



00341 3
24.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**Técnicas comparadas para la
observación de aquenios de la Tribu
Senecioneae (Asteraceae) al
microscopio electrónico de barrido.**

T R A B A J O

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
**ESPECIALISTA EN MICROSCOPIA
ELECTRONICA APLICADA A LAS
CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P R E S E N T A

BIOL. ANA INES RIVAS SALAS

Directora del trabajo: **Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán**

Codirectora del trabajo: **Biol. Yolanda Hornelas Orozco**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1997



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán por la dirección y constante apoyo durante la especialidad y realización de este trabajo.

Al Dr. Jose Luis Villaseñor Rios por su colaboración durante el desarrollo del presente trabajo, por sus acertadas sugerencias y correcciones al trabajo escrito y por su apoyo para la impresión de las láminas.

A la Biol. Yolanda Hornelas por guiarme a través de los vericuetos de la microscopía electrónica de barrido e involucrarme en todos los proyectos.

A todos los sinodales y al Dr. Laguna por la revisión del manuscrito.

A los miembros del laboratorio de Citología.

A Marco, Guadalupe y Ernestina que siempre estuvieron pendientes de nuestro aprendizaje.

A la Biol. Ana Isabel Bieler por fotografiar las láminas y al Biol. Alfredo Gamboa por la impresión de las mismas.

A todos los compañeros de la especialidad: Pilar, Carmen, Elsa, Benjamín, Sara y Rafael ya que los que concluimos los dos semestres no lo habríamos logrado sin su ayuda y apoyo. Y en especial a Rafa, al que todos recordaremos por su alegría.

Doy gracias:

Al que como Trueba dijo "si existiera..... le daría las gracias pero como no existe "; a Cuqui Salas y Enrique de Rivas por instruirme y hacer de mi una persona con oficio y beneficio. A Jose, Yuye, Santiago, Gonzalo, Diego, María Jose, Fernanda, Emiliano y el hijo de Santiago por hacerme la vida más que imposible y al Dr. GomezGii + otro apellido compuesto por hacerla menos imposible.

A Thais, Marissa; Bruno; Lourdes L.; R. Pineda; Lourdes O.; Helvia, Ana, Mireya e Imanol por ser amigos.

A Paule y Emile Rosenstein; Susana Roth; Chano Bejar; Martin Foley; Alejandro Cervantes; Alex, Sandra y Bibi Dobrin; Mariano Benito y Elena Vinós; Eligio de Mateo, y Fernando Carmona por interesarse siempre.

A Rosa María, Gloria, Magdalena, Josefina, Mariana y la señora Marina clara muestra de que el trabajo de oficina no está reñido con la amabilidad y la simpatía.

A la vetanilla de posgrado, ya que a los que ahí enmarcan la cara les debo el saber comportarme ante los detentores del conocimiento universal.

A los que al proponer y aprobar en el Consejo Universitario la Especialidad en Microscopía Electrónica Aplicada a las Ciencias Biológicas, decidieron que los estudiantes deberían seguir el mismo peregrinar de trámites que los de la Maestría y Doctorado, pero sin el beneficio de obtener un grado académico.

A todos los que continúan la lucha para que la UNAM siga estando al alcance de todos los bolsillos.

Este trabajo se realizó en el Servicio Académico de Microscopía Electrónica de Barrido del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología y en el Laboratorio de Citología de la Facultad de Ciencias, bajo la Dirección de la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán; la Codirección de la Biol. Yolanda Hornelas Orozco y la Asesoría del Dr. José Luis Villaseñor Ríos.

INDICE

	pags.
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Antecedentes.....	3
Aqueño.....	5
Estilopodio.....	6
Carpopodio.....	6
Vilano.....	6-7
Tricomas.....	7
Ubicación taxonómica.....	7-8
Material y método.....	10-11
Resultados.....	12-14
Laminas.....	15-30
Discusión.....	31-32
Conclusiones.....	32
Apéndice.....	33
Bibliografía.....	34-36

RESUMEN

El microscopio electrónico de barrido (MEB) tiene una gran profundidad de foco, da una imagen tridimensional del objeto y una resolución del orden de 2 a 5 nm, estas son sin duda sus características más importantes y las que hacen que la microscopía electrónica de barrido sea una de las herramientas más utilizadas en estudios taxonómicos. Los taxónomos se valen del MEB para obtener microcaracteres cuyo detalle es difícil de observar al microscopio fotónico. En consecuencia, es necesario evaluar como afectan al material biológico los diferentes métodos de preparación de muestras biológicas. Para el estudio de las plantas de la familia Asteraceae, en especial de la tribu Senecioneae, se están utilizando en las decisiones taxonómicas caracteres micromorfológicos como los que presenta el aquenio. Este trabajo analiza, por medio del MEB, las diferencias que presentan los aquenios obtenidos de material herborizado (seco y rehidratado) y de material fijado en campo. Existen diferencias en la observación de las microestructuras dependiendo de la procedencia y procesamiento del material, las más evidentes se encontraron entre el material de herbario y los dos materiales que se sometieron a punto crítico (rehidratado y fijado en campo). En el material herborizado es difícil describir claramente los microcaracteres, sin embargo los aquenios del material rehidratado y del fijado en campo son los que presentan las mejores condiciones para la observación al microscopio electrónico de barrido.

INTRODUCCIÓN

Al final de la década de los años treinta, cuando se había logrado que la resolución del microscopio electrónico de transmisión (MET), desarrollado en 1932 por Ruska y Knoll (Bozzola y Russell, 1992), superara la obtenida con el microscopio fotónico y la compañía Metropolitan Vickers había lanzado el primer prototipo del MET, von Ardenne y Knoll construían en 1938 el prototipo de un microscopio electrónico de barrido (MEB) (Bozzola y Russell, 1992). Después de varias modificaciones hechas por Zworykin, McMullan y Oatley en 1963 (Bozzola y Russell, 1992), se lanzó comercialmente el primer MEB (Bozzola y Russell, 1992; Hearle, et al. 1972). El advenimiento de los microscopios electrónicos dio un gran impulso a la ciencia y con el acceso a ellos (en la década de los 60), la Biología y otras ciencias se vieron favorecidas y, en muchas de sus áreas, éstos fueron instrumentos indispensables. Como consecuencia se introdujeron nuevos términos como micromorfología y ultraestructura, entendiéndose como característica micromorfológica aquella que puede ser observada fácilmente bajo el MEB, y usando el término ultraestructura para las estructuras observadas bajo el MET (Stace, 1984).

