



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGIA

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**“Variación morfológica y genética de *Salix
bonplandiana* (Salicaceae) en México”**

TESIS

PRESENTA

RICARDO ERNESTO DURAN ZARCO

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Asesor de tesis

Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores

Co-asesor de tesis

Dr. Pablo Cuevas Reyes

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO AGOSTO DEL 2015

AGRADECIMIENTOS

A las instituciones y programas que hicieron posible el desarrollo de esta tesis:

A mi alma Mater, La Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo que me dio la oportunidad de desarrollarme académicamente y de desarrollar el carácter que me llevo a soñar y alcanzar cada meta profesional.

Al Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas de la UMSNH por haberme aceptado como alumno y por su amplio criterio ante las adversidades.

A la Universidad Nacional Autónoma de México en particular al IIES campus Morelia, por facilitar sus instalaciones y equipo para el desarrollo de gran parte de este trabajo.

A la Universidad Federal de Minas Gerais por recibirme en una estancia de investigación la cual fue de alto valor académico y personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por haberme otorgado una beca para realizar mis estudios y una estancia en el extranjero.

Agradezco también el apoyo económico del proyecto UNAM-DGAPA-PAPIIT IN203411 "Genética de la conservación de árboles de los bosques templados de México" y el proyecto SEP-CONACYT No. 130773 "Filogeografía comparada de especies latifoliadas de árboles de los bosques templados de México".

A todo mi comité

Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores, Dr. Pablo Cuevas Reyes, Dr. Antonio González Rodríguez, Dr. Luis Felipe Mendoza Cuenca, Dr. Omar Chassin Noria, Dr. Geraldo Wilson Fernades.

Agradezco profundamente cada una de sus observaciones, revisiones, sugerencias o regaños que sin duda fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo de investigación. También agradezco de forma particular su amplio criterio en los procesos adversos que marcaron mi historial académico. Pero lo que más agradezco sin lugar a duda, que no solo tengo una mesa sinodal de grandes investigadores y grandes personas, si no, un grupo de amigos que marcaron mi vida de forma positiva cultivando valores que serán la mayor enseñanza que pude haber adquirido durante mi proceso profesional. Por todo eso y más gracias totales.

A mi asesor

Estimado Doctor Héctor Eduardo Martínez Flores

Quiero agradecer todo lo que hizo por mí no tengo forma de pagárselo pero sin duda cuenta usted con un amigo, quiero agradecer sus enseñanzas, su apoyo y motivación. Nada de esto sería posible sin usted.

Dr. Pablo Cuevas Reyes

Te agradezco inmensamente la oportunidad de entrar a tu laboratorio, por ser parte de tu equipo de trabajo y por creer en mí. Te agradezco los conocimientos, enseñanzas, disciplina y confianza que forjaste en mí. Te agradezco todo tu apoyo durante mi formación académica que sin ti este momento no sería posible. Pero Pablito como te digo, lo que más agradezco es tu amistad, tus consejos, tus regaños, tu tiempo, tus risas etc. Que hacen que crea en la amistad, que como toda amistad existen buenos y malos momentos pero cuando es real siempre se termina en el mismo lugar y venos hoy después de tantos años seguimos con lazos fuertes. Te ratifico mi agradecimiento y disfrutemos de este trabajo que bien sabemos que no solo es un simple trabajo de tesis, si no, un triunfo ante cualquier adversidad.

Dr. Antonio González Rodríguez

Muchas gracias Dr. Antonio por la oportunidad que me dio para entrar a su equipo de trabajo y otorgarme un proyecto de una magnitud tan importante. Por prestar sus instalaciones y equipos para que este trabajo fuera posible. Por sus valiosos conocimientos, consejos, paciencia, disposición, tiempo etc. Te agradezco todo tu apoyo en mi formación académica que sin duda nada de esto sería posible sin ti. Toñito como te decimos, sabes bien porque te lo digo a cada rato eres una persona muy especial en mi vida un amigo en verdad a quien le tengo toda la confianza del mundo. Gracias por ser como eres sabes que siempre habrá un lazo especial y que sin duda nuestra amistad seguirá por el resto de mis días.

A mis compañeros de laboratorios.

Angie, sofí, Gris, Kati, Susi, Vaquero, Tami, Gera, Omar, Marisa, Vene, Lete, Ali, Kuku, Chucho, Mariana, Nando, Ricardo.

Gracias por todos los momentos que pasamos juntos hicieron que momentos que pudieron ser tediosos tomaran otro sentido, como los días arduos de trabajo pero también disfrutamos de viajes fiestas y la vida loca, gracias a todos. Agradezco en particular a Lete y Nando que ayudaron significativamente en diferentes datos y procesos de este trabajo. En general a todos muchas gracias los quiero.

Compañeros de generación

Gracias por ser parte de una experiencia única, por compartir momentos de estrés y también de risas y diversión gracias a todos: Judit, Pedro, Janet, Gaby, Faty, etc. En especial a Janet por sus importantes atribuciones a este trabajo y sobre todo por su amistad.

A mis Amigos

Todos son mis amigos y los quiero mucho!! Pero quiero agradecer en particular a personas que me cambiaron la vida, que se convirtieron en mi familia y que me levantaron cuando ya no podía, ustedes Sergio, Nath, Pompa, Viry y Dudu les agradezco su amistad que nunca se dieron el lujo de soltar mi mano y que están en las buenas y en las malas pero más en esas malas. Quisiera agradecer en particular pero no quiero que se pongan sentidos pero crean que este trabajo tiene una dedicatoria especial para ustedes. Gracias Sergio tu sabes de qué.

A mi familia

Sin lugar a duda mi familia el eje principal de mi vida, les agradezco infinitamente a todos, mi Mama, hermanas, tías (os), primas (os), Sobrinas (os) y a todos los miembros de mi familia por su apoyo y creer en mí los quiero. Ma, tu eres la fuerza motora que me hace seguir, te agradezco todos los esfuerzos que hiciste para que esto fuera posible todo lo que soy solo y simplemente es por ti, te AMO.

Agradezco también

A todas esas personas que son parte de mi vida que directa o indirectamente estuvieron involucrados en este trabajo gracias: Dra. Guadalupe Garnica, Dra. Yuritzi Maldonado, Dra. Yunuen Tapia, Doctorante Thaise Bahia, y todas las personas que hicieron posible este trabajo.

ÍNDICE

I.	RESUMEN.....	1
II.	ABSTRACT	2
III.	INTRODUCCIÓN GENERAL.....	3
IV.	ANTECEDENTES.....	6
4.1	VARIACIÓN GENÉTICA.....	6
4.2	FILOGEOGRAFÍA Y MODELADO DE NICHOS	6
4.3	MORFOMETRÍA.....	8
4.4	HERBIVORÍA	10
4.5	ASIMETRÍA FLUCTUANTE (AF).....	10
4.6	ASIMETRÍA FLUCTUANTE Y NIVELES DE HERBIVORÍA	10
V.	OBJETIVOS	12
5.1	Objetivo general	12
5.2	Objetivos particulares	12
VI.	HIPÓTESIS	13
VII.	Patrones geográficos de herbivoría y asimetría fluctuante foliar en <i>Salix bonplandiana</i>	14
7.1	INTRODUCCIÓN.....	14
7.1.1	Factores asociados a la asimetría fluctuante.....	15
7.1.2	Asimetría fluctuante y herbivoría	16
7.1.3	Agentes de daño para <i>Salix bonplandiana</i>	17
7.2	MATERIALES Y MÉTODOS	17
7.2.1	Descripción del sistema de estudio.	17
7.2.2	Elección de los sitios de colecta.	18
7.2.3	Colecta de las muestras	21
7.2.4	Análisis de herbivoría foliar.....	22

7.2.5	Análisis de asimetría fluctuante	22
7.2.6	Análisis estadísticos	22
7.3	RESULTADOS	24
7.3.1	Herbivoría	24
7.3.2	Asimetría fluctuante	26
7.3.3	Área foliar total	31
7.4	DISCUSIÓN.....	33
7.5	CONCLUSIONES.....	38
7.6	LITERATURA CITADA.....	39
CAPITULO II.....		46
VIII. Patrones de variación genética en el ADN de cloroplasto y morfometría foliar en poblaciones de <i>Salix bonplandiana</i>		46
8.1	INTRODUCCIÓN.....	46
8.2	ANTECEDENTES.....	49
8.2.1	Variación genética	49
8.2.2	Filogeografía.....	49
8.2.3	Marcadores moleculares	50
8.2.4	Cambios morfológicos	50
8.3	MATERIALES Y MÉTODOS	50
8.3.1	Descripción del sistema de estudio.	50
8.3.2	Elección de los sitios de colecta.	51
8.3.3	Análisis moleculares.....	54
8.3.4	Asociación genética y variación morfológica con el gradiente latitudinal y variables climáticas.....	56
8.3.5	Análisis de morfometría geométrica foliar.....	57
8.3.6	Modelación de Nicho Ecológico.....	57
8.4	RESULTADOS	59

8.4.1	Análisis Genéticos.....	59
8.4.2	Correlación de la diversidad genética con variables geográficas y climáticas.....	67
8.4.3	Análisis Morfométricos.....	68
8.4.4	Escenarios de cambio climático.....	71
8.5	DISCUSIÓN.....	73
8.6	CONCLUSIONES.....	77
8.7	LITERATURA CITADA.....	78
IX.	DISCUSIÓN GENERAL.....	85
X.	CONCLUSIÓN GENERAL.....	89
XI.	LITERATURA CITADA.....	90

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la ubicación geográfica de las localidades con registros de la presencia de <i>Salix bonplandiana</i> en México.....	5
Figura 2. Mapa de la ubicación geográfica de las localidades con registros de la presencia de <i>Salix bonplandiana</i> en México.....	19
Figura 3. Mapa de 22 diferentes localidades colectadas de <i>Salix bonplandiana</i> en territorio nacional mexicano.....	21
Figura 4. Porcentaje de área foliar consumida por insectos folívoros en veintidós diferentes poblaciones de <i>Salix bonplandiana</i> ($F= 14.67$; $g.l.=21$; $P < 0.0001$). Letras diferentes indican las medias distintas acorde a la prueba múltiple de medias de Tukey-Kramer.....	24
Figura 5. Variación en el promedio de asimetría fluctuante foliar en veintidós poblaciones de <i>S. bonplandiana</i> a lo largo del territorio Mexicano ($F=16.14$; $g.l.=21$; $P<0.0001$). Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba múltiple de medias de Tukey-Kramer.....	26
Figura 6. Análisis de regresión entre la asimetría fluctuante foliar y los niveles de herbivoría en hojas de <i>Salix bonplandiana</i> en veintidos poblaciones ($R^2= 0.32$; $P < 0.0001$).	28
Figura 7. Análisis de regresión del área foliar consumida contra el intervalo medio diurno ($R^2 = 0.21$; $P < 0.0001$).....	29
Figura 8. Relación de la asimetría fluctuante foliar promedio con la longitud de las poblaciones de <i>S. bonplandiana</i> ($R^2 = 0.38$; $P < 0.0001$).	30
Figura 9. Variación en el promedio del tamaño de la hoja en veintidós poblaciones de <i>S. bonplandiana</i> a lo largo del territorio Mexicano ($F=14.0251$; $g.l.=21$; $P<.0001$). Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba múltiple de medias de Tukey-Kramer.....	31
Figura 10. Mapa de la ubicación geográfica de las localidades con registros de la presencia de <i>Salix bonplandiana</i> en México.....	52
Figura 11. Mapa de 22 diferentes localidades colectadas de <i>Salix bonplandiana</i> en territorio nacional mexicano.....	54
Figura 12. Distribución geográfica de los 95 haplotipos en 22 poblaciones de <i>Salix bonplandiana</i> en	

México. Los círculos representan a cada una de las poblaciones y los distintos colores sus proporciones la frecuencia de cada haplotipo.	60
Figura 13. Los círculos representan la frecuencia de haplotipos para la región del cabo en Baja California Sur, donde se encuentran representados cinco haplotipos.	61
Figura 14. Los círculos representan la frecuencia de haplotipos para la región de la Sierra Madre Occidental, donde se encuentran representados veintisiete haplotipos.	62
Figura 15. Los círculos representan la frecuencia de haplotipos para la región de la Meseta del Centro, donde se encuentran representados dieciséis haplotipos.	63
Figura 16. Los círculos representan la frecuencia de haplotipos para la región Eje Neovolcanico, Sierra Madre del Sur y Llanura Costera del Golfo, donde se encuentran representados cincuenta y dos haplotipos.	64
Figura 17. Red de haplotipos de <i>Salix bonplandiana</i> , donde los círculos representan las proporciones haplotípicas para diferentes sitios geográficos de territorio nacional mexicano.	66
Figura 18. Diversidad de haplotipos respecto a la longitud geográfica de las poblaciones de <i>Salix bonplandiana</i> estudiadas ($R^2= 0.30$; $P<0.0001$).	67
Figura 19. Variación morfológica de las hojas utilizando el programa CoordGen6: representación de la configuración de cada coordenada correspondiente a cada landmark, donde se representa una superposición de coordenadas (contorno de las hojas) de cada población de <i>Salix bonplandiana</i>	68
Figura 20. Análisis canónico discriminante para las coordenadas Procrustes, para diferentes sitios geográficos de territorio nacional mexicano considerando las 22 poblaciones de <i>Salix bonplandiana</i> existiendo diferencias significativas entre las 22 poblaciones. ($\chi^2 = 297.97$; g.l.= 207; $P=0.0003$). El color de los símbolos representa cada una de las regiones y la forma del símbolo representa a las distintas poblaciones.	69
Figura 21. Canónico 2 respecto a la distribución longitudinal de <i>Salix bonplandiana</i> en veintidos diferentes poblaciones. ($F=6.0607$; $R^2= 0.09$; $P<.0001$). Donde a menor longitud la forma de la hoja es más variada según las coordenadas Procrustes.	70
Figura 22. Sitios de probabilidad de ocurrencia de <i>Salix bonplandiana</i> bajo diferentes escenarios de cambio climático.	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ubicación geográfica de los sitios de colecta de <i>Salix bonplandiana</i> en México.....	20
Tabla 2. Variación individual en los niveles de herbivoría dentro de cada población	25
Tabla 3. Variación individual en los niveles de asimetría fluctuante dentro las poblaciones.	27
Tabla 4. Variación individual del área foliar total (cm ²) dentro las poblaciones de <i>S. bonplandiana</i> ...	32
Tabla 5. Ubicación geográfica de los sitios de colecta de <i>Salix bonplandiana</i> en México.....	53
Tabla 6. Valores de diversidad genética para 22 poblaciones de <i>Salix bonplandiana</i> en México. <i>N_a</i> , número de haplotipos; <i>A_r</i> , riqueza de haplotipos aplicando rarefacción; <i>H</i> , diversidad haplotípica.....	59

I. RESUMEN

La distribución de la variación genética en poblaciones naturales está fuertemente influenciada por fuerzas microevolutivas como el flujo génico y la selección natural, así como por la historia demográfica, biogeográfica y filogenética de las poblaciones y de las especies. La filogeografía permite el estudio de la distribución geográfica de linajes de genes dentro de una misma especie, así como el grado de estructuración que éstos tienen para poder entender cuáles han sido los procesos que han determinado dicha distribución geográfica, y así poder probar diferentes modelos de diversificación genética y morfológica entre poblaciones. En este trabajo, se estudió una especie de amplia distribución en México, el sauce *Salix bonplandiana*. Se determinaron los patrones de variación morfológica foliar, niveles de herbivoría y de asimetría fluctuante foliar asociados a la distribución geográfica de la especie. Así como la estructura filogeográfica de la especie mediante microsatélites del ADN de cloroplasto. Se encontraron patrones latitudinales significativos para las características foliares evaluadas, así como una correlación positiva entre los niveles de herbivoría y de asimetría fluctuante. Los microsatélites de cloroplasto indicaron que la estructura genética, diversidad, y riqueza de haplotipos fueron mayores en las poblaciones del altiplano Mexicano y parte de la Sierra Madre Oriental. Este estudio muestra la interacción entre diferentes procesos evolutivos y ecológicos en la estructuración de la variación morfológica foliar y filogeográfica de la especie.

Palabras clave: Variación genética, filogeografía, *Salix bonplandiana*, herbivoría, asimetría fluctuante.

II. ABSTRACT

The distribution of genetic variation in natural populations is strongly influenced by microevolutionary forces such as gene flow and natural selection, as well as by the demographic and phylogenetic history of populations and species. Phylogeography allows us to study the geographical distribution of gene lineages within a species and their degree of structure. to sort out which processes have determined the patterns of genetic and morphological diversification of populations. In this work, the widespread Mexican willow *Salix bonplandiana* was studied. Patterns of foliar morphological variation, herbivory levels and foliar fluctuating asymmetry associated to the geographical distribution of the species, as well as the phylogeographic structure of the species through chloroplast DNA microsatellite markers. Significant latitudinal patterns were identified for the foliar characteristics evaluated, as well as a positive correlation between herbivory and fluctuating asymmetry levels. Microsatellites revealed that genetic structure, diversity and richness of haplotypes were higher in populations from the Mexican Plateau and the Sierra Madre Oriental. This study shows the interaction between different evolutionary and ecological processes in the structuring of foliar morphological and phylogeographic structure of the species.

III. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los bosque de galería son ricos en biodiversidad y altos en productividad, fungen como zonas de desove, anidación para aves, zonas de desarrollo y reclutamiento de invertebrados y peces (Buenfil, 2009). La vegetación riparia se caracteriza por agrupaciones arbóreas que se encuentran focalizadas a lo largo de corrientes de agua o que se encuentran en los bordes de un cuerpo de agua (Villarauz, 2009). Este tipo de ecosistemas tiene funciones ecológicas sustanciales como favorecer la infiltración del agua pluvial para así disminuir la caída de sustratos a los cuerpos de agua, así como ser el hábitat y aporte de energía de numerosos organismos (RAMSAR, 2012).

El género *Salix* (Salicaceae) tiene una distribución mundial, especialmente en regiones frías o templadas del hemisferio norte y es característico de ambientes riparios. A nivel mundial se reportan para el género *Salix* 275-300 especies, de las cuales en México se encuentran representadas 30 especies. Aunque Chen *et al.* (2008), mencionan que el género está conformado por más de 500 especies, es importante señalar que estos autores consideran a muchos de los híbridos como especies independientes. Dentro del género se encuentra representada la especie *Salix bonplandiana*, una especie de amplia distribución y de importancia biológica en las zonas templadas de México (Rodríguez, 2002). *Salix bonplandiana* es un árbol de 15 m de altura; tronco con un diámetro de 40 a 80 cm, corteza de color café-grisáceo, gruesa y con fisuras irregulares, ramas ascendentes, ramillas glabras, yemas ovaladas y glabras, estípulas caducas, peciolo de 0.5 a 1.5 cm de largo, café rojizo, láminas foliares linear-lanceoladas de 6 a 15 cm de largo por 1 a 2 cm de ancho, ápice agudo, margen aserrado, base cuneada; amentos cilíndricos, de 3 a 8 cm de largo, los masculinos generalmente más largos que los femeninos; flores masculinas con la bráctea redondeada, obtusa, cóncava y membranosa, estambres con los filamentos pilosos y sus anteras subglobosas; flores con el ovario estipitado,

oblongo, glabro, con el estilo corto y su estigma bífido; semillas numerosas, diminutas, oblongas (Rzedowski, 2001). Son organismos dioicos, su época de floración ocurre en los meses de febrero-agosto y octubre-diciembre (Rohwer & Kubitzki, 1984). Es una especie susceptible a la sequía, la contaminación ambiental y a suelos fuertemente alcalinos. Se puede usar como forraje y por su talla es una especie que puede ser de uso maderable. Su corteza contiene taninos y un alcaloide llamado “salicina” que se emplea en medicina casera para combatir las fiebres y el reumatismo (Niembro, 1986). *Salix bonplandiana* se considera tanto perennifolio como caducifolio (Rodríguez –García 2002). El ciclo de vida de *S. bonplandiana* se completa aproximadamente en 30 años. Esta especie ayuda a la conservación del suelo y evita la erosión, además de formar una barrera natural en contra de los vientos. Los suelos ácidos y húmedos de tipo regosol eútrico, litosol, somero pedregoso favorecen su crecimiento (CONABIO, 2011; Rodríguez, 2003). Son árboles demandantes de luz e intolerantes a la sombra y a los suelos secos (CONABIO, 2011). Según González (2002), *Salix bonplandiana* aporta materia orgánica al sistema y sirve de refugio de especies como aves, mamíferos y reptiles, se encuentra en vegetación riparia asociada con diferente vegetación. Se tienen registros de la especie en los estados de Baja California Sur, Baja California, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas (Figura 1), así como en el sur de Estados Unidos de América y el norte de Guatemala, con un intervalo de altitud que de los 8 a los 2700 msnm (CONABIO, 2011).

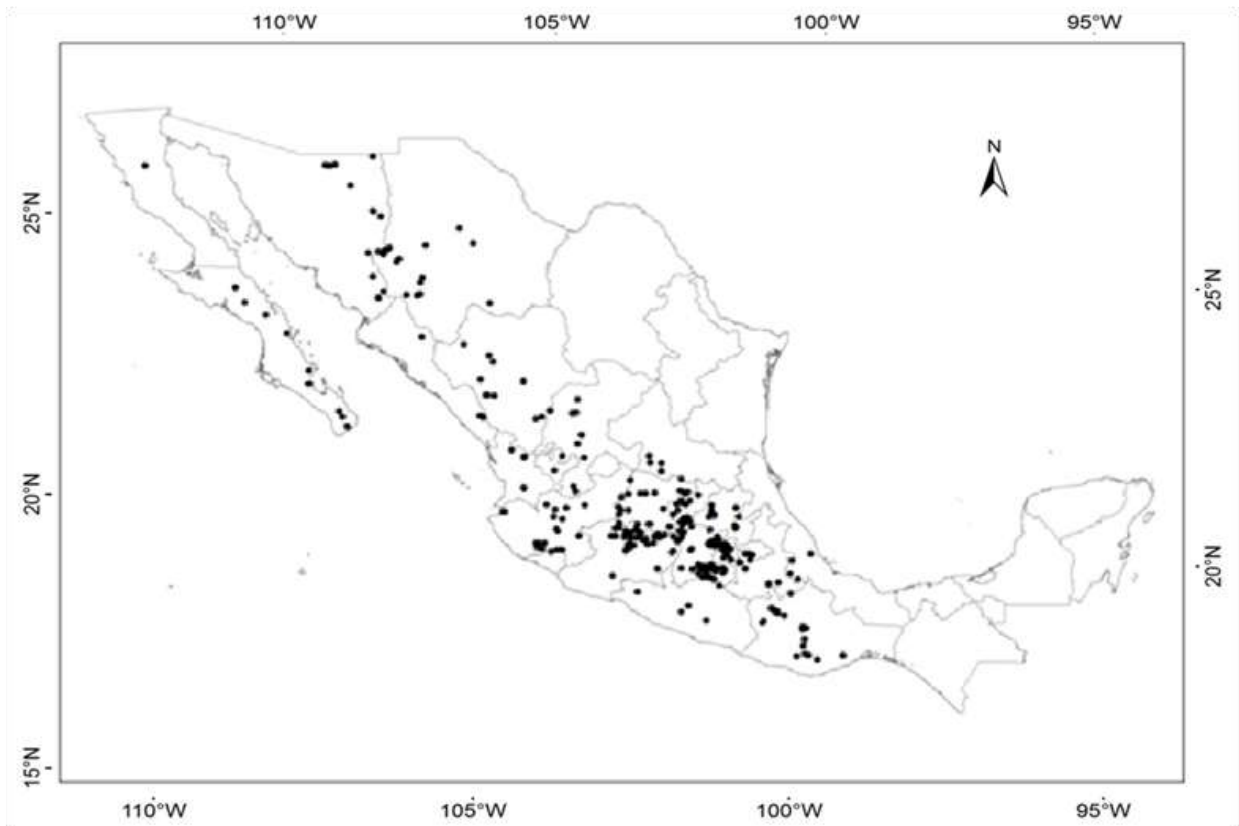


Figura 1. Mapa de la ubicación geográfica de las localidades con registros de la presencia de *Salix bonplandiana* en México.

IV. ANTECEDENTES

4.1 VARIACIÓN GENÉTICA

La cuantificación de la variación genética dentro y entre especies es esencial para explicar la distribución de la diversidad biológica (Schaal *et al.*, 1998). La distribución de esta variación genética está frecuentemente regulada por factores ecológicos, procesos de selección o por los patrones de intercambio genético entre las poblaciones (Avice, 1998; Bermingham & Moritz, 1998). Todas las poblaciones de una especie intercambian genes, nucleares o genomas uniparentales como la mitocondria o el cloroplasto, debido al flujo de gametos, semillas, individuos juveniles o adultos (en animales y en el caso de algunas plantas), así como por eventos de extinción y recolonización de poblaciones enteras (Slatkin, 1985).

4.2 FILOGEOGRAFÍA Y MODELADO DE NICHOS

Los estudios filogeográficos permiten esclarecer las relaciones genealógicas entre los linajes genéticos, así como para entender su distribución geográfica (Avice, 2000). Este tipo de análisis permite indagar sobre aspectos de la demografía y biogeografía histórica de una gran variedad de organismos (Avice *et al.*, 1987; Avice, 2000; Knowles & Maddison, 2002). Además, potencialmente es posible determinar procesos como cuellos de botella o expansiones del área geográfica de distribución de las poblaciones (Schaal *et al.*, 1998), así como también procesos de intercambio citoplasmático por hibridación entre especies (Dumolin-Lapegue *et al.*, 1997; Le Corre & Kremer, 1998; Belahbib *et al.*, 2001). Incluso, se han detectado los efectos de las fluctuaciones climáticas ocurridas en el Pleistoceno en la distribución de la diversidad y estructura genética de los bosques templados de Europa y Norteamérica (Petit *et al.*, 2002; Magni *et al.*, 2005). Los patrones de diversidad genética y distribución geográfica de los linajes intraespecíficos permiten identificar

poblaciones y áreas de alto valor biológico, aportando importantes criterios para la elaboración de estrategias de conservación a nivel regional.

La implementación de los modelos de nicho ecológico como una herramienta para predecir las distribuciones presentes y pasadas de las especies, han provisto un punto de vista complementario para comparar con los datos filogeográficos y las hipótesis biogeográficas tradicionales (Hugall *et al.*, 2002; Waltari *et al.*, 2007). Los modelos de nicho ecológico incorporan modelos que reconstruyen la distribución potencial de las especies basados en las coordenadas geográficas de las localidades, y que son extrapoladas a áreas que representen las condiciones ecológicas más adecuadas para las especies (Guisan & Thuiller, 2005; Richards *et al.*, 2007). Estos modelos toman en cuenta variables como la temperatura, precipitación, elevación y otras variables que podrían potencialmente influenciar la distribución de las especies (Phillips *et al.*, 2006). El modelado de nicho ecológico ha sido aplicado a los campos de la ecología, biogeografía, genética del paisaje, biología de la conservación, entre otros (Guisan & Thuiller, 2005; Peterson *et al.*, 2007).

