

FILOGEOGRAFIA Y PATRONES DE VARIACIÓN DEL ADN DE CLOROPLASTO DE TRES ESPECIES DE ROBLES ROJOS (QUERCUS SPP.: FAGACEAE) EN MÉXICO



Natalia Trujillo-Arias

Antonio González-Rodríguez

RESUMEN

Quercus es uno de los grupos de árboles más diversos con cerca de 500 especies, de las cuales aproximadamente 150 se encuentran distribuidas en México. Es común encontrar comunidades con varias especies intermezcladas de robles, lo cual genera sucesos de hibridación entre diferentes especies. En este estudio se evaluó el complejo formado por *Q. hypoleucoides*, *Q. scytophylla* y *Q. sideroxyla*, las cuales presentan sobreposición en algunos de sus sitios de distribución y periodos de floración similares. En total, se analizaron 204 individuos pertenecientes a 34 poblaciones distribuidas desde el norte hasta el sur de México, utilizando 4 loci microsátélites de cloroplasto. A partir de estos datos se determinaron 27 haplotipos de los cuales 2 se comparten entre las tres especies, 3 entre *Q. hypoleucoides* y *Q. sideroxyla* y 6 entre *Q. scytophylla* y *Q. sideroxyla*. Los índices de diversidad genética encontrados para las poblaciones ubicadas en las zonas de contacto son más altos que los encontrados en aquellas poblaciones consideradas puras y que se encuentran a los extremos de la distribución de cada especie. Este hecho podría estar indicando que el proceso de hibridación e introgresión entre esas especies incrementa la variación genética dentro de esas poblaciones. Sin embargo, a pesar de existir captura de cloroplasto, se observó a través del AMOVA e índice de fijación R_{ST} una alta diferenciación genética entre esas especies, lo cual se ve soportado también por un dendograma generado a partir del método de UPGMA en el cual se observaron tres agrupaciones correspondientes a las especies bajo estudio. Los grupos definidos presentan relación con las áreas geográficas donde se encuentran distribuidas las poblaciones, lo cual probablemente indica que la dirección de los cambios está influenciada por la ubicación geográfica de la zona híbrida. Por último, a partir del programa BARRIERS se encontraron cinco barreras geográficas y genéticas en la distribución de las tres especies, las cuales al parecer están relacionadas con algunas características climáticas y geográficas correspondientes a cada sistema montañoso.

Palabras clave: Hibridación, introgresión, México, microsátélites de cloroplasto, *Q. hypoleucoides*, *Q. scytophylla* y *Q. sideroxyla*.

INTRODUCCIÓN

El género *Quercus* (Fagaceae) es uno de los grupos de árboles de zonas templadas más diversos, con más de 500 especies distribuidas en todo el mundo (Nixon, 1993). En particular, uno de los centros de diversificación de este género es México, el cual incluye entre 135 y 150 especies, distribuidas en tres secciones: *Quercus* (encinos blancos) con 81

especies, *Protobalanus* (encinos intermedios) con cuatro y *Lobatae* (encinos rojos) con 76, de las cuales 61 son endémicas (Nixon, 1993). En general, es común encontrar comunidades con varias especies de robles entremezcladas, y según varios estudios previos esta simpatria ha generado sucesos de hibridación entre diferentes especies (Valencia y Delgado, 2003; González-Rodríguez *et al.*, 2004, 2005; Tovar-Sánchez y Oyama, 2004; Tovar-Sánchez *et al.*, 2008; Peñaloza-Ramírez *et al.*, 2010).

El fenómeno de hibridación es un proceso natural que ocurre frecuentemente en plantas (Harrison, 1993), el cual produce nuevas combinaciones genéticas por la introducción de genes semicompatibles dentro de otro genotipo, en los que la interacción del medio ambiente y la variación genética pueden aislar un nuevo taxón híbrido de sus progenitores (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004). Este proceso es de gran importancia, ya que juega un papel trascendental en la evolución, por la formación de nuevas especies o el incremento de la variación genética dentro de las mismas (Arnold, 1997). En particular, el género *Quercus* constituye uno de los paradigmas de hibridación en especies vegetales, propuesto como modelo para un concepto de especie más relacionado con criterios ecológicos que con aislamiento reproductivo (Darwin, 1872; Van Valen, 1977), debido a que frecuentemente se observa numerosas formas intermedias entre diferentes especies, lo que ha hecho que sea difícil definir las con base en rasgos morfológicos (Craft y Ashley, 2006) y a puesto en duda el estatus taxonómico de algunas de ellas (Muir *et al.*, 2000). Tal es el caso de las especies de encinos rojos bajo estudio en este caso, *Q. sideroxyla*, *Q. scytophylla* y *Q. hypoleuroides*, las cuales se encuentran en simpatria en diferentes Sierras del sistema montañoso de México y presumiblemente tienen zonas de contacto en donde probablemente hibridan entre sí. Cabe señalar que además de ocurrir simpátricamente en algunas localidades, también se sobrelapan en su distribución altitudinal y en sus periodos de floración, por lo que existe probabilidad de flujo génico entre esas especies (Peñaloza-Ramírez *et al.*, 2010).

