

ESTUDIO DE RESISTENCIA Y/O TOLERANCIA AL ATAQUE DE *Andricus quercuslaurinus*

Objetivos de la investigación

Se sabe que el flujo génico entre especies del género *Quercus* que pertenecen a la misma sección y comparten áreas de distribución suele ser frecuente, encontrando híbridos naturales en todas las secciones de este género.

El estudio pretende analizar si la hibridación entre las especies *Q. laurina* y *Q. affinis* de la sección Lobatae (encinos rojos) puede jugar un papel importante en la definición de los caracteres de resistencia ya mencionados que se expresan en los árboles poco afectados por *A. quercuslaurinus*.

Objetivos generales

Analizar los caracteres a nivel morfológico y molecular que diferencian a los árboles que son más vulnerables y los que muestran una aparente resistencia a los ataques de *A. quercuslaurinus* mediante comparaciones cualitativas y cuantitativas para establecer las bases de una posible estrategia de repoblación con árboles resistentes en las regiones con alta mortalidad de encinos por el ataque de la avispa agalladora.

Objetivos específicos

- Diagnosticar y cuantificar el nivel de daño entre árboles atacados y los que se consideran resistentes y establecer las diferencias entre ambos.
- Identificar, describir y comparar colectas botánicas de árboles dañados y no dañados por la avispa agalladora *A. quercuslaurinus*.
- Caracterizar y comprar a nivel molecular los individuos dañados y no dañados.

Hipótesis general

La menor incidencia de *A. quercuslaurinus* en ciertos árboles de *Q. affinis* está relacionada con diferencias morfológicas y moleculares en comparación con los son fuertemente atacados.

Hipótesis específica

La posible hibridación con *Q. laurina* juega un papel importante con la resistencia o tolerancia a la incidencia de *A. quercuslaurinus*.

Existe diferencia significativa en el nivel de afectación de los árboles muy dañados y los que se consideran resistentes.

Evidencia de resistencia en *Quercus affinis* Scheidw. al agallador *Andricus quercuslaurinus* Melika & Pujade-Villar considerando intensidad de daño

Resumen.

Se llevó a cabo una cuantificación de intensidad de daño en ramas y porcentaje de afectación por agallas de hoja provocadas por *Andricus quercuslaurinus* en árboles de *Quercus affinis* clasificados en vulnerables y resistentes, según presentaran o no agallas en el tallo principal, respectivamente. Se detectó que un 13.62 % pudieron ser clasificados como resistentes con respecto al total de los árboles contabilizados. En cuanto a las agallas de rama se determinó que la incidencia media en árboles resistentes es 16.92 % de la de árboles vulnerables, mientras que en hoja fue de 2.59 % y 21.10 % en resistentes y vulnerables respectivamente, con una proporción de 12.25 % entre los grupos, se pudieron detectar árboles con incidencia nula al menos en agallas de rama. Los niveles de incidencia indican una marcada diferencia

de daño entre grupos siendo más variable entre los vulnerables, esta diferencia en la intensidad de daño puede ser empleada para selección de líneas de resistencia que permita disminuir la afectación de la avispa agalladora en áreas vecinas, así como para la recuperación de la especie en las áreas previamente afectadas.

Introducción.

El empleo de la resistencia genética en las especies hospedantes es una alternativa que parece aplicable para el manejo a largo plazo de enfermedades o de insectos plaga en ambientes naturales, los componentes de investigación, mejora de árboles y restauración y reforestación son necesarios para establecer programas de resistencia genética con cierto éxito (Sniezko & Koch, 2017). Aunque hasta ahora la mayoría de los esfuerzos para tales casos están encaminados a un monitoreo epidemiológico detallado y a la búsqueda de soluciones a corto plazo (Sniezko & Koch, 2017), casos recientes como el del barrenador esmeralda del fresno han obtenido ciertos indicadores de resistencia basados en árboles que sobreviven a la infestación (Koch, Carey, Mason, Poland, & Knight, 2015).

