



MORFOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO MEIÓTICO EN EL HÍBRIDO NATURAL *Quercus glabrescens* x *Q. rugosa* (FAGACEAE).

MEIOTIC MORPHOLOGY AND BEHAVIOR IN *Quercus glabrescens* x *Q. rugosa* (FAGACEAE) NATURAL HYBRID.

S. M. Nuñez-Castillo¹; J. G. Álvarez-Moctezuma¹;
F. Zavala-Chávez†¹; P. Espinosa-Robles²

¹División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. A.P. 57, MÉXICO. Correo-e: smnunezc@gmail.com, jogualmo@correo.chapingo.mx (*Autor responsable).

²Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO.

RESUMEN

Se estudió el híbrido putativo *Quercus glabrescens* Benth. x *Q. rugosa* Née., a través de un índice de hibridación morfológico y comportamiento meiótico. En 50 individuos (supuestos híbridos) se evaluaron 10 caracteres morfológicos de hoja y corteza. Para el comportamiento meiótico se colectaron inflorescencias y se aplicó la técnica de frotis. Se presentaron híbridos con tendencia a *Q. glabrescens* e híbridos intermedios. Se detectaron aberraciones cromosómicas en los híbridos como puentes, fragmentos y anillos cromosómicos en anafase I y II y telofase I, presentándose en una frecuencia cercana a uno en los híbridos intermedios.

Recibido: 13 de octubre, 2009
Aceptado: 14 de febrero, 2010
doi: 10.5154/r.rchscfa.2009.10.036
<http://www.chapingo.mx/revistas>

PALABRAS CLAVE: Hibridación natural, *Quercus glabrescens*, *Quercus rugosa*, índice de hibridación morfológico, comportamiento meiótico.

ABSTRACT

Quercus glabrescens Benth. x *Q. rugosa* Née. Putative hybrid was studied through a morphology hybridization index and meiotic behavior. Ten morphological characters of leaf and bark were evaluated in 50 individuals (supposed hybrid trees). Inflorescences were collected and the squash technique was applied to study meiotic behavior. Hybrid trees were detected with tendency to *Q. glabrescens* and intermediate hybrids. Chromosomal aberrations were detected in the hybrids, such as bridges, fragments and chromosomal rings in anaphase I and II and telophase I, appearing in a frequency close to one in the intermediate hybrids.

KEY WORDS: Natural hybridization, *Quercus glabrescens*, *Quercus rugosa*, morphology hybridization index, meiotic behavior.

INTRODUCCIÓN

Los encinos presentan una amplia distribución a escala mundial; en las zonas templadas hay alrededor de 500 especies (Nixon, 1993). En México se reconocen entre 135 y 150 especies, 86 de ellas endémicas (Valencia, 2004). Los géneros *Quercus* y *Pinus* cubren la mayor parte de áreas de clima templado y semihúmedo del país (Rzedowski, 1978).

Quercus glabrescens es una especie cuya distribución se restringe a las porciones húmedas y subhúmedas del Eje Volcánico Transversal, en el bosque mesófilo de montaña, bosque de *Pinus-Quercus* y bosque de *Abies-Quercus* (Zavala, 1995; Mejía-Domínguez *et al.*, 2004; Martínez, *et al.*, 2004). En tanto, *Q. rugosa* es una especie que, por su amplia distribución, habita diversos ambientes, y por lo tanto se asocia con mayor número de especies.

INTRODUCTION

The oaks present a wide distribution in the world; in the temperate zones there are approximately 500 species (Nixon, 1993). In Mexico between 135 and 150 species are recognized, 86 of which are endemic (Valencia, 2004). The genera *Quercus* and *Pinus* cover a large part of areas with temperate and semi-humid climate in the country (Rzedowski, 1978).

Quercus glabrescens is a species whose distribution is restricted to the humid and sub-humid portions of the Transversal Volcanic Axis, in the mesophylllic mountain forest, *Pinus-Quercus* forest and *Abies-Quercus* forest (Zavala, 1995; Mejía-Domínguez *et al.*, 2004; Martínez *et al.* (2004). On the other hand, *Q. rugosa* is a species which due to its wide distribution, is found in diverse environments, and therefore is associated with a greater number of species.

Puede encontrarse desde terrenos planos, laderas, cañadas y matorrales subtropicales hasta bosque mesófilo de montaña. Por otro lado, Zavala (1995) menciona que el bosque de *A. religiosa* y *Q. rugosa* está relacionado con la perturbación del bosque de *Abies*. De hecho, se ha reportado mayor frecuencia de hibridación en áreas perturbadas.

En contraposición, de acuerdo con la sistemática infragenérica de *Quercus* (Trealise, 1924), *Q. glabrescens* pertenece a la serie *Glabrescens* (serie ocho) y *Q. rugosa* a la serie *Reticulata* (serie 29). Lo anterior puede sugerir que se encuentran a gran distancia filogenética entre sí, evidenciando que existe una relación de parentesco taxonómico escaso. Sin embargo, las afinidades ecológicas y la coincidencia del periodo de floración pueden promover el cruzamiento entre especies, facilitando la presencia de hibridación en El Chico entre *Q. glabrescens* y *Q. rugosa*. Además, los encinos solo se hibridan entre especies del mismo subgénero (Palmer, 2000).