El cambio climático se considera como el incremento de temperatura en el planeta, vinculado con el aumento en la concentración de gases de efecto invernadero en la atmósfera, producto de actividades humanas relacionadas con la quema de combustibles fósiles (petróleo, carbón) y el cambio de uso de suelo. Este aumento de temperatura tiene consecuencias en la intensidad de los fenómenos del clima en todo el mundo (FAO, 2013). El cambio climático global y sus posibles efectos en la distribución y abundancia de la biodiversidad se encuentra entre los retos más importantes de la biología de la conservación (Lira *et al.*, 2008). Por otra parte, el efecto del cambio climático sobre la biota dependerá en gran medida de la respuesta de las poblaciones de árboles (Ozanne *et al.*, 2003; Petit *et al.*, 2004; 2005). Por lo tanto, la conservación de los recursos genéticos de los bosques es esencial para la persistencia a largo plazo de los ecosistemas terrestres (Pautasso, 2009). Los modelos

de cambio climático generan escenarios de dimensión global, aunque mucho de sus impactos se presenten a escala regional en combinación de mesoescala, además de presentar solo dos variables como la temperatura del aire y la precipitación pluvial que aunque muy importantes, estas se encuentran en sinergia con otros factores (Barradas *et al.*, 2011).

Los modelos de distribución, consideran las condiciones climáticas actuales y los modelos climáticos del pasado y del futuro, estos modelos permiten estimar la distribución potencial, para el tiempo en el que el clima ha sido modelado (Lawley *et al.*, 2006). La predicción de la distribución de las especies con base a variables ambientales se fundamenta con la teoría de nicho formalizada por Hutchinson (1957), y las predicciones que se hacen sobre la distribución de las especies bajo estos escenarios son llamados modelos de nicho ecológico (Lawley *et al.*, 2006). Estos modelos permiten formular hipótesis sobre la distribución geográfica de las especies, lo que es de enorme utilidad para abordar diferentes preguntas biológicas (Guisan y Thuiller, 2005).

4.3 MORFOMETRÍA

Las poblaciones de una especie de amplia distribución geográfica, como es el caso de *Salix bonplandiana*, están expuestas a grandes niveles de variaciones ambientales. En esta diversidad ambiental la interacción con el genotipo puede resultar en una gran amplitud de fenotipos por la respuesta diferencial de los rasgos a la variación ambiental y podrían presentar un valor adaptativo mayor que otras. Por lo tanto, la variabilidad del fenotipo en una especie está estrechamente ligada con la variación del medio ambiente a la cual debe adaptarse para sobrevivir (Smith, 2007).

La capacidad que tienen los genotipos para expresarse en forma distinta en ambientes diferentes es una medida de la plasticidad fenotípica. La plasticidad puede manifestarse morfológica y fisiológicamente. Aún cuando los cambios que se producen en las plantas, derivados de cambios

medioambientales, son fisiológicos en su origen, se habla de plasticidad morfológica cuando los cambios fisiológicos tienen efectos finales predominantemente morfológicos, estos efectos tienden a ser permanentes para el órgano de la planta implicado (Bradshaw, 1965). Por lo tanto, la plasticidad fenotípica es la capacidad de un organismo de expresar diferentes fenotipos dependiendo de los factores bióticos y abióticos del ambiente. La variación fenotípica que se encuentra entre los individuos de una misma especie está generalmente correlacionada con la variación asociada a los factores del medio ambiente dentro de su área de distribución natural. El fenotipo o conjunto de características que se observan como la apariencia de un individuo de una especie, es el reflejo de la interacción de los componentes genéticos de la planta junto con los factores ambientales (Agrawal, 2001). Puesto que el ambiente es diferente en cada lugar, la probabilidad de que cada genotipo enfrentado al ambiente produzca un fenotipo diferente a cualquier otro es muy alta (Smith, 1992).

Los métodos morfométricos son aplicados para explorar variaciones fenotípicas. Las diferencias morfométricas estables se pueden relacionar con componentes geográficos y/o ambientales para identificar la acción de procesos evolutivos tales como la selección natural y/o la deriva genética. Por ejemplo, los caracteres morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de las hojas están en sintonía con las características ambientales y los cambios en dichos caracteres son la primera línea de respuesta a los cambios en el ambiente. Así, los caracteres foliares pueden ser indicadores de los cambios funcionales (Álvarez-Buylla & Martínez-Ramos, 1992; Brzezicki & Kienast, 1994; Swaine & Whitmore, 1988). De manera general, se asume que los caracteres morfométricos en las hojas varían como respuesta a los cambios ambientales (Bazzaz, 1996). Asimismo, existe una variación en la morfología interna y externa de la hoja (grosor del mesófilo, volumen de espacios de aire, tamaño y forma de la hoja etc.) que puede diferir entre las hojas, de acuerdo con su grado de exposición a la luz (Gausman, 1984). La morfometría geométrica es una herramienta matemática con fundamentos biológicos, que ha demostrado ser muy

efectiva para descomponer la variación resultante de la fisiología de los individuos de aquella más estable, propia de la población y producto probablemente del componente genético (Jaramillo & Dujardin, 2002).

4.4 HERBIVORÍA

La herbivoría representa un agente selectivo en la evolución del tamaño y forma de las hojas, donde diferentes características físicas de las hojas pueden ser adaptaciones ante herbívoros (Brown & Lawton, 2001). La herbivoría se puede definir como el proceso por el cual son consumidos los tejidos vegetales por animales (Harper, 1977; Crawley, 1983; Coley, 1986), y es una de las interacciones más frecuentes entre plantas y animales (Weis & Berenbaum, 1989). La herbivoría puede modificar la tasa de germinación, crecimiento y mortalidad de las plantas y por lo tanto afecta negativamente su sobrevivencia, habilidad competitiva y éxito reproductivo (Farnsworth & Ellison, 1997; Smith, 1992; Harper, 1969; Crawley, 1983; Coley, 1986).

4.5 ASIMETRÍA FLUCTUANTE (AF)

Una herramienta muy importante para evaluar el estrés ambiental sobre los organismos es la cuantificación de la asimetría fluctuante (AF). La asimetría fluctuante es la varianza en las diferencias entre el lado izquierdo y derecho en organismos simétricamente bilaterales y nos proporciona una medida de la capacidad de un individuo para amortiguar el estrés interno (genético) y el externo (ambiental) durante su ontogenia (Van Valen, 1962; Palmer, 1986).

4.6 ASIMETRÍA FLUCTUANTE Y NIVELES DE HERBIVORÍA

Se ha reportado una relación positiva entre la asimetría fluctuante y los niveles de herbivoría, por lo que la asimetría fluctuante sirve potencialmente como un indicador de susceptibilidad al daño

hecho por herbívoros (Cornelissen & Stiling, 2005; Díaz *et al.*, 2004). Sin embargo, no está clara la relación entre la herbivoría y la asimetría fluctuante, ya que en algunos casos la asimetría fluctuante no está relacionada positivamente con los niveles de herbivoría (Cuevas-Reyes *et al.*, 2011). Por otro lado, se sabe que otros numerosos factores ambientales pueden aumentar la AF como la temperatura, la incidencia de luz y la disponibilidad de nutrientes, así como factores genéticos como las mutaciones, la hibridación y la endogamia (Hódar, 2002; Wilset *et al.*, 1998). Por lo tanto, los patrones de herbivoría, asimetría fluctuante y morfología pueden ser afectados por la estructura geográfica y genealógica a lo largo del área de distribución de una especie. De tal modo que puede haber variación en los niveles de herbivoría a lo largo de la distribución espacial de una especie debido a factores genéticos y ambientales (Coley & Barone, 1996). De tal manera, en este proyecto se propone contribuir al conocimiento de los patrones de variación genética y su relación con los patrones de herbivoría, asimetría fluctuante y morfometría de una especie de amplia distribución, abundante y con importancia ecológica y económica como es *Salix bonplandiana*, así como determinar las posibles predicciones de distribución de la especie bajo diferentes escenarios climáticos.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar los patrones de variación genética de *Salix bonplandiana*, así como las diferencias morfológicas, los patrones de herbivoría y de asimetría fluctuante a lo largo de su distribución geográfica en México.

5.2 Objetivos particulares

1. Evaluar la relación entre los niveles de herbivoría y asimetría fluctuante foliar en poblaciones de *S. bonplandiana* a lo largo de su distribución en México.
2. Determinar los patrones de morfología foliar de *S. bonplandiana* a lo largo de su distribución geográfica en México.
3. Determinar la estructura genética de *S. bonplandiana* en México, mediante microsatélites del ADN de cloroplasto.
4. Elaborar modelos de nicho ecológico y mapas de la distribución potencial contemporánea e histórica de las poblaciones de *S. bonplandiana*, para generar hipótesis sobre los patrones de variación genética esperados y contrastar las hipótesis con los patrones observados.

VI. HIPÓTESIS

1. Los patrones de herbivoría, asimetría fluctuante y morfometría serán diferenciales a lo largo de la distribución geográfica de *S. bonplandiana*. Se espera una relación positiva entre los niveles de asimetría fluctuante con los niveles de herbivoría.
2. Se esperan niveles moderados o intermedios de diferenciación genética ($G_{ST} > 0.5$) entre las poblaciones de *S. bonplandiana*, debido a que sus semillas son sumamente pequeñas y dispersadas por viento a distancias potencialmente grandes.
3. Los niveles de variación genética de *S. bonplandiana*, serán altos, debido a sus altos tamaños poblacionales y amplia distribución histórica en México.
4. La distribución geográfica de *S. bonplandiana*, se reducirá bajo escenarios de cambio climático y será posible determinar las poblaciones y haplotipos más vulnerables a la pérdida.

CAPÍTULO I

VII. Patrones geográficos de herbivoría y asimetría fluctuante foliar en *Salix bonplandiana*.

7.1 INTRODUCCIÓN

Los insectos folívoros se consideran los consumidores de follaje más importantes (Bigger & Marvier, 1998), ya que se estima que remueven cerca del 18% de la biomasa terrestre (Jaramillo *et al.* 2003). La herbivoría es una de las interacciones más complejas que suceden en la naturaleza debido a la gran cantidad de factores involucrados (Crawley, 1983; McNaughton, 1983; Maron & Crone, 2006), como puede ser la conducta del herbívoro (Arnold, 1987); la duración, frecuencia e intensidad del daño (McNaughton, 1992; Juenger & Bergelson, 2000; Garcia & Ehrlen, 2002); la variación temporal y espacial en las condiciones ambientales (Bergelson, 1990; Barradas, 1991; Silvertown *et al.*, 1994); la densidad y fenología de las poblaciones de plantas (Crawley, 1983); el estado fisiológico del individuo atacado (Lowman & Heatwole, 1992), etc. La herbivoría afecta la supervivencia de las plantas en estado reproductivo y disminuye su fecundidad, generando un declive en el crecimiento poblacional (Knight, 2004). Por otra parte, la herbivoría se considera como una fuerza selectiva importante para la determinación y mantenimiento de una gran variedad de defensas, tanto químicas como físicas (Painter, 1958; Janzen, 1985; Coley & Barone, 1996; Marquis, 1992; Ohgushi, 2005). Los herbívoros pueden ejercer una presión diferencial sobre las plantas de una población y eliminar a los morfos menos

resistentes o pueden mantener un polimorfismo en la población, lo cual tiene un efecto sobre la evolución de la especie (Dirzo & Harper, 1982), las especies han evolucionado la generación de defensas y contradefensas que reducen los efectos negativos de la herbivoría (Janzen, 1980).

7.1.1 Factores asociados a la asimetría fluctuante.

La asimetría en los organismos puede ser un reflejo de inestabilidad durante su desarrollo, asociada a perturbaciones ambientales, factores bióticos como la herbivoría y aspectos genéticos en las poblaciones (Møller & Swaddle, 1997; Kight & Swaddle, 2011). La desviación de una perfecta simetría bilateral se clasifica en tres tipos: asimetría direccional, antisimetría y asimetría fluctuante. Las tres tienen un origen distinto y se identifican por la distribución de las frecuencias de los individuos con el lado más desarrollado dentro de las muestras poblacionales (Van Valen, 1962; Allenbach, 2011). La asimetría direccional (AD) se puede detectar porque en general los individuos de una población tienen una característica en alguno de sus lados, pero en el otro lado se encuentra ausente o menos desarrollado, por lo que debe existir un elemento genético que le confiera esta característica y por ser heredable (Van Valen, 1962; Møller & Swaddle, 1997; Allenbach, 2011). La antisimetría (AS) se puede detectar cuando un lado de un carácter bilateral es más grande que el otro pero no existe una tendencia predeterminada en la población de cuál de los dos lados es el más desarrollado (Møller & Swaddle) los cambios en la asimetría pueden deberse a una cruce entre dos individuos con diferente asimetría, o bien, ocurren cambios fisiológicos pero que no fueron provocados por inestabilidad durante el desarrollo (Palmer & Strbeck, 1986).

Este tipo de asimetría se refiere a las desviaciones aleatorias, a veces sutiles, de una simetría bilateral perfecta, es decir que los rasgos bilaterales que normalmente son simétricos dentro de una población van a ser asimétricos de una forma azarosa en el tamaño y la cantidad entre individuos

(Palmer & Strobeck, 1997; Almeida *et al.*, 2008; Allenbach, 2011). Debido a que estos rasgos parten de un mismo genoma se esperaría que asumieran la condición simétrica perfecta pero cuando los organismos presentan caracteres que se desvían de ella, son indicativos de trastornos que ocurrieron durante el desarrollo, como respuesta al estrés provocado por alguna variación genética o ambiental (Ditchkoff & DeFreese, 2010). El lado izquierdo y derecho de un organismo son vistos como replicas independientes de un mismo desarrollo. Estos lados deberían compartir un mismo fenotipo, es decir ninguno de los dos lados debe ser más grande debido a que comparten el fenotipo otorgado por un mismo genotipo (Benítez & Parra, 2011). La asimetría fluctuante es una forma práctica de medir la inestabilidad durante el desarrollo y relacionarla con los factores estresantes del ambiente de individuos y poblaciones (Almeida *et al.*, 2008). Así pues, los factores que provocan estrés en los organismos durante su desarrollo pueden ser clasificados de origen endógeno y de origen exógeno. Los endógenos son de origen genético, como la hibridación, endogamia y pérdida de la variabilidad genética. Los factores exógenos, son aquellos que se encuentran en el ambiente y pueden ser de naturaleza abiótica, como compuestos químicos tóxicos y los bióticos como la herbivoría.

7.1.2 Asimetría fluctuante y herbivoría

Se ha reportado una relación positiva entre la asimetría fluctuante y la herbivoría siendo que la asimetría fluctuante sirve como un indicador de susceptibilidad al daño hecho por herbívoros (Cornelissen & Stiling, 2005; Díaz *et al.*, 2004). Sin embargo, algunos autores plantean que los herbívoros actúan como estresores de la planta y provocan la asimetría de la hoja (Cornelissen *et al.*, 2003), mientras que otros autores afirman que la asimetría de la hoja es usada por los herbívoros como indicador para saber la calidad de la planta (Moller, 1995; Zvereva *et al.*, 1997). Sin embargo, no está clara la relación entre la herbivoría y la asimetría fluctuante, ya que en algunos casos la asimetría

fluctuante está relacionado positivamente con los niveles de herbivoría pero en otros no (Banuelos *et al.*, 2004; Cuevas-Reyes *et al.*, 2011).

7.1.3 Agentes de daño para *Salix bonplandiana*

Los insectos son sin duda uno de los principales agentes que causan daño a *Salix bonplandiana* los cuales se pueden clasificar como chupadores, perforadores de madera y formadores de agallas (Quintero & Villa, 1991). También en esta especie inciden hongos que provocan la pudrición de la madera y raíces, lo cual probablemente causa el secado de la punta del árbol (Quintero & Villa, 1991). Estrada *et al.* (2011) mencionan que el muérdago *Cladocolea lonicerooides*, el gusano de bolsa *Malacosoma incurvum*, cuyas larvas provocan defoliación ya que estas se alimentan del parénquima de las hojas y los ácaros *Aculus tetanothrix* son los principales agentes que dañan a *Salix bonplandiana*. En este capítulo se intenta establecer los patrones de herbivoría, de asimetría fluctuante y su relación entre éstos asociadas a la variación ambiental de cada población estudiada de *Salix bonplandiana* a lo largo de su distribución en México.

7.2 MATERIALES Y MÉTODOS

7.2.1 Descripción del sistema de estudio.

Salix bonplandiana es un árbol de 15 m de altura; tronco con un diámetro de 40 a 80 cm, corteza de color café-grisáceo, gruesa y con fisuras irregulares, ramas ascendentes, ramillas glabras yemas ovaladas y glabras, estípulas caducas, peciolo de 0.5 a 1.5 cm de largo, café rojizo, láminas foliares linear-lanceoladas de 6 a 15 cm de largo por 1 a 2 cm de ancho, ápice agudo, margen finalmente aserrado, base cuneada; amentos cilíndricos, de 3 a 8 cm de largo, los masculinos generalmente más largos que los femeninos; flores masculinas con la bráctea redondeada, obtusa, cóncava y membranosa, estambres con los filamentos pilosos y sus anteras subglobosas; flores con el ovario

estipitado, oblongo, glabro, con el estilo corto y su estigma bifido; semillas numerosas, diminutas, oblongas (Rzedowski, 2005).

Salix bonplandiana se encuentra en vegetación riparia asociado con diferente vegetación. Son organismos dioicos, su época de floración ocurre en los meses de febrero-agosto y octubre-diciembre (Rodríguez –García, 2002). Es una especie susceptible a la sequía, la contaminación ambiental y a suelos fuertemente alcalinos. Se puede usar como forraje y por su talla es una especie que puede ser de uso maderable.

7.2.2 Elección de los sitios de colecta.

Se realizó una revisión en el herbario nacional (MEXU) con lo cual se recabó información de la distribución y las características taxonómicas para la correcta identificación de *S. bonplandiana* en el campo. Se encontraron registros de la especie en los estados de Baja California Sur, Baja California, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas, así como en el sur de Estados Unidos de América y el norte de Guatemala, con un intervalo de altitud de los 8 a los 2700 msnm. Con base en esta información se realizó un mapa de las localidades en territorio Mexicano con presencia de la especie, mediante el programa ArcView ver. 3.0 (Figura 2).

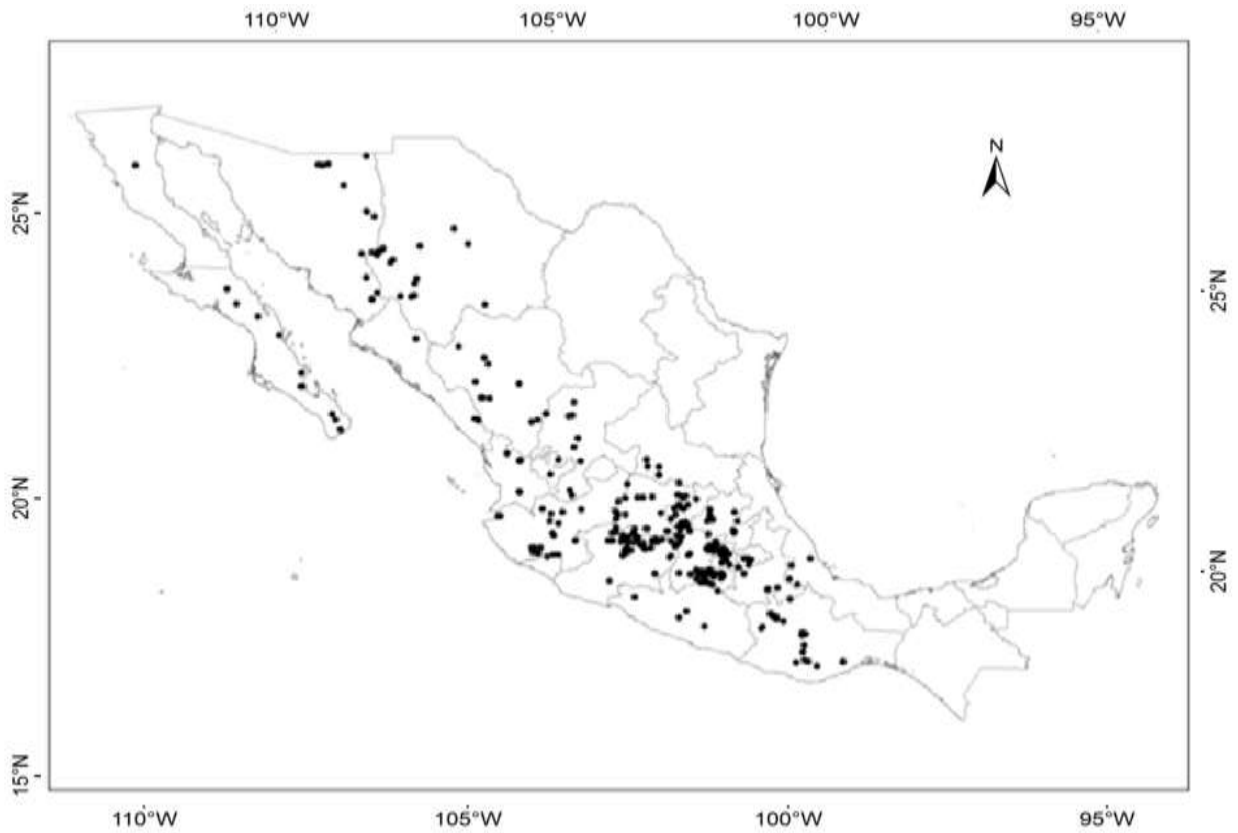


Figura 2. Mapa de la ubicación geográfica de las localidades con registros de la presencia de *Salix bonplandiana* en México.

A partir del mapa elaborado y de la lista de localidades se eligieron 22 poblaciones que representaran la distribución geográfica completa de *S. bonplandiana* en México (Tabla 1, Figura 2).

Tabla 1. Ubicación geográfica de los sitios de colecta de *Salix bonplandiana* en México.

Sitios de colecta					
Estado	Sitio	Latitud N	Longitud W	Altitud (m)	Número de Individuos
Baja California Sur	La Laguna	23°34'0.00"	110° 0'0.00"	200	13
Baja California Sur	Todos Santos	23°26'46.90"	110°13'35.44"	30	10
Baja California Sur	Estero San José de la Laguna	23° 3'45.73"	109°40'7.43"	8	9
Sonora	Álamos	27° 1'31.75"	108°56'28.71"	335	10
Sonora	Tepoca	29° 6'1.53"	111° 0'22.15"	800	10
Sinaloa	Sombreretillo	23°28'7"	105°53'5"	1700	10
Sinaloa	Chirimoyos	23° 08' 30"	105° 29' 37"	1600	11
Zacatecas	Valparaíso	23°03'37.2"	103°9.4'25.5"	2143	9
Zacatecas	Momax	21°55'4.2"	103°18'38.6"	2165	10
San Luis Potosí	Mexquitic	22°16'16"	101°6.8'52.2"	2027	10
San Luis Potosí	Santa María del Río	21°28'53.7"	100°28'20.7"	1713	10
Nayarit	Camichines	21°32'42.33	104°27'18.95"	1200	10
Jalisco	Tapalpa	19°56'51.62"	103°45'38.80"	2570	10
Guanajuato	Salvatierra	20°13'4.8"	100°52'2.8"	1924	9
Querétaro	El Batán	20°18'9.4"	100°11'16.8"	2308	10
Ed. México	Acambay	19°57'16"	99°50'39"	2440	9
Tlaxcala	Panza Cola	19°18'12.82"	98°11'39.81"	2200	11
Veracruz	Puente Nacional	19°32'44.2"	96°48'55.2"	96	10
Michoacán	Morelia	19°42'7.9"	101°11'7.8"	1920	10
Puebla	La Gaitana	18°33'44.91"	99°13'1.54"	856	10
Morelos	Río Cuautla	18°48'44"	98°57'21"	1294	11
Oaxaca	La Garzona	16°41'11"	96°38'36.9"	1657	10

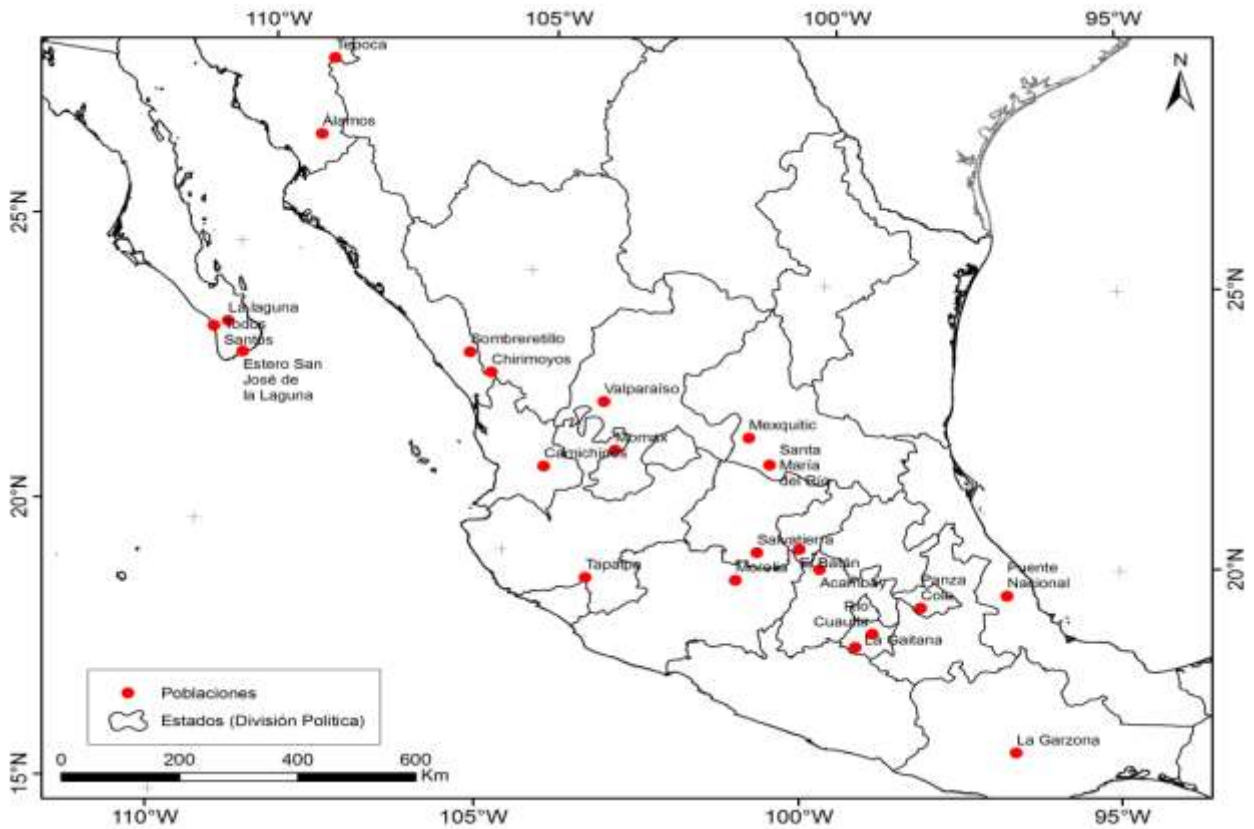


Figura 3. Mapa de 22 diferentes localidades colectadas de *Salix bomplandiana* en territorio nacional mexicano.

7.2.3 Colecta de las muestras

En cada población se colectaron 10 individuos de *S. bomplandiana*. En cada individuo, se colectó una rama de cada estrato del dosel (i. e. superior, medio e inferior) para representar adecuadamente la variación genotípica del dosel (Cuevas-Reyes et al., 2011a). De cada rama se colectaron 15 hojas (45 hojas por individuo), que fueron prensadas para posteriores análisis de herbivoría, asimetría fluctuante y morfometría.

7.2.4 Análisis de herbivoría foliar.

Para estimar los patrones de herbivoría, se seleccionaron aleatoriamente 15 hojas en cada individuo (5 hojas por estrato), las cuales fueron escaneadas para obtener un total de 3300 imágenes digitales. La cuantificación del área total foliar y el porcentaje de área foliar consumida de cada una de las hojas se realizó mediante el software Image Analysis Software for Plant Disease Quantification (ASSESS).

