



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE BIOLOGÍA



PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Efecto de la fragmentación de bosque en la
franja aguacatera sobre caracteres
funcionales foliares y la diversidad y
estructura genética de *Quercus castanea***

TESIS

Que presenta:

Biol. María Isabel Méndez Solórzano

Como requisito para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Biológicas

Director de tesis:

Dr. Pablo Cuevas Reyes

Co-director de tesis:

Dr. Antonio González Rodríguez

Morelia, Michoacán. Mayo de 2021



Biológicas

Dedicatoria

Por los que abandonaron el camino,
Por los que continúan en él,
Por mí y para mí.

*“Sólo yo puedo cambiar mi vida.
Nadie puede hacerlo por mí”*
-Carol Burnett

Agradecimientos

A mi asesor de tesis, el Dr. Pablo Cuevas Reyes. Gracias por aceptarme de nuevo como tu estudiante. Por las enseñanzas tanto académicas como de vida. Gracias por todo el apoyo otorgado para que la realización de este proyecto fuera posible. Gracias por acompañarme a campo y por el apoyo económico. Pablo, gracias por tu amistad, por siempre alentarme a ser mejor estudiante, mejor amiga, mejor persona. Gracias porque a pesar de la pandemia siempre mantuviste contacto conmigo y estuviste ahí para apoyarme y ayudar a hacer más ligero el aislamiento. Sin tu disposición esto no habría sido igual.

A mi co-asesor, el Dr. Antonio González Rodríguez. Agradezco por las facilidades otorgadas para que yo pudiera trabajar en su laboratorio. Toñito, gracias por tus comentarios y enseñanzas. Gracias por tu accesibilidad y por esas reuniones para trabajar en mi proyecto, me ayudaron bastante.

A los integrantes de mi mesa sinodal, Dra. Yurixhi Maldonado López, Dra. Yvonne Herrerías Diego, Dr. Leonel López Toledo. Gracias por sus comentarios que ayudaron a mejorar mi proyecto y a mí como estudiante. Gracias por dedicarle tiempo a mi proyecto.

A mis compañeros del laboratorio, Joan, Sofi, Abel, Katy, Ica, Paloma. Gracias por las discusiones sobre mi tema, que me ayudaron a entender de manera más sencilla algunos puntos que se me complicaban. Sofi, Joan, Gera y Abel, gracias por su apoyo invaluable en la colecta de mis muestras. Gracias Bernie por tu ayuda con el mapa para el capítulo 2. Gracias chicos por los mensajes de buenos días, por las pláticas al final de las reuniones de laboratorio, que ayudaron

a hacer más llevadero el tiempo de aislamiento. También agradezco a Ingrid, por su gran ayuda con la metodología en el laboratorio de genética de la conservación y apoyarme con algunos análisis genéticos, así como la elaboración de el mapa utilizado en el capítulo 1.

De manera especial agradezco a mi compañero de vida. Zira, muchas gracias por todo el apoyo que siempre me brindas, gracias por estar ahí dándome ánimos. Gracias por tu compañía y comprensión. Sin ti este proceso sería muy pesado con esta pandemia.

Gracias a mi familia por contuar creyendo en mí. Por todas las alegrías que me han dado. Sin ustedes no soy nada.

Al proyecto CONACyT/PDCPN2016/proyecto3053: “Impactos y consecuencias del desarrollo de la franja aguacatera sobre aspectos hidrológicos, funcionales, genéticos y de biodiversidad en ecosistemas templados de México” por el apoyo económico otorgado para la realización de este proyecto.

Al CONACyT por la beca número 732728 otorgada para que yo pudiera realizar este proyecto de maestría.

INDICE	Pag
1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	4
3. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	6
4. HIPÓTESIS.....	18
5. OBJETIVOS.....	18
5.1 GENERAL.....	18
5.2 PARTICULARES	19
6. CAPÍTULO 1: EFECTO DE LA FRAGMENTACIÓN DE BOSQUE EN LA FRANJA AGUACATERA SOBRE LA DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE <i>Quercus castanea</i>	21
1. RESUMEN.....	21
2. INTRODUCCIÓN.....	22
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1 SITIO DE ESTUDIO.....	26
3.2 ESPECIE DE ESTUDIO.....	28
3.3 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE ADN.....	28
3.4 AMPLIFICACIÓN DE ADN.....	29
3.5 ANÁLISIS DE DATOS.....	30
3.5.1 DIVERSIDAD GENÉTICA.....	30
3.5.2 ESTRUCTURA GENÉTICA.....	30
3.5.3 CONECTIVIDAD ENTRE POBLACIONES.....	31

4. RESULTADOS.....	32
4.1 DIVERSIDAD GENÉTICA.....	32
4.2 ESTRUCTURA GENÉTICA.....	35
4.3 CONECTIVIDAD ENTRE POBLACIONES.....	38
5. DISCUSIÓN.....	40
5.1 DIVERSIDAD GENÉTICA.....	40
5.2 ESTRUCTURA GENÉTICA.....	43
5.3 CONECTIVIDAD ENTRE POBLACIONES.....	44
6. BIBLIOGRAFÍA.....	46
7. CAPÍTULO 2: CAMBIOS EN LA MORFOLOGÍA FOLIAR DE <i>Quercus castanea</i> A LO LARGO DE UN MOSAICO DE AGROSISTEMAS DE AGUACATE Y BOSQUE TEMPLADO: LA ASIMETRÍA FLUCTUANTE FOLIAR COMO BIOINDICADOR DE ESTRÉS AMBIENTAL.....	51
1. RESUMEN.....	51
2. INTRODUCCIÓN.....	52
3. METODOLOGÍA.....	56
3.1 ÁREA DE ESTUDIO.....	56
3.2 SISTEMA DE ESTUDIO.....	58
3.3 MUESTREO.....	58
3.4 MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA FOLIAR.....	59
3.5 ASIMETRÍA FLUCTUANTE FOLIAR.....	60
4. RESULTADOS.....	62
4.1 MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA FOLIAR.....	62
4.2 ASIMETRÍA FLUCTUANTE FOLIAR.....	65

5. DISCUSIÓN.....	66
5.1 MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA FOLIAR.....	66
5.2 ASIMETRÍA FLUCTUANTE FOLIAR.....	68
6. BIBLIOGRAFÍA.....	70
7. CONCLUSIONES GENERALES.....	78
8. BIBLIOGRAFÍA.....	79

1. RESUMEN

En el estado de Michoacán, el cambio de uso de suelo y la fragmentación han ido incrementando en los últimos años debido principalmente al establecimiento de huertos de aguacate. Es sabido que la fragmentación del bosque genera una serie de variaciones en las características bióticas y abióticas presentes en los fragmentos inmersos en esa matriz antropogénica. Estas variaciones pueden verse reflejadas en las plantas que se encuentren expuestas a estos cambios, comprometiendo su establecimiento, reproducción y supervivencia. Una de las características más evidentes de los paisajes fragmentados es el grado de aislamiento de las poblaciones de plantas que se encontraban de forma natural en esos sitios. Al encontrarse más alejadas, el movimiento de polen y semillas puede verse reducido ya que existe una disminución de la conectividad entre fragmentos al aumentar el aislamiento, además de la pérdida de agentes dispersantes (vertebrados herbívoros) que son susceptibles a la fragmentación, ocasionando la disminución de la variación genética. Además, las variaciones en las condiciones climáticas de hábitats fragmentados puede generar estrés en las plantas. Los cambios morfológicos foliares son un indicador de la adecuación de las plantas asociado al estrés fisiológico y perturbación de hábitat. Similarmente, la asimetría fluctuante definida como las diferencias aleatorias entre dos lados de un carácter bilateral de un organismo, es un indicador para evaluar la inestabilidad del desarrollo resultante de estrés genético o ambiental. Nuestro objetivo fue evaluar los

efectos del cambio de uso de suelo de EFT a huertos de aguacate en Michoacán, evaluando los niveles de diversidad y estructura genética, y, mediante los ajustes en la morfología foliar y asimetría fluctuante en individuos de *Quercus castanea* que ocurren en sitios con diferente proporción de cobertura vegetal de bosque nativo y huertos de aguacate. Seleccionamos 8 sitios con diferentes proporciones de cobertura de bosque y huerto (bosque > huerto, bosque < huerto y bosque = huerto). Se eligieron entre 15 y 30 individuos adultos de *Q. castanea* en cada sitio. Para los análisis genéticos seleccionamos 5 hojas sin daño aparente de cada individuo. Además, seleccionamos 25 hojas al azar por individuo las cuales fueron digitalizadas para determinar los niveles de asimetría fluctuante y morfometría geométrica foliar. Encontramos que las poblaciones son altamente polimórficas (SSRn y ADNcp), además de un exceso de homocigotos, lo que nos indica que hay endogamia ($Fis = 0.285$). Encontramos baja estructura genética en el núcleo (SSRn) con el 97% de la varianza de las frecuencias alélicas explicada dentro de las poblaciones y solo el 3% entre las poblaciones. En el cloroplasto (ADNcp) encontramos alta estructura genética ($Fst = 0.319$). Encontramos una correlación positiva entre el número promedio de alelos por locus ($R^2=0.62$; $F=9.74$; $P=0.02$), número promedio efectivo de alelos ($R^2=0.64$; $F=10.46$; $P=0.017$) y heterocigocidad esperada ($R^2=0.56$; $F=7.72$; $P=0.03$) con el porcentaje de bosque en los sitios. El flujo de genes por polen es alto (de 0.1 a 0.27 de los individuos en cada sitio son inmigrantes), mientras el flujo por semillas es bajo (de 0.044 a 0.046). Nuestros resultados muestran evidencia de que la fragmentación de bosque debido al cambio de uso de suelo sí está afectando la diversidad genética de las poblaciones remanentes de *Q. castanea*

en la franja aguacatera. Encontramos diferencias en los niveles de AF en los individuos de diferentes proporciones de cobertura entre bosque y huerto, siendo más asimétricas las que se encontraron en condiciones de bosque mayor a huerto, además, los encinos que se encontraban en los bordes de los fragmentos de bosque más pequeños que el huerto tuvieron hojas más asimétricas. Detectamos diferencias significativas en la morfología foliar entre sitios con diferentes proporciones de cobertura bosque/huerto, también se diferenciaron las hojas del borde de los fragmentos de bosque de las del interior. Nuestros resultados sugieren que la morfología de las hojas de *Quercus castanea* es influenciada por la variación local ambiental y el estrés ambiental presente en las diferentes proporciones de cobertura bosque-huerto.

Palabras clave: Encinos, endogamia, cambio de uso de suelo, morfología, fragmentación.

2. ABSTRACT

In Michoacán, land-use change and fragmentation have been increasing in recent years, mainly due to the establishment of avocado orchards. It is known that the fragmentation of the forest generates a series of variations in the biotic and abiotic characteristics present in the fragments immersed in this anthropogenic matrix. These variations can be reflected in the plants that are exposed to these changes, compromising their establishment, reproduction and survival. One of the most obvious characteristics of fragmented landscapes is the degree of isolation of the plant populations that were found naturally at these sites. As they are further away, the movement of pollen and seeds can be reduced since there is a decrease in the connectivity between fragments with increasing isolation, in addition to the loss of dispersing agents (herbivorous vertebrates) that are susceptible to fragmentation, causing the decrease of genetic variation. In addition, variations in the climatic conditions of fragmented habitats can generate stress on plants. Leaf morphological changes are an indicator of the adequacy of plants associated with physiological stress and habitat disturbance. Similarly, fluctuating asymmetry, defined as random differences between two sides of a bilateral character of an organism, is an indicator for evaluating developmental instability resulting from genetic or environmental stress. Our objective was to evaluate the effects of land-use change from EFT to avocado orchards in Michoacán, evaluating the levels of diversity and genetic structure, and, through adjustments in leaf morphology and fluctuating asymmetry in *Quercus castanea* individuals that occur in sites with different proportions of native forest vegetation cover and avocado orchards. We

selected 8 sites with different proportions of forest and orchard cover (forest > orchard, forest < orchard, and forest = orchard). Between 15 and 30 adult individuals of *Q. castanea* were chosen at each site. For the genetic analysis, we selected 5 leaves without apparent damage from each individual. In addition, we randomly selected 25 leaves per individual which were digitized to determine the levels of fluctuating asymmetry and leaf geometric morphometry. We found that the populations are highly polymorphic, in addition to an excess of homozygotes, which indicates that there is inbreeding. We detected a low degree of population subdivision with 97% of the variance of allele frequencies within populations and only 3% between populations. Gene flow through pollen is high, while flow through seeds is low. No differences in diversity were found between the populations. These results indicate that the genetic effects of forest fragmentation are already being expressed. We found differences in the levels of FA in individuals with different proportions of coverage between forest and orchard, being more asymmetric than those found in conditions of forest greater than the orchard, in addition, the oaks that were found at the edges of the forest fragments smaller than the orchard had more asymmetric leaves. We detected significant differences in leaf morphology between sites with different proportions of forest/orchard cover, the leaves on the edge of the forest fragments also differentiated from those of the interior. Our results suggest that *Quercus castanea* leaf morphology is influenced by local environmental variation and environmental stress present in the different proportions of forest-orchard cover.

3. INTRODUCCIÓN GENERAL

En México, los ecosistemas forestales templados (EFT) ocupan el segundo lugar en extensión entre los diferentes tipos de vegetación del país, representando el 16.96% (323,300 km²) de cobertura vegetal (CONAFOR 2004). Los EFT se distribuyen a lo largo de la Sierra Madre Occidental y Oriental, la Faja Volcánica Transmexicana, la sierra Madre del Sur, las sierras de Chiapas, la sierra norte de Oaxaca, así como en el Norte y Sur de Baja California. Son ecosistemas templados subhúmedos a húmedos, con una precipitación anual de 600 a 1000 mm y temperaturas promedio entre los 12 °C y 23 °C, llegando a alcanzar temperaturas bajo cero en invierno. Los EFT se desarrollan sobre suelos muy variados desde arenosos hasta moderadamente ácidos, con abundante materia orgánica y hojarasca (CONABIO, 2020). Además, albergan una alta diversidad biológica que incluye un gran número de especies de plantas, hongos, animales e insectos (Challenger, 1998; Rzedowski, 1991).

Los EFT proporcionan numerosos servicios ambientales que benefician a las comunidades humanas. Dentro de los servicios de soporte podemos encontrar la formación del suelo, el ciclo del agua y de nutrientes y la captura de carbono. También proporcionan servicios de provisión de agua, alimentos, madera, leña y medicinas naturales; servicios culturales al constituir espacios naturales para realizar actividades recreativas, de investigación científica, inspiración cultural y espiritual. También proporcionan servicios de regulación, que combinados con los otros favorecen el control de los riesgos de inundaciones, retención del agua de lluvia, mantenimiento de la calidad del aire, promoción de la polinización, control del

clima y la temperatura, filtración y recarga de mantos acuíferos, control de la erosión del suelo (SEMARNAT, 2018; PROFEPA, 2020). Sin embargo, los EFT son considerados de los ecosistemas más amenazados debido a diferentes actividades antropogénicas como el cambio de uso de suelo a sistemas agroforestales, la deforestación (Esperón-Rodríguez & Barradas, 2014), la ganadería, la cacería de subsistencia y el tráfico ilegal de fauna (CONABIO 2020). En México, aproximadamente el 40% de la cobertura de los ecosistemas forestales templados que comprenden bosques mixtos de coníferas, encinos y bosques mesófilos se ha perdido (Challenger, 1998; Klooster & Masera, 2000), con efectos negativos como son la reducción del tamaño y calidad del hábitat boscoso, el efecto de borde, el aumento del número de parches y la pérdida de conectividad entre parches (Otavo & Echeverría, 2017).

3.1 Fragmentación de bosque en México

La fragmentación del bosque se define como un proceso a escala de paisaje que involucra tanto la pérdida como la ruptura del hábitat (Fahrig, 2003). Una de las consecuencias inmediatas de este proceso es un aumento en el grado de aislamiento de las poblaciones inmersas en esa matriz antropogénica (Fahrig, 2003), lo que ocasiona cambios abióticos y bióticos del hábitat remanente (Burel & Baudry, 1999; Fahrig, 2003), promoviendo la disminución del potencial de bienes y servicios ambientales que proporcionan los ecosistemas (Haddad et al., 2015; Velázquez et al., 2002), así como una alteración significativa en la dinámica de las poblaciones y la estructura y composición de las comunidades (Farwig, Böhning-Gaese, & Bleher, 2006)

En México, la deforestación y el cambio de uso de suelo asociados al crecimiento de la población humana, la agricultura, la ganadería y la industria se han incrementado, llegando a alcanzar tasas de conversión forestal de hasta 0.5% (354 000 ha/año) durante el periodo de 1990-2000 y de 0.2% (155 000 ha/año) en el periodo de 2005-2010 (Mas et al., 2017) Esto ha llevado a transformaciones en los paisajes, aumentando la degradación y la fragmentación de los ecosistemas (Castro-Navarro, Sahagún-Sánchez, & Reyes-Hernández, 2017).

Durante el periodo de 2000 a 2012, la fragmentación de bosque se incrementó en México en el este, centro y sur del país (Ramírez-Reyes, Sims, Potapov, & Radeloff, 2018). El número de parches de bosque aumentó en un 27.9% y las categorías de bosque asociadas a bosques fragmentados aumentaron entre 16 y 17%. Los bosques con mayor pérdida fueron los bosques perennifolios medianos y altos (7.4 y 7.3%, respectivamente) (Moreno-Sánchez et al., 2012; Ramírez-Reyes et al., 2018), en los cuales se vio un aumento de sus bordes de entre el 20 y 94%. Los bosques de encino presentaron una pérdida del 0.68% durante el mismo periodo con un aumento del área de bordes mayor al 7% (Ramírez-Reyes et al., 2018).

Actualmente, el estado de Michoacán es una de las regiones más amenazadas en términos de degradación del hábitat y extinción de las comunidades forestales (Molina Sánchez et al., 2019) ya que presenta un alto grado de fragmentación y pérdida de hábitat (Mas et al., 2017). Esto se debe principalmente a la extracción ilegal de madera y al aumento dramático de las plantaciones de aguacate, que representan el factor más crítico del cambio en el uso de suelo en esta región (Brown, 2003). Mas et al. (2017) reportaron para el estado de Michoacán

una tasa de deforestación anual para bosques templados del 0.16% en el periodo de 2004-2007 y de 0.09% de 2007-2014, con una pérdida neta de 11,156 y 8443 ha, respectivamente.

Desde 1986 a 2016 se ha perdido un total de 106,094 ha de bosque de encino en la meseta purépecha del estado de Michoacán, observándose un aumento constante de la superficie cubierta por huertos de aguacate y de este modo los parches aislados de huertos que existían en 1986, ahora se han transformado en una masa continua y homogénea, aislando cada vez más los fragmentos de bosque restantes (Molina Sánchez et al., 2019), lo que puede desencadenar una serie de consecuencias negativas sobre la riqueza y estructura del bosque, la abundancia y diversidad de aves y mamíferos (Monterrubio-Rico, Charre-Medellín, & López-Ortiz, 2018), así como el ensamble de las comunidades de artrópodos, entre otros (Otavo & Echeverría, 2017).

3.2 El cultivo de aguacate en México

El cultivo de aguacate en México se ha incrementado en los últimos años llegando a alcanzar el 45.95% de las exportaciones mundiales (SAGARPA, 2017a) lo cual posiciona al país como el principal productor a nivel mundial. La producción de aguacate se lleva a cabo en 28 estados, considerándose el estado de Michoacán como el área productora de aguacate más importante de México y del mundo, ya que contribuye con un 84% de la producción nacional (Villanueva Tomas & Zepeda Anaya, 2018) y es el único estado que presenta producción durante todo el año (CEDRSSA, 2015).

En Michoacán, el aguacate tiene gran importancia socioeconómica debido al beneficio que genera para productores, comercializadores y consumidores (Gutiérrez-Contreras, Lara-Chávez, Guillén-Andrade, & Chávez-Bárceñas, 2010). Además de la derrama económica (\$94,267/ha en 2008) que genera a través de nuevos empleos y servicios en cada eslabón de la cadena productiva. Según el Servicio de Información Agroalimentario y Pesquera (SIAP), en la década del 2000 el valor de la producción de aguacate se triplicó, lo cual ha llevado a los productores a ampliar sus huertos ocasionando un aumento en la tasa de deforestación, particularmente en la zona productora de aguacate ubicada en una franja al sur del Eje Neovolcánico (INIFAP, 2012), debido a la similitud de condiciones climáticas que requieren los bosques de pino-encino y los huertos de aguacate, dejando como resultado una matriz fragmentada de bosque en la zona de cultivo de aguacate (Chávez-León et al., 2012).