Debido al aumento que se obtiene (de hasta 200 000 veces el tamaño de la muestra), a la gran profundidad de foco, a la resolución del orden de 2 a 5 nm y a que el MEB proporciona una imagen en tercera dimensión, es posible identificar muchas características y progresar en la detección de rasgos no bien conocidos y de aquellos nunca vistos, así como observar especímenes con prominente ornamentación o marcada superficie en relieve.

El empleo de la microscopía óptica como herramienta de la taxonomía ha tenido un gran desarrollo desde el siglo pasado, cuando el microscopio se volvió un instrumento de uso cotidiano y permitió observar y describir estructuras muy pequeñas (Stace, 1984). En comparación con las técnicas requeridas para el MET, el MEB ha proporcionado una forma de estudio rápida, repetible y comparable de muchas características micromorfológicas, que se han convertido en caracteres taxonómicos y que no se habían podido observar en detalle con

el microscopio fotónico. Entre ellas podemos mencionar a las esporas, los granos de polen, la arquitectura de los estomas en las hojas, la superficie de semillas y frutos, etc. (Stace, 1984).

El uso de la microscopía electrónica de barrido es ahora un apartado especial dentro de la literatura taxonómica (Heywood, 1971). En consecuencia es necesario evaluar como afectan al material biológico los diferentes métodos de preparación de las muestras que inciden directamente en su observación. Existen trabajos en los que se comparan diferentes técnicas de fijación, de secado y recubrimiento del material biológico tanto animal como vegetal (Bray *et al.*, 1993; Hanks y Fairbrothers, 1970; Tanaka, 1994). Sin embargo, hasta el momento no se ha encontrado en la bibliografía revisada documento alguno donde se exponga cómo influyen las diferentes fuentes de origen de una misma muestra de que dispone un taxónomo (*materia herborizada y materia fresco*), para la observación de las estructuras al microscopio electrónico de barrido (MEB).

Por lo anteriormente expuesto, el presente trabajo tiene como propósito comparar las diferencias que pueden existir en la micromorfología de algunos aquenios de la Tribu Senecioneae (Asteraceae), respecto a la procedencia del material y a la forma en la que fue procesado para su observación al MEB.

ANTECEDENTES

La familia Compositae o Asteraceae constituye la más diversa y ampliamente distribuida dentro de las plantas con flores y aún no se ha definido el número de miembros, tanto a nivel genérico como específico. Turner (1977) estima que existen alrededor de 1,300 géneros y cerca de 22,000 especies; Cronquist (1981) calcula unas 20,000 especies distribuidas en aproximadamente 1,100 géneros (Villaseñor, 1993).

La mayoría de los miembros del grupo son herbáceos, encontrándose también arbustos y árboles pequeños. El rasgo más característico de esta familia es que un gran

número de flores, pequeñas y sésiles, se encuentran sobre un receptáculo común rodeado por un involucre de filarios o brácteas involucrales. La cabezuela semeja una sola flor y es por esta característica que se les denomina compuestas, ya que lo que parece ser una flor, es en realidad un conjunto de flores (McVaugh, 1983; Villaseñor, 1993).

Una cabezuela está compuesta por un grupo numeroso de flores al centro, denominadas flores del disco. Alrededor de este grupo central existe una serie o series de flores del radio; cada una de estas, cuando presente, tiene una corola extendida en forma de un pétalo. Las flores son bisexuales o unisexuales por aborción del gineceo; los estambres pueden estar ausentes en las flores del radio. El cáliz está ausente o modificado en una estructura muy peculiar y variable denominada vilano. El fruto es un aquenio que por definición es seco, indehiscente, que contiene una semilla (Fahn, 1990; Villaseñor, 1993, Weberling, 1989, McVaugh, 1983) (figura 1).

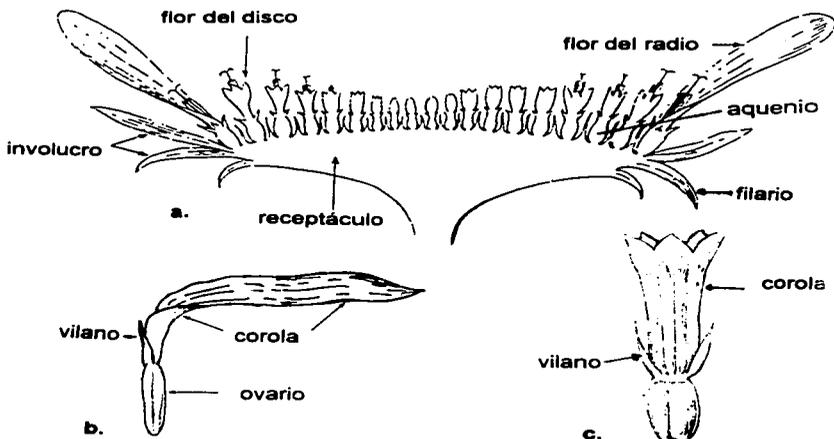


Figura 1. Cabezuela típica de una compuesta. a, corte longitudinal de una cabezuela; b, flor del radio; c, flor del disco (Adapatado de Porter, 1959).

A continuación se discuten algunos aspectos importantes de la morfología general del aquenio de una compuesta:

Aquenio

Los aquenios pueden ser iguales en toda la cabezuela, o puede haber marcadas diferencias entre los aquenios de las flores del disco y los aquenios de las flores del radio. Pueden ser columnares, ligeramente alargados desde la base hasta el ápice (claviformes), elipsoides, obovoides o subglobosos. En general, los aquenios del disco están radialmente comprimidos, y los aquenios del radio tienden a estar tangencialmente comprimidos. Pueden estar acostillados, y ser desde glabros (sin tricomas) hasta pilosos (McVaugh, 1983; Villaseñor, 1991) (figura 2).