Los programas de evaluación de la salud forestal permite conocer el comportamiento de plagas y enfermedades desde los estados tempranos como epidemia y deducir el potencial total posterior de la plaga, además de representar una oportunidad única para la evaluación de presencia de resistencia en la especie hospedante y construir planes de manejo o mitigación de los impactos de los patógenos o insectos basados en resistencia genética de forma exitosa (Sniezko & Koch, 2017).

En los encinos se ha evaluado resistencia y factores causales de esta característica al defoliador *Tortrix viridiana* siendo uno de los primeros trabajos el de Satchell (1962) y los estudios recientes de Kersten et al. (2013), (Ghirardo, Heller, Fladung, Schnitzler, & Schroeder, 2012) y Schroeder & Degen (2008), siendo uno de los casos de resistencia genética en bosque natural más estudiados.

Andricus quercuslaurinus Melika & Pujade-Villar, una avispa agalladora del encino es uno de los problemas más serios para *Quercus affinis* Scheidw. ya que desde el año 2006 ha provocado la mortalidad de miles de árboles en bosque de encino – pino de Acaxochitlán, Hidalgo (Barrera-Ruiz, Cibrián-Tovar, Llanderal-Cázares, Cibrián-Llanderal, & Lagunes-Tejeda, 2016; Melika, Cibrián-Tovar, Cibrián-Llanderal, Tormos, & Pujade-Villar, 2009; Pujade-Villar, 2017), en las áreas dañadas se ha observado diferentes intensidades de daño e incidencia entre árboles vecinos (Pujade-Villar, 2017) que permite presumir la presencia de caracteres de resistencia dentro de la especie hospedante (Heybroek, Stephan, & Weissenberg, 1980).

El grado de daño de una plaga o enfermedad puede influir en diferentes aspectos de la productividad de la planta, y puede estar reflejado en diferentes indicadores como la fisiología interna, la tasa de desarrollo, el porcentaje de sobrevivencia al final del ciclo de producción, entre otros (Anjorin, Jolaoso, & Golu, 2013; Lindow, 1983; Neves, Oliveira, & Parra, 2006; Teng, 1983)

El grado de incidencia dentro de la población hospedante es de suma importancia para determinar los umbrales económicos, fisiológicos y de otros aspectos dentro de un sistema de producción, pero además, representa un indicador de resistencia que podría ser empleado como base para análisis más profundos ante la plaga o enfermedad específica (Heybroek et al., 1980; Painter, 1951).

Materiales y Métodos.

Las mediciones se llevaron a cabo en 4 parcelas de forma cuadrada con superficie de 100 m² ubicadas dentro del Rancho “La Victoria” en el municipio de Acaxochitlán, Hidalgo, dentro de las cuales los árboles con un diámetro normal mínimo de 2 cm fueron clasificados en vulnerables y resistentes, los árboles que presentaban agallas en el tallo principal fueron considerados como vulnerables mientras que los resistentes fueron los que no mostraron daño en dicho tallo, Se contabilizaron todos los árboles de cada grupo. a continuación, se presenta el procedimiento empleado para las agallas de rama y de hojas.

Agallas de Rama

Se midió la longitud en cm de las agallas presentes en los todos los árboles resistentes y un número equivalente de árboles vulnerables. Se obtuvo la media de agallas presentes por árbol en cada parcela y por grupos.

Análisis

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) en el programa Statistical Analysis Software (SAS) Versión 9.4. para detectar diferencias significativas entre las medias, posteriormente se realizaron las comparaciones mediante las técnicas LSD, Duncan, Tukey y Scheffé para verificar qué medias eran las que presentaban diferencias significativas.

Agallas de hoja

En los mismos árboles en los que se realizó la medición de agallas de rama se contabilizaron 100 hojas en cada árbol, seleccionadas de forma aleatoria, de las cuales se registró el número de agallas presentes en cada hoja.

