

Fragmentation effect in the leaf morphometry and environment of *Quercus germana* Schldl. & Cham. (Fagaceae) in Xalapa, Veracruz

Efecto de la fragmentación en la morfometría foliar y el ambiente de *Quercus germana* Schldl. & Cham. (Fagaceae) en Xalapa, Veracruz

Anantli Martínez-Munguía¹; Gustavo C. Ortiz-Ceballos²; Virginia Rebolledo-Camacho³; Antonio Andrade-Torres¹; Lourdes G. Iglesias-Andreu¹; Pablo Octavio-Aguilar⁴.

¹Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada (INBIOTECA), Universidad Veracruzana. Campus para la Cultura, las Artes y el Deporte. Av. de las Culturas Veracruzanas núm. 101, col. Emiliano Zapata. C. P. 91090. Xalapa, Veracruz, MÉXICO. Correo-e: ing.anantli@gmail.com Tel.: (228) 842 27 73 (*Autora para correspondencia).

²Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana. Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, zona Universidad Veracruzana. C. P. 91090. Xalapa, Veracruz, MÉXICO.

³Instituto de Investigaciones Forestales (INIFOR), Universidad Veracruzana. Parque Ecológico El Haya, camino antiguo a Zoncuantla s/n, col. Benito Juárez. C. P. 91070. Xalapa, Veracruz, MÉXICO.

⁴Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería (ICBI), Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5. C. P. 42184. Mineral de la Reforma, Hidalgo, MÉXICO.

Abstract

Quercus germana is an endemic species from the cloud forest of Mexico. The selection pressure resulting from fragmentation and environmental changes suggests the presence of phenotypic differentiation. We evaluated the relationship between the environment and the leaf morphology of *Q. germana* at six sites in the area of Xalapa, Veracruz. Ten leaves of 30 specimens per site were collected. Ten leaf morphometric and seven environmental characteristics were measured and variance analyses were performed with a discriminant analysis. Additionally, UPGMA phylogenetic trees were constructed and the Mahalanobis distances were compared using a Mantel test to estimate the relationship between morphometry and the environment. The morphological variables that best separated the sites were mucrones, ribs and petiole size. Environmentally, the most discriminant variables were light, temperature and loss of humidity. The Mantel test did not show any relationship between the morphometric and the environmental differences ($r = 0.090$, $P = 0.3060$), so there is not any association between the two. Because morphological differences were found in sub-populations despite of the short distance between them, these may be affected by fragmentation even without environmental influences.

Keywords: Endemic species, phenotypic differentiation, environmental variables, morphological variation.

Resumen

Quercus germana es una especie endémica del bosque mesófilo de montaña de México. La presión de selección que la fragmentación y los cambios ambientales ejercen, sugieren diferenciación fenotípica. Por lo anterior, la relación de la diferenciación foliar de *Q. germana* con la fragmentación y las condiciones ambientales se evaluó en seis sitios del bosque mesófilo de Xalapa, Veracruz. Para ello, se colectaron 10 hojas de las ramas nones de 30 individuos por sitio; se midieron 10 características morfométricas foliares y siete ambientales. Los análisis de varianza se realizaron con el modelo lineal generalizado; se utilizó un análisis discriminante, se construyeron árboles de ligamiento UPGMA y se proyectaron las poblaciones tridimensionalmente. Las distancias de Mahalanobis se compararon con una prueba de Mantel para estimar la relación morfométrica y ambiental. Las variables morfológicas que mejor separan los sitios son mucrones, nervaduras y tamaño del peciolo. Ambientalmente, las variables más discriminantes son luz, temperatura y pérdida de humedad. La prueba de Mantel no mostró relación entre las diferencias morfométricas y ambientales ($r = 0.090$, $P = 0.306$). Las subpoblaciones de *Q. germana* son morfológicamente diferentes a pesar de la distancia corta que las separa, lo cual indica que posiblemente son afectadas por la fragmentación aún sin influencia ambiental.

Palabras clave: Especie endémica, diferenciación fenotípica, variables ambientales, variación morfológica.

Introduction

The species of *Quercus* present morphological changes as a response to variation in the environmental conditions of the locations where they grow (Cardillo & Bernal, 2006; Li, Zhang, Liu, Luukkanen, & Berninger 2006; Sack, Melcher, Liu, Middleton, & Pardee, 2006). The genus *Quercus* is considered as having a high phenotypic plasticity and a large part of its phenotypic variation is associated with intrinsic biological characteristics such as long life cycles, wind pollination, crossing-over and hybridization (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004). The morphological variation of the *Quercus* leaves is of high interest due to the fact that several species have been subjected to high local selection pressure, which has caused the differentiation between populations and individual subjects (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004; Sack et al., 2006). Leaves are the main photosynthetic organ of plants, which makes them highly sensitive to the changes in light (Álvarez, Sánchez-González, & Granados-Sánchez, 2009; Halloy & Mark, 1996), phenological cycles, growth rates (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Nikolic, Krstic, Pajevic & Orlovic, 2006), time of the year and position of the leaf in the tree (Ponton, Dupoguy & Dreyer, 2004). In addition to the intrinsic biological characteristics of the tree, there is a genetic factor that explains the foliar plasticity by adaptive differential expression, which is a characteristic of the genus (González-Rodríguez & Oyama, 2005). The differential genetic expression, along with the evolutionary forces and the history of each population, is strengthened when the vegetation is fragmented. It has been suggested that there is a fragmentation effect in the differentiation because a relation has been found between the reduction of size of the foliar layer with the typical characteristics of fragmented environments such as: a rise in temperature, incidence of solar light, and decrease in humidity and nutrients (Borazan & Babac, 2003; Williams-Linera, 2002). This is why the studies on foliar plasticity contribute to the generation of information about the extent in which the population differentiation of *Quercus* has grown (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004).

The differentiation among populations is closely related to fragmentation. It has been reported that on fragmented environments the gene flow in *Q. macrocarpa* Michx., *Q. rubra* L. (Dow & Ashley, 1998) and *Q. humboldtii* Bonpl. (Fernández-M. & Sork, 2007) is substantially reduced, even within distances shorter than 100 m, which increases the level of population structure. The response of this structure to fragmentation events has been assessed in established differentiation zones based on the variation of foliar attributes (Sáenz-Romero, Snively, & Linding-Cisneros,

Introducción

Las especies de *Quercus* manifiestan cambios morfológicos como respuesta a la variación en las condiciones ambientales de los sitios donde se desarrollan (Cardillo & Bernal, 2006; Li, Zhang, Liu, Luukkanen, & Berninger 2006; Sack, Melcher, Liu, Middleton, & Pardee, 2006). El género *Quercus* se considera con alta plasticidad fenotípica y gran parte de su variación fenotípica se asocia con características biológicas intrínsecas como los ciclos de vida largos, polinización anemógama, entrecruzamiento e hibridación (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004). La variación morfológica de las hojas de *Quercus* es de gran interés debido a que muchas especies están sometidas a una fuerte presión de selección local, que las ha llevado a la diferenciación entre poblaciones e individuos (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004; Sack et al., 2006). Las hojas son el principal órgano fotosintético de las plantas, lo que las hace altamente sensibles a cambios en la luz (Álvarez, Sánchez-González, & Granados-Sánchez, 2009; Halloy & Mark, 1996), ciclos fenológicos, ritmos de crecimiento (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Nikolic, Krstic, Pajevic, & Orlovic, 2006), época del año y posición de la hoja en el árbol (Ponton, Dupoguy, & Dreyer, 2004). Además de las características biológicas intrínsecas de los árboles, existe un componente genético que explica la plasticidad foliar por expresión diferencial adaptativa, la cual es característica del género (González-Rodríguez & Oyama, 2005). La expresión genética diferencial, sumada a las fuerzas evolutivas y la historia de cada población, se potencia cuando la vegetación se fragmenta. Se ha sugerido que existe efecto de la fragmentación sobre la diferenciación, debido a que se ha encontrado relación entre la reducción del tamaño de la lámina foliar con características típicas de los ambientes fragmentados tales como: aumento de temperatura, incidencia de luz solar y disminución de humedad y nutrientes (Borazan & Babac, 2003; Williams-Linera, 2002). Es por ello que los estudios sobre la plasticidad foliar contribuyen a generar información sobre la magnitud en que la diferenciación poblacional de *Quercus* se ha producido (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004).