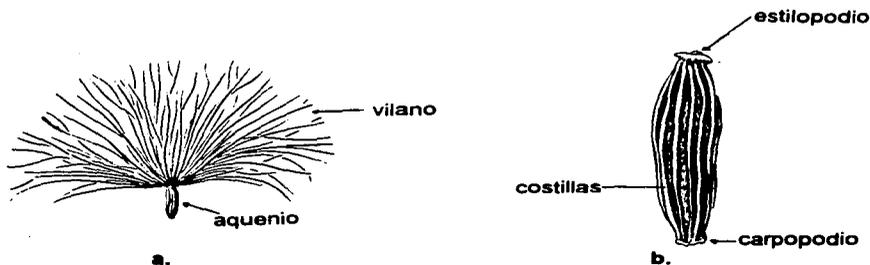


Figura 2. Morfología de un aquenio. a, aquenio completo; b, aquenio con el vilano desprendido (Adaptado de Wood, 1974).

Estilopodio

El estilopodio es una estructura compuesta que está formada por la porción basal del estilo, el área de inserción del estilo al aquenio y un nectario que yace en la parte superior del aquenio (Wetter, 1983).

Carpopodio

El carpopodio o carpóforo es la región basal del aquenio, el punto de unión del aquenio al receptáculo. Está compuesto de una serie, o más, de líneas celulares que por lo general se pueden diferenciar bien del resto de las células de la pared del aquenio (Wetter, 1983). Robinson y Brettell (1973) describen dos tipos de carpopodio: a) elongado-cilindrico con células oblongas de paredes gruesas y b) corto y con células cuadradas que generalmente tienen las paredes delgadas (figura 3).



Figura. 3. Carpopodio y células carpopodiales (Robinson y Brettell, 1973). a, carpopodio elongado-cilindrico con células oblongas de paredes gruesas y b, carpopodio corto con células cuadradas.

Vilano

El vilano o pappus se encuentra insertado en la parte superior del aquenio, en el sitio donde estaría el cáliz. Los elementos que lo componen pueden estar ordenados radial o bilateralmente. El vilano puede estar constituido por numerosas cerdas capilares. Puede ser plumoso o barbado. Jeffrey (1987) describe cinco formas en que pueden estar dispuestos, en la punta, los elementos del vilano en la tribu Senecioneae. Estas pueden ser clavada, ahusada o con las cerdas invertidas (figura 4).

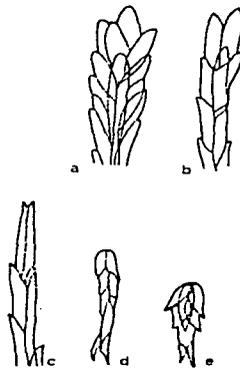


Figura 4. Disposición de las cerdas en el ápice del vilano.
a, clavada; b, c, ahusada, d, e, invertida (Jeffrey, 1987).

Tricomas

Sobre las costillas de los aquenios se pueden encontrar tricomas duplex o dobles (Villaseñor, 1986).

UBICACIÓN TAXONÓMICA DE LA FAMILIA (Bremer, 1995)

Clase Magnoliopsida

Subclase Asteridae

Orden Asterales

Familia Asteraceae o Compositae

Tribu

Anthemideae

Astereae

Arctoteae

Calenduleae

Cardueae

Eupatorieae

Gnaphalieae

Helenieae

Heliantheae

Inuleae

Lactuceae

Liabeae

Mutisieae

Plucheeae

Senecioneae

Vernonieae

En la familia Asteraceae las características micromorfológicas no son ampliamente aceptadas como una fuente estándar de datos, y existen diversas opiniones sobre el valor taxonómico que se les debe dar (Grashoff y Turner, 1970; King y Robinson, 1970; Stuessy, 1990). King y Robinson (1970) proponen algunos microcaracteres importantes para la taxonomía del grupo, entre ellos mencionan la estructura de la superficie de los lóbulos de la corola, la estructura celular de las ramas del estilo, la forma y textura del nodo del estilo, la forma de las células del endotecio, la estructura del collar de las anteras, la pubescencia de la corola, la distribución de los tricomas en el aquenio y la estructura celular del carpopodio. Como ejemplos del uso de microcaracteres en estudios taxonómicos, pueden citarse los trabajos de Stuessy (1973) quien por las diferencias en el vilano separa en dos especies al género *Baltimora* (Heliantheae): *B. recta* L. y *B. geminata* (Brandegeae). Por otra parte, Robinson y Brettell (1973) describen las diferencias en el ordenamiento de las células carpopodiales.

Más recientemente varios autores han empleado un conjunto de caracteres micromorfológicos en los estudios de las Asteraceae. Utilizando estos caracteres han propuesto muchos géneros nuevos y resurgido muchos otros de la sinonimia, especialmente en la tribu Eupatorieae y Senecioneae (Wetter, 1983). Desafortunadamente, las descripciones publicadas de los taxa dentro de la tribu Senecioneae no son comparables, y no se pueden utilizar como una base de datos para un análisis sistemático. Jeffrey (1987) propone, basado en los conjuntos de datos utilizados por Drury (1967), Jeffrey et al. (1977) y Vincent (1984), y en algunos caracteres discutidos por Wetter (1983), una serie de caracteres como una primera

contribución para el desarrollo de un conjunto de datos estandarizados, que puedan ser obtenidos con rapidez y por medio de técnicas sencillas.

En este estudio, las regiones y microcaracteres a analizar fueron las siguientes:

- a. Forma del aquenio
- b. Estilopodio
- c. Región superior y número de costillas del aquenio
- d. Vilano y área de inserción
- e. Células de la pared del aquenio
- f. Carpopodio
- g. Tricomas

MATERIAL Y MÉTODO

Las especies objeto del presente trabajo son las siguientes:

Senecio bracteatus Klatt, *Senecio callosus* Sch. Bip., *Senecio deformis* Klatt, *Senecio helodes* Benth., *Senecio iodanthus* Greenm., *Senecio sanguisorbae* DC. y *Senecio stoechadiformis* DC. Los datos de colecta se encuentran en el Apéndice y los ejemplares de respaldo están depositados en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la U.N.A.M. (MEXU).