3.3 Consecuencias genéticas de la fragmentación de bosque

Como resultado de la fragmentación de bosque, el movimiento del polen y semillas de especies forestales puede verse reducido debido a la disminución de la conectividad entre fragmentos al aumentar el aislamiento entre los individuos (Sork & Smouse, 2006). Además, algunos vertebrados herbívoros se pierden rápidamente ya que son susceptibles a la fragmentación, lo que lleva a una pérdida de agentes dispersores (Wright & Duber, 2001). Por lo tanto, la capacidad de los vectores animales para transportar el polen y las semillas puede verse afectada (Griscom, Kalko, & Ashton, 2007), haciendo más difícil el flujo de genes entre poblaciones (Honnay & Jacquemyn, 2007). De este modo, la variación genética de las

poblaciones tiende a reducirse debido que han sufrido una alta fragmentación y cuellos de botella (Aguilar, Quesada, Ashworth, Herrerías-Diego, & Lobo, 2008; Piotti, 2009). Como consecuencia, la deriva genética y la endogamia aumentan en las poblaciones remanentes, lo que lleva a una disminución de la variabilidad genética y a un incremento en la diferenciación entre las poblaciones (Piotti, 2009). Específicamente, se espera una menor proporción de loci polimórficos y una reducción en el número de alelos por locus dentro de los fragmentos (Aguilar et al., 2008; Honnay & Jacquemyn, 2007).

De este modo, si el flujo de genes entre fragmentos es limitado, la diversidad genética dentro de fragmentos debería disminuir (Aguilar et al., 2008; Hamrick, 2004), mientras que la diferenciación entre fragmentos debería aumentar (Lowe, Boshier, Ward, Bacles, & Navarro, 2005; Oyama et al., 2017). Si se mantienen poblaciones en sitios fragmentados, la diversidad genética general dentro del paisaje no disminuirá, simplemente será más estructurado (Hamrick, 2004; Herrera-Arroyo et al., 2013; Oyama et al., 2017), y, si se pierden poblaciones dentro de los sitios fragmentados, la diversidad genética dentro del paisaje se reducirá (Hamrick, 2004).

Por lo tanto, el efecto de la fragmentación sobre la composición genética de poblaciones de plantas depende del tamaño efectivo de la población dentro de fragmentos (Oyama et al., 2017) y los patrones de variabilidad genética dentro de la población original previo a la fragmentación (Aguilar et al., 2008; Hamrick, 2004; Honnay & Jacquemyn, 2007). Por otra parte, la pérdida de variación genética puede reducir la habilidad de la población para responder a futuros cambios ambientales, de modo que la probabilidad de extinción aumenta o, en el mejor de los casos, las

oportunidades de evolución son limitadas (Booy, Hendriks, Smulders, Van Groenendael, & Vosman, 2000). Sin embargo, se deben tomar en cuenta varios factores además de la fragmentación para poder entender los patrones de variabilidad genética dentro de las poblaciones; por ejemplo, el tiempo y número de generaciones transcurridas desde que ocurrió la fragmentación de bosque (Aguilar et al., 2008), el número de fuentes de polen cercanas, así como el tipo de dispersión tanto de polen como de semillas (Oyama et al., 2018), las tasas de cruzamiento, las distancias de dispersión y los tiempos generacionales (Broadhurst, 2015), ya que pueden limitar nuestra capacidad para detectar señales de fragmentación en árboles.

Se han realizado numerosos estudios sobre diversidad y estructura genética enfocados en poblaciones de árboles, y particularmente encinos, en hábitats fragmentados (por ejemplo, Fernández-M. & Sork, 2005; Herrera-Arroyo et al., 2013; Oyama et al., 2017). Específicamente, en la cuenca de Cuitzeo se han estudiado poblaciones de *Q. castanea* a lo largo de un mosaico de fragmentación de bosque mostrando altos niveles de diversidad genética (Herrera-Arroyo et al., 2013; Maldonado-López et al., 2014; Oyama et al., 2017) y una correlación positiva entre el número de haplotipos en plántulas y el tamaño del fragmento de bosque (Herrera-Arroyo et al., 2013), lo que sugiere que los fragmentos pequeños tienden a tener menor número de haplotipos en los individuos que se establecieron después de la fragmentación.

3.4 Variación en caracteres funcionales foliares

Las condiciones ambientales de hábitats perturbados juegan un papel importante de la modulación del funcionamiento de la biodiversidad y los ecosistemas (Liu et al, 2018). Particularmente, a nivel individual se ha demostrado que la fragmentación de bosque genera estrés en las plantas, comprometiendo su germinación, establecimiento y regeneración (Laurence et al., 1998). La fragmentación tiene efectos importantes sobre un conjunto de variables del microclima como son la intensidad de luz, temperatura, velocidad del viento y humedad (Laurance, 2004; Tuff, Tuff, & Davies, 2016).

Uno de los principales mecanismos que impulsan los cambios en los paisajes fragmentados es el cambio en las condiciones térmicas de parches remanentes y estas a su vez pueden influir fuertemente en la morfología, distribución y trayectoria evolutiva de los organismos (Tuff et al., 2016). De tal modo, los cambios ambientales se han asociado a respuestas y ajustes morfológicos foliares de la plantas (Cescatti & Zorer, 2003). Por esta razón, la fisiognomía de las hojas representa una base para estudios ecológicos (Traiser, Klotz, Uhl, & Mosbrugger, 2005; Wright et al., 2004). Por ser altamente sensitivas, las hojas están continuamente respondiendo a las diferentes condiciones ambientales, así como a diferentes ciclos fenológicos y ritmos de crecimiento (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Nikolic, Krstic, Pajevic, & Orlovic, 2006).

La capacidad de un individuo para producir un fenotipo predeterminado invariante en condiciones ambientales particulares es conocida como estabilidad del desarrollo (Møller & Shykoff, 1999). Las alteraciones genéticas o ambientales pueden generar desviaciones aleatorias de la simetría de organismos simétricos

alterando la estabilidad del desarrollo (Sandner, Zverev, & Kozlov, 2019). La inestabilidad del desarrollo es un factor importante que induce desviaciones aleatorias de la simetría bilateral al alterar las vías normales de desarrollo (Kusi & Karsai, 2020; Viscosi, 2015). Algunos factores ambientales que aumentan la inestabilidad del desarrollo de hojas y flores incluyen radioactividad, luz ultravioleta, exceso de luz, fertilizantes artificiales, varios contaminantes, condiciones de salinidad extrema, herbivoría, parasitismo y presencia de patógenos (Møller & Shykoff, 1999). La asimetría fluctuante (AF) es ampliamente usada como un indicador fácilmente medible de estrés ambiental y genético, así como de la aptitud física “fitness” de un organismo. La AF es el resultado de pequeñas irregularidades aleatorias en los procesos de desarrollo que ocurren incluso bajo condiciones genéticas y ambientales constantes (Tucić, Budečević, Manitašević Jovanović, Vuleta, & Klingenberg, 2018).

El estrés ambiental puede ser analizado a través de la asimetría fluctuante (AF), que es una medida particular de la estabilidad durante el desarrollo de algún atributo fenotípico en rasgos bilaterales o radialmente simétricos óptimos (Cuevas-Reyes, Gilberti, González-Rodríguez, & Fernandes, 2013; Møller & Shykoff, 1999; Sandner et al., 2019). La AF 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 (Møller & Shykoff, 1999). La asimetría fluctuante es considerada como una expresión de inestabilidad en el desarrollo de

los órganos y estructuras biológicas, resultado de perturbaciones externas (Cuevas-Reyes et al., 2013).

Los patrones de variación morfológica en poblaciones naturales son de interés científico, ya que se ha identificado que existe variación de las características fenotípicas como resultado de factores relacionados al genotipo y a cambios medioambientales (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Lara-De La Cruz, García-Oliva, Oyama, & González-Rodríguez, 2020; Matesanz, Teso, García-Fernández & Escudero, 2017). Los encinos se caracterizan por presentar altos niveles de variación morfológica foliar entre poblaciones de una especie (Bruschi, Grossoni, & Bussotti, 2003); también es posible encontrar variación entre árboles de la misma población y aún entre hojas dentro del mismo individuo (Bruschi et al., 2003; González-Rodríguez & Oyama, 2005; Warren, Tausz, & Adams, 2005). El análisis con morfometría geométrica, nos indica si las variables representativas de las formas de la estructura en estudio son o no distintas, y permite realizar interpretaciones de alto significado biológico de las diferencias entre individuos y poblaciones (Toro Ibacache, Manríquez Soto, & Suazo Galdames, 2010).

3.5 Género *Quercus*

El género *Quercus* es uno de los taxa más importantes de los EFT en México (Valencia-A., 2004). Este género cuenta con dos centros de diversidad a nivel mundial, el primero se encuentra al sureste de Asia y el segundo en México (Hipp et al., 2019; Manos, Doyle, & Nixon, 1999; Nixon, 2008). De las 500 especies estimadas para el mundo, en México se encuentran 161, contando así con casi una tercera parte de las reportadas a nivel mundial (Valencia-A., 2004), de las cuales 76

pertenecen a la sección *Lobatae* (encinos rojos), 78 a la sección *Quercus* (encinos blancos), 4 a la sección *Protobalanus* (encinos intermedios) y 3 a la sección *Virentes* (Cavender-Bares et al., 2015; Denk, Grimm, Manos, Deng, & Hipp, 2017; Valencia-A., 2004). En total, se estima que 109 especies de encinos son endémicas del país (Valencia-A., 2004).

La mayor diversidad de especies se localiza en un intervalo altitudinal que varía entre los 1,200 y los 2,800 msnm, aunque es posible encontrar especies desde los 200 hasta los 3,500 m de altitud (Arizaga, Martínez-Cruz, Salcedo-Cabrales, & Bello-González, 2009). Los encinos son uno de los géneros arbóreos de mayor importancia para América del Norte, por su dominancia y por proveer servicios ecosistémicos importantes como el reciclaje de nutrientes, el balance hídrico y el secuestro de carbono (Kappelle, 2006; McWilliams et al., 2002; Nixon, 1993). Es uno de los géneros más utilizados por el hombre como fuente de carbón y madera de alta belleza, resistencia y durabilidad (Aldrich & Cavender-Bares, 2011). Además, los encinos mantienen una gran diversidad de interacciones complejas con otros organismos, como son insectos, hongos, vertebrados y otras plantas, por lo que se han considerado como especies clave que contribuyen al mantenimiento de la biodiversidad de EFT (Aldrich & Cavender-Bares, 2011; Kappelle, 2006; McWilliams et al., 2002; Nixon, 1993).

Los encinos presentan hojas coriáceas, tallos leñosos y presencia de bellotas (Nixon, 1993). Las especies de *Quercus* son polinizadas por el viento y autoincompatibles, las bellotas maduran durante el primer año en encinos blancos y en encinos rojos tardan dos años (Aldrich & Cavender-Bares, 2011). Por lo general presentan una alta variabilidad genética (Herrera-Arroyo et al., 2013; Maldonado-

López et al., 2014; Oyama et al., 2017, 2018). Sin embargo, se ha demostrado que debido a la fragmentación del bosque, se interrumpe la conectividad genética mediada por semillas entre las poblaciones (Herrera-Arroyo et al., 2013), lo que puede tener efectos a largo plazo sobre las poblaciones de encinos presentes en fragmentos de bosque.

Bajo este contexto, es de suma importancia entender cómo la fragmentación del bosque y el cambio de uso de suelo en la zona de cultivo de aguacate, está afectando la distribución espacial de los bosques templados, alterando las condiciones ambientales, su capacidad de resiliencia, y el tamaño poblacional de diferentes especies. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue documentar los efectos de la conversión de los ecosistemas forestales templados a agrosistemas sobre la diversidad y estructura genética y los caracteres funcionales de poblaciones de *Quercus castanea* que ocurren en fragmentos remanentes de bosque adyacentes a huertos de aguacate en diferentes municipios del estado de Michoacán.

4. HIPÓTESIS

Se espera que haya menor diversidad y mayor estructura genética, así como mayor variación en los caracteres funcionales foliares de los encinos que se encuentren en el interior de los huertos o en el borde adyacente a ellos que en los que se encuentran en el interior del bosque.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Determinar los efectos del cambio de uso de suelo de ecosistemas forestales templados a huertos de aguacate sobre la variación y estructura genética y caracteres funcionales foliares de *Quercus castanea* presentes en fragmentos de bosques templado adyacentes a huertos de aguacate y compararlos con poblaciones presentes en bosques continuos.

5.2 Particulares

1. Determinar si existen cambios en la morfología foliar en *Quercus castanea* en los bosques nativos adyacentes a los huertos de aguacate, bajo diferentes proporciones de cobertura vegetal entre bosque y huertos de aguacate.
2. Determinar los patrones de asimetría fluctuante foliar en *Quercus castanea* y si hay relación con las diferentes proporciones de cobertura vegetal entre bosque nativo y huertos de aguacate.
3. Evaluar los efectos del cambio de uso de suelo sobre la variación y estructura genética de *Quercus castanea* en los bosques nativos adyacentes a los huertos de aguacate.

6. CAPÍTULO 1.

EFFECTO DE LA FRAGMENTACIÓN DE BOSQUE EN LA FRANJA AGUACATERA DE MICHOACÁN SOBRE LA DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *Quercus castanea*

1. Resumen

El cambio de uso de suelo y la fragmentación de bosques, que se han ido incrementando en los últimos años debido al establecimiento de huertos de aguacate, ha generado el aislamiento de las poblaciones de plantas que se encontraban de forma natural en esos sitios. El movimiento de polen y semillas puede verse reducido como resultado de la fragmentación, ya que existe una reducción de la conectividad entre fragmentos, además de la pérdida de agentes dispersantes (vertebrados herbívoros), ocasionando la disminución de la variación genética en las poblaciones de plantas. El objetivo de este trabajo fue determinar los efectos que la fragmentación de bosque y el cambio de uso de suelo a huertos de aguacate en el estado de Michoacán, producen sobre la diversidad y estructura genética de *Quercus castanea*. Para ello, se eligieron 8 fragmentos con diferentes proporciones de cobertura bosque/huerto (bosque > huerto, bosque = huerto y bosque < huerto) dentro de la franja aguacatera. En cada sitio se colectó tejido foliar de 15 a 30 árboles adultos. Los individuos fueron genotipados con 11 microsatélites nucleares y secuencias de cloroplasto con dos regiones. Encontramos que las poblaciones son altamente polimórficas (SSRn y ADNcp), además de un exceso de homocigotos, lo que nos indica que hay endogamia ($F_{is} = 0.285$). Encontramos baja estructura genética en el núcleo (SSRn) con el 97% de la varianza de las

frecuencias alélicas explicada dentro de las poblaciones y solo el 3% entre las poblaciones. En el cloroplasto (ADNcp) encontramos alta estructura genética ($F_{st} = 0.319$). Encontramos una correlación positiva entre el número promedio de alelos por locus ($R^2=0.62$; $F=9.74$; $P=0.02$), número promedio efectivo de alelos ($R^2=0.64$; $F=10.46$; $P=0.017$) y hererocigocidad esperada ($R^2=0.56$; $F=7.72$; $P=0.03$) con el porcentaje de bosque en los sitios. El flujo de genes por polen es alto (de 0.1 a 0.27 de los individuos en cada sitio son inmigrantes), mientras el flujo por semillas es bajo (de 0.044 a 0.046). Nuestros resultados muestran evidencia de que la fragmentación de bosque debido al cambio de uso de suelo sí está afectando la diversidad genética de las poblaciones remanentes de *Q. castanea* en la franja aguacatera.

Palabras clave: Encinos, endogamia, cambio de uso de suelo

2. Introducción

La fragmentación generalmente se define como un proceso a escala de paisaje que involucra tanto la pérdida como la ruptura del hábitat (Fahrig, 2003). Una de las consecuencias inmediatas de este proceso es un aumento en el grado de aislamiento de los parches de hábitat remanente (Fahrig, 2003), lo cual promueve la disminución del potencial de bienes y servicios ambientales que proporcionan los ecosistemas, así como una alteración significativa en la dinámica de las poblaciones y la estructura de las comunidades (Burel y Baudry, 1999; Velazquez et al. 2002; Fahrig, 2003; Farwig et al. 2006).

En las plantas, el movimiento del polen y semillas puede verse reducido como resultado de la fragmentación debido a la reducción de la conectividad entre fragmentos al aumentar el aislamiento (Sork y Smouse, 2006). Además, algunos vertebrados herbívoros se pierden rápidamente ya que son susceptibles a la fragmentación, lo que lleva a una pérdida de agentes dispersores, haciendo más difícil el flujo de genes entre poblaciones (Wright y Duber 2001; Honnay y Jacquemyn, 2007). Un menor flujo génico a su vez puede representar una reducción en el tamaño efectivo de las poblaciones, las cuales como consecuencia pueden experimentar cuellos de botella genéticos, una deriva génica exacerbada y mayores probabilidades de endogamia (Aguilar et al. 2008; Piotti, 2009). Específicamente, se espera que los índices de diversidad genética, como la proporción de loci polimórficos y el número de alelos por locus sean menores en poblaciones que han sido severamente fragmentadas (Honnay y Jacquemyn, 2007; Aguilar et al. 2008).

Aunque el efecto de la fragmentación en la composición genética de las poblaciones de plantas dependerá del tamaño efectivo de la población dentro de los fragmentos (Oyama, et al. 2017) y de los patrones de variabilidad genética dentro de la población original previa a la fragmentación (Aguilar et al. 2008; Honnay y Jacquemyn, 2007; Hamrick, 2004), en general se espera que si el flujo de genes entre fragmentos es limitado, la diversidad genética dentro de los fragmentos debería disminuir (Hamrick, 2004; Aguilar et al. 2008), mientras que la diferenciación entre fragmentos debería aumentar (Lowe et al. 2005; Oyama et al., 2017).

La pérdida de variación genética es preocupante desde el punto de vista de la conservación porque puede reducir la habilidad de las poblaciones para responder a los cambios ambientales, de modo que la probabilidad de extinción

aumenta o, en el mejor de los casos, las oportunidades de evolución son limitadas (Booy et al, 2000).

En el caso de los encinos, se han realizado numerosos estudios sobre diversidad y estructura genética enfocados en poblaciones en hábitats fragmentados (e. g. Fernández-M. y Sork 2005; Herrera-Arroyo et al., 2013; Oyama et al., 2018). Por ejemplo, en una población de *Quercus humboldtii* recientemente fragmentada analizaron el sistema de apareamiento y encontraron una baja tasa de autofecundación y endogamia biparental presente pero reducida en fragmentos más grandes (Fernández-M. & Sork, 2005). También se ha estudiado la diversidad y estructura genética de *Quercus candicans*, *Quercus crassifolia* y *Quercus castanea* en un paisaje heterogéneo, encontrándose altos niveles de diversidad genética, aunque casi el 40% de las poblaciones presentó valores significativos de endogamia (Oyama et al., 2018). Específicamente, en *Q. castanea* en la cuenca de Cuitzeo, Michoacán, se encontraron altos niveles de diversidad genética (Herrera-Arroyo et al., 2013; Maldonado-López et al., 2014; Oyama et al., 2017) y una correlación positiva entre el número de haplotipos en plántulas y el tamaño del fragmento de bosque (Herrera-Arroyo et al., 2013), indicando que las poblaciones situadas en fragmentos pequeños son más susceptibles a perder diversidad genética. Todos estos hallazgos son importantes ya que nos permiten entender como se ven afectadas las poblaciones. Sin embargo, aún falta mucho por saber sobre los efectos que acarrea la fragmentación, sobre todo en esta zona de cambio de uso de suelo de bosque a huertos de aguacate.