La diferenciación entre poblaciones está estrechamente relacionada con la fragmentación. En ambientes fragmentados se ha reportado que el flujo genético en *Q. macrocarpa* Michx., *Q. rubra* L. (Dow & Ashley, 1998) y *Q. humboldtii* Bonpl. (Fernández-M. & Sork, 2007) se reduce sustancialmente, incluso a distancias menores de 100 m, lo cual incrementa el nivel de estructuración poblacional. La respuesta de esta estructura ante eventos de fragmentación se ha evaluado en zonas establecidas de diferenciación con base en la variación de atributos foliares (Sáenz-Romero, Snively, & Linding-Cisneros,

2003), due to the fact that at least one part of the phenotypic variation is related to the genetic adaptive variation (Hovenden & Vander, 2006; Warren, Tausz, & Adams, 2005).

In the last 50 years, the cloud mountain forest (CMF) has had the most structural and environmental changes due to fragmentation (Williams-Linera, 2002). This forest is important due to its high level of endemism, even though it only represents 1 % of the national area (Williams-Linera, 2002). White Oak *Quercus germana* Schdl. & Cham. is an endemic species of the CMF with great foliar variation, which makes it ideal to explore the effect in the changes of the environmental conditions as a result of fragmentation. Several studies on differentiation in some species of *Quercus* have been made in order to evaluate foliar variation, determining that the changes among populations are directly proportional to the environmental differences (Álvarez et al., 2009; González-Rodríguez & Oyama, 2005; Ponton et al., 2004; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004). Even though environmental changes can be the result of fragmentation, the environment does not always determine the morphological changes as it has been shown in populations of *Q. robur* L., where the variation of the foliar characteristics is attributed to interruptions in the gene flow without the presence of environmental differences (Nikolic et al., 2006). Due to the foregoing, it is probable that the morphological differentiation could be attributed both to the environment and to interruptions in the gene flow; both situations are present in fragmentation events.

The foliar characters of *Quercus* with more intra variation and populational variation in the presence of environmental changes are the size of the petiole and the length and width of the foliar layer. The sensitivity of these characters is due to the fact that the big leaves and the long petioles keep the leaves separated among themselves, facilitating the collection of light (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Ponton et al., 2004; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004). Therefore, the environmental changes included originated by fragmentations may have an effect on the variation of these characteristics of the leaves. In particular, the leaves of *Q. germana* present asymmetry in the distance between the midrib and the right and left borders, so the angle of insertion and the number of ribs should also be included, as it has been done with asymmetrical species such as *Q. laeta* Liebm (Álvarez et al., 2009). Even though some studies of environmental variations do not include the number of mucrones of the leaf margin, works such as that of Álvarez et al. (2009) do report a relation between the mucrones and the size of the *Q. laeta* leaf.

This study compares the foliar morphological variation of *Q. germana* among residual sub-populations and

2003), dado que al menos una parte de la variación fenotípica está relacionada con la variación genética adaptativa (Hovenden & Vander, 2006; Warren, Tausz, & Adams, 2005).

En los últimos 50 años, el bosque mesófilo de montaña (BMM) ha tenido la mayor cantidad de cambios estructurales y ambientales debido a la fragmentación (Williams-Linera, 2002). Este bosque es importante por su alto grado de endemismo aunque solo ocupa 1 % de la superficie nacional (Williams-Linera, 2002). El encino blanco *Quercus germana* Schdl. & Cham. es una especie endémica del BMM con gran variación foliar, que lo hace ideal para explorar el efecto de los cambios en las condiciones ambientales como resultado de la fragmentación. Múltiples estudios sobre la diferenciación en algunas especies de *Quercus* se han realizado para evaluar la variación foliar, determinando que los cambios entre poblaciones son directamente proporcionales a las diferencias ambientales (Álvarez et al., 2009; González-Rodríguez & Oyama, 2005; Ponton et al., 2004; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004). Aunque los cambios ambientales pueden ser resultado de las fragmentaciones, el ambiente no siempre determina los cambios morfológicos como se ha mostrado en poblaciones de *Q. robur* L., donde la variación de las características foliares se atribuye a interrupciones del flujo genético sin presencia de diferencias ambientales (Nikolic et al., 2006). Debido a lo anterior es posible que la diferenciación morfológica pueda atribuirse tanto al ambiente como a interrupciones del flujo genético, ambas situaciones presentes en eventos de fragmentación.

Los caracteres foliares de *Quercus* con mayor variación intra e interpoblacional ante cambios ambientales son el tamaño del peciolo y la longitud y ancho de la lámina foliar. La sensibilidad de estos caracteres se debe a que las hojas grandes y los peciolos largos mantienen las hojas separadas entre sí, favoreciendo la captación de luz (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Ponton et al., 2004; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004). Por lo tanto, los cambios ambientales incluidos los originados por fragmentaciones pueden hacer variar estas características de las hojas. En particular, las hojas de *Q. germana* presentan asimetría en la distancia de la nervadura central al borde derecho e izquierdo, por lo que el ángulo de inserción y el número de nervaduras también deben incluirse, tal como se ha hecho en especies asimétricas como *Q. laeta* Liebm. (Álvarez et al., 2009). A pesar de que algunos estudios de las variaciones ambientales no incluyen el número de mucrones del margen de la hoja, trabajos como el de Álvarez et al. (2009) sí reportan una relación entre los mucrones y el tamaño de la hoja de *Q. laeta*.

El presente estudio compara la variación morfológica foliar de *Q. germana* entre subpoblaciones residuales

evaluates the relation of the foliar differentiation with fragmentation and environmental conditions. The subjects studied were part of one population, so the term “sub-populations” shall be used to refer to them as it has been done in other studies that explore differentiation (Excoffier, 2001; Williams-Linera, 2002). Based on what has already been mentioned, it is expected that the leaves of the sub-populations of *Q. germana* present foliar variation derived from the process of local adaptation by phenotypic/genotypic selection (Bacilieri, Ducouso, & Kremer, 1995), strengthened by fragmentation events. Similarly, it is possible to find morphological differences among the locations, associated to environmental changes. If there is no evidence of foliar differentiation, then it means that fragmentation is so recent that it is not yet reflected, or that species is resilient to fragmentation.

Materials and methods

Field of study

The field of study is located in fragments of the cloud forest located along the Sierra Madre Oriental in the area surrounding the city of Xalapa, Veracruz (Figure 1); bordered to the north by the city of Naolinco (19° 38' 49" NL, 96° 52' 37" WL) and to the south by the city of Xico (19° 24' 05" NL, 96° 59' 45" WL). The average distance between fragments is 1,538 m. Six locations where *Q. germana* was present were selected for this study, all located in the sub-basin of the Decozalapa river. Table 1 presents the location of the sites as well as the description of their characteristics (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2012; Williams-Linera, 2002).

y evalúa la relación de la diferenciación foliar con la fragmentación y las condiciones ambientales. Los individuos estudiados formaron parte de una sola población, por lo que se usará el término subpoblaciones para referirse a ellos como se ha hecho en otros estudios que exploran diferenciación (Excoffier, 2001; Williams-Linera, 2002). Con base en lo ya señalado, se espera que las hojas de las subpoblaciones de *Q. germana* presenten variación foliar derivada del proceso de adaptación local por selección fenotípica/genotípica (Bacilieri, Ducouso, & Kremer, 1995), potenciada por eventos de fragmentación. Del mismo modo es probable encontrar diferencias morfológicas entre los sitios, asociadas a cambios ambientales. Si no existen evidencias de diferenciación foliar significa que las fragmentaciones son tan recientes que aún no se reflejan o que la especie es resiliente a la fragmentación.