Análisis

Mediante un análisis de varianza (ANOVA) con el paquete Statistical Analysis Software (SAS) Versión 9.4 se determinó la presencia de diferencias significativas entre las medias del porcentaje de hojas con agallas presentes en cada árbol por parcelas y por grupos. Posteriormente se realizó una comparación de medias múltiples con las técnicas de LSD, Tukey, Duncan, Scheffé para verificar cuales eran las medias que presentaban diferencias significativas.

Resultados.

La cantidad de árboles resistentes con respecto al total que fueron contabilizados en las cuatro parcelas es el 13.62 %. En la Tabla 1. Cantidad y promedios de los árboles contabilizados en cada parcela y por grupos se muestra un resumen de los porcentajes para cada una de las parcelas, observándose un mínimo de 9.74 % en la parcela 4 y un máximo de 17.24 % en la parcela 1.

Tabla 1. Cantidad y promedios de los árboles contabilizados en cada parcela y por grupos

Parcelas	Total de árboles	No. Árboles resistentes	No. Árboles vulnerables	Árboles resistentes (%)	Árboles vulnerables (%)
1	87	15	72	82.76	17.24
2	84	21	63	75.00	25.00
3	211	22	189	89.57	10.43
4	154	15	139	90.26	9.74
Total	536	73	463	86.38	13.62

Agallas de rama

La media de agallas del grupo de árboles resistentes representa el 16.92 % de la media de agallas de los clasificados como vulnerables, con un mínimo de 11.34 % en la parcela 1 y 21.19 % en la parcela 3 (Ver Tabla 6).

En la Tabla 2 se muestran los datos que describen los grupos de los árboles que fueron medidos para la comparación de intensidad de daño entre parcelas y en la última fila de esta los que fueron considerados para la comparación entre grupos. En los análisis de varianza se detectaron diferencias significativas con F de $26.57 > 2.46$ y $5.27 > 3.44$ entre parcelas y entre grupos respectivamente, en ambos casos los P -valores son menores de 0.0001.

En cuanto a las comparaciones de medias múltiples entre parcelas todas las técnicas mostraron una marcada homogeneidad en la incidencia de daño de los árboles resistentes, mientras que se detectó diferencias significativas entre las medias de los vulnerables, como



se puede apreciar en la Tabla 3.

Fig. 1. Agallas Inducidas por *Andricus quercuslaurinus*. A la izquierda: agalla en hoja inducida por la generación gámica, a la derecha, la inducida por la generación agámica en rama, ambas en *Quercus affinis* vulnerables. Fotografía: David Cibrián Tovar.

Tabla 2. Resumen de árboles considerados en el análisis para comparación de incidencia de daño por agallas de rama en la comparación entre parcelas.

Parcelas	Vulnerables					Resistentes				
	Árboles muestreados	Media de agallas (cm)	Desviación Estándar	Mín	Máx	Árboles muestreados	Media de agallas (cm)	Desviación Estándar	Mín	Máx
1	8 de 72	565.0	271.0	227.3	1151.6	8 de 15	64.1	83.6	8.0	228.0
2	23 de 63	213.8	145.7	53.4	640.3	19 de 21	45.3	27.5	0.0	95.2
3	20 de 189	254.5	89.2	123.3	412.7	19 de 22	42.1	57.4	0.0	210.7
4	12 de 139	358.7	145.1	120.9	600.0	12 de 15	64.9	88.8	0.0	259.0
Total	63 de 463	298.9	187.5	53.4	1151.6	58 de 73	50.6	61.3	0.0	259.0

Las agrupaciones según las técnicas de LSD y Duncan muestran la conformación de cuatro grupos, por la técnica de Tukey se conforman tres y cuatro por Scheffé, en todas ellas los árboles resistentes conforman un solo grupo (Ver Tabla 3).

Tabla 3. Comparación de medias múltiples entre parcelas.