El problema de la fragmentación en México se ha intensificado en las últimas décadas, con tasas de deforestación de 0.5% (354 000 ha/año) en el periodo de

1990-2000 y de 0.2% (155 000 ha/año) en el periodo de 2005-2010 (Mas et al., 2017). Actualmente, el estado de Michoacán es una de las regiones más amenazadas en términos de degradación del hábitat y extinción de las comunidades forestales. Esto se debe principalmente a la extracción ilegal de madera y al aumento dramático de las plantaciones de aguacate, que representan el factor más crítico del cambio en el uso de la tierra en el área (Brown 2003).

El cultivo de aguacate en México se ha incrementado en los últimos años llegando a alcanzar el 45.95% de las exportaciones mundiales (SAGARPA, 2017a) lo cual lo posiciona como el principal productor a nivel mundial. La producción de aguacate en México se lleva a cabo en 28 estados, considerándose el estado de Michoacán como el área productora de aguacate más importante de México y del mundo, ya que contribuye con un 84% de la producción nacional (Tomas y Anaya 2018) y es el único estado que presenta producción durante todo el año (CEDRSSA, 2015).

Sánchez et al. (2019) reportaron que desde 1986 a 2016 se perdió un total de 106,094 ha de bosque de encino en la Meseta Purépecha del estado de Michoacán, observándose un aumento constante de la superficie cubierta por huertos de aguacate. De este modo, los parches aislados de huertos que existían en 1986 ahora se han transformado en una masa continua y homogénea, aislando cada vez más los fragmentos de bosque restantes.

Bajo este contexto, estamos interesados en evaluar los efectos del cambio de uso de suelo de bosques de encino/pino-encino a huertos de aguacate, en la franja aguacatera del estado de Michoacán, sobre la diversidad y estructura genética de *Quercus castanea*, que es una especie de encino de amplia distribución

en México, y que se encuentra presente y es abundante a lo largo de la franja aguacatera. Esperamos encontrar una menor diversidad y mayor estructura genética en fragmentos de bosque más pequeños que los huertos y aislados que en los fragmentos de bosque más grandes que los huertos.

3. Materiales y métodos

3.1 Sitio de estudio

El presente trabajo se realizó en el área conocida como franja aguacatera del estado de Michoacán, que se encuentra ubicada entre los los 18°45' y 20°06' N y los 101°47' y 103°13' O (Gutiérrez-Contreras et al. 2010). Se eligieron ocho sitios pertenecientes a los municipios de Tacámbaro, Acuitzio del Canje, Uruapan y Tancítaro usando imágenes de satélite de mediana y alta resolución (Landsat, SPOT, Sentiel y Rapid Eye con los sensores TM 5, ETM+ OLI) para definir la ubicación y extensión de las principales coberturas de bosque y huertos de aguacate (Figura 1). Los sitios elegidos representan un gradiente en la proporción de cobertura de bosque y huertos de aguacate; tres sitios con mayor proporción de bosque nativo en relación a la extensión de los de huertos (dos en Acuitzio del Canje y uno en Tancítaro), dos sitios con igual proporción de bosque y huertos (uno en Uruapan y otro en Acuitzio del Canje), y tres con menor proporción de bosque nativo que de huertos (uno en Uruapan y dos en Tacámbaro) (Tabla 1). La escala espacial de los sitios estuvo dada en hectáreas (ha).

Tabla 1 Número y nombre de localidad, coordenadas geográficas, altitud y tamaño del fragmento de bosque y huerto.

Población	Lat N	Lon W	Altitud (m)	Bosque (ha)	Huerto (ha)	Cobertura de bosque (%)
1. El Embrujo	19.28122	-101.45448	2100	3	2.7	52
2. Huitzicho	19.45358	-102.01406	1834	2.5	4.5	36
3. Caramécuaro	19.24825	-101.42147	1700	1	1.7	37
4. La Yácata	19.45454	-101.28347	2351	123	43	74
5. Llanitos	19.43863	-101.27881	2168	20	3.5	84
6. Las Joyas	19.22778	-101.41986	1514	7.5	14	35
7. Tancítaro	19.30333	-102.39128	1794	5	1.5	77
8. El Peral	19.49914	-102.03044	2066	1	0.95	51

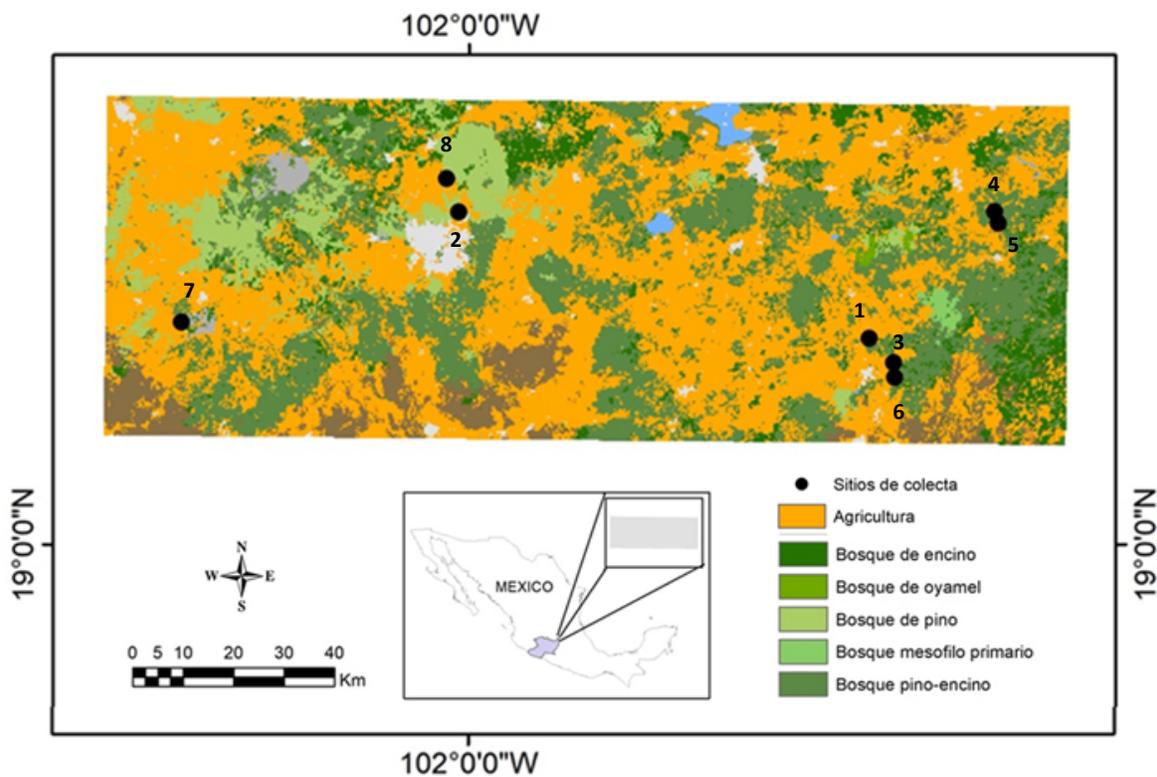


Figura 1 Ubicación de las 8 poblaciones colectados de *Q. castanea*, dentro de la franja aguacatera del estado de Michoacán. Los números de las poblaciones corresponden con la numeración de la Tabla 1. Los colores indican los tipos de cobertura del suelo.

3.2 Especie de estudio

Quercus castanea Née. Es un árbol de hasta 30 m de altura (excepcionalmente más de 50 m), con un perfil redondeado. Habita en lugares de 1180 a 2600 msnm, en laderas, matorrales semitropicales y bosques de encinos. Se distribuye a través de México en los estados de Chiapas, Colima, Distrito Federal, Durango, Guerrero, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tlaxcala y Veracruz (Arizaga et al., 2009). También se encuentra en Guatemala y el Salvador (CONABIO 2009). *Quercus castanea* es una especie monoica, produce amentos masculinos y pequeñas flores femeninas, es de cruzamiento obligado, polinizado por el viento. Las bellotas se dispersan principalmente por gravedad y aves como los pájaros carpinteros de bellota (*Melanerpes formicivorus*) y los pájaros carpinteros de frente dorada (*Melanerpes aurifrons*) (Schondube et al. 2010).

3.3 Recolección de muestras y extracción de ADN

Para cada uno de los ocho sitios estudiados seleccionamos entre 15 y 30 árboles separados por al menos 30 metros en cada fragmento de bosque. De cada uno fueron seleccionadas 10 hojas sin daño aparente para los análisis genéticos. Estas muestras fueron congeladas a -80 °C hasta la extracción de ADN. La extracción de ADN se realizó a partir de 100 mg de material fresco utilizando el protocolo propuesto por Lefort y Douglas (1999). El ADN aislado se diluyó con agua desionizada a una concentración final de 20 ng/μl y se almacenó a -20 °C hasta su amplificación.

3.4 Amplificación de ADN

Las muestras se amplificaron para 11 loci de microsatélites nucleares, 8 desarrollados por Aldrich et al. (2002) (quru-GA-OM07, quru-GA-IC08, quru-GA-OC19, quru-GA-IF02, quru-GA-IF07, quru-GA-OE09, quru-GA-OI01 y quru-GA-IC06) y tres desarrollados por Steinkellner et al. (1997) (ssrQpZAG15, ssrQpZAG96 y ssrQpZAG110). La PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa) se realizó en un volumen de 6 μ l que contenía 3 μ l de taq Máster Mix (QIAGEN), 0.3 μ l de BSA, 0.3 μ l de cada primer (20 pM), 1.4 μ l de agua desionizada y 1 μ l del ADN a 20 ng/ μ l en un termociclador Applied Biosystems® Veriti® 96-Well Thermal Cycler. Las condiciones del ciclo térmico consistieron en un paso de desnaturalización a 94° C durante 4 min y después 40 ciclos a 94° C durante 30 s para la desnaturalización, 45 s de alineamiento a 52° C (IC08, OE09, OI01, IFO2, IF07, IC06, ZAG96, ZAG110) y 49° C (OC19, ZAG15, OMO7), y extensión a 72° C durante 60 s, con una extensión final a 72 °C durante 10 min. Los productos de PCR se combinaron con un GeneScan-500 LIZ de tamaño estándar y los análisis se realizaron con un secuenciador Avant ABI-PRISM 3100 (Applied Biosystems). Los fragmentos fueron analizados y registrados con el programa GeneMarker V2.6.4. (SoftGenetics LLC).

Para las secuencias de cloroplasto se usaron dos pares de primers (PsbmR-ycf6F y Trnc-ycf6R) (Deguilloux et al., 2003). La PCR se realizó en un volumen de 20 μ l que contenía 10 μ l de taq Máster Mix (QIAGEN), 1 μ l de BSA, 2 μ l de primer (20 pM), 4 μ l de agua desionizada y 3 μ l de ADN a una concentración de 20 ng/ μ l en un termociclador Applied Biosystems® Veriti® 96-Well Thermal Cycler. Las condiciones del ciclo térmico consistieron en una desnaturalización inicial a 94° C durante 5 min, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 94° por 60 s, 90 s a 65°

C (PsbmR-ycfgF) y 49° C (Trnc-ycfgR) de alineamiento y extensión a 72° C durante 90 s, con una extensión final a 72° durante 10 minutos. Los productos de PCR fueron enviados a MacroGenUSA para su secuenciación.

3.5 Análisis de datos

3.5.1 Diversidad Genética

Con el programa MICRO-CHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004) probamos la presencia de alelos nulos, abandono de alelos grandes y errores debido a la tartamudez en los datos de microsatélites con 102 simulaciones de arranque y un intervalo de confianza de 95%. Además, evaluamos el efecto de alelos nulos en la estimación de niveles de endogamia en poblaciones con el programa INest 2.0 (Chybicki y Burczyk 2009). Para cada población estimamos los siguientes parámetros de diversidad genética: número de alelos por locus (N_a), número efectivo de alelos por locus (N_e), heterocigosidad observada (H_o) y heterocigosidad esperada (H_E), los cuales fueron calculados con el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse 2012). Se realizaron regresiones lineales entre los parámetros de diversidad genética y el porcentaje de cobertura de bosque/huerto.

3.5.2 Estructura genética

Con el programa GenAlEx 6.5 (Peakall y Smouse 2012) realizamos un análisis de varianza molecular (AMOVA) (Hedrick, 2005) para dividir la variación genética entre y dentro de las poblaciones mediante la estimación de F_{ST} usando 999 permutaciones para el cálculo de su significancia. Para inferir la estructura genética de la población, se realizó un análisis de agrupamiento bayesiano en

Structure version 2.3.3 (Pritchard *et al.* 2000). Se completaron diez corridas por cada K (desde 1 hasta 10) con 50,000 iteraciones, luego de un período de burn-in de 30,000. Usamos el modelo de *admixture* y frecuencias alélicas correlacionadas; además, utilizamos la población de origen como información previa (*prior*) para facilitar el agrupamiento. El mejor valor de K se infirió por medio del valor de delta K en Structure Harvester 0.6.9 (Earl y Von Holdt 2012).

Las secuencias de cloroplasto fueron alineadas con el programa MEGA 7.24.2827 (Kumar *et al.*, 2016), los dos fragmentos de secuencias se unieron con el software MESQUITE version 3.61 (Maddison & Maddison, 2019) para después obtener los estimadores de diversidad (número de haplotipos, diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica) y estructura genética (Gst y Fst) mediante el programa DNAsp version 6.12.03 (Rozas *et al.*, 2017). La red de haplotipos se obtuvo con el programa POPArt version 1.7.2 (Leigh & Bryant, 2015), utilizando el algoritmo “Median-Joining Network” basado en el criterio de máxima parsimonia, el valor de Épsilon fue por defecto cero.

3.5.3 Conectividad entre poblaciones

Las tasas de migración recientes entre todas las poblaciones fueron estimadas utilizando el programa BayesAss 3.0.4 (Wilson y Rannala 2003). Este método permite desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg, pero asume un equilibrio de ligamiento y que las tasas de migración pueden ser asimétricas pero constantes durante dos o tres generaciones antes del muestreo. Se realizaron un total de 150,000,000 iteraciones de MCMC (descartando las primeras 10^5 como burn-in) y se recolectaron muestras cada 300 iteraciones. Los parámetros de mezcla de

MCMC de tasas de migración, frecuencias alélicas y coeficientes de consanguinidad se establecieron en 1.0, 0.4 y 1.0, respectivamente. Examinamos la convergencia y estabilidad del algoritmo de MCMC mediante la visualización de la gráfica de estimaciones de los parámetros posteriores utilizando el programa Tracer versión 1.6 (Rambaut et al. 2014).

4. Resultados

Los 11 loci de microsatélites fueron polimórficos. Micro-Checker no encontró evidencia de errores de genotipado en los microsatélites. Igualmente, el programa INest no mostró efecto de alelos nulos en la estimación de niveles de endogamia en las poblaciones ($Fis=0.285$). Nuestra alineación de las secuencias de cloroplasto de PsbmR-ycfgF y Trnc-ycfgR concatenadas fue de 1802 pb de largo.

4.1 Diversidad genética

El número promedio de alelos por locus (N_a) varió de 7.09 a 13.18 en las poblaciones, el número efectivo de alelos (N_e) promedio osciló de 4.75 a 7.86, la heterocigosidad observada (H_o) osciló de 0.51 a 0.65, y la heterosigocidad esperada (H_e) osciló de 0.76 a 0.85. El valor promedio del índice de fijación (F) fue de 0.28 (Tabla 2). Encontramos una correlación positiva entre el número promedio de alelos por locus, número promedio efectivo de alelos y hererocigosidad esperada con el porcentaje de bosque en cada sitio (Figura 2), mientras que no hubo correlación con la heterocigosidad observada ni con el índice de fijación.

En lo que respecta al ADN de cloroplasto, el número de haplotipos (H) varió de 1 a 4 en las poblaciones, la diversidad haplotípica (H_d) osciló de 0 a 1 y la

diversidad nucleotídica (Pi) de 0 a 0.00134 (Tabla 2). No encontramos correlación de estos parámetros con el porcentaje de cobertura de bosque.

Tabla 2. Parámetros de diversidad genética para 8 poblaciones de *Q. castanea* dentro de la franja aguacatera del estado de Michoacán usando 11 loci de microsatélites nucleares y 1802 pb del ADN de cloroplasto. Número promedio de alelos por locus (Na), número medio de alelos efectivos por locus (Ne), heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada no sesgada (He), índice de fijación (F), número de haplotipos (H), diversidad de haplotipos (Hd) y diversidad nucleotídica (Pi).

Población	Na	Ne	Ho	He	F	H	Hd	Pi
1. El Embrujo	12.364	6.777	0.558	0.825	0.325	1	0	0
2. Huitzicho	10.273	6.405	0.653	0.821	0.202	3	0.7	0.00089
3. Caramecuario	8.364	5.373	0.591	0.785	0.231	2	0.5	0.00028
4. La Yácata	12.455	7.859	0.615	0.855	0.283	1	0	0
5. Llanitos	13.182	7.402	0.627	0.843	0.258	2	0.5	0.00028
6. Las Joyas	7.091	4.750	0.560	0.762	0.271	3	1	0.00111
7. Tancítaro	12.364	6.391	0.552	0.813	0.331	4	0.9	0.00134
8. El Peral	10.455	6.333	0.509	0.808	0.378	2	0.67	0.00037
Total	10.818	6.411	0.583	0.814	0.285	8	0.7159	0.0008

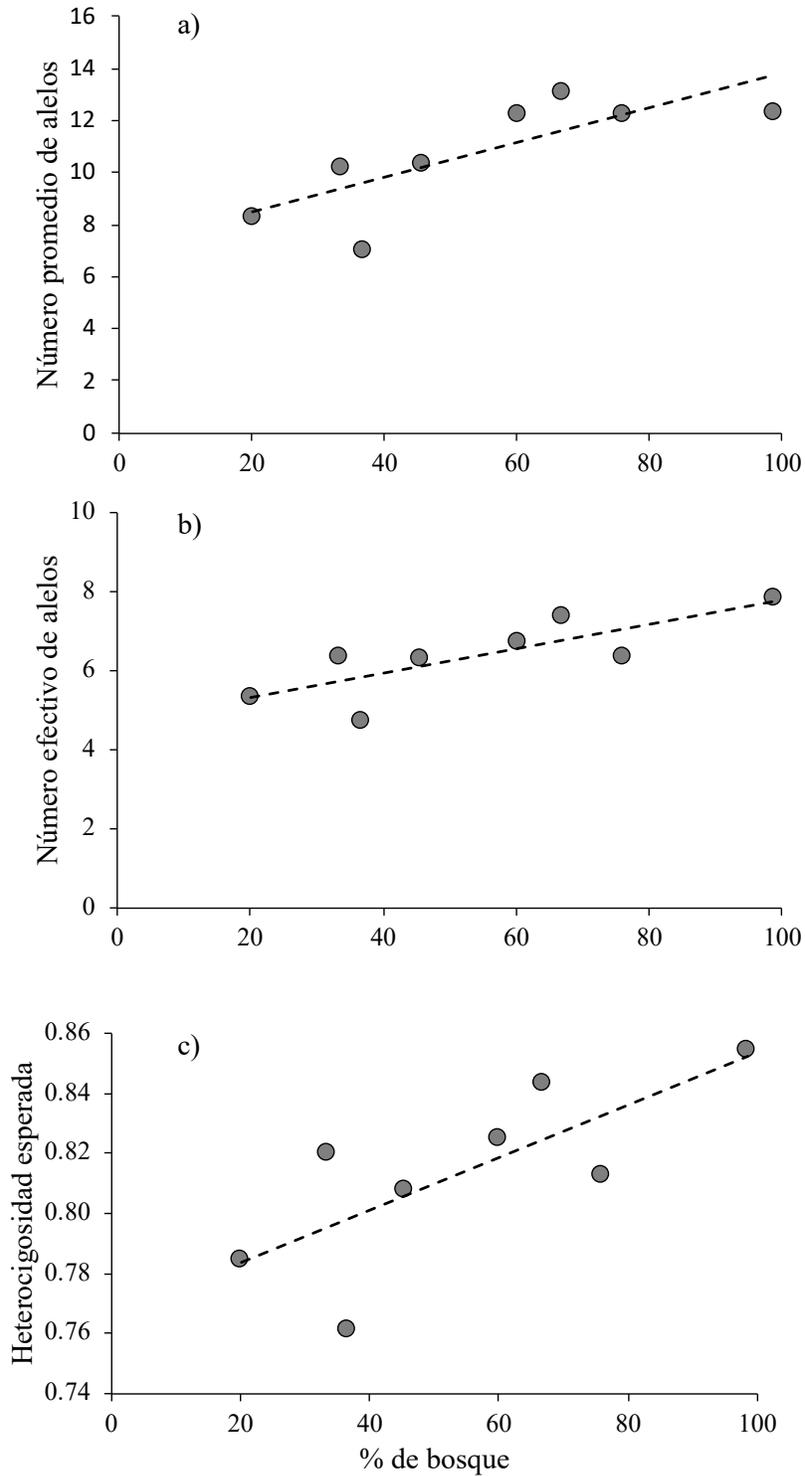


Figura 2. Correlación entre el número promedio de alelos por locus ($R^2=0.62$; $P=0.02$) (a), número promedio efectivo de alelos ($R^2=0.64$; $P=0.017$) (b) y

hererocigocidad esperada ($R^2=0.56$; $P=0.03$) (c) y el porcentaje de bosque de las poblaciones de *Q. castanea* presentes en la franja aguacatera del estado de Michoacán.