Materiales y métodos

Área de estudio

El área de estudio se localiza en fragmentos de bosque mesófilo ubicados sobre la Sierra Madre Oriental en los alrededores de la ciudad de Xalapa, Veracruz (Figura 1); limita al norte con la ciudad de Naolinco (19° 38' 49" LN, 96° 52' 37" LO) y al sur con la ciudad de Xico (19° 24' 05" LN, 96° 59' 45" LO). La distancia promedio entre fragmentos es de 1,538 m. En este estudio se seleccionaron seis sitios de bosque con presencia de *Q. germana* localizados en la subcuenca del río Decozalapa. El Cuadro 1 presenta la localización de los sitios así como la descripción de sus características (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2012; Williams-Linera, 2002).

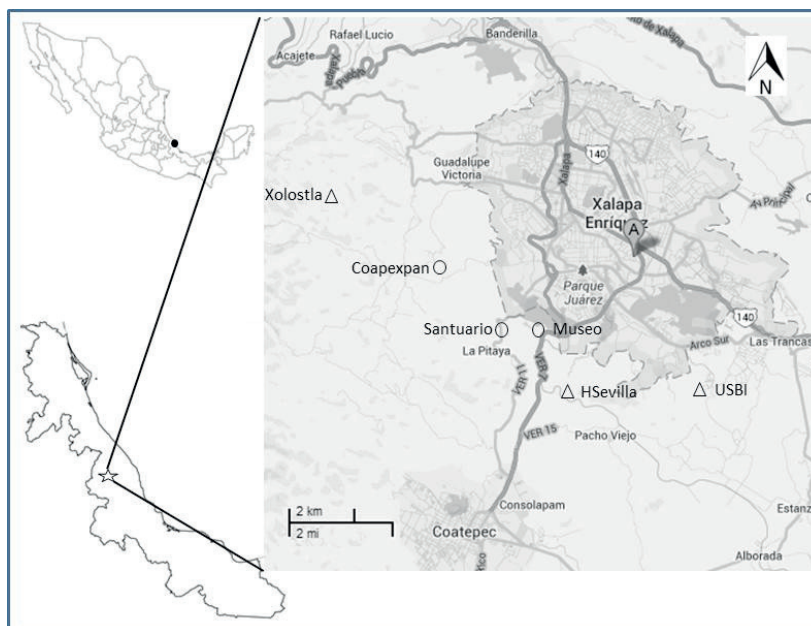


Figure 1. Location of the sites of *Quercus germana* in the surrounding areas of Xalapa, Veracruz.
Figura 1. Localización de los sitios de *Quercus germana* en los alrededores de Xalapa, Veracruz.

Table 1. Edaphoclimatic characterization of the sub-populations of *Quercus germana* in Xalapa, Veracruz.
Cuadro 1. Caracterización edafoclimática de las subpoblaciones de *Quercus germana* en Xalapa, Veracruz.

| | Xolostla | Coapexpan | Santuario | Museo | Hsevilla | USBI |
|------------------------------|---|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| NL/LN | 19° 32' 17" | 19° 31' 35" | 19° 30' 54" | 19° 30' 45" | 19° 30' 22" | 19° 30' 18" |
| WL/LO | 96° 58' 27" | 96° 57' 06" | 96° 56' 17" | 96° 55' 59" | 96° 56' 03" | 96° 55' 04" |
| Altitude (m)/ Altitud (m) | 1,449 | 1,355 | 1,371 | 1,342 | 1,335 | 1,375 |
| Category/ Categoría | Perturbed/ Perturbado | Non perturbed/ No perturbado | Non perturbed/ No perturbado | Non perturbed/ No perturbado | Perturbed/ Perturbado | Perturbed/ Perturbado |
| TAP (mm)/ PTA (mm) | 1,460 | 1,350 | 1,650 | 1,500 | 2,715 | 1,200 |
| AAT (°C)/ TMA (°C) | 16 | 12 | 16 | 18 | 18.6 | 19 |
| DCF (m)/ DFC (m) | 2,736 | 1,885 | 598 | 726 | 1,743 | 1,743 |
| DTR (m)/ DAC (m) | 50 | 200 | 300 | 50 | 50 | 50 |
| DTW (m)/ DAA (m) | 50 | 200 | 100 | 300 | 50 | 150 |
| Use of soil/ Uso de suelo | GL, HST/ Pa, AH | HST, TA/AH, AT | TA, HST/AT, AH | HST/AH | HST/AH | HST, GL/ AH, Pa |
| Sub-basin/ Subcuenca | Decozalapa River/Río Decozalapa | | | | | |
| Soil Origin/ Origen suelo | Extrusive igneous, basic tufa, quaternary of the cenozoic/ Ígneo extrusivo, toba básica, cuaternario del cenozoico | | | | | |
| Soil/Suelo | Andosol | | | | | |

Hsevilla: Hotel Sevilla, USBI: Unidad de Servicios Bibliotecarios.

NL: North Latitude, WL: West Longitude, TAP: Total annual precipitation, AAT: Average annual temperature, DCF: Distance to the closest fragment, DTR: Distance to roads, DTW: Distance to water, Use of soil of neighboring land: GL = Grassland, HST = Human Settlement, TA = Temporal Agriculture. Source: INEGI (2012); Williams-Linera (2002).

Hsevilla: Hotel Sevilla, USBI: Unidad de Servicios Bibliotecarios.

LN: Latitud Norte, LO: Longitud Oeste, PTA: Precipitación total anual, TMA: Temperatura media anual, DFC: Distancia al fragmento más cercano, DAC: Distancia a caminos o carretera, DAA: Distancia a corrientes de agua, Uso de suelo de terrenos vecinos: Pa = Pastizal, AH = Asentamiento humano, AT = Agricultura de temporal. Fuente: INEGI (2012); Williams-Linera (2002).

Study material

Plant material was collected in transects that represented each location. The transects were traced using the first *Q. germana* subject found when crossing each fragment from north to south as a starting point (Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas [CDI], 2004); therefore, subjects exposed to several exogenous variables were included. The transects were divided into blocks of 20 x 10 m; only the subjects from odd block numbers were evaluated, in order to diminish the probabilities of picking related subjects.

Material de estudio

El material vegetal se recolectó en transectos representativos de cada sitio. Los transectos se trazaron tomando como punto de partida el primer individuo de *Q. germana* encontrado al cruzar cada fragmento de norte a sur (Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas [CDI], 2004), por lo que se incluyeron individuos expuestos a diversas variables exógenas. Los transectos se dividieron en bloques de 20 x 10 m; sólo se evaluaron los individuos de los bloques nones, para disminuir las probabilidades de escoger individuos emparentados.

Morphological analysis of *Q. germana*

30 adult subjects of *Q. germana* were selected by location, taken from around three to five transects. The trees selected had a trunk diameter of more than 30 cm, between 6 and 20 m tall, with mature leaves and acorns, and with similar physiological states, vigor, and reproductive stages, to minimize the effect of the endogenous variables over the foliar later. Each subject was georeferenced (Garmin, Etrex GPS, USA). From the treetop of each tree, 10 leaves were taken from odd numbered branches from north to east, in order to reduce the effect of micro-environmental variation. The collected leaves were herborized to preserve them until their evaluation. The morphometric variables measured were the following: leaf length (LL), maximum width (MW), right width of the maximum width (RW), left width of the maximum width (LW), size of the petiole (SP), insertion angle of the first right rib and left rib (ARR, ALR), number of mucrones of the margin (NM), and number of right and left ribs (NRR, NLR). All of the variables were measured with a vernier scale (Truper, Mexico).