Se tomaron flores del disco y, bajo el microscopio estereoscópico, se desprendió el vilano y se separó el aquenio de la flor. Se observaron al menos cinco aquenios de cada espécimen.

Procedencia del material (figura 5)

El material utilizado en esta investigación tiene dos fuentes de origen:

1. Material obtenido de los ejemplares de herbario (material herborizado).
2. Material obtenido directamente de colectas en el campo (material fijado en campo).

Procesamiento de las muestras

1. **Material herborizado.** Directamente de los ejemplares de herbario, los aquenios se colocaron en un portamuestras con una cinta adhesiva conductiva de dos caras y se cubrieron con oro.

2. **Material herborizado rehidratado.** Los aquenios colectados de ejemplares de herbario se hidrataron durante una hora en la solución de Pohl (Radford, *et al.* 1974:1% Aerosol OT, 74% agua destilada, 25% alcohol etílico). Se deshidrataron en una serie gradual de alcoholes (30% a 100%), con cambios de tres horas en cada alcohol, más un cambio final de acetona al 100%. El material se desecó a punto crítico, se montó y cubrió con oro al igual que el material de herbario.

3. **Material fijado en campo.** El material colectado en campo, se fijó inmediatamente en F.A.A. (50% formol, 63% etanol, 5% ácido acético, 27% agua). Se deshidrató en una serie de

alcoholes graduales (30% a 100%), con cambios de tres horas en cada alcohol, más un último cambio en acetona absoluta. Se desecó a punto crítico, se montó y se cubrió igual que los otros dos tipos de material.

El material se desecó en una campana de presión Chamber C.P.A. II. La campana de ionización que se empleó fue Jeol JFC 100. El material fue observado bajo un microscopio electrónico de barrido JMS-35. Se utilizaron placas de película fotográfica TRI-X Pan de 4x5" que fueron positivadas por contacto en papel policontrast. Las imágenes obtenidas se utilizaron para el análisis.

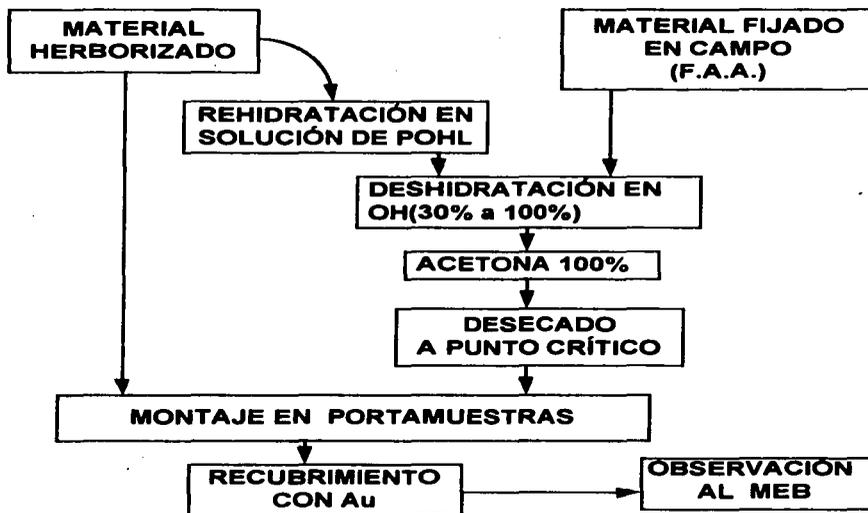


Figura 5. Diagrama de flujo del procesamiento de las muestras.

RESULTADOS

Los aquenios de *Senecio bracteatus* y *S. callosus* sirven como ejemplo para ilustrar los resultados obtenidos en este estudio. En ambas especies los aquenios procedían tanto de material herborizado como de material fresco obtenido en colectas de campo. También en ambas especies los aquenios se procesaron en las tres formas descritas en la metodología y se analizaron las mismas regiones y microcaracteres.

S. helodes, *S. sanguisorbae*, *S. stoechadiformis* y *S. iodanthus* también fueron estudiadas: sin embargo, en los resultados sólo se incluyen algunas fotografías para ejemplificar cambios en estructuras que no poseen *S. bracteatus* y *S. callosus*, como son los tricomas, las células de la pared del aquenio y el carpopodio.

FORMA GENERAL DEL AQUENIO (Lámina 1)

No se encontró alguna diferencia marcada entre los aquenios de los tres tipos de material. En todos se puede describir la forma general del aquenio y contar el número de costillas. En el *material herborizado* las costillas se ven delgadas (figuras 1 y 4). En el *material herborizado rehidratado* (figuras 2 y 5) las costillas se observan delgadas. En cambio, en el *material fijado en campo* las costillas se observan gruesas (figuras 3 y 6).

REGIÓN SUPERIOR DEL AQUENIO (Lámina 2)

En el *material herborizado*, las células de la pared del aquenio en el área que está debajo de la inserción del vilano están contraídas y no se puede describir la forma que tienen ni el número de líneas celulares que hay. En donde se inicia el vilano las células están turgentes (figuras 7 y 11).

Los resultados obtenidos en el *material herborizado rehidratado* y el *material fijado en campo* fueron similares. En el área debajo de la inserción del vilano, las células están turgentes y se puede ver su forma y contar el número de células. (*Material herborizado rehidratado*, figuras 8 y 12; *Material fijado en campo*, figuras 10 y 13).

Estilopodio (Lámina 3)

En el *material herborizado*, esta región presenta células colapsadas. En la parte media se observan estomas que están contraídos (figuras 14 y 17).

Todos, salvo uno de los ejemplares de las especies de *material herborizado rehidratado* presentaron el estilopodio con células y estomas contraídos (figuras 15 y 18). *S. sanguisorbae* fue el único de los ejemplares que presentó las paredes turgentes al igual que los estomas; estos resultados no se presentan en microfotografías.

