuido significativamente en un estimado de entre 40 y 50% (Guidelrson *et al.* 1994, Caballero-Miranda *et al.* 2002). Por lo tanto, los lagos de esta zona mostraron niveles más bajos y la comunidad vegetal reconstruida a través registros palinológicos que demuestran que la comunidad de plantas presentó baja humedad efectiva del aire, a pesar de la reducción en la evaporación y la pronunciada disminución térmica, estos efectos fueron los mismos registrados en la península de Yucatán.

En la zona norte del país, se registró un aumento de manera significativa en la precipitación, ya que los vientos del oeste al moverse al sur penetraron profundamente esta zona. Al aumentar la cantidad de lluvia combinado con las temperaturas bajas y menor evaporación, provocó un aumento de la humedad efectiva. Por lo que, grandes áreas planas y sin esorrentía del Altiplano norte, hoy desierto, estaban cubiertas por lagos, alrededor del cual se desarrolló una vegetación de tipo templada húmeda (Bradbury, 1997).

Origen de los encinos en México

Se asume un impacto considerable del cambio climático del Pleistoceno en la distribución de plantas en las áreas de Centro América, incluidas las conformadas por coníferas. En México Las zonas bajas estuvieron dominadas por bosques de Pino, bosques de Encino y bosques nubosos, secos y húmedos durante los períodos fríos del Pleistoceno (Toledo, 1982). La hipótesis de la disminución de la vegetación de zonas templadas a zonas más bajas fueron documentadas mediante evidencias de reducción de la flora de la zona alpina (McDonald, 1993). La evidencia de algunos vertebrados

fosilizados también muestra que los desiertos en el norte de México y el suroeste de los Estados Unidos fueron ocupados por bosques de *Juniperus*, bosques de encino durante el período frío del Pleistoceno tardío (Van Devender, 1999a, 1990b). En la actualidad, las acumulaciones disjuntas de bosques templados de pino y bosques de encino y bosques nubosos, que se aislaron en varias cadenas montañosas, se redujeron y experimentaron al menos cierta expansión, lo que condujo a una biota templada adyacente de corta duración (McDonald, 1993)

En la actualidad son varios investigadores que se han preocupado por estudiar y entender como ha sido la distribución de los encinos a lo largo de la historia de la tierra. Rzedowski (1993) menciona que los robles se distribuyen en nuestro país desde el nivel del mar hasta los 3500 m, especialmente en áreas altas y de latitud en áreas de montaña, principalmente en la Sierra Madre Occidental, la Sierra Madre Oriental, la Faja Volcánica Transmexicana, la Sierra Madre del Sur, la Sierra del norte de Oaxaca, Chiapas y Baja California.

Diversificación del género Quercus

Hace 30 millones de años inició la evolución de la familia Fagaceae, en donde se registran géneros fósiles Castanepides, Trigonobalanoides, Quercoides y Fagoides (Crepet y Nixon, 1989). En América del Norte, el género *Quercus* se distribuyó de forma amplia durante el Eoceno superior al Oligoceno inferior, por lo que la diversificación ocurrió específicamente en el Oligoceno superior (Crepet y Nixon, 1989). La evolución de los encinos blancos de la sección *Quercus*, ocurrió durante el Oligoceno en América del Norte y migraron por el estrecho de Bering durante el Oligoceno a Asia y Europa,

hace aproximadamente diecisiete millones de años (Axelrod, 1983). Estos patrones de distribución en el pasado reafirman la hipótesis general de diversidad de especies que en la actualidad están presentes en América del Norte, alrededor de 125 especies de encino blanco, además de contar con los fósiles más antiguos, mientras que para Europa y Asia solo existen 20 especies (Valencia, 2004). Se sugiere que el origen y diversificación de los encinos rojos (*Lobatae*), fue a partir de encinos americanos pertenecientes a la sección *Protobalanus*. De acuerdo a las características morfológicas y análisis filogenético molecular, se sugiere que la divergencia entre encinos blancos y rojos fue durante el Oligoceno-Mioceno hace aproximadamente 20 millones de años. (Manos y Stanford, 2001). Así, el actual linaje de encinos rojos (*Lobatae*), pudo dispersarse por México a través de la Sierra Madre Occidental y Oriental, lo que representó un puente natural entre biotas de América del Norte y del occidente de México a través de las Montañas Rocallosas (Axelrod, 1983), la sección *Lobatae* y la sección *Quercus*, durante el Oligoceno evolucionaron y se dispersaron desde América del Norte, principalmente de climas templados y secos hacia climas más cálidos y secos, como las presentes en el suroeste de Estados Unidos, en México en la Sierra Madre Occidental, Oriental y la Planicie Central de México, hasta Centroamérica, después cuando surge la Faja Volcánica Transmexicana, durante el Terciario temprano, su máximo desarrollo ocurrió desde el Mioceno hasta el Cuaternario, aproximadamente 2.4 millones de años (Crepet y Nixon, 1989; Rossotti *et al.* 2002). Se cree que sirvió de puente de enlace y dispersión de encinos entre las Sierras Madre Occidental y Oriental, además delimitó la abundancia de especies en la zona centro y al sur de México, donde se localiza la mayor cantidad de especies entre 60 y 75

(González, 1993; Nixon, 1993). Más al sur en Chiapas y América Central disminuye la cantidad de especies con tan sólo 26 reportadas (Breedlove, 1984).

En el tercer capítulo se realizó un estudio comparativo de estructuras epidérmicas foliares como estomas, tricomas y tejidos empalizada, esponjoso y de epidermis, abarcando toda la distribución de *Q. elliptica*. Las hojas son generalmente estructuras planas que aparecen en la superficie del meristemo apical durante el desarrollo de la planta (Dolan y Poethig, 1991), funcionan como estructura fotosintetizadoras y de transpiración (Santamarina *et al.* 2009; Poethig, 1997). La conformación de una estructura foliar consiste en una epidermis adaxial y abaxial, conteniendo capas de mesofilo de forma intercalada con una red de haces vasculares (Rudall, 1994). La disposición que presentan estas estructuras son atribuidos a factores ambientales como, intensidad lumínica, radiación solar, disponibilidad de agua, nicho ecológico, interacción con herbívoros, debido a las presiones de selección de estos parámetros (Culter *et al.* 2007) lo que ha generado que se intenten dar respuestas sobre posibles causas de la gran variación en las hojas como: adaptaciones para optimizar la intensidad luminosa, en sitios áridos y con elevada temperatura como es la termorregulación, el uso eficiente del recurso hídrico y adaptaciones para rehuir herbivoría (Nicotra *et al.* 2011).

Estomas

La función de los estomas ocurre durante el intercambio gaseoso y durante la evapotranspiración de la planta. Se localizan en una cámara subestomática y están formados por células oclusivas, las cuales se encuentran diseminadas entre las células de la epidermis, pueden sobresalir o quedar insertadas. Al separarse las células

oclusivas dejan un orificio denominado poro conecta el medio externo con el interno de la planta. De manera conjunta el estoma y sus células oclusivas forman el complejo estomático. (Megías *et al.* 2017).

El número y disposición de estomas en las hojas depende de la especie de la planta y los factores ambientales dónde se desarrolle la planta. Se pueden observar sobre todo en la parte abaxial de la hoja, en cuanto al número pueden variar por ejemplo en especies xerófitas, son más abundantes ya que esto facilita un intercambio de gases más intenso en periodos cortos de humedad (Megías *et al.* 2017). Por lo tanto el tamaño y cantidad de estomas están directamente relacionados con la variación de factores ambientales como temperatura y la humedad. La correlación tamaño del estoma con la humedad del suelo, mostró que las hojas que presentan estomas pequeños tienen una alta densidad estomática por el contrario las hojas con estomas grandes presentan una baja densidad estomática (Metcalf y Chalk, 1979; Willner, 1986).

Tricomas

Los tricomas son estructuras especializadas epidérmicas que pueden funcionar como células protectoras o a veces funcionan como caracteres para clasificar especies. La protección puede ser ante altas intensidades lumínicas, generan una capa aérea limítrofe superficial sobre la epidermis que ocasiona una atmósfera menos inestable (Megías *et al.* 2017). Los tricomas son importantes en la clasificación de las especies, la forma y distribución de estas estructuras ha contribuido a generar evidencia para poder ser clasificada debidamente (Teobald *et al.* 1988).

Cerca de la epidermis se encuentran células largas, formando filas o hileras de forma perpendicular, este arreglo es conocido como parénquima empalizada, la siguiente conformación lo ocupa el parénquima esponjoso, con células de forma redonda dispuestas de forma irregular formando con ello espacios aéreos que se conectan con los estomas de la epidermis para llevar a cabo intercambio de gases (Villareal, 1983)

III
C pítulo I

**Morphological differentiation among populations of *Quercus elliptica* Ne 
(Fagaceae) along an environmental gradient in Mexico and Central America**

1 Botanical Sciences 98 (1): 1-37. 2020
2 DOI: 10.17129/botsci.2395

3

4 Recibido: 09 de agosto de 2019
5 Aceptado: 28 de diciembre de 2019
6 Primero en línea: xx de xxxxxx de 2020
7

8 Population differentiation of *Quercus elliptica*

9 Maya-García *et al.* / BotanicalSciences 98(1): 1-37. 2020

10

11 **Sección:** Ecology/Ecología

12

13 **Morphological differentiation among populations of *Quercus elliptica* Ne 
14 (Fagaceae) along an environmental gradient in Mexico and Central America**

15

16 **Diferenciación morfológica entre poblaciones de *Quercus elliptica* Ne 
17 (Fagaceae) a lo largo de un gradiente ambiental en México y América Central**

18

19 Reyna Maya-Garc a^{1,2}, Andrés Torres-Miranda², Pablo Cuevas-Reyes^{1*} and Ken

20

Oyama²

21

22 ¹Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

23 Morelia, Michoacán, México.

24 ²Escuela Nacional de Estudios de Superiores Unidad Morelia, Universidad

25 Nacional Autónoma de México. Morelia, Michoacán, México.

26 ***Corresponding author:**pcragalla@gmail.com

27

28 **Abstract**

29

30 **Background:** Variation in leaf morphology is an important indicator of how plants
31 respond to different environmental conditions. Leaf trait variation is associated with
32 physiological responses of plants to gradients of humidity and temperature.

33 **Objective:** We analyzed the variation in the leaf morphological and functional traits
34 of *Quercus elliptica* and its relationships with environmental and geographic
35 variables across the distribution of this species to evaluate population
36 differentiation using ecological niche models.

37 **Study species:** *Quercus elliptica* Neé (Fagaceae).

38 **Study sites and dates:** Plants were collected in diverse forest types between 350
39 and 2400m in elevation in Mexico and Central America during 2016 and 2017.

40 **Methods:** We measured and analyzed the differentiation in morphological and
41 functional traits of 4,017 leaves from 402 trees from 41 populations using
42 univariate and multivariate analyses.

43 **Results:** The leaf length and thickness and specific leaf area (SLA) of *Q. elliptica*
44 were significantly correlated with the seasonality of temperature, precipitation,
45 elevation and aridity. We identified two divergent morphological groups: (1)

46 populations distributed along the Pacific coast with broad and thin elliptical leaves
47 with high SLA values and inhabited humid forests at more than 1200 m in elevation,
48 and (2) populations located along the Gulf of Mexico coast, and in southern Mexico
49 and Central America with thicker, narrower leaves and lower SLA values and
50 inhabited seasonal tropical forests in less than 1200m in elevation.

51 **Conclusions:** Climate and geographic barriers and the ecological niche models
52 supported the population differentiation of *Q. elliptica*.

53

54 **Keywords:** Ecological niche modeling, environmental gradients, leaf functional
55 traits, leaf morphology, population differentiation, *Quercus*.

56

57 **Resumen**

58

59 **Antecedentes:** La variación morfológica foliar es un indicador de las respuestas
60 de las plantas a diferentes condiciones ambientales. La variación foliar está
61 asociada con respuestas fisiológicas de las plantas a gradientes de humedad y
62 temperatura.

63 **Objetivo:** Analizamos la variación morfológica y funcional foliar de *Q. elíptica* en
64 toda su distribución y sus relaciones con variables ambientales y geográficas para
65 evaluar su diferenciación poblacional utilizando modelos de nicho ecológico.

66 **Especie de estudio:** *Quercus elliptica* Neé (Fagaceae).

67 **Sitio de estudio y fechas:** Las plantas fueron colectadas en diversos tipos de
68 bosques entre 350 y 2,400 m en altitud en México y América Central en 2016-
69 2017.

70 **Métodos:** Medimos y analizamos la diferenciación morfológica y funcional de
71 4,017 hojas de 402 árboles de 41 poblaciones utilizando análisis univariados y
72 multivariados.

73 **Resultados:** La longitud y el grosor de la hoja y el área foliar específica (AFE) de
74 *Q. elliptica* se correlacionaron significativamente con la estacionalidad de la
75 temperatura, precipitación, elevación y aridez. Identificamos dos diferentes grupos
76 morfológicos: (1) poblaciones distribuidas a lo largo de la costa del Pacífico, con
77 hojas elípticas anchas y delgadas, con altos valores de AFE que habitan en
78 bosques húmedos a más de 1200 m en altitud y (2) poblaciones en el Golfo de
79 México, el sur de México y América Central con hojas gruesas y estrechas y bajos
80 valores de SLA en bosques tropicales estacionales de menos de 1,200 m.

81 **Conclusiones:** Las barreras climáticas y geográficas y los modelos de nicho
82 ecológico apoyan la diferenciación de poblaciones en *Q. elliptica*.

83

84 **Palabras clave:** Caracteres funcionales foliares, diferenciación entre poblaciones,
85 gradientes ambientales, modelo de nicho ecológico, morfología foliar, *Quercus*.

86

87

88 The functional traits of plants explain their species response to changes in
89 environmental gradients (Gouveia & Freitas *et al.* 2009; Sterck *et al.* 2011;
90 Kichenin *et al.* 2013; Salgado-Negrete *et al.* 2013; Valladares *et al.* 2014), which
91 can be used to predict the responses of communities to environmental change
92 (Paine *et al.* 2011; Violle *et al.* 2012; Lohbeck *et al.* 2013).

93 Differences in phenotypic and physiological responses are associated with
94 the geographical locations of populations at local or regional scales (Albert *et al.*
95 201; Nicotra *et al.* 2011; Fajardo & Piper 2011). Leaves are organs that are
96 exposed to different environmental factors, and it is reasonable to expect that their
97 morphology and structure represent the responses of the plants to local conditions,
98 such as water availability or light intensity, as well as intra- and interspecific
99 interactions (Castro-Díez *et al.* 1997; Bruschi *et al.* 2003, Lambrecht & Dawson
100 2007; Cuevas-Reyes *et al.* 2018).

101 Rainfall deficit and seasonality are important determinants of the structure,
102 composition and physiognomy of vegetation (Moles *et al.* 2014). Low precipitation
103 rates promote changes in foliar traits that in turn reduce water loss and increase
104 photosynthetic capacity, and thus high leaf densities impart dehydration tolerance
105 (Niinemets 2001; McLean *et al.* 2014). Plants that inhabit seasonal forests have
106 mechanisms that allow them to remain unharmed by extended periods of drought,
107 reducing carbon absorption as a result of the strong control of stomatal
108 conductance and canopy deciduousness (Rossatto *et al.* 2013). On the other hand,
109 temperature also affects the energy balance of leaves as well as the metabolic rate
110 of plants (Moles *et al.* 2014). High temperatures associated with high solar
111 incidence promote an increase in leaf thickness and a low specific leaf area, which
112 reduce damage to leaf tissue from the sun (Leigh *et al.* 2012; McLean *et al.* 2014).
113 Specific leaf area is related to the photosynthetic efficiency of plants and is
114 considered to be very important for the biogeochemical cycles of forests (Meier &
115 Leuschner 2008). It is also related to changes in leaf density and thickness

116 (Gouveia & Freitas 2009), which, in turn, are affected by both precipitation and
117 temperature gradients.

118 Different ecological and evolutionary studies have suggested that
119 temperature and precipitation are the main determinants of plant morphological
120 features on a global scale (Moles *et al.* 2014). However, leaf phenotypic variability
121 can also be explained by latitudinal and elevational gradients (Tang & Ohsawa
122 1999). Previous studies have documented the importance of geographic and
123 environmental factors as regulators of plant structure and morphology and species
124 colonization and establishment in different habitats (Bruschi *et al.* 2003; Díaz &
125 Cabido 2001). In particular, the variation in foliar traits in oak species has been
126 correlated with specific environmental factors such as temperature and
127 precipitation at different spatial scales, suggesting plastic responses or adaptive
128 genetic differentiation within and among populations (Balaguer *et al.* 2001; Uribe-
129 Salas *et al.* 2008; Aguilar-Romero *et al.* 2016; Rodríguez-Gómez *et al.* 2018,
130 Albarrán-Lara *et al.* 2019).

131 Oak species (Fagaceae, *Quercus*) occur in a wide variety of habitats
132 ranging from temperate to tropical forests and in both humid and dry conditions
133 along a wide geographical range in the Northern Hemisphere, which has promoted
134 remarkable morphological variation. The high morphological diversity of oaks has
135 been of great interest in taxonomic (Valencia-A 2004; Rodríguez-Rivera & Romero-
136 Rangel 2007; Martínez-Cabrera *et al.* 2011) and ecological studies analyzing the
137 patterns of variation in morphological traits in relation to environmental gradients
138 (González-Rodríguez & Oyama 2005; Uribe-Salas *et al.* 2008).

139 In this study, we analyzed the leaf morphological variation in populations of
140 *Quercus elliptica* Neé (Fagaceae) to determine the degree of population
141 differentiation across its geographic distribution in Mexico and Central America.
142 *Quercus elliptica* occurs in very diverse habitat types from tropical deciduous
143 forests at low altitudes to humid temperate forests at higher altitudes. Therefore,
144 this red oak species represents an ideal system for testing the effects of
145 environmental variables on morphological and functional traits along latitudinal and
146 altitudinal gradients. We evaluated population differentiation using ecological niche
147 analysis and projection with distribution models.

148

149 **Material and methods**

150

151 *Study species.* *Quercus elliptica* Née is a red oak species widely distributed in
152 Mexico ranging from southern Sinaloa to Nayarit, Jalisco, Guerrero, State of
153 Mexico, Oaxaca, Veracruz and Chiapas, and into Central America (Figure 1).
154 *Quercus elliptica* occurs under many types of environmental conditions in a wide
155 elevational range between 500 and 3,100 m in canyons to plains and in pine-oak,
156 oak, cloud and deciduous forests (Romero-Rangel *et al.* 2002; Valencia-A 2004).
157 This tree reaches a height of up to 20 m with a trunk diameter of up to 60 cm.
158 *Quercus elliptica* is a deciduous species with mature coriaceous leaves and
159 elliptical-narrow or elliptical-wide shapes (Rodríguez-Rivera & Romero-Rangel
160 2007). The petiolate leaves have fasciculate trichomes with 5-7 rays and a short
161 stipe, sometimes with crushed hairs, mainly near the primary veins (González-

162 Villarreal 1986, Rodríguez-Rivera & Romero-Rangel 2007) and sometimes stellate
163 trichomes on the middle vein.

164

165 *Plant collection.* A database of populations of *Q. elliptica* with geographical and
166 environmental information was constructed using data from the National (MEXU)
167 and Bajío (IEB) herbariums. On the basis of this information, we selected 41
168 populations representing the entire geographical distribution of *Q. elliptica* ranging
169 from Sinaloa and Veracruz (Mexico) to Central America (Honduras) (Table 1,
170 Figure 1). Fifteen mature leaves of 10 different individuals that were without
171 apparent leaf damage and exposed to sun light were collected from each
172 population, except in Tlatlauquitepec, Guerrero (only five individuals), and
173 Esperanza, Honduras (seven individuals). Sampling was carried out during the
174 rainy season (June-August) in 2016 and 2017. We selected leaves from the lower
175 branches of each sampled tree, and the leaves were pressed for further
176 morphological measurements.

177

178 *Morphological and functional traits.* In total, 4,017 leaves from 402 trees from 41
179 populations were measured considering 15 morphological and functional traits.
180 Highly correlated morphological and functional traits were eliminated to avoid
181 collinearity in subsequent analyses. After this procedure, four leaf morphological
182 traits (*i.e.*, leaf length: L, leaf width: W_i , petiole length: PL and the leaf length / leaf
183 width ratio: LWR) and three functional traits (*i.e.*, leaf thickness: T, leaf weight: W_e
184 and specific leaf area: SLA) were selected (Table 2). These morphological traits
185 were used because they represent standardized measurements of plant functional

186 traits (Pérez-Harguindeguy *et al.* 2013), and were previously reported for different
187 oak species (Kremer *et al.* 2002; Bruschi *et al.* 2003; Ponton *et al.* 2004; Tovar-
188 Sánchez & Oyama 2004; González-Rodríguez & Oyama 2005; Albarrán-Lara *et al.*
189 2010; Martínez-Cabrera *et al.* 2011, Viscosi *et al.* 2012).

190

191 *Environmental variables.* To analyze the differences in environmental variables
192 among the populations of *Q. elliptica*, we obtained climatic information for each
193 record using data for 19 climatic variables with a 0.08° resolution available through
194 the WorldClim database (Hijmans *et al.* 2005 <http://www.worldclim.org>). Highly
195 correlated bioclimatic variables were eliminated to avoid collinearity in subsequent
196 analyses. After this procedure, six variables were considered in the analysis (Table
197 2). In addition, values of an aridity index that considers evapotranspiration potential
198 and solar radiation per unit area were obtained (Zomer *et al.* 2008, Trabucco &
199 Zomer, 2009). Finally, elevation, latitude and longitude were used as geographic
200 variables.

201

202 *Statistical data analysis.* Pearson correlation analysis was performed to identify the
203 relationships between leaf morphological and functional traits and environmental
204 variables. To determine the differences in leaf morphological and functional traits
205 among populations of *Q. elliptica*, we used an ANOVA for each variable, and a
206 Tukey-Kramer test was conducted for *a posteriori* comparison using SAS (Stokes
207 *et al.* 2000).

208

209 A discriminant function analysis (DFA) was performed using the
morphological traits measured in the 4,017 leaves to determine the differences

210 among populations and identify the most important morphological variables
211 distinguishing groups or populations. Both the population centroids and the
212 percentage of correct allocation among populations were considered in the
213 analysis.

214 Redundancy analysis (RDA) was performed considering two sets of
215 environmental data: one set that includes the eight bioclimatic variables without
216 high collinearity and another containing three geographical variables (elevation,
217 longitude and latitude). To evaluate the contributions of geography and climate
218 to leaf morphological variation, the following models were constructed: a) a
219 complete model that included both the climatic and geographical variables (full
220 redundancy analysis (FRDA): space + climate); b) a partial model that considered
221 the climatic variables as controls of geographical effects (PRDA1: climate | space);
222 and c) a partial model that considered geographical variables as controls of
223 climatic effects (PRDA2: space | climate). We calculated the joint contributions of
224 climate and geography. In this way, the RDA allowed us to identify those variables
225 that have the most importance (climate or geography) in the variation in *Q. elliptica*.
226 We used a generalized linear model (GLM) to evaluate the effects of the climatic
227 variables on the leaf traits (response variables). The GLM was used to predict the
228 probability of occurrence of *Q. elliptica* throughout its distribution. We identified the
229 contribution of each of the variables and their levels of significance ($P < 0.05$) as
230 well as the confidence interval for each of the variables. All statistical analyses
231 were performed with SPSS v.23 ([https://www.ibm.com/support/pages/how-cite-
232 ibm-spss-statistics-or-earlier-versions-spss](https://www.ibm.com/support/pages/how-cite-ibm-spss-statistics-or-earlier-versions-spss)) and a statistical environment R (R Core
233 Team 2014).

234

235 *Ecological niche modeling.* Considering the occurrences of the 41 populations of *Q.*
236 *elliptica*, we predicted the distribution of this species based on the different
237 morphological groups previously identified in the statistical analyses. For the
238 modeling process, the WorldClim layers were used to cut the mask defined by the
239 biogeographic provinces in which species is distributed (Sierra Madre Occidental,
240 Sierra Madre del Sur, Sierra Madre de Oaxaca, the Trans-Mexican Volcanic Belt,
241 the Coastal Plain of the Pacific and Serranías Transistmicas). According to Pearson
242 *et al.* (2007), we chose 10 randomized subsets containing 60% of the records to
243 model the whole distribution of *Q. elliptica* (*i.e.*, 25 records) and each
244 morphological group separately (*i.e.*, 12 records for the Pacific group and 13
245 records for the Gulf of Mexico group) using MaxEnt software (Phillips & Dudik
246 2008) with the default convergence threshold and a maximum number of iterations
247 of 1,000 for each of the 10 replicates. Each map obtained for each replicate with
248 MaxEnt was binarized according to the following procedure: we extracted the
249 probability of each model obtained with 50% of the records that were not used in
250 the generation of the model to set the probability thresholds, ensuring not to omit
251 the values for the records used to generate the model.

252 To test the concordance between the models obtained for *Q. elliptica* and
253 the sampled records, we used the kappa index proposed by Cohen (1960) and the
254 area under the curve (AUC) value (< 0.7 indicating low representation in the
255 models and ≥ 0.9 indicating the best models) following Pearce and Ferrier (2000)
256 and Wollan, *et al.* (2008). We also conducted a jackknife test in MaxEnt that
257 stresses the importance of each variable in the model construction; variables with

258 high values indicated a greater contribution to the model and a high influence on
259 AUC values than those with lower values (Wollan *et al.* 2008).

260

261 **Results**

262

263 Some leaf morphological variables were correlated with some environmental
264 variables (Table 3). Leaf length (L) was negatively correlated with elevation ($r = -$
265 0.379 , $P < 0.05$) and positively correlated with temperature seasonality ($r = 0.526$, P
266 < 0.001). A significant positive relationship was observed between leaf thickness
267 (T) and precipitation seasonality ($r = 0.478$, $P < 0.01$), and a significant negative
268 relationship was observed between specific leaf area (SLA) and precipitation
269 seasonality ($r = -0.527$, $P < 0.001$). Similarly, a significant positive relationship was
270 observed between precipitation of the driest quarter ($r = 0.509$, $P < 0.001$) and the
271 aridity index ($r = 0.391$, $P < 0.05$), and a negative relationship was observed
272 between leaf weight (We) and the aridity index ($r = -0.323$, $P < 0.05$) (Figure 2).

273 The ANOVA tests showed differences in leaf morphological traits among the
274 populations (Table 5). Leaf thickness, leaf weight and specific leaf area differed
275 among the populations, showing the separation of two groups: the Pacific and Gulf
276 of Mexico populations. The separation between these two groups was not
277 evident for the other morphological traits.

278 The discriminant function analysis (DFA) identified two main groups:
279 populations distributed along the Pacific coast in tropical deciduous or
280 subdeciduous forests (here after the Pacific group) and populations distributed
281 along the Gulf of Mexico and in southern Mexico and Central America occurring in

282 temperate, mixed and cloud forests and tropical humid or subhumid forests
283 (hereafter the Gulf of Mexico group) (Figure 3). The first axis of the discriminant
284 function (DF1) explained 49.7% of the variation in the 4,017 leaves analyzed. Leaf
285 thickness was the most important plant trait for DF1 ($r = 0.541$, $P < 0.01$). Finally, it
286 is important to mention that the leaf shape ratio (length/width) is a variable that
287 varies considerably depending on precipitation. Leaves that were longer than wider
288 were found in the Pacific group populations, and they were also thicker with lower
289 specific leaf area values, while the leaves of the populations of the Gulf of Mexico
290 group had a smaller leaf length/leaf width ratio, lower thickness and higher specific
291 leaf area values.

292 The first two axes of the full redundancy analysis (FRDA), which included
293 geographic and environmental variables, explained a significant proportion of the
294 leaf variation (51.32%) ($F=4.7$, $P < 0.001$) (Figure 4). According to the redundancy
295 analysis (RDA), climate explained 21.58% of the variation, geography explained
296 21.17%, and the interaction between climate and space explained only 8.57%. In
297 both, partial RDA1 (climate as a control of geography) and RDA2 (space as a
298 control of climate) were both significant only for their first axes ($F=10.9$, $P < 0.002$
299 and $F=12.3$, $P < 0.001$, respectively). On the first axis of the FRDA, the seasonality
300 of temperature ($F=7.0$, $P < 0.001$) and latitude ($F=9.5$, $P < 0.0001$) were the main
301 variables explaining the leaf variation, and these two variables were the most
302 important variables according to RDA1 ($F=10.021$, $P < 0.001$) and RDA2 ($F=9.469$,
303 $P < 0.001$), respectively. For the second axis, the principal variables were
304 seasonality of precipitation ($F=5.9$, $P < 0.003$), aridity ($F=5.1$, $P < 0.006$) and
305 elevation ($F=3.5$, $P < 0.015$). The most important morphological variables were

306 specific leaf area and leaf width for the first axis and the lengths of both the lamina
307 and petiole for the second axis.

308 The generalized linear model (GLM) showed differences in some
309 morphological traits between the two identified groups (DFA vs RDA) (Table 4).
310 The thickest leaves were recorded in the Pacific group with an average thickness
311 of 0.327 mm. The longest leaves were also observed in the Pacific group (100.13
312 mm) (Table 4).

313 The GLM analysis of the environmental variables also indicated significant
314 differences among the populations of the two groups identified in the DFA.
315 Populations of the Pacific group experienced higher temperature and precipitation
316 seasonality than those of the Gulf of Mexico group, with coefficients of variation of
317 17.9% and 10.5%, respectively, and the lowest amount of rainfall in the dry season
318 (24.8 mm). The Gulf of Mexico group was characterized by the highest dry season
319 precipitation, 68.4 mm, and a lower coefficient of variation, 15.2%, for temperature
320 seasonality.

321 We obtained the best environmental niche models (ENMs) for the Pacific
322 and Gulf of Mexico groups considering the highest values obtained for the kappa
323 index of each replicate subset (Figure 5). The ENMs with the lowest kappa values
324 were obtained for *Q. elliptica* (all populations) and the Pacific group populations
325 (the kappa values for the best models were 0.61 and 0.611, respectively), while the
326 highest values were obtained for the Gulf of Mexico group when the Jalisco
327 populations were not considered (the kappa value for the best model was 0.706).
328 The most important variables in the ENM for *Q. elliptica* (all populations) were
329 elevation, aridity, mean annual temperature and annual rainfall; the most important

330 variables in the ENM for the Pacific group were mean annual temperature,
331 seasonality and elevation; and the most important variables in the ENM for Gulf of
332 Mexico group were rainfall in the driest quarter and rainfall seasonality. The ENMs
333 for the Gulf of Mexico and Pacific groups significantly overlap in the western and
334 central regions of the Trans-Mexican Volcanic Belt and western of the Sierra
335 Madre del Sur.