En este contexto, el presente estudio está enfocado a analizar el complejo de tres especies de robles rojos (*Q. hypoleuroides*, *Q. scytophylla* y *Q. sideroxyla*), que presentan subreposición en algunos de sus sitios de distribución en México, donde se ha encontrado individuos con morfología intermedia. Por consiguiente y considerando el estudio realizado por Peñaloza-Ramírez *et al.*, (2010) en donde se determinó por medio de microsátélites nucleares la presencia de introgresión entre estas tres especies en la Sierra de Tarahuamara, México, para este estudio se propuso examinar el proceso de hibridación e introgresión entre esas tres especies a nivel de ADN de cloroplasto (ADNcp). Por lo tanto los objetivos de este trabajo fueron: i) determinar los patrones de variación del ADNcp y el grado en que se comparten los haplotipos entre esas especies de robles rojos, y ii) analizar la estructura filogeográfica de esas especies en México, en el contexto de los diferentes procesos históricos que han operado en el país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especies de estudio

Las tres especies analizadas pertenecen a la sección de robles rojos *Lobatae* (Nixon, 1993). *Quercus scytophylla* tiene cerca de 20m de altura y está incluida dentro de la serie *Scytophyllae* (Trelease, 1924). Esta especie está presente en la Sierra Madre Occidental, el

Eje Neo volcánico Transversal y en la Sierra Madre del Sur, entre las altitudes 1400 y 2500 m (Fig 1). *Quercus sideroxyla* es un árbol de cerca de 10m de altura y está incluida en la serie *Sideroxylae* (Trelease, 1924) con poblaciones que se distribuyen en la Sierra Madre Occidental y el Eje Neovolcánico Transversal, en altitudes entre 1800 y 2700 m (Fig. 1). Finalmente *Quercus hypoleuroides* es un árbol de 10-20m de altura incluida en la serie *Hypoleucae* (Trelease, 1924) y tiene una distribución geográfica más limitada que las otras dos especies, con poblaciones en el norte de la Sierra Madre Occidental, Arizona, Nuevo México y Texas, en altitudes de 2000 a 2500m (Fig. 1).

Trabajo de laboratorio

En total se analizaron 204 individuos pertenecientes a 34 poblaciones, 11 poblaciones de *Q. hypoleuroides* (64 individuos), 12 de *Q. sideroxyla* (73 individuos) y 11 de *Q. scytophylla* (67 individuos), previamente colectados en desde el norte al sur de México. El número de individuos por población varió de 4 a 8, los cuales fueron seleccionados con base en sus características morfológicas a partir de la identificación taxonómica por especialistas (Valencia, 2004). La extracción de ADN se realizó a partir de 100mg de tejido foliar empleando el protocolo diseñado por Lefort y Douglas (1999). Se analizaron cuatro loci de microsátelites de cloroplasto, UKK3 y UKK4 diseñados por Deguilloux *et al.*, (2003) y CMCS6 y CMCS10, diseñados por Sebastiani *et al.*, (2004). Las reacciones de PCR tuvieron un volumen final de 6 μ l: 2.5 μ l de ADN, 2.5 μ l de buffer para PCR multiplex (QUIAGEN), 0.6 μ l de mezcla de los cuatro primers y 0.4 μ l de agua. El programa del termociclador consistió en 45 ciclos, cada uno a 95°C por 1 minuto, alineamiento a 48°C por 1 minuto 30 segundos, y extensión a 72°C por 1 minuto. Se incluyó una extensión final de 72°C por 10 minutos. Posteriormente, los productos de la PCR Multiplex fueron combinados con GenScan-500LIZ y corridos en ABI-PRISM 3100-Avant sequencer (Applied Biosystems). Todos los fragmentos obtenidos fueron analizados en el programa Peak Scanner 1.0 (Applied Biosystems).

Análisis Genético

Para determinar el número de haplotipos presentes entre las tres especies analizadas se empleó el programa ARLEQUIN 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005), este programa también fue utilizado para determinar el grado de diferenciación genética entre las tres especies por medio del índice de fijación de Rst usando el modelo de mutación por pasos (SMM, en inglés) mediante un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con 10⁴ permutaciones para determinar la significancia de los estimados de diferenciación. Para describir los patrones de diversidad genética se calcularon el número efectivo de alelos (Ne) y la diversidad haplotípica subpoblacional (h_s) mediante el programa GenAlex 3.0 (Peakall y Smouse, 2006)

Para determinar la relación entre las poblaciones analizadas, fueron calculadas las distancias genéticas estándar de Nei (1978) por medio del programa Microstellite analyzer MAS (Dieringer y Schlotterer, 2003). Posteriormente, se construyó el dendrograma UPGMA que fue visualizado en el programa Splits Tree (Huson y Bryant, 2006)