La hibridación natural es un evento habitual entre plantas y animales (Grant, 1989; Rieseberg, 1997), que se caracteriza por el cruzamiento entre distintos genotipos, mayormente identificado entre diferentes especies del mismo género separadas por aislamiento ecológico o reproductivo (Grant, 1989; Rieseberg y Carney, 1998). Al cruzarse, se originan nuevas combinaciones genéticas atribuidas a los efectos de las reestructuraciones cromosómicas manifestadas como mutaciones durante la meiosis (McClintock, 1942; Anderson, 1948; Rieseberg y Carney, 1998). El comportamiento meiótico ha sido utilizado exitosamente en la determinación de híbridos (Palmer *et al.*, 2000; Pires *et al.*, 2000). Para el género *Quercus* no se ha reportado ningún trabajo citogenético que manifieste la presencia de aberraciones cromosómicas (Muller, 1952; Tucker, 1953). Sólo existe un trabajo cariológico para *Q. rugosa* (Flores-Maya *et al.*, 2006).

Las reestructuraciones cromosómicas pueden ser identificadas por la alteración en el apareamiento de cromosomas homólogos durante la meiosis, a través de la formación de puentes, fragmentos y anillos cromosómicos, manifestados por la presencia de deficiencias, duplicaciones, inversiones y translocaciones en segmentos cromosómicos (McClintock, 1942; Curtis, 1976; Singh, 1993). A dichas reestructuraciones se les han atribuido causales de esterilidad en híbridos (Grant, 1989; Rieseberg y Carney, 1998).

El objetivo de este trabajo fue conocer el índice de hibridación morfológico (IHM) y el comportamiento meiótico del híbrido *Quercus glabrescens* Benth. x *Q. rugosa* Neé.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron diez recorridos de campo en el Parque Nacional El Chico (Hidalgo, México), en donde se identificaron supuestos híbridos entre *Q. glabrescens* y *Q.*

It can be found in level terrain, slopes, ravines, and subtropical brushland, or mesophilylic mountain forests. On the other hand, Zavala (1995) mentions that the forest of *A. religiosa* and *Q. rugosa* is related to the disturbance of the *Abies* forest. In fact, more frequency of hybridization has been reported in disturbed areas.

In contrast, according to the infrageneric systematics of *Quercus* (Trealise, 1924), *Q. glabrescens* belongs to the series *Glabrescens* (series eight) and *Q. rugosa* to the series *Reticulata* (series 29). The above may suggest that they are found at a great phylogenetic distance from each other, evidencing that there is little taxonomic relationship. However, the ecological affinities and the coincidence of the period of florescence can promote the crossing between species, facilitating the presence of hybridization in El Chico between *Q. glabrescens* and *Q. rugosa*. Furthermore, the oaks only hybridize among species of the same subgenus (Palmer, 2000).

Natural hybridization is a habitual event among plants and animals (Grant, 1989; Rieseberg, 1997), which is characterized by crossing between distinct genotypes, principally identified among different species of the same genus separated by ecological or reproductive isolation (Grant, 1989; Rieseberg and Carney, 1998). When they are crossed, new genetic combinations are formed, attributed to the effects of the chromosomal restructuring manifested as mutations during meiosis (McClintock, 1942; Anderson, 1948; Rieseberg and Carney, 1998). Meiotic behavior has been used successfully in the determination of hybrids (Palmer *et al.*, 2000; Pires *et al.*, 2000). For the genus *Quercus*, no cytogenetic work has been reported that manifests the presence of chromosomal aberrations (Muller, 1952; Tucker, 1953). There exists only one karyological work for *Q. rugosa* (Flores-Maya *et al.*, 2006).

Chromosomal restructuring can be identified by the alteration in the pairing of homologous chromosomes during meiosis, through the formation of bridges, fragments and chromosomal rings, manifested by the presence of deficiencias, duplications, inversions and translocations in chromosomal segments (McClintock, 1942; Curtis, 1976; Singh, 1993). Sterility in hybrids has been attributed to these restructurings (Grant, 1989; Rieseberg and Carney, 1998).

The objective of the present study was to know the morphological hybridization index (MHI) and the meiotic behavior of the hybrid *Quercus glabrescens* Benth. x *Q. rugosa* Née.

MATERIALS AND METHODS

Ten field trips were made in the El Chico National Park (Hidalgo, Mexico), where supposed hybrids were identified between *Q. glabrescens* and *Q. rugosa*, based on the bark and leaf morphology. Once the study zone had been defined, which corresponds to the part of the forest of *Abies-Quercus* (Zavala, 1995), it was divided into eight

rugosa, con base en la corteza y morfología foliar. Una vez delimitada la zona de estudio, que corresponde a la parte del bosque de *Abies-Quercus* (Zavala, 1995), se dividió en 8 parcelas (de 20 metros por 20 metros), cada una de las cuales incluyó al menos un supuesto individuo híbrido. Se levantaron tres parcelas en La Peña del Cuervo, dos en El Puente de Dios, dos en La Peñita y una colindante con el puente de La Peñita.