MEDIAS ORDENADAS DE MAYOR A MENOR	PARCELA	Número de árboles medidos	Tipo	LSD	DUNCAN	TUKEY (HSD)	SCHEFFÉ
565.01	5	8	Vulnerable	A	A	A	A
358.69	8	12	Vulnerable	B	B	B	B
254.51	7	20	Vulnerable	C	C	B	B
213.76	6	23	Vulnerable	C	C	B	BC
64.89	4	12	Resistente	D	D	C	C

64.08	1	8	Resistente	D	D	C	C
45.30	2	19	Resistente	D	D	C	C
41.13	3	19	Resistente	D	D	C	C

Agallas de hoja

Con respecto a los análisis de varianza para la comparación de intensidad de daño por agallas de hoja se obtuvieron diferencias significativas con F de $50.39 > 2.54$ y $298.71 > 4.38$, entre parcelas y entre grupos respectivamente, con ambos P-valores menores a 0.0001. En la Tabla 4 se muestra un resumen de los datos recolectados por grupos para cada una de las parcelas. Se observaron diferencias significativas entre las medias de agallas pertenecientes a cada grupo y según las técnicas LSD y Duncan una incidencia más homogénea entre los resistentes que en los vulnerables, aunque por Tukey y Scheffe ambos grupos son homogéneos, como se puede observar en la Tabla 5.

Tabla 4. Resumen de árboles considerados en el análisis para comparación de incidencia de daño por agallas de hoja en la comparación entre parcelas.

Parcelas	Vulnerables					Resistentes				
	Árboles muestreados	Media de agallas (%)	Desviación Estándar	Mín	Máx	Árboles muestreados	Media de agallas (%)	Desviación Estándar	Mín	Máx
1	8 de 72	22.50	5.13	16.00	29.00	8 de 15	1.25	1.67	0.00	5.00
2	20 de 63	17.30	6.48	6.00	29.00	20 de 21	1.85	1.84	0.00	6.00
3	20 de 189	23.35	8.31	9.00	44.00	20 de 22	3.55	2.52	0.00	8.00
4	10 de 139	23.10	8.86	9.00	41.00	10 de 15	3.20	1.62	1.00	6.00
Total	63 de 463	21.10	7.77	6.00	44.00	58 de 73	2.59	2.20	0.00	8.00

La media de incidencia de agallas de hoja presentes en los árboles resistentes es el 12.25 % de la de los árboles vulnerables, con un mínimo de 6.56 % en la parcela 1 y un máximo de 25.20 % en la tres. (Ver Tabla 6).

Tabla 5. Comparación de medias múltiples entre parcelas para agallas de hoja.

MEDIAS ORDENADAS DE MAYOR A MENOR	Parcela	Número de árboles considerados	Tipo	LSD	DUNCAN	TUKEY (HSD)	SCHEFFE
23.35	7	20	Vulnerable	A	A	A	A
23.10	8	10	Vulnerable	A	A	A	A
22.50	5	8	Vulnerable	A	A	A	A
17.30	6	20	Vulnerable	B	B	A	A
3.55	3	20	Resistente	C	C	B	B
3.20	4	10	Resistente	C	C	B	B
1.85	2	20	Resistente	C	C	B	B
1.25	1	8	Resistente	C	C	B	B

Tabla 6. Porcentajes observados de incidencia en resistentes (R) con respecto a la incidencia en vulnerables (V), en agallas de ramas y de hojas.

Parcelas	Incidencia media de agallas de ramas (cm)		% Incidencia R/Incidencia V	Incidencia media de agallas de hoja (%)		% Incidencia R/Incidencia V
	V	R		V	R	
	1	565.01		64.08	11.34	
2	213.76	45.30	21.19	17.30	1.85	10.69
3	254.51	42.13	16.55	23.35	3.55	15.20

4	358.69	64.89	18.09	23.10	3.20	13.85
Total	298.90	50.58	16.92	21.10	2.59	12.25

Discusión.