336

337

338 **Discussion**

339

340 In this study, the relative importance of two sets of driving variables (*i.e.*,
341 environmental and geographical) on the morphology and function of leaves was
342 analyzed. It was demonstrated that precipitation and its seasonality are
343 environmental factors that are associated with morphological variation in *Q.*
344 *elliptica*, an oak species that occurs in different types of forests. Tropical forests
345 differ in their seasonality in terms of the length of the dry and wet seasons, which
346 can affect the morphological and functional variation in plants, promoting changes
347 in the hydraulic structure of leaves (*i.e.*, leaf thickness and specific leaf area) in
348 response to water stress and affecting phenological patterns and the content of
349 secondary metabolites used in plant structure or defense (Ackerly 2004; Moles *et*
350 *al.* 2014).

351

352 *Variation in morphological and functional traits along environmental gradients* .It
353 has been documented that the leaf morphological variability of species along

354 elevational gradients is related to environmental factors (Velázquez-Rosas *et al.*
355 2002). Uribe-Salas *et al.* (2008) identified a strong relationship between
356 morphological features and environmental factors (mainly temperature). Leaf
357 morphology and structure can be affected by microclimatic conditions such as
358 temperature, solar incidence and humidity. In some cases, leaves that are exposed
359 to the sun have a smaller foliar area and are thicker and more lobed than those
360 that grow in shaded conditions (*e.g.*, basal strata of the canopy) (Mitchell *et al.*
361 1999, Klich, 2000; Bruschi *et al.* 2003; Valladares *et al.* 2014). Leaves in different
362 strata of the tree absorb, intercept and reflect light differently, which also influences
363 leaf physiological processes (Ellsworth & Reich, 1993).

364 We identified that the longest leaves with the highest leaf areas were not
365 necessarily located in areas with high precipitation, as reported in some studies
366 (Gouveia & Freitas 2009; Ramírez-Valiente *et al.* 2015). Meier and Leuschner
367 (2008) showed that the leaf surface area decreased when precipitation increased,
368 but in their conclusions, they mentioned that this may be because leaf size in
369 *Fagus sylvatica* can respond more to changes in temperature than to changes in
370 precipitation. According to the RDA, leaf length was found to be related to the
371 seasonality of temperature, which may explain why the temperature could
372 influence the variation in populations, although to a lesser extent. Additionally, leaf
373 area decreases when the incidence of light increases (Niinemets 2001).
374 Furthermore, the leaf support (petiole length) angle is an important feature that
375 responds to the incidence of light reaching different canopy trees; a smaller petiole
376 will result in more overlap of the leaves and a lower uptake of light (González-
377 Rodríguez *et al.* 2004). It is also observed that there is a relationship between the

378 morphological variables of specific leaf area (SLA) and the leaf length-width ratio
379 (LWR) associated with geographical factors, such as latitude, longitude, altitude
380 and precipitation-dependent variables (*i.e.*, BIO12 and BIO17). We observed that
381 both the SLA and the precipitation levels decline as latitude increases, as
382 mentioned by Rico-Gray and Palacios-Ríos (1996).

383 It is important to mention that the leaf shape ratio (leaf length/leaf width)
384 varies considerably depending on precipitation. Leaves that are longer than
385 wider were found in the Pacific group, and they had great thickness and lower
386 values of SLA, while the populations of the Gulf of Mexico group had leaves with a
387 smaller leaf length/width ratio, the highest SLA values and the lowest thickness.

388 Low SLA values were found in plants at localities with a low rainfall and
389 marked seasonality between the dry and rainy seasons. These plants can reduce
390 the excessive loss of water by evaporation and make water use more efficient,
391 generating an important mechanism to address the scarcity of water resources
392 (Ogaya & Peñuelas 2003; Wright *et al.* 2004; Aranda *et al.* 2014; McLean *et al.*
393 2014). Our results agree with several studies that mention that a decrease in SLA
394 also implies changes in other traits, such as an increase in leaf thickness, because
395 the latter implies a higher density of both palisade and spongy parenchyma
396 (Aranda *et al.* 2014). Additionally, Rossatto *et al.* (2013) argued that leaves that
397 grow in closed forests (such as those in the Gulf of Mexico group) have greater
398 SLA values as an adjustment to take advantage of patches of light (Valladares &
399 Niinemets 2008), while leaves in open sites with high incidence, such as those in
400 the Pacific group have lower SLA values.

401

402 *Population differentiation.* Ecological speciation is common in diverse groups of
403 plants (Rundle & Nosil 2005). In *Q. elliptica*, we detected leaf morphological
404 differentiation among populations. We suggest that environmental factors can
405 contribute to morphological divergence in key adaptive traits such as thickness,
406 length and SLA, which also allows us to recognize at least two geographically
407 separated and environmentally distinct groups: the Pacific and Gulf of Mexico
408 groups.

409 Populations of *Q. elliptica* distributed along the Pacific coast occurred in
410 seasonal deciduous, mixed and oak forests at elevations less than 1200 m;
411 morphologically, these populations had large but narrowly elliptical and thick leaves
412 and with lower SLA values. In contrast, populations of the Gulf of Mexico group
413 were characterized by inhabiting humid climates with little seasonality at elevations
414 higher than 1200 m (oak, temperate and tropical mixed, and cloud forests);
415 morphologically, these populations had small and less thickbroadly elliptical leaves
416 with high SLA values.

417 According to the RDA, both latitude and longitude were almost as important
418 as the environmental conditions in terms of the variation in *Q. elliptica*. Pearse and
419 Hipp (2012) identified that variation in defense against herbivory in oaks
420 corresponds to latitudinal gradients; however, this gradient is driven predominantly
421 by climatic differences across latitudes. Frenne *et al.* (2013) argued that variations
422 in multiple environmental factors with latitude or longitude can be complex since
423 variation patterns can hide factors that can differ across a geographical gradient.

424 The ecological niche modeling procedure allowed us to model the whole
425 distribution of *Q. elliptica* and the morphological groups identified according to

426 other statistical analysis. The obtained model showed the overprediction of the
427 area of distribution of the species due to the wide range of environmental
428 conditions in which the species occurs, extending the potential area of distribution.
429 The geographical filtering and correction of sampling biases allow the improvement
430 of the results obtained by ENMs (Boria *et al.* 2014; Galante *et al.* 2018) in
431 comparison to the use of large data bases with geographical biases, which can
432 increase the environmental complexity of the obtained models. In this study, we
433 decided to use only those locations where at least 10 individuals were collected as
434 a geographical filter to remove the sampling bias instead of using all occurrences
435 recorded in global data bases. In addition, to reduce the environmental complexity
436 associated with a species of wide geographical and ecological distribution such as
437 *Q. elliptica*, it was decided to independently model the distributions of the two
438 morphologically groups; this allowed the over adjustment of the distribution of the
439 species, improving the resulting ENM in a similar manner to the proposal of
440 Shcheglovitova and Anderson (2013) and Galante *et al.* (2018).

441 The differences in the niches of these two groups were also important,
442 although there is an overlap between the two groups in the western parts of the
443 Trans-Mexican Volcanic Belt and the Sierra Madre del Sur. The most important
444 variables in the generation of the models were the climatic factors that determine
445 the differentiation of populations between the Pacific Coast and the Gulf of Mexico
446 coasts. Biogeographical studies have recognized the differentiation of various
447 organisms between these two coasts (Espinosa-Organista *et al.* 2006, 2008,
448 Escalante *et al.* 2013; Halffter & Morrone 2017).

449 More experimental studies are needed to show that morphological
450 divergence in plants represents the local adaptation of populations in response to
451 diverse selective pressures (Leimu & Fischer 2008, Frenne *et al.* 2013). For
452 example, studies on the physiological responses of the germinative capacity of
453 acorns or the growth rate of seedlings in common garden experiments under
454 different controlled conditions are needed, as suggested by Weltzin and
455 McPherson (2000) and Aguilar *et al.* (2017).

456

457 **Acknowledgments**

458

459 We thank to V. Rocha Ramirez, E. Vega Peña and R. Aguilar Romero for technical
460 assistance. This project was supported by PAPIIT/PAPIME-DGAPA (UNAM)
461 project RV201015, PE211118, IA208218 and CONACYT 240136.

462

463 **Literature cited**

464

465 Ackerly D. 2004. Functional strategies of chaparral shrubs in relation to seasonal
466 water deficit and disturbance. *Ecological Monographs* **74**:25-44.

467 DOI: <https://doi.org/10.1890/03-4022>

468 Aguilar-Romero R, García-Oliva F, Pineda-García F, Torres-García I, Peña-Vega
469 E, Ghilardi A, Oyama K. 2016. Patterns of distribution of nine *Quercus*
470 species along an environmental gradient in a fragmented landscape in
471 Central Mexico. *Botanical Sciences* **94**:471-482.

472 DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.620>

473 Aguilar-Romero R, Pineda-García F, Paz H, González-Rodríguez A, Oyama K.
474 2017. Differentiation in water use strategies among oak species from
475 Central Mexico. *Tree Physiology* **37**:915-925.
476 DOI:<https://doi.org/10.1093/treephys/tpx033>

477 Albarrán-Lara AL, Mendoza-Cuenca L, Valencia-Ávalos S, González-Rodríguez A,
478 Oyama K. 2010. Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization
479 and introgression between *Quercus magnoliifolia* and *Quercus resinosa*
480 (Fagaceae) through an altitudinal gradient in Mexico. *International Journal of*
481 *Plant Sciences* **171**:310-322. DOI: <https://doi.org/10.1086/650317%20>

482 Albarrán-Lara AL, Petit RJ, Kremer A, Caron H, Peñaloza-Ramírez JM, Gruger PF,
483 Dávila-Aranda P, Oyama K. 2019. Limited genetic differentiation between
484 two morphologically and ecologically distinct giant-leaved Mexican oaks.
485 *Plant Systematics and Evolution* **305**:89-101. DOI:
486 <https://doi.org/10.1007/s00606-018-1554-8>

487 Albert CH, Thuiller W, Yoccoz NC, Soudant A, Boucher F, Saccone P, Lavorel S.
488 2010. Intraspecific functional variability: extent, structure and sources of
489 variation. *Journal of Ecology* **98**:604-613. DOI:[https://doi.org/10.1111/j.1365-](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01651.x)
490 [2745.2010.01651.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01651.x)

491 Aranda I, Ramírez-Valiente JA, Rodríguez-Calcerrada J. 2014. Características
492 funcionales que influyen en la respuesta a la sequía de las especies del
493 género *Quercus*: variación intere intra-específica. *Revista Ecosistemas* **23**:27-
494 36. DOI: <https://doi.org/10.7818/ECOS.2014.23-2.05>

495 Balaguer L, Martínez-Ferri E, Valladares F, Pérez-Corona ME, Baquedano FJ,
496 Castillo FJ, Manrique E. 2001. Population divergence in the plasticity of the

497 response of *Quercus coccifera* to the light environment. *Functional Ecology*
498 **15**:124-135. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2001.00505.x%20>

499 Boria RA, Olson LE, Goodman SM, Anderson RP. 2014. Spatial filtering to reduce
500 sampling bias can improve the performance of ecological niche models.
501 *Ecological Modelling* **275**:73-77.
502 DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2013.12.012>

503 Bruschi P, Vendramin G, Bussotti FG, Grossoni P. 2003. Morphological and
504 molecular diversity among Italian populations of *Quercus petraea* (Fagaceae).
505 *Annals of Botany* **91**:707-716. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcg075>

506 Castro-Díez P, Villar-Salvador P, Pérez-Rontomé C, Maestro-Martínez M,
507 Montserrat-Martí G. 1997. Leaf morphology and leaf chemical composition in
508 three *Quercus* (Fagaceae) species along a rainfall gradient in NE Spain. *Trees*
509 **11**:127-134. DOI:<https://doi.org/10.1007/PL00009662>

510 Cohen J. 1960. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and*
511 *Psychological Measurements* **20**:37-46. DOI:
512 <https://doi.org/10.1177%2F001316446002000104>

513 Cuevas-Reyes P, Canché-Delgado A, Maldonado-López Y, Fernandes GW,
514 Oyama K, González-Rodríguez A. 2018. Patterns of herbivory and leaf
515 morphology in two Mexican hybrid oak complexes: Importance of fluctuating
516 asymmetry as indicator of environmental stress in hybrid plants. *Ecological*
517 *Indicators* **90**:164-170. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.03.009>

518 Díaz S, Cabido M. 2001. Vive la difference: plant functional diversity matters to
519 ecosystem processes. *Trends in Ecology and Evolution* **16**:646-65. DOI:
520 [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02283-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02283-2)

521 Ellsworth DS, Reich PB. 1993. Canopy structure and vertical patterns of
522 photosynthesis and related leaf traits in a deciduous forest. *Oecologia* **96**:169-
523 178. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00317729>

524 Escalante T, Morrone JJ, Rodríguez-Tapia G. 2013. Biogeographic regions of
525 North American mammals based on endemism. *Biological Journal of the*
526 *Linnean Society* **110**: 485-499. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/bij.12142>

527 Espinosa-Organista D, Llorente-Bousquets JE, Morrone JJ. 2006. Historical
528 biogeographical patterns of the species of *Bursera* (Burseraceae) and their
529 taxonomic implications. *Journal of Biogeography* **33**:1945-1958. DOI:
530 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01566.x>

531 Espinosa-Organista D, Ocegueda-Cruz S, Aguilar-Zúniga C, Flores-Villela O,
532 Llorente-Bousquets J. 2008. El conocimiento biogeográfico de las especies y
533 su regionalización natural. *In*: Soberón J, Halffter G, Llorente-Bousquets J.
534 2008. *Capital Natural de México Vol I: Conocimiento Actual de La*
535 *Biodiversidad*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Mexico
536 City, pp. 33-65. ISBN: 978-607-7607-03-8

537 Fajardo A, Piper FI. 2011 Intraspecific trait variation and covariation in a
538 widespread tree species (*Nothofagus pumilio*) in southern Chile. *New*
539 *Phytologist* **189**:259-271. DOI:[https://doi.org/10.1111/j.1469-](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03468.x)
540 [8137.2010.03468.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03468.x)

541 Frenne P, Graae BJ, Rodríguez-Sánchez F, Kolb A, Chabrierie O, Decocq G, de
542 Kort H, Schrijver A, Diekmann M, Eriksson O, Gruwez R, Hermy M, Lenoir J,
543 Plue J, Coomes DA, Verheyen K. 2013. Latitudinal gradients as natural

544 laboratories to infer species' responses to temperature. *Journal of Ecology*
545 **101**:784-795. DOI: <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12074>

546 Galante PJ, Alade B, Muscarella R, Jansa SA, Goodman SM, Anderson RP. 2018.
547 The challenge of modeling niches and distributions for data-poor species: a
548 comprehensive approach to model complexity. *Ecography* **41**:726-736. DOI:
549 <https://doi.org/10.1111/ecog.02909>

550 González-Rodríguez A, Oyama K. 2005. Leaf morphometric variation in *Quercus*
551 *affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing Mexican red oaks.
552 *Botanical Journal of the Linnean Society* **147**:427-435.
553 DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2004.00394.x>

554 González-Rodríguez A, Arias DM, Valencia S, Oyama K. 2004. Morphological and
555 RAPD analysis of hybridization between *Quercus affinis* and *Q. laurina*
556 (Fagaceae), two Mexican red oaks. *American Journal of Botany* **91**:401-409.
557 DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.91.3.401>

558 González-Villarreal ML. 1986. *Contribución al conocimiento del género Quercus*
559 *(Fagaceae) en el Estado de Jalisco*. Flora de Jalisco. Instituto de Botánica,
560 Universidad de Guadalajara.

561 Gouveia AC, Freitas H. 2009 Modulation of leaf attributes and water use efficiency
562 in *Quercus suber* along a rainfall gradient. *Trees* **3**:267-
563 275. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-008-0274-z>

564 Halffter G, Morrone JJ. 2017. An analytical review of Halffter's Mexican transition
565 zone, and its relevance for evolutionary biogeography, ecology and
566 biogeographical regionalization. *Zootaxa* **4226**:001-046. DOI:
567 <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4226.1.1>

568 Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A. 2005. Very high-
569 resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International*
570 *Journal of Climatology* **25**:1965-1978. DOI:<https://doi.org/10.1002/joc.1276>

571 Kichenin E, Wardle DA, Peltzer DA, Morse CW, Freschet GT. 2013. Contrasting
572 effects of plant inter- and intraspecific variation on community-level trait
573 measures along an environmental gradient. *Functional Ecology* **27**:1254-
574 1261. DOI:<https://doi.org/10.1111/1365-2435.12116>

575 Klich MG. 2000. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental
576 heterogeneity. *Environmental and Experimental Botany* **44**:171-183. DOI:
577 [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(00\)00056-3](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(00)00056-3)

578 Kremer A, Dupouey JL, Deans JD, Cottrell J, Csaikl U, Finkeldey R, Espinel S,
579 Jensen J, Kleinschmit J, Van Dam B, Ducousso A, Forrest I, López de
580 Heredia U, Lowe AJ, Tutkova M, Munro RC, Steinhoff S, Badeau V. 2002.
581 Leaf morphological differentiation between *Quercus robur* and *Quercus*
582 *petraea* is stable across western European mixed oak stands. *Annals of*
583 *Forest Science* **59**:777-787. DOI: <https://doi.org/10.1051/forest:2002065>

584 Lambrecht SC, Dawson TE. 2007. Correlated variation of floral and leaf traits along
585 a moisture availability. *Oecologia* **151**:574-583.
586 DOI:<https://doi.org/10.1007/s00442-006-0617-7>

587 Leigh A, Sevanto S, Ball MC, Close JD, Ellsworth DS, Knight CA, Nicotra AB,
588 Vogel S. 2012. Do thick leaves avoid thermal damage in critically low wind
589 speeds? *New Phytologist* **194**:477-487. DOI:[https://doi.org/10.1111/j.1469-](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04058.x)
590 [8137.2012.04058.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04058.x)

591 Leimu R, Fischer M. 2008. A meta-analysis of local adaptation in plants. *Plos One*
592 3:e4010. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004010>

593 Lohbeck M, Poorter L, Lebrija-Trejos E, Martínez-Ramos M, Meave JA, Paz H,
594 Pérez-García E, Romero-Pérez E, Tauro A, Bongers F. 2013. Successional
595 changes in functional composition contrast for dry and wet tropical forest.
596 *Ecology* 94:1211-1216. DOI: <https://doi.org/10.1890/12-1850.1>

597 Martínez-Cabrera D, Zavala-Chávez F, Terrazas T. 2011. Estudio morfométrico de
598 *Quercus sartorii* y *Q. xalapensis* (Fagaceae). *Revista Mexicana de*
599 *Biodiversidad* 82:551-
600 568. DOI: <http://dx.doi.org/10.22201/ib.20078706e.2011.2.459>

601 McLean EH, Prober SM, Stock WD, Steane DA, Potts BM, Vaillancourt RE, Byrne
602 M. 2014. Plasticity of functional traits varies clinally along a rainfall gradient in
603 *Eucalyptus tricarpa*. *Plant Cell and Environment* 37:1440-1451. DOI:
604 <https://doi.org/10.1111/pce.12251>

605 Meier IC, Leuschner C. 2008. Leaf size and leaf area index in *Fagus sylvatica*
606 forests: competing effects of precipitation, temperature, and nitrogen
607 availability. *Ecosystems* 11:655-669. DOI: [https://doi.org/10.1007/s10021-008-](https://doi.org/10.1007/s10021-008-9135-2)
608 [9135-2](https://doi.org/10.1007/s10021-008-9135-2)

609 Mitchell KA, Bolstad PV, Vose JMC. 1999. Interspecific and environmentally
610 induced variation in foliar dark respiration among eighteen southeastern
611 deciduous tree species. *Tree Physiology* 19:861-870. DOI
612 <https://doi.org/10.1093/treephys/19.13.861>

613 Moles AT, Perkins SE, Laffan SW, Flores-Moreno H, Awasthy M, Tindall ML, Sack
614 L, Pitman A, Kattge J, Aarssen LW, Anand M, Bahn M, Blonder B, Cavender-

615 Bares J, Hans J, Cornelissen C, Cornwell WC, Díaz S, Dickie JB, Freschet
616 GT, Griffiths JG, Gutierrez AG, Hemmings FA, Hickler T, Hitchcock TD,
617 Keighery M, Kleyer M, Kurokawa H, Leishman MR, Liu K, Niinemets U,
618 Onipchenko V, Onoda Y, Peñuelas J, Pillar VD, Reich PB, Shiodera S, Siefert
619 A, Sosinski Jr EE, Soudzilovskaia NA, Swaine EK, Swenson NG, van
620 Bodegom PM, Warman L, Weiher E, Wright IJ, Zhang H, Zobel M, Bonser SP.
621 2014. Which is a better predictor of plant traits: temperature or precipitation?
622 *Journal of Vegetation Science* **25**:1167-1180. DOI:
623 <https://doi.org/10.1111/jvs.12190>

624 Nicotra AB, Leigh A, Boyce CK, Jones CS, Niklas KJ, Royer DL, Tsukaya H. 2011.
625 The evolution and functional significance of leaf shape in the angiosperms.
626 *Functional Plant Biology* **38**:535-552. DOI: <https://doi.org/10.1071/FP11057>

627 Niinemets U. 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area,
628 density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology* **82**:453-469. DOI:
629 [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2001\)082\[0453:GSCCOL\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2001)082[0453:GSCCOL]2.0.CO;2)

630 Ogaya R, Peñuelas J. 2003. Comparative field study of *Quercus ilex* and *Phillyrea*
631 *latifolia*: photosynthetic response to experimental drought conditions.
632 *Environmental and Experimental Botany* **50**:137-148.
633 DOI: [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(03\)00019-4](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(03)00019-4)

634 Paine CET, Baratolo C, Chave J, Hérault B. 2011. Functional traits of individual
635 trees reveal ecological constraints on community assembly in tropical rain
636 forest. *Oikos* **120**:720-727. DOI: [https://doi.org/10.1111/j.1600-](https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.19110.x)
637 [0706.2010.19110.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.19110.x)

638 Pearce J, Ferrier S. 2000. Evaluating the predictive performance of habitat models
639 developed using logistic regression. *Ecological Modelling* **133**:225-245. DOI:
640 [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(00\)00322-7](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(00)00322-7)

641 Pearse IS, Hipp AL. 2012. Global patterns of leaf defenses in oak species.
642 *Evolution* **66**:2272-2286. DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2012.01591.x>

643 Pearson RG, Raxworthy CJ, Nakamura M, Peterson AT. 2007. Predicting species
644 distributions from small numbers of occurrence records: a test case using
645 cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography* **34**:102-117. DOI:
646 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01594.x>

647 Pérez-Harguindeguy N, Díaz S, Garnier E, Lavorel, Poorter H, Jaureguiberry P,
648 Bret-Harte MS, Cornwell W, CraineJM, Gurvich DE, Urcelay C, Veneklaas EJ,
649 Reich PB, Poorter L, Wright IJ, Ray P, Enrico L, Pausas JG, de Vos AC,
650 Buchmann N, Funes G, Quétier F, Hodgson JG, Thompson, Morgan
651 HD, Steege H, van der Heijden MGA, Sack
652 L,BlonderB, Poschlod P, Vaieretti MV, Conti G, Staver AC, Aquino S,
653 Cornelissen JHC. 2013. New handbook for standardised measurement of
654 plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* **61**:167-
655 234. DOI: <https://doi.org/10.1071/BT12225>

656 Phillips SJ, Dudík M. 2008. Modeling of species distributions with MaxEnt: New
657 extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography* **31**:161-
658 175. DOI:<https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2008.5203.x>

659 Ponton S, Dupouey J, Dreyer E. 2004. Leaf morphology as species indicator in
660 seedlings of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl: Modulation by

661 irradiance and growth flush. *Annals of Forest Science* **61**:73-80.
662 DOI:<https://doi.org/10.1051/forest:2003086>

663 R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R
664 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

665 Ramírez-Valiente JA, Valladares F, Delgado A, Nicotra AB, Aranda I. 2015
666 Understanding the importance of intrapopulation functional variability and
667 phenotypic plasticity in *Quercus suber*. *Tree Genetics and Genomes* **11**:
668 35. DOI:<https://doi.org/10.1007/s11295-015-0856-z>

669 Rico-Gray V, Palacios-Ríos M. 1996. Leaf area variation in *Rhizophora mangle* L.
670 (Rhizophoraceae) along a latitudinal gradient in Mexico. *Global Ecology and*
671 *Biogeography* **5**:30-35. DOI: <https://doi.org/10.2307/2997468>

672 Rodríguez-Gómez F, Oyama K, Ochoa-Orozco M, Mendoza-Cuenca L, Gaytán-
673 Legaria R, González-Rodríguez A. 2018. Phylogeography and climate-
674 associated morphological variation in the endemic white oak *Quercus*
675 *deserticola* (Fagaceae) along the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Botany* **96**:121-
676 133. DOI:<https://doi.org/10.1139/cjb-2017-0116>

677 Rodríguez-Rivera I, Romero-Rangel S. 2007. Arquitectura foliar de diez especies
678 de encino (*Quercus*, Fagaceae) de México. *Acta Botanica Mexicana* **81**:9-
679 34. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm81.2007.1049>

680 Romero-Rangel S, Rojas-Zenteno E, de Lourdes M., Aguilar-Enríquez M. 2002. El
681 género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Annals of the Missouri*
682 *Botanical Garden* **89**:551-593. DOI: <https://doi.org/10.2307/3298595>

683 Rossatto DR, Hoffmann WA, Ramos Silva LC, Haridasan M, Sternberg LSL,
684 Franco AC. 2013. Seasonal variation in leaf traits between congeneric savanna

685 and forest trees in Central Brazil: Implications for forest expansion into
686 savanna. *Trees* **27**:1139-1150. DOI:<https://doi.org/10.1007/s00468-013-0864-2>

687 Rundle H, Nosil P. 2005. Ecological speciation. *Ecology Letters* **8**:336-352. DOI:
688 <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00715.x>

689 Salgado-Negrete B, Pérez F, Markesteijn L, Jiménez-Castillo M, Armesto JJ. 2013.
690 Diverging drought-tolerance strategies explain tree species distribution along a
691 fog-dependent moisture gradient in a temperate rain forest. *Oecologia*
692 **173**:625-635. DOI:<https://doi.org/10.1007/s00442-013-2650-7>

693 Shcheglovitova M, Anderson RP. 2013. Estimating optimal complexity for
694 ecological niche models: A jackknife approach for species with small sample
695 sizes. *Ecological Modelling* **269**:9-17. DOI:
696 <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2013.08.011>

697 Sterck F, Markesteijn L, Schieving F, Poorter L. 2011. Functional traits determine
698 trade-offs and niches in a tropical forest community. *Proceedings of the*
699 *National Academy of Sciences USA* **108**:20627-
700 20632. DOI:<https://doi.org/10.1073/pnas.1106950108>

701 Stokes ME, Davis CS, Koch GG. 2000. *Categorical Data Analysis Using the SAS*
702 *System*. 2nd edition Cary, North Carolina: SAS Institute, Inc.

703 Tang CQ, Ohsawa M. 1999. Altitudinal distribution of evergreen broad-leaved trees
704 and their leaf-size pattern on a humid subtropical mountain, Mt. Emei,
705 Sichuan, China. *Plant Ecology* **145**:221-233. DOI:
706 <https://doi.org/10.1023/A:1009856020744>

707 Tovar-Sánchez E, Oyama K. 2004. Natural hybridization and hybrid zones
708 between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico:

709 Morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany* **91**:1352-
710 1363. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.91.9.1352>

711 Trabucco A, Zomer RJ. 2009. *Global Aridity Index (Global-Aridity) and Global*
712 *Potential Evapo-transpiration (Global-pet) Geospatial Database*. CGIAR
713 Consortium for Spatial Information. Published online, available from CGIAR-
714 CSI GeoPortal. DOI: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.7504448.v3>

715 Uribe-Salas D, Sáenz-Romero C, González-Rodríguez A, Téllez-Valdés O, Oyama
716 K. 2008. Foliar morphological variation in the white oak *Quercus rugosa* Née
717 (Fagaceae) along a latitudinal gradient in Mexico: Potential implications for
718 management and conservation. *Forest Ecology and Management* **256**:2121-
719 2126. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.002>

720 Valencia-A S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín*
721 *de la Sociedad Botánica de México* **75**:33-
722 53. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsoci.1692>

723 Valladares F, Niinemets U. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex
724 nature and consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution and*
725 *Systematics* **39**:237-257. DOI:
726 <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173506>

727 Valladares F, Matesanz S, Guilhaumon F, Araújo MB, Balaguer L, Benito-Garzón
728 M, Cornwel W, Gianoli E, van Kleunen M, Naya DE, Nicotra AB, Poorter H,
729 Zavala MA. 2014. The effects of phenotypic plasticity and local adaptation on
730 forecasts of species range shifts under climate change. *Ecology Letters*
731 **17**:1351-1364. DOI: <https://doi.org/10.1111/ele.12348>

732 Velázquez-Rosas N, Meave J, Vázquez-Santana S. 2002. Elevational variation of
733 leaf traits in Montane rain forest tree species at La Chinantla, Southern
734 Mexico. *Biotropica* **34**:534-546. DOI:[https://doi.org/10.1111/j.1744-
735 7429.2002.tb00572.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2002.tb00572.x)

736 Violle C, EnquistBJ, McGill BJ, Jiang LIN, Albert CH, Hulshof C, Jung V, Messier J.
737 2012. The return of the variance: intraspecific variability in community
738 ecology. *Trends in Ecology and Evolution* **27**:244-252.
739 DOI:<https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.11.014>

740 Viscosi V, Antonecchia G, Lepais O, Fortini P, Gerber S, Loy A. 2012. Leaf shape
741 and size differentiation in white oaks: assessment of allometric relationships
742 among three sympatric species and their hybrids. *International Journal of
743 Plant Sciences* **173**:875-884. DOI:<https://doi.org/10.1086/667234>

744 Weltzin JF, McPherson GR. 2000. Implications of precipitation redistribution for
745 shifts in temperate savanna ecotones. *Ecology* **81**:1902-1913. DOI:
746 [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2000\)081\[1902:IOPRFS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081[1902:IOPRFS]2.0.CO;2)

747 Wollan AK, Bakkestuen V, Kauserud H, Gulden G, Halvorsen R. 2008. Modelling
748 and predicting fungal distribution patterns using herbarium data. *Journal of
749 Biogeography* **35**:2298-2310. DOI:[https://doi.org/10.1111/j.1365-
750 2699.2008.01965.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.01965.x)

751 Wright IJ, Reich PB, Westoby M, Ackerly DD, Baruch Z, Bongers F, Cavender-
752 Bares J, Chapin T, Cornelissen JHC, Diemer M, Flexas J, Garnier E, Groom
753 PK, Gulias J, Hikosaka K, Lamont BB, Lee T, Lee W, Lusk C, Midgley JJ,
754 Navas ML, Niinemets U, Oleksyn J, Osada N, Poorter H, Poot P, Prior L,

755 Pyankov VI, Roumet C, Thomas SC, Tjoelker MG, Veneklaas EJ, Villar R.
 756 2004. The world wide leaf economics spectrum. *Nature* **428**:821-
 757 827. DOI:<https://doi.org/10.1038/nature02403>
 758 Zomer RJ, Trabucco A, Bossio DA, Verchot LV. 2008. Climate change mitigation:
 759 A spatial analysis of global land suitability for clean development mechanism
 760 afforestation and reforestation. *Agriculture, Ecosystems and Environment*
 761 **126**:67-80. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.01.014>

762
 763 _____

764 **Editor de sección:** Martha Martínez Gordillo

765

766 **Author contributions.** KO, PCR, ATM and RMG designed the study; RMG, ATM
 767 and PCR conducted field study and statistical analyses; RMG, ATM, PCR and
 768 KO wrote the final manuscript. KO and PCR supervised the whole project.