Environmental analysis

The environmental analysis was done in the same transects as the morphological sampling, assigning a day to evaluate each site and procuring the same schedule. The measurements were done at the foot of each tree, during the rainy season in September and during the dry season in June 2014, registering the following variables: environmental temperature (T, °C), relative humidity (RH, %), vegetation cover (VEGCOV, %), soil temperature (ST, °C), soil humidity (SH, %), light intensity (FC, candela per square foot), and photosynthetically active radiation (PAR). These variables were selected due to their association with the effects of fragmentation (Williams-Linera, 2002). The T and RH variables were measured with a digital thermo-hygrometer (Cole Parmer, EUA); the VEGCOV variable with a forest densitometer (Suunto Forestry suppliers, EUA); the ST variable was measured with a thermometer stem for soil (Metron, México) with a depth of 15 cm. The SH variable was obtained through the weight loss of 100 g of fresh soil after 48h at 70 °C. Finally, the FC and PAR variables were obtained with a luminometer with dual range (Fisher Scientific, EUA).

Statistical analysis

The differences between locations were determined with a discriminant factorial analysis, a multiple variation measure. The centroids were graphed by location through canonical correspondence, both for the morphometric variables and for the environmental variables. The differentiation

Análisis morfológico de *Q. germana*

Se seleccionaron 30 individuos adultos de *Q. germana* por sitio, tomados de entre tres a cinco transectos. Los árboles se eligieron con tallo superior de 30 cm de diámetro, entre 6 y 20 m de altura, hojas y bellotas maduras, y con estado fisiológico, vigor y etapa reproductiva similares, para minimizar el efecto de las variables endógenas sobre la lámina foliar. Cada individuo fue georreferenciado (Garmin, Etrex GPS, USA). De la copa de cada árbol se tomaron 10 hojas de las ramas nones en sentido norte a este, para reducir el efecto de la variación microambiental. Las hojas colectadas se herborizaron para conservarlas hasta su evaluación. Las variables morfométricas medidas fueron las siguientes: Largo de hoja (LH), ancho máximo (AM), ancho derecho del ancho máximo (AD), ancho izquierdo del ancho máximo (AI), tamaño del peciolo (TP), ángulo de inserción de la primera nervadura derecha e izquierda (AID, AII), número de mucrones del margen (NM) y número de nervaduras derecha e izquierda (NND, NNI). Todas las variables se midieron con un vernier (Truper, México).

Análisis ambiental

El análisis ambiental se hizo en los mismos transectos que el muestreo morfológico, dedicando un día para evaluar cada sitio y procurando un mismo horario. Las mediciones se realizaron al pie de cada árbol, durante la época de lluvias en septiembre y la época de secas en junio del 2014, registrando las siguientes variables: Temperatura ambiental (T, °C), humedad relativa (HR, %), cobertura vegetal (COB, %), temperatura del suelo (TS, °C), humedad del suelo (HS, %), intensidad luminosa (FC, pie-candela) y radiación fotosintéticamente activa (PAR). Estas variables fueron seleccionadas por su asociación con los efectos de la fragmentación (Williams-Linera, 2002). Las variables T y HR se midieron con un termohigrómetro digital (Cole Parmer, EUA); la variable COB, con un densiómetro forestal (Suunto Forestry suppliers, EUA); la TS se midió con un termómetro vástago de reloj para suelo (Metron, México) a 15 cm de profundidad. La HS se obtuvo mediante la pérdida de peso de 100 g de suelo fresco después de 48 h a 70 °C. Finalmente, la FC y PAR se obtuvieron con un luminómetro de rango dual (Fisher Scientific, EUA).

Análisis estadístico

Las diferencias entre sitios se determinaron con un análisis factorial discriminante, una medida de variación múltiple. Los centroides se graficaron por sitio por correspondencia canónica, tanto para las variables morfométricas como para las ambientales. Las medidas de diferenciación entre sitios (distancias de

measures between locations (Mahalanobis distances) allowed a group formation through the UPGMA model. The relation of the morphological foliar variation with the environment was determined through estimations of the Mahalanobis distances for the environmental attributes and a Mantel test with 10,000 iterations ($P = 0.05$) and an assignment model of the cases within the locations, considering the matrixes of environmental and morphological dissimilarity. The analyses were done with the STATISTICA v.7.0 program (StatSoft, 2004).

Results and discussion

Morphological analysis

Table 2 presents the mean values of the morphological variables of *Q. germana* in each sub-population. The morphometric variables that best divide and characterize the study locations ($P \leq 0.05$) are related to the size of the leaf (LL and SP), number of mucrones (NM), and the symmetry (NRR, NLR) (Table 3), coinciding with what was found in other species of *Quercus* (Álvarez et al., 2009; González-Rodríguez & Oyama 2005; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004). The MW, LW and RW were not significant. Table 3 shows the explanatory roots of the variation as a result of the discriminant analysis. The first three discriminant functions explain 96 % of the variance. The significant variables of function 1 are LL, NM, SP and NRR. For function 2, the only significant variable is NLR, while for function 3 the variables are NM, NLR, NRR and SP.

Mahalanobis) permitieron una agrupación mediante el modelo UPGMA. La relación de la variación morfológica foliar con el ambiente se determinó mediante estimaciones de las distancias de Mahalanobis para los atributos ambientales y una prueba de Mantel con 10,000 iteraciones ($P = 0.05$) y un modelo de asignación de los casos dentro de los sitios, considerando las matrices de disimilitud ambiental y morfológica. Los análisis se realizaron con el programa STATISTICA v. 7.0 (StatSoft, 2004).

Resultados y discusión

Análisis morfológico

El Cuadro 2 presenta los valores medios de las variables morfológicas de *Q. germana* en cada subpoblación. Las variables morfométricas que mejor separan y caracterizan a los sitios de estudio ($P \leq 0.05$) están relacionadas con el tamaño de la hoja (LH y TP), número de mucrones (NM) y con la simetría (NNI y NND) (Cuadro 3), coincidiendo con lo encontrado en otras especies de *Quercus* (Álvarez et al., 2009; González-Rodríguez & Oyama 2005; Tovar-Sánchez & Oyama, 2004). Las variables AM, AI y AD no resultaron significativas. El Cuadro 3 muestra las raíces explicativas significativas de la variación como resultado del análisis discriminante. Las primeras tres funciones discriminantes explican 96 % de la varianza. Las variables significativas de la función 1 son LH, NM, TP y NND. Para la función 2, la única variable significativa es NNI, mientras que para la función 3 son NM, NNI, NND y TP.

Table 2. Descriptive morphological statistics for each sub-population of *Quercus germana* in Xalapa, Veracruz.
Cuadro 2. Estadísticas descriptivas morfológicas para cada subpoblación de *Quercus germana* en Xalapa, Veracruz.

| Site/Sitio | LL/LH | MW/ AM | LW/AI | RW/AD | SP/TP | ALR/AII | ARR/ AID | NM | NLR/ NNI | NRR/ NND |
|------------|-------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Xolostla | 133.1 (± 15) | 53.1 (± 7.3) | 26.6 (± 3.6) | 26.5 (± 3.9) | 4.3 (± 0.9) | 33.2 (± 7.8) | 31.4 (± 6.8) | 7.4 (± 2.1) | 12.6 (± 1.3) | 12.6 (± 1.2) |
| Museo | 134.7 (± 19.4) | 53.1 (± 9.1) | 26.7 (± 4.8) | 26.5 (± 4.4) | 3.9 (± 0.6) | 32.4 (± 7.9) | 34.0 (± 8.7) | 6.5 (± 2.0) | 12.5 (± 1.3) | 12.1 (± 1.3) |
| Coapexpan | 130.3 (± 21.7) | 51.9 (± 9.6) | 25.9 (± 4.8) | 26.1 (± 4.9) | 4.9 (± 0.8) | 28.4 (± 7.8) | 29.2 (± 7.3) | 4.2 (± 1.9) | 12.1 (± 1.3) | 12.1 (± 1.4) |
| Santuario | 140.4 (± 21.8) | 56.4 (± 8.1) | 28.2 (± 4.0) | 28.2 (± 4.3) | 4.2 (± 0.9) | 31.3 (± 6.7) | 30.2 (± 5.9) | 7.1 (± 2.0) | 10.4 (± 2.7) | 10.3 (± 2.9) |
| Hsevilla | 124.5 (± 19.9) | 50.3 (± 8.7) | 24.9 (± 4.6) | 25.3 (± 4.3) | 4.6 (± 0.7) | 32.3 (± 7.6) | 32.6 (± 7.8) | 6.1 (± 1.9) | 11.6 (± 1.4) | 11.7 (± 1.5) |
| USBI | 129.3 (± 18.1) | 51.8 (± 9.6) | 25.6 (± 4.9) | 26.1 (± 4.8) | 4.8 (± 0.6) | 31.8 (± 9.1) | 30.5 (± 8.1) | 5.8 (± 1.9) | 12.5 (± 1.5) | 12.8 (± 1.4) |