La incidencia de daño presente en árboles resistentes es de 16.92 % y de 12.25 % con respecto a los vulnerables, para agalla de rama y de hoja respectivamente, para el caso de las agallas de hoja donde se consideró porcentajes de hojas con presencia de agallas se obtuvo un 21.10 % y 2.20 % para vulnerables y resistentes respectivamente, Louda & Collinge (1992) determinaron que las diferencias en la resistencia o vulnerabilidad hacia ciertos insectos fitófagos pueden estar determinadas por condiciones de estrés en las plantas, otro factor que parece tener relevancia en la resistencia a insectos plaga es la riqueza de especies en el ecosistema en el que se encuentran los árboles hospedantes, más frecuentemente ante insectos con hospedante específico que los que atacan a gran cantidad de hospedantes, llamados generalistas (Guyot et al., 2015), aspectos abióticos como la altitud y exposición suelen jugar un papel importante en la resistencia de las localidades de la especie hospedante (Lehndal & Ågren, 2015).

La abundancia o escasez de agallas tanto de ramas como de hojas permite deducir la presencia de resistencia en aquellos individuos en los que es menor la incidencia con base a la definición de resistencia la cual se refiere a la presencia de menores índices de daño

causado por un insecto plaga o una enfermedad sobre individuos de la especie hospedante (Painter, 1951; Sniezko & Koch, 2017), la resistencia de una especie también puede ser expresada en la frecuencia de incidencia del insecto plaga a través del tiempo Charles, Delplanque, Marpeau, Bernard-Dagan, & Arbez (1980) determinaron diferencia en incidencia desde 2 hasta 24 ataques entre resistentes y susceptibles, respectivamente, similar a los porcentajes que se encontraron para el caso las agallas de hoja.

El comportamiento fisiológico y los rasgos del genotipo, ambos mutuamente relacionados, pueden reflejar diferencias significativas en árboles resistentes y vulnerables que posiblemente puedan predecir las causas internas que determinan la presencia de resistencia en algunos individuos en contraste con otros que se muestran susceptibles (Kersten et al., 2013).

Con un 13.62 % con respecto a la población total de árboles que pueden ser clasificados como resistentes según el criterio de clasificación utilizado. Se puede concluir que se cuenta con un número considerable para la selección de líneas de resistencia a la avispa agalladora que permita una repoblación exitosa en el área seriamente afectada. Posteriores análisis deben estar enfocados en la detección de los caracteres de los árboles resistentes que permita un mayor control de la heredabilidad de la resistencia en las generaciones subsiguientes.

Referencias Citadas.

Anjorin, S. T., Jolaoso, M. A., & Golu, M. T. (2013). A Survey of incidence and severity of pests and diseases of okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) and egg plant (*Solanum melongena* L.) in Abuja, Nigeria. *American Journal of Research Comunication*, 1(11), 333–349.

- Barrera-Ruiz, U. M., Cibrián-Tovar, D., Llanderal-Cázares, M. C. M., Cibrián-Llanderal, V. D., & Lagunes-Tejeda, Á. (2016). Chemical combat of gall wasps *Andricus quercuslaurinus* Melika & Pujade-Villar (Cynipidae) in *Quercus affinis* Scheidw. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, XXII(2), 115–123. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2015.05.020>
- Charles, P. J., Delplanque, A., Marpeau, A., Bernard-Dagan, C., & Arbez, M. (1980). Susceptibility of European black pine (*Pinus nigra*) to the European pine shoot moth (*Rhyacionia buoliana*): variations of susceptibility at the provenance and individual level of the pine and effect of terpene composition. In H. M. Heybroek, B. R. Stephan, & K. V. Weissenberg (Eds.), *Resistance to diseases and pest in forest trees* (pp. 206–212). Wageningen, Netherlands: Centre for Agricultural Publishing and Documentation.
- Ghirardo, A., Heller, W., Fladung, M., Schnitzler, J. P., & Schroeder, H. (2012). Function of defensive volatiles in pedunculate oak (*Quercus robur*) is tricked by the moth *Tortrix viridana*. *Plant, Cell and Environment*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02545.x>
- Guyot, V., Castagneyrol, B., Vialatte, A., Deconchat, M., Selvi, F., Bussotti, F., & Jactel, H. (2015). Tree diversity limits the impact of an invasive forest pest. *PLoS ONE*, 10(9), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136469>
- Heybroek, H. M., Stephan, B. R., & Weissenberg, K. V. (Eds.). (1980). *Resistance to diseases and pest in forest trees*. Wageningen, Netherlands: Centre for Agricultural Publishing and Documentation. <https://doi.org/10.1109/ICEAA.2015.7297312>
- Kersten, B., Ghirardo, A., Schnitzler, J. P., Kanawati, B., Schmitt-Kopplin, P., Fladung, M., & Schroeder, H. (2013). Integrated transcriptomics and metabolomics decipher differences in the resistance of pedunculate oak to the herbivore *Tortrix viridana* L. *BMC Genomics*,