769
 770
 771

772 **Table 1.** Localities of *Quercus elliptica* along its distribution in Mexico and Central
 773 America. Vegetation types: pine oak forest (POF), oak forest (OF), oak pine
 774 *Juniperus* forest (OPJF), deciduous low forest (DLF), cloud forest (CF) and pine -
 775 oak tropical forest (POTF).

776

Populatio	State /	Code	Latitude	Longitude	Vegetatio	Elevation
-----------	---------	------	----------	-----------	-----------	-----------

n	Country				n	(m)
Tecalitlan	Jalisco	J7	19.27	-103.27	POF	2002
Pmazos	Jalisco	J6	19.70	-104.39	POF	1362
Maple	Jalisco	J5	20.26	-104.78	POF	1283
Talpa	Jalisco	J2	20.40	-104.88	OF	1415
Juquila	Oaxaca	O4	16.54	-97.18	OPJF	1752
Loxicha	Oaxaca	O5	15.96	-96.45	DLF	1115
Yolox	Oaxaca	O1	17.59	-96.55	OF	1849
Numi	Oaxaca	O2	17.33	-96.72	POF	2192
Chilapa	Guerrero	G2	17.60	-99.09	POF	2058
Tlatlauqui tepec	Guerrero	G3	17.58	-98.75	POF	1911
Aobispo	Guerrero	G5	17.31	-99.47	DLF	1041
Ayutla	Guerrero	G6	16.97	-99.12	DLF	365
Carrizal	Guerrero	G4	17.54	-99.89	POF	2058
Tlacotepe c	Guerrero	G1	17.70	-99.93	OF	1913
Loberas	Sinaloa	S1	23.47	-105.83	POF	1719
Potrerrillos	Sinaloa	S2	23.45	-105.83	POF	1326
Huajicori	Nayarit	N1	22.70	-105.20	POF	1430
Nayar	Nayarit	N2	22.12	-104.80	POF	1269
Cuarente no	Nayarit	N4	21.47	-105.00	POF	1624

Sblas	Nayarit	N3	21.52	-105.04	DLF	1109
Xalisco	Nayarit	N5	21.43	-104.95	OF	1401
Tuito	Jalisco	J3	20.35	-105.31	DLF	771
Provincia	Jalisco	J4	20.34	-105.28	DLF	1221
Sebastian	Jalisco	J1	20.75	-104.83	POF	1587
Lachiguirri	Oaxaca	O3	16.73	-95.52	OF	1330
Sinai	Chiapas	CH3	16.47	-91.93	CF	1911
Motozintla	Chiapas	CH7	15.31	-92.28	CF	1768
Ocozocuatla	Chiapas	CH1	17.17	-93.12	OF	1925
Antenas	Chiapas	CH4	16.41	-94.02	DLF	821
Josefaortiz	Chiapas	CH5	16.34	-93.64	DLF	953
Tuxtla	Chiapas	CH2	16.81	-93.18	DLF	896
Triunfo	Chiapas	CH6	15.85	-92.94	DLF	744
Zongolica 1	Veracruz	V2	18.66	-97.02	CF	1545
Zongolica 2	Veracruz	V3	18.65	-97.02	CF	1401
Coscoma tepec	Veracruz	V1	19.09	-97.02	DLF	1527

Nanchititl a	Mex. St.	M1	18.88	-100.34	POF	2016
Purulha	Honduras	HO5	14.12	-88.70	POTF	1487
Celaque	Honduras	HO2	14.58	-88.70	POTF	2392
Marcala	Honduras	HO1	14.74	-88.72	POTF	1110
Esperanz a	Honduras	HO4	14.29	-88.10	POTF	1839
Achiote	Honduras	HO3	14.44	-87.54	POTF	1560

777

778 **Table 2.** Leaf morphological and functional traits of *Quercus elliptica* used in the
779 analyses of leaf variation and bioclimatic variables with out collinearity included in
780 this study.

Traits	Description
L	Leaf length
Wi	Leaf width
PL	Petiole length
LWR	Leaf length/leaf width ratio
Functional traits	
We	Leaf weight
T	Leaf thickness
SLA	Specific leaf area

Bioclimatic variables

BIO1	Annual mean temperature
BIO4	Temperature seasonality (standard derivation*100)
BIO11	Mean temperature of the coldest quarter
BIO12	Annual precipitation
BIO15	Precipitation seasonality
BIO17	Precipitation of the driest quarter
Latitude	
Longitude	
Elevation	
Aridity	

781

782

783 **Table 3.** Relationships between leaf morphological and functional traits of *Quercus*
 784 *elliptica* with environmental variables.

Character	BIO1	BIO4	BIO11	BIO12	BIO15	BIO17	Latitude	Longitude	Elevation	Aridity
			1	2					n	
Morphological traits										
L		526**								
			.045						-0.379*	-0.095
Wi		.431**		-0.012			.023			.100

PL	0.340*									
LWR	0.348*	.109	.310*	-.143	.582**	-.464**				
LL/PLR										
Functional traits										
We		.394*	.161		.518**	-.416**	.353*	-.431**	-.210	-.323*
T			-.108		.478**		.481**	-.593**	-.041	
SLA		.141	-.284		-.527**	-.509**		.432**	-.075	.391

785 ** The correlation is significant at $P < 0.01$

786 * The correlation is significant at $P < 0.05$

787

788

789

790 **Table 4.** Description of the explanatory variables (climatic variables) on the
791 response variables (morphological variables) used in the study. The contribution of
792 each variable was estimated according to its parameter and level of significance
793 ($P < 0.05$; in bold), as well as the confidence interval for each of the variables. SE:
794 Standard error. Names of leaf traits and bioclimatic variables as indicated in Table
795 2.

796

Trait	Group	Mean	SE	F	P
-------	-------	------	----	---	---

L	1	98.76	14.67	0.363	0.551
	2	95.89	15.83		
Wi	1	32.66	4.70	4.27	0.04
	2	35.97	5.50		
LP	1	4.87	0.81	2.43	0.127
	2	4.42	1.02		
LWR	1	3.04	0.34	20.74	0.000
	2	2.66	0.16		
LL/LPR	1	20.66	3.88	1.76	0.191
	2	22.51	4.97		
We	1	0.53	0.08	21.21	0.000
	2	0.39	0.11		
T	1	0.33	0.07	29.86	0.000
	2	0.22	0.06		
SLA	1	4,977.27	114.58	52.22	0.000
	2	7,328.94	936.63		
BIO1	1	200.35	26.82	1.71	0.191
	2	189.29	27.20		
BIO4	1	1,774.65	643.30	2.52	0.120
	2	1526.76	304.34		
BIO11	1	176.10	31.94	0.90	0.347

	2	167.24	27.56		
BIO12	1	1,319.45	221.94	4.21	0.04
	2	1,517.33	372.39		
BIO15	1	104.70	8.55	25.49	0.0001
	2	84.90	15.41		
BIO17	1	25.25	9.95	12.98	0.001
	2	70.14	54.83		
Latitude	1	19.56	2.46	13.17	0.001
	2	17.00	2.04		
Longitude	1	-102.00	3.42	23.83	0.000
	2	-94.89	5.60		
Elevation	1	1,493.90	478.41	0.007	0.933
	2	1,481.90	428.15		
Aridity	1	8,175.10	1,384.71	5.59	0.02
	2	10,043.14	3,261.98		

797

798

799 **Table 5.**Differences in leaf morphological and functional traits among the
800 populations of *Q. elliptica* analyzed. Different letters indicate significant differences
801 in mean values according to Tukey-Kramer test ($P < 0.05$). Names of populations
802 as indicated in Table 1 and names of leaf traits as in Table 2.

Populations	L	Wi	PL	We	T	LWR	LL/LWR	SLA
	<i>F</i> = 58.6	47.8	40.4	19.7	105.78	11.5	36.31	42.43
	<i>P</i> < 0.0000	0.0001	0.0001	0.0001	0.0000	0.0001	0.0001	0.0001
S1	102.7 ± 1.9 ^a	37.6 ± 0.7 ^a	5.8 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.01 ^a	0.4 ± 0.006 ^a	2.8 ± 0.1 ^a	19.1 ± 0.8 ^a	6095.8 ± 23 ^a
S2	110.8 ± 1.9 ^b	37.0 ± 0.7 ^a	4.6 ± 0.1 ^b	0.7 ± 0.03 ^b	0.3 ± 0.006 ^a	3.0 ± 0.1 ^a	26.4 ± 0.8 ^b	6,768.6 ± 220.1 ^b
N1	108.5 ± 2.1 ^b	40.5 ± 0.8 ^b	6.1 ± 0.2 ^a	0.4 ± 0.03 ^a	0.3 ± 0.001 ^a	2.7 ± 0.1 ^a	19.1 ± 0.9 ^a	6,025.9 ± 258.1 ^a
N2	121.5 ± 1.9 ^c	38.0 ± 0.7 ^a	4.3 ± 0.2 ^b	0.7 ± 0.03 ^b	0.3 ± 0.006 ^a	3.3 ± 0.1 ^b	30.2 ± 0.8 ^c	6,294.5 ± 230.8 ^c
N3	122.6 ± 1.9 ^c	37.8 ± 0.7 ^a	4.3 ± 0.2 ^b	0.6 ± 0.03 ^b	0.3 ± 0.006 ^a	3.7 ± 0.1 ^c	30.3 ± 0.8 ^c	6,80.10 ± 230.8 ^b
N4	107.9 ± 1.9 ^b	35.1 ± 0.7 ^c	5.5 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.03 ^a	0.3 ± 0.006 ^a	3.1 ± 0.1 ^a	20.9 ± 0.8 ^a	7,154.2 ± 230.8 ^b
N5	110.3 ± 1.9 ^b	31.8 ± 0.7 ^d	4.9 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.03 ^a	0.3 ± 0.006 ^a	3.9 ± 0.1 ^c	24.0 ± 0.8 ^b	6,175.9 ± 230.8 ^c
J1	111.4 ± 1.9 ^b	33.6 ± 0.7 ^d	4.4 ± 0.2 ^b	0.5 ± 0.3 ^a	0.3 ± 0.006 ^a	3.4 ± 0.1 ^b	26.4 ± 0.8 ^e	5,965.3 ± 230.8 ^c
J2	93.9 ± 1.9 ^d	36.4 ± 0.7 ^c	4.2 ± 0.2 ^b	0.4 ± 0.03 ^a	0.2 ± 0.001 ^b	2.6 ± 0.1 ^a	23.2 ± 0.8 ^b	6,450.2 ± 230.8 ^c
J3	117.3 ± 1.9 ^c	36.3 ± 0.7 ^c	4.9 ± 0.2 ^b	0.6 ± 0.03 ^b	0.3 ± 0.006 ^a	3.3 ± 0.1 ^b	24.9 ± 0.8 ^b	6,279.5 ± 230.8 ^c
J4	93.8 ± 1.87 ^d	36.0 ± 0.7 ^c	7.1 ± 0.2 ^c	0.7 ± 0.03 ^c	0.4 ± 0.006 ^a	2.8 ± 0.1 ^a	15.4 ± 0.8 ^d	4,822.5 ± 220.1 ^d
J5	109.5 ± 2.19 ^b	41.2 ± 0.8 ^b	4.0 ± 0.2 ^b	0.6 ± 0.02 ^b	0.2 ± 0.007 ^b	2.7 ± 0.1 ^a	27.8 ± 0.8 ^e	6,74 ± 258.2 ^b
J6	103.2 ± 1.9 ^a	36.3 ± 0.7 ^c	3.7 ± 0.2 ^d	0.4 ± 0.03 ^a	0.2 ± 0.006 ^b	2.9 ± 0.1 ^b	28.7 ± 0.7 ^e	6,973.9 ± 230.8 ^b
J7	102.3 ± 1.9 ^a	35.6 ± 0.7 ^c	4.6 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.02 ^a	0.1 ± 0.006 ^c	3.0 ± 0.1 ^b	24.0 ± 0.7 ^b	7,212.0 ± 230.8 ^b
V1	80.5 ± 1.9 ^e	29.7 ± 0.7 ^d	2.2 ± 0.1 ^e	0.3 ± 0.02 ^d	0.1 ± 0.006 ^c	2.7 ± 0.1 ^a	39.7 ± 0.7 ^f	7,702.3 ± 230.8 ^e
M1	91.0 ± 1.9 ^d	26.5 ± 0.7 ^e	4.1 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.2 ^a	0.2 ± 0.006 ^b	3.6 ± 0.1 ^c	25.4 ± 0.7 ^b	6,186.2 ± 23 ^c
V2	82.7 ± 1.9 ^e	31.0 ± 0.7 ^d	3.4 ± 0.1 ^d	0.3 ± 0.02 ^d	0.2 ± 0.006 ^b	2.7 ± 0.1 ^a	25.7 ± 0.7 ^b	7,118.1 ± 230.8 ^b
V3	91.4 ± 1.9 ^d	33.9 ± 0.7 ^d	3.3 ± 0.1 ^d	0.3 ± 0.02 ^d	0.2 ± 0.006 ^b	2.7 ± 0.1 ^a	29.1 ± 0.7 ^d	8,960.7 ± 230.8 ^f
G1	85.8 ± 1.9 ^f	31.7 ± 0.7 ^d	4.0 ± 0.1 ^b	0.6 ± 0.2 ^b	0.4 ± 0.006 ^a	3.1 ± 0.1 ^a	25.6 ± 0.7 ^e	3,476.7 ± 230.8 ^g
G2	80.2 ± 2.1 ^e	30.0 ± 0.8 ^d	4.1 ± 0.2 ^b	0.5 ± 0.03 ^a	0.4 ± 0.006 ^b	3.0 ± 0.1 ^a	20.9 ± 0.8 ^a	3,650.8 ± 243.3 ^g
O1	73.8 ± 2.0 ^g	32.1 ± 0.7 ^d	3.7 ± 0.1 ^d	0.3 ± 0.03 ^d	0.3 ± 0.006 ^a	2.3 ± 0.11 ^d	20.4 ± 0.7 ^a	6,283.9 ± 230.8 ^c
G3	77.3 ± 2.19 ^g	24.5 ± 0.8 ^f	4.8 ± 0.2 ^b	0.5 ± 0.02 ^a	0.3 ± 0.007 ^a	3.6 ± 0.1 ^c	17.3 ± 0.8 ^d	3,132.1 ± 258.1 ^g
G4	88.6 ± 2.0 ^d	27.7 ± 0.8 ^e	5.0 ± 0.2 ^b	0.5 ± 0.03 ^a	0.3 ± 0.007 ^a	3.3 ± 0.1 ^a	19.9 ± 0.8 ^a	4,384.1 ± 258.1 ^d
O2	72.7 ± 1.9 ^g	34.2 ± 0.7 ^d	3.9 ± 0.1 ^d	0.4 ± 0.03 ^a	0.3 ± 0.006 ^a	2.2 ± 0.1 ^d	18.6 ± 0.8 ^a	4,781.3 ± 230.8 ^d
G5	87.5 ± 2.0 ^d	28.8 ± 0.7 ^e	4.4 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.02 ^a	0.3 ± 0.006 ^a	3.3 ± 0.1 ^a	22.1 ± 0.8 ^b	4,288.6 ± 230.8 ^d
C1	72.3 ± 1.9 ^g	30.7 ± 0.74 ^d	4.6 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.02 ^d	0.2 ± 0.006 ^b	2.4 ± 0.1 ^d	16.2 ± 0.7 ^d	6,434.6 ± 230.8 ^c
G6	97.6 ± 1.9 ^a	32.7 ± 0.7 ^d	5.1 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.03 ^a	0.3 ± 0.006 ^a	3.1 ± 0.1 ^a	22.2 ± 0.8 ^b	5,154.2 ± 220.0 ^b
C2	91.6 ± 2.1 ^d	35.4 ± 0.8 ^c	4.9 ± 0.2 ^b	0.4 ± 0.03 ^a	0.2 ± 0.006 ^b	2.6 ± 0.1 ^d	18.8 ± 0.8 ^a	6,768.3 ± 243.3 ^c
O3	97.3 ± 1.9 ^a	35.4 ± 0.7 ^c	4.6 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.03 ^a	0.2 ± 0.006 ^b	2.8 ± 0.1 ^a	20.0 ± 0.8 ^a	7,821.0 ± 230.8 ^c
O4	91.9 ± 1.9 ^d	26.7 ± 0.7 ^e	4.0 ± 0.1 ^d	0.5 ± 0.03 ^a	0.3 ± 0.006 ^a	3.6 ± 0.1 ^c	25.9 ± 0.8 ^e	4,875.3 ± 230.8 ^d

C3	72.2 ± 1.9 ^g	27.2 ± 0.7 ^e	3.3 ± 0.1 ^d	0.2 ± 0.02 ^d	0.2 ± 0.006 ^b	2.7 ± 0.1 ^a	22.8 ± 0.8 ^b	7,169.1 ± 230.8 ^c
C4	88.2 ± 1.9 ^d	32.6 ± 0.7 ^d	6.9 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.03 ^d	0.2 ± 0.006 ^b	2.7 ± 0.1 ^a	13.7 ± 0.8 ^f	8,292.0 ± 230.8 ^e
C5	116.1 ± 1.9 ^c	38.5 ± 0.7 ^b	5.3 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.03 ^a	0.2 ± 0.006 ^b	3.0 ± 0.1 ^a	22.4 ± 0.8 ^b	8,963.2 ± 230.8 ^f
O5	95.4 ± 2.1 ^a	28.2 ± 0.8 ^e	5.5 ± 0.2 ^b	0.5 ± 0.03 ^a	0.3 ± 0.006 ^a	3.5 ± 0.1 ^c	18.4 ± 0.8 ^a	4,461.8 ± 243.3 ^d
C6	108.9 ± 1.9 ^b	37.8 ± 0.7 ^b	5.5 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.03 ^a	0.2 ± 0.001 ^b	2.9 ± 0.1 ^a	20.4 ± 0.8 ^a	6,952.2 ± 230.8 ^c
C7	74.5 ± 1.9 ^g	26.9 ± 0.7 ^e	3.8 ± 0.1 ^d	0.2 ± 0.03 ^d	0.2 ± 0.004 ^b	2.8 ± 0.1 ^a	20.7 ± 0.8 ^e	7,381.7 ± 230.8 ^e
H1	102.9 ± 1.9 ^a	40.0 ± 0.7 ^b	5.4 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.03 ^a	0.2 ± 0.006 ^b	2.6 ± 0.1 ^d	20.5 ± 0.8 ^a	7,261.0 ± 230.8 ^e
H2	107.5 ± 1.9 ^b	41.8 ± 0.7 ^b	4.9 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.03 ^a	0.2 ± 0.002 ^b	2.6 ± 0.1 ^d	24.3 ± 0.8 ^b	9,794.1 ± 230.8 ^f
H3	126.4 ± 1.9 ^b	48.9 ± 0.8 ^f	4.6 ± 0.1 ^b	0.6 ± 0.03 ^b	0.2 ± 0.003 ^b	2.6 ± 0.1 ^d	28.5 ± 0.8 ^e	8,488.0 ± 233.1 ^d
H4	117.3 ± 1.9 ^c	43.2 ± 0.1 ^b	5.1 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.02 ^a	0.2 ± 0.006 ^b	2.7 ± 0.1 ^d	24.3 ± 0.8 ^b	8,393.4 ± 230.8 ^d
H5	102.3 ± 1.9 ^a	39.9 ± 0.7 ^b	4.7 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.03 ^a	0.2 ± 0.002 ^b	2.6 ± 0.1 ^d	24.22 ± 0.8 ^b	7,130.8 ± 230.8 ^e

803

804

805

806 **Table 6.** AUC proportion values of the partial ROC analysis.

807

Rep	<i>Q. elliptica</i>			Pacific group			Gulf of Mexico group		
	AUC	kappa	jackknife	AUC	kappa	jackknife	AUC	kappa	jackknife
1	0.931	0.585	ele,BIO01	0.942	0.564344746	BIO15,BIO17	0.913	0.35706	BIO04,BIO01
2	0.939	0.585	ele,BIO01,BIO11,BIO12	0.971	0.610451306	BIO15,BIO17	0.93	0.25455	BIO04,BIO01,ele
3	0.936	0.561	ele,BIO01,BIO11,BIO12	0.908	0.470035253	BIO15,BIO17	0.866	0.45597	BIO04,BIO01
4	0.933	0.512	ele,BIO01,BIO11,aridity	0.926	0.517647059	BIO15,BIO17	0.876	0.50602	BIO04,BIO01
5	0.929	0.488	ele,aridity,BIO12	0.939	0.468786808	BIO15,BIO17	0.923	0.45597	BIO04,BIO01
6	0.944	0.488	ele,aridity,BIO12,BIO01	0.957	0.611374408	BIO15,BIO17	0.934	0.3555	BIO04,BIO01,BIO11,ele
7	0.943	0.39	ele,BIO01,BIO11,aridity	0.921	0.470035253	BIO15,BIO17	0.925	0.70574	BIO01,BIO04,ele
8	0.925	0.512	ele,BIO15,BIO12	0.926	0.422535211	BIO15,BIO17	0.909	0.35706	BIO04,BIO01
9	0.939	0.537	ele,ari,BIO01,BIO11BIO,12	0.903	0.375146542	BIO15,BIO17	0.928	0.60577	BIO04,BIO01
10	0.948	0.61	ele,ari,BIO01,BIO11,BIO12	0.934	0.470035253	BIO15,BIO17	0.929	0.70574	01,04,11,ele

808

809

810

811

812

813

814 **Legends to Figures**

815

816 **Figure 1.** Geographic distribution of the 41 populations of *Quercus elliptica*
817 collected for this study. Red circles represent the potential area of distribution of *Q.*
818 *elliptica* according to herbarium records and collections. The black crosses
819 represent the populations collected of *Q. elliptica*.

820

821 **Figure 2.** Pearson correlation analyses between leaf morphological traits and
822 bioclimatic variables. Only significant ($P < 0.05$) correlations are shown.

823

824 **Figure 3.** Discriminant function analysis scattergram of leaf traits. Two main
825 groups were identified: the Pacific group (red squares) and the Gulf of Mexico
826 group (blue circles). Letters with numbers codes represent the populations studied.

827

828 **Figure 4.** Full redundancy analysis (RDA) on morphological, bioclimatic and
829 geographical variables produced two main groups: the Pacific group (red squares)
830 and the Gulf of Mexico group (blue circles) (A). Graphs of the most important
831 morphological and environmental variables that differentiated populations identified
832 by RDA (B).

833

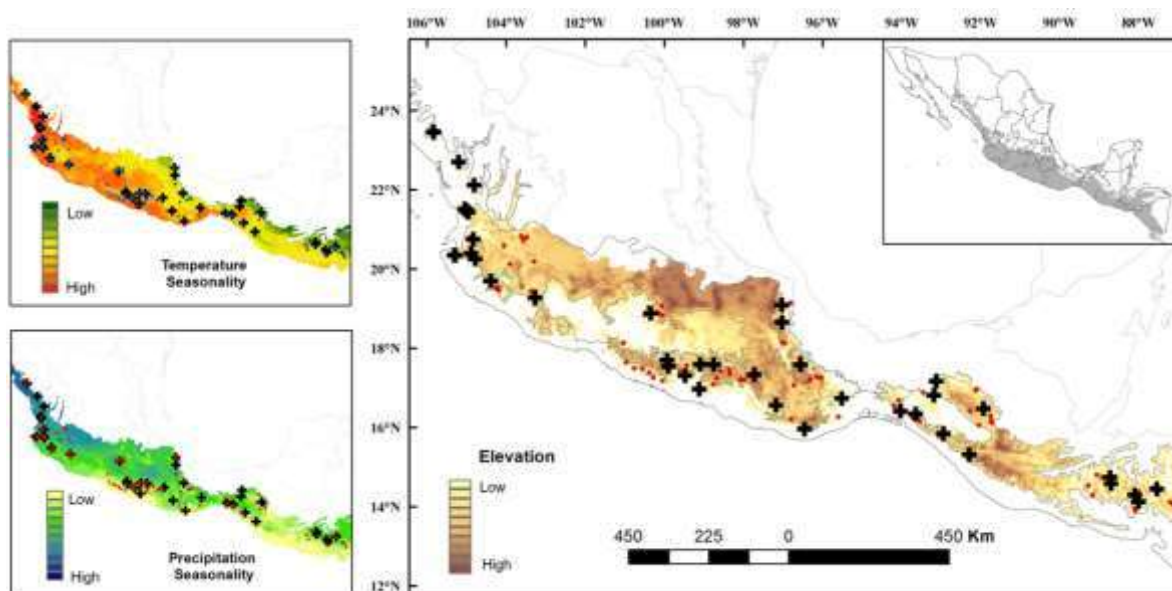
834 **Figure 5.** Niche modeled distribution of the two groups of populations identified in

835 this study: The Pacific group (+) and the Gulf of Mexico group (x).