LL: Length of leaf, MW: Maximum width, LW and RW: Left and right width, SP: Size of the petiole, ALR and ARR: Left and right insertion angle, NM: Number of margin mucrones, NLR and NRR: Number of left ribs and number of right ribs. \pm Median standard deviation.

LH: Largo de hoja, AM: Ancho máximo, AI y AD: Ancho izquierdo y derecho, TP: Tamaño del peciolo, AII y AID: Ángulo de inserción izquierdo y derecho, NM: Número de mucrones del margen, NNI y NND: Número de nervaduras izquierda y derecha. \pm Desviación estándar de la media.

Table 3. Discriminant analysis of the morphometric variables of *Quercus germana*. Significant explanatory roots of the variation.**Cuadro 3. Análisis discriminante de las variables morfométricas de *Quercus germana*. Raíces explicativas significativas de la variación.**

| Variables | R1 | R2 | R3 |
|---|---------|---------|---------|
| LL/LH | -0.565* | 0.455 | 0.487 |
| SP/TP | 0.611* | 0.411 | -0.586* |
| NM | -0.665* | -0.344 | -0.723* |
| NLR/NNI | 0.052 | -0.629* | 0.772* |
| NRR/NND | 0.528* | -0.352 | -0.628 |
| Auto-value/Autovalor | 0.270 | 0.144 | 0.069 |
| Accumulated Variance/Varianza acumulada | 0.538 | 0.826 | 0.963 |
| Wilks's Lambda/Lambda de Wilks | 0.632 | 0.802 | 0.918 |
| P | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

LL: Leaf length, SP: Size of the petiole, NM: Number of margin mucrones, NLR and NRR: Number of left and right ribs. *Significant variables ($P \leq 0.05$).

LH: Largo de hoja, TP: Tamaño del peciolo, NM: Número de mucrones del margen, NNI y NND: Número de nervaduras izquierda y derecha. *Variables significativas ($P \leq 0.05$).

Figure 2 presents the conglomerate obtained through the UPGMA method, in which it is observed that the Coapexpan and USBI sites are morphologically similar. This first group is similar to the one formed by Museo and Xolostla, but different than the Hsevilla and Santuario sites. Figure 3 shows the sub-populations distributed based on the explanatory roots. The median classes of the canonical morphometric variables, estimated by location, showed that the higher values are related to: root one with NM, root two with NLR, NRR, and root three with SP; these four morphometric characteristics can be used to differentiate the study sites, assuming that the negative correlation of these variables indicates that the high values represent locations with fewer number or size of the character.

The results also showed that the leaves of the most dissimilar location are those of Santuario, because they contain the highest number of mucrones, big leaves and fewer ribs such as has been reported in *Q. laeta* (Álvarez et al., 2009). Coapexpan presented fewer mucrones and bigger petioles, being very similar to USBI when it comes to mucrones. Museo and Xolostla are similar in the number of mucrones and ribs, but Xolostla showed the bigger petioles, which could be associated to fewer incidences of light and temperature (Figure 3), corresponding to what was reported by González-Rodríguez and Oyama (2005). Finally, Hsevilla presents intermediate characteristics in all sites. All these results suggest that there are foliar morphological differences among the locations, despite the short distances that separate the fragments.

La Figura 2 presenta el conglomerado obtenido por el método UPGMA, en el cual se observa que los sitios Coapexpan y USBI son morfológicamente similares. Este primer grupo es parecido al formado por Museo y Xolostla, pero diferente a los sitios Hsevilla y Santuario. La Figura 3 muestra las subpoblaciones distribuidas con base en las raíces explicativas. Las clases medias de las variables morfométricas canónicas, estimadas por sitio, mostraron que los valores mayores están relacionados con: la raíz uno con el NM, la raíz dos con el NNI y NND, y la raíz tres con el TP; estas cuatro características morfométricas pueden utilizarse para diferenciar los sitios de estudio, asumiendo que la correlación negativa de estas variables indica que los valores altos representan a sitios con menor número o tamaño del carácter.

Los resultados también demuestran que las hojas del sitio más disímil son las de Santuario, porque contiene el mayor número de mucrones, hojas grandes y menor número de nervaduras tal como se ha reportado en *Q. laeta* (Álvarez et al., 2009). Coapexpan presentó pocos mucrones y peciolo más grandes, siendo muy similar a USBI en cuanto a mucrones. Museo y Xolostla son similares en el número de mucrones y de nervaduras pero Xolostla mostró los peciolo más largos, lo que podría estar asociado a menores incidencias de luz y temperatura (Figura 3), coincidiendo con lo reportado por González-Rodríguez y Oyama (2005). Finalmente, Hsevilla presenta características intermedias entre todos los sitios. Todos estos resultados sugieren que

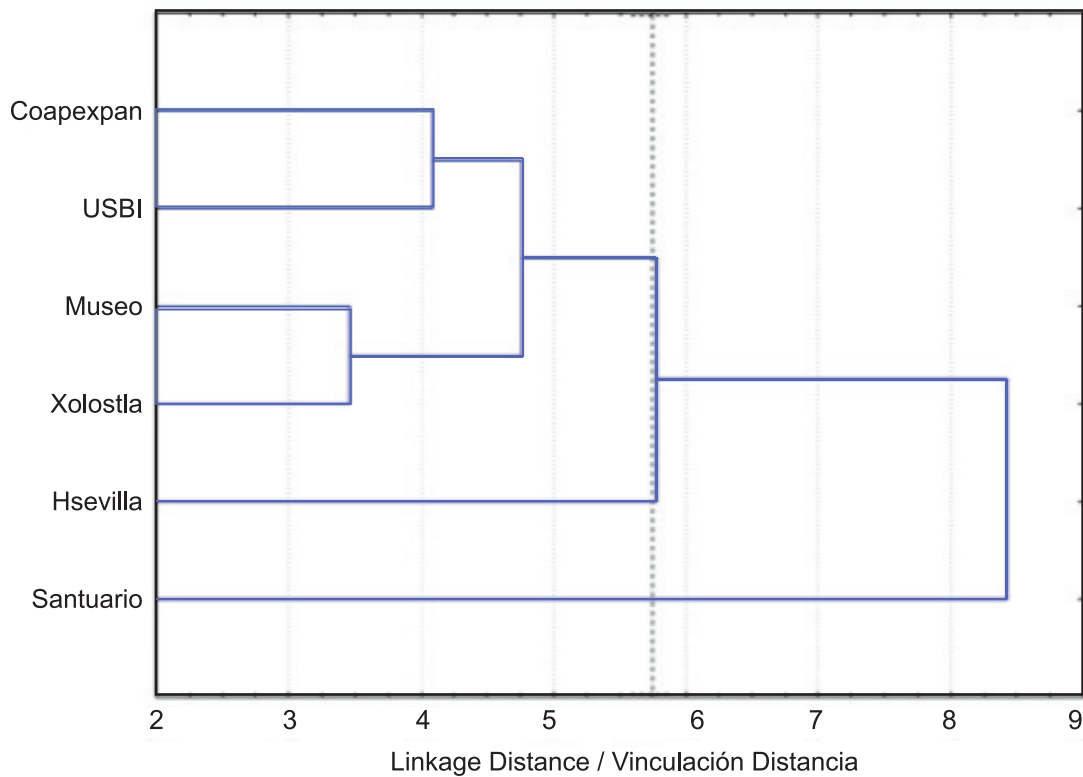


Figure 2. Cluster analysis (UPGMA method) with Euclidean distances of the morphometric variables per sub-population of *Quercus germana*. The dotted line indicates the maximum number of groups found (three).