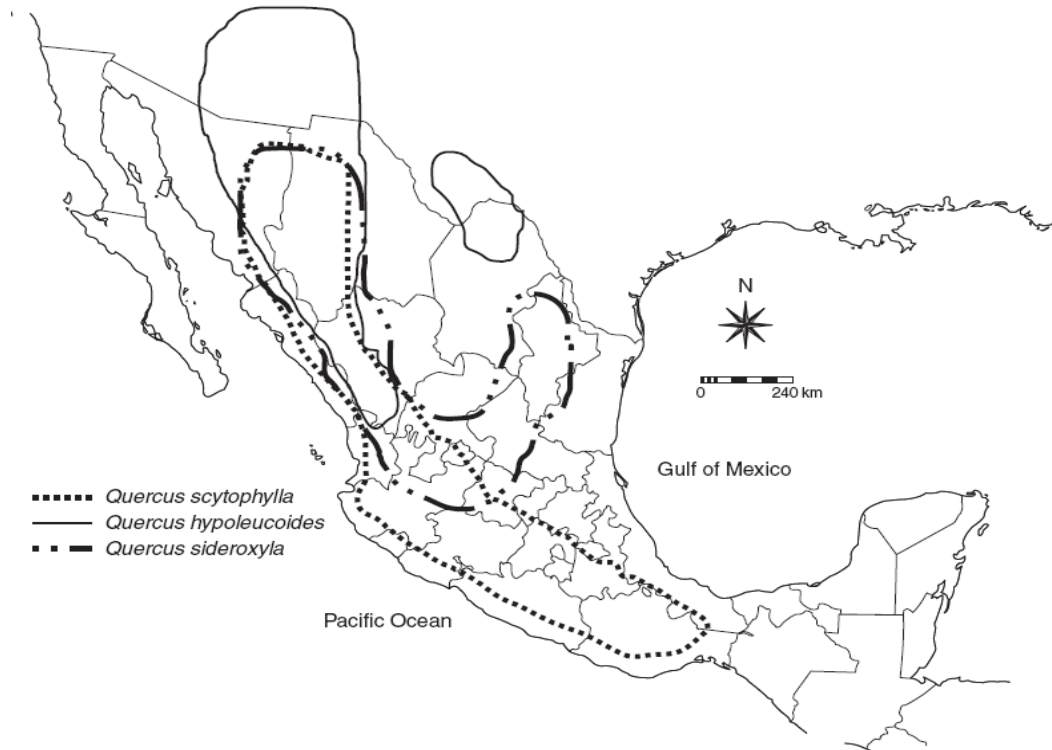


Figura. 1. Distribución geográfica de las tres especies de roble rojo estudiadas, *Q. hypoleucoides*, *Q. scytophylla* y *Q. sideroxyla* (Tomado de Peñaloza-Ramírez et al., 2010).

Análisis de barreras genéticas

Para encontrar las posibles barreras geográficas y genéticas en la distribución de las tres especies se usó el programa Barriers 2.2 (Manni *et al.*, 2004). Este método de análisis usa el algoritmo de máxima diferencia de Monmomial (Monmomial, 1973), para encontrar barreras correlacionadas con las tasas más altas de diferenciación en la matriz de distancia genética. Estas barreras corresponden a las distancias genéticas más grandes entre las poblaciones analizadas. Para el análisis de las barreras se emplearon las distancias genéticas DAN estimadas para las 34 poblaciones.

RESULTADOS

Diversidad y Estructura genética

El análisis de los 4 loci de microsatélites de cloroplasto en las 34 poblaciones permitió identificar en total 27 haplotipos, de los cuales solo 2 haplotipos fueron compartidos entre las tres especies, tres fueron compartidos entre *Q. hypoleucoides* y *Q. sideroxyla* y 6 entre *Q. scytophylla* y *Q. sideroxyla*. En contraste se encontraron 2, 6 y 8 haplotipos para *Q. hypoleucoides*, *Q. scytophylla* y *Q. sideroxyla*, respectivamente (Tabla 1; Fig 1).

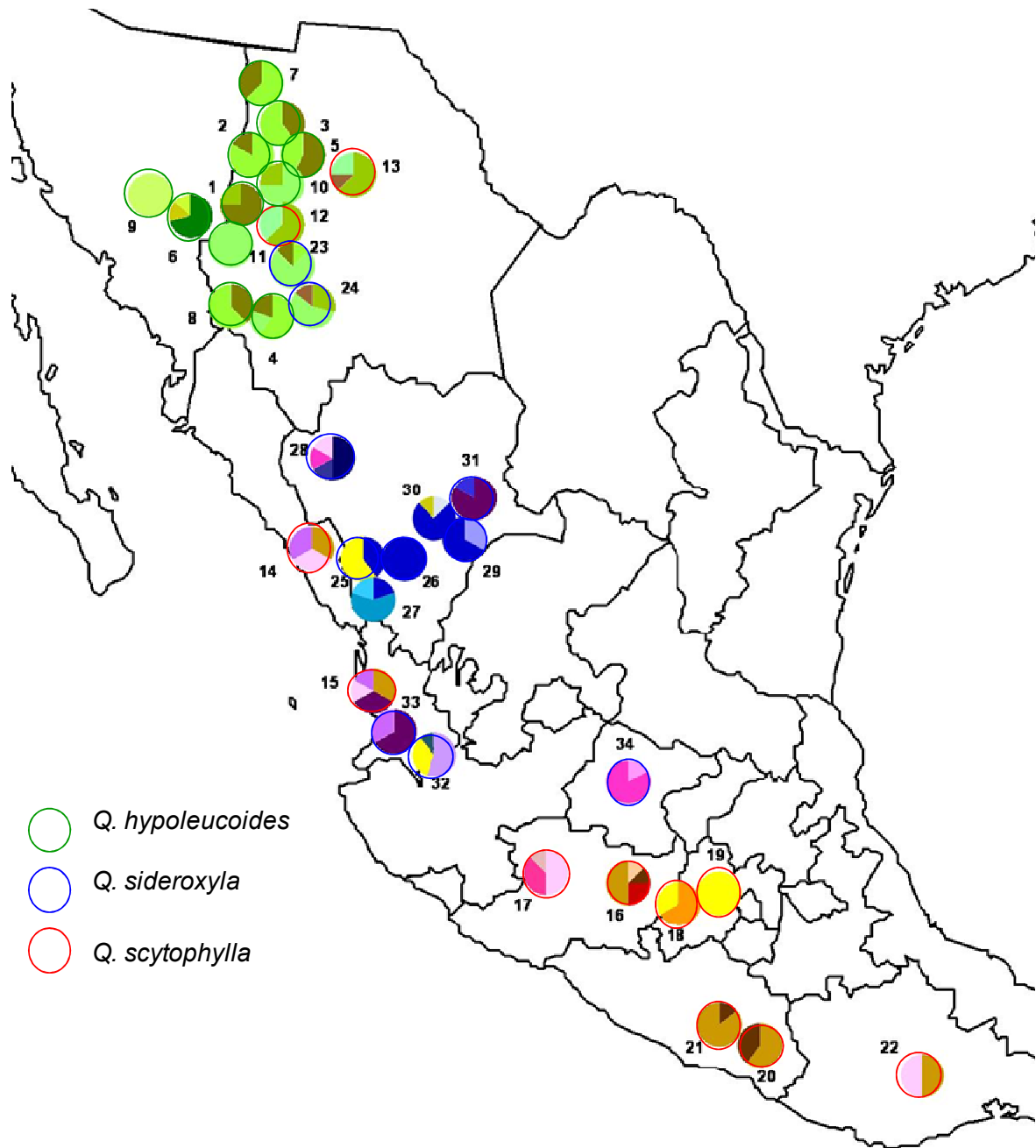


Figura 2. Mapa de las localidades muestreadas. La proporción de color en cada círculo representa la frecuencia de los haplotipos en cada población. El color del contorno de cada círculo indica la especie.