836

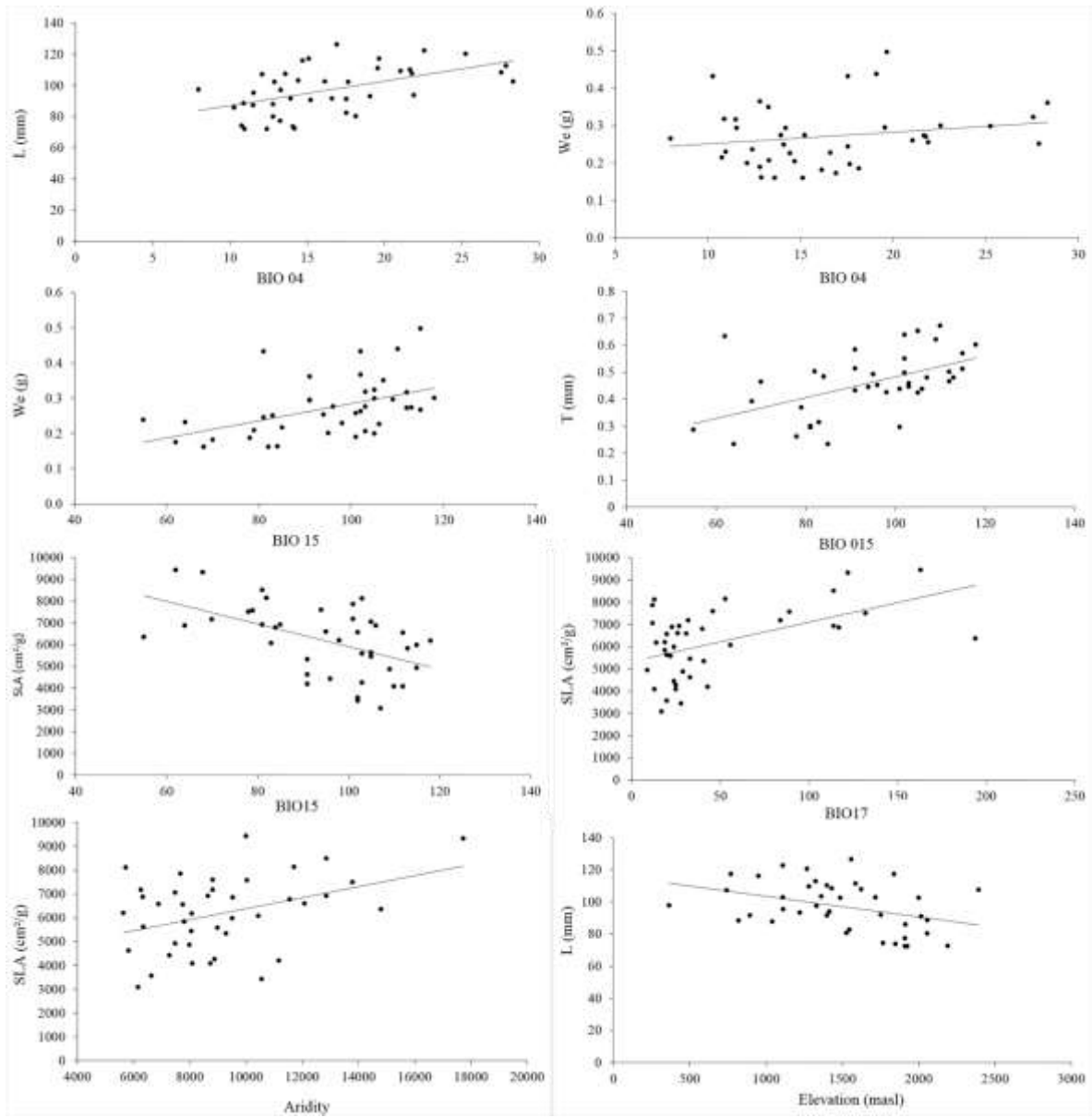
837

838



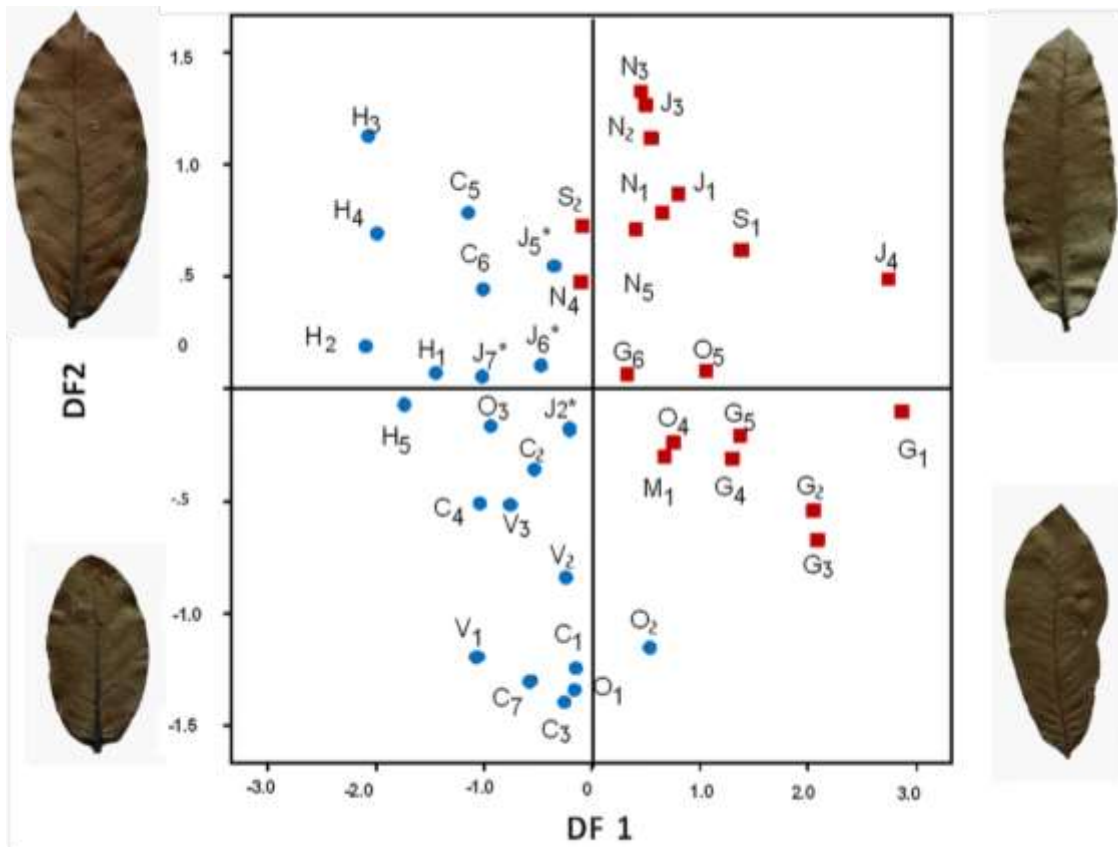
839

840 Fig. 1



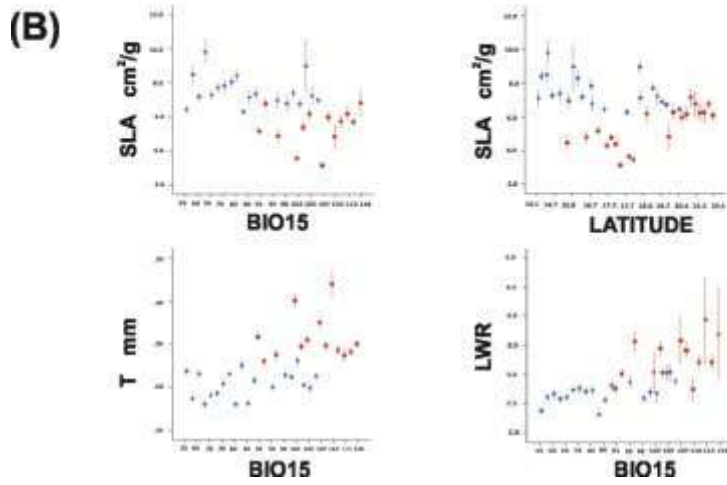
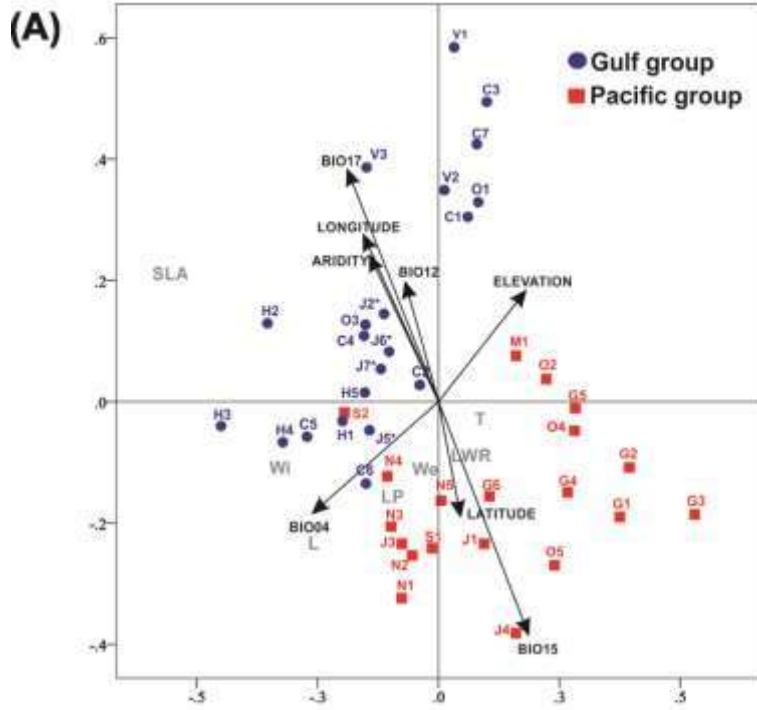
841

842 Fig. 2



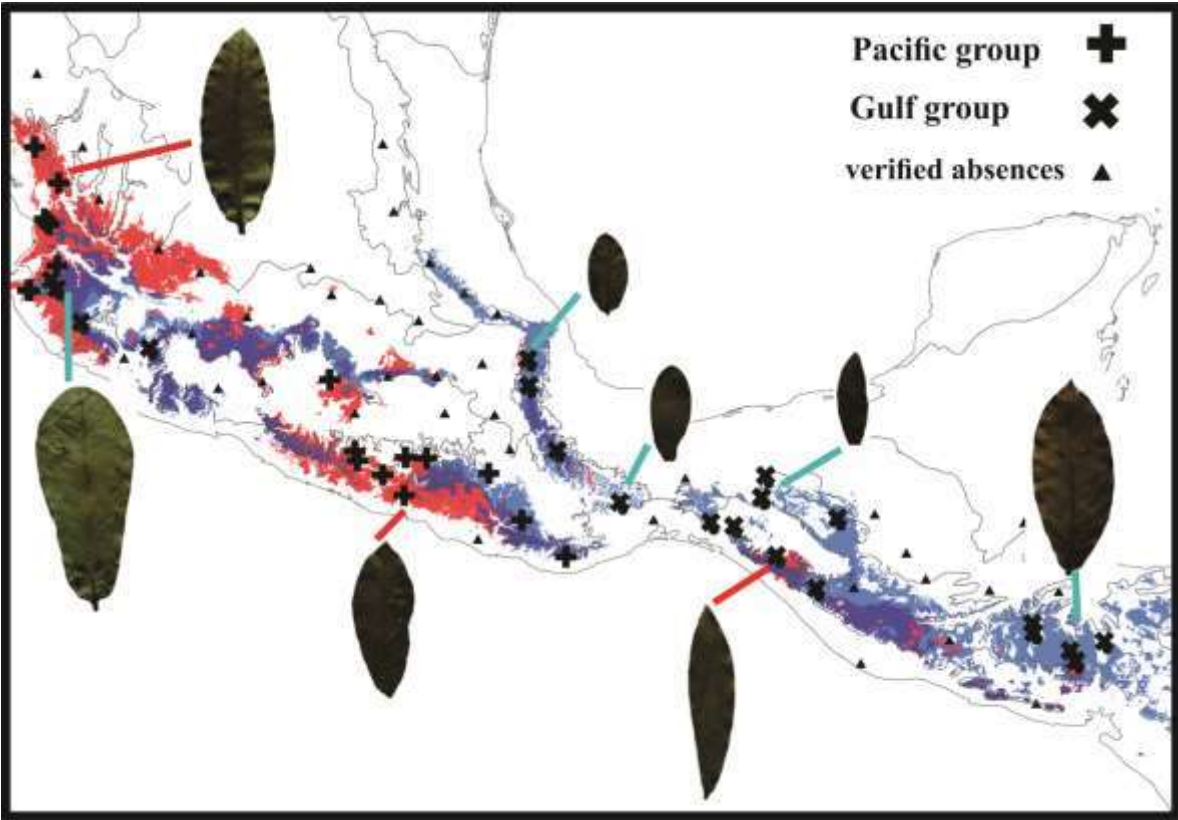
843

844 Fig. 3



845

846 Fig. 4



847

848 Fig. 5

849

IV CAPITULO II

Diversidad y estructura genética en poblaciones de *Quercus elliptica* Neé (Fagaceae)

Resumen

Quercus elliptica es una especie de encino que presenta una amplia distribución geográfica (desde el norte de México hasta Centroamérica) y altitudinal (desde los 800 hasta los 2600 m), presente en bosques tropicales, encinares subhúmedos, bosques mesófilos de montaña y bosques mixtos. El objetivo general fue determinar la estructura genética y filogeográfica en las poblaciones de *Q. elliptica* en toda su área de distribución. Se analizaron microsatélites de núcleo (SSRs) y la estructura filogeográfica con microsatélites de cloroplasto. Se analizaron, un total de 347 individuos procedentes de 36 poblaciones. Todos los loci de microsatélites probados mostraron ser polimórficos. Los resultados de los microsatélites de núcleo revelaron que el promedio del número de alelos fue de $N_a = 7.47 \pm 0.14$ por locus y una heterocigosidad promedio observada y la esperada de $H_o = 0.950 \pm 0.006$ y $H_e = 0.776 \pm 0.006$, respectivamente. Un análisis de varianza molecular indicó que la mayoría de la variación genética se encontró dentro de las poblaciones (93%). Se observó que el flujo génico entre poblaciones es moderadamente alto $Nm = 4.93$. Se encontró una baja diferenciación genética poblacional $F_{st} = 0.04 \pm 0.011$. La alta diversidad genética y el análisis de varianza molecular mostraron una baja diferenciación entre las poblaciones de *Q. elliptica*. La agrupación bayesiana

identificó tres grupos genéticos ($K=3$). Con los marcadores de cloroplasto (ADNcp) encontramos gran diversidad de haplotipos en las poblaciones ($N_h=63$) con 10 haplotipos ancestrales a lo largo de su distribución. La red de haplotipos muestra que existen haplotipos compartidos en toda el área de distribución de la especie. Los modelos de nicho ecológico indican que la distribución actual de la especie es muy parecida a la que se proyecta bajo escenarios del último máximo glacial y el interglacial, salvo en las poblaciones presentes en la Faja Volcánica Transmexicana y la Sierra Madre del Sur, en dónde se ubican la mayor parte de la diversidad de haplotipos.

Palabras clave: diversidad y estructura genética, marcadores nucleares y de cloroplasto, *Quercus elliptica*.

Introducción

Quercus elliptica Neé es una especie arbórea perteneciente a sección *Lobatae* (encinos rojos), el rango de distribución geográfica desde el sur de Sinaloa hasta Honduras, se considera que es el linaje más reciente de la sección *Quercus*. Se sugiere que los encinos de la sección protobalanus son los antecesores de las especies pertenecientes a los encinos rojos (Trelease, 1923; Manos et al. 1999; Manos y Stanford 2001). Rzedowski (1978), menciona que la formación vegetal de encinos es originada en las zonas de montaña de nuestro país, que son las áreas con mayor número de especies de este género (Nixón, 1993; Nixon et al. 1997). Pueden formar parte de bosque de coníferas, bosques

mixtos, bosques mesófilos de montaña o formando complejos arbóreos con otras especies de *Quercus* (Zavala, 1995). La gran diferenciación de factores ambientales en México pueden aclarar la gran diversidad de especies, los distintos factores ambientales tales como el clima, la topografía, y otros factores han promovido dicha variabilidad (González-Rivera, 1993). Esta gran diversidad de especies y gran diversidad de ambientes genera el interés por conocer la diversidad genética de las especies, porque determina su variabilidad y potencial evolutivo, ante cambios en factores bióticos y ambientales (Wehenkel y Sáenz-Romero, 2012). Pese a que existen esfuerzos importantes en desarrollar estudios de diversidad genética aún son pocos los trabajos reportados en encinos, los existentes se han enfocado en estudiar filogenia (Cavender-Bares et al. 2015) y a estudiar diversidad genética en el área de conservación (Alfonso-Corrado *et al.* 2004; Pingarroni Martín del Campo, 2011; Alfonso-Corrado *et al.* 2014).

Estructura genética

El grado de diversidad genética determina la adaptabilidad de las poblaciones a los cambios ambientales (Frankham *et al.* 2002). Cuando se encuentran niveles bajos de diversidad genética puede limitar la adaptación de las especies al ambiente (Young *et al.* 1996; Rosquist y Prentice 2000; Young y Clarke 2000). La diversidad genética se refiere al tipo y cantidad de genes contenidos en una población (Hedrick, 2000). Se estima por lo regular con marcadores moleculares, que permiten registrar frecuencias genotípicas y alélicas (Wright y Gaut, 2005).

La estructura genética de una especie está determinada por los diferentes factores como la selección natural, la mutación, el flujo génico y la deriva génica (Gottlieb, 1981; Pérez y Piñero, 1997). Las principales fuentes de variación genética son la recombinación, el flujo genético entre poblaciones y la mutación (Ehrlich y Ehrlich 1981; Gurevitch 2002). Las fuerzas evolutivas que reducen la variación genética son la, deriva genética y selección natural, siendo está la que promueve a la adaptación local. La deriva genética impulsa cambios genéticos de forma aleatoria, mientras que la selección favorece el genotipo con la mayor adecuación (Eguiarte *et al.* 1999).

Los cambios en los niveles moleculares en las poblaciones naturales dependen de una amplia gama de procesos, ecológicos y la capacidad de adaptarse a condiciones ambientales adversas y su impacto en la estructura genética de la población, el flujo, la diversidad genética o las elecciones de algunos individuos sobre otros en la gestión y recuperación (Alía *et al.* 2003, González-Rodríguez *et al.* 2011). Por lo tanto, los estudios genético moleculares se convierten en áreas complementarias a los estudios de ecología y silvicultura en muchos proyectos de investigación por haber experimentado un notable progreso en los últimos años (Morgestern 2011; Abril *et al.* 2011).

Los estudios que se han realizado sobre estructura genética en encinos son todavía muy pocos, como lo menciona Wehenkel *et al.* (2006) quien indica que sólo se ha cubierto un 1.2% de especies arbóreas que incluyen un total de 52 especies, de las cuales solo el 15% incluye especies de encino. Dónde la mayoría de estos estudios se ha enfocado principalmente a filogenia (Cavender-Bares *et*

al, 2015) y análisis de diversidad genética con fines de conservación (Alfonso-Corrado *et al.* 2004; Pingarroni, 2011; Alfonso-Corrado *et al.* 2014).

Cuantificar la diversidad genética de las especies forestales, especialmente las que pertenecen al género *Quercus* es importante porque esta diversidad determina la evolución y adaptación futura de la población, a los medios y su preservación en un entorno que cambia con frecuencia (Jiménez *et al.* 1999; Alía *et al.* 2003; López-Heredia *et al.* 2005). La diversidad genética de los encinos está relacionada con la distribución geográfica de las poblaciones (Rafil *et al.* 1991; López-Heredia, 2006), con su posición topográfica (Morales *et al.*, 2005) y con propiedades climáticas; además de los procesos de introgresión e hibridación como resultado de la coexistencia de las diferentes especies en el mismo hábitat y su proximidad filogenética (Dumolin-Lapegue *et al.* 1997; Jiménez-Sancho, 2001; López-Heredia, 2006).

Filogeografía

Se ha demostrado que los patrones geográficos de variabilidad genética tanto en animales como en plantas son el resultado de una combinación de procesos contemporáneos e históricos (Templeton *et al.* 1995; Cuenca *et al.* 2003). Se considera que la elevación orográfica y la alteración de factores climáticos del Cuaternario, esencialmente las transiciones entre periodos glaciales e interglaciares durante el Pleistoceno (~2.58~0.01 Ma) (Gibbard y Head, 2009), desempeñaron un papel clave en la demografía de las poblaciones y en la distribución y adaptabilidad de las especies (Hampe y Jump, 2011; Hoffmann y

Grogro, 2011). Es por ello que, durante las últimas décadas, los enfoques filogeográficos han facilitado un panorama primordial de la demografía comparativa de muchas especies de plantas, demostrando diferencias intraespecíficas e interacciones interespecíficas en respuesta a la influencia climática (Weiss y Ferrand, 2007). Aunque, para muchos linajes de especies de árboles con tiempos de generación largos, existen pocos casos que pueden demostrar la importancia del período del Pleistoceno para impulsar la especiación debido a la escasa evidencia fósil o a la falta de registros paleobotánicos suficientes (Levsen *et al.*, 2012).

El estudio de los patrones filogeográficos contribuye de manera significativa para comprender qué factores han influido en la estructura de las poblaciones y la divergencia de las especies y poblaciones (Knowles y Maddison, 2002). Los análisis filogeográficos involucran procesos históricos y reflejan la interacción entre los procesos demográficos y genealógicos, y la dinámica de los procesos de la tierra (Avice, 2000); por lo que, los métodos filogeográficos pueden determinar señales de eventos históricos, como barreras geográficas, discontinuidades genéticas, fragmentación del hábitat, patrones de dispersión o expansión de la distribución de las especies y poblaciones eventos migratorios, vicarianza, extinción de linajes genéticos y áreas de refugio dentro de las poblaciones contemporáneas (Domínguez-Domínguez y Vásquez-Domínguez, 2009; Scoble y Lowe, 2010). Se ha visto que los procesos históricos geológicos y las fluctuaciones climáticas, han dejado señales en la estructura genética de las poblaciones que han persistido hasta la actualidad (Lovette, 2005; Avice, 2009).

Modelos de nicho ecológico MNE

Los modelos de nicho ecológico (MNE) ha permitido determinar la distribución potencial de las especies en función de las variables ambientales (Kreamer y Porter, 2009), esta herramienta detecta las relaciones no aleatorias entre dos conjuntos de datos (i) los datos georreferenciados de la existencia de una especie, y (ii) la información digitalizada de variables ambientales que potencialmente determinen los patrones de distribución de la especie en un preciso nivel de análisis (Alvarado-Serrano y Knowles, 2013).

En filogeografía el modelado de nicho ecológico se ha utilizado para evaluar sitios de refugio, asociado a distribución potencial de las especies en el último máximo glacial con la diversidad genética (Garrick et al. 2013; Alvarado-Serrano y Knowles, 2013; Jezova et al. 2014) para caracterizar preferencias y tolerancias ambientales (Wooten y Gibs, 2012). Vale la pena resaltar el trabajo que se ha realizado en América y Europa para el género para determinar parámetros filogeográficos como son los de Petit *et al.* (2006), Magni *et al.* (2005) y Grivet *et al.* (2006). Para México destacan los estudios realizados para diferentes especies de encino llevados a cabo por González-Rodríguez *et al.* (2004b), Tovar-Sánchez *et al.* (2008), reportan para los complejos *Q. affinis-Q. laurina* y *Q. cassifolia-Q. crassipes* altos niveles de variación genética y débil estructura filogeográfica.

Quercus elliptica es un ejemplo importante de especies con amplia distribución, por lo que representa un buen modelo biológico para poder determinar los diferentes parámetros genéticos, y poder generar información para explicar la distribución de la variabilidad genética de sus poblaciones, así como

determinar información filogeográfica a lo largo de su intervalo de distribución, sobre los principales factores que modelan la distribución de la especie. En este estudio se determinó la estructura genética y filogeográfica, así como los modelos de nicho ecológico (MNE) de las poblaciones de *Q. elliptica*. Para lo cual planteamos los siguientes objetivos.

Objetivo general

General. Determinar la estructura genética y filogeográfica en las poblaciones de *Quercus elliptica* en toda su área de distribución.

Objetivos particulares

Analizar la diversidad y estructura genética de las poblaciones de *Quercus elliptica* a lo largo de su distribución geográfica.

Analizar la variabilidad y estructura filogeográfica de *Quercus elliptica* como resultado de diferentes eventos históricos.

4.6 *Materiales y métodos*

Colecta de material vegetal. Las poblaciones de colecta fueron elegidas tratando de representar toda el área de distribución de *Quercus elliptica* Neé (Fagaceae) en México y Honduras de acuerdo a la información obtenida de los registros de ubicaciones en los herbarios Pátzcuaro (IEB) y el Herbario Nacional (MEXU). En cada población ubicada se colectaron 10 hojas, de 10 individuos maduros, aunque en algunas poblaciones se colectaron un menor número de

hojas, las hojas fueron tomadas de la parte basal del árbol. En total se colectaron 338 individuos pertenecientes a 36 poblaciones. Para cada uno de los sitios de colecta se registraron la latitud, la longitud, la altitud, el tipo de vegetación y las especies asociadas. El número total de hojas fueron almacenadas en un ultracongelador a -60°C , para su posterior procesamiento en la extracción de ADN.

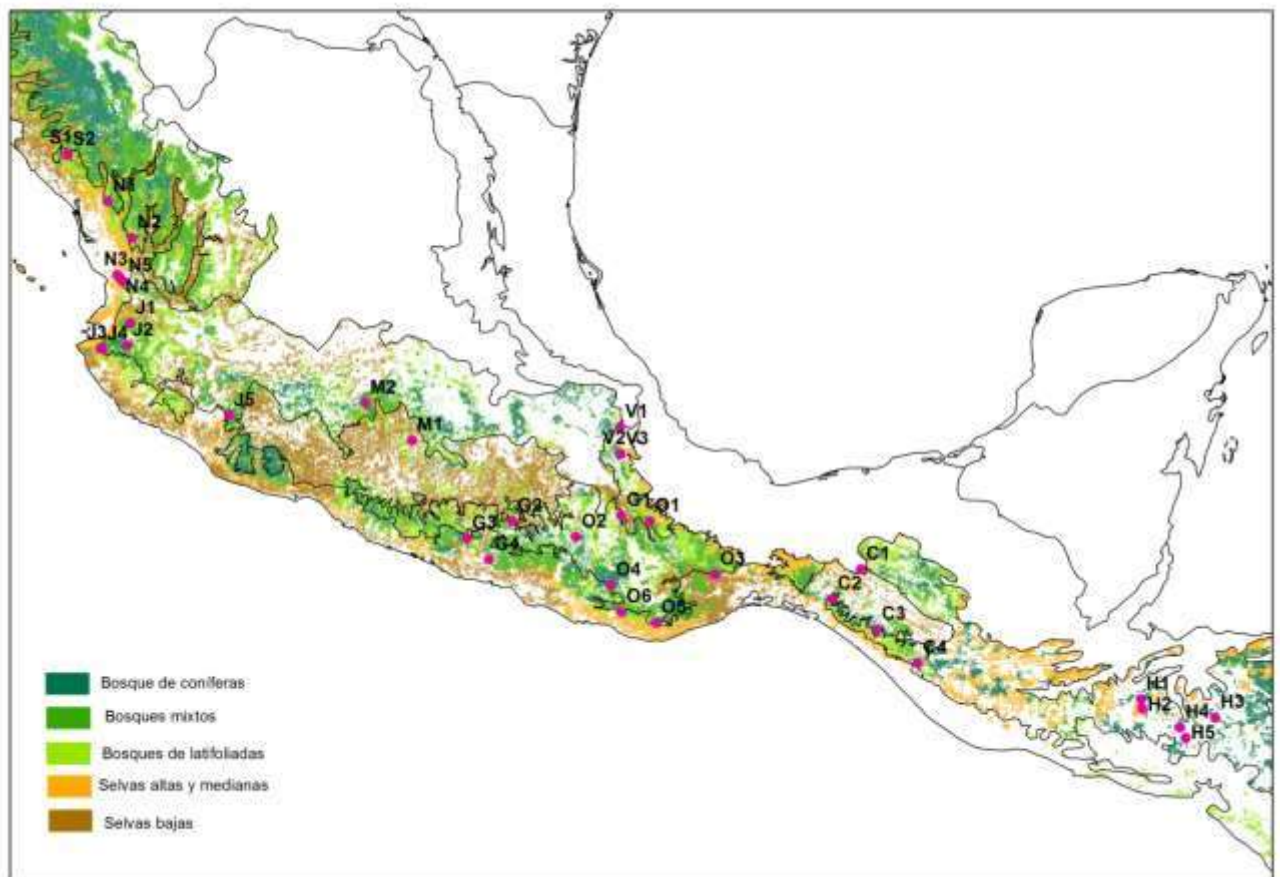


Figura. 6 Distribución de los sitios de muestreo en todo el rango de distribución de *Q. elliptica*.

Especie de estudio

***Quercus elliptica* Neé**, es un encino que pertenece a la sección Lobatae (encinos rojos), de amplia distribución en México y América Central y en un amplio rango

altitudinal desde 500 hasta 3500 m (Valencia 2004) (Anexo 1 y Fig. 6). Sus poblaciones se establecen en bosques de pino-encino, bosques mesófilos de montaña y bosques caducifolios (Romero-Rangel *et al.*, 2002). Este encino alcanza una altura de aproximadamente 20 m con un diámetro de alrededor de 60 cm. *Q. elliptica* presenta hojas con márgenes enteros, con una gran cantidad de venas secundaria, posee hojas sésiles y tricomas fasciculados con 5 a 7 rayos, a veces con tricomas estrellados en la vena media (González-Rivera y Romero-Rangel, 2007).

Extracción de ADN

Se extrajo el ADN total de cada individuo siguiendo el protocolo de extracción diseñado por Lefort y Douglas (1999). La cantidad de ADN se visualizó en geles de agarosa al 1.8%. La calidad se midió con el equipo Nanodrop ND 2000. La pureza del ADN genómico se obtuvo por medio de un análisis de absorbancia en dos longitudes de onda.

Estandarización y amplificación de microsatélites

Se utilizaron para el análisis 9 microsatélites nucleares desarrollados por Aldrich *et al.* (2002) [quru-GA-IF02, quru-GA-2F05, quru-0C08, quru-GA-0C06, quru-GA-OM07], y por Steinkellner *et al.* (1999) [ssrQpZAG 110, ssrQpZAG119, ssrQpZAG39, ssrQpZAG96], para *Q. petrea*. Se incluyeron 6 marcadores de cloroplasto UKK2 y UKK4 diseñados por Deguillox *et al* (2003), UCD6, Cmcs12 y Cp2. Para la amplificación por medio de la técnica de PCR se realizó en un

volumen final de 5 µl que contenía por reacción: 2.5 µl de Multiplex Quiagen 2.5 µl, .5 µl de H₂O des ionizada, estéril, 1 µl de ADN, 1 µl de mix. La amplificación se realizó en un Termociclador Gene Amp PCR System 9700 y el programa de PCR, tanto para marcadores de núcleo y de cloroplasto consistió en: 94° C, durante 3 min, 94°C 10 seg (desnaturalización), 57°C 10 seg para marcadores de núcleo y 55°C para marcadores de cloroplasto (alineamiento), 72 °C por 10 seg. (Extensión) por 30 ciclos y una extensión final a 72°C por 3 min. Finalmente, los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1.2% a 110V durante 30 min, posteriormente fueron observados mediante un equipo ChemiDoc XRS+ de Bio-Rad. Las reacciones de PCR fueron amplificadas en un secuenciador Thermofisher 3500xl ABI 3500XL Hitachi. Se obtuvieron electroferogramas, identificándose cada una de los marcadores mediante el uso del programa GenMarker de Applied Biosystems. Posteriormente se identificaron los genotipos y haplotipos de cada uno de los individuos, construyéndose una matriz de datos para el análisis estadístico.

Diversidad y estructura genética

Se asignaron como haplotipos a cada combinación diferente de los tamaños de las variaciones en los seis loci utilizados. Con estos datos se estimó la diversidad genética de Nei (1987). La estructura genética de las poblaciones y el análisis de varianza molecular (AMOVA) fueron obtenidos mediante el software Arlequin 3.1 (Excoffier *et al*, 2005).

La red de haplotipos se generó con el programa Network (Hunson 1998)

Mediante el programa ARLEQUIN v.3.5.1 (Excoffier *et al.* 2005), se determinaron los parámetros de diversidad genética, heterocigosis observada (H_o), heterocigosis esperada (H_e) y heterocigosis de todos los sitios de colecta (H_t). Para determinar si existía desequilibrio de ligamiento entre todos los loci se utilizó el programa GenePop-web (Rousset, 2008)

Número de alelos

Se identificó la cantidad de alelos observados totales (AT) por sitio de muestreo y por locus, se calculó el número promedio de alelos por locus (Ae) y se cuantificó los alelos exclusivos (E) con el programa Gen Alex. Adicionalmente se calculó en el programa Structure v.2. (Pritchard *et al* 2000) la probabilidad de los genotipos a diferentes grupos (K) usando datos de los diferentes loci. Se utilizó el modelo de ancestría Admixture y mediante la función LOCPRIOR la cual apoya parcialmente al agrupamiento cuando la señal de estructura es relativamente débil. Se usó el modelo de frecuencia alélica correlacionada y se corrieron 10 cadenas para cada K. El burnin fue de 50000 y el número de réplicas de cadenas de Markov (MCMC) después del burn-in de 100000. Para determinar el valor de K se calculó el estadístico ΔK , el cual se basa en la tasa de cambio de probabilidad logarítmica de los datos entre los valores sucesivos de K (Evannobi *et al.* 2005).

Diversidad genética

Se estimó la heterocigosis observada (H_o) por medio de la cuantificación directa de individuos heterocigos dividida entre el total de individuos analizados y

se calculó por locus, por sitio de muestreo y en total de todos los sitios. Por otro lado, se estimó la diversidad genética que es equivalente a la heterocigosis esperada (H_e) y se evaluó a partir de la sumatoria de las frecuencias obtenidas para cada uno de los alelos bajo la suposición de estar en equilibrio Hardy-Weimberg, estos índices fueron calculados por el programa Arlequin (Excoffer *et al.* 2005). Se sabe que mientras mayor sea el índice, indica un mayor número de alelos en frecuencias más similares (Nei, 1978).

Estructura genética

Por medio de los estadísticos de F de Wright (1951), incluyendo el índice de fijación o endogamia de los individuos con respecto a las población (F_{IT}), el índice de fijación o endogamia de los individuos dentro de cada una de las poblaciones (F_{IS}) y el índice de endogamia de los individuos que ocurren entre las poblaciones (F_{ST}), y que es un parámetro de diferenciación poblacional y número de migrantes. Estos estadísticos se obtuvieron con el programa ARLEQUIN 3.5.1.2 (Excoffier *et al.* 2005).

Barreras entre poblaciones

Para la construcción de barreras entre poblaciones o individuos se utilizó el programa BARRIER (Manni *et al.* 2004), el cual se basa en el método del triángulo de Delaunay, y determina si existe conectividad entre poblaciones o individuos. La construcción de las barreras es mediante distancias mayores entre nodos de la red.