Los ejemplares de las especies del *material fijado en campo* presentaron esta región con células y estomas turgentes; la disposición y número de los estomas varía de especie a especie, pero en casi todos los ejemplares se observaron en relieve con respecto al resto de las células, formando un anillo. *S. callosus* (Villaseñor *et al.* 1345) fue el único ejemplar en el que tres de los aquenios presentaban esta región con células ligeramente colapsadas, al igual que los estomas (figuras 16 y 19).

VILANO Y ÁREA DE INSERCIÓN (Lámina 4)

En los tres tipos de material, herborizado (figuras 20 y 23), herborizado rehidratado (figuras 21 y 24) y fijado en campo (figuras 22 y 25) se observa claramente tanto la disposición del vilano como las líneas de inserción y se puede contar el número de células que forman la base del vilano. En la parte apical y en la parte media, el vilano está turgente.

TRICOMAS Y CÉLULAS DE LA PARED DEL AQUENIO (Láminas 5-8)

De los ejemplares del material herborizado, en *S. bracteatus* se observa lo que podrían ser tricomas muy largos, delgados y colapsados (figura 26). En *S. callosus* se observan pequeños tricomas del tipo duplex, que en algunas regiones están colapsados (figura 29). En *S. stochaediformis* los tricomas de tipo duplex son largos y no están colapsados; las células de la pared del aquenio están colapsadas y en la región en que colinda una célula con otra se observan pequeñas protuberancias (figuras 31 y 32).

En el *material herborizado rehidratado*, el ejemplar de *S. bracteatus* presenta hifas de hongos (figura 27). En *S. callosus* algunos tricomas duplex están ligeramente colapsados, y otros totalmente colapsados (figura 30). Las células en la pared del aquenio también están totalmente colapsadas (figuras 37 y 40), pero en un ejemplar de *S. bracteatus* están turgentes (figura 36).

Los tricomas del *material fijado en campo* están turgentes (figuras 28, 33 y 34). Las células de la pared del aquenio se pueden observar desde totalmente turgentes (figuras 33, 34, 38, 41, 44 y 46) hasta completamente colapsadas (figuras 42 y 45). En *S. stoechadiformis* se observan líneas entre célula y célula y protuberancias en los extremos de cada célula (figura 34).

CARPOPODIO (Láminas 7 y 8)

La forma del carpopodio en los ejemplares del *material herborizado* es difícil de determinar en todos los ejemplares, aunque las células carpopodiales están turgentes. En *S. bracteatus*, las líneas que forman estas células están compactadas (figura 35). En algunos ejemplares, como *S. callosus*, las líneas formadas no tienen apariencia compactada (figura 39).

La mayoría de los aquenios del *material herborizado rehidratado* presentan un carpopodio con forma difícil de determinar, aunque con células también turgentes (figura 40). Se encontraron algunos aquenios que presentaban las células turgentes y sin colapsar, entre el cuerpo del aquenio y el carpopodio (figuras 36 y 37).

En los ejemplares de *material fijado en campo*, las células carpodiales están turgentes y sin compactar. Se pudo contar el número de líneas celulares carpopodiales, así como determinar la forma de los carpopodios, ya que no había ninguna región colapsada (figuras 38, 41, 43 y 44).

LÁMINA 1
FORMA GENERAL DEL AQUENIO

Microfotografías al MEB de:

Senecio bracteatus. Figuras 1-3.

Material herborizado. Figura 1, iv-inserción del vilano; c-carpopodio;
→ costillas, v-vilano.

Material herborizado rehidratado. Figura 2, iv-inserción del vilano;
c-carpopodio; → costillas.

Material fijado en campo. Figura 3, iv-inserción del vilano; c-carpopodio;
→ costillas.

Senecio callosus. Figuras 4-6.

Material herborizado. Figura 4, iv-inserción del vilano; c-carpopodio;
→ costillas.

Material herborizado rehidratado. Figura 5, iv-inserción del vilano;
c-carpopodio; → costillas; v-vilano.

Material fijado en campo. Figura 6, iv-inserción del vilano; c-carpopodio;
→ costillas; v-vilano.

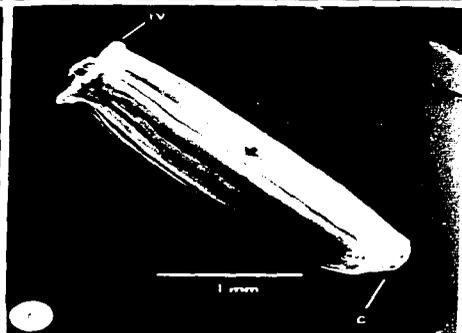
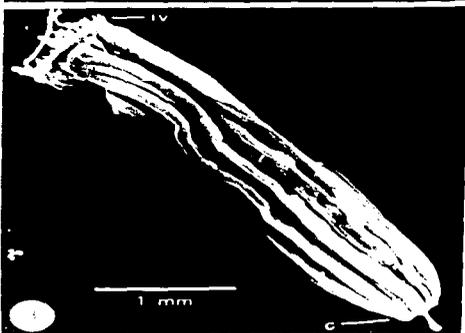
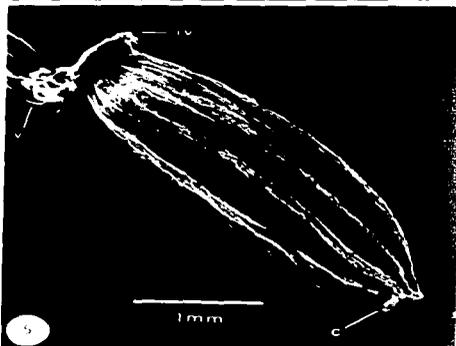
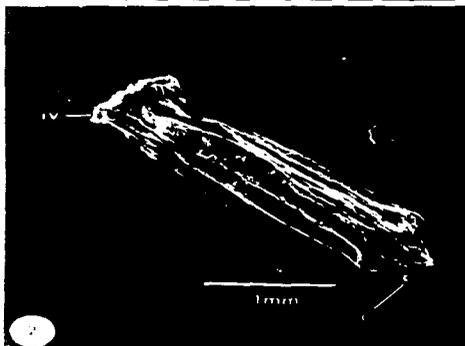
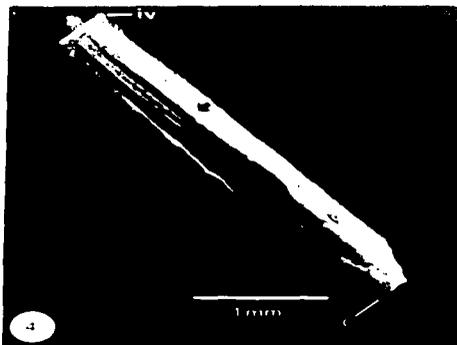
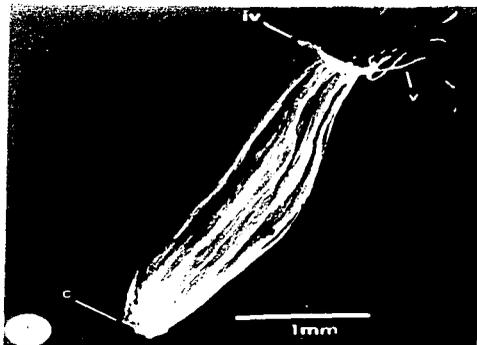