Figura 2. Análisis de conglomerados (método UPGMA) con las distancias euclidianas de las variables morfométricas por subpoblación de *Quercus germana*. La línea punteada indica el máximo de grupos encontrados (tres).

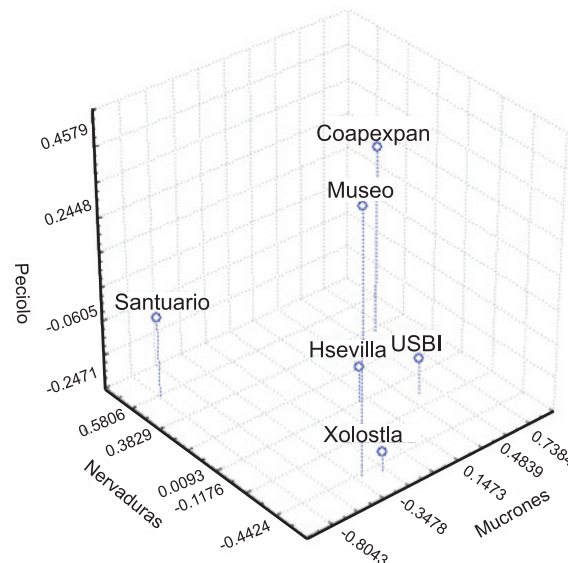


Figure 3. Graph with all the information of the canonical analysis of the morphometric variables (centroids) of *Quercus germana*. The sub-populations are distributed based on the axes formed with the explanatory roots. Axis 1: number of mucrones, axis 2: number of ribs, and axis 3: size of the petiole.

Figura 3. Gráfico con los datos del análisis canónico de las variables morfométricas (centroides) de *Quercus germana*. Las subpoblaciones se distribuyen con base en los ejes formados con las raíces explicativas. Eje 1: número de mucrones, eje 2: número de nervaduras y eje 3: tamaño del peciolo.

Environmental analysis

The environmental variables that best divide and characterize the study sites are: T, RH and TS (Wilks's lambda = 0.145; $P \leq 0.05$) both for the rainy season (2) and for the dry season (2). Table 4 shows that these variables are related to light (FC1, PAR1), the environmental temperature of the dry season (T2) and humidity (T1, RH1). The variables VEGCOV, SH, FC and PAR were not significant. The first three discriminant functions explain 96 % of the variance. The significant variables of function 1 are FC1, PAR1 and T2. For function 2, the only significant variable is T2, while for function 3 the significant variables are T1 and RH1.

Figure 4 shows that, based on the UPGMA, Xolostla and Museo are environmentally similar. There is another group formed by Hsevilla, USBI and Santuario; both groups are different to Coapexpan.

The median classes of the environmental canonical variables estimated per location showed how the higher values are related: root one with light (FC1 and PAR1, T2), root two with the temperature of the dry station (T2), and root three with humidity (T1, HR1). These six environmental characteristics can be used to differentiate the study sites, assuming that the light root presents a negative correlation to the scale in Figure 5; therefore, higher values in this axis represent a lower amount of light.

sí existen diferencias morfológicas foliares entre los sitios, a pesar de la corta distancia que separa a los fragmentos.

Análisis ambiental

Las variables ambientales que mejor separan y caracterizan a los sitios de estudio son: T, HR y TS (Lambda de Wilks = 0.145; $P \leq 0.05$) tanto para la estación lluviosa (1) como para la seca (2). El Cuadro 4 muestra que estas variables están relacionadas con la luz (FC1, PAR1), la temperatura ambiental de la estación seca (T2) y la humedad (T1, HR1). Las variables COB, HS, FC Y PAR no resultaron significativas. Las primeras tres funciones discriminantes explican 96 % de la varianza. Las variables significativas de la función 1 son FC1, PAR1 Y T2. Para la función 2, la única variable significativa es T2, mientras que para la función 3 son T1 Y HR1.

La Figura 4 muestra con base en el UPGMA que Xolostla y Museo son similares ambientalmente, existe otro grupo formado por Hsevilla, USBI y Santuario; ambos grupos son diferentes a Coapexpan.

Las clases medias de las variables ambientales canónicas estimadas por sitio mostraron cómo están relacionados los valores mayores: la raíz 1 con la luz (FC1 y PAR1, T2), la raíz dos con la temperatura de la estación seca (T2) y la raíz tres con la humedad (T1, HR1). Estas seis características ambientales pueden utilizarse para

Table 4. Discriminant analysis of the environmental variables by sub-population of *Quercus germana* in Xalapa, Veracruz. Significant explanatory roots of the variation.

Cuadro 4. Análisis discriminante de las variables ambientales por subpoblación de *Quercus germana* en Xalapa, Veracruz. Raíces explicativas significativas de la variación.

| Variable | R1 | R2 | R3 |
|---|---------|--------|---------|
| T1 | 0.260 | -0.051 | -0.587* |
| RH1/HR1 | 0.097 | -0.033 | 0.580* |
| FC1 | -0.359* | -0.063 | 0.375 |
| PAR1 | -0.359* | -0.063 | 0.375 |
| T2 | -0.395* | 0.629* | -0.109 |
| Auto-value / Autovalor | 22.051 | 9.416 | 1.683 |
| Accumulated Variance / Varianza acumulada | 0.642 | 0.916 | 0.965 |
| Wilks's Lambda / Lambda de Wilks | 0.001 | 0.014 | 0.145 |
| P | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

T1: Temperature of rainy season, RH1: Relative humidity of rainy season, FC1: Light intensity of rainy season, PAR1: Photosynthetically active radiation of rainy season, T2: Environmental temperature of dry season. *Significant variables ($P \leq 0.05$).

T1: Temperatura de la estación lluviosa, HR1: Humedad relativa de la época lluviosa, FC1: Intensidad luminosa de la época lluviosa, PAR1: Radiación fotosintéticamente activa de la época lluviosa, T2: Temperatura ambiental de la época seca. *Variables significativas ($P \leq 0.05$).