Existencia de cuellos de botella

Mediante el programa BOTTLENECK (Cournuet y Luikar, 1996) se determinó si existía un exceso de heterocigotos (Piry *et al.*, 1999). Para evaluar la heterocigosidad esperada bajo el equilibrio deriva-mutación, se estimaron con el modelo de mutación de dos fases (TPM two phase mutation model) como lo indica Curnuet y Luikart (1996). El porcentaje de mutaciones paso a paso se estimó en 90% y la varianza a 30. En la prueba de Wicoxon se evaluó la significancia con 10 000 repeticiones. Posteriormente fueron las pruebas de k y g , las cuales detectan señales de expansión en las poblaciones ancestrales (Reich y Goldstein 1998, Bilgin 2007). Si hay valores negativos de k en cada locus indicará expansión de las poblaciones, la significancia de la proporción de valores positivos de k , está basado en una distribución binomial con k la probabilidad de una k positiva establecida a 0.515 (Reich *et al.* 1999) el valor significativo de g se verificó en Reich *et al.* (1999). El ajuste de valor de p ($p=0.05$) se realizó mediante la prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples.

Haplotipos

Mediante el programa HaplotypeAnalysis_1.05 (Eliades, 2009) Se generaron las matrices de haplotipos. Se asignaron como haplotipos a cada combinación diferente de los tamaños de las variaciones en los seis loci utilizados. Con estos datos se estimó la diversidad genética de Nei (1987). La estructura genética de las poblaciones y el análisis de varianza molecular (AMOVA) fueron

obtenidos mediante el software Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.* 2005). Posteriormente con el programa NETWORK ver 2.2.0.0 (Polzin y Daneschmand, 2003) se creó la red de háplotipos.

Modelos de nicho ecológico (MNE)

Maya-García *et al.* (en prensa) identificaron seis variables climáticas de World Clim (Hijmans *et al.* 2005; <http://www.worldclim.org/>), no correlacionadas, que explican la variación ambiental de la especie, las cuales fueron utilizadas en este estudio para generar un modelo climático para *Q. elliptica* que pudiera proyectarse a diferentes escenarios pasados. Las variables utilizadas fueron temperatura media anual (BIO01), estacionalidad de la temperatura (BIO04), temperatura promedio en la estación fría (BIO11), precipitación anual (BIO12), estacionalidad de la precipitación (BIO15) y precipitación de la estación seca (BIO17).

Para realizar el proceso de modelación, de las 36 poblaciones incluidas en este estudio se seleccionaron al azar 10 subconjuntos, cada uno de ellos conformado por el 60% de las localidades (22 poblaciones). Con el software MaxEnt (Phillips y Didik 2008) se obtuvo un modelo de nicho ecológico (MNE) para cada uno de los subconjuntos (considerados como réplicas) usando un umbral de convergencia por default y un número máximo de iteraciones de 1000. Los MNE obtenidos fueron binarizados considerando el siguiente procedimiento: para cada subconjunto se identificaron los valores mínimos y máximos asociados

al mapa de probabilidades que arroja MaxEnt, estos valores se consideran como límites para binarizar la presencia de la especie.

La validación de los modelos se realizó mediante el índice de concordancia (Tabla 7) kappa (Cohen, 1960), la cual es definida por $k: (Po - Pe) / (1 - Pe)$; en donde $Po = [(a+d)/n]$ representa la proporción de adecuación observada de los datos; $Pe = [(((a + b) \times (a + c)) + ((c + d) \times (b + d))) / n^2]$ representa la proporción de adecuación esperada de los datos, considerando que:

Tabla7. Índice de concordancia Kappa

	Presencia confirmada	Ausencia confirmada
Presencia predicha en el modelo	a	b
Ausencia predicha en el modelo	c	d

La omisión de cada modelo (*c*) es el número de localidades que no predice el modelo de cada réplica, para ello se utilizó el 40% (14 poblaciones) de los registros que no fueron utilizados en cada subconjunto de datos. Para estimar la comisión, se generó un archivo con 40 localidades donde se registraron ausencias confirmadas de la especie. La concordancia es moderada cuando kappa se encuentra entre 0.41 – 0.60; es sustancial con valores de 0.61 – 0.80, y se considera idónea cuando tienes valores > 0.81.

Nosotros seleccionamos a los tres MNE con el índice kappa más altos como el mejor subconjunto de modelos que fueron utilizados posteriormente para el proceso de proyección a escenarios climáticos pasados y para una prueba de *jackknife* para identificar las variables de mayor importancia para la generación de los MNE. La modelación al pasado se realizó para el Holoceno Medio (HM, hace 6000 años), el Último Máximo Glaciar (UMG, hace 22,000 años) y el Último Máximo Interglaciar (UMI, hace 120,000 a 140,000 años). Se utilizaron las capas climáticas de World Clim para la proyección de MNE al pasado. En el caso del HM y UMG se utilizaron tres escenarios disponibles: CCSM4, MIROC-ESM, Y MPI-ESM-P. Para el caso de UMI se utilizó el escenario generado por Otto-Bliesner *et al.* (2008). El área de intersección entre las tres réplicas con el índice kappa más alto fue considerada el área de distribución de la especie tanto en la actualidad como en todos los escenarios pasados: tres para HM y UMG y uno para UMI.

Resultados

Desequilibrio de ligamiento. Los resultados obtenidos con esta prueba muestran que no hay desequilibrio de ligamiento para las poblaciones de estudio tras realizar un ajuste secuencial de Bonferroni ($p < 0.005$), en las comparaciones pareadas entre los loci. Al realizar el análisis de equilibrio de H-W, y aplicar la corrección de Bonferroni las poblaciones incluidas en este estudio estuvieron en equilibrio H-W.

Los 9 loci utilizados en este trabajo fueron polimórficos para *Quercus elliptica*, el análisis de los microsatelites de núcleo en las 36 poblaciones (347 individuos)

permitió identificar un total de $N_a = 286$ alelos, y un promedio de $A_o = 38.8 \pm 0.83$ de alelos observados. El número de alelos exclusivos ($N_e = 6.8 \pm 0.68$) se registró para la población M2 (Michoacán) y el más bajo ($N_e = 4.2 \pm 0.52$) para la población G3 (Guerrero) (Tabla 8).

Tabla 8. Parámetros genéticos para las distintas poblaciones incluidas en este estudio, número de alelos (A), número de alelos efectivos (Ne), Índice de información de Shannon (I), heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada (He), heterocigosidad esperada imparcial (uHe), índice de fijación F, para todas las poblaciones.

Población	A	N_a	N_e	I	H_o	H_e	uHe	F
S1	10±.00	8.5±0.95	6.2±1.02	1.8±.15	.9338±.05	.8395±.12	.839±.04	-0.181±.06
S2	9.7±.14	7.2±.79	5.4±.66	1.7±.13	.9444±.072	.8326±.093	.833±.03	-0.216±.07
N1	9.4±.37	7.1±.71	5.3±.55	1.7±.12	.8888±.092	.8315±.107	.832±.03	-0.147±.06
N2	9.7±.22	7.5±.86	5.4±.67	1.7±.14	.8833±.173	.8230±.127	.823±.04	-0.126±.02
N3	10±.00	7.7±.46	5.8±.47	1.8±.07	.9111±.126	.8614±.054	.861±.01	-0.11±.05
N4	9.7±.22	9.1±1.1	6.7±1.0	1.9±.14	.9111±.105	.8652±.0801	.865±.02	-0.11±.04
N5	9.2±.36	7.8±.85	5.8±.74	1.8±.14	.9296±.120	.8408±.127	.843±.04	-0.178±.03
J1	9.6±.16	8.5±1.2	6.4±1.2	1.8±.06	.9197±.097	.8445±.098	.845±.03	-0.159±.05
J4	9.2±.14	7.6±.44	5.2±.45	1.8±.06	.8555±.152	.8470±.431	.847±.01	-0.07±.07
J3	9.4±.17	7.7±.90	5.2±.74	1.7±.13	.8567±.110	.8207±.093	.821±.03	-0.11±.06
J2	8.7±.22	8.0±.68	5.2±.42	1.8±.08	.9395±.079	.8500±.046	.850±.01	-0.17±.03

G6	9.4±.37	8.2±.90	5.8±.93	1.8±.14	.8523±.140	.8366±.097	.837±.03	-0.08±.06
J7	9.2±.22	7.1±.48	5.2±.46	1.7±.08	.9209±.130	.8368±.075	.841±.02	-0.16±.05
G4	9.7±.14	8.7±.99	6.1±.85	1.9±.13	.8506±.09	.85532±.07	.853±.02	-0.05±.04
O4	8.0±.28	8.5±.80	6.0±.87	1.8±.12	.8968±.12	.8591±.08	.859±.02	-0.11±.04
O6	9.8±.11	9.3±.94	7.0±1.0	2.0±.13	.7864±.15	.8717±.09	.872±.03	0.04±.06
O5	8.7±.14	8.0±.74	5.8±.57	1.8±.09	.8086±.19	.8646±.06	.865±.02	.012±.07
G3	3.7±.14	5.0±.47	4.2±.52	1.4±.10	.9074±.140	.8502±.160	.850±.03	-0.252±.08
O1	9.7±.14	8.1±.63	5.4±.53	1.8±.10	.8037±.154	.8407±.083	.841±.02	-0.03±.03
O2	9.6±.16	8.5±.95	6.3±.75	1.9±.12	.8518±.089	.8686±.071	.869±.02	-0.03±.03
G5	8.6±.37	7.7±.77	5.7±.67	1.8±.13	.8039±.14	.8452±.10	.845±.03	-0.02±.07
C7	9.5±.24	7.8±.63	5.7±.62	1.8±.10	.8654±.14	.8540±.06	.854±.02	-0.07±.06
O3	9.2±.32	7.6±.95	5.3±.64	1.7±.13	.9185±.16	.8342±.09	.834±.03	-0.018±.08
M2	9.2±.36	9.2±.52	6.8±.68	2.0±.08	.7623±.150	.8881±0.064	.889±.02	0.00±.08
V2	9.7±.14	7.0±.76	4.8±.79	1.6±.14	.8654±.193	.7796±0.148	.780±.04	-0.18±.07
C2	8.6±.37	8.5±.70	6.2±.69	1.8±.10	.8645±.13	.8761±.06	.870±.02	-0.06±.04
C5	9.2±.57	8.2±1.2	6.2±.1.0	1.8±.18	.8972±.08	.8325±.14	.833±.04	-0.18±.07
H2	7.1±.65	8.0±.86	5.8±.79	1.8±.14	.8591±.15	.8713±.07	.871±.02	-.080±.06
V1	9.6±.23	7.3±.66	5.2±.55	1.7±.11	.9268±.111	.8310±0.89	.831±.03	-0.18±.06
M1	9.7±.14	8.8±1.0	6.7±1.0	1.9±.16	.8827±.139	.8534±0.117	.853±.03	-0.09±.04
V3	9.5±.24	8.1±.85	5.9±.70	1.8±.13	.8932±.137	.8450±0.119	.845±.04	-0.13±.06
C6	9.8±.11	7.3±.52	4.7±.58	1.6±.10	.8666±.15	.8012±.09	.801±.03	-0.14±.07
H1	9.4±.24	7.8±.85	5.6±.67	1.8±.11	.9197±.06	.8462±.08	.846±.02	-0.16±.05
H3	9.2±.22	6.6±.50	4.8±.47	1.6±.09	.8567±.10	.8157±.08	.816±.02	-0.12±.06
H4	6.2±.22	5.8±.85	5.0±.79	1.5±.16	.9656±.06	.8197±.13	.820±.04	-0.31±.07

H5	9.8±.11	6.7±.72	4.3±.53	1.5±.14	.8876±.11	.7756±.12	.776±.04	-0.24±.10
----	---------	---------	---------	---------	-----------	-----------	----------	-----------

Diversidad genética

El promedio de heterocigosis observada (H_o) para todas las poblaciones de *Q. elliptica* fue de $H_o=0.838 \pm 0.0126$ y el promedio de heterocigosis esperada fue de $H_e= 0.799 \pm 0.005$; en general los valores fueron altos para todas las localidades de estudios. El sitio H4 (Honduras) fue el que presentó el mayor valor de $H_o= .9656 \pm .06$ y el valor más bajo en la población M2 (Michoacán) ($H_o= 0.7623 \pm 0.50$). La población C2 (Chiapas) fue la que mostró la mayor diversidad genética ($H_e= 0.8761 \pm 0.06$) en comparación con la población O1 (Oaxaca) que obtuvo el valor más bajo ($H_e= 0.8407 \pm .083$). Se observa que para las poblaciones O6, O5 (Oaxaca) y M2 $F= 0.04 \pm 0.06$, 0.012 ± 0.07 y 0.00 ± 0.08 , respectivamente, presentaron una deficiencia de heterocigotos (Tabla. 8). Por otra parte, la mayoría de las poblaciones se encuentran en Equilibrio de Hardy Weinberg, salvo las poblaciones G5 (Guerrero) y O6 (Oaxaca) después de aplicar la prueba de Bonferroni.

Estructura genética (Asignación bayesiana)

El análisis de asignación Bayesiana mostró la existencia de tres grupos genéticos $K=3$, mediante el programa STRUCTURE, (Prichard, 2000) representados por los diferentes colores, el color azul agrupa poblaciones ubicadas en la zona del Pacífico (Sinaloa, Nayarit y Jalisco), el color rojo agrupa

poblaciones del Pacífico (Jalisco, Guerrero, y Oaxaca), mientras que el color verde agrupó localidades de Michoacán, Estado de México, Veracruz, Oaxaca, Chiapas y Honduras (Fig. 7),

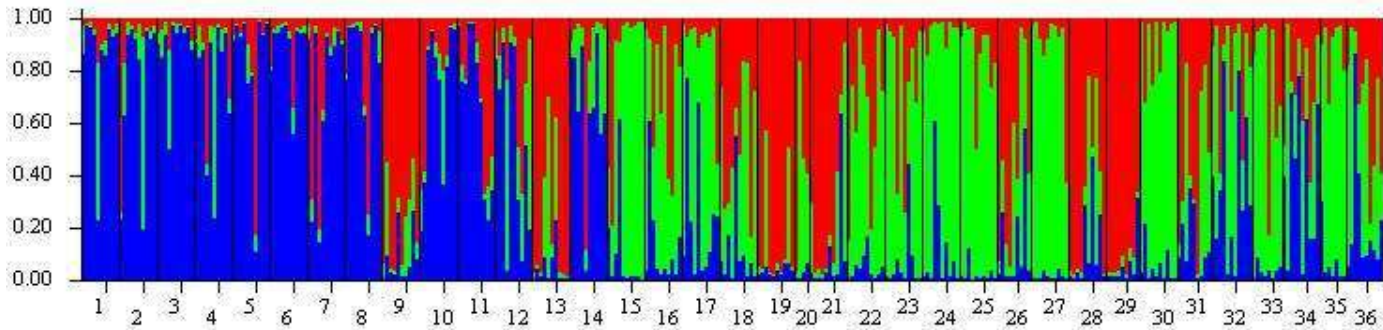


Figura 7. Resultados del análisis de asignación bayesiana mediante el programa STRUCTURE para tres grupos genéticos, cada una de las barras delgadas representa a un individuo, el color indicar la proporción de ancestría derivada de cada uno de los tres grupos genéticos. Las 36 poblaciones están separadas por líneas negras.

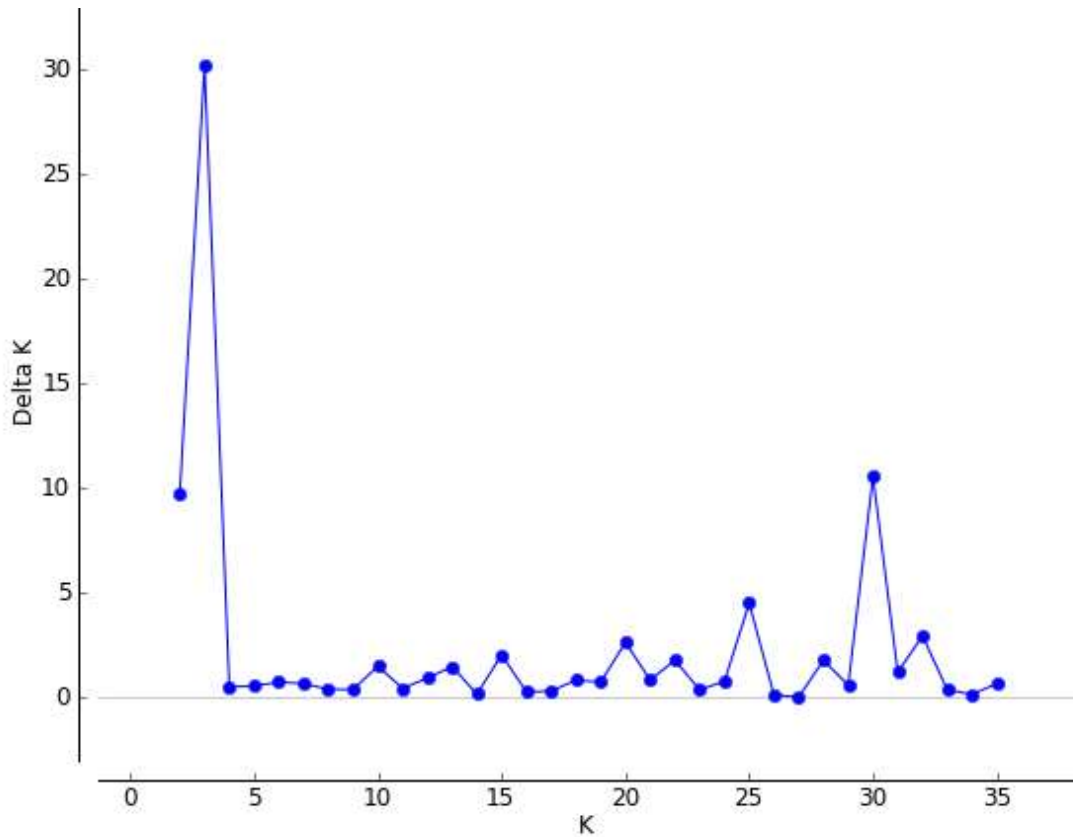


Figura 8. El pico con el valor máximo de ΔK corresponde a un valor de K con mayor probabilidad, en este caso el valor máximo $K=3$.

Barreras entre las poblaciones

Con los resultados obtenidos a partir de la inferencia bayesiana, las proporciones de ancestría para cada una de las poblaciones se plasmaron de manera espacial en todo el rango de distribución de la especie (Figura 9). Posteriormente y mediante el programa BARRIERS se determinaron ocho barreras genéticas en la distribución de *Q. elliptica*, todas con soporte de bootstrap superior al 50%. La barrera número 1 (100%), separa las poblaciones de Sinaloa (S1 y S2), ubicadas en la provincia Costa Pacífica Mexicana situadas al

sur de Sinaloa; aunque esta barrera presenta un alto bootstrap no resultó ser una barrera importante para el flujo de genes, se observa que hay flujo de genes con las poblaciones de Nayarit. La segunda barrera (II-92%) separa las poblaciones (V1, V2 y V3) ubicadas en la provincia biogeográfica Sierra Madre de Oaxaca, localizadas en el estado de Veracruz; la tercera barrera (III-86%) separa las poblaciones ubicadas en el estado Chiapas (C2, C3 y C4) ubicadas en la zona suroeste de la provincia Sierra Madre del Sur, y las poblaciones pertenecientes a Honduras (H1, H2, H3, H4, y H5); la barrera IV (68%) agrupa las poblaciones de los estados de Nayarit (Ni, N2, N3, N4 y N5), Jalisco (J1, J2, J3 y J4) y Michoacán (M2) localizadas dentro de las provincias Costa Pacífica Mexicana y la Faja Volcánica Trans Mexicana; la quinta barrera (V- 70%) separa y aísla a la población O5 perteneciente al estado de Oaxaca, ubicada al sur de la provincia Costa del Pacífico Mexicana; la barrera VI (68%) agrupa poblaciones del Estado de México (M1), Guerrero (G1, G2, G3 y G4) y del estado de Oaxaca, ubicadas en las Provincias Faja Volcánica TransMexicana, Costa del Pacífico y Sierra Madre del Sur; la séptima barrera (VII-63%) separa la población V2 del estado de Veracruz, perteneciente a la provincia biogeográfica del Golfo de México, y finalmente la barrera VIII (50%), Istmo de Tehuantepec separa las poblaciones ubicadas en el estado de Chiapas y Honduras del resto de las localidades, pero no representa ser una barrera fuerte ya que se detectó flujo génico entre el resto de las poblaciones ubicadas en los estados de Veracruz, parte de Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Jalisco, Nayarit y Sinaloa (Fig 9.).

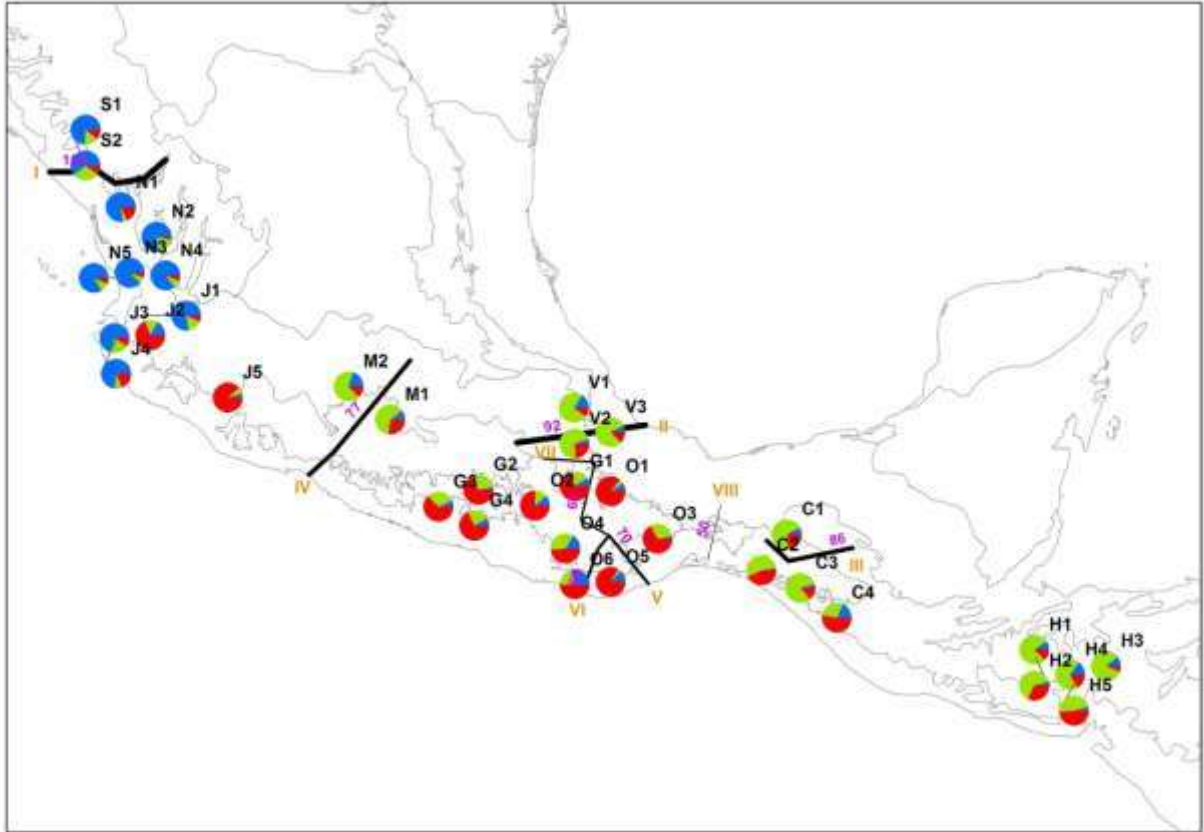


Figura 9. Mapa de la distribución espacial de los grupos genéticos obtenidos a partir del análisis de inferencia bayesiana. La proporción de color en cada círculo representa los grupos genéticos y las líneas negras las barreras

AMOVA

El análisis de varianza molecular (AMOVA) indicó que el mayor porcentaje de variación se encuentra dentro de las poblaciones con un porcentaje del 94.27%, entre poblaciones dentro de grupos solo un 4.70%, mientras que entre grupos solo el 1.01% de la variación fue observada. (Tabla 9)

Tabla 9. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de la estructura genética poblacional de *Q. elliptica*.

Fuente de variación	d. f.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre Grupos	2	32.369	0.040 Va	1.01
Entre Poblaciones	33	237.81	0.189 Vb	4.70
Dentro de grupos				
Dentro de Poblaciones	656	2343.64	3.786	94.27
Total	691	2613.83	4.01	

El índice de diferenciación poblacional mostró un valor relativamente bajo

$F_{st}=0.048$.

Tabla 10. Índices de diferenciación genética y número de migrantes para *Q. elliptica*.

F-Statistics	Value	P(rand>data)
F_{st}	0.048	0.001
F_{is}	-0.023	0.815
F_{it}	0.027	0.130
N_m	4.93	

Marcadores de cloroplasto

El análisis de los 6 marcadores de cloroplasto en las 36 poblaciones permitió identificar un total de 63 haplotipos de los cuales 10 son los compartidos entre las poblaciones: H22, H6, H8, H49, H52, H36, H33, H16, H31 y H18, fueron los de mayor frecuencia, 19 fueron haplotipos únicos y 34 se encuentran en toda la distribución de la especie y tienen diferentes frecuencias (Fig.10 y 11).

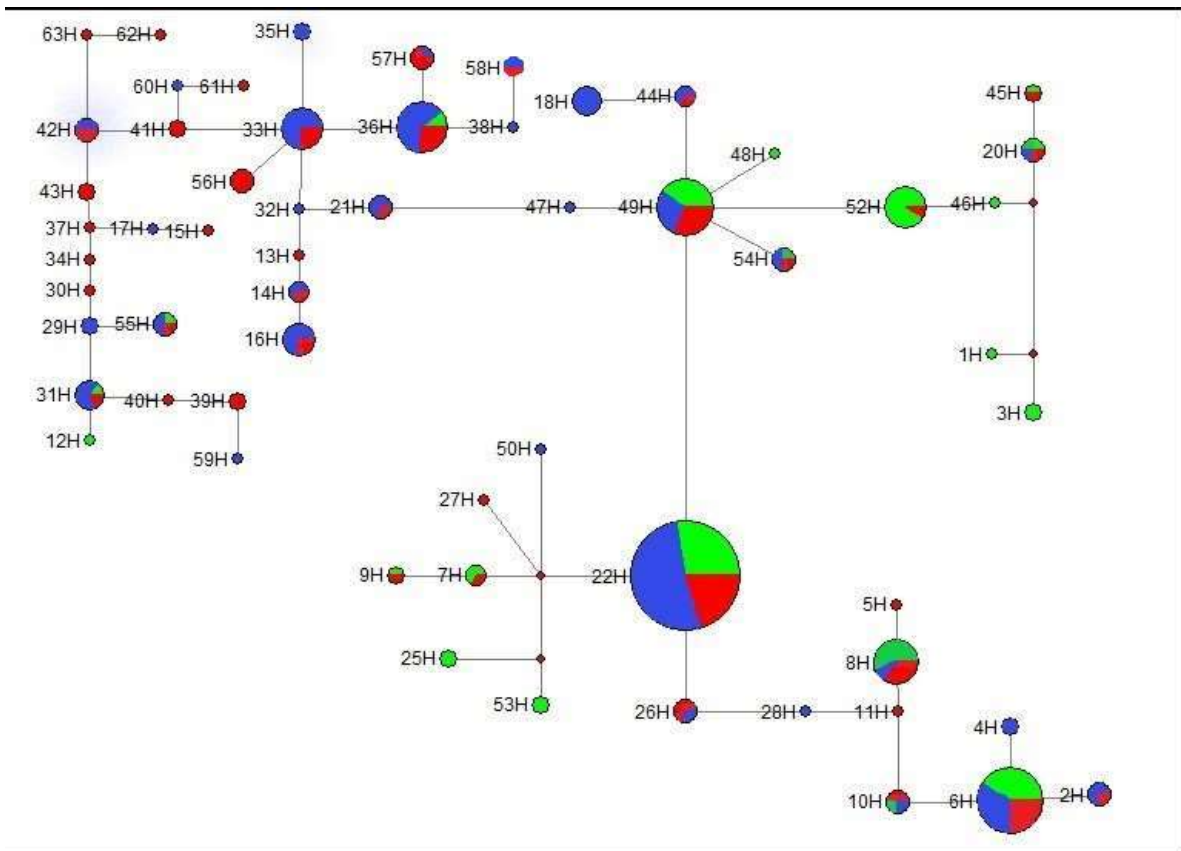


Figura10. Red de haplotipos inferida con los marcadores de cloroplasto de 347 individuos de *Q. elliptica*. El área de cada círculo es proporcional a la frecuencia de haplotipos encontrados con este haplotipo. Los colores de los círculos

representan la proporción de cada grupo genético reportado con el análisis de Structure. Los círculos pequeños rojos representan los pasos mutacionales.