Para determinar el IHM se utilizaron 10 caracteres extremos entre *Q. rugosa* y *Q. glabrescens*. Se asignaron valores de cero a las características exhibidas por *Q. rugosa*; dos a las características de *Q. glabrescens*, y a las características intermedias en los híbridos se les asignó el valor de uno (Grant, 1989). Los caracteres fueron: a) la corteza, donde se consideró un área de 20 x 20 cm por arriba de 1.30 m; en ella se midieron las escamas en largo y ancho y se calculó la relación entre éstas; generalmente la corteza de *Q. glabrescens* es muy fisurada, mientras que en *Q. rugosa* es poco fisurada; b) la longitud de la lámina foliar; en ella se eligieron cinco hojas grandes de cada árbol y se midió la longitud máxima de la lámina foliar, característicamente *Q. glabrescens* midió de 3.5-10 cm y *Q. rugosa* entre 4-18 cm; c) la longitud del peciolo se midió a partir de la base de la hoja a la ramilla; para *Q. glabrescens* midió entre 7 y 12 mm y para *Q. rugosa* entre 5 y 17 mm; d) número de nervaduras; a partir de la nervadura principal se contaron las nervaduras secundarias de ambos lados y se promedió; *Q. glabrescens* presentó de 10 a 12 y *Q. rugosa* de 8 a 12; e) la pubescencia se evaluó como uniforme en la lámina foliar o concentrada en las nervaduras; a la ausencia de pubescencia se le dio el valor de cero (característico de *Q. glabrescens*); a la pubescencia densa, el valor de dos (peculiar en *Q. rugosa*); cuando fue escasa, o bien concentrada en las nervaduras principales, se asignó el valor de uno; f) al margen de la hoja revoluto se le dio el valor de cero (característico de *Q. glabrescens*); al margen plano el valor de dos (presente en *Q. rugosa*) y al intermedio el valor de uno; g) para el número de dientes del borde de la hoja se contaron por cada lado de ésta y se obtuvo el promedio, generalmente *Q. glabrescens* presentó de 2 a 4 y *Q. rugosa* de 5 a 10; h) la profundidad de la escotadura se midió en el diente más grande por cada lado de la hoja y se promedió; *Q. glabrescens* presentó dientes agudos y *Q. rugosa* bajos y obtusos; i) la base de la hoja (en mm) en *Q. glabrescens* fue redondeada, a veces subcordada, y en *Q. rugosa* cordada o anchamente redondeada; y j) el ángulo del ápice de la hoja (en grados) se tomó considerando como eje la nervadura principal, y con ayuda de un transportador de 180° se determinó el ángulo del ápice; en *Q. glabrescens* generalmente fue agudo y en *Q. rugosa* ampliamente obtuso. Se obtuvo el IHM por individuo. (Cuadro 1).

Para el estudio de la meiosis se colectaron y fijaron inflorescencias inmaduras utilizando solución Carnoy 6:1:1 (alcohol etílico absoluto, ácido acético glacial y cloroformo) por un periodo de 24 a 48 horas. Posteriormente las muestras se conservaron en etanol al 70 % (Curtis, 1968).

CUADRO 1. Variables contrastantes entre *Q. glabrescens* y *Q. rugosa*, (Zavala, 1989).

Table 1. Contrasting variables between *Q. glabrescens* and *Q. rugosa* (Zavala, 1989).

Característica	<i>Q. rugosa</i>	<i>Q. glabrescens</i>
Longitud lamina foliar	4-18 cm	3.5-10 cm
Número de dientes	5 a 10	2 a 4
Margen	Revoluto	Plano
Pubescencia	Pilosa	Glabra
Número de nervaduras	8 a 12	10 a 12
Base de hoja	Cordada o anchamente redondeada	Redondeada, a veces subcordada
Ángulo del ápice	Ampliamente obtuso o redondeado	Agudo
Longitud del peciolo	5 a 17 mm	7 a 12 mm
Profundidad de la escotadura del diente más grande	Bajos y obtusos	Agudos
Descamación de la corteza	Poco fisurada	Muy fisurada

plots (20 meters by 20 meters), each one of which included at least one supposed hybrid individual. Three plots were located in La Peña del Cuervo, two in El Puente de Dios, two in La Peñita and one bordering with the bridge of La Peñita.