7.2.5 Análisis de asimetría fluctuante

Para evaluar la asimetría fluctuante (AF) se seleccionaron 15 hojas intactas (i. e. sin ningún tipo de daño) de cada individuo (5 hojas por estrato), las cuales fueron escaneadas para obtener un total de 3300 imágenes digitales. El valor de AF se estimó como el valor absoluto de la diferencia entre las distancias desde la vena central a los márgenes derecho e izquierdo de la hoja ($A_i - B_i$) dividido por la distancia media $[(A_i + B_i)/2]$, para corregir el efecto del tamaño (Cornelissen & Stiling, 2005).

7.2.6 Análisis estadísticos

Se realizaron comparaciones estadísticas de los porcentajes de herbivoría y los niveles de asimetría fluctuante entre poblaciones y entre individuos dentro de las poblaciones mediante análisis de varianza (ANOVA) y pruebas post-hoc de comparación múltiple de Tukey-Kramer para identificar poblaciones que muestran diferencias significativas.

Para determinar si existe relación entre los niveles de asimetría fluctuante y el porcentaje del área foliar consumida se realizó un análisis de regresión lineal. Finalmente, para determinar si existen patrones geográficos o ambientales de variación en los niveles de herbivoría y asimetría fluctuante se realizaron análisis de regresión lineal contra la latitud, la longitud, la altitud y las diecinueve variables bioclimáticas comúnmente utilizadas en la caracterización del efecto del clima sobre los organismos (Hijmans *et al.*, 2005). Para caracterizar las variables bioclimáticas fue necesario obtener datos

bioclimáticos de las veintidós poblaciones estudiadas de *Salix bonplandiana* de la base de datos de WorldClim (Hijmans *et al.*, 2005) (<http://www.worldclim.org/>). Las variables bioclimáticas se derivan de la precipitación y temperatura anual, estas son utilizadas para generar variables de importancia biológica que representan las tendencias anuales, la estacionalidad y factores ambientales limitantes (Hijmans *et al.*, 2005). Los análisis se realizaron mediante el programa estadístico JMP (SAS Institute, Cary, NC, USA).

7.3 RESULTADOS

7.3.1 Herbivoría

Al analizar el porcentaje de daño causado por herbívoros en las hojas de *Salix bonplandiana* para veintidós poblaciones que se encuentran localizadas a lo largo del territorio nacional mexicano, se encontraron diferencias significativas entre poblaciones donde el mayor daño foliar causado por insectos se encuentra localizado en las poblaciones de la región centro sur en comparación con el norte de México ($F= 14.67$; $g.l.= 21$; $P < 0.0001$) (Figura 4). Los análisis de varianza para comparar los niveles de herbivoría entre cada una de las poblaciones revelaron diferencias significativas en todos los casos excepto en cuatro poblaciones (Tabla 2).

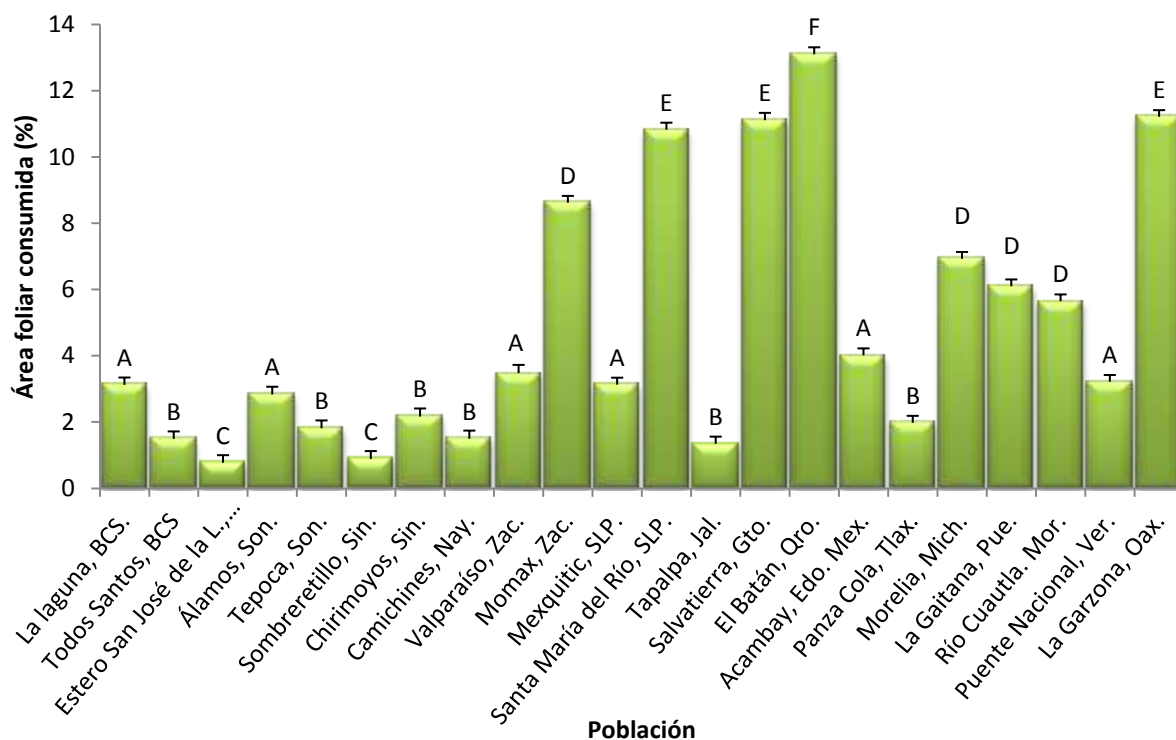


Figura 4. Porcentaje de área foliar consumida por insectos folívoros en veintidós diferentes poblaciones de *Salix bonplandiana* ($F= 14.67$; $g.l.=21$; $P < 0.0001$). Letras diferentes indican las medias distintas acorde a la prueba múltiple de medias de Tukey-Kramer.

Tabla 2. Variación individual en los niveles de herbivoría dentro de cada población

Población	g. l.	F	P<
La laguna	12	1.94	0.03
Todos Santos	9	3.01	0.002
Estero San José de la Laguna	8	1.12	n.s.
Álamos	9	2.03	0.03
Tepoca	9	2.03	0.03
Sombretillo	9	1.43	n.s.
Chirimoyos	10	1.99	0.03
Valparaíso	8	2.18	0.03
Momax	9	4.62	0.0001
Mexquitic	9	2.07	0.03
Santa María del Río	9	2.01	0.04
Camichines	9	1.67	n.s.
Tapalpa	9	2.07	0.03
Salvatierra	8	2.27	0.02
El Batán	9	1.99	0.04
Acambay	8	7.65	0.0001
Panza Cola	10	2.17	0.02
Puente Nacional	9	2.3	0.01
Morelia	9	12.41	0.0001
La Gaitana	9	2.7	0.006
Río Cuautla	9	2.52	0.007
La Garzona	9	0.45	n.s.

7.3.2 Asimetría fluctuante

Al hacer un análisis de los niveles de asimetría fluctuante en las hojas de *Salix bonplandiana* para veintidós poblaciones localizadas a lo largo del territorio nacional mexicano, se encontraron diferencias significativas entre poblaciones ($F=16.1$; g.l.= 21; $P < .0001$) (Figura 5). La población situada al extremo sur de la distribución de la especie (La Garzona, Oaxaca) tiene los mayores niveles de asimetría fluctuante. Por su parte, los análisis de varianza para comparar los niveles de AF entre individuos revelaron diferencias significativas en solamente cinco poblaciones, mientras que en el resto los individuos tuvieron niveles similares de AF (Tabla 3).

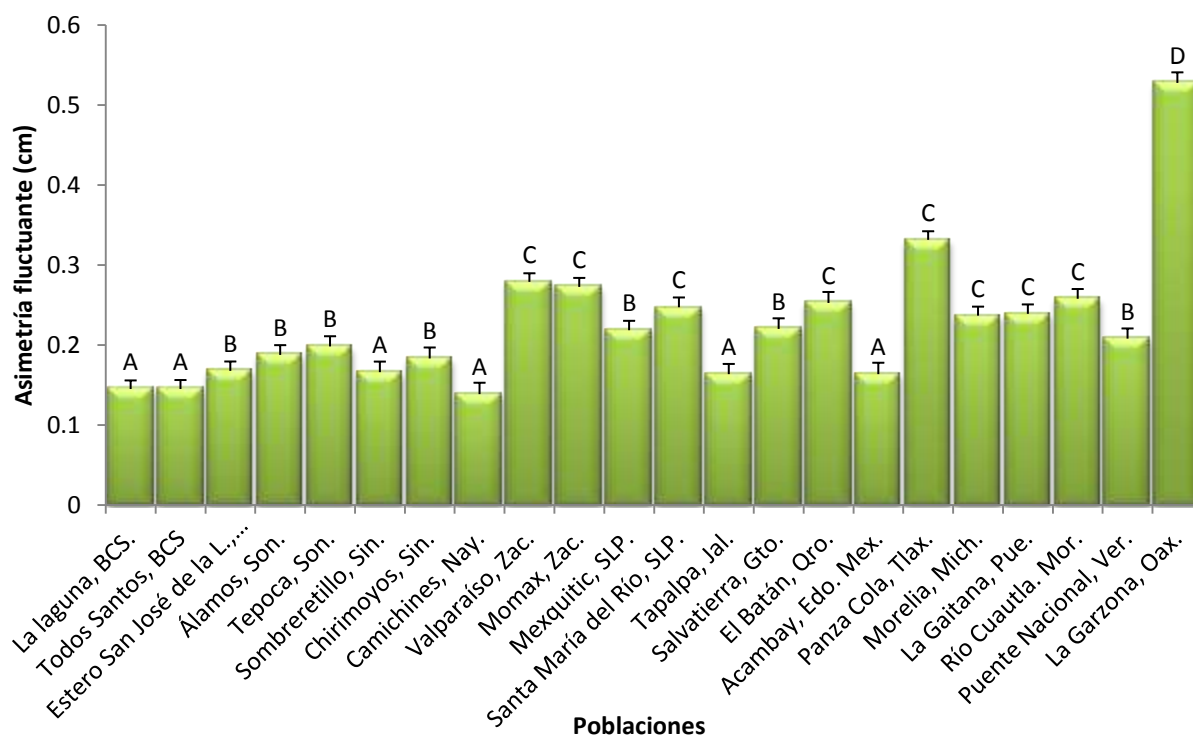


Figura 5. Variación en el promedio de asimetría fluctuante foliar en veintidós poblaciones de *S. bonplandiana* a lo largo del territorio Mexicano ($F=16.14$; g.l.=21; $P<0.0001$). Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba múltiple de medias de Tukey-Kramer.

Tabla 3. Variación individual en los niveles de asimetría fluctuante dentro las poblaciones.

Población	g.l	F	P<
La laguna	12	0.79	n.s
Todos Santos	9	0.95	n.s
Estero San José de la Laguna	8	1.93	n.s
Álamos	9	0.91	n.s
Tepoca	9	1.47	n.s
Sombreretillo	9	1.76	n.s
Chirimoyos	10	1.18	n.s
Valparaíso	8	0.6	n.s
Momax	9	2.05	0.03
Mexquitic	9	1.7	n.s
Santa María del Río	9	2.43	0.01
Camichines	9	1.05	n.s
Tapalpa	9	0.71	n.s
Salvatierra	8	1.61	n.s
El Batán	9	1.64	n.s
Acambay	8	0.85	n.s
Panza Cola	10	2.06	0.03
Puente Nacional	9	1.68	n.s
Morelia	9	0.75	n.s
La Gaitana	9	0.98	n.s
Río Cuautla	9	1.92	0.04
La Garzona	9	2	0.04

El análisis de regresión lineal entre los promedios poblacionales del porcentaje de herbivoría y la asimetría fluctuante foliar mostró una asociación positiva y significativa ($R^2 = 0.32$; $P < 0.0001$) (Figura 6).

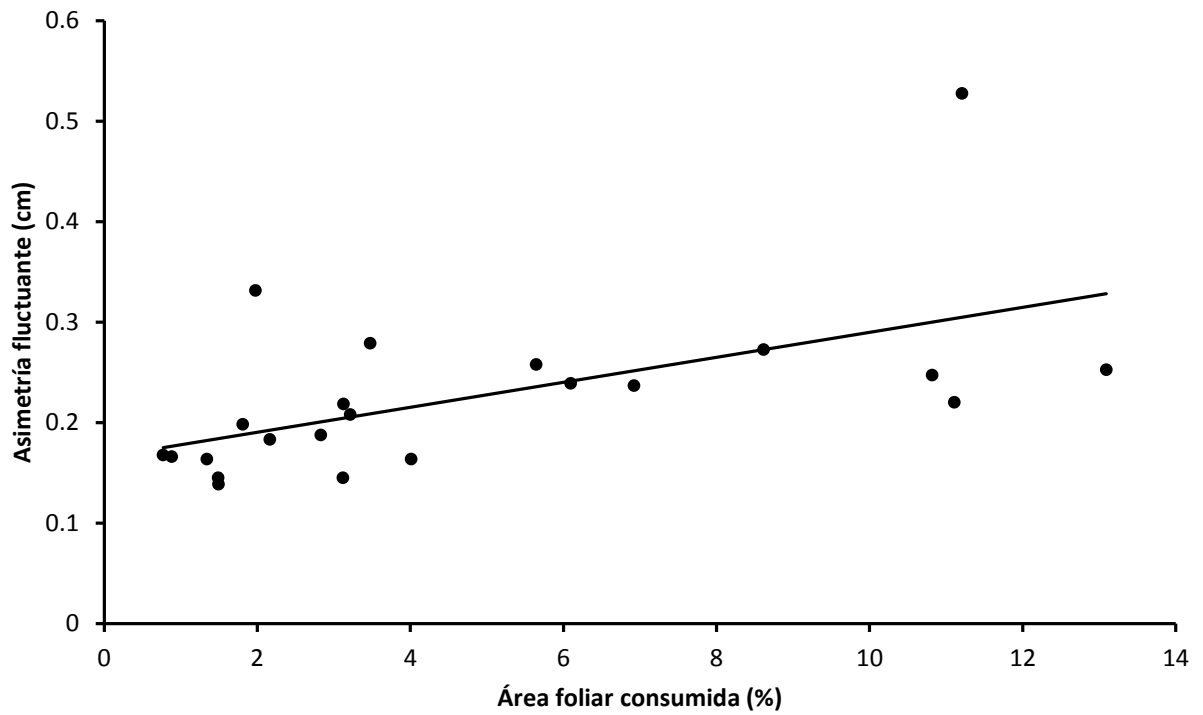


Figura 6. Análisis de regresión entre la asimetría fluctuante foliar y los niveles de herbivoría en hojas de *Salix bonplandiana* en veintidos poblaciones ($R^2 = 0.32$; $P < 0.0001$).

Los análisis de regresión de los niveles promedio de herbivoría y AF por población contra las variables geográficas y bioclimáticas indicaron una asociación significativa de la herbivoría con la media del intervalo diurno medio (promedio mensual de la diferencia entre la temperatura máxima y la mínima; <http://www.worldclim.org/bioclim>) ($R^2= 0.21$; $P<0.0001$) (Figura 7). De acuerdo con esta relación, los mayores niveles de herbivoría se observan en los sitios en los que las diferencias promedio entre temperaturas máximas y mínimas son mayores.

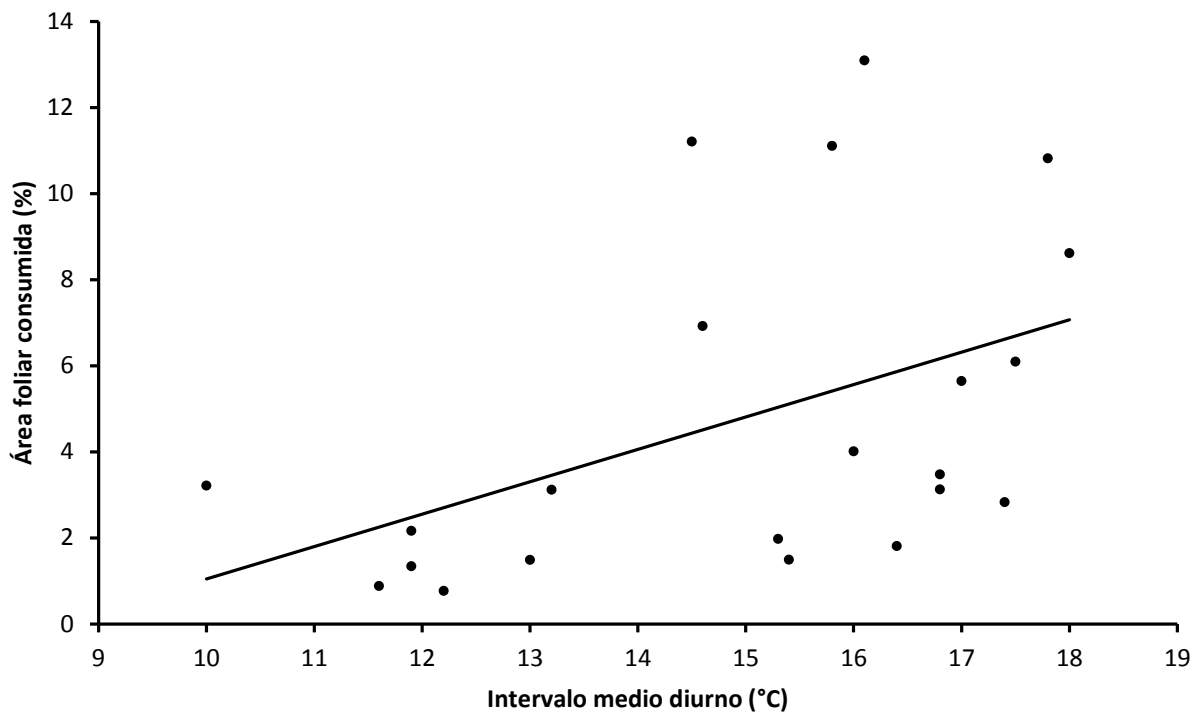


Figura 7. Análisis de regresión del área foliar consumida contra el intervalo medio diurno ($R^2 = 0.21$; $P < 0.0001$).

Por su parte, la AF mostró una relación significativa con la variación geográfica longitudinal. Menores niveles de AF se encontraron en las poblaciones ubicadas en el Oeste ($R^2 = 0.38$; $P < 0.0001$) (Figura 8).

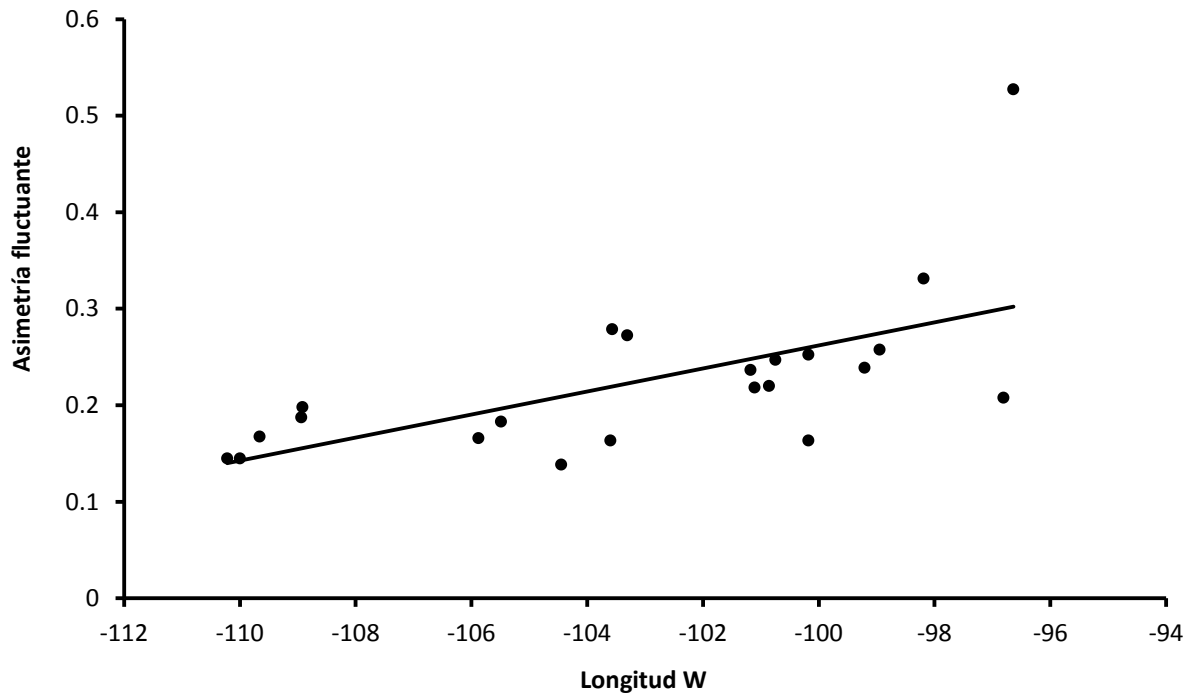


Figura 8. Relación de la asimetría fluctuante foliar promedio con la longitud de las poblaciones de *S. bonplandiana* ($R^2 = 0.38$; $P < 0.0001$).

7.3.3 Área foliar total

Se encontraron diferencias significativas en el área foliar total entre las 22 poblaciones analizadas ($F=14.02$; g.l.= 21; $P < 0.0001$) (figura 9). Las comparaciones del área foliar total entre individuos dentro de las poblaciones indicaron diferencias significativas en todos los casos (Tabla 4). Por su parte, no se encontró una relación significativa de los niveles de herbivoría con el área foliar total ($R^2= 0.009$; $P = 0.4$) ni de la AF con el área foliar total ($R^2= 0.045$; $P = 0.40$). Tampoco se encontró asociación del área foliar total con las variables geográficas o ambientales (no mostrado).

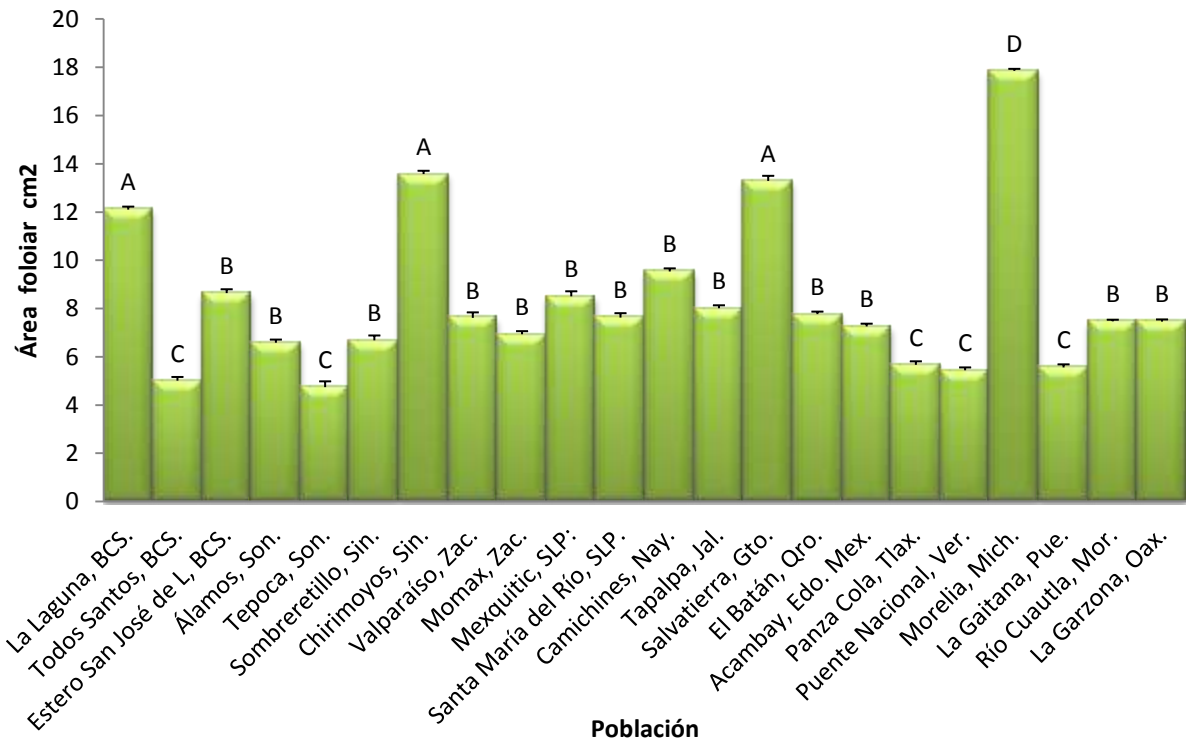


Figura 9. Variación en el promedio del tamaño de la hoja en veintidós poblaciones de *S. bonplandiana* a lo largo del territorio Mexicano ($F=14.0251$; g.l.=21; $P < .0001$). Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba múltiple de medias de Tukey-Kramer.

Tabla 4. Variación individual del área foliar total (cm²) dentro las poblaciones de *S. bonplandiana*.

Población	g.l	F	P<
La laguna	12	11.07	0.0001
Todos Santos	9	47.26	0.0001
Estero San José de la Laguna	8	5.5	0.0001
Álamos	9	6.13	0.0001
Tepoca	9	8.16	0.0001
Sombrerete	9	18.03	0.0001
Chirimoyos	10	5.42	0.0001
Valparaíso	8	7.08	0.0001
Momax	9	19.3	0.0001
Mexquitic	9	5.25	0.0001
Santa María del Río	9	27.32	0.0001
Camichines	9	11.58	0.0001
Tapalpa	9	7.84	0.0001
Salvatierra	8	34.54	0.0001
El Batán	9	17.63	0.0001
Acambay	8	7.12	0.0001
Panza Cola	10	11.68	0.0001
Puente Nacional	9	11.02	0.0001
Morelia	9	19.23	0.0001
La Gaitana	9	7.98	0.0001
Río Cuautla	9	7.99	0.0001
La Garzona	9	18.05	0.0001

7.4 DISCUSIÓN

Los niveles de herbivoría observados en este estudio mostraron diferencias significativas entre poblaciones y entre individuos dentro de la mayoría de las poblaciones. Esto puede ser explicado porque las interacciones planta-herbívoro se caracterizan por presentar una alta variabilidad espacial dentro y entre poblaciones, debido a factores tales como la abundancia, la diversidad de herbívoros y a la estructura de las comunidades (Landsberg & Gillieson, 1995; Coley & Barone, 1996). A nivel de poblaciones vegetales, se ha demostrado que los herbívoros tienen un impacto significativo, afectando aspectos demográficos y de distribución de las mismas (Louda, 1982). En el nivel individual, es reconocido que los herbívoros pueden afectar negativamente uno o más componentes de la adecuación de las plantas (i.e. crecimiento, sobrevivencia, reproducción). Por lo tanto, los herbívoros son considerados como importantes agentes selectivos en la evolución de las plantas (Whithman & Mooper, 1985). Por ello, la genética de la planta es un factor importante el cual determina los diferentes mecanismos de defensa hacia los herbívoros como pueden ser defensas químicas, fisiológicas y fenológicas (Ben D. Moore *et al.*, 2013). Estos diferentes tipos de defensa pueden presentarse simultáneamente en las mismas especies vegetales, genotipos, individuos y variar acorde al ambiente y disponibilidad de recursos de las plantas. (Koricheva, 2002 en: Alvares Anguiano, 2012). La herbivoría tiene un efecto diferente en las plantas hospedadas dependiendo de una gran variedad de factores bióticos y abióticos (Coley & Barone, 1996). De tal modo, que puede haber variación en los niveles de herbivoría a lo largo de la distribución espacial de una especie debido a factores genéticos y ambientales (Coley & Barone, 1996). Por ende, las especies de amplia distribución como ocurre con *Salix bonplandiana*, se encuentran expuestas a que sus poblaciones se enfrenten a diferentes factores bióticos y abióticos, los cuales pueden afectar negativamente uno o más componentes de la adecuación de las plantas y esto provoca los patrones de herbivoría diferenciales a lo largo de la distribución

geográfica de *S. bonplandiana*. A nivel individual los patrones de herbivoría pueden responder a factores genéticos, la calidad nutricional, tamaño de la planta, condiciones climáticas y del micrositio que hacen más difícil la supervivencia de los herbívoros. Aunque, también la plasticidad que poseen las plantas para amortiguar el daño causado por la herbivoría se puede detectar también cuando, por efectos compensatorios, no existe un efecto de la herbivoría en la adecuación de la planta, lo que se conoce como *tolerancia* (Belsky, 1986; Mauricio *et al.*, 1997). Existen varios trabajos que han demostrado la manera en que las plantas toleran el daño (Nuñez-Farfán & Fornoni, 2007).