El índice de diversidad haplotípica en las poblaciones de las tres especies varió de 0.000 a 0.417, observándose que la especie con mayor índice de diversidad promedio fue *Q. scytophylla* con 0.178, seguida por *Q. hypoleucoides* con 0.122 y finalmente *Q. sideroxyla* con 0.143 (Tabla 1). La población con mayor índice de diversidad haplotípica en *Q. hypoleucoides* fue Yecora con 0.316, para *Q. scytophylla* fueron Espinazo del Diablo

con 0.417 y Cuarenteño con 0.333 y para *Q. sideroxylla* la población de Buenos Aires presento un índice de diversidad haplotípica de 0.340 (Tabla 1).

Tabla 1. Nombre, coordenadas geográficas, tamaño de muestreo, índices de diversidad genética, número de haplotipos totales (Ht), número de haplotipos únicos (He), tamaño efectivo (Ne) y diversidad haplotípica (h), para las 34 poblaciones de *Quercus hypoleucoides*, *Q. scytophylla* y *Q. sideroxylla*.

	Población	Estado	Coordenadas	Tamaño de muestra	Diversidad Genética			
					Ht / He	Ne	h	
<i>Q. hypoleucoides</i>	1 Km 346	Chihuahua	28° 26'/108° 32'	4	2/0	1,3	0,1875	
	2 Agua amarilla	Chihuahua	29° 11'/108° 14'	6	2/0	1,096	0,069	
	3 Rio chico	Chihuahua	29° 36'/108° 10'	5	2/0	1,231	0,120	
	4 Querari	Chihuahua	27° 11'/107° 32'	5	3/0	1,348	0,200	
	5 Baticora	Chihuahua	29° 13'/107° 49'	7	2/0	1,240	0,122	
	6 Yecora	Sonora	28° 22'/109° 01'	7	3/0	1,549	0,316	
	7 Huracan	Chihuahua	29° 40'/108° 15'	8	2/0	1,221	0,117	
	8 Batopilas	Chihuahua	27° 08'/107° 34'	8	2/0	1,221	0,117	
	9 Puerto Cruz	Sonora	28° 22'/109° 01'	3	1/0	1,000	0,000	
	10 Temosáchic	Chihuahua	29° 14'/107° 58'	8	2/0	1,150	0,094	
	11 Pinos Altos	Chihuahua	28° 15'/108° 19'	3	1/0	1,000	0,000	
	Total					1,214	0,122	
<i>Q. scytophylla</i>	12 Madera	Chihuahua	29° 15'/108° 08'	8	2/0	1,221	0,117	
	13 Poleo	Chihuahua	29° 37'/108° 98'	8	3/0	1,291	0,172	
	14 Espinazo del Di	Sinaloa	23° 34'/105° 50'	6	3/0	1,600	0,333	
	15 Cuarenteño	Nayarit	21° 27'/105° 00'	6	4/0	2,000	0,417	
	16 Villa Madero	Michoacan	19° 19'/101° 22'	7	4/.2	1,412	0,224	
	17 Tzararacua	Michoacan	19° 21'/ 102° 04'	8	3/.1	1,431	0,281	
	18 TemasEd	Estado de Mexico	19° 02'/ 99° 59'	3	2/.1	1,200	0,111	
	19 Tejupilco	Estado de Mexico	19° 02'/100° 03'	5	1/0	1,000	0,000	
	20 Atlixnac	Guerrero	17° 34'/99° 02'	5	2/0	1,231	0,120	
	21 Pozo Largo	Guerrero	17° 36'/99° 05'	7	2/0	1,081	0,061	
	22 Duraznillo	Oaxaca	17° 00'/96° 06'	4	2/0	1,250	0,125	
		Total					1,338	0,178
<i>Q. sideroxylla</i>	23 Maycoba	Chihuahua	28° 17'/108° 06'	8	3/0	1,220	0,148	
	24 Guachochic	Chihuahua	26° 56'/107° 08'	7	3/0	1,253	0,163	
	25 Peñas	Durango	23° 36'/105° 24'	5	2/0	1,231	0,120	
	26 Tecuan	Durango	23° 55'/105° 00'	5	1/0	1,000	0,000	
	27 Buenos Aires	Durango	23° 42'/105° 43'	5	3/.2	1,667	0,340	
	28 Cuevecillas	Durango	25° 02'/106° 16'	6	4/.2	1,400	0,222	
	29 TemasI	Durango	23° 21'/104° 17'	6	2/.1	1,200	0,111	
	30 TemasII	Durango	23° 23'/104° 17'	8	3/.1	1,321	0,195	
	31 TemasIII	Durango	23° 24'/104° 16'	6	2/0	1,096	0,069	
	32 Ceboruco	Nayarit	21° 06'/104° 30'	8	3/.1	1,262	0,160	
	33 Noria	Nayarit	21° 29'/104° 59'	3	2/0	1,200	0,111	
	34 Rosas de Lima	Guanajuato	21° 04'/ 101°12'	6	2/0	1,096	0,069	
		Total					1,245	0,143

El análisis de varianza molecular (AMOVA) reveló que el mayor porcentaje de la variación esta presente entre las especies con 53.58%, mientras que entre las poblaciones de cada grupo y dentro de las poblaciones, el porcentaje de variación es más bajo con 36.77% y 9.65% respectivamente, siendo todos estadísticamente significativos. El índice de

estructuración genética R_{ST} mostró un valor de 0.53 lo que indica que hay un alto grado de estructuración entre las tres especies analizadas.