To determine the MHI, 10 extreme characters were used between *Q. rugosa* and *Q. glabrescens*. Values of zero were assigned to the characteristics exhibited by *Q. rugosa*; two to the characteristics of *Q. glabrescens*, and a value of one was assigned to the intermediate characteristics in the hybrids (Grant, 1989). The characters were as follows: a) the bark, where an area of 20 × 20 cm above 1.30 m was considered, in which the scales were measured by length and width, and the relationship between them was calculated; generally the bark of *Q. glabrescens* is very fissured, whereas in *Q. rugosa* it is only slightly fissured; b) the length of the leaf blade; five large leaves of each tree were selected and the maximum length of the leaf blade was measured, characteristically, *Q. glabrescens* measured from 3.5-10 cm and *Q. rugosa* between 4-18 cm; c) the length of the petiole was measured from the base of the leaf to the stem; for *Q. glabrescens* it measured between 7 and 12 mm and for *Q. rugosa* between 5 and 17 mm; d) number of veins; from the midrib the secondary veins were counted on both sides and averaged; *Q. glabrescens* presented from 10 to 12 and *Q. rugosa* from 8 to 12; e) pubescence was evaluated as uniform in the leaf blade or concentrated in the veins; in the absence of pubescence a value of zero was assigned (characteristic of *Q. glabrescens*); for dense pubescence, the value of two (peculiar in *Q. rugosa*); when it was scant, or concentrated in the principal veins, the value of one was assigned; f) the margin of the curled leaf was given the value of zero (characteristic of *Q. glabrescens*); a value of two was assigned to the flat margin (present in *Q. rugosa*) and to the intermediate, the value of one; g) for the number of lobes of the edge of the leaf, they were counted on both sides and the average was obtained, generally *Q. glabrescens* presented from 2 to 4 and *Q. rugosa* from 5 to 10; h) the depth of the notch was measured in the largest lobe on each side of the leaf and was averaged; *Q. glabrescens* presented pointed lobes, while in *Q. rugosa* they were short and obtuse;; i) the base of the leaf (in mm)

En la elaboración de preparaciones microscópicas se siguió la técnica de frotis descrita por Curtis (1968), que consistió en colocar anteras en un portaobjetos; enseguida se cubrieron con una gota de acetocarmín y se aplastaron con una aguja de disección curva, para extraer los microsporocitos. A continuación se colocó el cubreobjetos y se pasó a través de la flama de una lámpara de alcohol, sin hervir el líquido, cuyo exceso se retiró con papel absorbente. Las preparaciones se observaron al microscopio óptico (Leica CME) con una ampliación de 1000.

Se buscaron los microsporocitos en anafase I y telofase I, ya que son las fases apropiadas para observar aberraciones cromosómicas (Curtis, 1968). Los datos obtenidos se analizaron mediante la correlación momento-producto de Pearson entre el índice de hibridación y el comportamiento meiótico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó análisis meiótico a 18 individuos reproductores; los otros 32 no florecieron ese año. Se identificaron seis individuos con mayor similitud a *Q. glabrescens* con valores de 1.6, 1.7 y 1.8; once individuos con características intermedias entre *Q. glabrescens* y *Q. rugosa*, cuyos valores fueron de 0.8, 0.9, 1.0, 1.1 y 1.2; y un individuo con mayor aproximación a *Q. rugosa* con un IHM de 0.7.

Se encontró que la mayoría de los híbridos son fenotípicamente intermedios entre las especies parentales y otros con marcada tendencia unidireccional hacia *Q. glabrescens*. La posible explicación a esto es que los híbridos pueden expresar un mosaico de fenotipos parentales, que depende de la característica evaluada y la interacción entre su expresión genética y el ambiente (Rieseberg y Carney, 1998). No fue posible determinar la generación a la que pertenecen los individuos híbridos. Se ha mencionado que los híbridos de la generación F₁ presentan características intermedias a los padres, pero que al retrocruzarse van adquiriendo mayor número de características de uno de los padres en las generaciones subsecuentes (Anderson, 1948; Potts y Reid, 1985; Grant, 1989; Rieseberg y Carney, 1998).

La evidencia de hibridación mediante el IHM ha sido confirmada en especies como *Helianthus maximiliani* x *H. grosseserratus* (Long, 1959), *Eucalyptus risdonii* x *E. amigdalina* (Keim et al., 1989), *Populus fremontii* x *P. angustifolia* (Keim et al., 1989), *Q. crassifolia* x *Q. crassipes* (Tovar-Sánchez y Oyama, 2004) y *Q. conzattii* x *Q. eduardii* (Scareli-Santos et al., 2007). Tovar-Sánchez y Oyama (2004) encontraron variación en el grado de hibridación de acuerdo con la forma de la hoja, supervivencia, vigor y adaptación en plántulas de retrocruzas.

El cruzamiento entre especies con diferentes sistemas génicos altera el apareamiento cromosómico durante la

in *Q. glabrescens* was rounded, sometimes subcordate, and in *Q. rugosait* was cordate or widely rounded; and j) the angle of the apex of the leaf (in degrees) was taken considering the midrib as the axis, and the angle of the apex was determined with the help of a protractor of 180°; in *Q. glabrescens* it was generally acute and in *Q. rugosa*, it was widely obtuse. The MHI was obtained per individual (Table 1).