4.2 Estructura genética

El AMOVA mostró una baja estructura genética para los microsatélites nucleares ($F_{ST} = 0.048$, $P < 0.05$) (Tabla 3). El análisis en STRUCTURE indicó que el número más probable de grupos genéticos es $K=2$ (Figura 3). Los dos grupos genéticos se encuentran en todas las poblaciones; sin embargo, el grupo Este se encuentra en mayor proporción en Huitzicho (2), Llanitos (5) y la Yácata (4), mientras que el grupo Oeste se encontró en mayor proporción en Las Joyas (6), El Peral (8) y Tancítaro (7) (Figura 3).

Con las secuencias de cloroplasto se identificaron un total de 8 haplotipos (Figura 4a), siendo más abundante el haplotipo H1, con presencia en Las Joyas (6), El Peral (8), Huitzicho (2), Tancítaro (7), Caramécuaro (3) y El Embrujo (1) (Figura 4b). Tancítaro (7) fue la población con mayor número de haplotipos, con un total de 4 haplotipos, mientras que las poblaciones de El Embrujo (1) y La Yácata (4) solo presentaron un haplotipo (H1 y H5, respectivamente) (Figura 4b). Se encontró una alta diferenciación genética ($F_{st}= 0.319$ y $G_{st}= 0.316$) y un bajo número de migrantes por población para el ADN de cloroplasto ($Nm=0.54$).

Tabla 3. Componentes del análisis de varianza molecular (AMOVA) para las poblaciones de *Q. castanea* presentes en la franja aguacatera del estado de Michoacán mediante 11 microsatélites nucleares. * $P = 0.001$.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de la varianza
Entre poblaciones	7	67.55	0.12	3%*
Dentro de poblaciones	326	1511.74	4.64	97%
Total	333	1579.28	4.76	100%

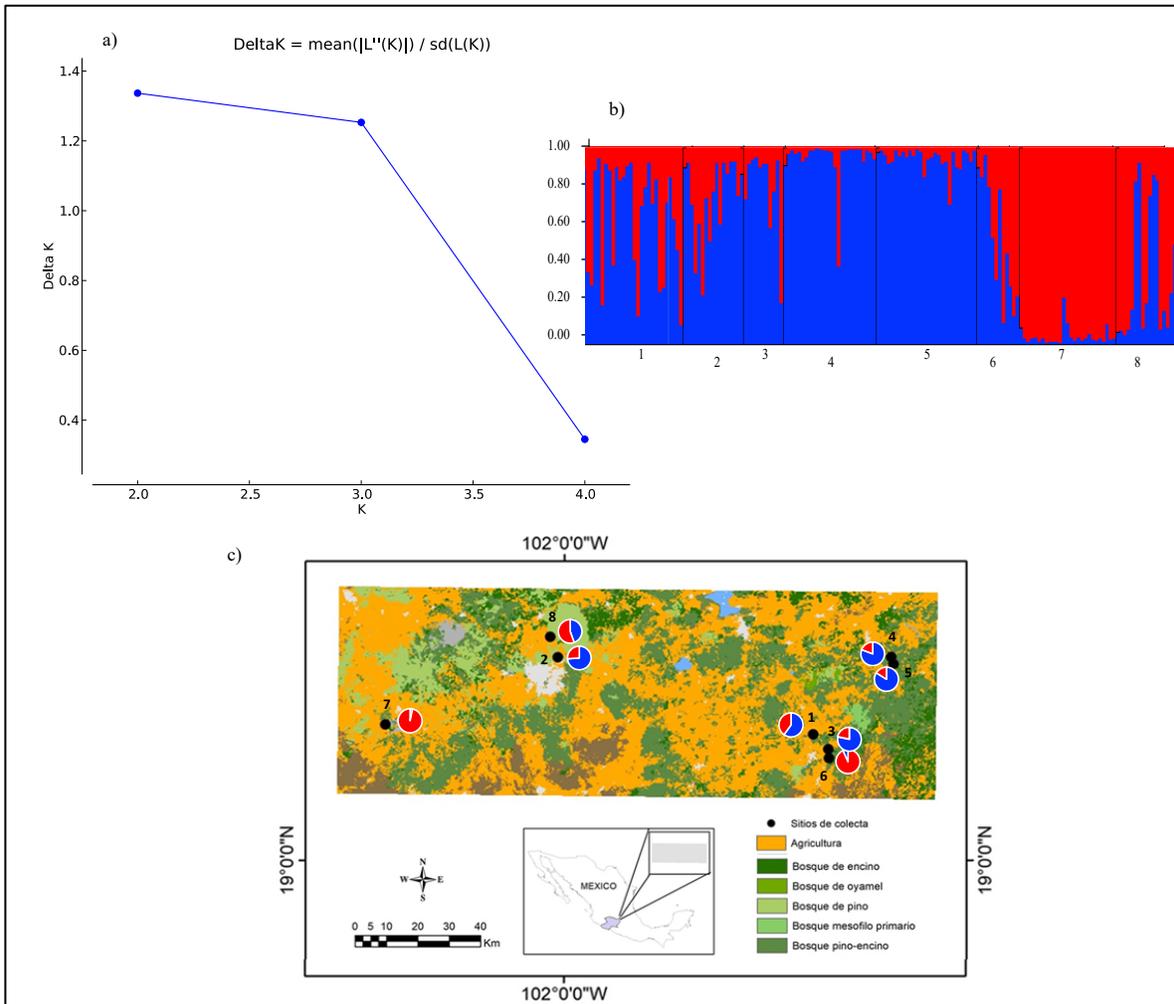


Figura 3 Resultados del análisis de asignación genética. a) Análisis Delta K de los resultados de STRUCTURE. b) Asignación genética de individuos y poblaciones según el método bayesiano implementado en el programa STRUCTURE, cada línea vertical representa un individuo y la proporción de cada color es la proporción de ascendencia derivada de cada uno de los grupos genéticos ($K = 2$) inferidos. Las poblaciones están separadas por líneas negras. c) Distribución de los grupos de proporciones de ascendencia genética correspondientes a *Q. castanea* dentro de la franja aguacatera del estado de Michoacán.

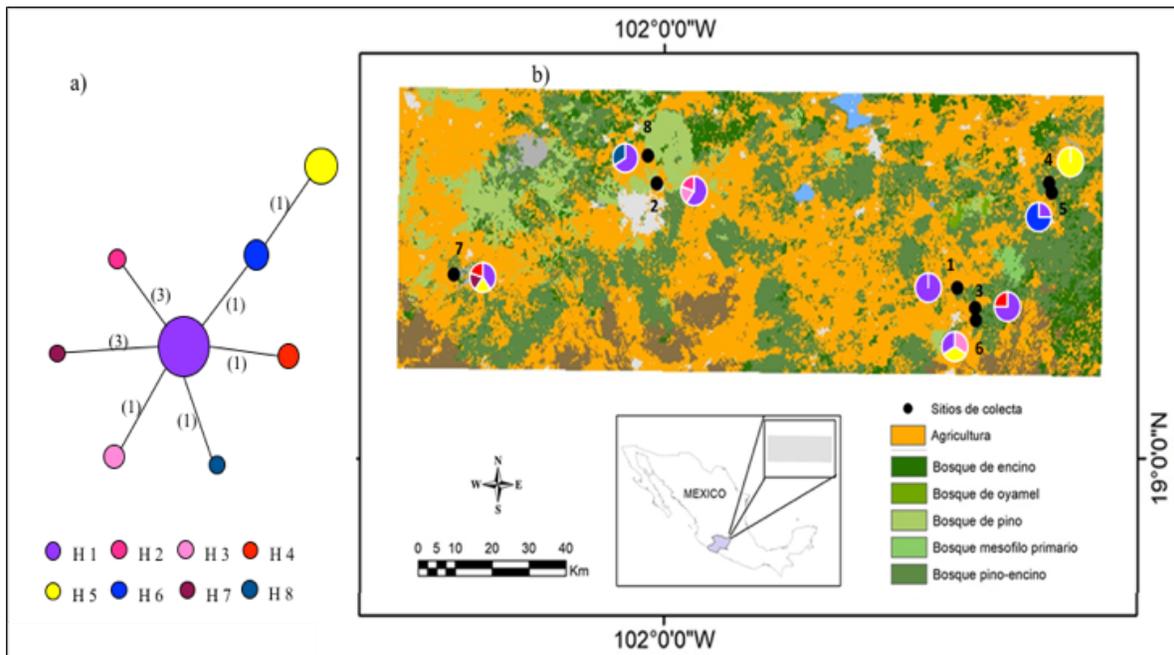


Figura 4 a) Red de haplotipos para los 8 haplotipos encontrados en 8 poblaciones de *Q. castanea* presentes en la franja aguacatera del estado de Michoacán. Cada círculo del color representa un haplotipo y el tamaño del círculo es proporcional a su frecuencia. b) Frecuencia de haplotipos en 8 poblaciones muestreadas de *Q. castanea* presentes en la franja aguacatera de el estado de Michoacán

4.3 Conectividad entre poblaciones

Los resultados de BayesAss indican que para el caso del flujo de genes de núcleo este se da mayoritariamente desde todas las poblaciones hacia El Embrujo (1), con excepción de la población de Tancítaro (7), la cual principalmente recibe flujo de genes de la población de El Peral (8). Las tasas de migración más altas van de 0.2 a 0.27 y son de las poblaciones de La Yácata (4), Llanitos (5) y Huitzicho (2) hacia el Embrujo (1) (Figura 5a).

Para el caso del flujo de genes de cloroplasto, las tasas de migración son mucho más bajas que para el caso de los genes nucleares (0.044 a 0.046) y van de El Peral (8), Huitzicho (2) y Caramécuaró (3) a El Embrujó (1), de Las Joyas a La Yacata (4) y de El Embrujó (1) a Caramécuaró (3). Llanitos (5) es la única población que no mostró conectividad con el resto de las poblaciones (Figura 5b).

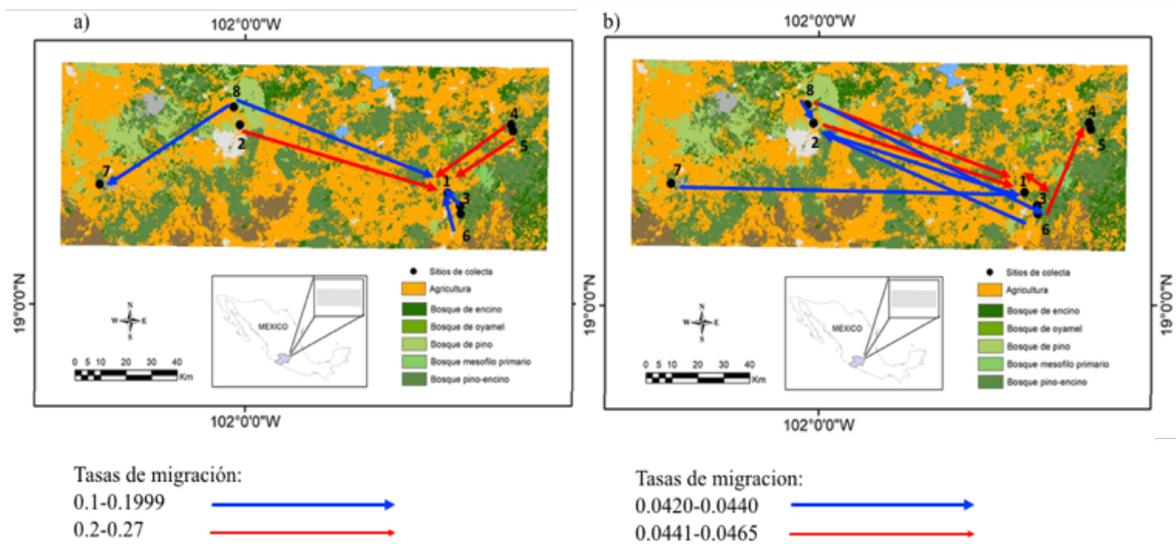


Figura 5 Tasas de migración recientes entre poblaciones de *Q. castanea* estimadas usando BayesAss. Las flechas indican la dirección del flujo de genes entre poblaciones. a) Tasas de migración por polen, las flechas azules representan valores de m de 0.1 a 0.1999 y las rojas representan valores mayores que 0.2. b) Tasas de migración por semillas, las flechas amarillas representan valores de m de 0.042 a 0.044 y las rojas representan valores mayores que 0.044.

5. Discusión

5.1 Diversidad genética

La pérdida de hábitat lleva a la pérdida de individuos o poblaciones enteras y, por lo tanto, a la pérdida de diversidad genética (Fahrig, 2003; Honnay & Jacquemyn, 2007; Sork & Smouse, 2006). En el presente estudio, analizamos la diversidad genética de *Q. castanea* en un paisaje de bosque fragmentado con diferentes proporciones de cobertura vegetal, utilizando nSSR y cpADN para evaluar los efectos de este proceso antropogénico. Encontramos altos niveles de diversidad genética nuclear (nSSR), coincidiendo con lo reportado en otros estudios realizados en esta misma especie (Herrera-Arroyo et al., 2013; Oyama et al., 2018; Peñaloza-Ramírez et al., 2020; Valencia-Cuevas et al., 2014).

En México, las especies de encino por lo general muestran mayores valores de diversidad genética que otras especies de Norte América y Europa (Aldrich & Cavender-Bares, 2011; Fernández-M. & Sork, 2005; Valbuena-Carabaña & Gil, 2017). Generalmente se atribuyen los valores altos de diversidad genética a la hibridación e introgresión, que es común en los encinos, así como al mantenimiento de grandes tamaños poblacionales por un largo tiempo. Además, se ha reportado que una alta densidad de individuos por unidad de área aumenta el tamaño efectivo de la población, lo cual es muy importante para el mantenimiento de la diversidad genética después de la fragmentación (Oyama et al., 2017, 2018).

Las poblaciones muestreadas se encuentran dentro de la franja aguacatera del estado de Michoacán, debido a ello, han sido fragmentadas desde hace más de 50 años, hasta la fecha. Sin embargo, *Q. castanea* es una especie polinizada por viento, por tal motivo, es probable que a pesar de que los bosques se encuentran

fragmentados, aún conserven conectividad, ya que en encinos se ha reportado flujo genético por polen de hasta 80 km (Buschbom et al., 2011). Esta puede ser una razón por la cual encontramos alta diversidad genética en los marcadores nucleares (González et al., 2020)

La disminución del tamaño poblacional y el aumento de aislamiento podría alterar la composición genética a través de la diferenciación y la endogamia (Fahrig, 2003; Young et al., 1996). Encontramos deficiencia de heterocigotos en todas las poblaciones, mostrando evidencia de endogamia ($F_{is}= 0.285$), que es el resultado del apareamiento entre individuos relacionados dentro de las poblaciones, lo que podría estar relacionado con la disminución del tamaño poblacional resultado de la fragmentación. Oyama et al. (2018) reportaron moderada evidencia de endogamia para tres especies de encino en el estado de Oaxaca, donde se han reportado altas tasas de deforestación, coincidiendo con nuestros resultados.

Además, encontramos una correlación positiva entre el número de alelos por locus (N_a), el número efectivo de alelos (N_e), la heterocigosidad esperada (H_e) y el porcentaje de cobertura de bosque, similar a lo reportado por Herrera-Arroyo et al. (2013) donde encontraron una correlación positiva entre tamaño del fragmento y la diversidad haplotípica en plántulas. Estos resultados muestran evidencia de que la reducción en el tamaño de los fragmentos de bosque causa una pérdida de diversidad genética en *Q. castanea*, lo cual puede afectar la supervivencia a largo plazo de las poblaciones, así como su capacidad de adaptarse a futuros cambios ambientales. Así, podemos darnos cuenta de que, aunque las poblaciones estudiadas presentaron altos niveles de diversidad genética, si hay una tendencia a su reducción en los fragmentos de bosque más pequeños.

Encontramos ocho haplotipos en el ADNcp. Este resultado es similar al encontrado en un bosque fragmentado de Francia, donde estudiaron el ADNcp en cuatro especies de encino reportando para *Q. robur*, *Q. petrea*, *Q. pubescens* y *Q. pyrenaica*, 11, 6, 6 y 3 haplotipos, respectivamente (Petit, Latouche-Hallé, et al., 2002). Contrario a lo encontrado en el núcleo, encontramos relativamente baja diversidad en el ADNcp ($Ht = 0.72$), aunque superior a la reportada en otras especies de encino de latitudes templadas (Lopez de Heredia et al., 2005) donde reportan valores de $Ht = 0.65$ para *Q. suber*, $Ht = 0.66$ para *Q. coccifera* y $Ht = 0.7$ para *Q. ilex*. En un estudio en Francia reportaron valores similares a los nuestros para Ht en el ADNcp en *Q. robur*, *Q. petrea*, *Q. pubescens* y *Q. pyrenaica* (Petit, Latouche-Hallé, et al., 2002). Sin embargo, a escala mayor se han reportado valores de $Ht \leq 0.8$ (Petit, Csaikl, et al., 2002). Las poblaciones de El Embrujo (1) y La Yácata (4) cuentan con proporción similar y mayor de bosque que de huerto, respectivamente y tuvieron una $Hd = 0$, por otro lado, Las Joyas (6) cuenta con menor cobertura de bosque y Tancítaro (7) con mayor cobertura de bosque y tuvieron $Hd = 1$ y 0.9 , respectivamente. Como se puede notar, nuestros resultados de Hd no muestran una tendencia relacionada al tamaño del bosque.

La diversidad nucleotídica encontrada en nuestras poblaciones es baja ($Pi = 0.0008$ en promedio) comparada con la reportada para *Q. serrata* ($Pi = 0.0055$ y 0.0059) y *Q. crispula* ($Pi = 0.0048$ y 0.0051) en el norte y sur de Japón (Onosato et al., 2021). El Embrujo (1) y La Yácata (4) presentaron una $Pi = 0$. Tancítaro (7) es la población con mayor diversidad nucleotídica ($Pi = 0.00134$), seguida por Las Joyas (6) ($Pi = 0.00111$), aunque sigue siendo baja. No encontramos influencia

detectable del porcentaje de cobertura de bosque y los parámetros de diversidad de ADNcp (H , H_d y P_i).

5.2 Estructura genética

Encontramos baja estructura genética con nSSR ($F_{st} = 0.048$), lo cual es normal en encinos debido a que su polinización es por viento (Craft & Ashley, 2007). Con el programa STRUCTURE encontramos dos grupos genéticos. El grupo genético azul predominó en los sitios de El Embrujo (1), Huitzicho (2), Caramécuaró (3), La Yácata (4) y Llanitos (5), y el grupo genético rojo se encontró en mayor predominancia en las poblaciones de Las Joyas (6), Tancítaro (7) y El Peral (8). El grupo genético rojo es predominante del sur-oeste y el azul más del norte-este de la franja aguacatera (Figura 2).

En la mayor parte de los estudios con encinos se ha reportado que el mayor porcentaje de variación genética nuclear se encuentra dentro de las poblaciones (González-Rodríguez et al., 2005; Mohammad-Panah et al., 2017; Rahmani et al., 2015). De acuerdo con estos estudios previos, encontramos que el mayor porcentaje de variación genética (97%) se encontró dentro de las poblaciones y el menor porcentaje entre las poblaciones (3%).