El dendograma UPGMA generado por la matriz de distancia de Nei, mostró tres grupos los cuales corresponden a las tres especies bajo estudio (Fig. 2). Los grupos definidos en este dendograma presentan una posible relación con las áreas geográficas donde se encuentran distribuidas las poblaciones. El primer grupo hace referencia principalmente a las poblaciones de *Q. hypoleucooides* las cuales se encuentran ubicadas en el norte de México, sin embargo, dentro de este grupo se observa la presencia de dos poblaciones de *Q. sideroxylla* y *Q. scytophylla* que se encuentran en Chihuahua. El segundo grupo, hace referencia a las poblaciones de *Q. sideroxylla* las cuales se encuentran ubicadas en la parte central de México (Durango, Sinaloa y Nayarit), el cual a pesar de pertenecer a la especie mencionada presenta similitud con dos poblaciones de *Q. scytophylla* ubicadas en Sinaloa y Nayarit. Por último, el grupo de *Q. scytophylla* el cual se encuentra distribuido principalmente en la Sierra Madre del Sur y en el Eje Neovolcánico, al igual que el anterior, presenta similitud con dos poblaciones de *Q. sideroxylla*.

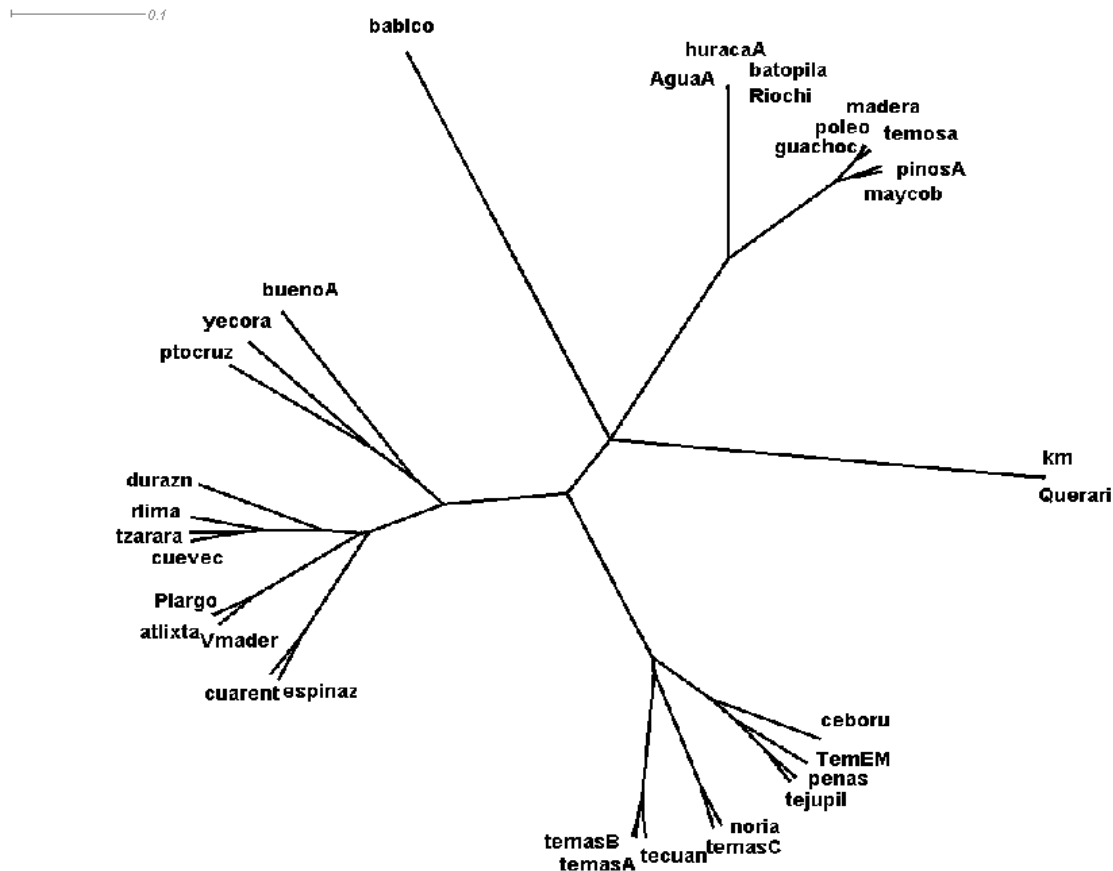


Figura 3. Dendograma bajo el método de UPGMA construido en base a las distancias genética de Nei (1978), empleando el programa Splits tree4.0.

Estimación de Barreras entre las poblaciones

A partir del programa BARRIERS se encontraron cinco barreras genéticas en la distribución de las tres especies todas con valores de soporte de bootstrap superiores al 70% (Fig. 4). La primera barrera (B1) separa las poblaciones presentes en Chihuahua y Sonora de las demás poblaciones distribuidas hacia el sur de México, la segunda barrera (B2) se encuentra ubicada entre las poblaciones presentes en Sonora y Chihuahua, la tercera barrera (B3) separa las poblaciones de Oaxaca y Guerrero de las demás poblaciones presentes en México, la cuarta barrera (B4) separa las poblaciones que se ubican en el noreste del Eje Neovolcánico (Michoacan, Guanajuato) de la población ubicada en el oeste del Eje Neovolcánico (Estado de México), y por último, la barrera cinco (B5) separa las poblaciones ubicadas en la Sierra Madre Occidental de las que se encuentran del Eje Neovolcánico y Sierra Madre del Sur.