For the study of meiosis, immature inflorescences were collected and fixed using Carnoy solution 6:1:1 (absolute ethylic alcohol, glacial acetic acid and chloroform) for a period of 24 to 48 hours. Afterwards, the samples were conserved in ethanol at 70% (Curtis, 1968).

In the elaboration of microscopic preparations, the smear technique described by Curtis (1968) was followed, which consisted of placing anthers on a slide; then they were covered with a drop of acetocarmine and squashed with a curved dissection needle, to extract the microsporocytes. Then the slide was placed and passed through the flame of an alcohol lamp, without boiling the liquid, the excess of which was removed with absorbent paper. The preparations were observed in the optical microscope (Leica CME) with an amplification of 1000.

The microsporocytes in anaphase I and telophase I were sought, given that they are the appropriate phases for observing chromosomal aberrations (Curtis, 1968). The obtained data were analyzed by means of the Pearson moment-product correlation between the hybridization index and the meiotic behavior.

RESULTS AND DISCUSSION

Meiotic analysis was carried out on 18 reproductive individuals; the other 32 did not flower that year. Six individuals were identified with highest similarity to *Q. glabrescens* with values of 1.6, 1.7 and 1.8; eleven individuals with intermediate characteristics between *Q. glabrescens* and *Q. rugosa*, whose values were 0.8, 0.9, 1.0, 1.1 and 1.2; and one individual with higher approximation to *Q. rugosa* with a MHI of 0.7.

It was found that most of the hybrids are phenotypically intermediate between the parental species and others with a marked unidirectional tendency towards *Q. glabrescens*. The possible explanation for this is that the hybrids can express a mosaic of parental phenotypes, which depends on the characteristic evaluated and the interaction between its genetic expression and the environment (Rieseberg and Carney, 1998). It was not possible to determine the generation to which the hybrid individuals belong. It has been mentioned that the hybrids of generation F₁ present intermediate characteristics to the parents, but when they are backcrossed they acquire a larger number of characteristics from one of the parents in the subsequent generations (Anderson, 1948; Potts and Reid, 1985; Grant, 1989; Rieseberg and Carney, 1998).

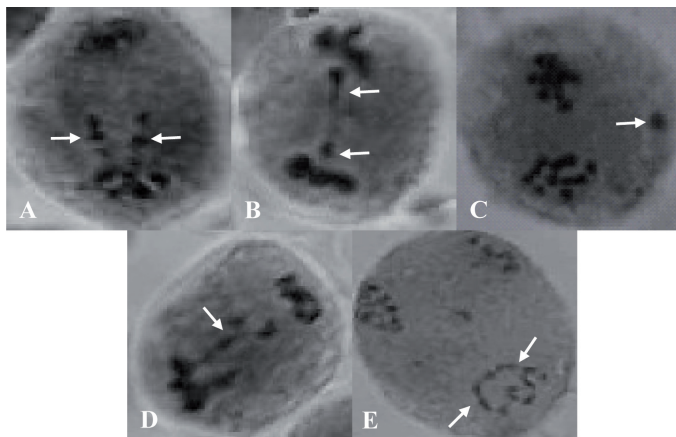
meiosis, lo cual ocasiona reestructuraciones cromosómicas, que tienen como efecto inviabilidad y esterilidad de híbridos, actuando como un mecanismo de aislamiento reproductivo (Dobzhansky, 1937; Rieseberg, 1997).

La presencia de aberraciones cromosómicas se ha reportado en muchas especies de plantas, pero en especies forestales ha sido poco estudiada. No hay información sobre mutaciones cromosómicas en el género *Quercus*. Para realizar el estudio citológico fue necesario determinar el estadio ideal de maduración de las inflorescencias, dificultado por la variación intrapoblacional. En la mayoría de los casos las inflorescencias ideales midieron aproximadamente 10 mm, presentando las brácteas parcialmente abiertas y la línea de dehiscencia de las anteras no bien definida. En otros casos, el estadio ideal fue cuando las brácteas estaban completamente abiertas y la línea de dehiscencia se observaba plenamente.

En este estudio se identificaron algunos tipos de anomalías cromosómicas en la meiosis (Figura. 1). En el híbrido *Q. glabrescens* x *Q. rugosa* se detectó la formación de puentes cromosómicos con una frecuencia de 0.22 y fragmentos cromosómicos en una frecuencia de 0.08, en anafase I y II; además, se observó el retraso de algunos pares cromosómicos. Los puentes y fragmentos han sido estudiados en *Cupressus benthamii* y *C. lindleyi* (sinonimia *C. lusitánica*) (Rodríguez y Hernández, 1980), *Glycine max*, *G. soja* (Palmer *et al.*, 2000; Pires *et al.*, 2000), *Agave tequilana* (Ruvalcaba-Ruiz y Rodríguez-Garay, 2002), *Zea mays* (Zheng *et al.*, 1999) y en *Drosophila melanogaster* (Curtis, 1976). Varios autores (McClintock, 1942; Rodríguez y Hernández, 1980; Ruvalcaba-Ruiz y Rodríguez-Garay, 2002) han manifestado que la formación de puentes es debida a duplicaciones y deficiencias terminales, inversiones paracéntricas heterocigotas, deleciones y duplicaciones. Asimismo, pueden ser originadas por una malformación del sitio donde se formó el quiasma (Brandham, 1969, 1970).