Por otra parte, encontramos estructura genética alta en el ADNcp ($F_{st} = 0.319$ y $G_{st} = 0.316$) lo que puede estar relacionado con el modo de dispersión de bellotas, que, al ser realizada por gravedad, pequeños roedores y algunas aves, tiende a ser baja. Sin embargo, a pesar de que encontramos alta estructura genética, los valores son inferiores comparados con los reportados para otras especies de encinos de Francia y Europa (König et al., 2002; Petit, Csaikl, et al., 2002a; Petit, Latouche-

Hallé, Pemonge, y Kremer, 2002c) que llegan a alcanzar valores de G_{st} de hasta 0.913. Además, al analizar la distribución de los haplotipos encontrados no se observa un patrón claro. El haplotipo más frecuente (morado) se encuentra presente en todas las poblaciones, excepto en La Yácata (4), la cual solo presenta un haplotipo (amarillo), que también se encuentra en Tancítaro (7) y La Joya (6). Estas poblaciones se encuentran alejadas geográficamente de La Yácata (4) y por lo tanto no está claro como es que comparten este haplotipo. Este patrón puede estar relacionado con la fragmentación del hábitat o con la conducta de los dispersores. En encinos es común encontrar esta estructura de los haplotipos en mosaico donde las poblaciones cercanas no comparten haplotipos (Cavender-Bares et al., 2011; Kremer & Hipp, 2020).

Nuestros resultados concuerdan con otros estudios donde se ha encontrado el mismo patrón, hallando mayor estructura en el genoma del cloroplasto que en el núcleo (Grivet et al., 2008; Mohammad-Panah et al., 2017; Valencia-Cuevas et al., 2014). Esto se debe principalmente a los mecanismos de herencia de ambos genomas, además de las diferencias en la eficiencia de dispersión de polen y semillas y el tamaño efectivo de la población (Grivet et al., 2008; Mohammad-Panah et al., 2017).

5.3 Conectividad entre poblaciones

El flujo de genes mantiene la conectividad dentro de especies, la cual, para poblaciones de plantas, es mantenida por el movimiento de polen y/o semillas (Sork & Smouse, 2006). En el caso de las poblaciones estudiadas, las tasas de flujo génico por polen (SSR_n) son altas (de 0.1 a 0.27) y hay una predominancia del flujo

génico hacia la población de El Embrujo (1), la cual combina ambos grupos genéticos. Por lo tanto, se podría decir que la población de El Embrujo (1) está jugando un papel muy importante como un punto de convergencia de flujo génico. Esto podría explicar los altos niveles de diversidad genética encontrados en el núcleo. Estos patrones de migración no están claros aún, ya que pueden deberse a cuestiones de dirección del viento, factores climáticos que pudieran afectar la fenología floral de las poblaciones, o a alteraciones antropogénicas como cambio de uso de suelo y fragmentación.

La migración por semillas (ADNcp) es relativamente baja pero superior a la reportada en otros estudios. Al igual que en el flujo de genes nuclear, el patrón para el ADNcp muestra una predominancia hacia la población de El Embrujo (1). La población 5 no presenta conectividad con ninguna de las demás poblaciones. Este patrón de flujo génico puede ser explicado debido a que las bellotas se mueven a distancias más cortas que otras semillas debido a su tamaño (Ducousso et al., 1993). La dispersión de las bellotas es generalmente por gravedad, pequeños roedores (ardillas, ratones de campo y tuzas) que mueven las bellotas solo unas cuantas decenas de metros, y algunas aves que tendrían el mayor alcance de dispersión de bellotas. La fragmentación puede limitar el flujo de semillas, así como la conducta de los dispersores (Arizaga et al., 2009; Pérez-López et al., 2013).

Implicaciones para la conservación de *Q. castanea*

De acuerdo con nuestros resultados, podemos concluir que encontramos evidencia de que la fragmentación de bosque afecta la diversidad genética nuclear. Además, nuestras poblaciones estudiadas tienen alta variación genética en el

núcleo y en el cloroplasto, presentando altos niveles de conectividad por polen entre las poblaciones, principalmente con la población de El Embrujo (1), y, una conectividad moderada mediada por el cloroplasto. Así, tomando en cuenta que la población 1 recibe flujo de todas las poblaciones, debería ser una de las principales poblaciones para conservación.

Agradecimientos: Al proyecto CONACyT/PDCPN2016/proyecto3053: “Impactos y consecuencias del desarrollo de la franja aguacatera sobre aspectos hidrológicos, funcionales, genéticos y de biodiversidad en ecosistemas templados de México” por el apoyo económico otorgado para la realización de este proyecto.

6. Bibliografía

Aguilar, R., Quesada, M., Ashworth, L., Herrerias-Diego, Y., y Lobo, J. (2008).

Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular ecology*, 17(24), 5177-5188.

Booy G, Hendriks RJJ, Smulders MJM, Van Groenendael JM, Vosman B (2000)

Genetic diversity and the survival of populations. *Plant Biology*, 2, 379–395.

Burel, F., y Baudry, J. (1999). *Écologie du paysage concepts, méthodes et applications*.

Brown S (2003) Finalizing avoided deforestation project baselines. Final report to

US Agency for International Development, Contract No. 523-C-00-02-00032-00

- Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria (CERDSSA). (2015). Situación actual del Sistema Producto Aguacate. Dirección de Estudios sobre Soberanía Alimentaria y Nueva Ruralidad. INV-010.
- Fahrig, L. (2003). Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 34(1), 487-515.
- Farwig, N., Böhning-Gaese, K., y Bleher, B. (2006). Enhanced seed dispersal of *Prunus africana* in fragmented and disturbed forests? *Oecologia*, 147(2), 238-252.
- Gutiérrez-Contreras, M., Lara-Chávez, M. B. N., GUILLÉN-ANDRADE, H., y Chávez-Bárceñas, A. T. (2010). Agroecología de la franja aguacatera en Michoacán, México. *Interciencia*, 35(9), 647-653.
- Griscom PH, Kalko EKV, Ashton MS (2007) Frugivory by small vertebrates within a deforested, dry tropical region of Central America. *Biotropica*, 39, 278–282.
- Hamrick JL (2004) Response of forest trees to global environmental changes. *Forest Ecology and Management*, 197, 323–335.
- Honnay, O., y Jacquemyn, H. (2007). Susceptibility of common and rare plant species to the genetic consequences of habitat fragmentation. *Conservation Biology*, 21(3), 823-831.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 2012. Centro de Investigación Regional Pacífico. Centro Campo Experimental Uruapan. 2012. Libro Técnico Núm. 13, ISBN: 978-607-425-825-7 5
- Maldonado-Lopez, Y., Cuevas-Reyes, P., González-Rodríguez, A., Perez-Lopez, G., Acosta-Gomez, C., y Oyama, K. (2015). Relationships among plant

- genetics, phytochemistry and herbivory patterns in *Quercus castanea* across a fragmented landscape. *Ecological research*, 30(1), 133-143.
- Mas, J. F., Lemoine-Rodríguez, R., González, R., López-Sánchez, J., Piña-Garduño, A., y Herrera-Flores, E. (2017). Evaluación de las tasas de deforestación en Michoacán a escala detallada mediante un método híbrido de clasificación de imágenes SPOT. *Madera y bosques*, 23(2), 119-131.
- Oyama, K., Herrera-Arroyo, M. L., Rocha-Ramírez, V., Benítez-Malvido, J., Ruiz-Sánchez, E., y González-Rodríguez, A. (2017). Gene flow interruption in a recently human-modified landscape: The value of isolated trees for the maintenance of genetic diversity in a Mexican endemic red oak. *Forest Ecology and Management*, 390, 27–35.
- Piotti A, 2009. The genetic consequences of habitat fragmentation: the case of forests. *iForest* 2: 75-76
- Sánchez, A. M., Delgado, P., González-Rodríguez, A., González, C., Rojas, A. F. G. T., y Lopez-Toledo, L. (2019). Spatio-temporal approach for identification of critical conservation areas: a case study with two pine species from a threatened temperate forest in Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 28(7), 1863-1883.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2008. Plan Rector Sistema Nacional Aguacate. Estadísticas. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. www.sagarpa.gob.mx
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2017a. *Planeación Agrícola Nacional 2017-2030: Aguacate*

Mexicano.

Available

online:

[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257067/Potencial-](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257067/Potencial-Aguacate.pdf)

[Aguacate.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257067/Potencial-Aguacate.pdf). Accessed abril 2020.

Sork, Victoria L., Smouse, Peter E. (2006). Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape Ecology*. 21(6) 821-836.

Tomas, L. V., y Anaya, J. A. Z. (2018). La Producción de Aguacate en el Estado de Michoacán y sus efectos en los índices de pobreza, el cambio del uso de suelo y la migración. *Revista Mexicana Sobre Desarrollo Local*.

Velázquez, A., Mas, J. F., Gallegos, J. D., Saucedo, R. M., Alcántara, P. C., Castro, R., ... y Palacio, J. L. (2002). Patrones y tasas de cambio de uso del suelo en México. *Gaceta ecológica*, (62), 21-37.

Wright S.J. and Duber H.C. 2001. Poachers and forest fragmentation alter seed dispersal, seed survival, and seedling recruitment in the palm *Attalea butyraceae*, with implications for tropical tree diversity. *Biotropica* 33: 583–595.

7. CAPÍTULO 2

CAMBIOS EN LA MORFOLOGÍA FOLIAR DE *Quercus castanea* A LO LARGO DE UN MOSAICO DE AGROSISTEMAS DE AGUACATE Y BOSQUE TEMPLADO: LA ASIMETRÍA FLUCTUANTE FOLIAR COMO BIOINDICADOR DE ESTRÉS AMBIENTAL

1. Resumen

Los ecosistemas forestales templados (EFT) comprenden bosques mixtos de coníferas, encinos y bosques mesófilos, ocupando el segundo lugar en extensión entre los tipos de vegetación de nuestro país. Una de las principales amenazas de los EFT es el cambio de uso de suelo a sistemas agroforestales como el establecimiento de huertos de aguacate. Los cambios morfológicos foliares son un indicador de la adecuación de las plantas asociado al estrés fisiológico y perturbación de hábitat. Similarmente, la asimetría fluctuante definida como las diferencias aleatorias entre dos lados de un carácter bilateral de un organismo, es un indicador para evaluar la inestabilidad del desarrollo resultante de estrés genético o ambiental. Nuestro objetivo fue evaluar los efectos del cambio de uso de suelo de EFT a huertos de aguacate en Michoacán, mediante los ajustes en la morfología foliar y asimetría fluctuante en individuos de *Quercus castanea* que ocurren en sitios con diferente proporción de cobertura vegetal de bosque nativo y huertos de aguacate. Seleccionamos 8 sitios con diferentes proporciones de cobertura de bosque y huerto (bosque>huerto, bosque<huerto y bosque=huerto). Se eligieron 15 individuos adultos de *Q. castanea* en cada sitio, seleccionamos 25 hojas al azar por individuo las cuales fueron digitalizadas para determinar los niveles de asimetría

fluctuante y morfometría geométrica foliar. Encontramos diferencias en los niveles de AF en los individuos de diferentes proporciones de cobertura entre bosque y huerto, siendo más asimétricas las que se encontraron en condiciones de bosque mayor a huerto, además, los encinos que se encontraban en los bordes de los fragmentos de bosque más pequeños que el huerto tuvieron hojas más asimétricas. Detectamos diferencias significativas en la morfología foliar entre sitios con diferentes proporciones de cobertura bosque/huerto, también se diferenciaron las hojas del borde de los fragmentos de bosque de las del interior. Nuestros resultados sugieren que la morfología de las hojas de *Quercus castanea* es influenciada por la variación local ambiental y el estrés ambiental presente en las diferentes proporciones de cobertura bosque-huerto.

Palabras clave: Morfología, fragmentación, encinos

2. Introducción

En México, la deforestación y el cambio de uso de suelo asociados al crecimiento de la población humana, la agricultura, la ganadería y la industria representan una de las principales amenazas para la biodiversidad (Mas et al., 2017), resultando en paisajes transformados con un aumento de la degradación y fragmentación de los ecosistemas terrestres (Castro-Navarro, Sahagún-Sánchez, y Reyes-Hernández, 2017). Por ejemplo, durante el periodo de 1990-2000 se reportaron tasas de conversión forestal a cultivos de 0.5% que equivalen a más de 354 000 ha/año (Mas et al., 2017). Además, a partir del año 2000, los bosques del

este, centro y sur del país fueron altamente fragmentados (Ramirez-Reyes, Sims, Potapov, y Radeloff, 2018).

En la actualidad, Michoacán es uno de los estados más amenazados en términos de degradación del hábitat y extinción de comunidades forestales debido al alto grado de fragmentación que presenta (Mas et al., 2017; Molina Sánchez et al., 2019). Esto se debe principalmente a la extracción ilegal de madera y al aumento excesivo de las plantaciones de aguacate, que representan el factor más crítico del cambio de uso de suelo en la región (Brown, 2003; Molina Sánchez et al., 2019). Durante el periodo de 2004-2007 se perdió un total de 11,156 ha de bosque templado en el estado y en el periodo de 2007 a 2014 un total de 8,443 ha (Mas et al., 2017). Particularmente, se ha reportado una pérdida total de 106,094 ha de bosque de encino en la meseta purépecha del estado de Michoacán en el periodo 1986-2016, observándose un aumento constante en la superficie cubierta por huertos de aguacate y en el número de parches de bosque presentes en la zona, así como un mayor aislamiento entre ellos (Molina Sánchez et al., 2019). Esto puede traer una serie de consecuencias negativas sobre la estructura, composición y diversidad de los bosques. También se ven afectados diferentes grupos de plantas y animales como aves, mamíferos y reptiles, así como el ensamblaje de las comunidades de artrópodos y las interacciones ecológicas que existen entre los organismos, las cuales forman redes de interacciones complejas en esos sitios (Monterrubio-Rico, Charre-Medellín, y López-Ortiz, 2018; Otavo y Echeverría, 2017).

Por otra parte, resultado de la conversión de bosque, la fragmentación del hábitat tiene efectos importantes sobre un conjunto de variables climáticas como la

intensidad de luz, temperatura, velocidad del viento y humedad (Laurance, 2004; Tuff, Tuff, Davies y Kendi 2016), las cuales pueden representar agentes que generan estrés en las plantas y que afectan su desempeño (Tuff et al., 2016). El estrés en las plantas es generado por alteraciones en las condiciones ambientales, las cuales ocurren principalmente resultado de la perturbación de hábitats, lo que compromete su germinación, establecimiento y regeneración (Laurance et al., 2011). Los árboles tienden a presentar ajustes a las nuevas condiciones ambientales modificando diferentes atributos en sus hojas para responder a los nuevos ambientes (Kusi y Karsai, 2020; Viscosi, 2015). Por lo tanto, la disposición, forma, tamaño y anatomía de las hojas de las plantas difieren mucho dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentren (Bruschi, Grossoni, y Bussotti, 2003).

Se ha observado que existe relación entre la reducción del tamaño foliar con el aumento de temperatura, la incidencia de luz solar, la disminución de humedad y de nutrientes, que son características típicas de ambientes fragmentados (Borazan y Babaç, 2003; Cescatti y Zorer, 2003; Martínez-Munguía et al., 2015). Por esta razón, la forma de las hojas representa una excelente base para estudios ecológicos (Traiser, Klotz, Uhl, y Mosbrugger, 2005). Debido a que las hojas son altamente sensitivas, responden continuamente a diferentes condiciones ambientales, así como a ciclos fenológicos y ritmos de crecimiento (González-Rodríguez y Oyama, 2005; Nikolic, Krstic, Pajevic, y Orlovic, 2006).

Las perturbaciones genéticas o ambientales pueden generar desviaciones aleatorias de la simetría de organismos, alterando la estabilidad del desarrollo (Sandner, Zverev, y Kozlov, 2019), que es definida como la capacidad de un

organismo para producir un fenotipo predeterminado invariante en condiciones ambientales conocidas (Møller y Shykoff, 1999). Entonces, las desviaciones aleatorias de la simetría bilateral de organismos simétricos es conocida como la inestabilidad del desarrollo, ya que es un factor importante que altera las vías de desarrollo (Kusi y Karsai, 2020; Viscosi, 2015). Por lo tanto, los cambios morfológicos foliares son un indicador de la adecuación de las plantas asociado al estrés fisiológico y perturbación del hábitat (Cornelissen et al., 2003; Cuevas-Reyes et al., 2018; González-Rodríguez y Oyama, 2005; Toro Ibacache, Manriquez Soto, y Suazo Galdames, 2010). La asimetría fluctuante (AF), es el resultado de pequeñas irregularidades aleatorias en los procesos de desarrollo que ocurren incluso bajo condiciones genéticas y ambientales constantes (Cornelissen et al., 2003; Cuevas-Reyes et al., 2018) y es definida como las diferencias morfológicas aleatorias y no direccionales entre los lados derecho e izquierdo de un carácter bilateral de animales y plantas. La AF es un buen indicador de inestabilidad del desarrollo causado por estrés genético y ambiental (Cuevas-Reyes et al., 2018; Mendes, Boaventura, y Cornelissen, 2018).

Con base en lo anterior, determinamos los patrones de morfometría geométrica y AF en *Quercus castanea*, una especie de encino de amplia distribución en México que se encuentra presente en la franja aguacatera del estado de Michoacán a lo largo de una matriz de parches de bosque mezclados con huertos de aguacate. Nuestros objetivos fueron: i) Evaluar los efectos del cambio de uso de suelo de bosque a huertos de aguacate sobre la morfología foliar de *Q. castanea* bajo diferentes proporciones de cobertura de bosque/huerto, ii) Determinar las diferencias en la morfología foliar de *Q. castanea* entre árboles presentes en el

borde adyacente a huertos de aguacate y en el interior de los bosques, ii) Evaluar los niveles de AF foliar de *Q. castanea* bajo diferentes proporciones de cobertura bosque/huerto, y iv) Determinar las diferencias en los niveles de AF de *Q. castanea* presentes entre el borde adyacente a huertos de aguacate y en el interior de los bosques.

3. Metodología

3.1 Área de estudio

El presente trabajo se realizó en la franja aguacatera del estado de Michoacán, que se ubica entre los 18°45' y 20°06'N y entre los 101°47' y 103°13'O (Gutierrez-Contreras et al. 2010). Elegimos ocho fragmentos de bosque asociados a huertos de aguacate en los municipios de Tacámbaro, Acuitzio del Canje, Uruapan y Tancítaro, usando imágenes de satélite de mediana y alta resolución (Landsat, SPOT, Sentinel y Rapid Eye con los sensores TM 5, ETM+ OLI) para definir la ubicación y extensión de las principales coberturas de bosque y huertos de aguacate. Los ocho sitios elegidos representan un gradiente en la proporción de cobertura de bosque y huertos de aguacate (Tabla 1).

Tabla 1. Número y nombre de localidad, coordenadas geográficas, altitud y proporciones de cobertura bosque/huerto.