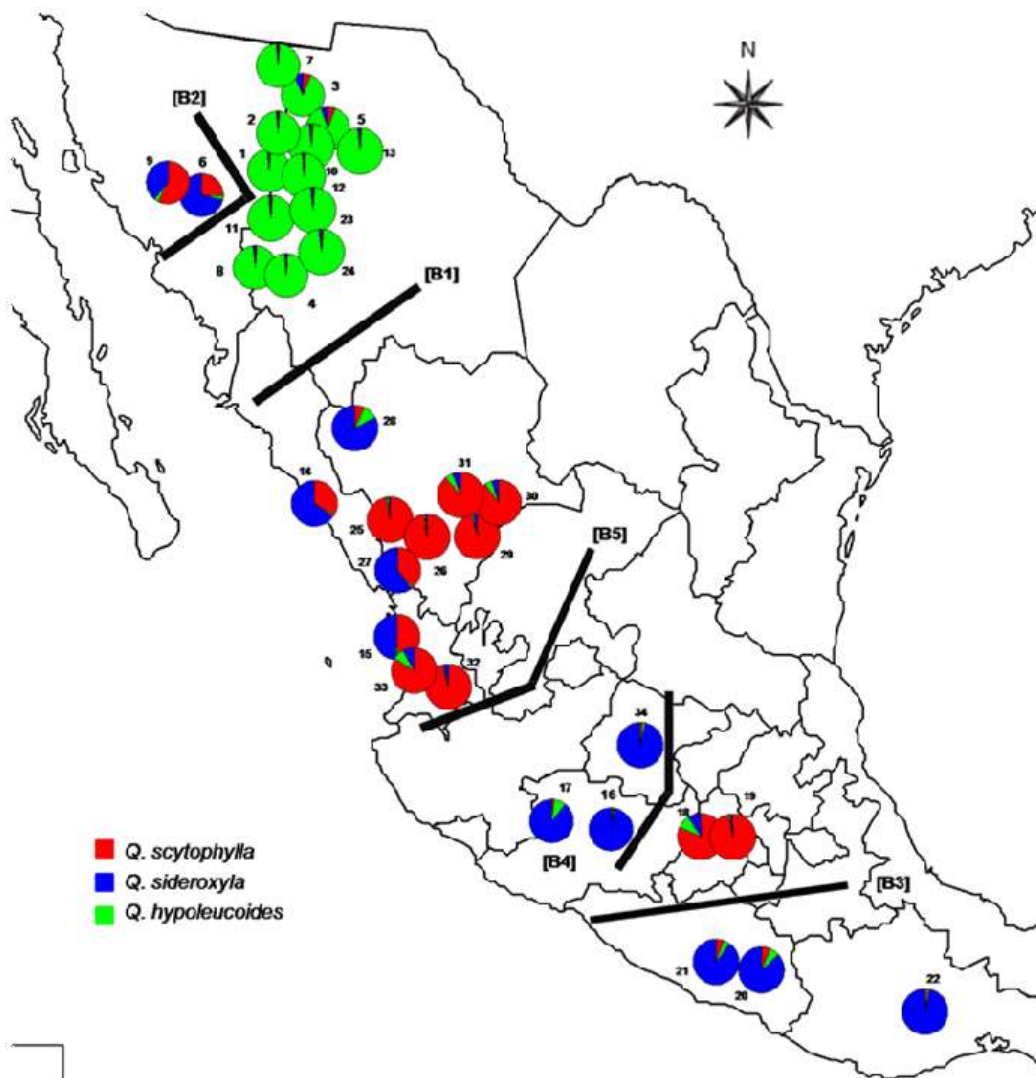


Figura 3. Mapa de las localidades muestreadas. La proporción de color en cada círculo representan los grupos genéticos y las líneas negras representan las barreras calculadas en BARRIERS con base en las distancias genéticas y las coordenadas.

DISCUSIÓN

Los resultados encontrados en este estudio fueron similares a los reportados por Peñaloza-Ramirez *et al.*, (2010) para el complejo de estas tres especies analizadas en la Sierra Tarahumara de México por medio de características foliares y datos del ADN nuclear, ya que reportan hibridación e introgresión entre *Q. hypoleuroides*, *Q. sideroxyla* y *Q. scytophylla*, principalmente en las zonas de contacto. Estos resultados son concordantes con lo encontrado en este estudio en algunas de las poblaciones estudiadas, en las cuales se observó captura de cloroplasto (Madera, Poleo, Maycoba, Guachochic, Yecora, Espinazo del Diablo, Cuarenteño, y Buenos Aires) donde se reportan la presencia de dos o tres de las especies de robles rojos estudiadas.

Los índices de diversidad encontrados para las poblaciones ubicadas en las zonas de contacto son más altos que los encontrados en aquellas poblaciones consideradas puras y que se encuentran a los extremos de la distribución de cada especie, este hecho podría estar indicando que el proceso de hibridación e introgresión presente entre esas especies está incrementando la variación genética dentro de estas poblaciones, ya que las poblaciones como Yecora, Cuarenteño, Espinazo del Diablo y Buenos Aires tienen índices de diversidad haplotípica altos y son poblaciones que presentan captura de cloroplasto. El incremento en la diversidad genética en las poblaciones ubicadas en zonas de hibridación ha sido reportado para varios complejos de especies de roble, tal es el caso del complejo de *Q. affinis* y *Q. laurina* en las cuales se observó que las poblaciones híbridas presentan valores altos de índice de diversidad de Shannon y número de haplotipos, en comparación con poblaciones puras o alopátricas de sus progenitores putativos (González-Rodríguez *et al.*, 2004).