Otra de las maneras de determinar la plasticidad fenotípica es mediante cambios en la simetría foliar en plantas; la cual puede ser resultado de inestabilidad del desarrollo y un indicador de estrés ambiental o genético (Polak, 2003). Los rasgos bilaterales son controlados por un mismo conjunto de genes a tal grado que la AF describe la incapacidad del organismo de mantener una estabilidad durante su desarrollo (Van Valen, 1962; Møller & Swaddle, 1997; Allenbach, 2011). Los resultados de los niveles de asimetría fluctuante para este trabajo nos indican diferencias significativas entre poblaciones, sin embargo solo se encontraron diferencias significativas entre individuos para cinco de 22 poblaciones. Estos resultados sugieren que entre poblaciones existen características ambientales y ecológicas propias en las que se encuentran, por ejemplo, la abundancia de herbívoros en cada población, lo que podría explicar que la asimetría fluctuante sea diferencial a lo largo de la distribución geográfica de *S. bonplandiana*. Sin embargo, a nivel individual los patrones de asimetría fluctuante pueden responder a factores genéticos o a la edad de los individuos que pudieran determinar diferentes mecanismos hacia los herbívoros y con ello determinar la estabilidad en algunos individuos. Se ha reportado una relación positiva entre la asimetría fluctuante y la herbivoría siendo que la asimetría fluctuante sirve como un indicador de susceptibilidad al daño hecho por herbívoros (Moller, 1995;

Zvereva *et al.*, 1997; Cornelissen & Stiling 2005, Díaz *et al.*, 2004). Nuestro trabajo concuerda con estos autores, ya que se encontró una relación positiva entre la AF y el daño ocasionado por herbívoros, es decir, la herbivoría está relacionada con mayores niveles de AF.

Por otro lado, en este trabajo se intentó considerar algunos factores bióticos y abióticos que pudieran explicar los niveles de herbivoría dentro de la distribución geográfica de *Salix bonplandiana*. Para los factores abióticos se extrajeron las variables bioclimáticas de cada población, las cuales se derivan de la precipitación y temperatura anual. Se encontró mayores niveles de herbivoría en los sitios con mayor intervalo diurno de temperatura. La evaluación del efecto que tiene la temperatura sobre distintas especies que se encuentran en los ecosistemas en general, ha tenido una gran importancia en los últimos años debido a los problemas ambientales que se presentan a nivel global (Houghton *et al.*, 2001; Jeppesen *et al.*, 2009). Los factores del medio ambiente como la temperatura son muy variables y esta variabilidad se extiende normalmente a lo largo de gradientes. Cada especie tiene cierta capacidad para desarrollarse en diferentes puntos o rangos de ese gradiente, más allá de los cuales no es capaz de sobrevivir o viven bajo un estrés (Donoso *et al.*, 2004). Para lidiar con la herbivoría, las plantas han desarrollado mecanismos que les permiten amortiguar su detrimento en la adecuación: tolerancia, resistencia y escape (Strauss & Zangerl, 2002; Boege & Marquis, 2005). Estos mecanismos pueden verse alterados por factores como la temperatura, la cual puede también favorecer la abundancia de herbívoros (Hochuli, 2001). Por ello, podríamos concluir que uno de los factores abióticos que está determinando la incidencia de los niveles de herbivoría es la temperatura, la cual puede determinar la abundancia de herbívoros así como plasticidad fenotípica de las plantas.

Por otra parte, encontramos una relación positiva entre la longitud y la asimetría fluctuante. Es decir, poblaciones que se encuentran distribuidas hacia el este de la distribución de la especie

presentan mayores niveles de asimetría fluctuante este incremento pueda deberse a características propias del ecosistema donde se encuentran estas poblaciones las cuales se localizan en zonas altamente urbanizadas. En la actualidad es de suma importancia identificar aquellas poblaciones que se encuentran sujetas a estrés, antes de que dicha tensión tenga un impacto severo sobre la población (Clarke, 1995). Detectar a tiempo los efectos sub-letales puede permitir tomar decisiones y acciones que prevengan declives poblacionales (Allenbach, 2011).

Los herbívoros pueden ser afectados por el tamaño y forma de las hojas en términos de su abundancia y niveles de daño, debido a que muchos herbívoros ajustan el número de huevos depositados de acuerdo al tamaño de la hoja o pueden utilizar señales químicas que están correlacionadas con el tamaño de la hoja más que con la visión (Whitham, 1978). En este estudio se hicieron análisis del área foliar total, encontrándose diferencias foliares entre poblaciones y entre individuos dentro de las poblaciones. Desafortunadamente, este trabajo no cuenta con análisis químicos de las hojas. Sin embargo Trejo (2013), encontró una correlación positiva: a mayor tamaño foliar mayores niveles de Mg en *Salix bonplandiana*. Mayores cantidades de Mg aumentan el área foliar (Marschner, 1991). Con esto podríamos explicar que las concentraciones de Mg pudieran estar implicadas en la variación del tamaño foliar entre poblaciones y entre individuos. Por otro lado, este resultado también puede ser explicado por dos vías diferentes: por la edad de las plantas y por la genética de las mismas (Boecklen & Spellenberg, 1990). Al realizar un análisis de correlación del área foliar total vs la herbivoría y la AF los resultados indicaron que no existen correlaciones significativas entre estas variables. Finalmente, se hicieron análisis del tamaño de la hoja contra las 19 variables bioclimáticas donde no se encontraron relaciones significativas. Sin embargo, Los patrones de herbivoría y asimetría fluctuante fueron diferenciales entre poblaciones y de los individuos dentro de las

poblaciones de *Salix bonplandiana*. Se encontró una relación positiva entre los niveles de herbivoría y la asimetría fluctuante de *Salix bonplandiana*, a mayor área foliar consumida mayor asimetría fluctuante. Nuestros resultados señalan que los mayores niveles de herbivoría para *Salix bonplandiana* suceden cuando el promedio de la temperatura media diurna anual oscila entre los 14 °C a 18°C. Se encontró que el tamaño de la hoja de *Salix bonplandiana* no influye para determinar los patrones de herbivoría y los niveles de asimetría fluctuante.

7.5 CONCLUSIONES

- Los patrones de herbivoría fueron diferenciales entre poblaciones y de los individuos dentro de las poblaciones de *Salix bonplandiana*.
- Los niveles de asimetría fluctuante fueron diferenciales entre poblaciones, los análisis de varianza señalan que los niveles de asimetría fluctuante entre individuos dentro de las poblaciones solo es significativamente diferencial para cinco poblaciones de *Salix bonplandiana*.
- Se encontró una relación positiva entre los niveles de herbivoría y la asimetría fluctuante de *Salix bonplandiana*, a mayor área foliar consumida mayor asimetría fluctuante.
- Se encontró que los mayores niveles de herbivoría para *Salix bonplandiana* suceden en las poblaciones con un promedio de la temperatura media diurna anual que oscila entre los 14 °C a 18°C.
- Las poblaciones de *Salix bonplandiana* que se encuentran más al oeste de México tienen mayores niveles de asimetría fluctuante.
- El tamaño de la hoja fue diferencial entre poblaciones y de los individuos dentro de las poblaciones *Salix bonplandiana*.
- Se encontró que el tamaño de la hoja de *Salix bonplandiana* no influye para determinar los patrones de herbivoría y los niveles de asimetría fluctuante.

7.6 LITERATURA CITADA

Allenbach, D. M. (2011). Fluctuating asymmetry and exogenous stress in fishes: A review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21, 355–376.

Almeida, D., Almodóvar, A., Nicola, G. G., Elvira, B. (2008). Fluctuating asymmetry, abnormalities and parasitism as indicators of environmental stress in cultured stocks of goldfish and carp. *Aquaculture*, 279, 120–125. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.04.003.

Arnold, G. (1987). Influence of the biomass, botanical composition and the sward height of annual pastures on foraging behaviour by sheep. *J.Applied.Ecol.*, 24: 759-772.

Banuelos, M. J., M. Sierra, and J. R. Obeso. (2004). Sex, secondary compounds and asymmetry. Effects on plant herbivore interaction in a dioecious shrub. *Acta Oecol.* 25: 151-157.

Barradas, V. (1991). Radiation regime in a tropical Deciduous Fores in Western Mexico. *Theor. Appl. Climatol.* 44:57-64.

Belsky, A. J. (1986). Does herbivory benefit plants: a review of the evidence. *American Naturalist*, 127:870-892.

Ben D. Moore, Rose L. Andrew , Carsten Kulheim and William J. Foley (2013). Explaining intraspecific diversity in plant secondary metabolites in an ecological context. *New Phytologist* 201: 733–750.

Benitez, H.A., Parra, L.E., Sepulveda, E., Sanzana, M.J., (2011). Geometric perspectives of sexual dimorphism in the wing shape of Lepidoptera: the case of *Synneuria* sp. (Lepidoptera: Geometridae). *Journal of Entomological Research Society* 13(1):53-60.

Bergelson, J. (1990). Life after death: site pre-emption by the remains of *Poa annua*. *Ecology* 71: 2157–2165.

Bigger, D. S. and Marvier, M. A. (1998), How different would a world without herbivory be?. A search for generality in ecology. *Integrative Biology*, 1: 60–67.

Boecklen, W. J., & Spellenberg, R. (1990). Structure of herbivore communities in two oak (*Quercus* spp.) hybrid zones. *Oecologia*, 85(1), 92-100.

Boege, K., & Marquis, R. J. (2005). Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(8), 441-448.

Canché-Delgado A, Garcia-Jain S. E, Vaca-Sanchez M. S, Cuevas-Reyes P. (2011). Cambios en la morfología floral y foliar en *Crataegus tracyi*: importancia de la asimetría fluctuante como indicador de estrés ambiental". *Biologicas* 13(1): 44-49

Clarke, C., & Syer, D. (1995). Low Mass Companions to T~ Tauri Stars: a Mechanism for Rapid-rise FU~ Orionis Outbursts. *arXiv preprint astro-ph/9511030*.

Coley PD & Barone JA. (1996). Herbivory and Plant Defenses in Tropical Forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27:305-335.

Coley PD & Barone JA. (1996). Herbivory and Plant Defenses in Tropical Forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27:305-335.

Cornelissen JHC, Lavorel S, Garnier E, Díaz S, Buchmann N, Gurvich DE, Reich PB, ter Steege H, Morgan HD, van der Heijden MGA, Pausas JG, Poorter H. (2003). A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 51, 335–380

Cornelissen T, Stiling P (2005). Perfect is best: low leaf fluctuating asymmetry reduces herbivory by leaf miners. *Oecologia* 142:46–56

Couillard-Despres, S., Finkl, R., Winner, B., Ploetz, S., Wiedermann, D., Aigner, R., ... & Aigner, L. (2008). In vivo optical imaging of neurogenesis: watching new neurons in the intact brain. *Molecular imaging*, 7(1), 28-34.

Crawley MJ. (1983). Herbivory. The dynamics of animal-plant interactions. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Cuevas-Reyes P, Fernandez GW, González-Rodríguez A & Pimenta M. (2011). Effects of generalist and specialist parasitic plants (Loranthaceae) on the fluctuating asymmetry patterns of ruprestrian host plants. 12:449-455.

Cuevas-Reyes P, Gilberti, L. Gonzales-Rodriguez, A. & Fernandes, G.W. (2012). "Patterns of herbivory and fluctuating asymmetry in *Solanum lycocarpum* St Hill (Solanaceae) along an urban gradient in Brazil" Ecological Indicators (En prensa).

Díaz M, Pulido FJ & Moller AP. (2004). Plant animal Interactions Herbivore effects on developmental instability and fecundity of holm oaks. Oecología 139:224-234.

Diaz M. Pulido F.J. y Moller A.P. (2004). "Herbivore effects on developmental instability and fecundity of homl oaks" Oecology 139:224-234.

Dirzo, R. y Harper, JL (1982) Estudios experimentales sobre las interacciones planta-babosa. IV. El rendimiento de los morfos cianogénicos y acyanogenic de *Trifolium repens* en el campo. *Diario de Ecología*, **70**, 119 - 138.

Ditchkoff, SS, & DeFreese,RL (2010). Assessing Fluctuating Asymmetry of White-tailed Deer Antlers in a three-dimensional context. *Journal of Mammalogy*, 91(1), 27–37.

Donoso, P. J., Gerding, V., Uteau, D., Soto, D. P., Thiers, O., & Donoso, C. (2007). Efecto de fertilización y cobertura de malezas en el crecimiento inicial y la mortalidad de una plantación de *Nothofagus dombeyi* en la Cordillera de Los Andes. *Bosque (Valdivia)*, 28(3), 249-255.

Estrada-Venegas E. Equihua-Martínez A. Acuña-Soto J. Chaires Grijalva P. (2011). Diversidad de organismos asociados al ahuejote *Salix bonplandiana* en la zona chinampera de Xochimilco D.F. Memoria del XV Simposio nacional de parasitología forestal. Primera edición. 2011. 87-93.

Garcia MB, Ehrlen J. (2002). Reproductive effort and herbivory timing in a perennial herb: fitness components at the individual and population levels. *American Journal of Botany* 89: 1295–1302. in scarlet gilia? *Ecology* 81:41–48

Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G., Jarvis A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology*, **25**, 1965-1978.

Hochuli, A., & Lanzrein, B. (2001). Characterization of a 212kD protein, released into the host by the larva of the endoparasitoid *Chelonus inanitus* (Hymenoptera, Braconidae). *Journal of Insect Physiology*, *47*(11), 1313-1319.

Houghton, J. T., Ding, Y. D. J. G., Griggs, D. J., Noguer, M., van der Linden, P. J., Dai, X., & Johnson, C. A. (2001). Climate change 2001: the scientific basis.

Janzen, D. (1980). Specificity of seed attacking beetles in Costa Rican deciduous forest. *Journal of Ecology* *68*: 929-952.

Janzen, D. (1985). *Spondias mombin* is culturally deprived in megafauna-free forest. *Journal of Tropical Ecology* *1*:131-155.

Jaramillo, V.J., J.B. Kauffman, L. Rentería-Rodríguez, D.L. Cummings y L.J. Ellingson.(2003). Biomass, carbon, and nitrogen pools in Mexican tropical dry forest landscapes. *Ecosystems* *6*: 609-629.

Jeppesen, E., Kronvang, B., Meerhoff, M., Søndergaard, M., Hansen, K. M., Andersen, H. E., ... & Olesen, J. E. (2009). Climate change effects on runoff, catchment phosphorus loading and lake ecological state, and potential adaptations. *Journal of Environmental Quality*, *38*(5), 1930-1941.

Juenger T, Bergelson J. (2000). Does early season browsing influence the effect of self pollination.

Kight, C. R., & Swaddle, J. P. (2011). How and why environmental noise impacts animals: an integrative, mechanistic review. *Ecology Letters*, *14*(10), 1052-1061.

Knight, T. M. (2004). The effects of herbivory and pollen limitation on a declining population of *Trillium grandiflorum*. *Ecological Applications* *14*:915–928.

Koricheva (2002). in: Alvares Anguiano: "Cambios en la morfología foliar y herbivoría en ambientes contrastantes de especies tropicales: importancia de la asimetría fluctuante como indicador de estrés ambiental. 2012, 54 pp.

Krebs, C., Gerber, E., Matthies, D., & Schaffner, U. (2011). Herbivore resistance of invasive *Fallopia*

species and their hybrids. *Oecologia*, 167(4), 1041-1052.

Landsberg, J., & Gillieson, D. S. (1995). Regional and local variation in insect herbivory, vegetation and soils of eucalypt associations in contrasted landscape positions along a climatic gradient. *Australian Journal of Ecology*, 20(2), 299-315.

Lempa K, Martel J, Koricheva J, Haukioja E, Ossipov V, Ossipova S y Philaja K. (2000). *Oecologia* 122:354-360.

Louda, S.M. (1982). Limitation of the recruitment of the shrub *haploppapus squarrosus* (Asteraceae) by flower and seed feeding Insects. *J. Ecology* 70:43-53.

Lowman, M. D., and Heatwole, H. (1992). Spatial and temporal variability in defoliation of Australian eucalypts. *Ecology* 73, 129-142.

Maron, J.L., Crone, E., (2006). Herbivory, effects on plant abundance, distribution and population growth. *Proceedings of the Royal Society of London B* 273, 2575– 2584.

Marquis, R. (1992). A bite is a bite is a bite? Constrains on response to folivory in *Piper arieianum* (Piperaceae). *Ecology* 73: 143-152.

Marschner, H. (1991). Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. In *Plant-Soil interactions at low pH* (pp. 683-702). Springer Netherlands.

Mauricio, R., M. D. Rausher, and D. S. Burdick. (1997). Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? *Ecology* 78: 1301–1311.

McNaughton SJ (1983). Serengeti grassland ecology: the role of composite environmental factors and contingency in community structure. *Ecol Monogr* 53:291-320.

McNaughton SJ (1992). Laboratory-simulated grazing: interactive effects of defoliation and canopy closure on Serengeti grasses. *Ecology*, 73, 170-82.

Møller, A. P. & Swaddle, J. P. , (1997). *Asymmetry, Developmental Stability and Evolution*. Oxford, Oxford Univ. Press.

Moller, A. P. (1995). Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus glabra* leaves. *J. Anim. Ecol.* 64: 697-707.

Møller, A. P. (1995). Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus glabra* leaves. *J. Anim. Ecol.* 64:697-707.

Niembro R., A. (1986). Árboles y arbustos de México naturales e introducidos. Editorial LIMUSA. México. pp 163-164. Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names. *Annales des sciences forestières* 50 (Supplement), 25-34.

Núñez-Farfán, J., Fornoni, J. & Valverde, P.L. (2007). The evolution of resistance and tolerance to herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 38, 541–566.

Ohgushi, T. (2005). Indirect interaction webs: herbivore-induced effects through trait change in plants. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36: 81-105.

Painter RH. (1951). Insect resistance in crop plants. University of Kansas Press, Lawrence, KS.

Palmer, A. R. & Strobeck, C. (1997). Fluctuating asymmetry and developmental stability: heritability of observable variation vs. heritability of inferred cause. *J. Evolution Biol.*, 10:39-49.

Palmer, R., Strobeck, C. (1986). Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 17, 391-421.

Polak, M. 2003. Developmental instability causes and consequences. University Press, Oxford, United Kingdom.

Quintero R., Villa A., (1991). Evaluación dasométrica, fenológica y sanitaria del ahuejote, *Salix bonplandiana* HBK, en el área chinampera de Xochimilco, D. F. *Revista Ciencia Forestal México*, Vol.16 Núm. 70 Julio-diciembre de 1991.

Rodríguez GC. (2002). Contribución al estudio de los *Salix* spp. En México Pp.84-86 (tesis).

Rzedowski, J. R. Medina L. y G. Calderón de Rzedowski. (2005). Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). *Acta Botanica Mexicana*, 70, 85-111.

Silvertown, J., M. E. Dodd, K. McConway, J. Potts, and M. J. Crawley. (1994). Rainfall, biomass variation, and community composition in the Park Grass Experiment. *Ecology* 75:2430–2437.

Strauss, S. Y., & Zangerl, A. R. (2002). *Plant-insect interactions in terrestrial ecosystems* (pp. 77-106). Blackwell Publishing: Oxford, UK.

Trejo V.D.(2013).Evaluación del estado nutricional de los ahuejotes (*Salix bomplandiana*) En una chinampa tipo en Xochimilco México, Pp.73-79 (tesis)

Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149.

Van Valen L. (1962). A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16:125–142.

Whitham, T. G. (1978). Habitat selection by Pemphigus aphids in response to resource limitation and competition. *Ecology*, 1164-1176.

Whitman, T.G. & S. Mooper. (1985). Chronic herbivory: Impacts on architecture and sex expression of pinyon pine. *Science*, 228: 1089-1091.

Wilsey B.J, E. Haukioja, J. Koricheva, M. Sulkinoja (1998). “Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and elevation in tree-line birches” *Ecology* 79:2092–2099.

Zvereva E.L., Kozlov M.V., Niemela P. & Haukioja E. (1997). Delayed induced resistance and increase in leaf fluctuating asymmetry as responses of *Salix borealis* to insect herbivory. *Oecologia* 102: 368-373.

CAPITULO II

VIII. Patrones de variación genética en el ADN de cloroplasto y morfometría foliar en poblaciones de *Salix bonplandiana*.

8.1 INTRODUCCIÓN

Todas las poblaciones de una especie pueden intercambiar genes, nucleares o genomas uniparentales como la mitocondria o el cloroplasto, debido al flujo de gametos, semillas, individuos juveniles o adultos (en animales y en el caso de algunas plantas), así como por eventos de extinción y recolonización de poblaciones enteras (Slatkin, 1985). La distribución de la variación genética en poblaciones está fuertemente influenciada por las fuerzas microevolutivas que están actuando, como el flujo génico y la selección natural, así como por la historia demográfica, biogeográfica y filogenética de las poblaciones y las especies (Schaal *et al.*, 2003).

Se entiende como variación genética toda aquella alteración que modifique la secuencia de nucleótidos del material genético o la estructura de los cromosomas (Hernández, 2014). La variación genética de una población está determinada por su historia evolutiva y es consecuencia de interacciones entre diferentes factores, generando la evolución de las poblaciones (Hedrick, 2005). Los marcadores de ADN por lo general muestran una alta variación molecular neutral que puede ser utilizada para inferir la genealogía de individuos y poblaciones. Por ello, el uso de marcadores moleculares para inferir procesos evolutivos a nivel poblacional, se ha aplicado al campo conocido

como filogeografía (Avice, 1994). El estudio de la distribución geográfica de linajes de genes de poblaciones de una misma especie se considera como filogeografía intraespecífica, una de las aplicaciones más estudiadas ha sido el poder determinar el grado de estructuración poblacional de las especies a lo largo de su área de distribución, así como descifrar cuales han sido los procesos que han determinado dicha distribución.

Sin embargo, para que la filogeografía adquiriera pleno sentido es necesario contrastar o complementar en todos los casos las conclusiones derivadas de los datos genéticos con información independiente obtenida a partir de registros geológicos, climatológicos o paleontológicos (Arbogast & Kenagy, 2001). Recientemente se ha sugerido que la modelación de nicho ecológico y los mapas de la distribución potencial histórica de las especies es una buena alternativa para subsanar las deficiencias del registro fósil y generar evidencia independiente que sirva para contrastar los patrones filogeográficos obtenidos mediante datos moleculares (Richards *et al.*, 2007). De igual forma, los modelos de nicho ecológico, al proyectarse bajo escenarios de cambio climático global, y en combinación con los datos genéticos, pueden informar la toma de decisiones de manejo y conservación de las especies. Otra aplicación relevante de los estudios filogeográficos tiene que ver con la posibilidad de probar diferentes modelos de diversificación (Schneider *et al.*, 1999). Asimismo, los patrones de diversidad genética y la distribución geográfica de los linajes intraespecíficos permiten identificar poblaciones y áreas de alto valor biológico, aportando importantes criterios para la elaboración de estrategias de conservación a nivel regional.

Los métodos morfométricos son aplicados para explorar variaciones fenotípicas. Las diferencias morfométricas estables se pueden relacionar con componentes geográficos y/o ambientales para identificar la acción de procesos evolutivos tales como la selección natural y/o la deriva genética.

Los caracteres morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de las hojas están en sintonía con las características ambientales y los cambios en dichos caracteres son la primera línea de respuesta a los cambios en el ambiente. Así, los caracteres foliares pueden ser indicadores de los cambios funcionales (Álvarez-Buylla & Martínez-Ramos, 1992; Brzeziccki & Kienast, 1994; Swaine & Whitmore, 1988). De manera general, se asume que los caracteres morfométricos en las hojas varían como respuesta a los cambios ambientales (Bazzaz, 1996). La morfometría geométrica es una herramienta matemática con fundamentos biológicos, que ha demostrado ser muy efectiva para descomponer la variación resultante de la fisiología de los individuos de aquella más estable, propia de la población y producto probablemente del componente genético (Jaramillo & Dujardin, 2002). De tal manera, en este proyecto se propone contribuir al conocimiento de los patrones filogeográficos y su relación con los patrones de morfometría foliar de una especie de amplia distribución como es *Salix bonplandiana*.

8.2 ANTECEDENTES

8.2.1 Variación genética

La variabilidad genética que existe entre y dentro de las poblaciones constituye la fuente genética que capacita a las especies a sobrevivir y adaptarse a los cambios ambientales (Phillip *et al.*, 1986). Existen tres fuerzas evolutivas que incrementan la variación genética en una población: mutación, recombinación y migración. Mientras que las fuerzas evolutivas que reducen la variación de las poblaciones son la deriva génica y la selección natural (Escalante, 2001).

8.2.2 Filogeografía

La filogeografía estudia la distribución de la genealogía de alelos o haplotipos en un contexto geográfico, utilizando información histórica contenida en los genes y que permite caracterizar la subdivisión genética de las poblaciones al reconocer patrones geográficos relacionados con la estructura genealógica a lo largo del área de distribución de una especie. Este tipo de análisis permite indagar sobre aspectos de la demografía y biogeografía histórica de una gran variedad de organismos (Avice, 2000; Knowles & Maddison, 2002). La estructura genética de poblaciones se encuentra fuertemente influida por los procesos de intercambio genético, dentro y entre poblaciones (Hamrick & Schnable, 1985). Las plantas con semillas pueden mover sus genes a través de dos formas: a) antes de la fertilización a través del gametofito masculino (polen). b) después de la formación del esporofito joven a través de la semilla. En angiospermas y gimnospermas el polen juega un papel importante al conectar las poblaciones a través del flujo génico, mientras que las semillas son necesarias para el establecimiento y permanencia de nuevas poblaciones. Los genes heredados por vía materna (los cuales no son transmitidos a la siguiente generación por el polen) puede ser de gran importancia para esclarecer las dinámicas espacio temporales de las poblaciones de plantas (Hernández, 2014).

8.2.3 Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares se pueden definir como aquellas biomoléculas que funcionan como caracteres cualitativos o cuantitativos, que permiten evaluar la variación presente entre poblaciones de una especie, por ello, el uso de marcadores moleculares para inferir procesos evolutivos a nivel poblacional, se ha aplicado al campo conocido como filogeografía (Awise, 1994; Awise, 1994; Freeman *et al.*, 2002). Los marcadores que más recientemente se han utilizado son los microsatélites, los cuales son repeticiones de segmentos cortos de ADN, típicamente de 1-5 bases en longitud (Hernández, 2014).