Población	Lat N	Lon W	Altitud (m)	Cobertura de bosque/ huerto (%)
1. El Embrujo	19.28122	-101.45448	2100	52/48
2. Huitzicho	19.45358	-102.01406	1834	36/64
3. Caramécuaro	19.24825	-101.42147	1700	37/63
4. La Yácata	19.45454	-101.28347	2351	74/26
5. Llanitos	19.43863	-101.27881	2168	84/16
6. Las Joyas	19.22778	-101.41986	1514	35/65
7. Tancítaro	19.30333	-102.39128	1794	77/23
8. El Peral	19.49914	-102.03044	2066	51/49

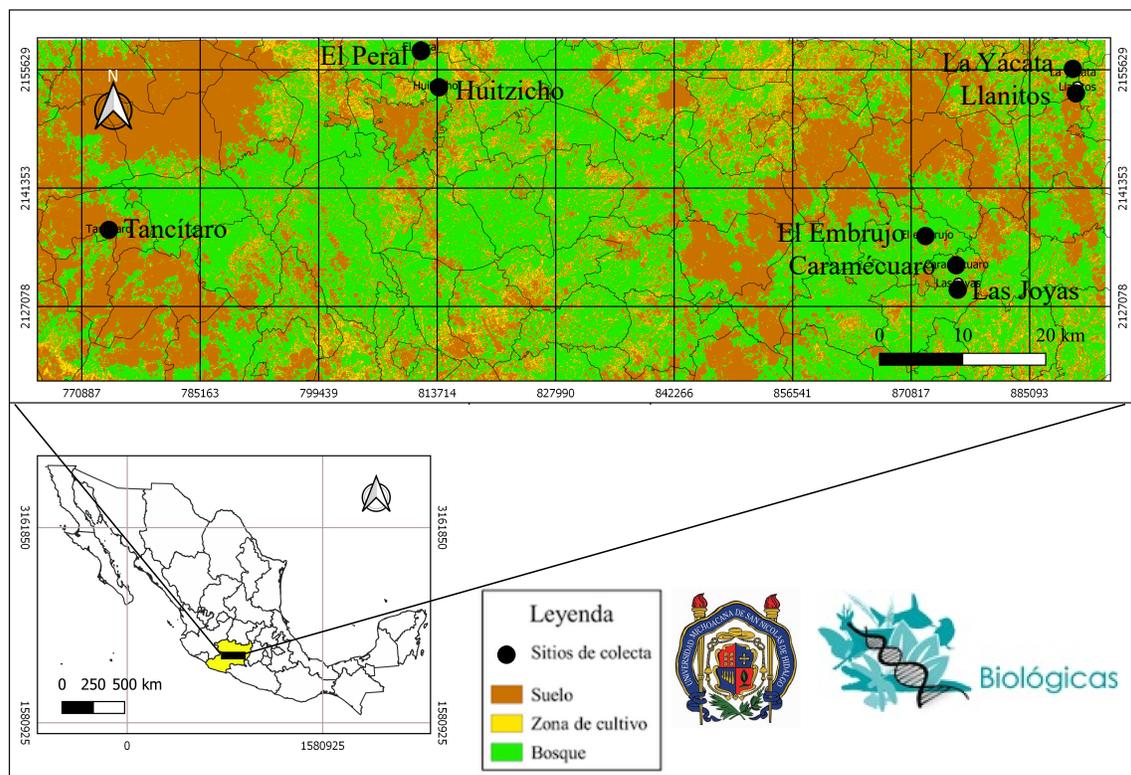


Figura 1 Ubicación de las 8 poblaciones de *Q. castanea* muestreadas, dentro de la franja aguacatera del estado de Michoacán.

3.2 Sistema de estudio

Quercus castanea Née. Es un encino rojo (sección *Lobatae*) que crece hasta 30 m de altura (excepcionalmente más de 50 m), con un perfil redondeado. Habita en altitudes entre los 1100 y los 2600 msnm, en laderas, matorrales semitropicales, bosques de encinos y bosques de pino-encino. Es una de las especies de encino rojo con mayor distribución en México, encontrándose en la sierra Madre Occidental, Meseta Central, Sierra Volcánica Trans-Mexicana, Depresión del Balsas y Sierra Madre del Sur. También se encuentra en Guatemala y el Salvador (CONABIO 2009). Las hojas maduras son rígidas y coriáceas, principalmente oblanceoladas y oblongas-elípticas-lanceoladas con margen plano y ligeramente revoluto, con dientes en el tercio distal de la cuchilla, la superficie superior es dura, lustrosa, verde grisáceo, y la superficie inferior poco gris-tomentosa o amarillosa. *Q. castanea* es monoica, produce amentos masculinos separados y pequeñas flores femeninas, y es de cruzamiento obligado, polinizado por el viento.

3.3 Muestreo

En cada uno de los ocho sitios de estudio que representan diferentes coberturas de bosque-huerto de aguacate: bosque > huerto, bosque = huerto y bosque < huerto), seleccionamos 15 árboles adultos de *Q. castanea* en el interior del bosque y 15 individuos adultos en borde del bosque adyacente al huerto de aguacate. Cada árbol fue marcado y se colectaron 3 ramas aleatoriamente de cada estrato del dosel arbóreo (i.e. superior, medio e inferior). En cada individuo colectamos 30 hojas sin daño aparente por herbívoros y patógenos a lo largo de los

márgenes (Cuevas-Reyes et al., 2018) las cuales fueron prensadas y llevadas al laboratorio para ser procesadas.

3.4 Morfometría geométrica foliar

Cada una de las hojas colectadas en todos los individuos marcados, fue escaneada a una resolución de 300 ppp con un escáner Epson. En cada imagen se colocaron 32 marcas anatómicas y dos marcas adicionales como referencia para el tamaño (Figura 2). Todos los puntos de referencia corresponden a sitios homólogos, los cuales son marcas inequívocas y repetibles en todas las hojas, representando su forma (Cuevas-Reyes et al. 2011a). Usamos el programa TpsDig (Rohlf, 2015) para registrar las coordenadas (X, Y) de los 32 puntos de referencia en cada imagen. Con el programa CoordGen6, mediante un análisis de superposición de Procrustes obtuvimos la configuración de las coordenadas de cada punto de referencia, en el paquete integrado de morfometría. Consideramos la configuración promedio de todas las hojas como referencia y luego calculamos las variables de forma (Distancias Procrustes) basados en las coordenadas de superposición para eliminar el efecto del tamaño de la hoja (Cuevas-Reyes 2011a). Por último, aplicamos un análisis canónico de varianza para determinar la variación en la morfología de las hojas entre las tres proporciones de cobertura considerando la configuración de todas las hojas. El área foliar se obtuvo con ayuda del programa ImageJ 1.53a y se realizaron ANOVAS con el Programa Jmp 9, donde la variable de respuesta fue el área foliar y las variables explicativas fueron la proporción de cobertura de bosque/huerto.

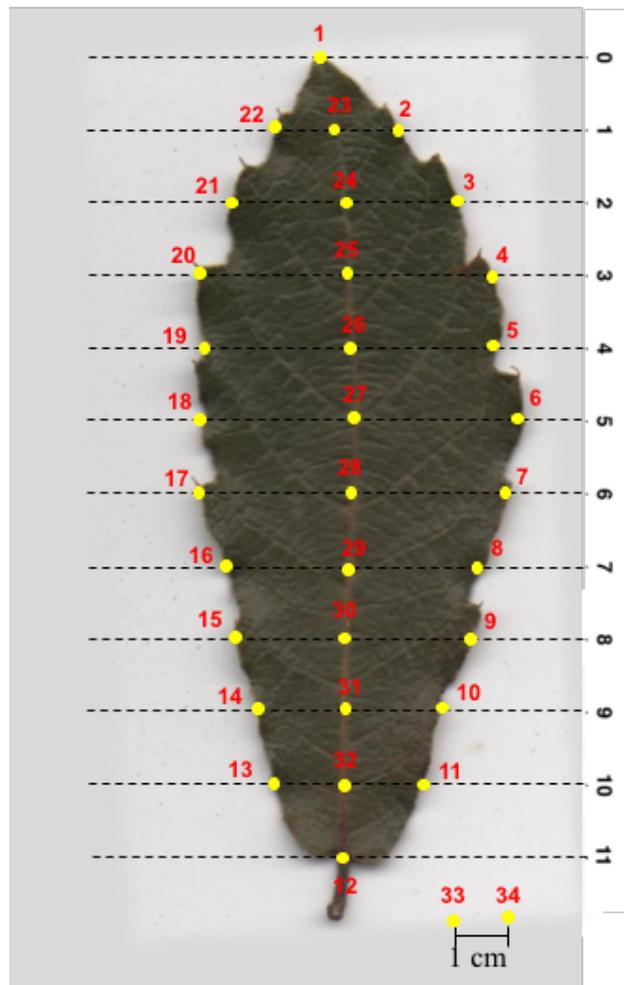


Figura 2 Imagen digital de una hoja *Q. castanea* que muestra la disposición de las 32 marcas anatómicas colocadas, así como los dos puntos de referencia para el tamaño (33 y 34).

3.5 *Asimetría fluctuante foliar*

De las hojas colectadas y previamente escaneadas para los análisis de morfometría geométrica, se calculó la asimetría fluctuante usando el Programa ImageJ 1.53a. En cada hoja, se midió la distancia desde la nervadura central en el punto medio correspondiente a la parte más ancha de la hoja hasta el borde derecho e izquierdo de la hoja (Figura 3). La asimetría fluctuante se calculó como el valor

absoluto de las diferencias entre las distancias de la vena media a la derecha e izquierda del margen de la hoja ($|A_i - B_i|$), dividido por la distancia media ($(A_i + B_i) / 2$), para corregir el hecho de que la asimetría puede ser dependiente del tamaño. Se realizaron análisis de varianza (ANOVAS), donde las diferentes condiciones (Bosque > Huerto, Bosque = Huerto, Bosque < Huerto) son los factores de variación y la variable dependiente es la asimetría fluctuante.

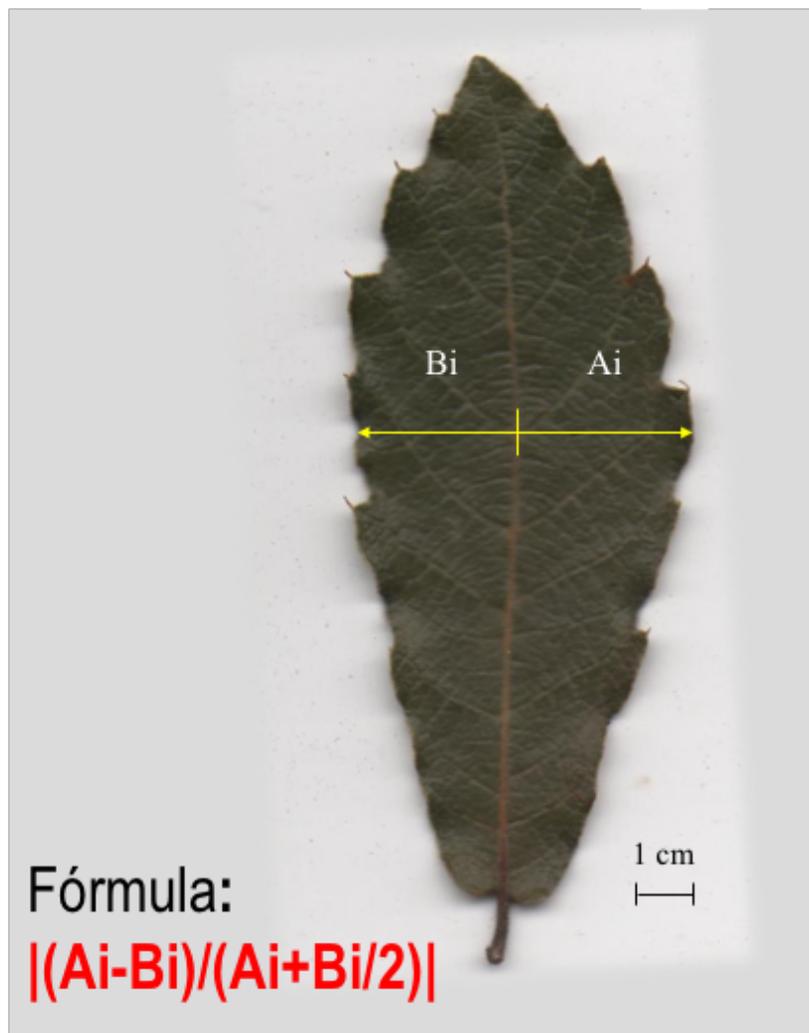


Figura 3 Imagen digital de una hoja de *Q. castanea* que muestra las mediciones de asimetría fluctuante del Lado derecho (A_i) y lado izquierdo (B_i) de la hoja.

4 Resultados

4.1 Morfometría geométrica foliar

De acuerdo a los análisis de morfometría geométrica, encontramos diferencias en la morfología foliar entre los individuos de *Q. castanea* de las diferentes proporciones de cobertura bosque/huerto (bosque > huerto, bosque = huerto y bosque < huerto). El análisis canónico de varianza distinguió tres grupos diferentes: individuos de bosque mayor a huerto, de bosque igual a huerto y de bosque menor a huerto. El CVA 1 explicó el 40 % de la varianza y CVA 2 el 21 % de la varianza (Eje 1: $\lambda = 0.906$; *g.l.* = 120; $P < 0.00001$. Eje 2: $\lambda = 0.959$; *g.l.* = 59; $P = 0.00004$) (Figura 5a). La variación de la forma de las hojas basada en la configuración promedio del análisis de superimposición de coordenadas mostró que las hojas de los individuos colectados en condiciones de bosque igual a huerto fueron más angostas y elongadas, mientras que las hojas de individuos que se encontraron en condiciones de huerto mayor a bosque fueron más anchas, encontrándose con formas intermedias los individuos de huerto mayor a bosque (Figura 5b).

También se encontraron diferencias significativas en la morfología foliar de individuos de *Q. castanea* entre el borde y el interior de los fragmentos de bosque (Figura 6a) (Eje 1 $\lambda = 0.9390$ $x^2 = 194.6$; *g.l.* = 60 $P = 0.00004$), teniendo los individuos del interior del bosque hojas más angostas de la base y más anchas del ápice en comparación con los individuos del borde del bosque (Figura 6b)

Con respecto a tamaño de las hojas, se encontró que los encinos que estuvieron presentes en condiciones de menor proporción de bosque y mayor de

huerto tuvieron hojas de mayor tamaño que individuos en condiciones de bosque igual a huerto y bosque mayor que huerto (Figura 7).

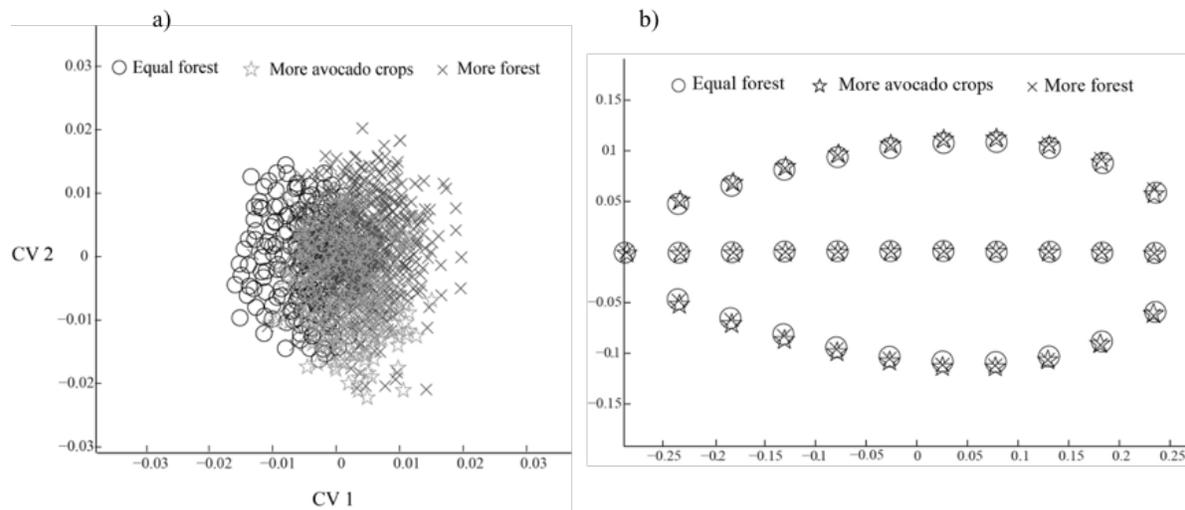


Figura 5: a) Diferencias en la morfología foliar de *Quercus castanea* en sitios con diferentes proporciones de cobertura bosque-huerto según el análisis canónico de varianza. b) Variación morfológica foliar de *Q. castanea*, diferencias morfológicas entre las tres proporciones de cobertura bosque-huerto, en la figura se muestra el promedio de las coordenadas dibujando la forma de la hoja.

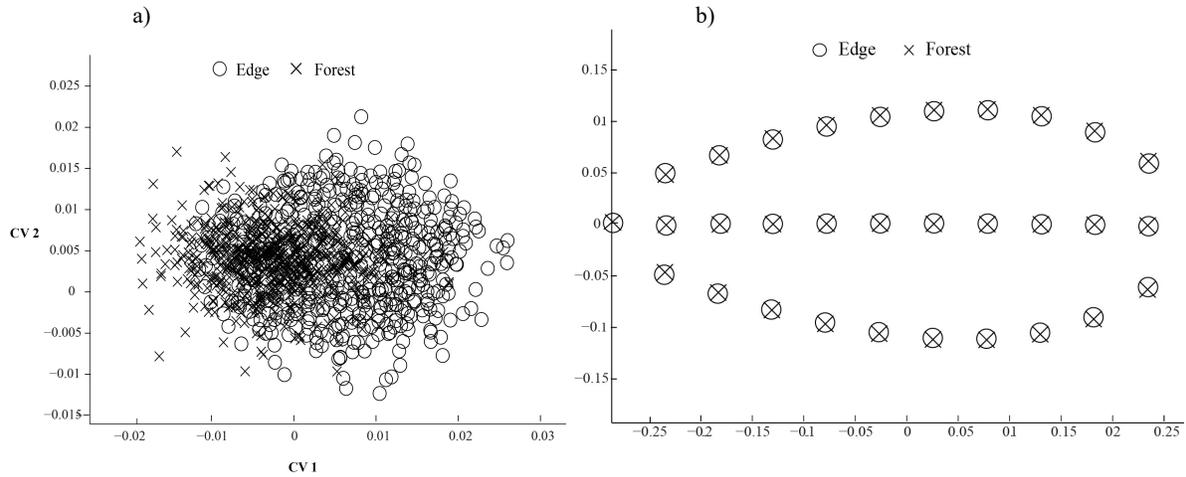


Figura 6 Diferencias en la morfología de la hoja de *Q. castanea* entre el borde y el interior de los fragmentos de bosque.

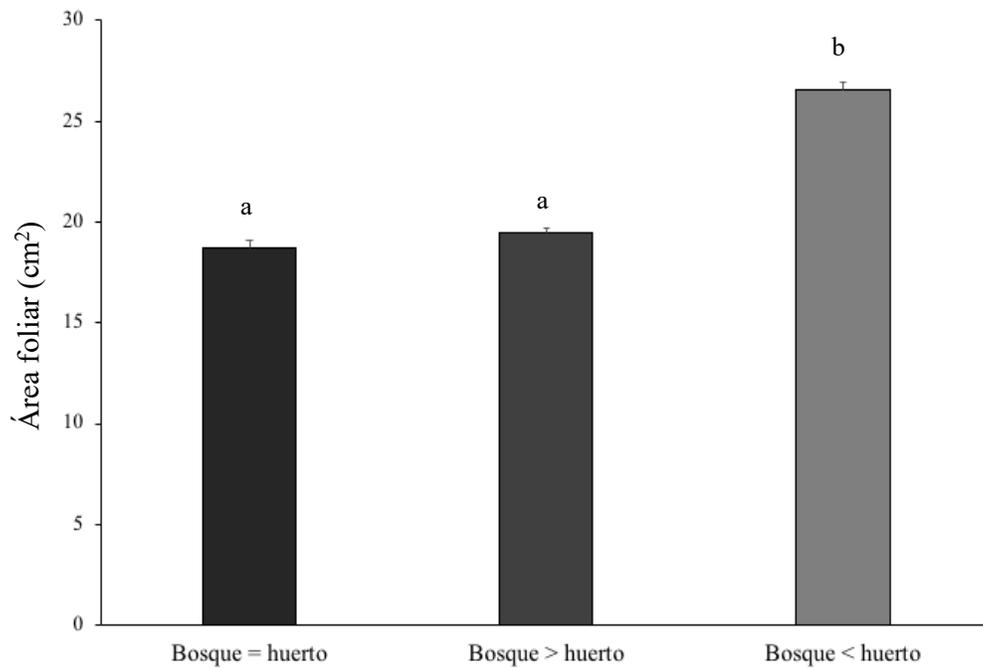


Figura 7 Tamaño promedio de hojas de *Q. castanea* por las diferentes proporciones de cobertura de bosque. $F=119.9$; $g.l=2$; $P < 0.0001$. Letras diferentes indican medias significativamente diferentes de acuerdo a la prueba Tukey-Kramer ($P < 0.05$)

4.2 Asimetría Fluctuante foliar

Se encontraron diferencias significativas en los niveles de asimetría fluctuante entre las diferentes condiciones de bosque (Bosque > Huerto, Bosque = Huerto, Bosque < Huerto) ($F = 34.1$, g.l. = 2, $P < 0.0001$), donde las hojas de los individuos de *Q. castanea* que se encontraron en condiciones de bosque > huerto tuvieron mayores niveles de asimetría fluctuante (Figura 4). Al comparar los encinos que se encontraron en condiciones de borde e interior del bosque también se encontraron diferencias significativas ($F = 10.9$, g.l.= 1, $P = 0.001$), teniendo hojas más asimétricas los individuos que se encontraron en el interior del bosque para Bosque>Huerto. Por el contrario, en condiciones de Bosque<Huerto, se encontraron mayores niveles de asimetría fluctuante en individuos que se encontraron en los bordes del fragmento de bosque (Figura 4). La interacción entre proporción de cobertura (bosque>huerto, bosque=huerto y bosque<huerto) y transecto (borde e interior) fue significativa (Proporción*Condición: $F = 6.5$; g.l.= 2; $P = 0.001$).