A pesar de la presencia de captura de cloroplasto entre esas tres especies, los análisis de AMOVA y R_{ST} indican que hay estructuración genética entre *Q. hypoleuroides*, *Q. sideroxyla* y *Q. scytophylla*. Esto también fue reportado por Peñaloza-Ramirez *et al.*, (2010) quienes encuentran baja pero significativa estructuración genética para ese complejo de tres especies por medio del análisis de marcadores nucleares. Estos niveles de diferenciación genética a pesar de existir un proceso de introgresión entre especies, también ha sido reportado para el complejo de cuatro especies de robles rojos analizados en California, donde encuentran una alta diferenciación genética mediante el análisis de AFLPs (Dodd y Kashani, 2003)

La estructuración anteriormente mencionada, fue soportada por el dendograma obtenido mediante el método de UPGMA, ya que en este se encontraron tres grupos principales correspondientes a cada especie. Dentro de estos grupos se observan algunas poblaciones que no corresponden morfológicamente a esa agrupación, ya que a nivel genético presenta más similitud con alguna de las otras dos especies como sucede con las poblaciones de Madera, Poleo, Guachochic y Maycoba, las cuales las dos primeras corresponden a *Q. scytophylla* y las dos últimas a *Q. sideroxyla* respectivamente. Estas poblaciones se encuentran ubicadas en el estado de Chihuahua al norte de México donde las poblaciones de *Q. hypoleuroides* predominan, lo cual permite concluir que posiblemente la dirección de los cambios esté influenciada por la ubicación de la zona híbrida, ya que esas poblaciones pertenecientes a las otras dos especies ubicadas al norte de

México registran introgresión direccional de *Q. hypoleuroides*, mientras que en la parte central de este país (Espinazo del Diablo, Cuarenteño y Buenos Aires) la introgresión se da entre *Q. scytophylla* y *Q. sideroxyla*.

Lo anterior, confirma que los patrones de variación en las zonas de hibridación de los robles no siguen clinas simples sino que forman complejas zonas en mosaico caracterizadas por parches de poblaciones puras y una mezcla de poblaciones dispersas en una zona de solapamiento. Por lo tanto, es posible que la subdivisión de la estructura genética en el complejo de esas tres especies se encuentre fuertemente correlacionada con la ubicación geográfica de las poblaciones. Por ejemplo, Tovar-Sánchez y Oyama (2004) para *Q. crassifolia* y *Q. crassipes* encontraron que la introgresión en dicho complejo depende de la localización de la zona de hibridación, y que a pesar de existir introgresión, *Q. crassifolia* se mantiene distingible de *Q. crassipes*. Según Petit *et al.*, (2002), la variación citoplasmática entre las especies tiene una mayor relación con la ubicación geográfica que con la composición taxonómica de las poblaciones. Esto mismo ha sido encontrado en las especies de robles blancos distribuidas en Europa (Whittemore y Schaal, 1991; Petit *et al.*, 1993).

A partir de los resultados obtenidos en el programa BARRIERS se encontraron cinco barreras genéticas en la distribución de las tres especies, la primera barrera separa las poblaciones presentes en Chihuahua y Sonora de las demás poblaciones distribuidas hacia el sur de México, esta barrera está justo en la parte del sur de Chihuahua, y posiblemente hace referencia al altiplano mexicano, la cual es una zona caracterizada por ser seca y calurosa. La segunda barrera se encuentra ubicada entre las poblaciones presentes en Sonora y Chihuahua, esta barrera está más relacionada con la composición genética de estas dos poblaciones (Puerto Cruz y Yecora) ya que a pesar de pertenecer morfológicamente a *Q. hypoleuroides*, en su composición haplotípica está más relacionada con *Q. sideroxyla* y *Q. scytophylla*. La barrera tres (B3) separa las poblaciones de Oaxaca y Guerrero de las demás poblaciones presentes en México, esta barrera posiblemente se deba a la depresión del balsas el cual presenta algunas características climáticas particulares que puede estar influenciando la separación entre esas poblaciones. Esta barrera también fue encontrada para las poblaciones de *Q. castanea* distribuidas en México (Peñaloza-Ramírez *et al.*, 2010; *datos sin publicar*), lo que permite pensar, que posiblemente algunas especies presentan patrones similares de distribución. La cuarta barrera, está situada entre las poblaciones ubicadas en el Eje Neovolcánico, el cual presenta características particulares en el noreste y oeste lo que posiblemente genera la separación entre esas poblaciones, y por último la quinta barrera está ubicada justo donde termina la Sierra Madre Occidental y empieza el Eje Neovolcánico, lo cual posiblemente está indicando que el cambio en la vegetación, altura y clima en esta zona, está generando posiblemente algún proceso de diferenciación entre las poblaciones ubicadas en la parte norte de México en relación a las ubicadas en el Eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur.

A la luz de la evidencia publicada en otros trabajos y los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que hay presencia de hibridación e introgresión entre las tres especies bajo estudio, ya que se observa captura de cloroplasto entre *Q. hypoleuroides*, *Q. sideroxyla* y *Q. scytophylla* principalmente en las poblaciones que se encuentran en las zonas de contacto. Lo cual soporta el planteamiento de Hardin (1975) quien indica que el

aislamiento reproductivo entre especies de *Quercus* cercanamente relacionadas es generalmente débil. También se puede concluir que el proceso de introgresión genética posiblemente está incrementando la diversidad de algunas poblaciones ubicadas en las zonas de contacto y que posiblemente la dirección de los cambios este influenciada por la localización geográfica de la zona de hibridación, como se observó en las poblaciones localizadas en el estado de Chihuahua. Por último, se concluye que algunas características geográficas y climáticas de los sistemas montañosos de México pueden estar ejerciendo como barreras entre esas poblaciones, tal es el caso de la depresión del balsas que también ha sido reportada para *Q. castanea* (Peñaloza-Ramirez *et al.*, 2010; *datos sin publicar*).

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo agradecen principalmente a Red Latinoamericana de Botánica (RLB-Andrew W. Mellon Foundation Grant 2010-2011, código **RLB2010-P13**) por el apoyo financiero y logístico brindado para llevar a cabo este trabajo de investigación. Al Centro de Investigación en Ecosistemas (CIEco) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por su apoyo técnico y logístico para el análisis de las muestras. A Juan Manuel Peñaloza por la asesoría en el laboratorio y análisis de datos, al igual que al Dr. Ken Oyama por todas sus sugerencias. También agradecemos a todos los integrantes del laboratorio que en algún momento nos brindaron su ayuda.