LÁMINA 2

REGIÓN SUPERIOR DEL AQUENIO

Microfotografías al MEB de:

Senecio bracteatus. Figuras 7-10.

Material herborizado. Figura 7, **iv**-inserción del vilano; **h**-hifas de hongos; → región debajo de la inserción del vilano.

Material herborizado rehidratado. Figuras 8, **iv**-inserción del vilano; → región debajo de la inserción del vilano. Figura 9, **iv**-inserción del vilano; → región debajo de la inserción del vilano.

Material fijado en campo. Figura 10, → región debajo de la inserción del vilano.

Senecio callosus. Figuras 11-13.

Material herborizado. Figura 11, **iv**-inserción del vilano; **t**-trícomas; **Es**-estilopodio; → región debajo de la inserción del vilano.

Material herborizado rehidratado. Figura 12, **iv**-inserción del vilano; → región debajo de la inserción del vilano.

Material fijado en campo. Figura 13, **iv**-inserción del vilano; → región debajo de la inserción del vilano.

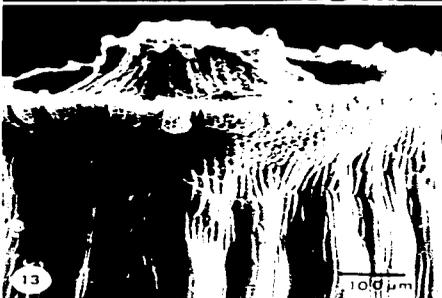
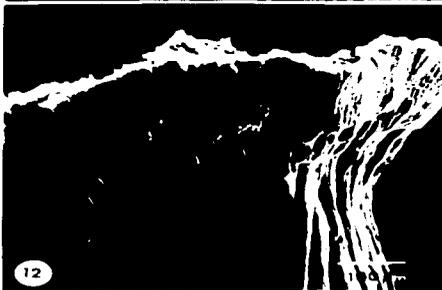
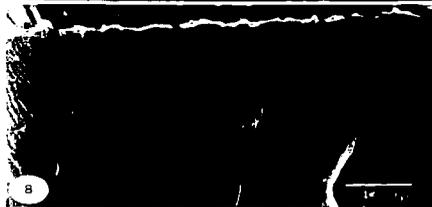
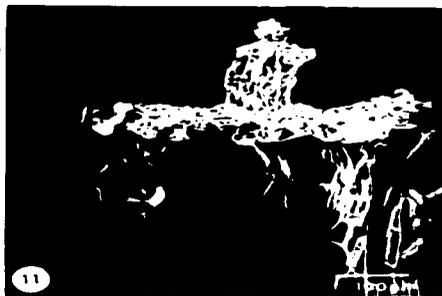


LÁMINA 3
ESTILOPODIO

Microfotografías al MEB de:

Senecio callosus. Figuras 14-19.

Material herborizado. Figura 14 y 17, **es-estoma**.

Material herborizado rehidratado. Figuras 15 y 18, **es-estoma**.

Material fijado en campo. Figuras 16 y 19, **es-estoma**.

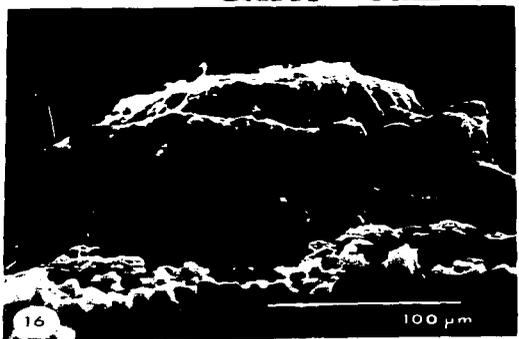


LÁMINA 4
VILANO Y ÁREA DE INSERCIÓN

Microfotografías al MEB de:

Senecio bracteatus. Figuras 20-25.

Material herborizado. Figura 20, líneas de inserción del vilano; Figura 23, vilano, → cerdas.

Material herborizado rehidratado. Figura 21, líneas de inserción del vilano; Figura 24, vilano, → cerdas.

Material fijado en campo. Figura 22, líneas de inserción del vilano; Figura 25, vilano; → cerdas

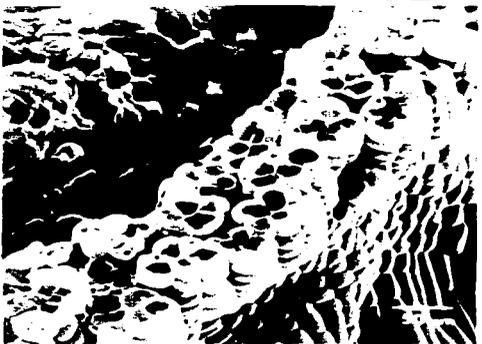


LÁMINA 5
TRICOMAS Y CÉLULAS DE LA PARED DEL AQUENIO

Microfotografías al MEB de:

Senecio bracteatus. Figuras 26-27.