FIGURA 1. Aberraciones cromosómicas en *Quercus glabrescens* x *Q. rugosa*; a) Puente cromosómico; b) Retraso de un par de cromosomas; c) Fragmento cromosómico; d) Puente y retraso de pares cromosómicos. E) Anillo cromosómico en telofase I.

Figure 1. Chromosomal aberrations in *Quercus glabrescens* x *Q. rugosa*; a) Chromosomal bridge; b) Retardation of a pair of chromosomes; c) Chromosomal fragment; d) Bridge and retardation of chromosomal pairs; e) Chromosomal ring in telophase I.



The evidence of hybridization through MHI has been confirmed in species such as *Helianthus maximilianii* x *H. grosseserratus* (Long, 1959), *Eucalyptus risdonii* x *E. amigdalina* (Keim *et al.*, 1989), *Populus fremontii* x *P. angustifolia* (Keim *et al.*, 1989), *Q. crassifolia* x *Q. crassipes* (Tovar-Sánchez and Oyama, 2004) and *Q. conzattii* x *Q. eduardii* (Scareli-Santos *et al.*, 2007). Tovar-Sánchez and Oyama (2004) found variation in the degree of hybridization according to the form of the leaf, survival, vigor and adaptation in seedlings of backcrosses.

The crossing among species with different genetic systems alters the chromosomal pairing during meiosis, which causes chromosomal restructuring, with the effect of unviability and sterility of hybrids, thus acting as a mechanism of reproductive isolation (Dobzhansky, 1937; Rieseberg, 1997).

The presence of chromosomal aberrations has been reported in many plant species, but in forest species little has been studied. There is no information of chromosomal mutations in the genus *Quercus*. To carry out the cytological study, it was necessary to determine the ideal state of maturity of the inflorescences, made difficult by the intra-population variation. In most of the cases the ideal inflorescences measured approximately 10 mm, presenting the bracts partially open and the line of dehiscence of the anthers not well defined. In other cases, the ideal state was when the bracts were completely open and the dehiscence line was clearly observed.

In this study some types of chromosomal anomalies were identified in the meiosis (Figure 1). In the hybrid *Q. glabrescens* x *Q. rugosa* the formation of chromosomal bridges was detected with a frequency of 0.22 and chromosomal fragments at a frequency of 0.08, in anaphase I and II; furthermore, the retardation of some chromosomal pairs was observed. The bridges and fragments have been studied in *Cupressus benthamii* and *C. lindleyi* (synonymy *C. lusitánica*) (Rodríguez and Hernández, 1980), *Glycine max*, *G. soja* (Palmer *et al.*, 2000; Pires *et al.*, 2000), *Agave tequilana* (Ruvalcaba-Ruiz and Rodríguez-Garay, 2002), *Zea mays* (Zheng *et al.*, 1999) and in *Drosophila melanogaster* (Curtis, 1976). Various authors (McClintock, 1942; Rodríguez and Hernández, 1980; Ruvalcaba-Ruiz and Rodríguez-Garay, 2002) have manifested that the formation of bridges is due to duplications and terminal deficiencies, heterozygotic paracentric inversions, deletions and duplications. In addition, they can be caused by a malformation of the site where the chiasma was formed (Brandham, 1969, 1970). These chromosomal aberrations may also be due to certain environmental factors, such as high temperatures, which increase the frequency of chromosomal bridges (Palmer *et al.*, 2000).

In telophase I the formation of chromosomal rings was valued with a frequency of 0.09 cells. These rings were

Estas aberraciones cromosómicas pueden además deberse a ciertos factores ambientales, como las temperaturas altas, que aumentan la frecuencia de puentes cromosómicos (Palmer *et al.*, 2000).

En telofase I se valoró la formación de anillos cromosómicos con una frecuencia de 0.09 células. Estos anillos fueron observados por primera vez en 1908 por Gates en *Oenothera rubrinervis*, después en *Zea mays*, *Antirrhinum majus*, *Glycine* sp., tabaco, *Gossipium hirsutum* y *Pennisetum glaucum* (Singh, 1993). McClintock (1942), Long (1959) y Curtis (1976) demostraron que este fenómeno ocurre cuando se presentan translocaciones heterocigotas y pueden ser detectadas en diacinesis o metafase I. Long (1959) reporta que en el híbrido F₁ de *Helianthus maximiliani* x *H. grosseserratus* se observó la formación de anillos en profase I, mientras que en las especies parentales no se observaron anomalías.