8.2.4 Cambios morfológicos

El incremento de la diversidad genética en poblaciones de plantas puede ocasionar cambios en su morfología (Lambert *et al.*, 1995; González-Rodríguez *et al.* 2004; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004), fenología (Hunter *et al.* 1997), arquitectura (Martinsen & Whitham, 1994; Whitham *et al.*, 1999; Bangert *et al.*, 2005), así como en el metabolismo secundario (Fritz, 1999; Wimp *et al.*, 2004). El componente genético puede determinar el la forma de las hojas, lo cual puede depender de factores selectivos o históricos, por lo que es interesante contrastar la variación morfológica de una especie con la estructura filogeográfica. En este capítulo se intenta determinar la estructura y variación genética así como establecer los patrones de morfología foliar de una especie como es *Salix bonplandiana* a lo largo de su distribución en México, para así intentar entender las necesidades que requiere una especie altamente representada en el territorio mexicano para enfrentar los desafíos futuros.

8.3 MATERIALES Y MÉTODOS

8.3.1 Descripción del sistema de estudio.

Salix bonplandiana es un árbol de 15 m de altura; tronco con un diámetro de 40 a 80 cm, corteza de

color café-grisáceo, gruesa y con fisuras irregulares, ramas ascendentes, ramillas glabras yemas ovaladas y glabras, estípulas caducas, peciolo de 0.5 a 1.5 cm de largo, café rojizo, láminas foliares linear-lanceoladas de 6 a 15 cm de largo por 1 a 2 cm de ancho, ápice agudo, margen finalmente aserrado, base cuneada; amentos cilíndricos, de 3 a 8 cm de largo, los masculinos generalmente más largos que los femeninos; flores masculinas con la bráctea redondeada, obtusa, cóncava y membranosa, estambres con los filamentos pilosos y sus anteras subglobosas; flores con el ovario estipitado, oblongo, glabro, con el estilo corto y su estigma bifido; semillas numerosas, diminutas, oblongas (Rzedowski, 2005).

Salix bonplandiana se encuentra en vegetación riparia asociado con diferente vegetación. Son organismos dioicos, su época de floración ocurre en los meses de febrero-agosto y octubre-diciembre (Rodríguez –García, 2002). Es una especie susceptible a la sequía, la contaminación ambiental y a suelos fuertemente alcalinos. Se puede usar como forraje y por su talla es una especie que puede ser de uso maderable. Su corteza contiene taninos y un alcaloide llamado “salicina” que se emplea en medicina casera para combatir las fiebres y el reumatismo (Niembro, 1986).

8.3.2 Elección de los sitios de colecta.

Se realizó una revisión en el herbario nacional (MEXU) con lo cual se recabó información de la distribución y las características taxonómicas para la correcta identificación de *S. bonplandiana* en el campo. Se encontraron registros de la especie en los estados de Baja California Sur, Baja California, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas, así como en el sur de Estados Unidos de América y el norte de Guatemala, con un intervalo de altitud de los 8 a los 2700 msnm. Con base en esta información se

realizó un mapa de las localidades en territorio Mexicano con presencia de la especie, mediante el programa ArcView ver. 3.0 (Figura 10).

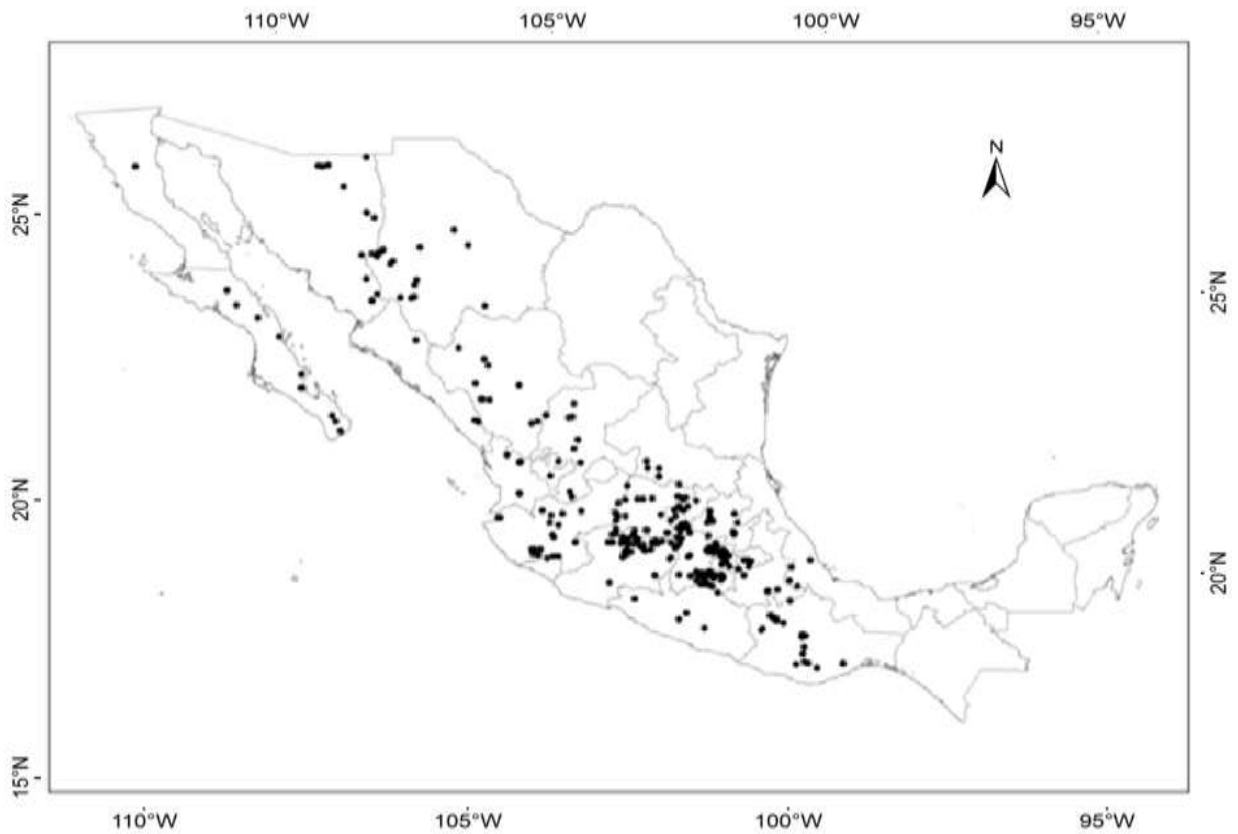


Figura 10. Mapa de la ubicación geográfica de las localidades con registros de la presencia de *Salix bonplandiana* en México.

A partir del mapa y de la lista de localidades se eligieron 22 poblaciones que representaran la distribución geográfica completa de *S. bonplandiana* en México (Tabla 5, Figura 11).

Tabla 5. Ubicación geográfica de los sitios de colecta de *Salix bonplandiana* en México.

Sitios de colecta					
Estado	Sitio	Latitud N	Longitud W	Altitud (m)	Número de Individuos
Baja California Sur	La Laguna	23°34'0.00"	110° 0'0.00"	200	13
Baja California Sur	Todos Santos	23°26'46.90"	110°13'35.44"	30	10
Baja California Sur	Estero San José de la Laguna	23° 3'45.73"	109°40'7.43"	8	9
Sonora	Álamos	27° 1'31.75"	108°56'28.71"	335	10
Sonora	Tepoca	29° 6'1.53"	111° 0'22.15"	800	10
Sinaloa	Sombreretillo	23°28'7"	105°53'5"	1700	10
Sinaloa	Chirimoyos	23° 08' 30"	105° 29' 37"	1600	11
Zacatecas	Valparaíso	23°03'37.2"	103°9.4'25.5"	2143	9
Zacatecas	Momax	21°55'4.2"	103°18'38.6"	2165	10
San Luis Potosí	Mexquitic	22°16'16"	101°6.8'52.2"	2027	10
San Luis Potosí	Santa María del Río	21°28'53.7"	100°28'20.7"	1713	10
Nayarit	Camichines	21°32'42.33	104°27'18.95"	1200	10
Jalisco	Tapalpa	19°56'51.62"	103°45'38.80"	2570	10
Guanajuato	Salvatierra	20°13'4.8"	100°52'2.8"	1924	9
Querétaro	El Batán	20°18'9.4"	100°11'16.8"	2308	10
Ed. México	Acambay	19°57'16"	99°50'39"	2440	9
Tlaxcala	Panza Cola	19°18'12.82"	98°11'39.81"	2200	11
Veracruz	Puente Nacional	19°32'44.2"	96°48'55.2"	96	10
Michoacán	Morelia	19°42'7.9"	101°11'7.8"	1920	10
Puebla	La Gaitana	18°33'44.91"	99°13'1.54"	856	10
Morelos	Río Cuautla	18°48'44"	98°57'21"	1294	11
Oaxaca	La Garzona	16°41'11"	96°38'36.9"	1657	10

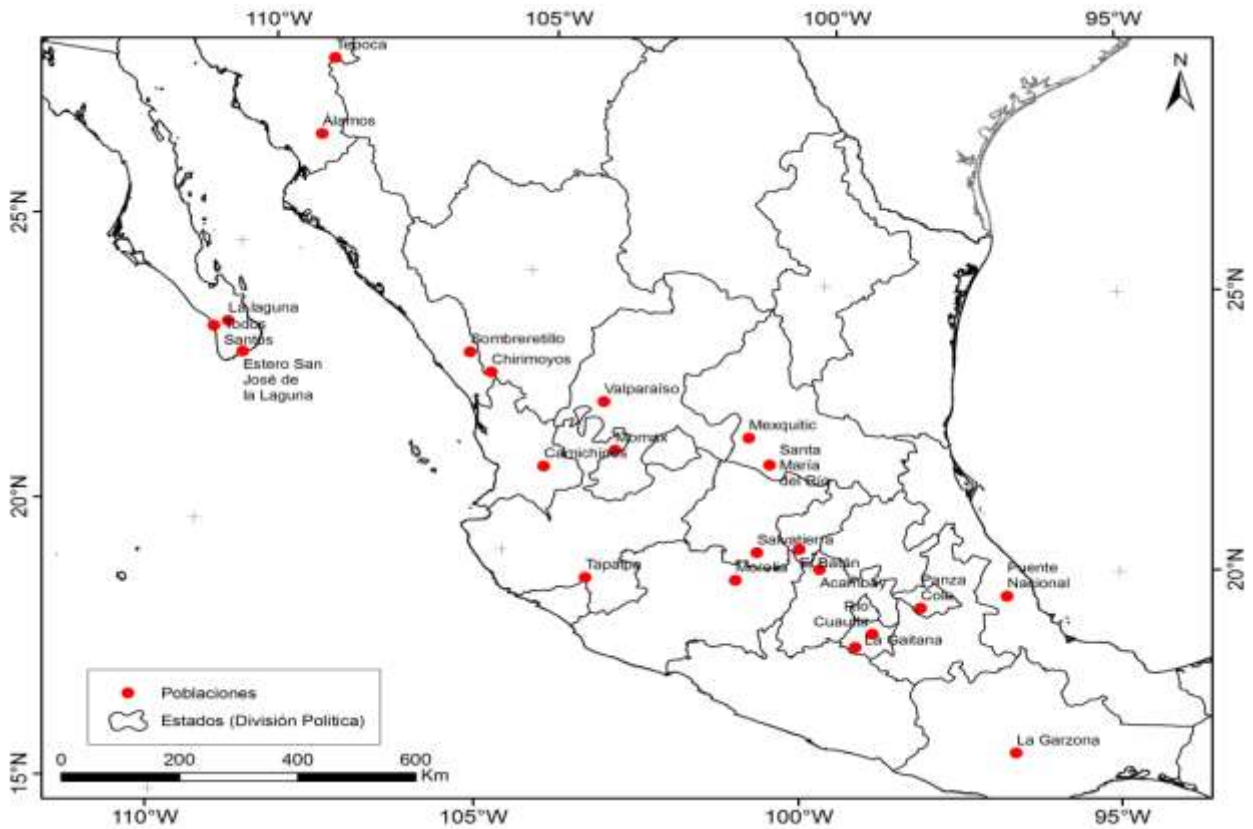


Figura 11. Mapa de 22 diferentes localidades colectadas de *Salix bonplandiana* en territorio nacional mexicano.

8.3.3 Análisis moleculares

Para determinar las diferencias genéticas de 22 diferentes poblaciones de *Salix bonplandiana* localizadas en diferentes regiones geográficas del territorio mexicano (Figura 12, Tabla 6). Se colectaron 10 hojas jóvenes y sin daño que fueron colocadas en bolsas tipo ziploc, etiquetadas y colocadas en hielo para ser transportadas al laboratorio donde posteriormente fueron transferidas a ultracongeladores a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta la realización de las extracciones de ADN. Las extracciones de ADN fueron realizadas utilizando un protocolo de CTAB modificado (Vázquez-Lobo, 1996; González-Rodríguez, 2000). Se realizaron electroforesis en geles de agarosa al 0.8% para corroborar la calidad del ADN. Asimismo, se determinó la concentración de ADN de cada individuo por medio de un

instrumento Qubit 2.0 Fluorometer (Life Technologies).

Como marcadores del ADN de cloroplasto (ADNcp) se ensayaron los 10 pares de oligonucleótidos universales publicados por (Weising & Gardener, 1999). Los ensayos se realizaron haciendo reacciones de PCR usando 5 μ l de Platinum Multiplex PCR Master Mix (Life Technologies), 0.5 μ l de la mezcla de primers, 3.3 μ l de agua libre de Rnasa, 0.2 μ l de $MgCl_2$ 50 μ M y 1 μ l de ADN de un individuo, para obtener un volumen final de 10 μ l. Estas reacciones se sometieron a gradientes de temperatura de alineamiento de 40°C, 45°C, 50°C y 55°C. Se obtuvieron amplificaciones claras y consistentes para cuatro pares de primers a las siguientes temperaturas: cp2 a 50°C y 55°C, cp5 a 45°C y 55°C, cp6 a 55°C y cp10 a 55°C). Con estos resultados se pudieron estandarizar reacciones de PCR multiplex con los cuatro pares de primers y un programa de termociclador como sigue: 90°C durante 5 minutos, 35 ciclos, cada uno de 94°C durante 30 segundos, 55°C durante 30 segundos y 72°C durante 1 minuto. Finalmente, un ciclo de extensión a 60°C durante 30 minutos. Posteriormente se realizaron electroforesis en geles de agarosa con concentración al 1.2% para la visualización del producto de PCR.

Los productos de PCR se prepararon para su posterior análisis en un secuenciador automático colocando 2 μ l del producto de PCR dentro de una placa para secuenciador adicionando 10 μ l de HiDi formamida y 0.3 de GeneScan™ -600 LIZ (Applied Biosystems, USA) (marcador interno de peso molecular). Las muestras se desnaturalizaron por 5 minutos a 95°C, inmediatamente después se cambiaron a baño de hielo y se colocaron dentro de un secuenciador ABI prism Hitachi, 3100-Avant Genetic Analyzer, equipado con 16 capilares y un polímero POP-6 (Applied Biosystems, USA). Para determinar los tamaños de los fragmentos se utilizó el software Peak Scanner v1.0 (Applied Biosystems, USA). Posteriormente los tamaños de los fragmentos se incluyeron en una hoja de cálculo de Excel.

Los datos moleculares fueron analizados para establecer los patrones de variación genética de *S. bonplandiana* a lo largo de su distribución geográfica en México.

Se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) para determinar la estructuración de la variación genética entre grupos de poblaciones, entre poblaciones dentro de grupos y dentro de poblaciones (Excoffier *et al.*, 2006). Igualmente, se utilizó el software SPAGeDi (Hardy & Vekemans, 2002) para caracterizar la estructura genética y filogeográfica en *S. bonplandiana*. Se elaboraron mapas del territorio nacional mexicano mediante el programa ArcGis versión 9.3 (ESRI, 2008), en los que se representó la distribución de los diferentes haplotipos. Se realizó una red de haplotipos con el software NETWORK 4.6.0 (Bandelt *et al.*, 1995) para ilustrar las distancias genéticas y los cambios mutacionales de los diferentes haplotipos, así como la ubicación geográfica de las principales discontinuidades genéticas entre grupos de poblaciones.

8.3.4 Asociación genética y variación morfológica con el gradiente latitudinal y variables climáticas.

Para caracterizar las variables ambientales y el gradiente latitudinal se obtuvieron datos bioclimáticos de las veintidós poblaciones estudiadas de *Salix bonplandiana* de la base de datos de WorldClim (Hijmans *et al.*, 2005) (<http://www.worldclim.org/>). Las diecinueve variables bioclimáticas se derivan de la precipitación y temperatura anual, estas son utilizadas para generar variables de importancia biológica que representan las tendencias anuales, la estacionalidad y factores ambientales limitantes (Hijmans *et al.*, 2005). Con estos datos se determinó si la composición genética de las poblaciones y la variación morfológica se asociaban con variables geográficas o climáticas. Estos análisis se hicieron en software JMP (SAS Institute, Cary, NC, USA).

8.3.5 Análisis de morfometría geométrica foliar

Para determinar los patrones de variación foliar (i. e. tamaño y forma de las hojas) de *Salix bonplandiana* a lo largo de su distribución geográfica, para cada individuo se seleccionaron aleatoriamente 15 hojas sin daño obteniendo un total de 3300 hojas para todas las poblaciones, las cuales fueron posteriormente digitalizadas mediante un escáner. En la imagen de cada hoja se colocaron 14 “landmarks” (i. e. puntos homólogos y repetibles) y dos marcas adicionales como referencia de tamaño, utilizando el software MAKE-FAN6 (Sheets, 2005). El programa TpsDig2 (Rohlf, 2004), se utilizó para registrar las coordenadas (x, y) de los 14 puntos homólogos en cada imagen de la hoja. Se realizó un análisis de superimposición de Procrustes para determinar la variación en las coordenadas de cada landmark entre las imágenes, usando el programa CoordGen6 (Sheets, 2005). Se extrajeron las variables de conformación (partial warps= Pw) Las matrices de Pw se usaron para análisis de variables canónicas (AVC) con el programa CVA Gen (Sheets, 2005), mediante el cual también se obtuvo la proporción de grupos (poblaciones) reclasificados y MANOVA por cada eje canónico (Zelditch *et al.*, 2004; van der Molen *et al.*, 2007). Las diferencias en los valores de las hojas fueron analizadas mediante software JMP (SAS Institute, Cary, NC, USA).

8.3.6 Modelación de Nicho Ecológico

Se realizó una revisión en el herbario nacional (MEXU) con lo cual se recabó información de distribución geográfica de poblaciones por medio de coordenadas de *Salix bonplandiana*. Los parámetros climáticos de las localidades en las que se encuentra *S. bonplandiana* se obtuvieron de la base de datos WorldClim (Hijmans *et al.*, 2005) y de otras disponibles específicas para México (i. e. Atlas Climático Digital de México: <http://www.atmosfera.unam.mx/uniatmos/atlas/>). Las áreas de distribución contemporánea, histórica y bajo escenarios de cambio climático de *S. bonplandiana* fueron modeladas

siguiendo los procedimientos implementados en el programa MAXENT (Phillips *et al.*, 2006). Los modelos de distribución de *S. bonplandiana* fueron proyectados sobre las reconstrucciones paleoclimáticas disponibles para distintos momentos del pasado geológico reciente (e. g. 21 ka), para obtener la distribución histórica (Waltari *et al.*, 2007). Se proyectaron para los años 2050 y 2080, escenarios severos (a7b) en tres diferentes modelos: cccma_cgcm31, csivo_mk30 y ukmo_hadcm3.

8.4 RESULTADOS

8.4.1 Análisis Genéticos.

Los análisis para el ADN de cloroplasto revelaron una alta diversidad de haplotipos, un total de 95 haplotipos en 210 individuos. El número de haplotipos por población (N_a) varió de 1 a 10, la riqueza de haplotipos (A_r) utilizando rarefacción para estandarizar el tamaño de muestra por población estuvo entre 1 y 7.49 y la diversidad haplotípica (H) entre 0 y 0.982. La población Río Cuautla, localizada en la parte central de México, fue la que tuvo los valores más altos de diversidad genética, mientras que la población Estero San José, localizada en Baja California Sur, fue la población con menor diversidad genética (Ver tabla 6).

Tabla 6. Valores de diversidad genética para 22 poblaciones de *Salix bonplandiana* en México. N_a , número de haplotipos; A_r , riqueza de haplotipos aplicando rarefacción; H , diversidad haplotípica.

Población	N_a	A_r	H
La laguna	4	3.67	0.583
Todos Santos	3	2.6	0.378
Estero San José de la Laguna	1	1	0
Álamos	8	6.6	0.933
Tepoca	8	6.6	0.933
Sombreretillo	6	5.44	0.833
Chirimoyos	6	5.18	0.844
Valparaíso	6	6	0.893
Momax	5	4.38	0.756
Mexquitic	4	3.78	0.694
Santa María del Río	7	5.62	0.891
Camichines	4	3.78	0.750
Tapalpa	4	3.4	0.533
Salvatierra	7	7	0.964
El Batán	6	6	0.893
Acambay	5	4.67	0.806
Panza Cola	9	7.38	0.978
Puente Nacional	4	3.76	0.733
Morelia	9	7.38	0.978
La Gaitana	9	7.38	0.978
Río Cuautla	10	7.49	0.982
La Garzona	8	6.76	0.956

Se elaboraron mapas del territorio nacional mexicano mediante los que se representó la distribución de los 95 diferentes haplotipos. Se observa para la zona central de México una mayor variación genética en comparación con el norte del territorio nacional mexicano, siendo Baja California Sur donde menor variación genética se encontró (Figura 12, tabla 6).

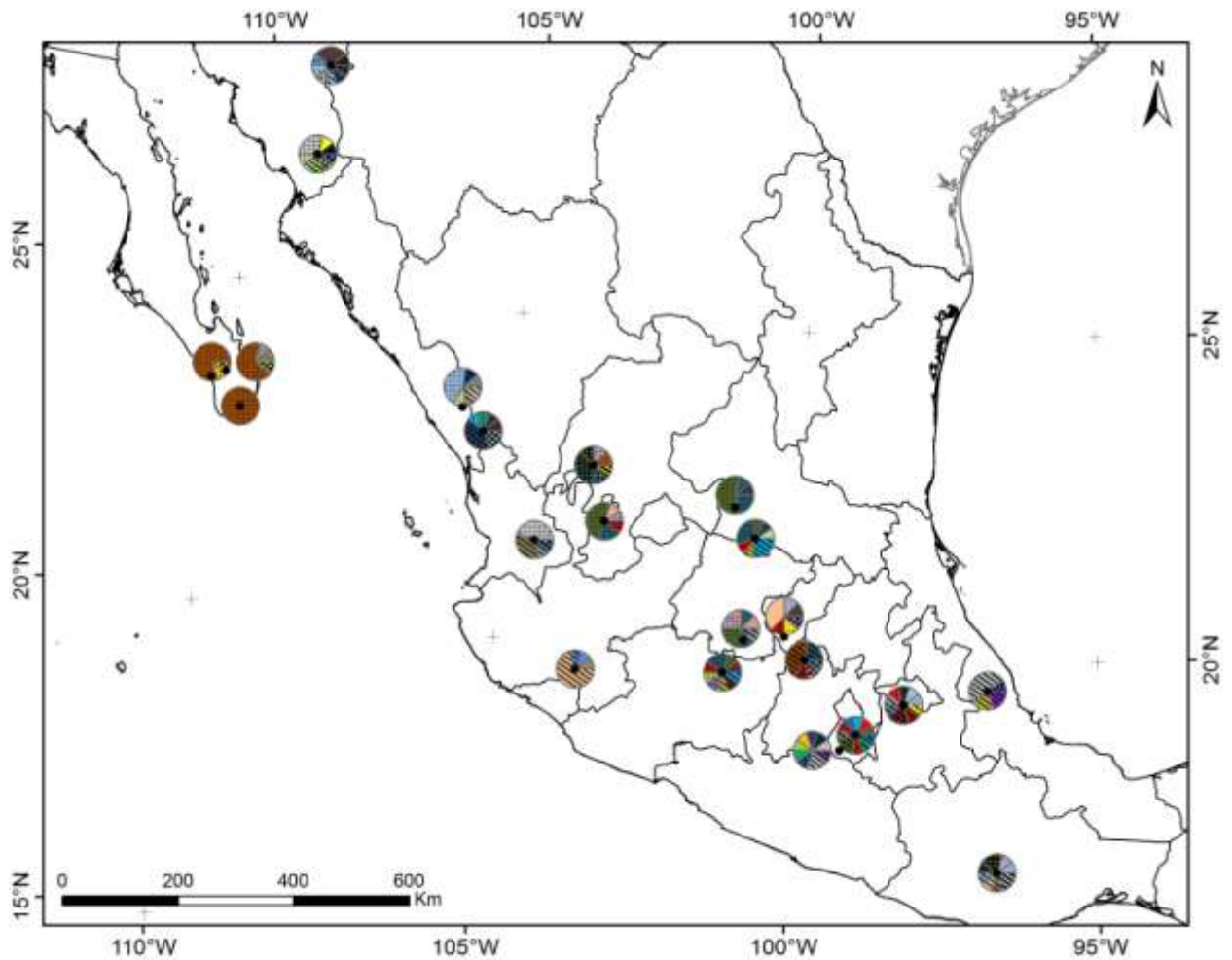


Figura 12. Distribución geográfica de los 95 haplotipos en 22 poblaciones de *Salix bonplandiana* en México. Los círculos representan a cada una de las poblaciones y los distintos colores sus proporciones la frecuencia de cada haplotipo.

Se realizaron ampliaciones de las diferentes áreas geográficas para observar con mayor claridad los círculos en forma de gráfica de pastel con sus diferentes texturas y colores. Para la región Baja California Sur se colectaron tres poblaciones (La laguna, Todos Santos, Estero San José de la Laguna) en donde se encontraron cinco diferentes haplotipos (H32SL, H40SL, H49SL, H92SL, y H52SL), siendo la zona geográfica con menor diversidad genética (figura 13).