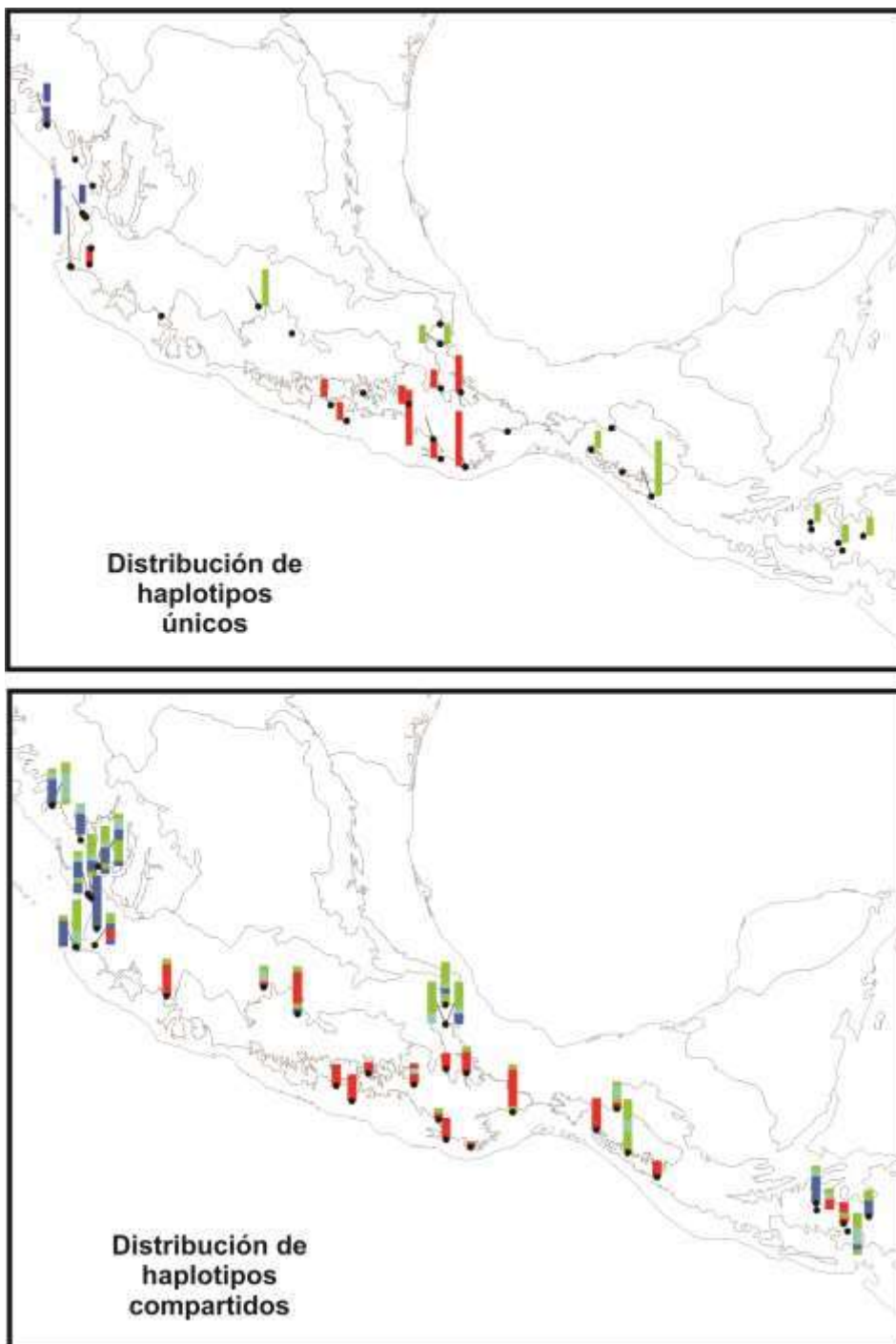


Figura 11. Distribución de haplotipos únicos y haplotipos compartidos en toda la distribución de la especie

Parámetros genéticos para marcadores de cloroplasto.

El índice de diversidad genética en general fue alta con un rango de ($H_e=0.533$ el valor más bajo y de 1.00 el valor más alto en dos poblaciones). Las poblaciones O3, O4, (Oaxaca) y C7 (Chiapas). El promedio de haplotipos detectado por población fue de $A=5.66$, mientras que el promedio de número de haplotipos privados fue de $P=0.77$, destacan las poblaciones O4 (Oaxaca), C2 (Chiapas), y H3 (Honduras) con el mayor número de haplotipos efectivos (N_e), con 8, 9 y 10, la mayor riqueza haplotípica ($R_h=3$); para las poblaciones J4 (Jalisco), M1 (Estado de México) y G3 (Guerrero) se registraron los valores más bajos ($N_e=2.38$). Las poblaciones J4 y J1 (Jalisco), M1 (Estado de México), O5 (Oaxaca), V2 (Veracruz) y C2 (Chiapas), fueron las que registraron menor riqueza haplotipos (R_h), 1.4, 1.5, 1.5, 1.5, 1.4 y 1.5 respectivamente.

El promedio de haplotipos detectado por población fue de $A=5.66$, mientras que el promedio de número de haplotipos privados fue de $P=0.77$, destacan las poblaciones O4 (Oaxaca), C2 (Chiapas) y H3 (Honduras), con el mayor número de haplotipos efectivos (N_e), con 8, 9 y 10, respectivamente.

Tabla 11. Número de individuos en cada población (N), número de haplotipos detectados en cada población (A), número de haplotipos privados (P), número efectivo de haplotipos

(Ne), riqueza de haplotipos (Rh), diversidad genética (He), distancia media entre individuos (D^{2sh}).

Population	N	A	P	N_e	R_h	H_e	D²sh
S1	10	5	1	3.13	1.84	0.76	1.24
S2	10	7	1	5.56	2.50	0.91	3.08
N1	10	8	0	7.14	2.73	0.96	2.92
N2	10	5	0	3.85	2.06	0.82	0.73
N3	10	8	1	6.25	2.63	0.93	1.60
N4	10	6	0	4.55	2.27	0.87	1.20
N5	10	6	0	4.17	2.20	0.84	1.66
J1	10	3	0	2.94	1.60	0.73	0.61
J2	9	7	1	6.23	2.67	0.94	11.18
J3	10	7	3	6.25	2.60	0.93	4.24
J4	10	4	0	2.38	1.46	0.64	0.98
M1	10	6	2	5.00	2.37	0.89	2.61
J7	9	6	0	4.76	2.38	0.89	5.08
V1	10	6	0	4.17	2.20	0.84	1.00
M2	10	5	0	2.50	1.60	0.67	11.53
V2	10	4	1	2.38	1.46	0.64	1.14
V3	9	4	1	2.61	1.60	0.69	0.40
G6	10	7	1	5.56	2.50	0.91	8.86
O1	10	8	2	7.14	2.73	0.96	4.91
G3	4	3	0	2.67	2.00	0.83	3.64
O2	9	5	1	3.52	2.02	0.81	4.94
G5	9	7	1	6.23	2.67	0.94	13.31
O6	10	7	1	6.25	2.60	0.93	6.55
C2	8	6	0	5.33	2.57	0.93	12.71
O3	10	4	0	1.92	1.20	0.53	9.51
O4	8	8	3	8.00	3.00	1.00	10.90
C5	10	5	1	2.50	1.60	0.67	3.50
O6	10	8	1	7.14	2.73	0.96	15.20
O5	9	7	3	6.23	2.67	0.94	4.57
C6	10	3	0	2.78	1.52	0.71	0.44
C7	9	9	3	9.00	3.00	1.00	12.41
H1	10	7	1	5.56	2.50	0.91	1.48
H2	8	6	0	5.33	2.57	0.93	6.23
H3	10	8	1	7.14	2.73	0.96	1.59
H4	7	6	1	5.44	2.71	0.95	9.94
H5	11	7	0	5.26	2.39	0.89	3.25
Mean	9.42	6.06	0.86	4.91	2.27	0.85	5.14

AMOVA para marcadores de cloroplasto

El análisis de varianza molecular (AMOVA) mostró que el mayor porcentaje de la variación se encuentra dentro de las poblaciones con 74.87%, mientras que entre las poblaciones el porcentaje de variación es más bajo con 25.13%, siendo estadísticamente significativos.

Tabla12. Análisis de varianza con los seis marcadores de cloroplasto en toda el área de distribución de *Q. elliptica*.

Fuente de variación	d. f.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de Variación
Entre poblaciones	35	112.86	.2656 Va	25.13
Dentro de poblaciones	294	232.67	.7914 Vb	74.87
Total	329	345.53	1.05	

Modelos de nicho ecológico

Los valores kappa de las tres mejores réplicas para la especie estuvieron en un rango entre 0.7111 – 0.7894, por lo que se consideran con una concordancia considerable. Las variables de mayor importancia en los MNE fueron la estacionalidad tanto de la temperatura como de la precipitación, así como la temperatura en la estación fría. Estos modelos de distribución mostró que *Q. elliptica* se estable en zonas con clima cálido subhúmedo a semihúmedo se

caracteriza por su tolerancia a variaciones de temperatura durante la estacionalidad de la temperatura (13.1 °C- 28.1 °C) temperaturas bajas durante el trimestre más frío (1.2°C-19.4°C) precipitación mínima durante la estacionalidad de la precipitación (55-118 mm), rangos de precipitación en el trimestre más frío (9-194 mm). La intersección de todos los modelos de distribución con el modelo de elevación digital ráster mostró cambios rangos de distribución altitudinal entre los eventos del LGM y LIG, el modelo muestra que existen contracciones en el área de distribución de la especie (Fig. 11). En el modelo predictivo muestra que las poblaciones ubicadas en la provincia Costa del Pacifico muestran zonas potenciales durante el LGM, se predicen distribuciones potenciales parecidas a las actuales, no se observan severos cambios. No así para el área de la Faja Volcánica Transmexicana y la Sierra Madre del Sur, las cuales experimentaron una contracción importante en las poblaciones de Michoacán, Estado de México, norte de Oaxaca durante el LGM y el LIG, donde se predicen distribuciones potenciales en el pasado menores e incluso no se predicen zonas con un ambiente adecuado para su distribución durante esos periodos. En todos los escenarios pasados del UMG, el nicho de la especie se mantiene estable principalmente en la región noroeste de la distribución (Jalisco, Nayarit y Sinaloa) sitios en los que están presentes el mayor número de haplotipos compartidos, por lo que robustece la hipótesis de que la estabilidad climática de estas especies favoreció la conservación de haplotipos ancestrales. En el modelo para el caso de las expansiones del área de distribución, estas representan el número de pixeles resultantes en cada escenario cuya resolución geográfica es de 30 arco-segundo (aproximadamente un kilómetro cuadrado).

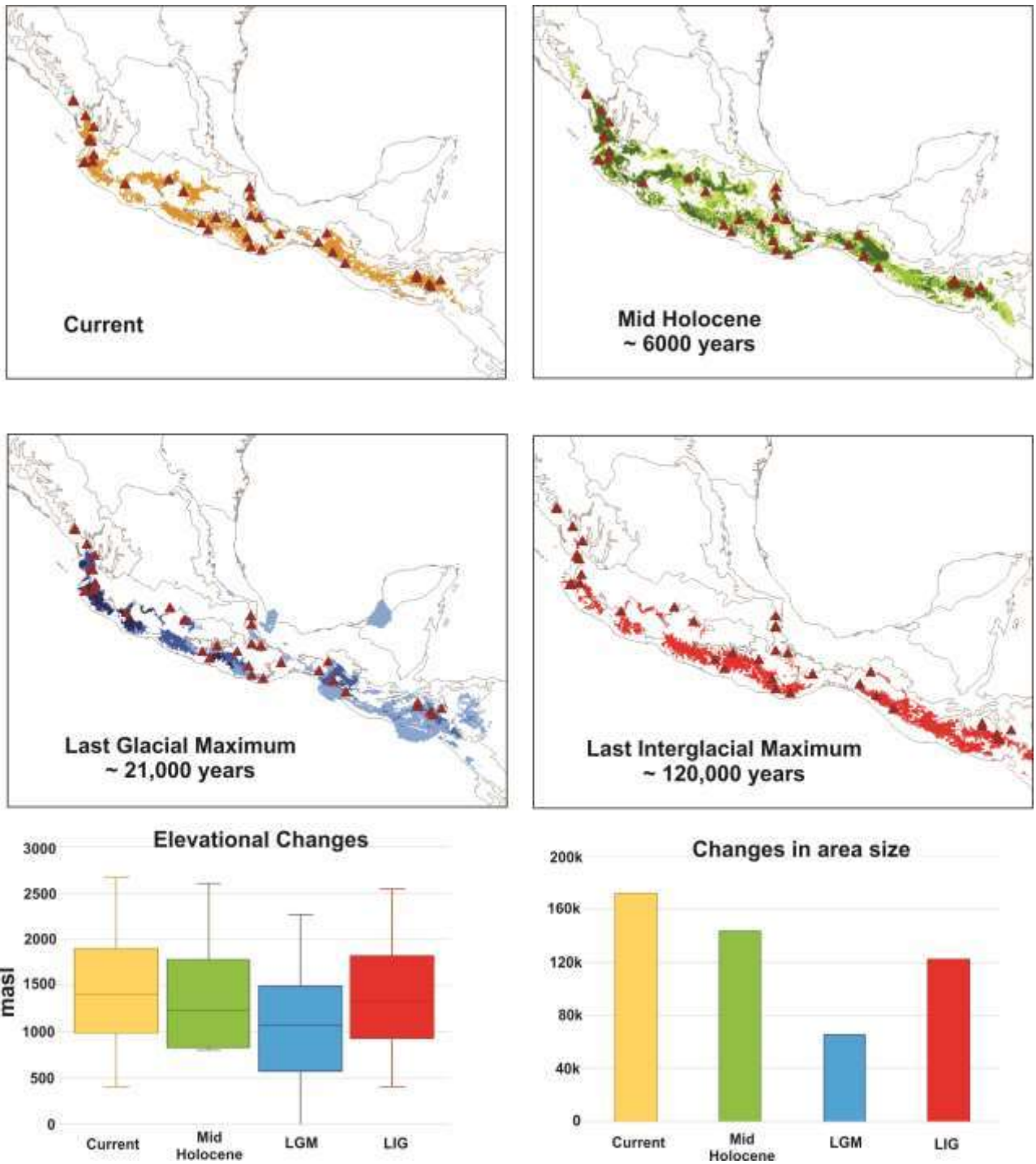


Fig. 12 Modelos de distribución de riqueza de haplotipos, actuales y durante el último máximo glacial y el inter glacial, obtenidos de 6 haplotipos compartidos entre *Q. elliptica*

Discusión

Los análisis obtenidos con marcadores de núcleo, cloroplasto y modelos de nicho ecológico, nos permiten entender los diferentes niveles de variación genética y tratar de de estructura genética, filogeográficos y de modelos de nicho ecológico, en este estudio analiza la distribución potencial en diferentes escenarios de *Q. elliptica*. Lo que nos permitirá conocer cómo se ha desarrollado la especie a lo largo de su distribución geográfica donde sus poblaciones se han establecido en una gran variedad de ecosistemas. La historia de vida de la especie junto con la evolución y los distintos factores ambientales y geográficos juegan un papel importante en el desarrollo, evolución y permanencia de sus poblaciones a lo largo de su distribución.

Diversidad genética

En este estudio encontramos una alta variabilidad en las diferentes poblaciones incluidas en este estudio ($N_a = 9.08 \pm 0.09$, $H_o = 0.94 \pm 0.02$, $H_e = 0.77 \pm 0.006$ y $N_m = 4.93$) en las diferentes poblaciones de estudio, que podría estar relacionada a la historia de vida de *Q. elliptica*, característica de especies de larga vida, polinización por viento, entrecruzamiento, grandes tamaños efectivos poblacionales y flujo génico extensivo entre poblaciones (Sork *et al.* 2002, Sork y Smouse 2006; Breed *et al.* 2012). Nuestros resultados coinciden con los obtenidos para varias especies de encinos mexicanos (Wehenkel *et al.* 2016) y contrariamente a los resultados obtenidos en trabajos realizados con encinos en Norteamérica y Europa (Fernández- Manjarrés & Sork, 2006; Craft & Ashley, 2010;

Aldrich & Cavender-Bares, 2011; Vranckx *et al.*, 2014; Ashley, *et al.* 2015), para *Q. crassifolia* (Gorgonio-Ramírez *et al.*, 2017) donde también se observan valores altos ($N_a=10.27\pm 0.66$, $H_o=0.720\pm 0.169$), para especies de amplia distribución como *Q. rubur* ($A_o=21.2$, $H_o=0.81$) (Cottrell *et al.*, 2003), *Q. petrea* ($N_o= 20.7$, $H_o=0.87$) (Curtu *et al.*, 2007) y contrariamente a los resultados obtenidos en trabajos realizados por Ainsworth *et al.* (2003) en la especie *Q. germinata* ($A_o=6.16$, $H_o=0.17$) encino de amplia distribución, valores bajos reportados para una especie con una distribución restringida *Q. macdougualli* ($A_o=8.6$ $H_o=0.040$) (Molina *et al.* 2010).

En este estudio encontramos el valor de flujo de génico es moderadamente alto nuestros resultados concuerdan con los resultados reportados en trabajos realizados por Alfonso-Corrado *et al.* (2004) y Foll *et al.* (2008), quienes sugieren que uno o pocos migrantes pueden aportar un nivel suficiente de diversidad génica, lo que posiblemente puede originar baja diferenciación genética entre poblaciones. Aunque por el contrario en la especie *Q. mulleri* los niveles de migrantes son altos, pero no existe estructura genética (Pingarroni *et al.* 2011). De manera general para las poblaciones de *Q. elliptica* los resultados de flujo génico muestran que existe un intercambio de alrededor de 4.93 migrantes por generación con lo que se logra minimizar la pérdida de polimorfismos y heterocigosidad por deriva génica (Cottrell *et al.* 2003) pero presenta una baja diferenciación genética ($F_{st}=0.042$). (Tabla 10) lo que sugiere que las poblaciones incluidas en este estudio son muy similares genéticamente. Estos resultados son concordantes con los encontrados para *Q. mulleri* ($F_{st}=0.014$) (Pingarroni 2011). Gorgonio-Ramírez *et al.* (2017). Encuentran un moderado flujo genético y baja

diferenciación genética ($F_{st}=0.07$), deficiencia de homocigotos y de endogamia, como resultado de posibles factores como tener un tamaño efectivo grande poblacional (Craft y Ashley, 2007), ser especies con un sistema de entrecruzamiento autoincompatible (Grivet *et al.* 2008) y al intercambio de genes entre las poblaciones debido al sistema de polinización anemófila en el género *Quercus* (Lien *et al.*, 2014) y posiblemente a la cercanía geográfica.

Endogamia

Los resultados obtenidos con el índice de fijación “F” de Wright (1953) mostró que la mayoría de las poblaciones no presentan niveles de endogamia mientras que las poblaciones O6 y O5 (Oaxaca) M2 (Michoacán) presentan cierto nivel de endogamia ($F= 0.04 \pm .06$, $0.00 \pm .08$ y 0.017 ± 0.096 , respectivamente). Mientras que en los trabajos reportados por Sork & Smouse; Craft & Ashley, 2010; Herrera-Arroyo *et al* (2013), para las especie *Q. candicans* y *Q. castanea*, mostraron valores de F_{is} significativamente positivos. Como se ha indicado en especies anemófilas polinizadas principalmente por entrecruzamiento, como ocurre con los encinos, la disminución de la densidad de árboles en una comunidad arbórea podría modificar la disposición de apareamiento, de forma que el número de donadores de polen podría disminuir y aumenta la distancia de polinización en parejas. (Sork, 2002; Bacles *et al.* 2004; Eckert *et al.* 2010; Breed *et al.* 2012; Frankham *et al.* 2013, Vranchy *et al.* 2014).

La complicada orografía y la heterogeneidad ambiental de las diferentes poblaciones de estudio, promueve la alta diversidad genética, así como también

los procesos de divergencia entre poblaciones de especies (Ferrusquía-Villafranca, 1993; García-Mendoza; 2004; Ortiz-Pérez *et al.* 2004). En general, encontramos alta variación genética en toda la distribución de *Q. elliptica*, distribuidas en cinco provincias biogeográficas, CPM (Costa Pacifica Mexicana) FVTM (Faja Volcánica Trans Mexicana), SMS (Sierra Madre del Sur), SMO (Sierra Madre de Oaxaca), Chi (Chiapas).

Barreras

Mediante el análisis obtenido con el programa Barriers, se encontraron ocho barreras genética en la distribución de la especie de estudio, la primer barrera separa las poblaciones de Sinaloa (Si y S2) Nayarit (N1, N2, N3, N4 y N5), y Jalisco (J3, J4 y J5) de las demás poblaciones ubicadas hacia el sur de México, es una franja angosta ubicada en la costa del Pacifico (Sinaloa, Nayarit, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas), esta barrera se caracteriza tener bosques húmedos y secos, sabanas y palmares (Dinerstein *et al.* 1995). Comprende desde el río Piaxtla hasta Chiapas, se distribuyen grupos de especies desde el norte de la provincia hasta el parte aguas de la Faja Volcánica Trans Mexicana, otros grupos recorren la costa y/o la depresión central de Chiapas, hasta el parte aguas de la FVTM. Existen varios tipos de climas, sobresaliendo los cálidos subhúmedos (74%), con promedios de precipitación entre los 500 y 1500 mm, con tipos de vegetación de selvas caducifolias (60%) y su transición hacia el bosque de encinos y pinos, dominado climas semicálidos y subhúmedos (Espinosa-Organista *et al.* 2008)

La Faja Volcánica Trans Mexicana (FVTM) está conformada por un sistema de volcanes, que se alinean alrededor del paralelo 19°N, cruzando el territorio de este a oeste originados a partir del Mioceno medio hasta el Plioceno. En la parte noroeste de la FVTM se separa la Sierra Madre Occidental por trayecto del Río Grande de Santiago. Otra importante característica es lo complejo tanto en origen como en ambiente, si bien están presentes casi todos los tipos de vegetación, destacan los bosques de coníferas (31%) y de encinos (28%). El resto del área se compone de pastizales, matorral subalpino, bosque mesófilo (en cañadas), vegetación ribereña, tierras urbanas y de cultivo, vegetación de climas áridos: (matorrales xerófilos) y subhúmedos selvas bajas caducifolias). (Espinosa-Organista *et al.* 2008). También dentro de esta provincia se localizan las poblaciones de Jalisco (J1, y J2) separa a las poblaciones de Michoacán (M1), y Estado de México (M2)

Provincia de la Sierra Madre del Sur. Formada por tres componentes: La Sierra de Coalcomán (Michoacán), las sierras guerrerenses y la sierras Mixteca y Mixe de Oaxaca, y como característica cada uno de los componentes exhibe especies propias. Conformada por bosques de coníferas (33%), de encinos (34%), bosques mesófilo de montaña (11%), selva baja caducifolia (16%) debida al contacto con las provincias del Pacífico y Balsas que la rodean por completo. (Espinosa-Organista *et al.*, 2008), dentro de esta provincia se localizaron las poblaciones de Guerrero (G1, G2, G3 y G4), las poblaciones de Oaxaca (O2, O3, O5 y O6). También en esta provincia se ubicaron las barreras III que separa las poblaciones del estado de Chiapas (C1, C2, C3 y C4).

El Istmo de Tehuantepec es considerado biológicamente como una de las áreas más importantes. Actúa como puente entre las vertientes del Pacífico de México y el Atlántico, característica solo compartida con el resto de Mesoamérica con la Depresión de Nicaragua y el Istmo Panameño, además de actuar como barrera biogeográfica para las para el conjunto de especies establecidas en zonas altas, impedidas de atravesar las tierras bajas (Wendt, 1989; Peterson *et al.* 1999). Otra característica importante es su ubicación privilegiada situada en la zona de contacto en los reinos biogeográficos Neotropical y Neoártico. Además de poseer un alto grado de endemismo (Lorence y García-Mendoza, 1989). Para el área del Istmo se han reportado temperaturas de alrededor de 25°C y promedio anual de precipitación de 1000 mm. Las lluvias presentan una marcada estacionalidad, se puede distinguir de manera fácil la estación seca de noviembre a abril y la estación lluviosa de mayo a octubre (Pérez-García *et al.* 2001).

Modelos de nicho ecológico

Al realizar los modelos de nicho ecológico (MNE), los resultados muestran que para las poblaciones de *Q. elliptica* en todo el rango de distribución con marcadores de ADNcp, existe una gran diversidad de haplotipos (63 haplotipos); con moderada a alta diversidad total ($ht=0.4280$); e intrapoblacional ($hs=0.3264$), para el complejo híbrido perteneciente a la sección *Lobata* formado por *Q. hypoleucoides*, *Q. sytophylla* y *Q. syderoxylla* también se reportan valores altos ($ht= 0.67- 0.708-0.695$ y $hs= 0.67-0.708- 0.695$, respectivamente) (Peñalosa-Ramírez *et al.* 2010), estos resultados coinciden con los reportados para

especies de encinos blancos en *Q. magnolifolia* y *Q. resinosa* se reportan 56-34 haplotipos y valores altos para $ht=0.98-0.97$ y $hs=0.67-0.63$ respectivamente (Albarrán-Lara *et al* 2010). Grivet *et al.* (2006) reportan menor cantidad de haplotipos fueron reportados para *Q. lobata* 30 haplotipos y valores altos para diversidad total ($ht= 0.979$), moderados para diversidad intrapoblacional ($hs=0.285$). Para encinos europeos Lumaret y Jabbour-Zahab (2009) reportan valores altos para *Q. suber* y *Q. ilex* ($ht=0.827-0.926$ y bajos para $hs=0.043-0.034$ respectivamente). Estos resultados reportados para especies mexicanas podrían ser consecuencia de los efectos que hubo en durante las glaciaciones en el pleistoceno Tardío y el holoceno, lo que ocasionó cambios climáticos de forma importante de acuerdo a los registros paleo climáticos (Metcalf *et al.* 2000) ocasionando que algunas especies se contrajeran en algunas zonas caracterizadas como refugios (González-Rodríguez *et al.* 2004), para especies que hibridan también esto podría explicar como la variabilidad climática ocurrida en el pasado en nuestro país implicó que ocurrieran cambios a nivel altitudinales y latitudinales lo que favoreció zonas de simpátria entre especies de encino (González-Rodríguez *et al.* 2004; Tovar Sánchez *et al.*; 2008; Peñaloza-Ramírez *et al.* 2010). Mientras que en zonas de Europa el contacto fue de manera prolongada en los refugios glaciares. .

En cuanto a la diferenciación genética existe entre las poblaciones de *Q. elliptica*, se encontró un valor bajo ($Gst=0.3754$), nuestros resultados son menores de acuerdo a los reportados por Magni *et al* (2005) para *Q. rubra* encino de América del Norte ($Gst= 0,46$) o con los indicados para el complejo *Q. affinis* y *Q. laurina* ($Gst=0.499$) (González-Rodríguez *et al.* 2004), para encinos

pertenecientes a la sección *Quercus* coinciden con los obtenidos por para las especies de encino blanco *Q. magnolifolia* ($G_{st}=0.32$) y *Q. resinosa* ($G_{st}=0.36$) reportados por Albarrán-Lara (2010), mientras que para *Q. lobata* Grivet *et al.* (2006) para esta especie reportan un valor alto ($G_{st}=0.709$), mientras que para especies de encinos europeos *Q. suber* y *Q. ilex* los valores son altos ($G_{st}=0.948$ y 0.963) de acuerdo a lo reportado por Lumaret & Jabbour-Zahab, (2009). De acuerdo a los reportes de este parámetro las especies de encinos mexicanos presentan valores más bajos comparados con las especies de europeas, donde se observa una mayor diferenciación poblacional, lo que podría suponer es el efecto de los cambios climáticos ocurridos durante el último máximo glacial (LGM), como lo han reportado Bradbury (1997); Caballero *et al.* (2010) al ocurrir un importante descenso de la temperatura 8°C , al aumento en la precipitación y a la disminución de la zona de vegetación ocurrida alrededor de 100m.

Conclusiones

De acuerdo a los resultados aquí reportados para *Quercus elliptica* es una especie con una gran diversidad genética, tanto con los resultados obtenidos con los marcadores nucleares como con los de cloroplasto, los grupos genéticos obtenidos, pese a que se encontraron moderados niveles de flujo génico, la especie no presenta endogamia. También se observa que la distribución actual de *Q. elliptica* es muy similar a la distribución obtenida para el último máximo glacial (LGM) y el interglaciar (LIG), en las localidades ubicadas en la costa del Pacífico se puede observar una distribución parecida a la actual, esto porque se observa

que hay estabilidad en el nicho para la especie. Mientras que para las poblaciones del Centro de México y parte norte de Oaxaca, se predicen distribuciones potenciales en el pasado menores.

Literatura citada

- Abril N, Gion JM, Kerner R, Müller-Starck G, Cerrillo RMN, Plomion C, Jorrin-Novo JV. 2011. Proteomics research on forest trees, the most recalcitrant and orphan plant species. *Phytochemistry* **72**(10): 1219-1242. Doi: 10.1016/j.phytochem.2011.01.005.
- Albarrán-Lara AL, Mendoza-Cuenca L, Valencia-Ávalos S, González-Rodríguez A, Oyama K. 2010. Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and introgression between *Quercus magnoliifolia* and *Quercus resinosa* (Fagaceae) through an altitudinal gradient in Mexico. *International Journal of Plant Sciences* **171**:310-322. DOI: <https://doi.org/10.1086/650317%20>
- Aldrich, PR & Cavender-Bares J. 2011. Genomics and breeding os oaks and their slightly less-domesticated wild oak relatives. In ed. Kole (Eds.), *Wealth of Wild Species: Genetic, Genomic and Breeding Resources* pp 89-130. Springer-Verlag, New York city, New York
- Alía R, Agúndez D, Alba N, González Martínez, SC, Soto A. 2003. Variabilidad genética y gestión forestal. *Ecosistemas* **3**:6.
- Ashley MV, Abraham ST, Backs JR, & Koenig WD. 2015. Landcape genetics and population structure in Valley Oak (*Quercus Lobata* Neé). *American Journal of Botany* **12**: 2124-2131. Doi: 10.3732/ajb.1500182.

- Bacles CFE, Lowe AJ & Ennos RA. 2004. Genetics effects of chronic hábitat fragmentation on tree species: the case of *Sorbus aucuparia* in a deforested Scottish landscape. *Molecular Ecology* **13**: 573-584 doi.org/10.1046/j.1365-294X.2004.02093.x
- Breed MF, Marklund MH, Ottewell KM, Gardner MG, Harris JBC, & Love AJ. 2012. Pollen diversity matters: revealing the neglected effect of pollen diversity on fitness in fragmented landscapes. *Molecular Ecology* **21**: 5955-5968. Doi: 10.1111/mec.12056.
- Bruschi P, Vendramin G, Bussotti FG, Grossoni P. 2003. Morphological and molecular diversity among Italian populations of *Quercus petraea* (Fagaceae). *Annals of Botany* **91**: 707-716. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcg075>
- Craft KJ, Ashley MV. 2007. Landscape genetic structure of bur oak (*Quercus macrocarpa*) savannas in Illinois. *Forest Ecology and Management* **239**: 13 – 20. Doi: 10.1016/j.2006.11.005
- Dumolin-Lapegue S, Pemonge MH, Petit RJ. 1997. An enlarged set of consensus primers for the study of organelle DNA in plants. *Molecular Ecology* **6(4)**: 393-397 Doi.org/10.1046/j.1365-294X.1997.00193.x
- Eckert CG, Kelly JK, Moeller DA, Porcher E, Ree RH, Vallejo-Marín M & Winn AA. 2010. Plant mating systems in a changing world. *Trends in Ecology and Evolution* **25**: 35-43. Doi: 10.1016/j.tree.2009.06.013.
- Espinosa-Organista D, Ocegueda-Cruz S, Aguilar-Zúniga C, Flores-Villela O, Llorente-Bousquets J. 2008. El conocimiento biogeográfico de las especies y su regionalización natural. In: Soberón J, Halffter G, Llorente-Bousquets J. 2008. Capital Natural de México Vol I: Conocimiento Actual de La

- Biodiversidad. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Mexico City, pp. 33-65. ISBN: 978-607-7607-03-8
- Evanno G, Regnaut S and J. Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the soft ware STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology* **14**: 2611 – 2620. Doi 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- Excoffier I, Lischer HEI. 2010. Arlequin ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and windoes. *Molecular Ecology Resources* **10**: 564-567.
- Fajardo A, Piper FI. 2011 Intraspecific trait variation and covariation in a wides pread tree species (*Nothofagus pumilio*) in southern Chile. *New Phytologist* **189**:259-271. DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03468.x>
- Ferrusquía-Villafranca I. 1993. Geology of Mexico: a Synopsis. In Ramamoorthy, TP, Bye R, Lot A, Fa J (Eds), Biological diversity of Mexico pp. 3-107 Oxford University Press, Nueva York, EUA.
- Frankham, R., J. D. Ballou, and D. A. Briscoe. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 617 p. Doi.org/10.1017/CBO9780511808999
- García-Mendoza A. 2004. Integración del conocimiento florístico del estado: In a García-Mendoza M. Ordoñez & M. Briones-Salas (Eds). Biodiversidad de Oaxaca (pp. 305-325). México City, México: Instituto de Biología. UNAM fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Fund.