BIBLIOGRAFÍA

- Arnold, M.L. 1997. *Natural hybridization and evolution*. Oxford: Oxford University Press.
- Craft, K.J y Ashley, M.V. 2006. Population differentiation among three species of white oak in northeastern Illinois. *Canadian Journal of Forest Research* 36: 206-215.
- Darwin, C. 1872. *The origin of the species by natural selection*. 6th ed. John Murray, London UK.
- Deguilloux, M.F., Dumolin-Lapegue, S., Gielly, L., Grivet, D. y Petit R.J. 2003. A set of primers for the amplification of chloroplast microsatellites in *Quercus*. *Molecular Ecology Notes*, **3**, 24–27.
- Dieringer, D y Schlotterer, C. 2003. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes*
- Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S. 2005. Arlequin ver 3.01. An Integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, **1**, 47–60.
- Gonzalez-Rodriguez, A., Arias, D. M., Oyama, K. 2005. Genetic variation and differentiation of populations within the *Quercus affinis-Quercus laurina* (Fagaceae) complex analyzed with RAPD markers. *Canadian Journal of Botany* 83: 153-162.

Gonzalez-Rodriguez, A., Arias, D. M., Valencia, S y Oyama, K. 2004. Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Quercus affinis* and *quercus laurina* (Fagaceae) two Mexican red oaks. *American Journal of Botany*, 91: 401-409.

Hardin, J.W. 1975. Hybridization and introgression in *Quercus alba*. *Journal of the Arnold Arboretum* 56: 336-363.

Harrison, R. G. 1993. Hybrids and hybrid zones: historical perspective. En R. G. Harrison [ed.], *Hybrid zones and the evolutionary process*, 3–12. Oxford University Press, Oxford, UK.

Huson, D.H y Bryant, D. 2006. Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies, *Molecular Biology and Evolution*, 23(2):254-267. software available from www.splitstree.org

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

Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetic*, 89: 583-590.

Nixon, K.C. 1993. The genus *Quercus* in Mexico. *Biological diversity of Mexico: origins and distribution* (ed. by T.P. Ramamoorthy R. Bye A. Lot and J. Fa) pp. 447-458 Oxford University Press. New York USA.

Manni, F., Guérard, 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.

Monmonier, M. 1973. Maximum-difference barriers: an alternative numerical regionalization method. *Geographical Analysis*, 3, 245–261.

Muir G, Fleming CC, Schlötterer C. 2000. Species status of hybridizing oaks. *Nature*, 405, 1016–1016.

Peakall, R y Smouse, P. E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology notes*. 6, 288-295.

Peñaloza-Ramirez. J.M, Gonzalez-Rodriguez, A, Mendoza-Cuenca, L, Caron, H, Kremer, A y Oyama, K. 2010. Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Annals of Botany* pp 1-11.

Peñaloza-Ramirez, J.M., Gonzalez-Rodriguez, 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. *Datos sin publicar*.

Petit, R.J., Kember, A y Wagner, D. B. 1993. Geographyc estructure of chloroplast DNA polymorphism in European oaks. *Theor. Appl. Genet*, 87: 122-128.

Petit, R.J., Csaikl, U.M., Bordacs, S., Burg, K., Coart, E., Cottrell, J., Van Dam, B., Deans, J.D., Dumolin-Lapegue, S., Fineschi, S., Finkeldey, R., Gillies, A., Glaz, I., Goicoechea, P.G., Jensen, J.S., Konig, A.O., Lowe, A.L., Madsen, S.F., Matyas, G., Munro, R.C., Olalde, M., Pemonge, M.H., Popescu, F., Slade, D., Tabbener, H., Turchini, D., de Vries, S.G.M., Ziegenhagen, B. y Kremer A. 2002. Chloroplast DNA variation in European white oaks phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecology and Management*, **156**, 5-26.

Sebastiani, F., Carnevale, S y Vendramin, G.G. 2004. A new set of mono- and dinucleotide chloroplast microsatellites in *Fagaceae* *Molecular Ecology Notes*, **4**, 259-261.

Trelease, W. 1924. The American oaks. *Memories of the National Academy of Science* 20: 1-255.

Tovar-Sanchez, E y Oyama, K. 2004. Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in México: Morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany* 91(9): 1352–1363.

Tovar-Sanchez, E., Mussali-Galante, P., Esteban-Jimenez, R., Piñero, D., Arias. D. M., Dorado, O y Oyama, K. 2008. Chloroplast DNA polymorphism reveals geographic structure and introgression in *Quercus crassifolia* x *Quercus craddipes* complex in Mexico. *Botany*, 86: 228-239.

Valencia, A.S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 75, 33-53.

Valencia, S y Delgado, A. 2003. los tricomas foliares en la caracterizacion de un grupo de especies del género *Quercus*, Sección Lobatae (Fagaceae). *Anuales del Instituto de Biología*, 74: 5-15.

Valencia, A.S. 1995., Contribución al conocimiento del género *Quercus* (Fagaceae) en el estado de Guerrero, México. Coordinación de Servicios Editoriales, Facultad de Ciencias, UNAM.

Van Devender, T.R. 1990. Late Quaternary vegetation and climate of the Chihuahuan Desert, United States and Mexico. *Packrat Middens: The Last 40,000 Years of Biotic Change* (ed. J. L. Betancourt T. R. Van Devender and P. S. Martin), pp. 104–133. Univ. Arizona Press, Tucson.

Van Valen, L. 1977. Ecological species, multispecies and oaks. *Taxon*, 25: 233-239.