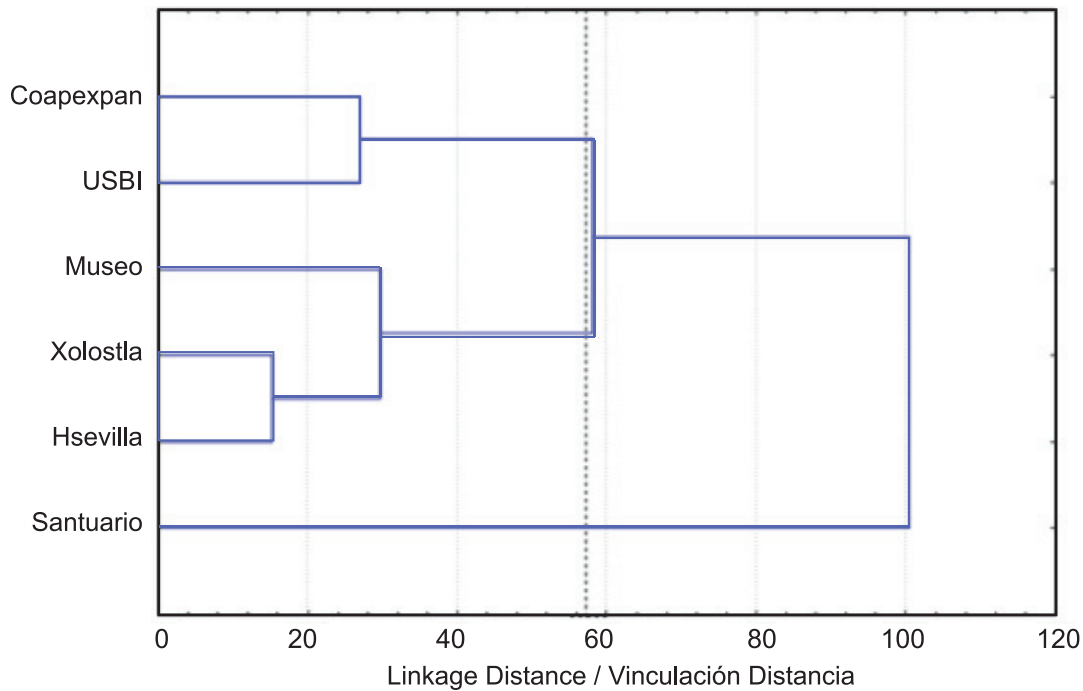


Figure 4. Cluster analysis (UPGMA method) with the Euclidean distances of the environmental variables per subpopulation of *Quercus germana*. The dotted line indicates the maximum number of groups found (three).
Figura 4. Análisis de conglomerados (método UPGMA) con las distancias euclidianas de las variables ambientales por subpoblación de *Quercus germana*. La línea punteada indica el máximo de grupos encontrados (tres).

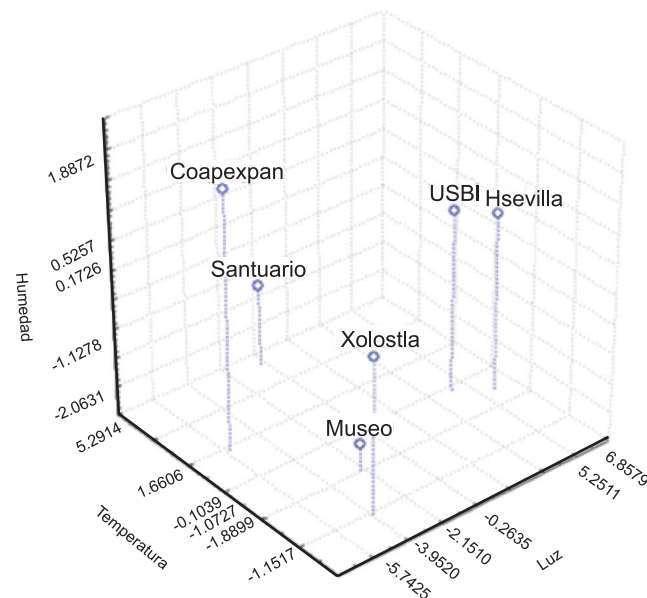


Figure 5. Graph with the information of the canonical analysis of the environmental variables (centroids). The subpopulations of *Quercus germana* are distributed based on the axes formed with the explanatory roots: axis 1: light, axis 2: temperature of the dry season, and axis 3: humidity.
Figura 5. Gráfico con los datos del análisis canónico de las variables ambientales (centroides). Las subpoblaciones de *Quercus germana* se distribuyen con base en los ejes formados con las raíces explicativas: Eje 1: luz, eje 2: temperatura de la estación seca y eje 3: humedad.

The results also show that the populations of Xolostla and Museo present a lower amount of light and temperature in the dry season; similarly, Museo is the site that loses a lower amount of humidity. USBI and Hsevilla are the locations with the most alike environment and are similar to Santuario in regards to the amount of light that they receive. Coapexpan is the location with greater environmental differences in comparison to the rest of the locations (Figure 5).

Analysis of the morphological and environmental relation

Regarding the existing relation between the morphological and the environmental variations, the square distances of Mahalanobis were compared through the Mantel test to obtain the regression value between both matrixes. The Mantel test showed a positive regression value but it was not significant ($r = 0.9008$, $P = 0.3060$). The Museo, Hsevilla and Coapexpan sites, that are environmentally different, have lesser morphological differentiation than expected, under the model of regression with markov chains. Other studies have reported morphological differences in the species exposed to climatic variation, due to this the differences in size and symmetry are usually associated to the environment in which each sub-population grows (Álvarez et al., 2009; Halloy & Mark, 1996). Furthermore, in other species of oak, it has been reported that the size of the leaf is related to humidity; the leaves are bigger in humid places and their size decreases gradually in relation to the increase of dryness (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Uribe-Salas, Sáenz-Romero, González-Rodríguez, Téllez-Valdés, & Oyama, 2008). In other regions of the world, covariations between the size of the leaf and precipitation and temperature of the site have been reported (Calagari, Modirrahmati, & Asadi, 2006; Li et al., 2006; Royer, Wilf, Janesko, Kowalski, & Dilcher, 2005). In other species, the fewer number of mucrones and the bigger size of the petiole could be a strategy of the tree to diminish the loss of humidity and facilitate the capture of solar energy, associated with a lower amount of light and temperature (González-Rodríguez & Oyama, 2005). However, in this study, only morphological differences without significant relation to the environmental ones were found. Therefore, the environmental differences do not seem to affect the morphometric characteristics in the same manner in all locations (Hoff & Rambal, 2003). Due to the closeness and common origin of the sub-populations of *Q. germana*, the morphological differences should not be present even in different environments. Consequently, the hypothesis that the morphological differences among the locations may be strengthened by fragmentation is accepted, even when they are not associated with the environment. Álvarez et al. (2009) found a relation between the environmental

diferenciar los sitios de estudio, asumiendo que la raíz luz presenta una correlación negativa con la escala de la Figura 5, por lo que valores mayores en este eje representan menor cantidad de luz.

Los resultados también evidencian que las poblaciones Xolostla y Museo presentan menor cantidad de luz y de temperatura en la estación seca; asimismo, Museo es el sitio que pierde menor cantidad de humedad. USBI y Hsevilla son los sitios con ambiente más parecido y tienen similitud con Santuario en cuanto a la cantidad de luz que reciben. Coapexpan es el sitio que tiene mayores diferencias ambientales en comparación con el resto de los sitios (Figura 5).

Análisis de la relación morfológica y ambiental

Con respecto a la relación existente entre la variación morfológica y ambiental, las distancias cuadradas de Mahalanobis se compararon mediante la prueba de Mantel, para obtener el valor de la regresión entre ambas matrices. La prueba de Mantel mostró un valor de regresión positivo pero no significativo ($r = 0.9008$, $P = 0.3060$). Los sitios Museo, Hsevilla y Coapexpan, que son ambientalmente diferentes, tienen menor diferenciación morfológica de la esperada, bajo el modelo de regresión con cadenas markovianas. Otros estudios han reportado diferencias morfológicas en especies expuestas a variaciones climáticas, debido a esto las diferencias en tamaño y simetría suelen asociarse al ambiente en que cada subpoblación se desarrolla (Álvarez et al., 2009; Halloy & Mark, 1996). Además, en otras especies de encinos se ha reportado que el tamaño de la hoja está relacionado con la humedad; las hojas son más grandes en lugares húmedos y disminuyen su tamaño gradualmente conforme la aridez aumenta (González-Rodríguez & Oyama, 2005; Uribe-Salas, Sáenz-Romero, González-Rodríguez, Téllez-Valdés, & Oyama, 2008). En otras regiones del mundo han reportado covariación entre el tamaño de la hoja y la precipitación y temperatura del sitio (Calagari, Modirrahmati, & Asadi, 2006; Li et al., 2006; Royer, Wilf, Janesko, Kowalski, & Dilcher, 2005). En otras especies, el menor número de mucrones y el mayor tamaño del peciolo podrían ser una estrategia del árbol para disminuir la pérdida de humedad y favorecer la captación de energía solar, asociado a una menor cantidad de luz y temperatura (González-Rodríguez & Oyama, 2005). Sin embargo, en el presente estudio solo se encontraron diferencias morfológicas sin relación significativa con las ambientales. Por lo tanto, las diferencias ambientales no parecen estar afectando a las características morfométricas de la misma manera en todos los sitios (Hoff & Rambal, 2003). Debido a la cercanía y origen común de las subpoblaciones de *Q. germana*, las diferencias morfológicas no deberían presentarse aun en ambientes distintos.

and morphological variables of *Q. laeta* in populations with a greater geographical distance, so that the effect of fragmentation and the environment is significant. Conversely, in this study, the differences found in the foliar morphology are significant but have no relation to the environment.