- González-Rodríguez, V., Villar, R., Navarro-Cerrillo, R.M. 2011. Maternal influences on seed mass effect and initial seedling growth in four *Quercus* species, *Acta Oecologica* **1**: 1-9 Doi:10.1016/j.actao.2010.10.006
- González-Rodríguez A, Arias DM, Valencia S, Oyama K.2004.Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two Mexican red oaks. *American Journal of Botany* **91**: 401-409. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.91.3.401>
- Grivet, D., Deguilloux, M.-F., Petit, R.J., Sork, V.L. 2006. Contrasting patterns of historical colonization in white oaks (*Quercus* spp.) in California and Europe. *Molecular Ecology* **15(13)**: 4085–4093.
- Herrera-Arroyo ML, Sork VL, González-Rodríguez A, Rocha-Ramírez V, Vega E & Oyama K. 2013. Seed-mediated connectivity among fragmented populations of *Quercus castanea* (Fagaceae) in a Mexican landscape. *American Journal of Botany* **100**:1663-1671. Doi: 10.3732/ajb.1200396.
- Hewit GM. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role, in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*. **58**: 247-276.
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A. 2005. Very high-resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* **25**:1965-1978. DOI:<https://doi.org/10.1002/joc.1276>
- Jiménez P, Gil, Petit RJ. 1999. Analysis of cpDNA variation in *Quercus suber* and *Quercus ilex* populations. En: Espinel, S., Ritter, D. (eds.), pp: 141-142. Congreso Internacional sobre Aplicación de la Biotecnología a la Genética Forestal (BIOFOR-99). Diputación Foral de Alava. Vitoria, España

- Jimenez Sancho MP. 2001. Analysis of genetic variability of *Quercus suber* L. by molecular markers and its application to genetic resources conservation. Tesis doctoral, Instituto Nacional de Investigacion y Tecnologia Agraria y Alimentaria, Madrid (España). Universidad Politécnica de Madrid (España). Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes. Madrid
- Klich MG. 2000. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. *Environmental and Experimental Botany* **44**:171-183. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(00\)00056-3](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(00)00056-3)
- López-de-Heredia U, Jiménez P, Díaz-Fernández P, Gil L. 2005. Diversidad genética, origen y conservación de las especies esclerófilas del género *Quercus* en las Islas Baleares. *Bolletí de la Societat d'Història Natural de les Balears* **48**: 43-60
- Manni F, Guerard E. & Heyer E. 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *Human Biology* **76**: 173–190
- Mitchell KA, Bolstad PV, Vose JMC. 1999. Interspecific and environmentally induced variation in foliar dark respiration among eighteen southeastern deciduous tree species. *Tree Physiology* **19**:861-870. DOI <https://doi.org/10.1093/treephys/19.13.861>
- Morgenstern M. 2011. Geographic variation in forest trees: genetic basis and application of knowledge in silviculture. UBC Press, Vancouver, Canadá
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist*. **106**: 283-292. Doi.org/10.1086/282771

- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**: 583-590.
- Nei M. and Chesser RK. 1983. Estimation of fixation indices and gene diversities. *Annals of Human Genetics* **47**: 253 – 259. doi.org/10.1111/j.1469-1809.1983.tb00993.x
- Nicotra AB, Leigh A, Boyce CK, Jones CS, Niklas KJ, Royer DL, Tsukaya H. 2011. The evolution and functional significance of leaf shape in the angiosperms. *Functional Plant Biology* **38**:535-552. DOI: <https://doi.org/10.1071/FP11057>
- Paine CET, Baratolo C, Chave J, Hérault B. 2011. Functional traits of individual trees reveal ecological constraints on community assembly in tropical rain forest. *Oikos* **120**:720-727. DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.19110.x>
- Peñaloza-Ramírez J.M, Gonzalez-Rodríguez A, Valencia, S y Oyama K. 2010. Phylogeographic structure, ecological niche modeling, population history and demography in a widespread Mexican red oak *Quercus castanea* Nee. as response of populations to past climate change.
- Phillips SJ, Dudík M. 2008. Modeling of species distributions with MaxEnt: New extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography* **31**:161-175. DOI:<https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2008.5203.x>
- Pritchard JK, Stephens M, and Donnelly P. 2000 Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**: 945 – 959. Doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x

- Rafii Z, Zavarin E, Pelleau Y. 1991. Chemosystematic differentiation of *Quercus ilex* and *Q. rotundifolia* based on acorn fatty acids. *Biochemical Systematics and Ecology* **2**: 163-166 Doi.org/10.1016/0305-1978(91)90040-7
- Rodríguez-Rivera I, Romero-Rangel S. 2007. Arquitectura foliar de diez especies de encino (*Quercus*) de México. *Acta Botanica Mexicana* **81**: 9-34. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm81.2007.1049>
- Romero-Rangel S, Rojas-Zenteno E, de Lourdes M., Aguilar-Enríquez M. 2002. El género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **89**:551-593. DOI: <https://doi.org/10.2307/3298595>
- Salgado-Negrete B, Pérez F, Markesteijn L, Jiménez-Castillo M, Armesto JJ. 2013. Diverging drought-tolerance strategies explain tree species distribution along a fog-dependent moisture gradient in a temperate rain forest. *Oecologia* **173**:625-635. DOI:<https://doi.org/10.1007/s00442-013-2650-7>
- Sork VI, Davis FW, Smouse PE, Apsit VJ, Dyer RJ, Fernández JF & Kuhn B. 2002. Pollen movement in declining populations of California Valley oak. *Quercus lobata*: Where have all the fathers gone?. *Molecular Ecology* **11**, 1657-1668. DOI: 10.1046/j.1365-294X.2002.01574.x
- Sork VL & Smouse PE. 2006. Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape Ecology*, **21**: 821-836. DOI: 10.1007/s10980-005-5415-9
- Steinkellner H, S. Fluch E. Turetschek C. Lexer R. Streiff A, Kremer K, Burg and Glössl J . 1997. Identification and characterization of (GA/ CT) n - microsatellite loci from *Quercus petraea*. *Plant Molecular Biology* **33**: 1093 – 1096. DOI: 10.1023/A:1005736722794

- Sterck F, Markesteijn L, Schieving F, Poorter L. 2011. Functional traits determine trade-offs and niches in a tropical forest community. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **108**:20627-20632. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1106950108>
- Templeton AR. 1998. Nested clade analysis of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and populations history. *Molecular Ecology* **7**:381-397.
- Templeton AR, Routman E y Phillips CA. 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* **140**:769-782.
- Tovar-Sánchez E, Oyama K. 2004. Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: Morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany* **91**:1352-1363. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.91.9.1352>
- Wright S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals. Eugenics.* **15**: 323-354. Doi.org/10.1111/j.1469-1809.1949.tb02451.x

V
CAPÍTULO III

Variación micro morfológica a nivel foliar en *Quercus elliptica*
(Neé, Fagaceae) relacionada a gradientes de temperatura y
precipitación

Resumen

Se presenta la distribución y número de estomas y tricomas en el envés de las hojas maduras; así como el tamaño de los tejidos de empalizada y esponjoso, analizados al microscopio electrónico de barrido (MEB) de *Quercus elliptica*. Se observaron correlaciones del Tamaño de la estructura de los poros estomáticos correlacionados con variables de temperatura y de precipitación. Se observaron diferentes de tricomas, largos fasciculados, multirradiados, cortos y glanulares. Estas estructuras presentaron correlaciones significativas con variables ambientales de temperatura principalmente. Por lo que los objetivos para este estudio fueron: Generar información sobre el número de estomas y tricomas foliares de *Quercus elliptica* Neé. Así como, comparar y determinar diferencias de tamaño en tejidos del parénquima de empalizada y parénquima esponjoso de las diferentes poblaciones de estudio.

Palabras clave: *estomas, tricomas, parénquima empalizada*

Introducción

Una característica del género *Quercus* es la gran capacidad que tienen sus especies de adaptarse a los diferentes medios donde se desarrolla, lo que favorece la aparición de nuevos fenotipos en sus poblaciones. Además, los encinos habitan en regiones con características ambientales y edáficas muy diferentes a lo largo de su distribución, por lo que la variabilidad morfológica está relacionada con cambios en el medio (Jiménez *et al.* 1996).

Quercus elliptica Neé (Fagaceae) es una especie de encino que crece desde el sur de Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Veracruz hasta Centroamérica (Valencia-Ávalos, 2004). El área en la que se asientan las poblaciones incluye varios tipos de vegetación, bosques de pino-encino, bosques de encino, selvas bajas caducifolias y bosques mesófilos de montaña en altitudes entre los 500 a 2400 m (Valencia-Ávalos, 2004; Zavala-1995; Rzedowski).

Dado que los diferentes factores ambientales pueden influir en los caracteres morfológicos de las plantas, como lo demuestran los resultados obtenidos de los diversos trabajos que han revelado que las especies tienen diferentes estrategias de adaptación a nivel morfológico, fisiológico y anatómico (Paine *et al.* 2011, Sterck *et al.* 2011, Lohbeck *et al.* 2013, Salgado-Negrete *et al.* 2013). La estructura foliar es una de las más importantes, en ella se efectúan diversas funciones que son vitales para el organismo completo, de ahí que se realicen trabajos dirigidos a resolución de problemas taxonómicos y ecológicos.

En las últimas décadas se ha incrementado el número de trabajos referentes a estudiar arquitectura foliar en la familia *Fagaceae*, destacando

principalmente el de Manos (1993), dónde la importancia de este estudio es delimitar cinco especies pertenecientes a la sección *Protobalanus*, por medio del estudio de tricomas, dónde se propone la hipótesis de variación geográfica e hibridación entre las especies pertenecientes a esta sección.

También recientemente se ha reconocido la importancia de las características funcionales para explicar la respuesta de las especies a gradientes ambientales (Engelbrecht *et al.* 2007, Cornwell y Ackerly 2009, Lebrija-Trejos *et al.* 2010, Paine *et al.* 2011, Sterck *et al.* 2011, Buisson *et al.* 2013, Lohbeck *et al.* 2013, Salgado-Negrete *et al.* 2013). Por ejemplo, una estrategia en las plantas radica en la variabilidad anatómicos morfológicos para contrarrestar los efectos negativos de alta temperatura o una cantidad limitada de agua.

Las posiciones de los estomas están dispuestas de forma variable en la superficie de la estructura de la hoja, se puede hundir a la misma altura que las otras células epidérmicas o sobresalir de la lámina (Flores-Vinda, 1999). En varios estudios de anatomía foliar se ha considerado la variabilidad que puede existir dentro de las hojas, según la parte de la hoja que se utilice para el estudio, la posición en la planta, además del ambiente ecológico que puede ejercer cierta influencia sobre este carácter (Roth *et al.* 19986)

La frecuencia estomática es el número de estomas por unidad de área de superficie foliar (Esau, 1972), lo que representa un valor diagnóstico para fragmentos de láminas foliares (Wilkinson, 1979).

Las funciones como transpiración y la intensidad de la respiración está en razón directa al número y abertura de los estomas, la cantidad y distribución de estomas influyen en la asimilación de clorofila (Ruíz *et al.* 1962). El cierre de

estomas le confiere a la planta mejor resistencia a nivel fisiológico, siendo estas estructuras las responsables de la mayor pérdida de agua en las plantas (Taiz y Zeiger, 2006). El cierre estomático, cuando ocurre una deshidratación en el tejido del mesófilo está regulado por el ácido abscísico (ABA) (Leung y Giraudat, 1998). Se cree que los estomas son fundamentales para mantener la homeostasis de la planta. Por lo tanto, es muy importante conocer el número y la forma de estas estructuras y los factores que controlan la apertura y el cierre de los estomas (Sánchez-Díaz y Aguirreola, 1996).

A nivel taxonómico otra importante estructura son los tricomas, que han apoyado la delimitación de especies (Delgado y Valencia, 2003), apoyándose en determinar la forma y la manera en que se encuentran distribuidos (Dickinson 2000). Se realizó un estudio acerca de la arquitectura foliar en varias especies de encinos, entre ellas *Q. elliptica*, en el se determinó qué tipo el tipo de tricomas para la especie, encontrándose tricomas largos radiados y cortos (Rodríguez-Rivera y Romer-Rangel, 2007).

Los tricomas son estructuras epidérmicas que presentan diversas formas, y pueden tener diferentes funciones; se pueden observar. En cualquier órgano de la planta, y pueden persistir a lo largo de toda la vida de los órganos o ser efímeros. Se desarrollan a partir de meristemoides epidérmicos, pueden o no dividirse, están constituidos por paredes celulósicas recubiertas de cutícula, o paredes secundarias lignificadas. Las paredes están conformadas por sílice o carbonato de calcio. Por lo general están vacuolados y pueden tener cristales o cistolitos (Arbo y Gozález 2008).

La distribución y morfología de los tricomas es una evidencia relevante para la clasificación de especies (Dickison, 2000), los diferentes tipos de estas estructuras son considerados a nivel taxonómico muy importantes (Theobald *et al.*, 1988). La variación de los tricomas puede ser tanto en forma y función, pueden ser unicelulares o multicelulares, estar bifurcados o formas no ramificadas. Aunque también pueden ser tricomas glandulares que poseen un tallo único y una cabeza secretora con una o varias células. Se encuentran distribuidos en la superficie de la hoja entera, encontrarse en surcos de la superficie abaxial y los márgenes de la hoja, en una misma hoja se pueden observar diferentes tipos de tricomas (Rudall, 2007). La función de los tricomas como menciona Espinosa (2005), es proteger a las plantas de los factores ambientales como la radiación solar, viento, así como de la herbivoría. A nivel taxonómico son de gran utilidad, ya que la forma que se observe puede ayudar a delimitar especies, géneros y en algunos casos familias. En ocasiones la densidad y la forma de distribución es una respuesta a los factores ambientales o la edad de la planta (Martínez y Espinosa, 2005). Para el caso especial de los encinos en México, Valencia y Delgado (2003) han demostrado ser de utilidad para poder caracterizar a las especies.

Cabe resaltar la gran importancia de los estudios anteriores, además de la información taxonómica y ecológica, la información es relevante ante los actuales escenarios de cambios en los factores ambientales, esta aportación permite tomar decisiones en programas de reforestación y conservación de especies *in situ* o *ex situ*.

La capa de células más cercana a la epidermis superior, por lo regular son de forma alargada y están dispuestas de forma perpendicular conformadas en una

o dos hileras, y se conoce como parénquima en empalizada. El siguiente espacio, desde este tejido hasta la epidermis inferior, lo ocupa el parénquima esponjoso, las células contenidas en este tejido son redondeadas y están dispuesta de forma irregular, lo que permite que se formen espacios aéreos que están conectados con los estomas de la epidermis, cuya función es el intercambio de gases. Los haces vasculares son las encargadas de transportar agua, nutrientes hacia el resto de la hoja y el resto de la planta, estos se localizan en el tejido del mesófilo, a veces sobresalen en la superficie inferior de la hoja (Villareal, 1993).

Existen estudios sobre descripción de algunos caracteres morfológicos en *Q. elliptica* (Rodríguez-Rivera y Romero-Rangel, 2007) donde se realiza la descripción de 10 especies de encino. No se han realizado trabajo que informen sobre el número de estomas y tricomas. Por lo que este trabajo se desarrollo con la finalidad de generar información y poder comparar las estructuras epidérmicas entre las diferentes localidades de estudio, donde las condiciones ambientales se distribuye la especie son diferentes.

Objetivos

Comparar estructuras morfo funcionales de poblaciones de *Quercus elliptica* Neé.

Objetivos específicos

Generar información sobre el número de estomas y tricomas foliares de *Quercus elliptica* Neé.

Comparar y determinar diferencias de tamaño en tejidos del parénquima de empalizada y parénquima esponjoso de las diferentes poblaciones de estudio.

Materiales y métodos

Especie de estudio. *Quercus elliptica* Neé es un árbol que alcanza un tamaño de hasta 20 m de altura y un diámetro del tronco de hasta 60 cm. La corteza es café oscuro a casi negra y áspera. La hoja es de forma obovada, elíptico-acuminada o elíptico-lanceolada de 5 a 15 cm de largo por 2 a 6.7 cm de ancho; el haz es verde, liso y brillante y el envés es verde claro casi glabro. El fruto es bianual, solitario o en pares; la bellota es ovoide de 16 a 22 mm de largo por 11 a 15 mm de diámetro. Los usos de esta especie son como leña, carbón, fabricación de redilas y corteza medicinal. No hay programas de manejo para su aprovechamiento. El mecanismo de propagación es por bellotas producidas de junio a octubre. *Quercus elliptica* Neé: Anales. Ci. Nat. 3:278. 1801 (Tomado en Romero-Rangel *et al.* 1997).

Procedencia del material vegetal. Se colectaron diez hojas de la parte basal de 10 individuos maduros, de 37 poblaciones que cubren toda el área de distribución de la especie. El material colectado fue prensado y secado en una estufa botánica durante 15 días, luego almacenado para su posterior procesamiento.

Inicialmente las hojas fueron tratadas con un polímero (colodión elástico) para remover ceras, residuos minerales y hongos de las láminas foliares que previamente pasaron por un proceso de secado (prensa y estufa). El objetivo de utilizar esta técnica fue visualizar de manera clara los estomas ya que sin la aplicación del polímero no se pudieron observar de manera nítida. Se aplicó directamente el colodión sobre el envés de la hoja cuidando de no invadir la zona de la vena media para evitar la remoción de tricomas, se dejó secar el polímero durante 5 minutos después se retiró la película del polímero.

De la parte media de la hoja se tomó una muestra de 0.5 por 0.5mm², se colocó en porta muestras y fue observada en un equipo de microscopia de barrido JEOLJSM-IT 300, operado a bajo vacío de 40-60 pascales, generándose dos imágenes una con electrones retrodispersados (BEC) y la otra como electrones secundarios (LVSED) operados a 30 kv. Se generaron un total de 185 imágenes que corresponden a cinco individuos de 37 poblaciones para realizar el conteo de los estomas y 185 imágenes para conteo de las diferentes formas de tricomas.

Tejidos del mesófilo. Se tomo un pequeño corte de 1 cm² de la parte media de la hoja cercana a la vena principal, después se procedió a realizar cortes

transversales de la muestra en un total de 25 individuos y fueron observadas en las mismas condiciones que las muestras anteriores.

Conteo y medición del tamaño de estomas. Con el apoyo del Software Digimizer image Analysis Software V 4.3.0, se pudo determinar el número de estomas (NE), el largo del estoma (LE), el ancho del estoma (AE), el largo del poro del estoma (LP) y el ancho del poro (AP). Para cada imagen tomada para el conteo de tricomas, la muestra fue tomada de la parte media de la hoja, procurando no tocar la vena central, ya que es en esta parte de la hoja donde se encuentran los tricomas, se hicieron conteos de número de tricomas largos (TL), tricomas cortos (TC) y tricomas glandulares (TG). El tejido parénquima de empalizada (Pe), parénquima esponjoso (PS) y tejido epidérmico (Te) se midió de igual manera con este software.

Posteriormente se generaron dos bases de datos, una con los datos obtenidos de las imágenes obtenidas con microscopia de barrido para tricomas y estomas, y otra con datos obtenidos para los diferentes tejidos contenidos en el mesófilo.

VARIABLES AMBIENTALES. En este estudio se incluyeron 19 variables bioclimáticas, tomando en cuenta únicamente aquellas que no estuvieron correlacionadas y a las que se les aplicó la prueba de colinearidad.

ANÁLISIS DE DATOS. Se realizó realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad de la varianza (homocedasticidad) mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente, se realizaron correlaciones bivariadas con

las variables morfo-fisiológicas y las variables ambientales para determinar si las variables ambientales influyen en las estructuras morfo-fisiológicas. Luego se procedió a realizar un análisis de varianza con una prueba post-hoc de Tukey de comparación múltiple de las medias con un nivel de significación del 5% ($P \leq 0.05$). Los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS (Versión 23.0, SPSS Inc.).

Resultados y discusión

Al comparar las características de los estomas en las diferentes poblaciones de estudio se observó que el número de estomas disminuye cuando las poblaciones se localizan a mayores altitudes (Fig. 12); esta relación junto con el tamaño de la planta y el grosor de la hoja están relacionados con factores ambientales como la temperatura, la precipitación y como se indica aquí con la altitud (Chapolagh-Paridari *et al.* 2013).

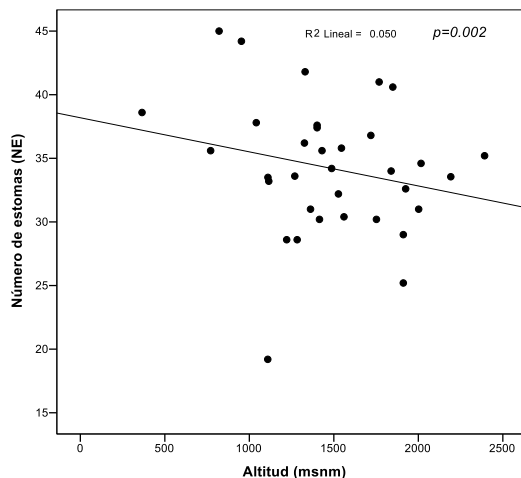
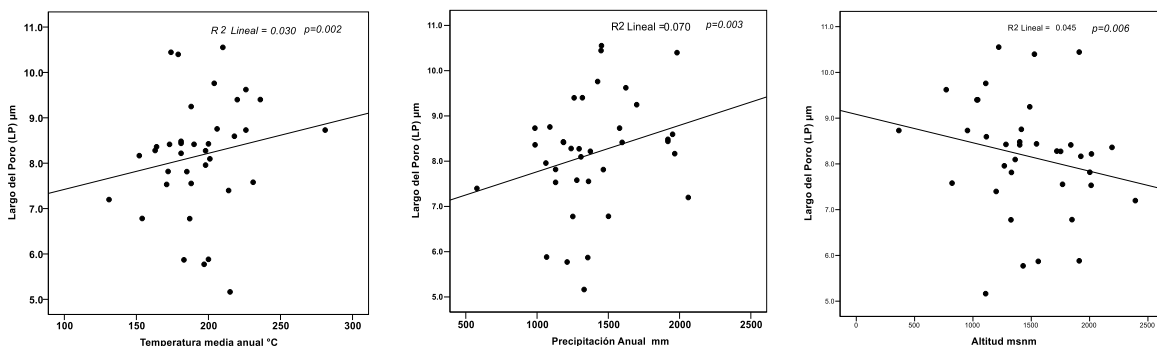


Figura13. Correlación del número de tricomas con la altitud en Poblaciones de *Q. elliptica*.

El largo (LP) y ancho (AP) del poro estomático mostraron una correlación positiva con la temperatura anual (BIO01) y la precipitación anual (BIO12), y una correlación negativa en el tamaño a mayor altitud (Fig.14). Se ha documentado que el cambio en el tamaño de poros es causado por cambios en la presión de turgencia entre las células oclusivas y las células acompañantes; el aumento en el volumen de las células acompañantes en el volumen de las células hace que los estomas se abran (Ritte *et al.* 1999).

Según Draque *et al.* (2013), las características de los estomas pequeños confieren a la planta una alta conductancia estomática, conjuntamente con una alta capacidad fotosintética en condiciones desfavorables. Por ejemplo, en zonas con alta irradiación, los estomas pequeños otorgan una ventaja de adaptación a las plantas debido a que la apertura y cierre de estas estructura suele ser más rápido, por lo que estarían haciendo un uso más eficiente del recurso hídrico, en la transpiración y en la fotosíntesis (Hetherington y Woodward, 2003).



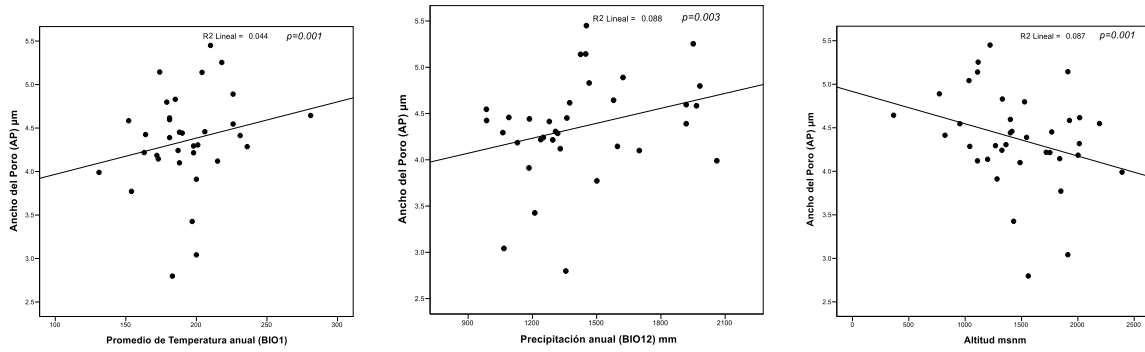


Figura 14. Correlaciones significativas de largo y ancho del poro estomático, con distintas variables ambientales

En la Figura 15 se observa que el número de tricomas largos descende con la estacionalidad de la temperatura y, descendiendo en número con la latitud. Como se ha reportado son estructuras que protegen contra la radiación solar (Royer 2001)

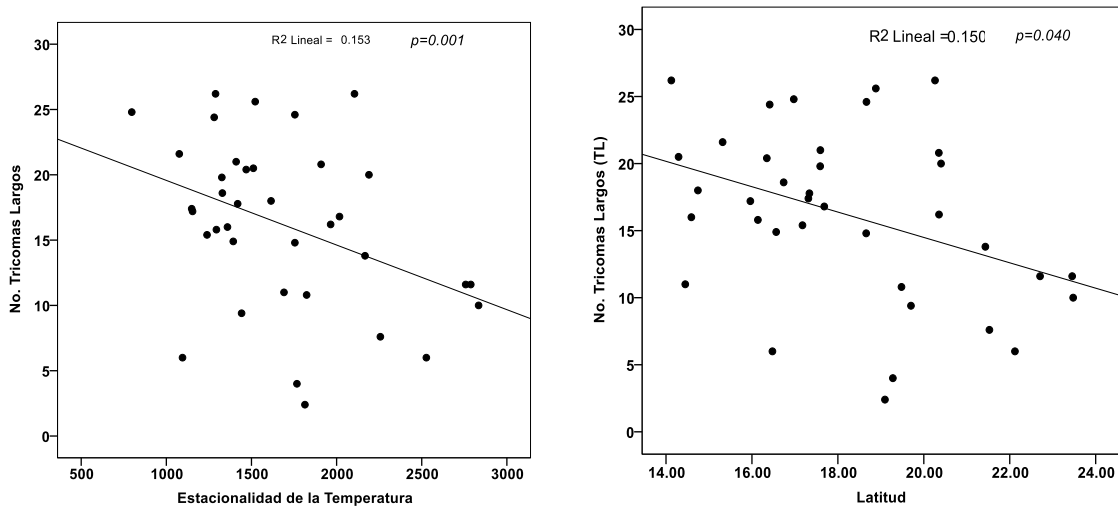


Figura 15. Correlación del número de tricomas largos con variables de temperatura y latitud

Mientras que los tricomas glandulares disminuyen con la estacionalidad de la precipitación, descienden en número cuando la estacionalidad de la temperatura aumenta, la cantidad de tricomas glandulares disminuye de sur a norte y aumenta de este a oeste. Con respecto al número de tricomas glandulares se observa que estas estructuras, no solo son de utilidad a nivel taxonómico sino que su función relevante como lo mencionan Martínez y Espinosa (2005) (Fig. 16).

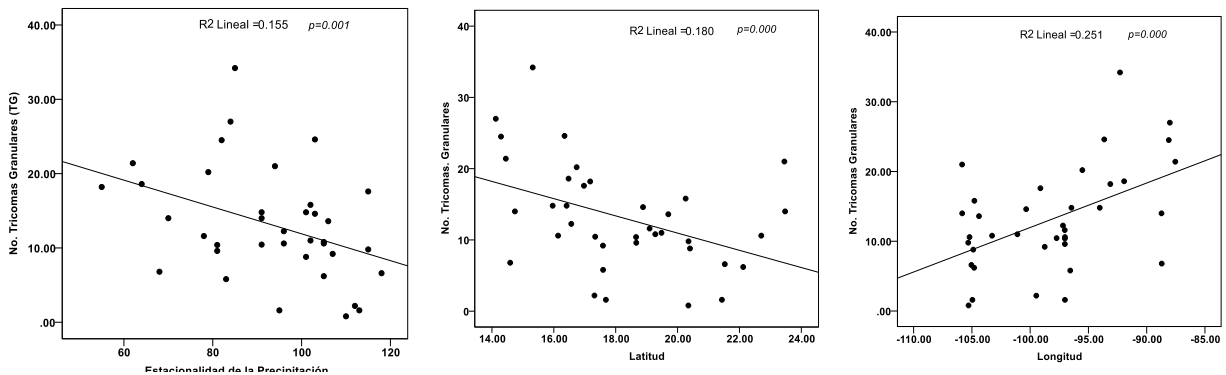


Figura 16. Correlaciones entre el número de tricomas glandulares con la estacionalidad de la precipitación y la latitud.

Densidad de estomas

La densidad estomática (número de estomas por unidad de área) contenidos en el limbo del envés de la lamina foliar mostró variabilidad para las poblaciones, siendo la localidad de Antenas (C4) y Josefa Ortiz (C5) en Chiapas las que reportaron el mayor número de estomas 45.0 ± 3.1 y 44.2 ± 4.4 , respectivamente mientras que San Blas (N3) en Nayarit la que presentó la menor cantidad de estomas 19.2 ± 8.0 , todas estadísticamente significativas $p \leq 0.05$ (Fig. 17). Los estomas se ubican en las láminas foliares y se encuentran sumergidos o

protegidos como una estrategia para evitar pérdida de agua. Para reducir el riesgo de que se colapsen los tejidos, los estomas presentan esclerénquima muy desarrollado (Rudall, 2007). Los estomas encontrados en la epidermis de la parte abaxial de la hoja son del tipo anomocítico, el cual ya se había reportado previamente para esta especie (Rodríguez-Rivera y Romero-Rangel 2007).