14(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-737>

Koch, J. L., Carey, D. W., Mason, M. E., Poland, T. M., & Knight, K. S. (2015). Intraspecific variation in *Fraxinus pennsylvanica* responses to emerald ash borer (*Agrilus planipennis*). *New Forests*. <https://doi.org/10.1007/s11056-015-9494-4>

Lehndal, L., & Ågren, J. (2015). Latitudinal variation in resistance and tolerance to herbivory in the perennial herb *Lythrum salicaria* is related to intensity of herbivory and plant phenology. *Journal of Evolutionary Biology*, 28(3), 576–589. <https://doi.org/10.1111/jeb.12589>

Lindow, S. E. (1983). Estimating disease severity of single plants. *Phytopathology*, 73(11), 1576–1581.

Louda, S. M., & Collinge, S. K. (1992). Plant resistance to insect herbivores: A field test of the environmental stress hypothesis. *Ecology*, 73(1), 153–169. <https://doi.org/10.2307/1938728>

Melika, G., Cibrián-Tovar, D., Cibrián-Llenderal, V. D., Tormos, J., & Pujade-Villar, J. (2009). New species of oak gallwasp from Mexico (Hymenoptera: Cynipidae: Cynipini) – a serious pest of *Quercus laurina* (Fagaceae). *Dugesiana*, 16(2), 67–73.

Neves, A. D., Oliveira, R. F., & Parra, J. R. P. (2006). A new concept for insect damage evaluation based on plant physiological variables. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 78(4), 821–835. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652006000400015>

Painter, R. H. (1951). *Insect Resistance in Crop Plants*. *Agronomy Journal*. New York: The MacMillan Company. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72103-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72103-8)

Pujade-Villar, J. (2017). Familia Cynipidae. In D. Cibrián-Tovar (Ed.), *Fundamentos de Entomología Forestal* (pp. 353–356). Texcoco, Estado de México, México: Universidad

Autónoma Chapingo.

Satchell, J. E. (1962). Resistance in oak (*Quercus spp.*) to defoliation by *Tortrix viridana* L. in Roudsea Wood National Nature Reserve. *Annals of Applied Biology*, 50, 431–442.

Schroeder, H., & Degen, B. (2008). Spatial genetic structure in populations of the green oak leaf roller, *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera, Tortricidae). *European Journal of Forest Research*. <https://doi.org/10.1007/s10342-008-0228-4>

Snieszko, R. A., & Koch, J. (2017). Breeding trees resistant to insects and diseases: putting theory into application. *Biological Invasions*, 19(11), 3377–3400. <https://doi.org/10.1007/s10530-017-1482-5>

Teng, P. S. (1983). Estimating and interpreting disease intensity and loss in commercial fields. *Phytopathology*, 73(11), 1587–1590.

Estudio morfométrico y molecular de árboles resistentes y vulnerables al ataque de *Andricus quercuslaurinus*

1. Objetivo general

Analizar los caracteres que diferencian a los árboles que son más vulnerables y los que muestran una aparente resistencia al ataque a *A. quercuslaurinus* mediante comparaciones cuantitativas en el daño presente y de características morfológicas y moleculares para dimensionar sus diferencias, y obtener características diagnósticas que permitan su reconocimiento en campo en posibles esquemas de selección de árboles resistentes.