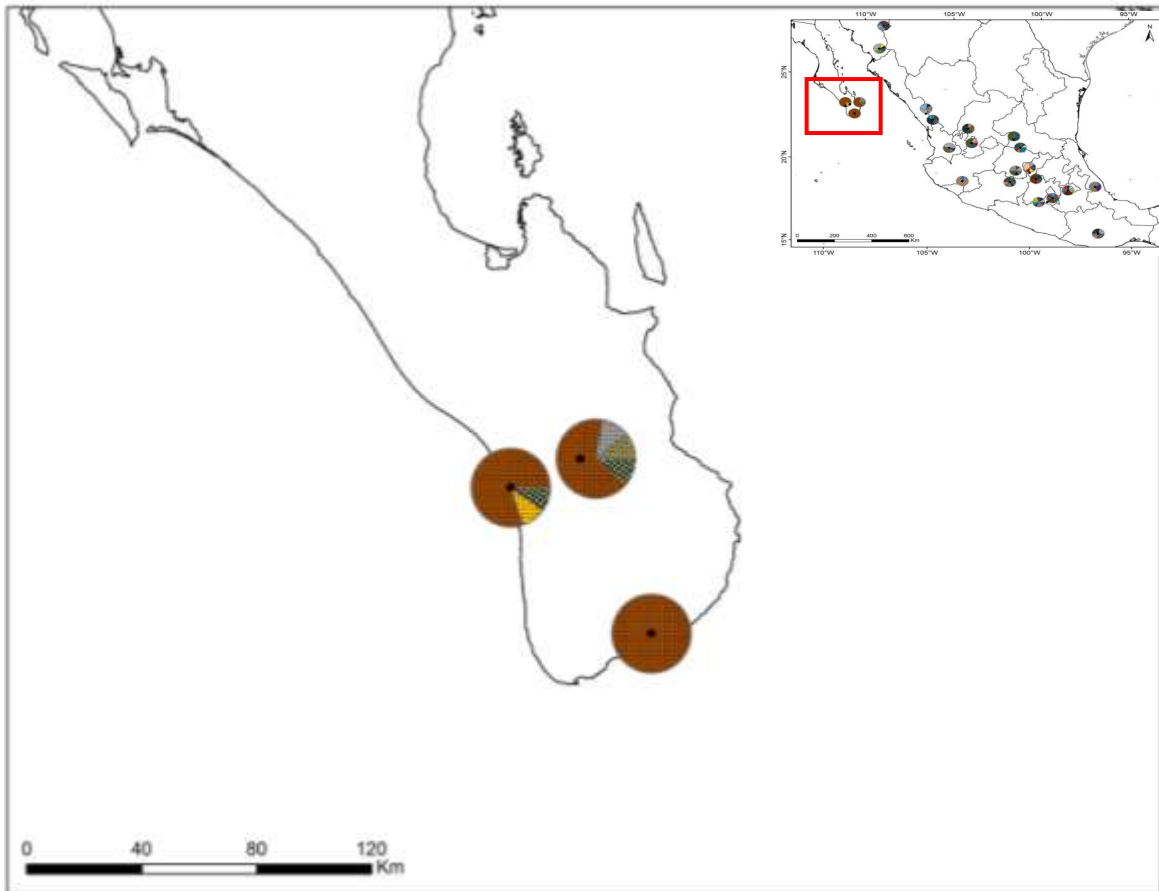


Figura 13. Los círculos representan la frecuencia de haplotipos para la región del cabo en Baja California Sur, donde se encuentran representados cinco haplotipos.

La ampliación para la región de la Sierra Madre Occidental (figura 14), donde se colectaron cinco poblaciones (Álamos, Tepoca, Sombrerete, Chirimoyos, Camichines). En esta región se encontraron 27 diferentes haplotipos (H61SL, H66SL, H45SL, H47SL, H55SL, H56SL, H73SL, H90SL, H12SL, H24SL, H30SL, H36SL, H65SL, H83SL, H89SL, H95SL, H13SL, H31SL, H33SL, H38SL, H40SL, H67SL, H76SL, H11SL, H29SL, H34SL y H64SL).

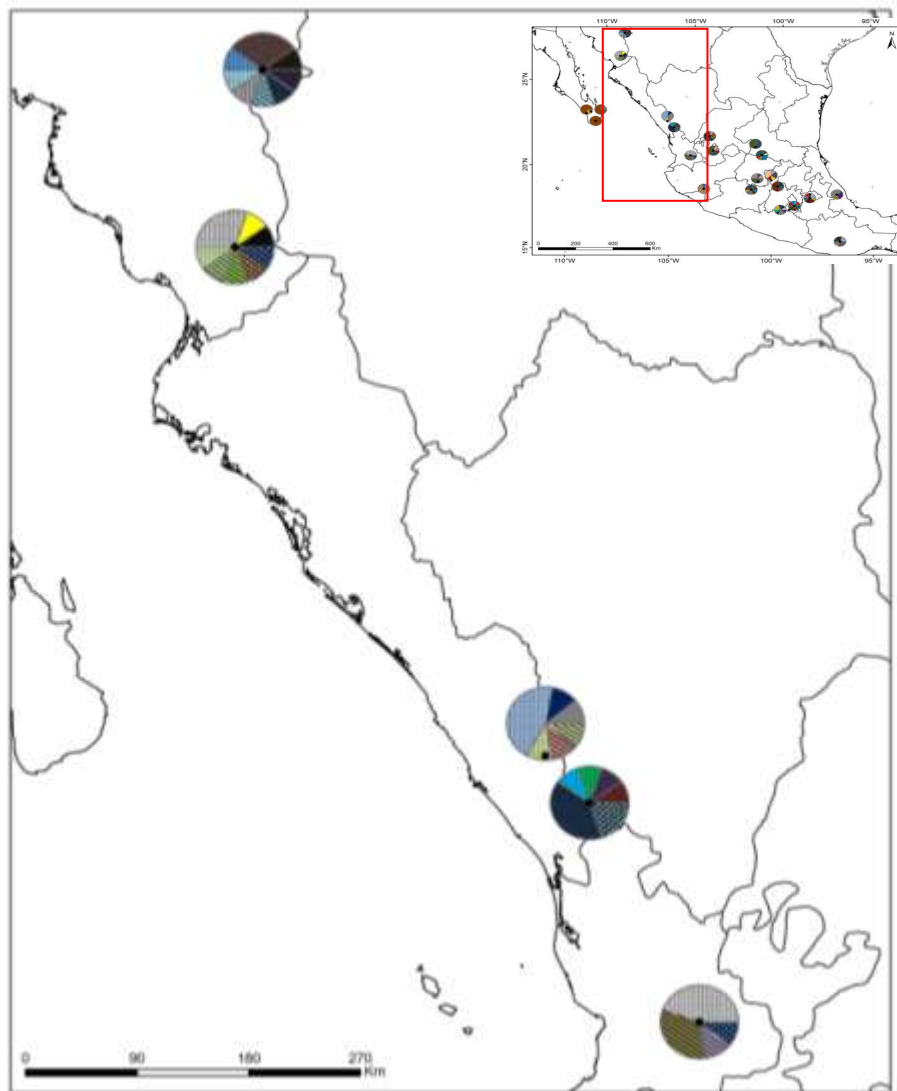


Figura 14. Los círculos representan la frecuencia de haplotipos para la región de la Sierra Madre Occidental, donde se encuentran representados veintisiete haplotipos.

La ampliación para la zona de la Meseta del Centro (figura 15), donde se colectaron cuatro poblaciones (Valparaíso, Momax, Mexquitic, Santa María del Río) En esta región se encontraron 16 diferentes haplotipos: H07SL, H44SL, H48SL, H50SL, H81SL, H85SL, H18SL, H19SL, H37SL, H39SL, H46SL, H20SL, H41SL, H42SL, H43SL, H71SL.

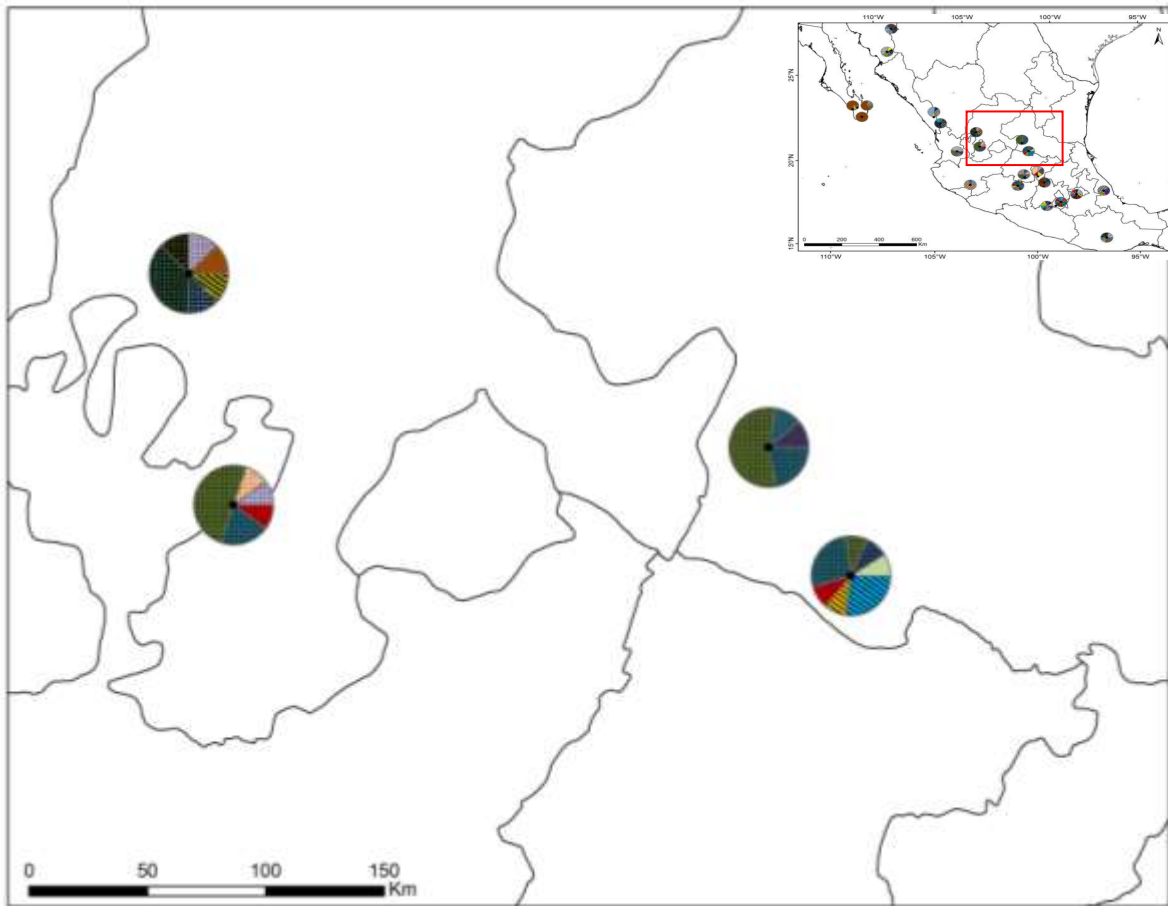


Figura 15. Los círculos representan la frecuencia de haplotipos para la región de la Meseta del Centro, donde se encuentran representados dieciséis haplotipos.

La ampliación para la zona del Eje Neovolcánico y Sierra Madre del Sur (Tapalpa, Salvatierra, El Batán, Acambay, Panza Cola, Morelia, La Gaitana y Río Cuautla), sur de México (La Garzona) y Llanura

Costera del Gofu Norte (Puente Nacional). En esta región se encontraron 52 diferentes haplotipos: H03SL, H04SL, H62SL, H02S, H10SL, H53SL, H91SL, H06SL, H19SL, H35SL, H37S, H72SL, H16SL, H46SL, H48SL, H54SL, H58SL, H85SL, H01SL, H14SL, H15SL, H25SL, H23SL, H26SL, H88SL, H17SL, H22SL, H27SL, H28SL, H50SL, H75SL, H80SL, H84SL, H86SL, H09SL, H51SL, H63SL, H74SL, H79SL, H82SL, H05SL, H08SL, H41SL, H42SL, H63SL, H68SL, H69SL, H70SL, H57SL, H59SL, H60SL, H87SL. Esta es la región geográfica con la mayor diversidad genética (Figura 16).

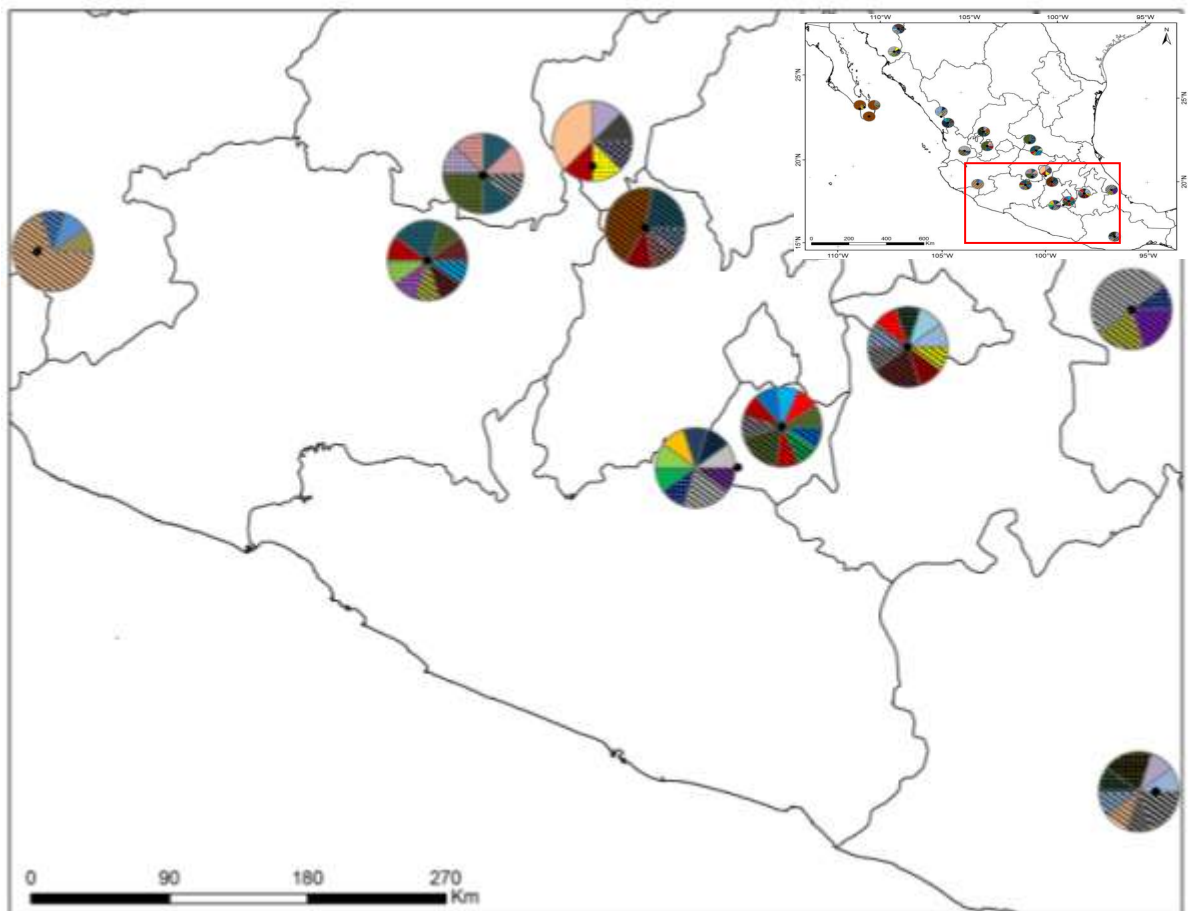


Figura 16. Los círculos representan la frecuencia de haplotipos para la región Eje Neovolcanico, Sierra Madre del Sur y Llanura Costera del Golfo, donde se encuentran representados cincuenta y dos haplotipos.

Los microsatélites de ADN del cloroplasto revelaron una diversidad haplotípica muy alta. En total, se identificaron 95 haplotipos en los 210 individuos analizados (Figura 12). Dentro de las poblaciones, se observaron entre 1 y 10 haplotipos, La diferenciación genética para los alelos ordenados (N_{ST}) fue de 0,268 y para los alelos no ordenados (G_{ST}) fue 0.2, la prueba de permutación para la comparación de N_{ST} y G_{ST} fue significativa ($p < 0,001$), lo que indica la estructura filogeográfica en estas poblaciones. La red de haplotipos obtenida mediante el software NETWORK 4.6.0 (Bandelt *et al.*, 1995) para los 95 haplotipos se muestra en la Figura 17. En esta figura los haplotipos presentes en cada región geográfica se representan con un color diferente: azul para Baja California Sur, verde para la Sierra Madre Occidental, café para la Meseta del Centro, amarillo para el Eje Neovolcánico, morado para la Sierra Madre del Sur y rosa para la Llanura Costera del Golfo. Se observó una distribución de haplotipos mayor en las regiones geográficas del Eje Neovolcánico Sierra Madre del Sur y Llanura Costera del Golfo, con esto nosotros sugerimos que el sitio de origen de la especie *Salix bonplandiana* se encuentra focalizado para esas regiones del el centro de México.

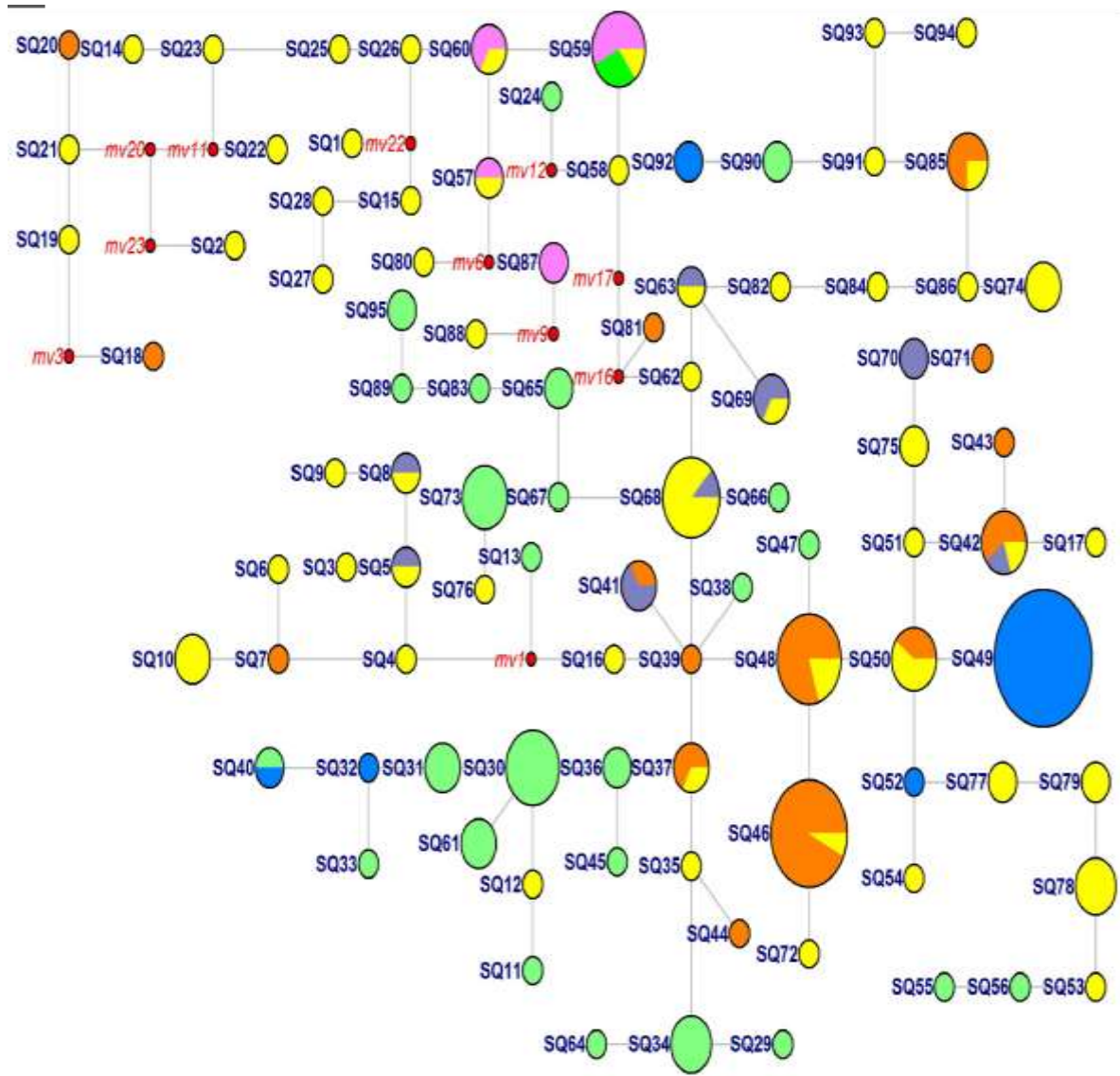


Figura 17. Red de haplotipos de *Salix bonplandiana*, donde los círculos representan las proporciones haplotípicas para diferentes sitios geográficos de territorio nacional mexicano.

8.4.2 Correlación de la diversidad genética con variables geográficas y climáticas

Se hicieron análisis de regresión de los valores de diversidad genética por población contra latitud, longitud, altitud, y diecinueve variables bioclimáticas. Se encontró una correlación significativa de la latitud con la diversidad haplotípica de las poblaciones ($R^2 = 0.30$; $P < 0.0001$) (Figura 18).

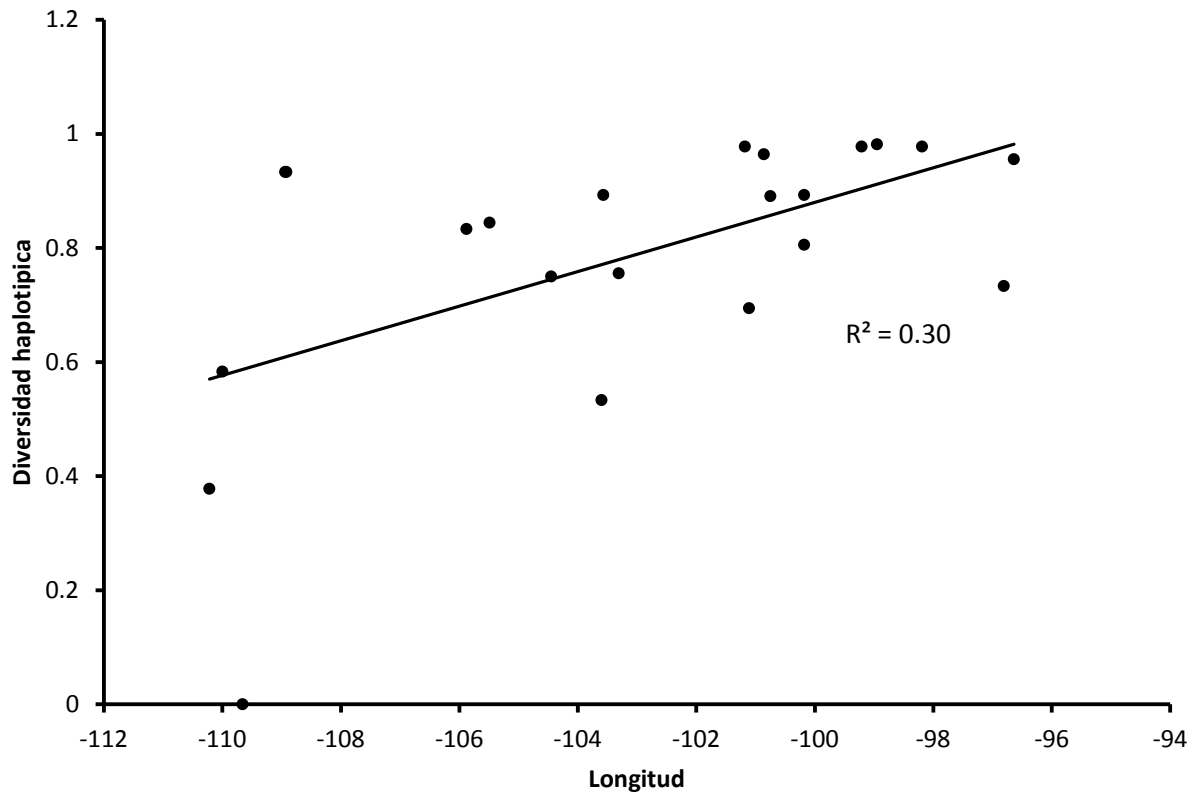


Figura 18. Diversidad de haplotipos respecto a la longitud geográfica de las poblaciones de *Salix bonplandiana* estudiadas ($R^2 = 0.30$; $P < 0.0001$).

8.4.3 Análisis Morfométricos

Se hicieron análisis de morfometría geométrica para 22 poblaciones de *Salix bonplandiana* localizadas a lo largo del territorio nacional mexicano, dando como resultado que existen variación en la morfología foliar de los individuos de *Salix bonplandiana* acorde a la configuración de los landmarks (Figura 19). Se encontraron diferencias significativas en la morfología entre poblaciones de acuerdo al análisis canónico ($\chi^2 = 297.97$; g.l.= 207; P=0.0003) (Figura 20.). La figura 21 muestra la dirección de la deformación de las hojas de *Salix bonplandiana*.

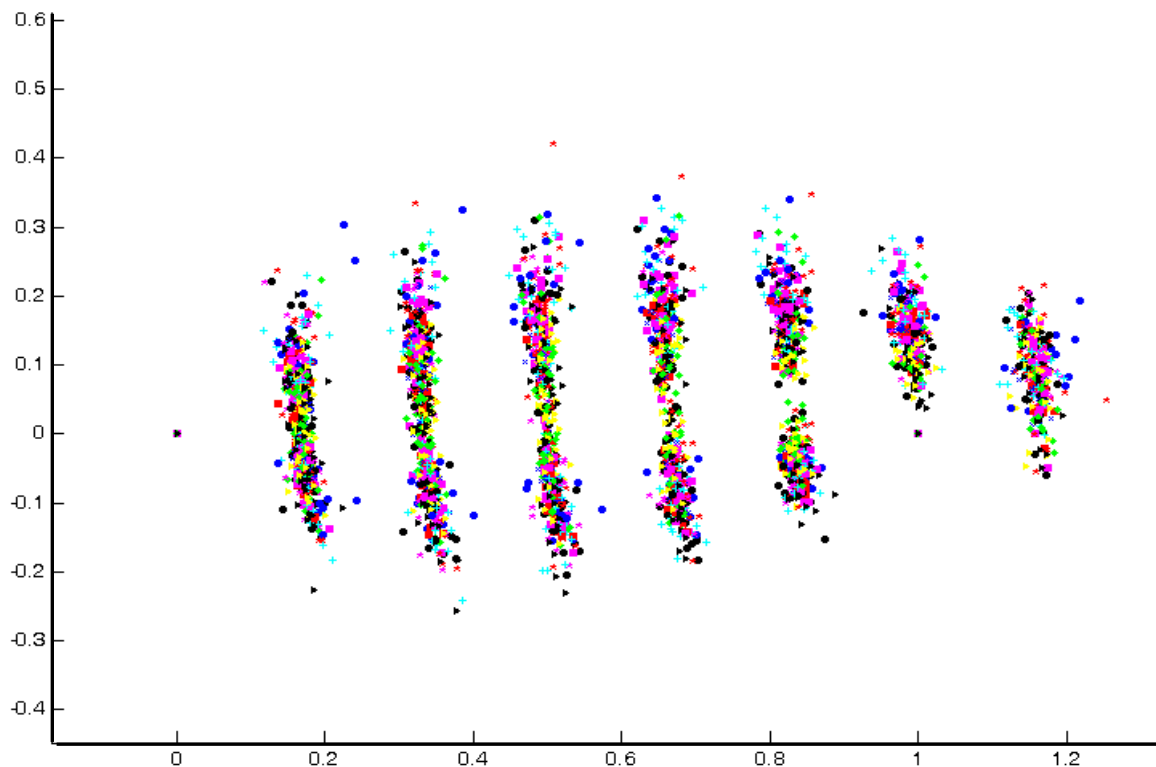


Figura 19. Variación morfológica de las hojas utilizando el programa CoordGen6: representación de la configuración de cada coordenada correspondiente a cada landmark, donde se representa una superposición de coordenadas (contorno de las hojas) de cada población de *Salix bonplandiana*.