La relación entre el IHM y las aberraciones cromosómicas manifestó que cuando los individuos tienden a ser similares a *Q. glabrescens* o a *Q. rugosa*, la presencia de aberraciones cromosómicas es menor que cuando los individuos muestran características intermedias. Los individuos intermedios presentaron una frecuencia cercana a 1.0 de aberraciones cromosómicas (Figura 2).

CONCLUSIONES

Los resultados denotan que la presencia de aberraciones cromosómicas es mayor en los híbridos de *Quercus glabrescens* x *Q. rugosa* con características intermedias que en aquellos que tienden hacia *Q. glabrescens*. La presencia de puentes, fragmentos y anillos manifiesta duplicaciones, inversiones y translocaciones en el sistema génico de los híbridos.

AGRADECIMIENTOS

A la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el proyecto de investigación CONAFOR-2002-C01-6181 "Tecnologías para la restauración de los bosques en declinación del Distrito Federal". A la Universidad Autónoma Chapingo, por el financiamiento proporcionado, proyecto 06100506 "Caracterización del hábitat de *Quercus glabrescens* Benth. y *Q. rugosa* Née en dos localidades de su distribución natural (Estado de México e Hidalgo)".

LITERATURA CITADA

- ANDERSON, E. 1948. Hybridization of the habitat. *Evolution* 2(1):1- 9.
- BELLO, G., M.; LABAT, J. N. 1987. Los encinos (*Quercus*) del Estado de Michoacán, México. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 93 p.
- BRANDHAM, P. E. 1969. Inversion heterozygosity and sub-chromatid exchange in *Agave stricta*. *Chromosoma* 26: 270-286.
- BRANDHAM, P. E. 1970. Chromosome behaviour in the Aloineae. III

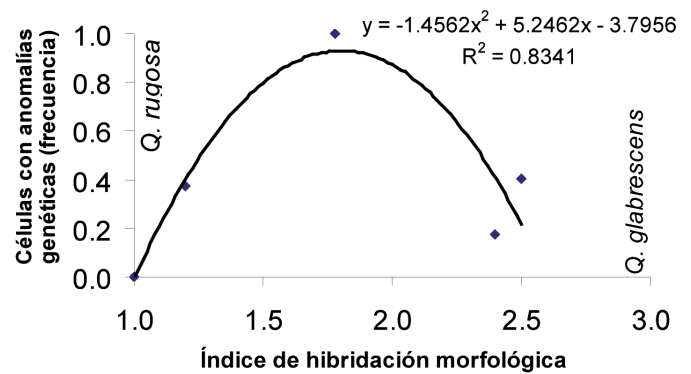


FIGURA 2. Relación de aberraciones cromosómicas con respecto al índice de hibridación morfológica entre las especies *Quercus rugosa* y *Q. glabrescens*.

FIGURE 2. Relationship of chromosomal aberrations with respect to the morphological hybridization index between the species *Quercus rugosa* and *Q. glabrescens*.

observed for the first time in 1908 by Gates in *Oenothera rubrinervis*, then in *Zea mays*, *Antirrhinum majus*, *Glycine* sp., tobacco, *Gossipium hirsutum* and *Pennisetum glaucum* (Singh, 1993). McClintock (1942), Long (1959) and Curtis (1976) demonstrated that this phenomenon occurs when there are heterozygotic translocations and can be detected in diakinesis or metaphase I. Long (1959) reports that in the hybrid F₁ of *Helianthus maximiliani* x *H. grosseserratus*, the formation of rings was observed in prophase I, while in the parental species no abnormalities were observed.

The relationship between MHI and the chromosomal aberrations manifested that when the individuals tend to be similar to *Q. glabrescens* or to *Q. rugosa*, the presence of chromosomal aberrations is lower than when the individuals show intermediate characteristics. The intermediate individuals presented a frequency of close to 1.0 of chromosomal aberrations (Figure 2).

CONCLUSIONS

The results denote that the presence of chromosomal aberrations is higher in the hybrids of *Quercus glabrescens* x *Q. rugosa* with intermediate characteristics than in those that tend towards *Q. glabrescens*. The presence of bridges, fragments and rings manifests duplications, inversions and translocations in the genetic system of the hybrids.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) and the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), for the research project CONAFOR-2002-C01-6181 "Tecnologías para la restauración de los bosques en declinación del Distrito Federal". We are also grateful to the Universidad Autónoma Chapingo for the funding provided, project 06100506 "Caracterización del hábitat de *Quercus glabrescens* Benth. y *Q. rugosa* Née en dos localidades de su distribución natural (Estado de México e Hidalgo)".