Objetivos específicos

1. Cuantificar el nivel de daño presente en ambos grupos de árboles, mediante comparación de daño promedio presentes. Para delimitar entre los árboles Vulnerables y los Resistentes/Tolerantes.
2. Identificar colectas botánicas de ambos grupos de árboles.
3. Comparar mediante análisis estadísticos los caracteres morfológicos presentes en cada grupo de árboles para determinar sus características diagnósticas y las diferencias entre ellos.

4. Caracterizar a nivel molecular los individuos de cada grupo de árboles mediante el Protocolo CETAB de Doyle & Doyle (1987). Para determinar las diferencias genotípicas presentes.

Objetivos específicos

1. Cuantificar el nivel de daño presente en ambos grupos de árboles, mediante comparación de daño promedio presentes. Para delimitar entre los árboles Vulnerables y los Resistentes/Tolerantes.
2. Identificar colectas botánicas de ambos grupos de árboles.

metodología

Se realizó la identificación de colecta de ejemplares botánicos y revisión en campo de los árboles de cada grupo, para determinar si pertenecían a la misma especie o mostraban rasgos que evidenciaran diferencias para clasificar de en taxas diferentes.

Resultados

De las colectas de árboles clasificados como resistentes y vulnerables se determinó que ambos pertenecen a la misma especie *Quercus affinis* Scheidw. Con escasas diferencias en las características taxonómicas diagnosticas, en otro de los objetivos, en efecto se confirmó que no existen diferencias estadísticamente significativas en las variables consideradas, todas medidas en la hoja, por ser de las órganos de la planta más usadas para la identificación a nivel específico dentro de este género.

3. Comparar mediante análisis estadísticos los caracteres morfológicos presentes en cada grupo de árboles para determinar sus características diagnósticas y las diferencias entre ellos.

Se realizó un análisis de discriminantes con las variables que a continuación se listan, en una muestra de 10 hojas por árbol y 10 árboles en cada una de las cuatro parcelas, para cada grupo, es decir, un total de 40 árboles muestreados para cada grupo.

Las variables cuantitativas que fueron medidas en cada hoja fueron las siguientes:

1. LT. Longitud total de la hoja incluyendo el peciolo hasta el ápice de la lámina.
2. LL. Longitud de la lámina.
3. Longitud del peciolo.
4. AM. Ancho máximo de la hoja, de forma perpendicular a la nervadura principal.
5. DBAM. Distancia de la base de la hoja al punto de ancho máximo.
6. ND. Número de aristas presentes en el borde de la hoja, incluida la arista apical.
7. LP/LT. Proporción de la longitud del peciolo dividida entre la longitud total de la hoja.
8. AM/LL. Proporción del ancho máximo dividido entre la longitud de la lámina.
9. DBAM/LL. Proporción de la distancia de la base al punto de ancho máximo dividido entre la longitud de la lámina.
10. ACP. Número de axilas en la nervadura principal con presencia de pubescencia.

Las siguientes fueron variables cualitativas que también fueron consideradas debido al grado de relevancia para diferenciar especies en el género *Quercus*, y que era una diferencia recurrente entre las muestras de cada grupo.

1. Forma de la base.
2. Forma del ápice.

Resultados

En la siguiente tabla se muestra un resumen de los las variables que fueron medidas para cada un de los grupos, como puede observarse, en cuanto a la media, varianza y desviación estándar, que son los indicadores utilizados para determinar si las diferencias entre los grupos son significativas, soy muy similares en ambos grupos por lo que el análisis posterior, mostró que los grupos pertenecen a uno sólo, es decir, de todas las variables consideradas ninguna muestra ser determinante para diferenciar a las poblaciones analizadas.