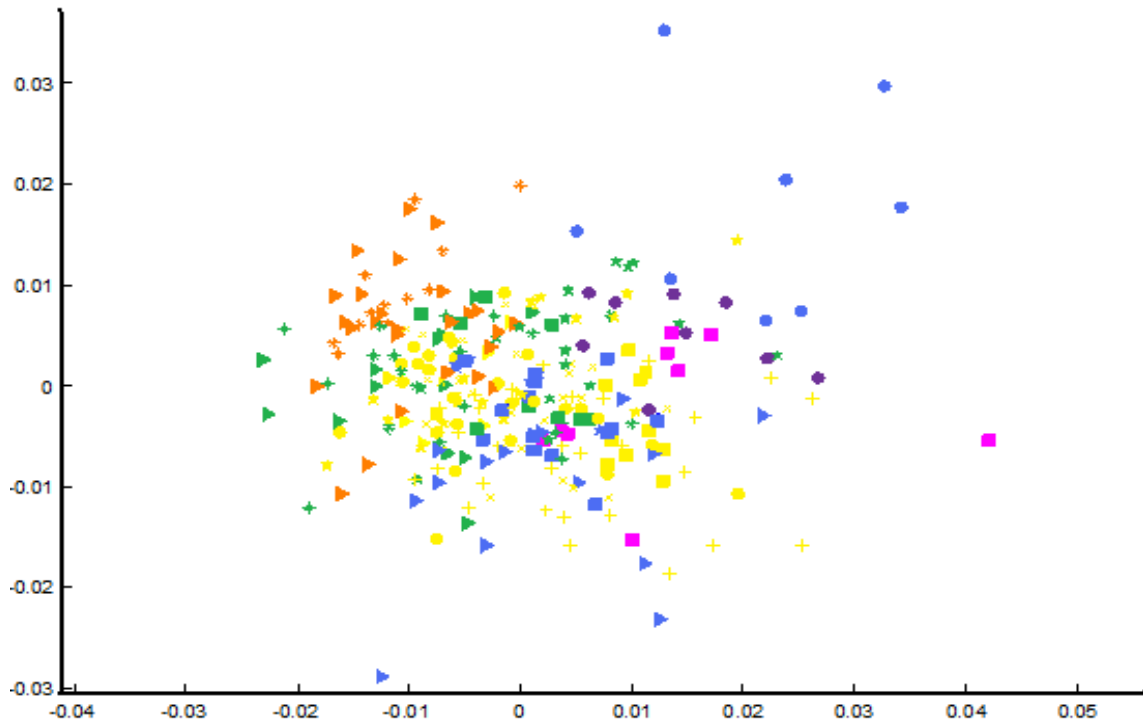


Figura 20. Análisis canónico discriminante para las coordenadas Procrustes, para diferentes sitios geográficos de territorio nacional mexicano considerando las 22 poblaciones de *Salix bonplandiana* existiendo diferencias significativas entre las 22 poblaciones. ($\chi^2 = 297.97$; g.l.= 207; $P=0.0003$). El color de los símbolos representa cada una de las regiones y la forma del símbolo representa a las distintas poblaciones.

El análisis canónico discriminante se realizó para veintidós poblaciones distintas localizadas en diferentes sitios geográficos divididos de la siguiente manera: La región del cabo en Baja California Sur las poblaciones fueron Laguna (Baja California Sur) triangulo azul, Estero San José del Cabo (Baja California Sur) circulo azul, Todos Santos (Baja California Sur) cuadro azul. La región de la Sierra Madre Occidental las poblaciones de Álamos (Sonora) cruz verde, Tepoca (Sonora) asterisco verde, Sombreretillo (Sinaloa) triangulo verde, Chirimollos (Sinaloa) cuadro verde, Camichines (Nayarit) estrella verde. En la región de la Meseta del Centro las poblaciones de Valparaiso (Zacatecas) circulo

naranja, Momax (Zacatecas) triangulo naranja, Mexquitic (San Luis Potosí) triangulo naranja, Santa María del Río (San Luis Potosí) asterisco naranja, Para la región del Eje Neovolcanico y Sierra Madre del Sur las poblaciones fueron Tapalpa (Jalisco) circulo amarillo, Salvatierra (Guanajuato) cuadro amarillo, El Batán (Querétaro) circulo amarillo, Acamba (Edo. Mex) equis amarillo, Panza Cola (Tlaxcala) circulo amarillo, Morelia (Michoacán) cruz amarillo, La Gaitana (Puebla) estrella amarilla, Río Cuautla (Morelos) equis amarilla. En la región de la Llanura Costera del Golfo fue Puente Nacional (Veracruz) cuadro rosa y para la región del sur de México fue La Garzona (Oaxaca) circulo morado.

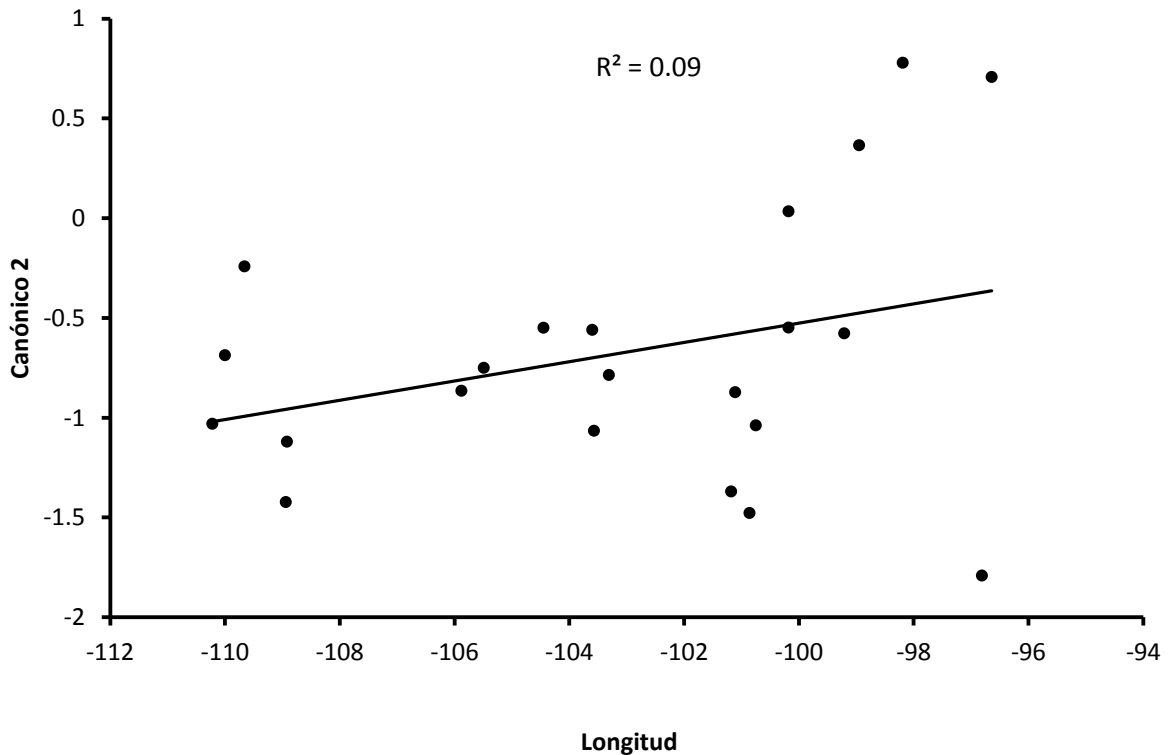


Figura 21. Canónico 2 respecto a la distribución longitudinal de *Salix bonplandiana* en veintidos diferentes poblaciones. ($F=6.0607$; $R^2= 0.09$; $P<.0001$). Donde a menor longitud la forma de la hoja es más variada según las coordenadas Procrustes.

La variable marginalmente más significativa que se reportara para el análisis Canónico 2 es el que se da entre la longitud, donde a menor longitud (Figura 21). Donde a menor longitud la forma de la hoja es más variada según las coordenadas Procrustes ($F=6.0607$; $R^2= 0.09$; $P<.0001$). Esto se traduce a que poblaciones que se localizan más al Este de México tienen mayor variación en la forma de las hojas.

8.4.4 Escenarios de cambio climático

Con los parámetros climáticos de las localidades en las que se encuentra *S. bonplandiana* se obtuvieron de la base de datos y de otras disponibles específicas para México (i. e. Atlas Climático Digital de México: <http://www.atmosfera.unam.mx/uniatmos/atlas/>) en los cuales se encontraron 213 sitios. Las áreas de distribución contemporánea y bajo escenarios de cambio climático de *S. bonplandiana* fueron modeladas siguiendo los procedimientos implementados en el programa ArcGis versión 9.3 (ESRI, 2008). Se trabajó con tres diferentes modelos climáticos *cccma_cgcm31*, *csivo_mk30* y *ukmo_hadcm3* en los cuales son escenarios severos a7b para los años 2050 y 2080. Lo cual se resume en los siguiente: **b)**cccma_cgcm31-a7b-2050, **c)**cccma_cgcm31-a7b-2080, **d)**csivo_mk30-a7b-2050,**e)**csivo_mk30-a7b-2080, **f)** ukmo_hadcm3-a7b-2050 **g)** ukmo_hadcm3-a7b-2080. Siendo **a)** probabilidad de ocurrencia 1950-2000 (Figura 23).

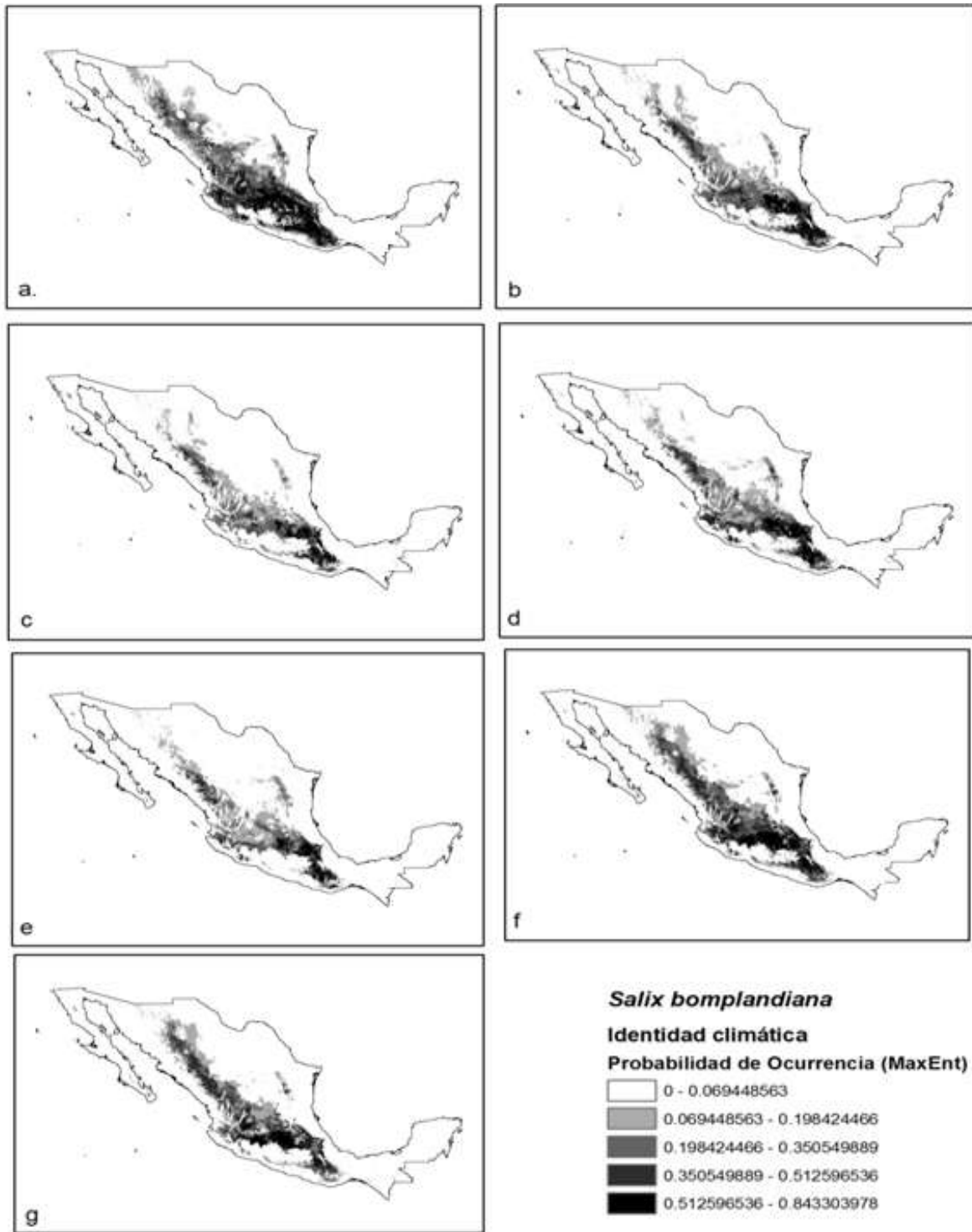


Figura 22. Sitios de probabilidad de ocurrencia de *Salix bomplandiana* bajo diferentes escenarios de cambio climático.

8.5 DISCUSIÓN

Los resultados revelaron altos niveles de diversidad genética, con un total de 95 haplotipos para veintidós poblaciones (Figura 12). El número de haplotipos por población (N_h) fue de 1 a 10, mientras que la riqueza de haplotipos (A_r) estuvo entre 1 y 7.49 y la diversidad haplotípica (H) entre 0 a 0.982. La población Río Cuautla (localizada en la parte central de México) fue la que tiene valores más altos de diversidad genética, mientras la población Estero San José localizado en Baja California Sur es la población con menor diversidad genética (Tabla 6). Estos altos valores de diversidad genética pueden ser explicados por algunos de los atributos de la especie, como por ejemplo la forma de dispersión de las semillas. Las semillas de sauce se encuentran adaptadas para dispersarse tanto por viento como por agua, ya que la estructura plumosa de estas les permite mantenerse a flote por tensión superficial (Seiwa *et al.*, 2008). Por otro lado, las semillas de sauce que llegan a un lago o un río por vía aérea pueden ser dispersadas secundariamente río abajo por la corriente (Schneider & Scharitz, 1988; Thebaud & Debussche, 1991; Anderson *et al.*, 2000, Jansson *et al.*, 2005; Merritt & Wohl, 2006). La hidrocoria es una estrategia de dispersión a larga distancia muy efectiva para el flujo genético en los ambientes riparios (Kudoh & Whigham, 1997; Lundqvist & Andersson, 2001). Sin embargo, la dispersión por agua se limita a sitios que se encuentran conectados por agua superficial y con dirección río abajo de la planta madre (Soons, 2006), pero la dispersión por viento en principio posibilita el flujo génico en otras direcciones.

Por otra parte, los niveles de variación genética de *S. bonplandiana*, fueron altos, probablemente debido también a sus altos tamaños poblacionales y amplia distribución geográfica en México. Por ello, podríamos sugerir que en gran parte de su historia ha existido alto flujo génico entre estas poblaciones. Entendiendo que el flujo génico es el proceso por el cual los genes se mueven de

una población a otra, mediante la migración de gametos o individuos (Griffiths *et al.*, 2004; Rodríguez *et al.*, 2004). Dependiendo de su intensidad y duración, el flujo génico permite la diferenciación u homogenización de las poblaciones, estableciendo una relación entre éste y la estructura génica (Griffiths *et al.*, 2004; Rodríguez *et al.*, 2004). La variación genética de una población está determinada por su historia evolutiva y es consecuencia de las interacciones entre diferentes factores (Hedrick, 2005).

Al parecer, distribución longitudinal es la variable geográfica más importante para explicar la diversidad genética y diferenciación morfológica. En este sentido, nuestros resultados señalan que existe una correlación positiva entre longitud y diversidad haplotípica de *Salix bonplandiana*. Esto podría ser efecto de la historia geológica y climática que ha enfrentado la especie, con efectos de expansión de área y el incremento de conectividad como ha sucedido con otras especies de los bosque templados, tal como ha sido sugerido para algunas especies de pinos (Moreno-Letelier & Piñeiro, 2009; Rodríguez-Banderas *et al.*, 2009). En consecuencia, los cambios geológicos y climáticos históricos pudieron haber estructurado la variabilidad genética actual. Sin embargo, es necesario realizar estudios posteriores, como revisar el registro fósil de la especie así como estudios paleoambientales y paleoecológicos que nos permita revelar el comportamiento de *Salix bonplandiana* durante los diferentes momentos históricos geológicos y climáticos, para así tratar de entender la distribución de diversidad genética de la especie.

Nuestros resultados señalan que existe una correlación positiva entre longitud y diversidad morfológica de *Salix bonplandiana*. La morfología foliar es sensible a cambios debido a factores bióticos y abióticos presentes en un hábitat a las cuales estén sujetas dicha especie. Por lo tanto, la morfología de las hojas en plantas puede variar acorde a dichas condiciones como la luz, la temperatura, la

humedad, la disponibilidad de nutrientes, la frecuencia de hibridación y la herbivoría (Valladares *et al.*, 2000; Stewart, 2006; Wilsey *et al.*, 1998; Diaz, 2004; Lempa *et al.*, 2000; Canche *et al.*, 2011; Christine Krebs, 2011). Se ha demostrado en algunos trabajos que la morfología foliar se ve modificada después de eventos como la herbivoría (Coley *et al.*, 1985; Mooper *et al.*, 1991; Myers & Bazely, 1991; Cache *et al.*, 2011). Por ello, se determina que existen otros factores bióticos y abióticos que están determinando las diferencias morfológicas más que la propia estructura genética de las poblaciones de *Salix bonplandiana*. Ya que nuestros resultados señalan que no existe una correlación significativa entre morfometría y variación genética.

La implementación de los modelos de nicho ecológico como una herramienta para predecir las distribuciones presentes y pasadas, han provisto un punto de vista complementario para compararlo con la variación genética de las poblaciones (Hugall *et al.*, 2002; Waltari *et al.*, 2007). Los modelos de nicho ecológico incorporan modelos que reconstruyen la distribución potencial de las especies basados en las coordenadas geográficas de las localidades, y que son extrapoladas a aéreas que representen las condiciones ecológicas más adecuadas para las especies (Guisan & Thuiller, 2005; Richards *et al.*, 2007). Estos modelos toman en cuenta variables como la temperatura, precipitación, elevación y otras variables que podrían potencialmente influenciar la distribución de las especies (Phillips *et al.*, 2006). De esta manera la combinación de variabilidad genética y los modelos de nicho ecológico juegan un papel importante ya que responden preguntas que no se pueden abordar en cada una de las aéreas por separado. El modelado de nicho ecológico ha sido aplicado a los campos de la ecología, biogeografía, genética del paisaje, biología en la conservación entre otros (Guisan & Thuiller, 2005; Peterson *et al.*, 2007). Para este trabajo se trabajó con tres diferentes modelos climáticos cccma_cgcm31, csivo_mk30 y ukmo_hadcm3, los cuales son escenarios severos a7b para los años 2050 y 2080. Donde para todos,

la máxima probabilidad de ocurrencia de *Salix bonplandiana* se encuentra enfocado a la zona centro de México. Donde se encuentra el Eje Neovolcánico en el cual se encontraron registros de *Salix* durante el pleistoceno tardío (Bradbury, 1997; Metcalfe, 2006).

8.6 CONCLUSIONES

- Se encontraron niveles moderados de diferenciación genética ($G_{ST} > 0.5$) entre las poblaciones de *S. bonplandiana*, probablemente debido a que sus semillas son sumamente pequeñas y dispersadas por viento a distancias potencialmente grandes.
- Poblaciones de amplia distribución como es *Salix bonplandiana* tienen un alta variabilidad genética entre poblaciones y dentro de las poblaciones.
- La longitud es la variable geográfica más importante para explicar la diversidad genética y diferenciación morfológica.
- Existen diferencias morfométricas entre poblaciones y entre individuos dentro de las poblaciones, siendo la población Estero San José del Cabo (Baja California Sur), la que tiene menos similitud respecto a las demás.
- La distribución geográfica de *S. bonplandiana*, se reducirá bajo escenarios de cambio climático todos los modelos proyectados, la máxima probabilidad de ocurrencia de *Salix bonplandiana* se encuentra enfocado a la zona centro de México.

8.7 LITERATURA CITADA

Alvarez-Buylla, E.R. & Martinez-Ramos, M. (1992). Demography and Allometry of *Cecropia Obtusifolia*, a Neotropical Pioneer Tree - An Evaluation of the Climax-Pioneer Paradigm for Tropical Rain Forest. *Journal of Ecology*, 80 275-290

Arbogast, B. S., & Kenagy, G. J. (2001). Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *Journal of Biogeography*, 28(7), 819-825.

Avise, J C, Arnold, J, Ball, R M, Bermingham, E, Lamb, T, Neigel, J E, Reeb, C A, and Saunders, N C. (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann Rev Ecol Syst*, 18, 489–522.

Avise, J.C. (1994). *Molecular Markers, Natural History, and Evolution.* Chapman & Hall, New York (511 pp.).

Avise, J.C. (2000). *Phylogeography: The History and Formation of Species.* Harvard University Press, Cambridge, MA. (447 pp.)

Bandelt, H. J., Forster, P., Sykes, B. C., & Richards, M. B. (1995). Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics*, 141(2), 743-753.

Bazely, D. R., Myers, J. H., & da Silva, K. B. (1991). The response of numbers of bramble prickles to herbivory and depressed resource availability. *Oikos*, 327-336.

Bazzaz FA. (1996). *Plants in changing environments. Linking physiological, population and community ecology.* Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Bazzaz, F. A. (1996). *Plants in changing environments: linking physiological, population, and community ecology.* Cambridge University Press.

Bradbury JP. (1997). Sources of glacial moisture in Mesoamerica: *Quaternary International*, 43: 97-110.

Brown, V.K. & Lawton, J.H. (1991). Herbivory and the evolution of leaf size and shape. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 333: 265-272.

Brzeziecki B. and Kienast, F. (1994). Classifying the life-history strategies of trees on the basis of the Grimian model. *Forest Ecology and Management*, 69,167–187.

Canché-Delgado A, Garcia-Jain S. E, Vaca-Sanchez M. S, Cuevas-Reyes P. (2011). Cambios en la morfología floral y foliar en *Crataegus tracyi*: importancia de la asimetría fluctuante como indicador de estrés ambiental”. *Biologicas* 13(1): 44-49

Coley PD & Barone JA. (1996). Herbivory and Plant Defenses in Tropical Forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27:305-335.

Coley, P. D., Bryant, J. P., & Chapin III, F. S. (1985). Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science(Washington)*, 230(4728), 895-899.

Cornelissen, T., & Stiling, P. (2005). Sex-biased herbivory: a meta-analysis of the effects of gender on plant-herbivore interactions. *Oikos*, 111(3), 488-500.

Díaz M, Pulido FJ & Moller AP. (2004). Plant animal Interactions Herbivore effects on developmental instability and fecundity of holm oaks. *Oecología* 139:224-234.

Díaz M, Pulido FJ & Moller AP. (2004). Plant animal Interactions Herbivore effects on developmental instability and fecundity of holm oaks. *Oecología* 139:224-234.*Ecology* 69:1055-1063.

ESRI, I. (2008). ArcGIS 9.3. *Environmental Systems Research Institute, Redlands.*

Excoffier L y Heckel G. (2006). Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. *Nature Reviews Genetics* 7: 745–758.

Freeman, S. H., Jon, C., Ménsua Fernández, J. L., & Fito, S. E. (2002).*Análisis evolutivo.* Freeman, W. T., Jones, T. R., & Pasztor, E. C. (2002). Example-based super-resolution. *Computer Graphics and Applications, IEEE*, 22(2), 56-65.

García Cristiana (2002). Contribución al estudio de los *Salix* spp. En México Pp.84-86 (tesis).

González-Rodríguez, A., Arias, D.M., Valencia, S., & Oyama, K. (2004). Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Q. affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two Mexican red Oaks. *American*

Journal Botany, 91, 401-409.

Guisan, A. & Thuiller, W. (2005). Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters*, 8, 993–1009.

Hamrick, J. L. and A. Schnabel. (1985). Understanding the genetic structure of plant populations: Some old problems and a new approach. In H. R. Gregorius (ed.), *Population Genetics in Forestry. Lecture Notes in Biomathematics*, Vol. 60, pp. 50-70. Springer-Verlag, Berlin.

Hardy, O. & Vekemans, X. (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, 2, 618–620.

Hedrick PW. (2005). *Genetics of Populations. Third Edition.* Jones and Bartlett Publishers. Sudbury, glabra leaves. *Journal of Animal Ecology* 64:697-707.

Hedrick, Philip. (2005). *Genetics of Populations*, 3rd ed. Boston: Jones and Bartlett Publishers. A recent and thorough summary of the principles of population genetics.

Hernández, L.M. (2014). Filogeografía de *Salix humboltiana* distribuido en tres regiones hidrológicas (Ameca, Balsas y Lerma). Pp.10-19. (tesis).

Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G., Jarvis A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology*, 25, 1965-1978.

Hunter, M. G. (1997). The use of RepGrids to gather interview data about information systems analysts. *Information systems journal*, 7(1), 67-81.

Jansson, R., Zinko, U., Merritt, D. M & Nilsson, C. (2005). Hydrochory increases riparian plant species richness: a comparison between a free-flowing and a regulated river. *Journal of Ecology* 93(3): 1094-1103.

Jaramillo, N., & Dujardin, J. P. (2002). Análisis morfométrico: Significado biológico del tamaño y la conformación. In *Proceedings Fourth International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae, Cartagena de Indias (ECLAT 4)* (pp. 151-166).

Knowles, L.L. & Maddison, W.P. (2002). Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*, 11, 2623–2635. Massachusetts.

Krebs, C., Gerber, E., Matthies, D., & Schaffner, U. (2011). Herbivore resistance of invasive *Fallopia* species and their hybrids. *Oecologia*, 167(4), 1041-1052.

Kudoh, H., & Whigham, D. (1997). Microgeographic genetic structure and gene flow in *Hibiscus moscheutos* (Malvaceae) populations. *American Journal of Botany*, 84(9), 1285-1285.

Lempa K, Martel J, Koricheva J, Haukioja E, Ossipov V, Ossipova S y Philaja K. (2000). *Oecologia* 122:354-360.

Louda, S. M. (1982). Distribution ecology: variation in plant recruitment over a gradient in relation to insect seed predation. *Ecological monographs*, 52(1), 25-41.

Lundqvist, E., & Andersson, E. (2001). Genetic diversity in populations of plants with different breeding and dispersal strategies in a free-flowing boreal river system. *Hereditas*, 135(1), 75-83.

Martinsen, G. D., & Whitham, T. G. (1994). More birds nest in hybrid cottonwood trees. *The Wilson Bulletin*, 474-481.

Merritt, D. M., & Wohl, E. E. (2006). Plant dispersal along rivers fragmented by dams. *River Research and Applications*, 22(1), 1-26.

Metcalfe SE. (2006) Late Quaternary environments of the Northern Deserts and central Transvolcanic Belt of Mexico: *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93, 258 - 273.

MØLLER, A.P. 1995. Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus*

Mopper S, Mitton J, Whitham TG, Cobb NS, Christensen KM. (1991). Genetic differentiation and heterozygosity in pinyon pine associated with herbivory and environmental stress. *Evolution* 45: 989–999.

Moreno-Letelier, A. & Piñero, D. (2009). Phylogeographic structure of *Pinus strobiformis* Engelm. across the Chihuahuan Desert filter-barrier. *Journal of Biogeography*, 36:121- 131.

Niembro R., A. (1986). Árboles y arbustos de México naturales e introducidos. Editorial LIMUSA. México. pp 163-164. Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names. *Annales des sciences forestières* 50 (Supplement), 25-34

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.

Peterson, A.T., Papes, M., & Eaton, M. (2007). Transferability and model evaluation in ecological niche modeling: a comparison of GARP and Maxent. *Ecography*, 30, 550- 560.

Phillips SJ, Anderson RP & Schapire RE. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190: 231–259.