End of English Version

- Correlations between spontaneous chromatid and sub-chromatid aberrations. *Chromosoma* 31:1-17.
- CURTIS P., J. 1968. Técnicas histológicas y citológicas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 93 p.
- CURTIS P., J. 1976. Introducción a la citología vegetal. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 262 p.
- CURTIS P., J. 1986. Microtecnia vegetal. Trillas. 106 p.
- DOBZHANSKY, T. H. 1937. Genetics and the origin of species. New York, USA: Colombia University Press.
- FLORES-MAYA, S., I.; FLORES-MORENO, S.; ROMERO-RANGEL, C.; ROJAS-ZENTENO, L. E.; RUBIO-LICONA. 2006. Análisis cariológico de ocho especies de encinos (*Quercus*, *Fagaceae*) en México. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 63(2): 245-250.
- GRANT, V. 1989. Especiación vegetal. 2da. Ed. Limusa. D. F. México 587 p.
- KEIM, P.; PAIGE, K. N.; WHITHAM, T. G.; LARK, K. G. 1989. Genetic analysis of an interspecific hybrid swarm of *Populus*: Occurrence of unidirectional introgression. *Genetics* 123(3):557-565.
- LONG, R. W. 1959. Natural and artificial hybrids of *Helianthus maximiliani* X *H. grosseserratus*. *American Journal of Botany* 46(10): 687-692.
- MARTÍNEZ G., M.; CRUZ D., R.; CASTREJÓN R., J.; VALENCIA A., S.; JIMÉNEZ R., J.; RUÍZ-JIMÉNEZ, C. 2004. Flora vascular de la porción guerrerense de la Sierra de Taxco, Guerrero, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica.* 75(2):105-189.
- MCCLINTOCK, B., 1942. The fusion of broken ends of chromosomes following nuclear fusion. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 28:458-463
- MEJÍA-DOMÍNGUEZ, N.; MEAVE A., J.; RUÍZ-JIMÉNEZ, C. 2004. Análisis estructural de un bosque mesófilo de montaña en el extremo oriental de la Sierra Madre del Sur (Oaxaca), México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 74:13-29.
- MULLER, C. H. 1952. Ecological control of hybridization in *Quercus*: A Factor in the mechanism of evolution. *Evolution* 6(2):147-161.
- NIXON, K. C. 1993. The genus *Quercus* in Mexico. Chapter 16: 447-458. En: Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot and J. Fa (eds.). *Biological Diversity of Mexico: Origins and distribution.* Oxford University Press. New York. 812 p.
- PALMER, E. J. 1948. Hybrid oaks of North America. *J. Arnold Arbor.* 29: 1-48.
- PALMER, R. G.; Sun. H.; Zhao, M. 2000. Genetics and Cytology of Chromosome Inversions in Soybean Germplasm. *Crop Sci.* 40:683-687
- PIRES, N. C.; Pagliarini S.; Feraz de Toledo, F. 2000. Meiotic behavior of several Brazilian soybean varieties. *Genetics and Molecular Biology* 23(3): 623-631
- POTTS, B. M.; Reid, J. B. 1985. Analysis of a hybrid swarm between *Eucalyptus risdonii* Hook.f. and *E. amygdalina* Labill. *Aust. J. Bot.* 33: 543-62.
- RIESEBERG, L. H. 1997. Hybrid origins of plant species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 359-389.
- RIESEBERG, L. H.; CARNEY, S. E. 1998. Plan hybridization. *New Phytologist* 140(4): 599-624.
- RODRÍGUEZ L. S.; HERNÁNDEZ, A. 1980. Estudio taxonómico de tres especies de *Cupressus*. *An. Esc. Nac. De Ciencias Biológicas. Méx.* 23:53-83.
- RUVALCABA-RUÍZ D.; RODRÍGUEZ-GARAY, B. 2002. Aberrant meiotic behavior in *Agave tequilana* Weber var. azul. *BMC Plant Biology* 2(10): 1-4.
- RZEDOWSKI, J. 1978. La vegetación de México. Ed. Limusa. México. 432 p.
- SCARELI-SANTOS, C., M. L.; HERRERA-ARROYO, M. L.; SÁNCHEZ-MONDRAGON, A.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, J.; BACON and K. OYAMA. 2007. Comparative analysis of micromorphological characters in two distantly related Mexican oaks, *Quercus conzattii* and *Q. eduardii* (Fagaceae), and their hybrids. *Brittonia* 59(1): 37-48.
- SINGH, R. J. 1993. Plant cytogenetics. University of Illinois. Department of Agronomy. Urbana, Illinois. 391 p.
- TOVAR-SÁNCHEZ, E.; OYAMA, K. 2004. Natural hybridization and hybrid zones between *Q. crassifolia* and *Q. crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany* 91: 1352-1363.
- TRELEASE, W. 1924. The American oaks. *Mem. Nat. Acad. Sci.*, 20:1-255.
- VALENCIA A., S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 75: 33-53.
- TUCKER, J. M. 1953. Two new oak hybrids from California. *Madroño* 12:119-127.
- ZAVALA CH., F. 1995. Encinos hidalgüenses. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 133p.
- ZHENG, Y. Z.; ROSEMAN, R.; CARLSON, W. R. 1999. Time course study of the chromosome-type breakage-fusion-bridge cycle in maize. *Genetics* 153: 1435-1444.