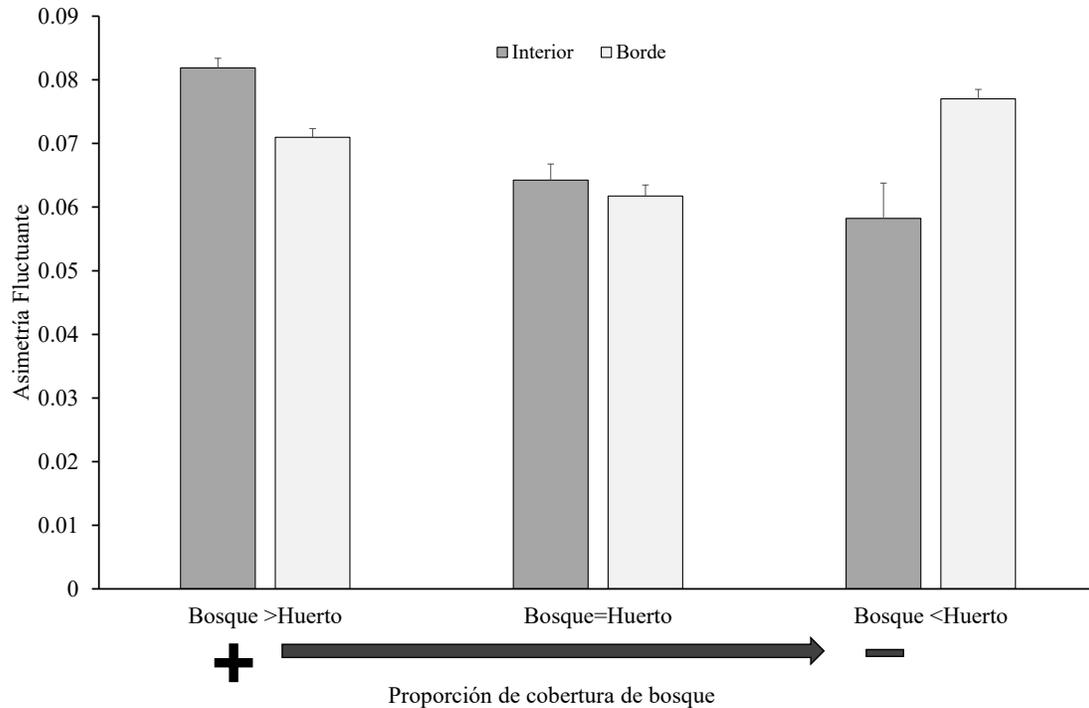


Figura 4: Asimetría fluctuante en *Q. castanea*, bajo tres diferentes proporciones de cobertura bosque/ huerto

5 Discusión

5.1 Morfometría geométrica foliar

Al realizar la comparación entre las diferentes proporciones de cobertura de bosque y huerto de aguacate, nuestros análisis exhiben diferencias en la morfología geométrica foliar entre los individuos de *Q. castanea*. De igual manera, al comparar el borde y el interior de cada fragmento de bosque encontramos diferencias en la morfología. De acuerdo con nuestros resultados, se ha comprobado que la variación ambiental puede causar diferenciación entre poblaciones de plantas debido a los ajustes morfológicos y fisiológicos que presentan para responder a las nuevas condiciones ambientales (Aguilar-Peralta et al., 2020; Cuevas-Reyes et al., 2018; González-Rodríguez y Oyama, 2005; Kusi y Karsai, 2020; Lara-De La Cruz, García-

Oliva, Oyama, y González-Rodríguez, 2020; Viscosi, 2015) que sugieren la presencia de plasticidad fenotípica (González-Rodríguez y Oyama, 2005). Así, podemos encontrar diferencias en la anatomía de las hojas de plantas, de acuerdo a la habilidad de los individuos para tolerar el estrés ambiental (Bruschi et al., 2003). Se sabe que las condiciones ambientales en hábitats fragmentados cambian, aumentando la temperatura y la incidencia de luz solar, y disminuyendo la disponibilidad de agua y nutrientes (Borazan y Babaç, 2003; Cescatti y Zorer, 2003). Estas alteraciones en las condiciones ambientales pueden ser las responsables de las diferencias en la morfología foliar de nuestra especie de estudio. Se ha reportado que la precipitación y la temperatura están directamente relacionadas con el tamaño foliar debido a las demandas de evapotranspiración de las especies (Kusi y Karsai, 2020; Ramírez-Valiente, López, Hipp, y Aranda, 2020).

Generalmente, se ha observado que existe una relación entre la reducción del tamaño foliar con el aumento de temperatura, incidencia de luz solar, disminución de humedad y nutrientes (Martínez-Munguía et al., 2015). En nuestro sitio de estudio, bajo las condiciones de fragmentación de bosque se esperaría encontrar hojas de menor tamaño en los fragmentos de bosque mas pequeños debido a que se encuentran expuestas a mayor incidencia de luz y por lo tanto aumenta la temperatura y disminuye la humedad (Uribe-Salas, Sáenz-Romero, González-Rodríguez, Téllez-Valdéz, y Oyama, 2008). Sin embargo, contrario a lo esperado, las hojas de mayor tamaño se encontraron en los fragmentos más pequeños de bosque. Los huertos de aguacate son fertilizados constantemente para obtener una mejor producción y cuentan con sistemas de riego para mantener las condiciones de humedad requeridas para el desarrollo del cultivo (Rengifo-

Mejía, Mora-Gaviria, Estrada-Mesa, Londoño-Zuluaga, y Guzmán-Muñoz, 2019). Esto podría ocasionar que los encinos que se encuentran en fragmentos de bosque más pequeños que los huertos alcancen a recibir un poco de esos nutrientes agregados para los aguacates, de igual manera, los sistemas de riego pueden aumentar la humedad relativa en el ambiente de los fragmentos de bosque adyacentes a los huertos de aguacate. Por lo tanto, el aumento en la incidencia de luz en fragmentos de bosque más pequeños podría estar asociado con una alta tasa fotosintética y por ende, una mayor absorción de nutrientes, crecimiento rápido y producción de hojas grandes (Aguilar-Peralta et al., 2020; Lohbeck et al., 2015). En este estudio, no medimos las variables ambientales en nuestros sitios de colecta por lo cual se sugiere realizar mediciones de temperatura y humedad relativa, así como de nutrientes del suelo en cada sitio para estudios futuros y así poder explicar mejor las diferencias en morfología foliar encontradas.

5.2 Asimetría fluctuante foliar

La asimetría fluctuante es ampliamente utilizada como una medida de los efectos de estrés genético y ambiental en los organismos así como de su calidad individual (Cuevas-Reyes et al., 2018; Klingenberg, 2019; Mendes et al., 2018). Bajo condiciones de degradación del hábitat debido al cambio de uso de suelo y fragmentación, esperaríamos encontrar mayores niveles de asimetría fluctuante en las hojas que se encuentren en bosque < huerto. Contrario a lo esperado, encontramos mayores niveles de asimetría fluctuante en las hojas de los individuos que se encontraron en condiciones de bosque > huerto.

Esto puede deberse a que los recursos disponibles (i.e. nutrientes del suelo, agua, luz) en bosques maduros pueden ser limitados o menores que en condiciones de bosque < huerto generando estrés abiótico y aumentando la inestabilidad del desarrollo, expresada en mayores niveles de AF (Møller y Shykoff, 1999). Algunos estudios han demostrado que las propiedades del suelo, la disponibilidad de agua y nutrientes y la heterogeneidad ambiental generan altos valores de AF en plantas (Cuevas-Reyes et al., 2018; Mendes et al., 2018; Telhado, Silveira, Fernandes, y Cornelissen, 2017; Tucić, Budečević, Manitašević Jovanović, Vuleta, y Klingenberg, 2018), por lo tanto, estas características podrían ser las responsables de estos valores de AF en los fragmentos de bosque más grandes.

Al comparar las hojas del borde y del interior del bosque entre las diferentes proporciones de cobertura de bosque/huerto encontramos mayores niveles de AF en individuos que se encontraron en los bordes de fragmentos de bosque < huerto, lo que sugiere que las condiciones climáticas presentes en los bordes como mayor incidencia de luz, aumento de temperatura, disminución de humedad (Arroyo-Rodríguez, Saldaña-Vázquez, Fahrig, y Santos, 2016; Reinmann y Hutyra, 2017; Silva, Mehlreter, y Schmitt, 2018) estaría dando lugar a estos valores más altos de AF. Estos resultados nos muestran el efecto del cambio de uso de suelo de bosque a huertos de aguacate, principalmente en los fragmentos de bosque más pequeños que los huertos. Si bien, encontramos mayores niveles de AF en los bosques más grandes que los huertos, podemos notar que hay un aumento de AF en el borde de los fragmentos de bosque más pequeños en comparación con los otros tamaños de bosque, de acuerdo a una de nuestras hipótesis. Esto puede deberse a que los fragmentos más pequeños de bosque experimentan con mayor intensidad los

efectos de borde como aumento de la luz, la temperatura, el viento y la desecación (Cheptou, Hargreaves, Bonte, y Jacquemyn, 2017; Laurance, 2004; Tuff et al., 2016).

En conclusión, nuestro estudio muestra cambios en los rasgos morfológicos de las hojas de *Q. castanae* a lo largo del mosaico bosques templados y huertos de aguacate. Detectamos diferencias en la morfología foliar y asimetría fluctuante entre sitios de diferente cobertura entre bosque y huerto de aguacate. El patrón general mostró niveles más altos de AF en sitios de mayor cobertura de bosque y en el borde de los fragmentos. Nuestros hallazgos ilustran los efectos del cambio de uso de suelo de bosque a huertos de aguacate y la complejidad de los factores abióticos y bióticos involucrados que afectan las respuestas fisiológicas y morfológicas de los encinos.

Agradecimientos

CONACyT/PDCPN2016/proyecto3053: “Impactos y consecuencias del desarrollo de la franja aguacatera sobre aspectos hidrológicos, funcionales, genéticos y de biodiversidad en ecosistemas templados de México”

6 Bibliografía

Aguilar-Peralta, Joan Sebastian, González-Rodríguez, Antonio, Maldonado-López, Yurixhi, Fagundes, Marcílio, Faria, Maurício L., Ávila-Cabadilla, Luis Daniel, ... Cuevas-Reyes, Pablo. (2020). Contrasting patterns of morphology, fluctuating asymmetry and leaf herbivory in three plant species of different successional stages of a tropical dry forest. *Trees - Structure and Function*, 34(4), 1075–

1086. doi:10.1007/s00468-020-01982-z

Alvarez-Añorve, Mariana Y., Quesada, Mauricio, Arturo Sánchez-Azofeifa, G., Avila-Cabadilla, Luis Daniel, y Gamon, John A. (2012). Functional regeneration and spectral reflectance of trees during succession in a highly diverse tropical dry forest ecosystem. *American Journal of Botany*, 99(5), 816–826. doi:10.3732/ajb.1100200

Arroyo-Rodríguez, Víctor, Saldaña-Vázquez, Romeo A., Fahrig, Lenore, y Santos, Bráulio A. (2016). Does forest fragmentation cause an increase in forest temperature? *Ecological Research*, 32(1), 81–88. doi:10.1007/s11284-016-1411-6

Borazan, Aydin, y Babaç, Mehmet T. (2003). Morphometric leaf variation in oaks (*Quercus*) of Bolu , Turkey. *Annales Botanici Fennici*, 40, 233–242.

Brown, S. (2003). Finalizing Avoided-Deforestation Project Baselines. *Final Report for the US Agency for International Development*, 55.

Bruschi, Piero, Grossoni, Paolo, y Bussotti, Filippo. (2003). Within- and among-tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. natural populations. *Trees - Structure and Function*, 17(2), 164–172. doi:10.1007/s00468-002-0218-y

Castro-Navarro, Jaime, Sahagún-Sánchez, Francisco Javier, y Reyes-Hernández, Humberto. (2017). Fragmentation dynamics in the Sierra Madre Oriental and its impact on the distribution of birds. *Madera y Bosques*, 23(2), 99–117. doi:10.21829/myb.2017.2321429

Cescatti, Alessandro, y Zorer, R. (2003). Structural acclimation and radiation regime of silver fir (*Abies alba* Mill.) shoots along a light gradient. *Plant, Cell and*

Environment, 26(3), 429–442. doi:10.1046/j.1365-3040.2003.00974.x

Cheptou, Pierre Olivier, Hargreaves, Anna L., Bonte, Dries, y Jacquemyn, Hans.

(2017). Adaptation to fragmentation: Evolutionary dynamics driven by human influences. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1712), 1–10. doi:10.1098/rstb.2016.0037

Cornelissen, Johannes H. C., Lavorel, S., Garnier, Eric, Díaz, Sandra, Buchmann,

N., Gurvich, D. E., ... Poorter, H. (2003). A Handbook of protocols for standardised and easy measurement of functional trait worldwide. *Australian Journal of Botany*, 51, 335–380.

Cuevas-Reyes, Pablo, Canché-Delgado, Armando, Maldonado-López, Yurixhi,

Fernandes, G. Wilson, Oyama, Ken, y González-Rodríguez, Antonio. (2018). Patterns of herbivory and leaf morphology in two Mexican hybrid oak complexes: Importance of fluctuating asymmetry as indicator of environmental stress in hybrid plants. *Ecological Indicators*, 90, 164–170. doi:10.1016/j.ecolind.2018.03.009

González-Rodríguez, Antonio, y Oyama, Ken. (2005). Leaf morphometric variation

in *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing Mexican red oaks. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147(4), 427–435. doi:10.1111/j.1095-8339.2004.00394.x

Klingenberg, Christian Peter. (2019). Phenotypic plasticity, developmental instability,

and robustness: The concepts and how they are connected. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7(56). doi:10.3389/fevo.2019.00056

Kusi, Joseph, y Karsai, Istvan. (2020). Plastic leaf morphology in three species of

Quercus: The more exposed leaves are smaller, more lobated and denser. *Plant*

Species Biology, 35(1), 24–37. doi:10.1111/1442-1984.12253

Lara-De La Cruz, Libny Ingrid, García-Oliva, Felipe, Oyama, Ken, y González-Rodríguez, Antonio. (2020). Association of functional trait variation of *Quercus castanea* with temperature and water availability gradients at the landscape level. *Botanical Sciences*, 98(1), 16–27. doi:10.17129/BOTSCI.2449

Laurance, William F. (2004). Forest-climate interactions in fragmented tropical landscapes. En *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (Vol. 359, pp. 345–352). doi:10.1098/rstb.2003.1430

Laurance, William F., Camargo, José L., Luizão, Regina C. C., Laurance, Susan G., Pimm, Stuart L., Bruna, Emilio M., ... Lovejoy, Thomas E. (2011). The fate of Amazonian forest fragments: A 32-year investigation. *Biological Conservation*, 144(1), 56–67. doi:10.1016/j.biocon.2010.09.021

Lebrija-trejos, Edwin, Perez-garciaf, Eduardo A., Meavef, Jorge A., Poorter, Lourens, y Bongers, Frans. (2011). Environmental changes during secondary succession in a tropical dry forest in Mexico Author (s): Edwin Lebrija-Trejos , Eduardo A . Pérez-García , Jorge A . Meave , Lourens Poorter and Frans Bongers Source : Journal of Tropical Ecology , SEPTEMBER 2011 , 27(5), 477–489. doi:10.1017/S02

Lohbeck, Madelon, Lebrija-Trejos, Edwin, Martínez-Ramos, Miguel, Meave, Jorge A., Poorter, Lourens, y Bongers, Frans. (2015). Functional trait strategies of trees in dry and wet tropical forests are similar but differ in their consequences for succession. *PLoS ONE*, 10(4), 1–15. doi:10.1371/journal.pone.0123741

Martínez-Munguía, Anantli, Ortiz-Ceballos, Gustavo C., Rebolledo-Camacho, Virginia, Andrade-Torres, Antonio, Iglesias-Andreu, Lourdes G., y Octavio-

- Aguilar, Pablo. (2015). Efecto de la fragmentación en la morfometría foliar y el ambiente de *Quercus germana* Schldl. & Cham. (Fagaceae) en Xalapa, Veracruz. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 21(3), 267–280. doi:10.5154/r.rchscfa.2015.01.001
- Mas, Jean François, Lemoine-Rodríguez, Richard, González, Rafael, López-Sánchez, Jairo, Piña-Garduño, Andrés, y Herrera-Flores, Evelyn. (2017). Evaluación de las tasas de deforestación en Michoacán a escala detallada mediante un método híbrido de clasificación de imágenes SPOT. *Madera y Bosques*, 23(2), 119–131. doi:10.21829/myb.2017.2321472
- Mendes, Gisele, Boaventura, Maria Gabriela, y Cornelissen, Tatiana G. (2018). Fluctuating Asymmetry as a Bioindicator of Environmental Stress Caused by Pollution in a Pioneer Plant Species. *Environmental Entomology*, 20(10), 1479–1484. doi:10.1093/ee/nvy147
- Molina Sánchez, Agustín, Delgado, Patricia, González-Rodríguez, Antonio, González, Clementina, Gómez-Tagle Rojas, A. Francisco, y Lopez-Toledo, Leonel. (2019). Spatio-temporal approach for identification of critical conservation areas: a case study with two pine species from a threatened temperate forest in Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 28, 1863–1883. doi:10.1007/s10531-019-01767-y
- Møller, Anders Pape, y Shykoff, Jacqui A. (1999). Morphological Developmental Stability in Plants: Patterns and Causes. *International Journal of Plant Sciences*, 160(56), S135–S146.
- Monterrubio-Rico, Tiberio C., Charre-Medellín, Juan F., y López-Ortiz, Eduardo I. (2018). Wild Felids in Temperate Forest Remnants in An Avocado Plantation

- Landscape in Michoacán, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 63(2), 137–142. doi:10.1894/0038-4909-63-2-137
- Nikolic, Natasa, Krstic, Borivoj, Pajevic, Slobodanka, y Orlovic, Sasa. (2006). Variability of leaf characteristics in different pedunculate oak genotypes (*Quercus robur* L). *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke Matica Srpska Journal for Natural Sciences*, (111), 95–105. doi:10.2298/zmspn0611095n
- Otavo, Samuel, y Echeverría, Cristian. (2017). Fragmentación progresiva y pérdida de hábitat de bosques naturales en uno de los hotspot mundiales de biodiversidad. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(4), 924–935. doi:10.1016/j.rmb.2017.10.041
- Puerta-Piñero, Carolina, Gómez, José María, y Hódar, José A. (2008). Shade and herbivory induce fluctuating asymmetry in a Mediterranean oak. *International Journal of Plant Sciences*, 169(5), 631–635. doi:10.1086/533601
- Ramirez-Reyes, Carlos, Sims, Katharine R. E., Potapov, Peter, y Radeloff, Volker C. (2018). Payments for ecosystem services in Mexico reduce forest fragmentation. *Ecological Applications*, 28(8), 1982–1997. doi:10.1002/eap.1753
- Ramírez-Valiente, José Alberto, López, Rosana, Hipp, Andrew L., y Aranda, Ismael. (2020). Correlated evolution of morphology, gas exchange, growth rates and hydraulics as a response to precipitation and temperature regimes in oaks (*Quercus*). *New Phytologist*, 227(3), 794–809. doi:10.1111/nph.16320
- Reinmann, Andrew B., y Hutrya, Lucy R. (2017). Edge effects enhance carbon uptake and its vulnerability to climate change in temperate broadleaf forests. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of*

America, 114(1), 107–112. doi:10.1073/pnas.1612369114

Rengifo-Mejía, Pedro Andrés, Mora-Gaviria, Giovani Alfonso, Estrada-Mesa, Eliana María, Londoño-Zuluaga, José David, y Guzmán-Muñoz, Manuel Steven. (2019). *Conceptos de fertilización para el cultivo de aguacate*.