Richards, C.L., Carstens, B.C. & Knowles, L.L. (2007). Distribution modeling and statistical phylogeography: an integrative framework for generating and testing alternative biogeographic hypotheses. *Journal of Biogeography*, 34, 1833-1845.

Rodríguez GC. (2002). Contribución al estudio de los *Salix* spp. En México Pp.84-86 (tesis).

Rodríguez-Banderas, A., Vargas-Mendoza, C.F., Buonamici, A. & Vendramin, G.G. (2009) Genetic diversity and phylogeographic analysis of *Pinus leiophylla*: a post- glacial range expansion. *Journal of Biogeography*, 36, 1807-1820.

Rohlf FJ (2004). tpsDig, Digitize Landmarks and Outlines, version 2.0. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Available from <http://life.bio.sunysb.edu/morph>

Rzedowski, J. R. Medina L. y G. Calderón de Rzedowski. (2005). Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). *Acta Botanica Mexicana*, 70, 85-111.

Schaal, B.A., Gaskin, J.F., Caicedo, A.L. (2003) Phylogeography, haplotype trees, and invasive plant species. *Journal of Heredity* 94, 197-204.

Schneider, C. J., T. B. Smith, B. Larison, And C. Moritz. (1999). A test of alternative models of diversification in tropical rainforests: Ecological gradients vs. refugia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*

96:13869–13873.

Schneider, R.L. and R.R. Scharitz. (1988). Hydrochory and swamp forest regeneration.

Schneider, S. & Excoffier, L. (1999). Estimation of demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. *Genetics*, 152, 1079–1089.

Seiwa, K., Miwa, Y., Sahashi, N., Kanno, H., Tomita, M., Ueno, N. & Yamazaki, M. (2008). Pathogen attack and spatial patterns of juvenile mortality and growth in a temperate tree, *Prunus grayana*. *Canadian Journal of Forest Research*, 38, 2445–2454.

Sheets, H. D. (2005). CoordGen6, coordinate generation program for calculating shape coordinate. <http://www3.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>

Slatkin M. (1985). Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16:393-430.

Soons, M. B.(2006), Whind dispersal in freshwater wetlands: Knowledge for conservation and restoration. *Applied Vegetation Science* 9(2): 271-278.

Stewart H.L. (2006). Morphological variation and phenotypic plasticity of buoyancy in the macroalga *Turbinaria ornata* across a barrier reef. *Marine Biology* 149: 721–730.

Swaine, M. D. and T. C. Whitmore. (1988). "On the definition of ecological species groups in tropical rain forests". *Plant Ecology*. Volume 75, Numbers 1-2 / May, 1988.

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(9), 1352-1363.

Tovar-Sánchez, E., Mussali-Galante, P., Esteban-Jiménez, R., Piñero, D., Arias, D.M., Dorado, O. & Oyama, K. (2008). Chloroplast DNA polymorphism reveals geographic structure and introgression in *Quercus crassifolia* x *Q. crassipes* complex in México *Botany*, 86, 228-239.

Valladaress F, Right J, Lasso E, Kitajima K and Robert W. Pearcy. (2000). "Plastic phenotypic

response to light of 16 congeneric shrubs from a panamanian rainforest” *ecology*, 81(7), , pp. 1925-19302000 by the ecological society of america. Van Valen L. 1962. “A study of fluctuating asymmetry” *Evolution* 16: 125–142.

Van der–Molen, S., N. A. Martínez y J. R. González. (2007). Introducción a la morfometría geométrica: curso teórico–práctico. Universidad de Barcelona.82 p.

Vázquez-Lobo A. (1996). “Filogenia de Hongos Endofitos del Genero Pinus L.: Implementación de Técnicas moleculares y Resultados Preliminares”. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM.

Waltari, E., R. J. Hijmans, A. T. Peterson, A. Nyári, S. L. Perkins and R. P. Guralnick (2007). Locating Pleistocene Refugia: Comparing Phylogeographic and Ecological Niche Model Predictions. *PLoS ONE* 2(7): e563. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0000563>.

Weising K, Gardner RC (1999). A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in the chloroplast genomes of dicotyledonous plants. *Genome*, 42, 9–19.

Whitham, T. G., Martinsen, G. D., Keim, P., Floate, K. D., Dungey, H. S., & Potts, B. M. (1999). Plant hybrid zones affect biodiversity: tools for a genetic-based understanding of community structure. *Ecology*, 80(2), 416-428.

Whitman, T.G. & S. Mooper. (1985). Chronic herbivory: Impacts on architecture and sex expression of pinyon pine. *Science*, 228: 1089-1091.

Wilsey B.J, E. Haukioja, J. Koricheva, M. Sulkinoja (1998). “Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and elevation in tree-line birches” *Ecology* 79:2092–2099.

Wimp, G. M., Young, W. P., Woolbright, S. A., Martinsen, G. D., Keim, P., & Whitham, T. G. (2004). Conserving plant genetic diversity for dependent animal communities. *Ecology Letters*, 7(9), 776-780.

Zelditch, M.J., Swiderski, D.L., Sheets, H.D., Fink, W.L. (2004). Geometric Morphometrics for Biologists: a Primer. Elsevier Academic Press. London.

Zvereva, E. L., Kozlov, M. V., & Haukioja, E. (1997). Stress responses of *Salix borealis* to pollution and defoliation. *Journal of Applied Ecology*, 1387-1396.

IX. DISCUSIÓN GENERAL

Para este trabajo se determinó la variación morfológica y genética de *Salix bonplandiana*, una especie riparia de amplia distribución en México, para discernir los patrones de herbivoría y asimetría fluctuante. También se realizaron modelos de la distribución geográfica potencial para la especie en el presente y bajo escenarios de cambio climático global. Los resultados obtenidos para 22 poblaciones de *S. bonplandiana* revelaron altos valores de variación genética dentro y entre poblaciones, con un total de 95 haplotipos registrados. El número de haplotipos por población (N_a) fue de 1 a 10, mientras que la riqueza de haplotipos aplicando rarefacción (A_r) estuvo entre 1 y 7.49 y la diversidad haplotípica (H) entre 0 y 0.982. En general se los niveles de variación genética fueron mayores en el centro de México, en particular en las poblaciones localizadas en el Eje Neovolcánico. Bradbury (1997) y Metcalfe (2006) reportan que para el pleistoceno tardío en el Eje Neovolcánico había presencia del género *Salix*. Esta región ha sido considerada como un importante centro de diversificación para muchas especies (Nixon, 1993), y ha actuado como un puente natural entre otras provincias biogeográficas, por lo que el Eje Neovolcánico, se ha constituido como un activo centro de evolución de la biota Mexicana. Con lo cual, y de acuerdo con la red de haplotipos, podríamos sugerir que el centro de origen de *Salix bonplandiana* se orquestó en el Eje Neovolcánico. Estudios en especies de amplia distribución han mostrado en general altos niveles de variación genética total y dentro de poblaciones para esta zona geográfica, además se ha encontrado la presencia de estructura filogeográfica y una compleja distribución geográfica de los haplotipos, lo cual indica que esas especies han tenido una compleja historia poblacional en las áreas que actualmente son ocupadas por ellas (González-Rodríguez *et al.*, 2004; Tovar-Sánchez *et al.*, 2008; Moreno-Letelier & Piñero, 2009; Rodríguez -Banderas *et al.*, 2009). En nuestro trabajo, la prueba de permutación para la comparación de N_{ST} y G_{ST} fue significativa ($p < 0,001$), lo que indica que *Salix bonplandiana* tiene una estructura filogeográfica y existe cierto flujo génico entre

poblaciones lo cual se ve reflejado al encontrarse haplotipos compartidos en algunas poblaciones.

En nuestro trabajo se analizaron las diferencias morfométricas de 210 individuos de *S. bonplandiana*, dando como resultados que la longitud es la variable geográfica más importante para explicar la diversidad genética y diferenciación morfológica, esto podría ser efecto de la historia geológica y climática que ha enfrentado la especie, con efectos de expansión de área y el incremento de conectividad como ha sucedido con otras especies de los bosque templados, tal como ha sido sugerido para algunas especies de pinos (Moreno-Letelier & Piñeiro, 2009; Rodríguez-Banderas *et al.*, 2009). En consecuencia, los cambios geológicos y climáticos históricos pudieron haber estructurado la variabilidad genética actual.

En este trabajo se encontró que existen diferencias morfológicas entre poblaciones. Karlsson (1996), señala que muchas de las características de las plantas pueden cambiar bajo diferentes condiciones ambientales que se dan durante su ontogenia. Los órganos de las plantas más expuestos a condiciones ambientales son las hojas, por tanto, es de esperar que la estructura foliar se vea afectada por diferentes condiciones ambientales. La morfología foliar es sensible a cambios debido a factores bióticos y abióticos presentes en un hábitat a las cuales esté sujeta dicha especie. Por lo tanto, la morfología de las hojas en plantas puede variar acorde a dichas condiciones como la luz, la temperatura, la humedad, la disponibilidad de nutrientes, la frecuencia de hibridación y la herbivoría (Valladares *et al.*, 2000; Stewart, 2006; Wilsey *et al.*, 1998; Díaz, 2004; Lempa *et al.*, 2000; Canche *et al.*, 2011; Krebs, 2011). Se ha demostrado en algunos trabajos que la morfología foliar se ve modificada después de eventos como la herbivoría (Coley, 1985; Myers & Bazely, 1991; Cache *et al.*, 2011). Ciertas formas foliares actúan como barrera o atrayentes afectando la abundancia y los niveles de daño por herbivoría (Brow & Lawton, 1991). Nuestros resultados señalan que existieron diferencias

significativas entre poblaciones y entre individuos dentro de la mayoría de las poblaciones. A nivel de poblaciones vegetales, se ha demostrado que los herbívoros tienen un impacto significativo, afectando tanto condiciones demográficas, distribución y abundancia de las mismas (Louda, 1982). En el nivel individual, es reconocido que los herbívoros pueden afectar negativamente uno o más componentes de la adecuación de las plantas (i.e. crecimiento, sobrevivencia, reproducción); los herbívoros son considerados como importantes agentes selectivos en la evolución de las plantas (Whithman & Mooper, 1985). La herbivoría tiene un efecto diferente en las plantas hospederas dependiendo de una gran variedad de factores bióticos y abióticos (Coley & Barone, 1996). De tal modo que puede haber variación en los niveles de herbivoría a lo largo de la distribución espacial de una especie debido a factores genéticos y ambientales (Coley & Barone 1996). Por ende, las especies de amplia distribución como ocurre con *Salix bonplandiana*, se encuentran expuestas a que sus poblaciones se enfrenten a diferentes factores bióticos y abióticos, los cuales pueden afectar negativamente uno o más componentes de la adecuación de las plantas y esto provoca los patrones de herbivoría diferenciales a lo largo de su distribución geográfica. Los resultados de los niveles de asimetría fluctuante para este trabajo nos indican diferencias significativas entre poblaciones ($P < .0001$), sin embargo solo se encontraron diferencias significativas entre individuos dentro de las poblaciones para cinco de veintidós poblaciones, estos resultados nos hacen deducir que entre poblaciones existen características propias del ecosistema en el que se encuentran, por ejemplo, la abundancia de herbívoros en cada población, que podrían explicar que la asimetría fluctuante sea diferencial a lo largo de la distribución geográfica. Se ha reportado una relación positiva entre la asimetría fluctuante y la herbivoría siendo que la asimetría fluctuante sirve como un indicador de susceptibilidad al daño hecho por herbívoros (Moller, 1995; Zvereva *et al.*, 1997, Cornelissen & Stiling, 2005; Díaz *et al.*, 2004). Nuestro trabajo concuerda con estos autores, ya que se encontró una relación positiva entre la AF y el daño ocasionado por

herbívoros, es decir, la herbivoría está determinando mayores niveles de AF. Otro de nuestros resultados derivó de las variables bioclimáticas, donde se determinó que el intervalo diario de temperatura explicó una proporción significativa de la variación en los niveles de herbivoría.

Una herramienta que ha resultado de interés ante los evidentes cambios climáticos, es la implementación de los modelos de nicho ecológico, la cual nos ayuda a predecir las distribuciones presentes, pasadas y futuras de los organismos. Estos modelos toman en cuenta variables como la temperatura, precipitación, elevación y otras variables que podrían potencialmente influenciar la distribución de las especies (Phillips *et al.*, 2006). De esta manera la combinación de variabilidad genética y los modelos de nicho ecológico juegan un papel importante ya que responden preguntas que no se pueden abordar en cada una de las aéreas por separado. El modelado de nicho ecológico ha sido aplicado a los campos de la ecología, biogeografía, genética del paisaje, biología de la conservación entre otros (Guisan & Thuiller, 2005; Peterson *et al.*, 2007). Para este trabajo se trabajó con tres diferentes modelos climáticos cccma_cgcm31, csivo_mk30 y ukmo_hadcm3, los cuales son escenarios severos a7b para los años 2050 y 2080. Donde para todos, la máxima probabilidad de ocurrencia de *Salix bonplandiana* se encuentra enfocado a la zona centro de México. Donde se encuentra el Eje Neovolcánico en el cual se concentra la mayor variación genética y morfológica de la especie.

X. CONCLUSIÓN GENERAL

Salix bonplandiana como otras especies de amplia distribución tiene un alta variabilidad genética entre poblaciones y dentro de las poblaciones. Se encontraron niveles moderados de diferenciación genética ($G_{ST} > 0.5$), lo que indica que *Salix bonplandiana* tiene una estructura filogeográfica y existe cierto flujo génico entre poblaciones, lo cual se ve reflejado al encontrarse haplotipos compartidos entre las poblaciones, esto podría ser debido a que sus semillas son sumamente pequeñas y dispersadas por viento a distancias potencialmente grandes. Las poblaciones que se localizan en el centro de México son las poblaciones con mayor diversidad genética y diferenciación morfológica donde, de acuerdo a la red de haplotipos se sugiere que el sitio de origen de la especie *Salix bonplandiana* se encuentra focalizado para esas regiones del centro de México. Existen diferencias morfométricas entre poblaciones y entre individuos dentro de las poblaciones, siendo la población Estero San José del Cabo (Baja California Sur), la que tiene menor similitud respecto a las demás. Existen factores bióticos y abióticos que están determinando las diferencias morfológicas más que la propia estructura genética de las poblaciones de *Salix bonplandiana*. La distribución geográfica de *S. bonplandiana*, se reducirá bajo escenarios de cambio climático según todos los modelos proyectados, la máxima probabilidad de permanencia de *Salix bonplandiana* se encuentra en la zona centro de México. Los patrones de herbivoría y asimetría fluctuante fueron diferenciales entre poblaciones y de los individuos dentro de las poblaciones de *Salix bonplandiana*. Se encontró una relación positiva entre los niveles de herbivoría y la asimetría fluctuante de *Salix bonplandiana*, a mayor área foliar consumida mayor asimetría fluctuante. Nuestros resultados señalan que los mayores niveles de herbivoría para *Salix bonplandiana* suceden cuando el promedio de la temperatura media diurna anual oscila entre los 14 °C a 18°C. Se encontró que el tamaño de la hoja de *Salix bonplandiana* no influye para determinar los patrones de herbivoría y los niveles de asimetría fluctuante.

XI. LITERATURA CITADA

Agrawal A. (2001). Common property institutions and sustainable governance of resources *World development* 29(10): 1649-1672.

Alvarez-Buylla ER & Martínez-Ramos M. (1992). Demography and allometry of *Cecropia obtusifolia*, a Neotropical Pioneer Tree; and evaluation of the Climax-Pioneer paradigm for Tropical Rain Forest. *Journal of Ecology* 80:275-290.

Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA y Saunders NC. (1987). The mitochondrial DNA bridge between populations genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 3: 457-498.

Avise JC. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species.* Harvard University Press, Cambridge, MA, USA.

Avise, J.C. (1998). The history and purview of Phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology* 7: 371-379.

Barradas, V, L., Landa, J, L y Pérez, J, C. 2011. Implicaciones del cambio climático en la fisiología ecológica de las plantas. *Cambio climático: aproximaciones para el estudio de su efecto sobre la diversidad* /:71-80.

Bazely, D., (1991). Thorns, spines, prickles and hairs: are they stimulated by herbivory and do they deter herbivores? In: Tallamy, D.W., Raup, M.J. (Eds.), *Phytochemical Induction by Herbivores.* Wiley, New York, pp. 325–344.

Bazzaz FA. (1996). *Plants in changing environments. Linking physiological, population and community ecology.* Cambridge, UK: Cambridge University Press.

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

- Bermingham E & Moritz C. (1998).** Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology* 7 (4): 367-369.
- Bradbury JP. (1997).** Sources of glacial moisture in Mesoamerica: *Quaternary International*, 43: 97-110.
- Bradshaw AD. (1965).** Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* 13: 115-155.
- Brown RJ, Lawton DC & Cheadle SP. (2001).** Scaled physical modelling of anisotropic wave propagation: multioffset profiles over an orthorhombic medium. *Geophysical Journal International* 107: 693-702.
- Brown, V.K. & Lawton, J.H. (1991).** Herbivory and the evolution of leaf size and shape. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 333: 265-272.
- Brzeziecki B & Kienast F. (1994).** Classifying the life history strategies of trees on the basis of the Grimian model. *Forest Ecology and Management* 69: 167– 187.
- Buenfil FJ. (2009).** Adaptación a los impactos del cambio climático en los humedales costeros del Golfo de México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México, DF, MX.
- Canché-Delgado A, Garcia-Jain S. E, Vaca-Sanchez M. S, Cuevas-Reyes P. (2011).** “Cambios en la morfología floral y foliar en *Crataegus tracyi*: importancia de la asimetría fluctuante como indicador de estrés ambiental”. *Biologías* 13(1): 44-49
- Chen J. y Bradshaw G.A. (2008).** Forest structure in space: a case study of an old growth spruce-fir forest in Changbaishan Natural Reserve, PR China. *Forest Ecology and Management* 120:219-233.
- Coley PD & Barone JA. (1996).** Herbivory and Plant Defenses in Tropical Forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27:305-335.
- Coley PD. (1986).** Cost and benefits of defense by tannins in a neotropical tree. *Ecology* 70: 238-241.
- Coley, Phyllis D, John P. Bryant, F. Stuart Chapin III. (1985).** “Resource Availability and Plant Antiherbivore Defense” *Science*. 230: 895-899.

CONABIO. (2011). Sierra de la Laguna.

http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rtp_001.pdf; brodbury

Cornelissen T & Stiling P. (2005). Perfect is best: low leaf fluctuating asymmetry reduces herbivory by leaf miners. *Oecologia*, 142: 46-56.

Crawley MJ. (1983). Herbivory. The dynamics of animal-plant interactions. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Crawley, M. J. (1983). Herbivory. The dynamics of animal-plant interactions. Blackwell Scientific Publications, Oxford

Cuevas-Reyes P, Fernandez GW, González-Rodríguez A & Pimenta M. (2011). Effects of generalist and specialist parasitic plants (Loranthaceae) on the fluctuating asymmetry patterns of ruprestrian host plants. 12:449-455.

Díaz M, Pulido FJ & Moller AP. (2004). Plant animal Interactions Herbivore effects on developmental instability and fecundity of holm oaks. *Oecología* 139:224-234.

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: 393-397.

Farnsworth EJ & Ellison AM. (1997). The global conservation status of mangroves. 26: 328-334.

Gausman HW. (1984). Evaluation of factors causing reflectance differences between sun and shade leaves. *Remote Sensing of Environment* 15: 177–181.

González-Rodríguez A, Bain JF, Golden JL & Oyama K. (2004). Chloroplast DNA variation in the *Quercus affinis*–*Q. laurina* complex in Mexico: geographical structure and associations with nuclear and morphological variation. *Molecular Ecology* 13(11):3467-3476.

Guisan A & Thuiller W. (2005). Predicting species distribution: offering more than simple habitat models *Ecology letters* 8(9): 993-1009.

Harper JL. (1977). Population biology of plants. Academic Press, Nueva York. 892 p.

Harper, J.L. (1969). The role of depredation in vegetational diversity. *Brook have Symp. Biol.* No.22 pp. 48-62. 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.

Hódar JA. (2002). Leaf fluctuating asymmetry of Holm oak in response to drought under contrasting climatic conditions *Journal of arid environments* 52(2): 233-243.

Hugall A, Moritz C, Moussalli A. & Stanistic J. (2002). Reconciling paleodistribution models and comparative phylogeography in the Wet Tropics rainforest land snail *Gnarosophia bellendenkerensis* (Brazier 1875). *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 6112–6117.

Jaramillo N & Dujardin JP. (2002). Análisis Morfométrico: Significado Biológico del Tamaño y la Conformación. In: F Guhl, CJ Schofield (eds.) *Proceedings Fourth International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae, Cartagena de Indias (ECLAT 4)*, pp. 151-166. CIMPAT, Universidad de los Andes, Corcas Editores Ltda., Bogotá, Colombia.

Karlsson, PS. & Nordell, K.O. (1996). Effects of soil temperature on the nitrogen economy and growth of mountainbirch seedlings near its presumed low temperature distribution limit. *Ecoscience*, 3, 183-189.

Knowles LL & Maddison WP. (2002). Statistical phylogeography. *Molecular Ecology* 11: 2623–2635.

Krebs C, Gerber E, Matthies D, Urs Schaffner. (2011). “Herbivore resistance of invasive *Fallopia* species and their hybrids”. *Oecologia* 167:1041-1052.

Lawley, J., D. White, R. Neilson y A. Blaustein. 2006. Predicting climate-induced range shifts: model differences and model reliability. *Global Change Biology*. 1:1568-1584.

Le Corre V & Kremer A. (1998). Cumulative effects of founding events during colonisation on genetic diversity and differentiation in an island and stepping-stone model. *Journal of Evolutionary Biology* 11(4): 495-512.

Lempa K, Martel J, Koricheva J, Haukioja E, Ossipov V, Ossipova S y Philaja K. (2000). *Oecologia* 122:354-360.

Louda, S.M. (1982). Limitation of the recruitment of the shrub *haploppapus squarrosus* (Asteraceae) by flower and seed feeding Insects. *J. Ecology* 70:43-53

Ma BL & Smith DL. (1992). Growth regulator effects on aboveground dry matter partitioning during grain fill of spring barley. *Crop Science* 32(3):741-746.

Magni CR, Ducuoso A, Caron H, Petit RJ & Kremer A. (2005). Chloroplast DNA variation of *Quercus rubra* Lin North America and comparison with other Fagaceae. *Molecular Ecology* 14:513–524.

Metcalfe SE. (2006) Late Quaternary environments of the Northern Deserts and central Transvolcanic Belt of Mexico: *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93, 258 - 273.

Moller, A. P. (1995). Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus glabra* leaves. *J. Anim. Ecol.* 64: 697-707.

Moreno-Letelier A & Piñero D. (2009). Phylogeographic structure of *Pinus strobiformis* Egelm. across the Chihuahuan Desert filter-barrier. *Journal of Biogeography* 36: 121-131.

Niembro R., A. (1986). Árboles y arbustos de México naturales e introducidos. Editorial LIMUSA. México. pp 163-164. Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names. *Annales des sciences forestières* 50 (Supplement), 25-34.

Nixon KC. (1993). The genus *Quercus* in Mexico. In: Ramamoorthy TP, Bye R, Lot A, Fa J. eds. *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*. New York: Oxford University Press, 447 – 458

Palmer R & Strobeck C. (1986). Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17:391–421.

Peterson AT, Papeş M & Eaton M. (2007). Transferability and model evaluation in ecological niche modeling: a comparison of GARP and Maxent. *Ecography* 30 (4), 550-560.

Petit RJ, Brewer S, Bordács S, Burg K, Cheddadi R, Coart E & Cottrell J. (2002). Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management* 156 (1-3): 49-74.

Phillips SJ, Anderson RP & Schapire RE. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190: 231–259.

RAMSAR. (2012). Classification for wetland type maintained by convention on wetlands. Disponible en: <http://www.ramsar.org/ris/key_ris_types.htm>

Richards CL, Carstens BC & Knowles LL. (2007). Distribution modeling and statistical phylogeography: an integrative framework for generating and testing alternative biogeographical hypothesis. *Journal of Biogeography* 34: 1833-1845.

Rodríguez GC. (2002). Contribución al estudio de los *Salix* spp. En México Pp.84-86 (tesis).

Rodríguez-Banderas A, Vargas-Mendoza CF, Buonamici A, Vendramin GG (2009) Genetic diversity and phylogeographic analysis of *Pinus leiophylla*: a post-glacial range expansion. *Journal of Biogeography*, **36**, 1807-1820.

Rohwer, JG, Kubitzki, K. (1984). *Salix martiana*, un sauce regularmente hermafrodita. *Sistemática y Evolución de la planta* 144: 99-101.

Rzedowski GC, Rzedowski J y colaboradores (2001). Flora fanerogámica del valle de México. 2a. Ed. Reimp., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad, Patzcuaro Mich, 1406 pp.

Schaal BA, Hayworth DA, Olsen KM, Rauscher JT & Smith WA. (1998). Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology* 7:465-474.

Slatkin M. (1985). Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16:393-430.

Smith, (1992). Growth regulator effects on aboveground dry matter partitioning during grain fill of spring barley. *Crop Sci*: 32,741-746.

Smith, (2007): Greenhouse gas mitigation in agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society, B.*, 363. doi:10.1098/rstb.2007.2184

Swaine MD & Whitmore TC (1988). On the Definition of Ecological Species Groups in Tropical Rain Forest. *Vegetation* 75: 81-86.

Tovar-Sánchez E, Mussali-Galante P, Esteban-Jiménez R, Piñero D, Arias DM, Dorado O, Oyama K (2008) Chloroplast DNA polymorphism reveals geographic structure and introgression in *Quercus crassifolia* x *Q. crassipes* complex in México. *Botany*, **86**, 228-239.

Valladares F, Right J, Lasso E, Kitajima K and Robert W. Pearcy. (2000). "Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a panamanian rainforest" *ecology*, 81(7), , pp. 1925-1930
2000 by the ecological society of america.
Van Valen L. 1962. "A study of fluctuating asymmetry" *Evolution* 16: 125–142.

Van Valen L. (1962). A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16:125–142.

Villarauz Camargo K. (2009). Caracterización de la vegetación riparia en un gradiente altitudinal y propuesta para su restauración en microcuenca San Idelfonso, Querétaro. Tesis para obtener el título de Maestro en Gestión Integral de Cuencas. Universidad Autónoma de Querétaro, México.

Waltari E, Hijmans RJ, Peterson AT, Nyári AS, Perkins SL & Guralnick RP. (2007). Locating pleistocene refugia: comparing phylogeographic and ecological niche model predictions. *PLoS One* 2, e563. doi: 10.1371/journal.pone.0000563.

Weis AE & Berenbaum MR. (1989). Herbivorous insects and green plants. Pp. 123-162. In: **Abrahamson WG** (Ed.), *Plant-animal interactions*. McGraw-Hill, New York. Niembro, 1986. (CONABIO).

Whitman, T.G. & S. Mooper. (1985). Chronic herbivory: Impacts on architecture and sex expression of pinyon pine. *Science*, 228: 1089-1091.

Wilsey B.J, E. Haukioja, J. Koricheva, M. Sulkinoja (1998). "Leaf fluctuating asymmetry increases with hybridization and elevation in tree-line birches" *Ecology* 79:2092–2099.

Zvereva E.L., Kozlov M.V., Niemela P. & Haukioja E. (1997): Delayed induced resistance and increase in leaf fluctuating asymmetry as responses of *Salix borealis* to insect herbivory. *Oecologia* 102: 368-373.