	Resistentes					Vulnerables				
	Media	Desv. Est.	Var.	Min	Max	Media	Desv. Est.	Var.	Min	Max
LT	7.265	0.9095	0.8271	5.2	9.8	7.401	1.0087	1.0174	5.1	10.7
LL	6.628	0.8479	0.7190	4.7	8.8	6.793	0.9689	0.9388	1.1	9.7

LP	0.637	0.1409	0.0198	0.3	1.1	0.608	0.4782	0.2287	-0.3	9.4
AM	2.002	0.3995	0.1596	1.1	3.2	2.095	0.4056	0.1645	1.2	3.7
DBAM	3.126	0.6475	0.4192	1.5	5.4	3.215	0.6284	0.3949	1.9	5.0
ND	6.943	2.3557	5.5492	1.0	15.0	7.178	2.3592	5.5660	2.0	16.0
LP/LT	0.088	0.0166	0.0003	0.0	0.1	0.081	0.0465	0.0022	0.0	0.9
AM/L										
L	0.302	0.0428	0.0018	0.2	0.5	0.317	0.1390	0.0193	0.1	2.9
DBAM										
/LL	0.471	0.0701	0.0049	0.3	0.7	0.481	0.2033	0.0413	0.3	4.4

Sin embargo, de las variables cualitativas que fueron tomadas en cuenta, la forma de la base, se logró ubicar como un indicador morfológico de gran relevancia para diferenciar ambos grupos:

Las dos formas de la base de las hojas presentes en los árboles muestra fueron la redondeada y la aguda, la especie *Q. affinis* puede mostrar de forma general estos dos tipos de hoja, sin embargo se observó cierta tendencia para diferenciar a los grupos de interés.

Se construyó una tabla de frecuencias en la que se presenta el número de forma de la base en cada grupo:

	Base Redondeada	Base Aguda	Total
Resistentes	294	106	400
Vulnerables	93	307	400
Total	387	413	800

Como puede observarse, la base redondeada es más común en los árboles resistentes mientras que la base aguda es más frecuente en el grupo de los árboles vulnerables, esta tendencia se comprobó mediante prueba de Ji – Cuadrado, de la cual como conclusión se obtuvo que efectivamente estos caracteres están asociados, el valor calculado para esta prueba fue de 202.2186, mientras que el estadístico de prueba o valor de tablas fue de 3.84, por lo que se concluye que estos caracteres están relacionados, es decir, que el árbol que

muestra con más frecuencia o proporción las bases redondeadas se puede clasificar como resistentes y aquel que muestre en mayor proporción las bases de las hojas de forma aguda se trata como vulnerable.



Caracterización a nivel molecular los individuos de cada grupo de árboles mediante el Protocolo CETAB de Doyle & Doyle (1987). Para determinar las diferencias genotípicas presentes.

Se realizó amplificación de 3 genes en muestras de los grupos y se ha obtenido el ADN de muestras de ambos grupos (Tabla 2), y amplificación de los genes Mat K, Mat K8/Mat K AF. Sin embargo no se ha logrado detectar diferencia suficiente.

Tabla 2. Amplificación de genes

	Primer	Secuencia
1	UBC-807	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGAGT-3'
2	UBC-808	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGAGC-3'
3	UBC-809	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGAGG-3'
4	UBC-811	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAGAC-3'
5	UBC-812	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAGAA-3'
6	UBC-818	5'-CACACACACACACACAG-3'
7	UBC-821	5'-GTGTGTGTGTGTGTGTGTT-3'
8	UBC-825	5'-ACACACACACACACACT-3'
9	UBC-834	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGAGCT-3'
10	UBC-840	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAGATT-3'
11	UBC-841	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAGACC-3'
12	UBC-853	5'-TCTCTCTCTCTCTCTCRT-3'
13	UBC-861	5'-ACC ACC ACC ACC ACC ACC-3'
14	UBC-866	5'-CTCCTCCTC CTCCTCCTC-3'
15	UBC-868	5'-GAAGAAGAAGAAGAAGAA-3'
16	UBC-873	5'-GAC AGA CAG ACA GAC A-3'