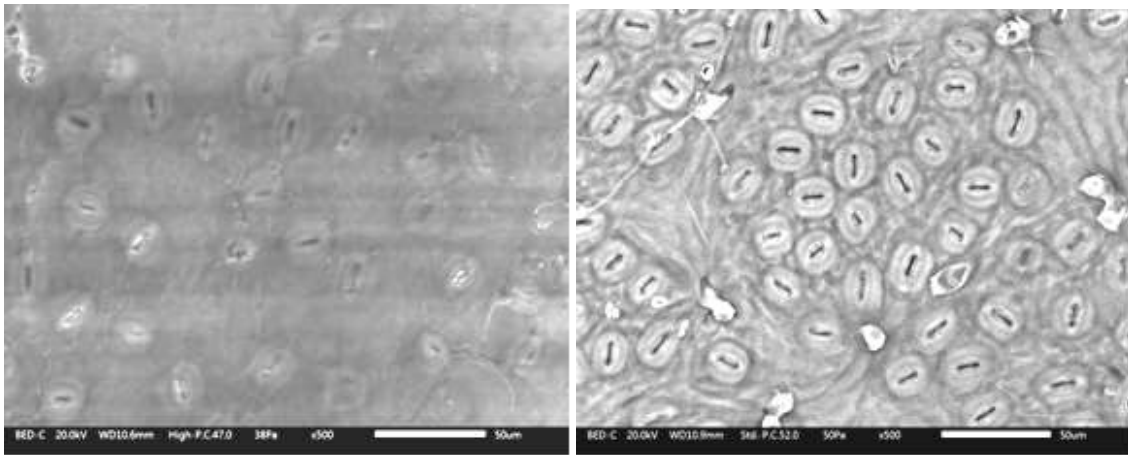


Figura 17.Electro micrografías de parte media del envés de la hoja de *Q. elliptica*, mostrando la cantidad de estomas de la población S. Blasen Nayarit (N3, Izquierda) y población Antenas ubicada en Chiapas (C4 Derecha).

Por otra parte, se ha demostrado que el número de estomas es importante en la máxima conductancia de vapor de agua, ya que está determinada por el

tamaño, siendo más bajo para especies C_4 que en especies C_3 (Taylor *et al.* 2012). Al comparar las características de los estomas en las diferentes poblaciones de estudio, encontramos que los estomas más grandes se ubican en la población J4, Jalisco, ($LE=20.9 \pm 2.4$; $AE= 12.3 \pm 1.4\mu\text{m}$) y los más pequeños se reportaron para la población N3, Nayarit ($LE= 9.2 \pm 3.8$; $AE= 5.1\pm 2.1 \mu\text{m}$) (Tabla 13). Se ha documentado que la densidad estomática es mayor en la superficie abaxial de la hoja, cuya función es prevenir la pérdida de agua por estar menos expuesta a las variaciones de temperatura en el medio ambiente (Martín y Glover, 2007).

Nuestros resultados son coincidentes con los reportados por Rodríguez-Rivera y Romero-Rangel (2007) donde ellos encuentran un intervalo del número de estomas de 18 a 20, aunque cabe señalar que su tamaño de muestra fue muy pequeño. También en el mismo trabajo mencionan que para la sección *Quercus* encuentran un intervalo de 36 a 88, mientras que para la sección *Lobate* fue de 19 a 42.

Densidad de tricomas

La densidad de tricomas está relacionada con la pérdida de agua por transpiración (Baldini *et al.* 1997). En cuanto al número de los diferentes tipos de tricomas, largos (TL), cortos (TC) y tricomas glandulares (TG). El número de tricomas largos varió de 2.4 ± 1.7 en la pob. 37 y a 26.2 ± 2.4 en la pob. 3. En la cantidad de tricomas cortos (TC) se observan diferencias entre 1.0 ± 0.6 en la pob. 12 a 27.0 ± 9.8 para la pob. 40. Tabla (13). Se ha documentado que una de las funciones de los tricomas es funcionar como una barrera protectora a la radiación solar. La disminución en el número de tricomas largos (TL)

Tabla 13. Grupos homogéneos al realizar la prueba de Tukey, para las distintas variables morfológicas en las diferentes poblaciones de *Q. elliptica*.

POB.	NE	LE (μm)	AE (μm)	LP (μm)	AP (μm)	TL	TC	TG	
J7		29.8±2.4 ^c	16.7±.3 ^e	10.3±.3 ^e	7.8±.1 ^c	4.2±.1 ^b	4.0±1.7 ^b	1.0±.6 ^a	10.8±2.7 ^e
J6		31.0±2 ^c	16.9±.6 ^f	9.7±.3 ^e	8.1±.7 ^c	4.3±.3 ^b	9.4±2.4 ^b	1.6±.9 ^a	13.6±3.2 ^e
J5		28.6±2.9 ^c	18.6±1 ^f	10.6±.4 ^e	8.4±.6 ^c	3.9±.2 ^b	26.2±2.4 ^b	1.6±.8 ^a	15.8±1.5 ^b
J2		30.2±2.2 ^c	19.7±.4 ^h	10.6±.1 ^e	8.8±.2 ^c	4.5±.0 ^b	20.0±2.6 ^b	.4±.4 ^a	8.8±2.3 ^e
O3		31.0±2.0 ^c	17.6±.8 ^f	10.1±.2 ^e	9.1±.4 ^c	4.8±.b	15.8±3.2 ^b	2.8±1.0	11.8±2.2
O6		35.6±2.6 ^c	18.1±.5 ^f	9.5±.2 ^f	9.4±.6 ^c	5.0±.1 ^c	15.6±7.3 ^b	2.8±.9 ^a	10.6±3.0 ^e
O7		33.2±1.9 ^c	16.0±.2 ^e	9.4±.2 ^d	8.6±.2 ^c	5.3±.5 ^b	17.2±2.4 ^b	5.0±1.5 ^a	14.8±1.7 ^f
O1		40.6±1.7 ^d	14.1±1.0 ^e	9.8±.2 ^e	6.8±.3 ^c	3.8±.1 ^b	21.0±4.6 ^b	2.0±1.3 ^a	5.8±1.7 ^d
O2		41.0±3.0 ^d	14.9±.9 ^f	9.7±.4 ^e	7.2±.4 ^c	4.5±.2 ^b	17.8±6.1 ^b	13.0±3. ^b	.0±.0 ^a
G3		29.0±7.8 ^c	11.8±3.1 ^c	7.2±1.9 ^c	5.9±1.5 ^c	3.0±.8 ^a	19.8±5.0 ^b	12.4±4.7 ^a	9.2±4.2 ^b
G6		40.0±1.2	15.7±.5	9.8±.4	7.4±.4	4.1±.3	16.8±4.0	6.0±2.4	1.8±.8
G5		37.3±1.0 ^d	16.1±.5 ^e	9.4±.2 ^e	9.3±.4 ^c	4.3±.3 ^b	19.0±4.7 ^b	7.3±1.9 ^a	3.8±2.1 ^c
G6		39.5±5.7 ^d	15.1±1.5 ^e	8.6±.3 ^c	8.8±.7 ^c	4.7±.2 ^b	24.3±6.0 ^b	1.5±1.5 ^a	19.0±1.7 ^f
S1		36.8±2.5 ^c	16.4±.6 ^e	9.9±.6 ^e	8.3±.3 ^c	4.2±.1 ^b	10.0±1.8 ^b	1.6±1.0 ^a	14.0±3.1 ^e
S2		36.2±3.1 ^c	13.4±2.2 ^e	7.7±1.1 ^c	6.8±.9 ^c	4.2±.3 ^b	11.6±2.2 ^b	.8±.8 ^a	21.0±2.6 ^h
N1		35.6±4.7 ^c	11.5±2.3 ^b	6.8±1.3 ^b	5.8±.9 ^b	3.4±.6 ^b	11.6±2.4 ^b	1.8±.8 ^a	10.6±2.4 ^e
N2		33.6±.9 ^c	16.6±-6 ^e	10.4±.4 ^e	8.0±.3 ^c	4.3±.b	6.0±1.9 ^b	.8±.6 ^a	6.2±3.3 ^d
N3		19.2±8.0 ^a	9.2±3.8 ^a	5.1±2.1 ^a	5.2±2.1 ^a	4.1±.1 ^b	7.6±4.1 ^b	3.8±1.6 ^a	6.6±4.1 ^d
N5		37.6±3.3 ^d	16.4±.7 ^e	9.9±.3 ^e	8.4±.4 ^c	4.4±.1 ^b	13.8±1.6 ^b	5.2±2.5 ^a	1.6±1.2 ^c
J3		35.6±1.8 ^c	19.3±.8 ^g	10.6±.5 ^e	9.6±.4 ^d	4.9±.3 ^b	16.2±4.2 ^b	2.4±1.9 ^a	9.8±1.5 ^e
J4		28.6±3.4 ^c	20.9±2.4 ⁱ	12.3±1.4 ^g	10.6±1.6 ^e	5.4±.7 ^c	20.8±1.8 ^b	.2±.2 ^a	.8±.4 ^b

O3	41.8±3.5 ^d	17.0±.7 ^f	9.7±.2 ^e	7.8±.3 ^c	4.8±.0 ^b	18.6±2.9 ^b	11.4±4.5 ^a	20.2±4.4 ^g
C3	25.2±1.7 ^b	19.5±.7 ^g	11.5±.4 ^f	10.4±.5 ^e	5.1±.5 ^b	6.0±3.2 ^b	.4±.4 ^a	18.6±3.9 ^f
C7	41.0±3.0 ^d	16.1±.8 ^e	9.0±.4 ^d	7.6±.4 ^c	4.5±.3 ^b	21.6±7.6 ^b	11.0±4.7 ^a	34.2±6.7 ^k
C1	32.6±4.2 ^c	17.3±.9 ^f	9.2±.5 ^d	8.2±.1 ^c	4.6±.6 ^b	15.4±5.0 ^b	6.2±3.7 ^a	18.2±3.5 ^f
C4	45.0±3.1 ^e	15.8±.7 ^e	8.9±.2 ^c	7.6±.4 ^c	4.4±.1 ^b	24.4±2.8 ^b	4.6±2.0 ^a	14.8±2.9 ^f
C5	44.2±4.4 ^e	16.5±1.0 ^e	9.3±.5 ^d	8.7±1.1 ^c	4.5±.3 ^b	20.4±1.4 ^b	1.0±.8 ^a	24.6±1.3 ⁱ
V2	35.8±4.1 ^c	19.6±3.0 ^h	10.9±1.9 ^e	8.4±1.8 ^c	4.4±.9 ^b	24.6±3. ^b	8.6±2.3 ^a	9.6±1.4 ^e
V3	37.4±2.1 ^c	16.4±.1 ^e	9.7±.3 ^e	8.5±.2 ^c	4.6±.1 ^b	14.8±3.8 ^b	9.4±2.5 ^a	10.4±2.1 ^e
V1	32.2±2.2 ^c	19.1±1.0 ^f	11.3±.8 ^f	10.4±.8 ^e	4.8±1.3 ^b	2.4±1.7 ^a	3.0±1.4 ^a	11.6±4.2 ^e
M1	34.6±1.1 ^c	16.4±.5 ^e	10.1±.2 ^e	8.2±.4 ^c	4.6±.1 ^b	25.6±3.7 ^c	26.6±6.9 ^c	14.6±2.9 ^f
H5	34.2±2.4 ^c	17.3±.6 ^f	9.2±.4 ^d	9.2±.3 ^c	4.1± ^b	26.2±12.4 ^c	6.2±3.9 ^a	27.0±9.8 ^j
H2	35.2±2.6 ^c	14.5±.4 ^c	8.9±.5 ^d	7.2±.2 ^c	4.0±.1 ^b	16.0±3.5 ^b	6.2±3.7 ^a	6.8±2.2 ^d
H1	28.2±2.7 ^c	18.8±.5 ^f	10.4±.4 ^e	9.6±.2 ^d	5.0±.1 ^b	13.2±3.1 ^b	3.4±2.0 ^a	15.8±2.6 ^f
H4	34.6±1.7 ^c	16.5±.5 ^e	10.0±.3 ^e	8.9±.3 ^c	4.3±.1 ^b	15.2±2.3 ^b	2.8±1.7 ^a	15.8±9.0 ^f
H3	30.4±1.7 ^c	12.5±2.3 ^d	7.1±1.3 ^c	5.9±1.2 ^c	2.8±.5 ^b	11.0±4.6 ^b	2.8±.9 ^a	21.4±3.1 ^f
M2	38.6±2.9 ^d	14.6±.8 ^e	9.7±.5 ^f	7.5±.3 ^c	4.3±.3 ^c	10.8±4.2 ^b	7.6±2.7 ^a	11.0±3.6 ^c
Total	34.6±.6	16.3±.3	9.5±.2	8.2±.1	4.4±.1	15.9±.8	5.0±.5	12.6±.8

Medias seguidas de letra diferentes en las columnas, son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).
Tricomas.

El análisis realizado para los tricomas presentes en *Q. elliptica*, mediante electro micrografías reveló la forma y tipo de tricomas coinciden con los que se han descrito anteriormente en el estudio realizado por Rodríguez-Rivera y Romero-Rangel (2007), donde mencionan que en el envés se encuentran pelos estrellados de 5 a 7 ramas, con estípites largo principalmente en las axilas y en la vena primaria Fig. (18). Aunque los tricomas son importantes para cuestiones de

caracterización de especies principalmente en el caso de *Quercus sp.* (Valencia y Delgado, 2003). En otros trabajos se considera que tienen otras funciones como la reducción de la evapotranspiración, protección del ataque de fitófagos, además de ser un recubrimiento en forma de pubescencia (Gibson y Turner, 1977).

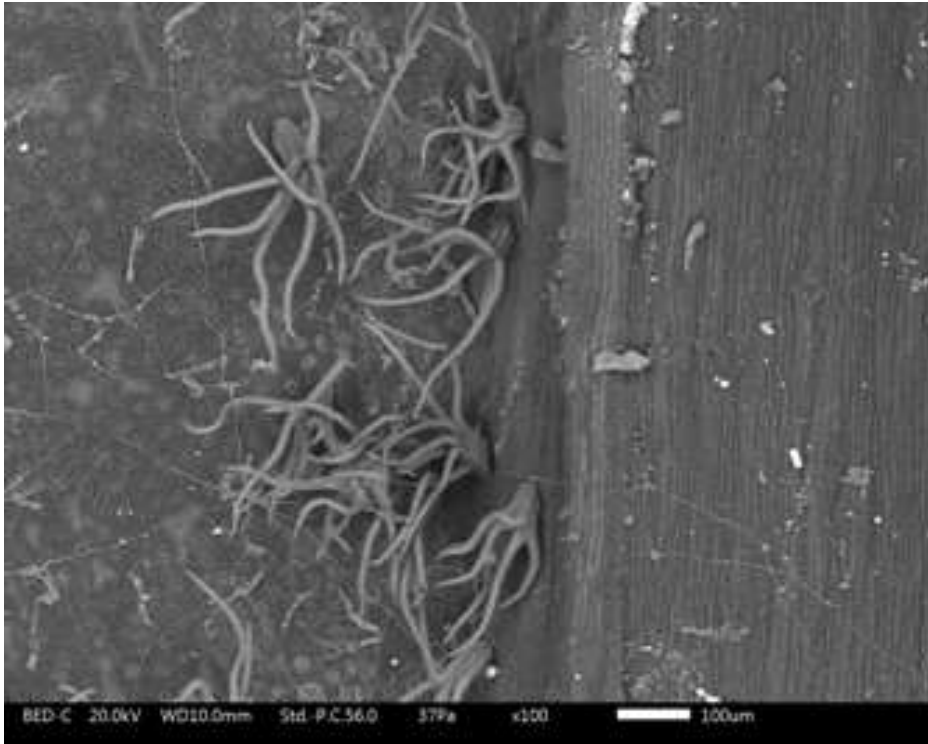


Figura 18. Tricomas de forma estrellada con 5 a 7 ramas en la superficie foliar de *Q. elliptica*

Tejidos de parénquima de empalizada y esponjoso

Tejido del mesófilo. Nuestros resultados muestran que el tejido Parénquima empalizada está correlacionado de manera positiva con el promedio de temperatura anual (BIO1), con la estacionalidad de la temperatura (BIO11) y con

el Índice de Aridez (IA) ,aunque no son estadísticamente significativas ($p \leq .074$, $p \leq .077$ y $p \leq .138$ respectivamente). Fig. (19).

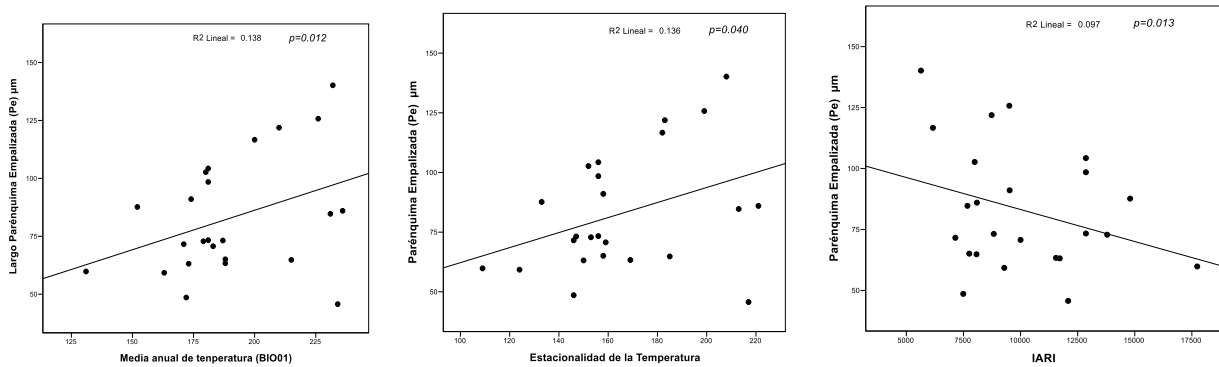


Figura 19. Correlación del Largo del parénquima de empalizada con variables de temperatura e índice de aridez

Por el contrario el tejido de la epidermis (Te) estuvo correlacionado con las variables ambientales, promedio precipitación anual (BIO12) disminuyendo de manera significativa ($p \leq .013$) en sitios con mayor cantidad de precipitación. Con la estacionalidad de la precipitación (BIO15) aumentando significativamente ($p \leq .040$) el valor en sitios con mayor estacionalidad. Con la precipitación del trimestre más seco (BIO17) disminuyendo el valor en lugares dónde la precipitación aumenta de manera significativa ($p \leq .025$). El largo disminuye significativamente ($p \leq .013$) en poblaciones dónde el índice de aridez (IA) aumenta, fig. (20)

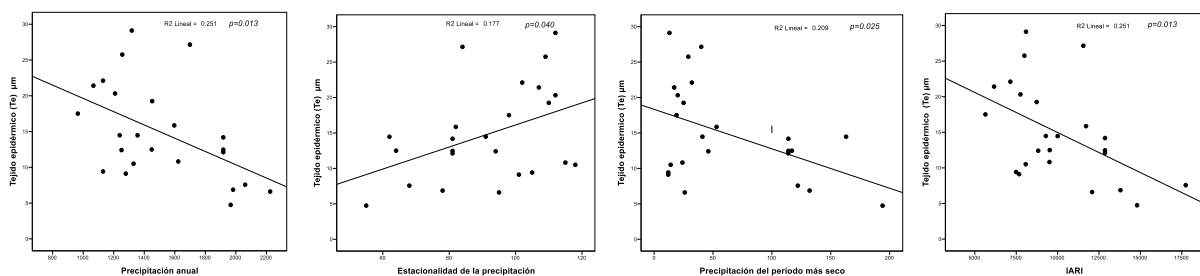


Figura 20. Correlación del tejido esponjoso con variables de precipitación e índice de aridez

El tejido parénquima empalizada se localiza donde se ubican dos capas de células tubulares y alargadas cerca de la epidermis abaxial, enseguida se encuentra parénquima esponjoso que son células irregulares, más anchos que el tejido de parénquima de empalizada localizado en la zona abaxial de la lámina foliar, en la Fig. (21) se aprecia un corte transversal, donde se pueden observar los diferentes tejidos, epidermis, parénquima empalizada y parénquima esponjoso

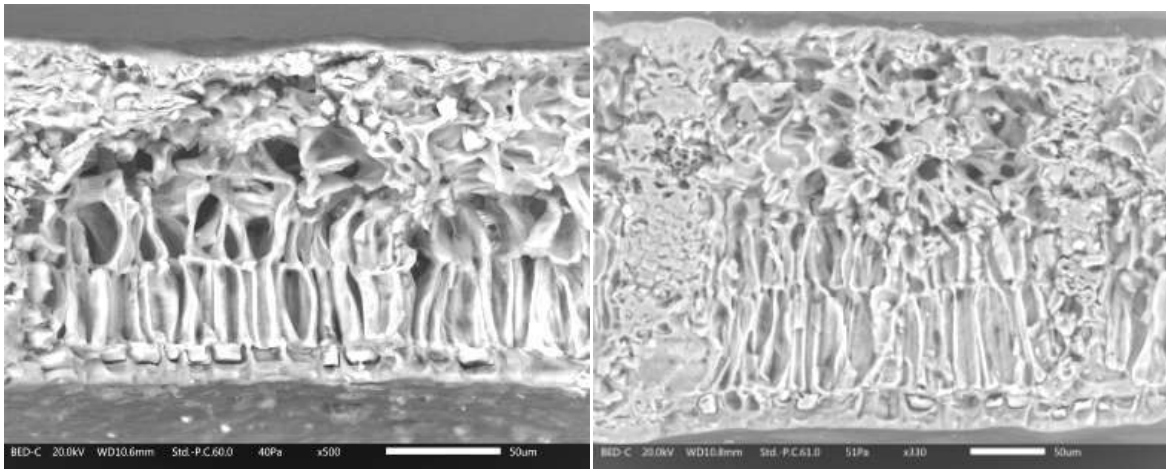


Figura 21. Corte transversal de la hoja de *Q. elliptica* que muestra simetría dorsiventral (hoja bifacial), con proporciones de parénquima empalizada y parénquima esponjoso, en poblaciones del Pacífico y poblaciones ubicadas en el Golfo-CentroAmérica

Las poblaciones se agruparon de acuerdo a los resultados obtenidos por Maya-García et al (datos no publicados) y poder compara los valores aquí

reportados. La media más alta para el tejido de parénquima de empalizada se observa que para el grupo del Pacífico se obtuvo un valor de $72,73 \pm 10.72$ $72.73 \pm 10.32 \mu\text{m}$ ($p=0.814$); mientras que para el grupo 2 del Golfo el valor fue más bajo $61.29 \pm 2.81 \mu\text{m}$ ($p=0.361$). Aunque los valores no fueron estadísticamente significativos. Aunque los valores no fueron estadísticamente significativos. Para el tejido de parénquima esponjoso las poblaciones que se encuentran en el Pacífico presentaron valores más altos para este tejido $90.41 \pm 8.91 \mu\text{m}$ ($p= 0.224$), en tanto que las poblaciones ubicadas en el Golfo- América Central

La media reportada es un valor más bajo $78.46 \pm 6.20 \mu\text{m}$ ($p=0.25$), siendo valores estadísticamente no significativos. Únicamente el tejido de epidérmico presentó valores estadísticamente significativos, para el grupo del Pacífico (18.62 ± 2.01 $p=0.021$), para el grupo del Golfo de México –Centro América (12.18 ± 1.53 , $p=0.021$) (Tabla14). Los resultados obtenidos parecen confirmar, aunque de forma menos clara cuando se comparan las poblaciones del Pacífico y Golfo-América Central un cierto grado de aclimatación de las poblaciones en función de las condiciones ambientales. Aunque estos resultados hay que tomarlos con reserva ya que este análisis asume P_e y P_s tienen el mismo efecto a nivel de grupo, es decir que el efecto no se considera significativo, es muy baja la probabilidad de observar un mayor efecto debido posiblemente a que el tamaño de muestra fue muy pequeño, asumiendo que se proporcionaron valores de réplica, es necesario asumir que no hay interacción. De acuerdo al resultado obtenido en varios trabajos realizados en especies de árboles como *Fagus silvatica* y *Acer platanoides*, árboles de amplia copa dónde reportaron variabilidad de las hojas dentro de un mismo individuo, determinan que el tejido

de empalizada está más desarrollado en hojas que se encuentran expuestas al sol, además de que son más gruesas mientras que las hojas más delgadas están a la sombra.

Tabla 14. Valores de media comparativos de acuerdo a los resultados obtenidos por Maya-García et al (2019 en prensa), para dos grupos morfológicos Pacífico (1) y Golfo-América Central. Para tejidos parénquima empalizada, esponjoso y de epidermis.

Caracter	Grupo	N	Media	Media	D. E.
Pa	1	10	148.8290	38.72693	12.24653
	2	14	152.9343	45.57913	12.18153
Ps	1	10	88.6890	25.79516	8.15714
	2	14	78.8429	24.88190	6.64997
Pw	1	10	154.7240	39.78711	12.58179
	2	14	181.0850	63.20049	16.89104
Te	1.0	10	18.6200	6.38446	2.01894
	2.0	14	12.1864	5.73910	1.53384
Ta	1.0	10	139.6290	54.95707	17.37895
	2.0	14	152.7821	51.52587	13.77087

Conclusiones

En este trabajo se logró ampliar la información existente sobre la anatomía foliar de *Q. elliptica*. Se encontró que algunas características anatómicas foliares

podieran depender de las condiciones ambientales de temperatura y precipitación así como las condiciones de aridez presentes en los sitios donde se establecen las poblaciones.

Literatura citada

- Arbo MM, González AM. 2008. Botánica Morfológica, Morfología de Plantas Vasculares. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, República de Argentina.
- Aasaman K, Sober A, Rahi M. 2001. Leaf anatomical characteristic associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Australian Journal of Plant Physiology* **28**: 765-774.
- Chapolagh-Paridari I, Gholamali-Jalali S, Sonboli A, Zarafshar M y Bruschi P. 2013. Leaf macro and micro-morphological altitudinal variability of *Carpinus betulus* in the Hyrcanian forest (Iran). *Journal of Forestry Research* **24**(2): 301-307. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11676-013-0353-x>
- Dickison A. 2000. Integrative plant anatomy. Harcourt, Academic press. San Diego, California. EE.UU. Capítulos 12-16.
- Drake P, Froend R, y Franks P. 2013. Estomas más pequeñas y rápidas: Escala de tamaño de estomas, índice de respuesta y conductancia estomática. (En inglés) *Journal of Experimental Botany* **64**: 495-505
- Esau K. 1976. Anatomía Vegetal. Editorial Omega. Barcelana

- Flores-Vianda.2013. La planta: Estructura y Función: Instituto Tecnológico de Costa RicaEbokISBN: 9789977662930
- Jiménez MP, Díaz-Fernández PM, Iglesias S, De Tuero, M, Gil L. 1996. Las regiones de procedencia de *Quercus ilex L.* en España. Ministerios de Agricultura y Pesca, Madrid
- Gibson R, Turner WRH. 1977. Insect trapping hairs on potato plants. *PANS*. **22**:272-277.
- Hetherington AM, Woodward FI. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* **21**: 901-908.
- Lohbeck M, Poorter L, Lebrija E, Martinez-Ramos M, Meave J, Paz H, Bongers F. (2013). Successional changes in functional composition contrasts for dry and wet tropical forest. *Ecology*. **94** (6)(February 2016), 1211–1216.
- Martin C, y Glover B. 2007. Aspectos funcionales del patrón celular en la epidermis aérea. (En inglés) *Curren Opinion Plant Biology* **10**:70-82.
- Martínez GM, Espinosa MMS. 2005. Tricomas Foliares de Croton Sección Barhamia (Euphorbiaceae). *Acta Botánica Mexicana* **72**: 39-51.
- Peter AJ y Shanower TG. (1998). Plant glandular trichomes. Chemical factories with many potential uses. *Resonance*, 41-45.
- Roth IT, Merida y Lindorf H. 1986. Morfología y anatomía foliar de plantas de la selva nublada de Rancho Grande. Parque Nacional “Henry Pittier”.El ambiente físico, ecología general y anatomía vegetal. Fondo Editorial Acta Científica Venezolana 205-241 p

- Rudall PJ. 2007. *Anatomy of Flowering Plants An Introduction to Structure and Development*. Ed. Cambridge University Press. Cambridge, Reino Unido. 145 pp.
- Salgado-Negrete B, Pérez F, Markesteijn L, Jiménez-Castillo M, Armesto JJ. 2013. Diverging drought-tolerance strategies explain tree species distribution along a fog-dependent moisture gradient in a temperate rain forest. *Oecologia* **173**:625-635. DOI:<https://doi.org/10.1007/s00442-013-2650-7>
- Taylor S, Franks P, Hulme S, Spriggs E, Christin P, Edwards E, Woodward F, y Osborne C. 2012. Vía fotosintética y adaptación ecológica que explican las características estomáticas y diversidad entre pastos. (En inglés) *New Phytol.* **193**:387-396.
- Theobald W L, KrahulikJ L, Rollins RC. 1988. Trichome Description and Classification in *Anatomy of the Dicotyledons*. Ed. R. Metcalfe y L. Chalk. Vol I, 2ª Edición. Oxford University Press. Oxford, Reino Unido. Pp. 40-53
- Rodríguez Rivera IS & Romero Rangel S. 2007. Arquitectura foliar de diez especies de encino (*Quercus*, Fagaceae) de México. *Acta botánica mexicana*, **81**, 09-34.
- Rzedowski J. y Calderón C. 1987. El bosque tropical caducifolio en la región mexicana del Bajío. *Trace***12**: 12-21
- RuizM, D. Nieto D y Larios I. 1962. *Tratado elemental de botánica*. Séptima edición. Editorial E.C.L.A.L. México. 730 p.
- Sánchez-Díaz M. y Aguirreolea J. 1996. Relaciones hídricas. In: Azcón-Bieto, J. y M. Talón (eds.). *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Edigrafos. Madrid. pp. 49-90.

Taiz L. y Zeiger E. 2006. *Plant Physiology*. 4th ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

Valencia-Ávalos S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México.

Boletín de la Sociedad Botánica de México **75**:33-

53. DOI.org/10.17129/botsci.1692

Valencia-Ávalos S, Delgado-Salinas A. 2003. Los tricomas foliares en la caracterización de un grupo de especies del género *Quercus*, sección *Lobatae* (Fagaceae) *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*, vol. **74**, pp. 5-15 Universidad Nacional Autónoma de México Distrito Federal, México

Villarreal Q J A. 1993. *Introducción a la Botánica Forestal*. Ed. Trillas: UAAAN. México

Wilkinson, H. 1979. The Plant Superficial (mainly leaf). In: C.R. Metcalfe y Chalk Ed. *Anatomy of Dicotyledons*. Oxford, Clarendon Press. London. pp. 97-165.