Conclusions

It is noteworthy that even though the distances are short between each sub-population of *Q. germana*, morphological and environmental differences can be observed; however, there is no association between both types of differences. In this manner, fragmentation could be affecting foliar morphology without it being related to the environmental conditions. The morphological variables that determine this differentiation are the number of mucrones, the number of ribs and the size of the petiole.

End of English version

References / Referencias

- Álvarez, E. Á., Sánchez-González, A., & Granados-Sánchez, D. (2009). Análisis de la variación morfológica foliar en *Quercus laeta* Liebm. en el parque nacional Los Mármoles, Hidalgo, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 15(2), 87–93. Obtenido de http://www.chapingo.mx/revistas/forestales/contenido.php?id_revista_numero=40
- Bacilieri, R., Ducouso, A., & Kremer, A. (1995). Genetic, morphological, ecological and phenological differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of northwest of France. *Silvae Genetica*, 44, 1-10. Obtenido de http://allgemeineforstundjagdzeitung.com/fileadmin/content/dokument/archiv/silvaegenetica/44_1995/44-1-1.pdf
- Borazan, A., & Babaç, M. T. (2003). Morphometric leaf variation in oaks (*Quercus*) of Bolu, Turkey. *Annales Botanici Fennici*, 40, 233–242. Obtenido de <http://www.annbot.net/PDF/anbf40/anbf40-233.pdf>
- Calagari, M., Modirrahmati, A. R., & Asadi, F. (2006). Morphological variation in leaf traits of *Populus euphratica* Oliv. Natural populations. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 8, 754–758. Obtenido de http://www.fspublishers.org/published_papers/14745_..pdf
- Cardillo, E., & Bernal, C. J. (2006). Morphological response and growth of cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings at different shade levels. *Forest Ecology and Management*, 222, 296–301. doi: 10.1016/j.foreco.2005.10.026
- Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas (CDI). 2004. Consultado 06-01-2014 en http://www.cdi.gob.mx/pnuma/c3_06.html

Por lo anterior, la hipótesis de que las diferencias morfológicas entre los sitios pueden estar siendo potenciadas por la fragmentación se acepta, incluso cuando no estén asociadas con el ambiente. Álvarez et al. (2009) encontraron relación entre las variables ambientales y morfológicas de *Q. laeta* en poblaciones con mayor distancia geográfica, por lo que el efecto de la fragmentación y el ambiente es significativa. En cambio, en este estudio, las diferencias encontradas en la morfología foliar son significativas pero sin relación con el ambiente.

Conclusiones

Es notable que aunque existen distancias cortas entre cada subpoblación de *Q. germana* se pueden observar diferencias morfológicas y ambientales; sin embargo, no existe una asociación entre ambos tipos de diferencias. De este modo, la fragmentación podría estar afectando a la morfología foliar, sin estar relacionada con las condiciones ambientales. Las variables morfológicas que determinan esta diferenciación son el número de mucrones, el número de nervaduras y el tamaño del peciolo.

Fin de la versión en español

- Dow, B. D., & Ashley, M. V. (1998). High levels of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites. *Journal of Heredity*, 86, 62–70. doi: 10.1093/jhered/89.1.62
- Excoffier, L. (2001). Analysis of population subdivision. In D. J. Balding, M. Bishop, & C. Cannings (Eds.) *Handbook of statistical genetics* (pp. 271–307). New York, USA: John Wiley & Sons, Ltd.
- Fernández-M. J., & Sork, V. L. (2007). Genetic variation in fragmented forest stands of the Andean Oax *Quercus humboldtii* Bonpl. (Fagaceae). *Biotropica*, 39(1), 72–78. doi: 10.1111/j.1744-7429.2006.00217.x
- 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, 427–435. doi: 10.1111/j.1095-8339.2004.00394.x
- Halloy, S. R. P., & Mark, A. F. (1996). Comparative leaf morphology spectra of plant communities in New Zealand, the Andes and the European Alps. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 26, 41–78. doi: 10.1080/03014223.1996.9517504
- Hoff, C., & Rambal, S. (2003). An examination of the interaction between climate, soil and leaf area index in a *Quercus ilex* ecosystem. *Annals of Forest Science*, 60, 153–161. doi: 10.1051/forest:2003008
- Hovenden, M. J., & Vander S. J. K. (2006). The response of leaf morphology to irradiance depends on altitude of

- origin in *Nothofagus cunninghamii*. *New Phytologist*, 169, 291–297. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01585.x
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Consultado 06-01-2012 en <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/mapadigital/>
- Li, C., Zhang, X., Liu, X., Luukkanen, O., & Berninger, F. (2006). Leaf morphological and physiological responses of *Quercus aquifolioides* along an altitudinal gradient. *Silva Fennica*, 40, 5–13. Obtenido en <http://210.75.237.14/handle/351003/21866>
- Nikolic, N. P., Krstic, B. D., Pajevic, S. P., & Orlovic, S. S. (2006). Variability of leaf characteristics in different pedunculate oak genotypes (*Quercus robur* L.). *Proceedings for Natural Sciences, Matika Srpska Novi Sad*, 110, 95–105. doi: 10.2298/ZMSPN0611095N
- Ponton, S., Dupoguey, J., & Dreyer, E. (2004). Leaf morphology as species indicator in seedlings of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl.: Modulation by irradiance and growth flush. *Annals of Forest Science*, 61, 73–80. doi: 10.1051/forest:2003086
- Royer, D. L., Wilf, P., Janesko, D. A., Kowalski, E. A., & Dilcher, D. L. (2005). Correlations of climate and plant ecology to leaf size and shape: Potential proxies for the fossil record. *American Journal of Botany*, 92, 1141–1151. doi: 10.3732/ajb.92.7.1141
- Sack, L., Melcher, P. J., Liu, W. H., Middleton, E., & Pardee, T. (2006). How strong is intracanalopy leaf plasticity in temperate deciduous trees? *American Journal Botany*, 93, 829–839. doi: 10.3732/ajb.93.6.829
- Sáenz-Romero, C., Snively, A. E., & Linding-Cisneros, R. (2003). Conservation and restoration of pine forest genetic resources in Mexico. *Silvae Genetica*, 52, 233–237. Obtenido de: http://www.germanjournalofforestresearch.com/fileadmin/content/dokument/archiv/silvaeogenetica/52_2003/52-5-6-233.pdf
- StatSoft. (2004). STATISTICA, version 7.0. User guide and documentation. Oklahoma, USA: Author.
- Tovar-Sánchez, E., & Oyama, K. (2004). Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in México: Morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany*, 91, 1352–1363. doi: 10.3732/ajb.91.9.1352
- Uribe-Salas, D., Sáenz-Romero, C., González-Rodríguez, A., Téllez-Valdéz, O., & Oyama, K. (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, 2121–2126. doi: 10.1016/j.foreco.2008.08.002
- Warren, Ch. 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, 1369–1378. doi: 10.1093/treephys/25.11.1369
- Williams-Linera, G. (2002). Tree species richness complementarity, disturbance and fragmentation in a Mexican tropical montane cloud forest. *Biodiversity Conservation*, 11, 1825–1843. doi: 10.1023/A:1020346519085