Sandner, Tobias M., Zverev, Vitali, y Kozlov, Mikhail V. (2019). Can the use of landmarks improve the suitability of fluctuating asymmetry in plant leaves as an indicator of stress? *Ecological Indicators*, 97, 457–465. doi:10.1016/j.ecolind.2018.10.038

Silva, Vinícius Leão, Mehlreter, Klaus, y Schmitt, Jairo Lizandro. (2018). Ferns as potential ecological indicators of edge effects in two types of Mexican forests. *Ecological Indicators*, 93(October 2017), 669–676. doi:10.1016/j.ecolind.2018.05.029

Telhado, Cristina, Silveira, Fernando A. O., Fernandes, G. Wilson, y Cornelissen, Tatiana G. (2017). Fluctuating asymmetry in leaves and flowers of sympatric species in a tropical montane environment. *Plant Species Biology*, 32(1), 3–12. doi:10.1111/1442-1984.12122

Toro Ibacache, María viviana, Manriquez Soto, Germán, y Suazo Galdames, Iván. (2010). Morfometría Geométrica y el Estudio de las Formas Biológicas: De la Morfología Descriptiva a la Morfología Cuantitativa. *International Journal of Morphology*, 28(4), 977–990. doi:10.4067/S0717-95022010000400001

Traiser, Christopher, Klotz, Stefan, Uhl, Dieter, y Mosbrugger, Volker. (2005). Environmental signals from leaves - A physiognomic analysis of European vegetation. *New Phytologist*, 166(2), 465–484. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01316.x

- Tucić, Branka, Budečević, Sanja, Manitašević Jovanović, Sanja, Vuleta, Ana, y Klingenberg, Christian Peter. (2018). Phenotypic plasticity in response to environmental heterogeneity contributes to fluctuating asymmetry in plants: first empirical evidence. *Journal of Evolutionary Biology*, 31, 197–210. doi:10.1111/jeb.13207
- Tuff, K. T., Tuff, T., y Davies, Kendi F. (2016). A framework for integrating thermal biology into fragmentation research. *Ecology Letters*, 19(4), 361–374. doi:10.1111/ele.12579
- Uribe-Salas, Dolores, Sáenz-Romero, Cuauhtémoc, González-Rodríguez, Antonio, Téllez-Valdéz, Oswaldo, y Oyama, Ken. (2008). Foliar morphological variation in the white oak *Quercus rugosa* Née (Fagaceae) along a latitudinal gradient in Mexico: Potential implications for management and conservation. *Forest Ecology and Management*, 256(12), 2121–2126. doi:10.1016/j.foreco.2008.08.002
- Viscosi, Vincenzo. (2015). Geometric morphometrics and leaf phenotypic plasticity: Assessing fluctuating asymmetry and allometry in European white oaks (*Quercus*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 179(2), 335–348. doi:10.1111/boj.12323

7. Conclusion general

Las poblaciones de *Q. castanea* estudiadas tienen alta diversidad y baja estructura genética. La mayor variación se encuentra dentro de las poblaciones. Pudimos detectar endogamia en las poblaciones. El flujo de genes por polen es alto mientras el flujo por semillas es bajo.

Nuestro estudio muestra cambios en los rasgos morfológicos de las hojas de *Q. castanae* a lo largo del mosaico bosques templados y huertos de aguacate. Detectamos diferencias en la morfología foliar y asimetría fluctuante entre sitios de diferente cobertura entre bosque y huerto de aguacate. El patrón general mostró niveles más altos de AF en sitios de mayor cobertura de bosque y en el borde de los fragmentos.

Nuestros hallazgos ilustran los efectos del cambio de uso de suelo de bosque a huertos de aguacate y la complejidad de los factores abióticos y bióticos involucrados que afectan las respuestas fisiológicas y morfológicas de los encinos.

8. Bibliografía

- Aguilar, R., Quesada, M., Ashworth, L., Herrerias-Diego, Y., & Lobo, J. (2008). Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: Susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology*, 17(24), 5177–5188. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03971.x>
- Aldrich, P. R., & Cavender-Bares, J. (2011). Quercus. En *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources* (pp. 89–129). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-21250-5>
- Arizaga, S., Martínez-Cruz, J., Salcedo-Cabrales, M., & Bello-González, M. A. (2009). *manual de la biodiversidad de encinos Michoacanos* (Primera ed; Instituto Nacional de Ecología, ed.).
- Booy, G., Hendriks, R. J. J., Smulders, M. J. M., Van Groenendael, J. M., & Vosman, B. (2000). Genetic diversity and the survival of populations. *Plant Biology*, 2(4), 379–395. <https://doi.org/10.1055/s-2000-5958>
- Broadhurst, L. (2015). Pollen Dispersal in Fragmented Populations of the Dioecious Wind-Pollinated Tree , *Allocasuarina verticillata* (Drooping Sheoak , Drooping She-Oak ; Allocasuarinaceae). *PLoS ONE*, 1–17. <https://doi.org/10.5061/dryad.td161.Funding>
- Brown, S. (2003). Finalizing Avoided-Deforestation Project Baselines. *Final Report for the US Agency for International Development*, 55.
- Bruschi, P., Grossoni, P., & Bussotti, F. (2003). Within- and among-tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. natural populations. *Trees -*

Structure and Function, 17(2), 164–172. <https://doi.org/10.1007/s00468-002-0218-y>

Burel, F., & Baudry, J. (1999). *Écologie du Paysage & Écologie végétale. Colloque ECOVEG, Université de Lorraine*, 36.

Castro-Navarro, J., Sahagún-Sánchez, F. J., & Reyes-Hernández, H. (2017). Fragmentation dynamics in the Sierra Madre Oriental and its impact on the distribution of birds. *Madera y Bosques*, 23(2), 99–117. <https://doi.org/10.21829/myb.2017.2321429>

Cavender-Bares, J., González-Rodríguez, A., Eaton, D. A. R., Hipp, A. A. L., Beulke, A., & Manos, P. S. (2015). Phylogeny and biogeography of the american live oaks (*Quercus* subsection *Virentes*): A genomic and population genetics approach. *Molecular Ecology*, 24(14), 3668–3687. <https://doi.org/10.1111/mec.13269>

Cescatti, A., & Zorer, R. (2003). Structural acclimation and radiation regime of silver fir (*Abies alba* Mill.) shoots along a light gradient. *Plant, Cell and Environment*, 26(3), 429–442. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.00974.x>

Challenger, A. (1998). *Utilización y Conservación de los Ecosistemas Terrestres de México. Pasado, Presente y Futuro. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Universidad Autónoma de México y Agrupación Sierra Madre, S.C., México, D.F.*

Chávez-León, G., Tapia Vargas, L. M., Bravo Espinoza, M., Sáenz Reyes, J. T., Muñoz Flores, H. J., Vidales Fernández, I., ... Mendoza Cantú, M. (2012). Impacto del cambio de uso de suelo forestal a huertos de aguacate. En

- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias* (Vol. 13). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Cuevas-Reyes, P., Gilberti, L., González-Rodríguez, A., & Fernandes, G. W. (2013). Patterns of herbivory and fluctuating asymmetry in *Solanum lycocarpum* St. Hill (Solanaceae) along an urban gradient in Brazil. *Ecological Indicators*, 24, 557–561. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.08.011>
- Denk, T., Grimm, G. W., Manos, P. S., Deng, M., & Hipp, A. (2017). An updated infrageneric classification of the oaks: Review of previous taxonomic schemes and synthesis of evolutionary patterns. *bioRxiv*, 13–38. <https://doi.org/10.1101/168146>
- Esperón-Rodríguez, M., & Barradas, V. L. (2014). Ecophysiological vulnerability to climate change: water stress responses in four tree species from the central mountain region of Veracruz, Mexico. *Regional Environmental Change*, 15(1), 93–108. <https://doi.org/10.1007/s10113-014-0624-x>
- Fahrig, L. (2003). Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34(1), 487–515. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419>
- Farwig, N., Böhning-Gaese, K., & Bleher, B. (2006). Enhanced seed dispersal of *Prunus africana* in fragmented and disturbed forests? *Oecologia*, 147(2), 238–252. <https://doi.org/10.1007/s00442-005-0288-9>
- Fernández-M., J. F., & Sork, V. L. (2005). Mating patterns of a subdivided population of the Andean oak (*Quercus humboldtii* Bonpl., Fagaceae). *Journal of Heredity*, 96(6), 635–643. <https://doi.org/10.1093/jhered/esi104>
- González-Rodríguez, A., & Oyama, K. (2005). Leaf morphometric variation in

- Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing Mexican red oaks. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147(4), 427–435.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2004.00394.x>
- Griscom, H. P., Kalko, E. K. V., & Ashton, M. S. (2007). Frugivory by small vertebrates within a deforested, dry tropical region of Central America. *Biotropica*, 39(2), 278–282. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2006.00242.x>
- Gutiérrez-Contreras, M., Lara-Chávez, M. B. N., Guillén-Andrade, H., & Chávez-Bárcenas, A. T. (2010). Agroecología de la franja aguacatera en Michoacán, México. *Interciencia*, 35(9).
- Haddad, N. M., Brudvig, L. A., Clobert, J., Davies, K. F., Gonzalez, A., Holt, R. D., ... Townshend, J. R. (2015). Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances*, 1, 1–9.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.1500052>
- Hamrick, J. L. (2004). Response of forest trees to global environmental changes. *Forest Ecology and Management*, 197(1), 323–335.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.05.023>
- Herrera-Arroyo, M. L., Sork, V. L., González-Rodríguez, A., Rocha-Ramírez, V., Vega, E., & Oyama, K. (2013). Seed-mediated connectivity among fragmented populations of *Quercus castanea* (Fagaceae) in a Mexican landscape. *American Journal of Botany*, 100(8), 1663–1671.
<https://doi.org/10.3732/ajb.1200396>
- Hipp, A. L., Manos, P. S., Hahn, M., Avishai, M., Bodénès, C., Cavender-Bares, J., ... Valencia-Avalos, S. (2019). Genomic landscape of the global oak phylogeny. *New Phytologist*, 226(4), 1–15. <https://doi.org/10.1111/nph.16162>

- Honnay, O., & Jacquemyn, H. (2007). Susceptibility of common and rare plant species to the genetic consequences of habitat fragmentation. *Conservation Biology*, 21(3), 823–831. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00646.x>
- Kappelle, M. (2006). 17 Changes in Diversity and Structure Along a Successional Gradient in a Costa Rican. *Ecological Studies*, 185, 223–233.
- Klooster, D., & Masera, O. (2000). Community forest management in Mexico: carbon mitigation and biodiversity conservation through rural development Daniel. *Global Environmental Change*, 10(4), 259–272.
- Kusi, J., & Karsai, I. (2020). Plastic leaf morphology in three species of *Quercus*: The more exposed leaves are smaller, more lobated and denser. *Plant Species Biology*, 35(1), 24–37. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12253>
- Lara-De La Cruz, L. I., García-Oliva, F., Oyama, K., & González-Rodríguez, A. (2020). Association of functional trait variation of *Quercus castanea* with temperature and water availability gradients at the landscape level. *Botanical Sciences*, 98(1), 16–27. <https://doi.org/10.17129/BOTSCI.2449>
- Laurance, W. F. (2004). Forest-climate interactions in fragmented tropical landscapes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 359(1443), 345–352. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1430>
- Lowe, A. J., Boshier, D., Ward, M., Bacles, C. F. E., & Navarro, C. (2005). Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity*, 95(4), 255–273. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800725>
- Maldonado-López, Y., Cuevas-Reyes, P., González-Rodríguez, A., Pérez-López, G., Acosta-Gómez, C., & Oyama, K. (2014). Relationships among plant

genetics, phytochemistry and herbivory patterns in *Quercus castanea* across a fragmented landscape. *Ecological Research*, 30(1), 133–143.

<https://doi.org/10.1007/s11284-014-1218-2>

Manos, P. S., Doyle, J. J., & Nixon, K. C. (1999). *Phylogeny, Biogeography, and Processes of Molecular Differentiation in Quercus Subgenus Quercus (Fagaceae)*. 12(3), 333–349.

Mas, J. F., Lemoine-Rodríguez, R., González, R., López-Sánchez, J., Piña-Garduño, A., & Herrera-Flores, E. (2017). Evaluación de las tasas de deforestación en Michoacán a escala detallada mediante un método híbrido de clasificación de imágenes SPOT. *Madera y Bosques*, 23(2), 119–131.

<https://doi.org/10.21829/myb.2017.2321472>

Matesanz, S., Teso, M. L. R., García-Fernández, A., & Escudero, A. (2017). Habitat fragmentation differentially affects genetic variation, phenotypic plasticity and survival in populations of a gypsum endemic. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00843>

McWilliams, W. H., Aelrich, C. A., Devlin, D. A., Lister, T. W., Sterner, S. L., & Westfall, J. A. (2002). Annual inventory report for Pennsylvania's forests results from the first three years. *USDA Forest Service*.

<https://doi.org/10.5962/bhl.title.70049>

Molina Sánchez, A., Delgado, P., González-Rodríguez, A., González, C., Gómez-Tagle Rojas, A. F., & Lopez-Toledo, L. (2019). Spatio-temporal approach for identification of critical conservation areas: a case study with two pine species from a threatened temperate forest in Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 28, 1863–1883. <https://doi.org/10.1007/s10531-019-01767-y>

- Møller, A. P., & Shykoff, J. A. (1999). Morphological Developmental Stability in Plants : Patterns and Causes. *International Journal of Plant Sciences*, 160(56), S135–S146.
- Monterrubio-Rico, T. C., Charre-Medellín, J. F., & López-Ortiz, E. I. (2018). Wild Felids in Temperate Forest Remnants in An Avocado Plantation Landscape in Michoacán, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 63(2), 137–142.
<https://doi.org/10.1894/0038-4909-63-2-137>
- Moreno-Sanchez, R., Torres-Rojo, J. M., Moreno-Sanchez, F., Hawkins, S., Little, J., & McPartland, S. (2012). National assessment of the fragmentation, accessibility and anthropogenic pressure on the forests in Mexico. *Journal of Forestry Research*, 23(4), 529–541. <https://doi.org/10.1007/s11676-012-0293-x>
- Nikolic, N., Krstic, B., Pajevic, S., & Orlovic, S. (2006). Variability of leaf characteristics in different pedunculate oak genotypes (*Quercus robur* L). *Zbornik Matice srpske za prirodne naukeMatica Srpska Journal for Natural Sciences*, (111), 95–105. <https://doi.org/10.2298/zmspn0611095n>
- Nixon, K. (1993). Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names. *Annals of Forest Science*, 50(1), 25s-34s.
- Nixon, K. C. (2008). An overview of *Quercus*: Clasification and Phyligenetics whit comments on diferences in wood anatomy. *The Proceedings of the 2nd National Oak Wilt Symposium*, 13–20.
- Otavo, S., & Echeverría, C. (2017). Fragmentación progresiva y pérdida de hábitat de bosques naturales en uno de los hotspot mundiales de biodiversidad. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(4), 924–935.

<https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.041>

Oyama, K., Herrera-Arroyo, M. L., Rocha-Ramírez, V., Benítez-Malvido, J., Ruiz-Sánchez, E., & González-Rodríguez, A. (2017). Gene flow interruption in a recently human-modified landscape: The value of isolated trees for the maintenance of genetic diversity in a Mexican endemic red oak. *Forest Ecology and Management*, 390, 27–35.

<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.01.018>

Oyama, K., Ramírez-Toro, W., Peñaloza-Ramírez, J. M., Pérez Pedraza, A. E., Torres-Miranda, C. A., Ruiz-Sánchez, E., & González-Rodríguez, A. (2018). High Genetic Diversity and Connectivity Among Populations of *Quercus candicans*, *Quercus crassifolia*, and *Quercus castanea* in a Heterogeneous Landscape in Mexico. *Tropical Conservation Science*, 11, 1–14.

<https://doi.org/10.1177/1940082918766195>

Piotti, A. (2009). The genetic consequences of habitat fragmentation: The case of forests. *IForest*, 2, 75–76. <https://doi.org/10.3832/ifor0496-002>

Ramirez-Reyes, C., Sims, K. R. E., Potapov, P., & Radeloff, V. C. (2018).

Payments for ecosystem services in Mexico reduce forest fragmentation.

Ecological Applications, 28(8), 1982–1997. <https://doi.org/10.1002/eap.1753>

Rzedowski, J. (1991). Diversidad y orígenes de la flor fanerogámica de México.

Acta Botánica Mexicana, 14(1), 3–21. <https://doi.org/10.1007/BF00489298>

Sandner, T. M., Zverev, V., & Kozlov, M. V. (2019). Can the use of landmarks improve the suitability of fluctuating asymmetry in plant leaves as an indicator of stress? *Ecological Indicators*, 97, 457–465.

<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.10.038>

- Sork, V. L., & Smouse, P. E. (2006). Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape Ecology*, 21(6), 821–836.
<https://doi.org/10.1007/s10980-005-5415-9>
- Toro Ibacache, M. viviana, Manriquez Soto, G., & Suazo Galdames, I. (2010). Morfometría Geométrica y el Estudio de las Formas Biológicas: De la Morfología Descriptiva a la Morfología Cuantitativa. *International Journal of Morphology*, 28(4), 977–990. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022010000400001>
- Traiser, C., Klotz, S., Uhl, D., & Mosbrugger, V. (2005). Environmental signals from leaves - A physiognomic analysis of European vegetation. *New Phytologist*, 166(2), 465–484. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01316.x>
- Tucić, B., Budečević, S., Manitašević Jovanović, S., Vuleta, A., & Klingenberg, C. P. (2018). Phenotypic plasticity in response to environmental heterogeneity contributes to fluctuating asymmetry in plants: first empirical evidence. *Journal of Evolutionary Biology*, 31, 197–210. <https://doi.org/10.1111/jeb.13207>
- Tuff, K. T., Tuff, T., & Davies, K. F. (2016). A framework for integrating thermal biology into fragmentation research. *Ecology Letters*, 19(4), 361–374.
<https://doi.org/10.1111/ele.12579>
- Valencia-A., S. (2004). Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 75, 33–53.
<https://doi.org/10.17129/botsoci.1692>
- Velázquez, A., Mas, J. F. ., Díaz Gallegos, J. R., Mayorga Saucedo, R. ., Alcántara, P. C., Castro, R., ... Palacio, J. L. (2002). Patrones y tasas de cambio de uso del suelo en México. *Gaceta Ecológica*, 62, 21–37.

- Villanueva Tomas, J. A., & Zepeda Anaya, J. A. (2018). La Producción de Aguacate en el Estado de Michoacán y sus efectos en los índices de pobreza , el cambio del uso de suelo y la migración. *Revista Mexicana Sobre Desarrollo Local*, 2, 1–12.
- Viscosi, V. (2015). Geometric morphometrics and leaf phenotypic plasticity: Assessing fluctuating asymmetry and allometry in European white oaks (*Quercus*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 179(2), 335–348. <https://doi.org/10.1111/boj.12323>
- Warren, C. R., Tausz, M., & Adams, M. A. (2005). Does rainfall explain variation in leaf morphology and physiology among populations of red ironbark (*Eucalyptus sideroxylon* subsp. *tricarpa*) grown in a common garden? *Tree Physiology*, 25(11), 1369–1378. <https://doi.org/10.1093/treephys/25.11.1369>
- Wright, I. J., Reich, P. B., Westoby, M., Ackerly, D. D., Baruch, Z., Bongers, F., ... Villar, R. (2004). The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428(6985), 821–827. <https://doi.org/10.1038/nature02403>
- Wright, S. J., & Duber, H. C. (2001). Poachers and forest fragmentation alter seed dispersal, seed survival, and seedling recruitment in the palm *Attalea butyraceae*, with implications for tropical tree diversity. *Biotropica*, 33(4), 583–595. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2001.tb00217.x>