Material herborizado. Figura 26, se aprecian las hifas de hongos.

Material herborizado rehidratado. Figura 27, se aprecian las hifas de hongos.

Senecio deformis. Figura 28.

Material fijado en campo. Figura 28, tricomas.

Senecio callosus. Figuras 29 y 30, tricomas a diferentes aumentos.

Material herborizado. Figura 29.

Material herborizado rehidratado. Figura 30.

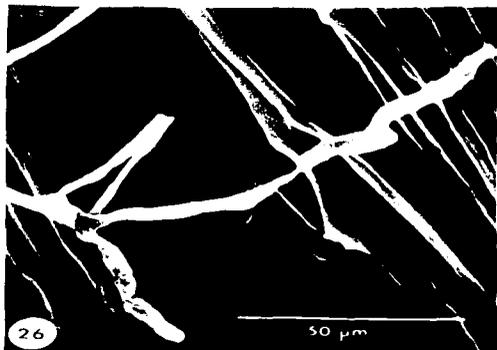


LÁMINA 6
TRICOMAS Y CÉLULAS DE LA PARED DEL AQUENIO

Microfotografías al MEB de:

Senecio stoechadiformis. Figuras 31-34.

Material herborizado. Figuras 31 y 32,. T-tricomas; P-protuberancias.

Material fijado en campo. Figuras 33 y 34, T-tricomas; P-protuberancias;

→líneas entre célula y célula.

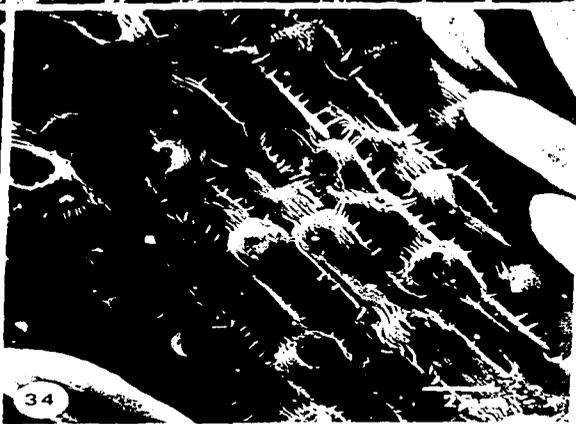
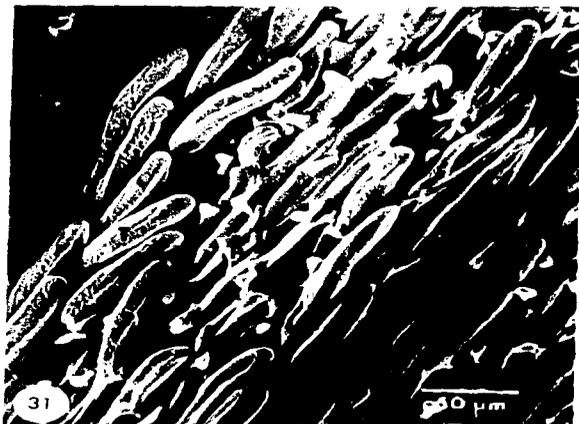


LÁMINA 7
CARPODIO

Microfotografías al MEB de:

Senecio bracteatus. Figuras 35-38.

Material herborizado. Figura 35, c-carpopodio.

Material herborizado rehidratado. Figuras 36 y 37, c-carpopodio.

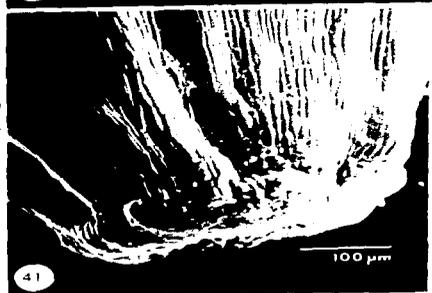
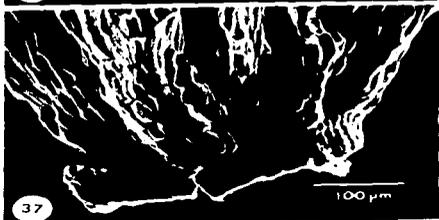
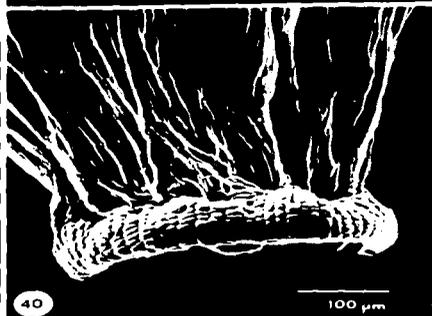
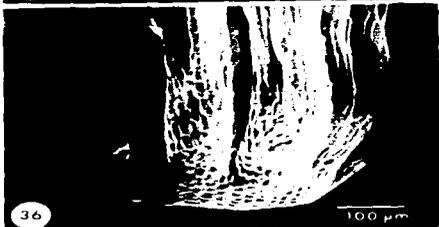
Material fijado en campo. Figura 38, c-carpopodio.

Senecio callosus. Figuras 39-41.

Material herborizado. Figura 39, c-carpopodio.

Material herborizado rehidratado. Figura 40, c-carpopodio.

Material fijado en campo. Figura 41, c-carpopodio.



ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

LÁMINA 8
CARPOPODIO

Microfotografías al MEB de:

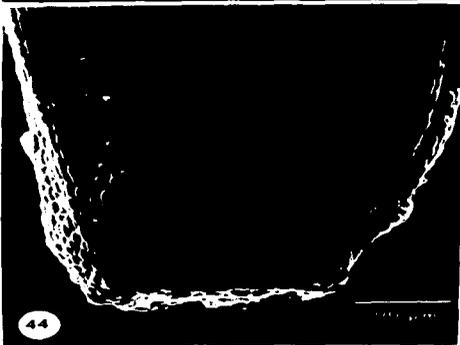
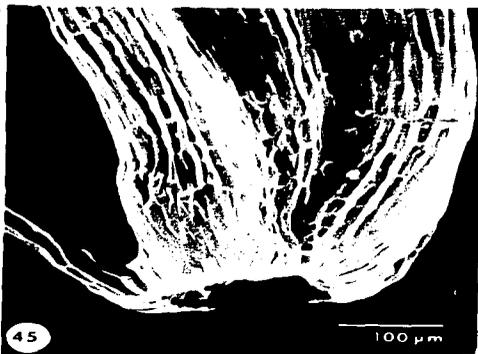
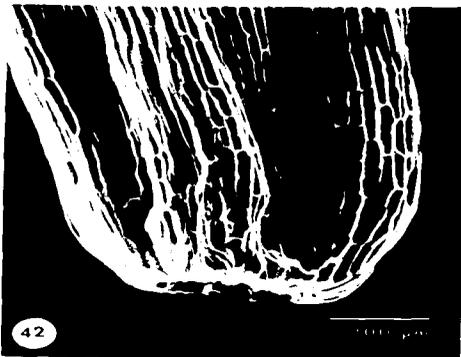
Material fijado en campo. Figuras 42-46

Senecio sanguisorbae. Figuras 42 y 45, c-carpopodio.

Senecio stoechadiformis. Figura 43, c-carpopodio.

Senecio deformis. Figura 46, c-carpopodio.

Senecio iodanthus. Figura 44, c-carpopodio.



DISCUSIÓN

Al examinar al MEB los aquenios de las especies bajo estudio se hicieron evidentes los detalles con que pueden ser observadas algunas de las estructuras que han sido propuestas como importantes en los estudios taxonómicos de la tribu Senecioneae. También se notan las diferencias que éstas presentan, dependiendo de la procedencia del material que se está observando.

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, existen marcadas diferencias en la observación de las microestructuras dependiendo de la procedencia y procesamiento del material. Las diferencias más evidentes se encontraron entre el material de herbario y los dos materiales que se sometieron a punto crítico (material herborizado rehidratado y material fijado en campo).

Todos los caracteres aquí analizados conservan mejor su estructura en el material que se sometió a punto crítico, especialmente en el material fijado en campo. En el material herborizado es difícil describir claramente los microcaracteres y se debe tener cuidado al hacerlo. En algunos casos observados se detectaron hifas de hongos que pueden ser confundidas con tricomas largos y delgados (Lámina 5, Figuras 26 y 27).

Detalles del vilano y de su área de inserción son las únicas estructuras cuyos microcaracteres aquí estudiados no se vieron definitivamente afectados por la procedencia y procesamiento del material.

Al hacer una comparación entre los microcaracteres obtenidos de aquenios de material herborizado rehidratado y aquenios de material fijado en campo, se encontraron ejemplares, en ambos tipos de material, que presentaban las mismas características en cuanto a conservación y turgencia se refiere. Los aquenios son frutos que al estar maduros son secos; tal vez por ello los tejidos no tienen capacidad de rehidratarse. Esto podría ser la causa por la que encontramos aquenios, provenientes de material fijado en campo, en los que se observan las células de la pared del aquenio colapsadas, y aquenios provenientes de material herborizado rehidratado, que las presentan turgentes.

Por los detalles encontrados en este trabajo, es posible que un estudio sistemático que evalúe la micromorfología de los aquenios de la tribu Senecioneae, aporte valiosa información que, junto con datos a otros niveles, permita hacer una delimitación más natural de este complejo taxón. Sin embargo, para tener un estudio realmente comparativo hay que definir con qué tipo de material se va a trabajar y cómo se va a procesar.

CONCLUSIONES

Todos los trabajos taxonómicos realizados con aquenios observados al MEB, para ser comparativos, deben tener la misma procedencia y procesamiento (en los términos utilizados en este trabajo).

Para tener una mejor observación al MEB, los aquenios obtenidos de material herborizado deben ser rehidratados.

El proceso natural de deshidratación del aquenio afecta por igual al material rehidratado y al fijado en campo.

Es muy probable, aunque no confirmado en este trabajo, que las observaciones al MEB de la microestructura de los aquenios se modifique de acuerdo a la etapa de hidratación o deshidratación de los mismos.

APÉNDICE

Ejemplares de respaldo (depositados en el Herbario Nacional del Instituto de Biología, U.N.A.M.).

Material herborizado

- Senecio bracteatus* Klatt. Oaxaca. J. L. Villaseñor 1139.
- Senecio callosus* Sch. Bip. Hidalgo. J. L. Villaseñor 1075.
- Senecio deformis* Klatt. Hidalgo. J. L. Villaseñor 1104.
- Senecio helodes* Benth. Michoacán. J. L. Villaseñor 1124.
- Senecio iodanthus* Greenm. México. J. L. Villaseñor 1090.
- Senecio sanguisorbae* DC. México. J. García P. 1794.
- Senecio stoechadiformis* DC. Oaxaca. J. W. R. Ernst 2326.

Material fijado en campo

- Senecio bracteatus*. Oaxaca J. L. Villaseñor 1262.
- Senecio callosus* Sch. Bip. Michoacán. J. L. Villaseñor 1345, T. M. Barkley, I. Calzada y M. Funston.
- Senecio callosus* Sch. Bip. México. J. L. Villaseñor 1335, T. M. Barkley, I. Calzada y M. Funston.
- Senecio deformis* Klatt. México. J. L. Villaseñor 1269.
- Senecio helodes* Benth. Michoacán. J. L. Villaseñor 1265.
- Senecio iodanthus* Greenm. México. J. L. Villaseñor 1270.
- Senecio sanguisorbae* DC. Michoacán. J. L. Villaseñor 1266.
- Senecio stoechadiformis* DC. México. J. L. Villaseñor 1334, T. M. Barkley, I. Calzada y J. A. Villareal.

BIBLIOGRAFÍA

- Bozzola, J. J. y L. D. Russell. 1992. *Electrón Microscopy. Principles and Techniques for biologists*. Jones and Bartlett Pub. London. 542 p.
- Bray, D. F., J. Bagu y P. Koegler. 1993. Comparison of Hexamethyldisilazane (HMDS), Peldri II, and Critical-Point Drying Methods for Scanning Electron Microscopy of Biological Specimens. *Microscopy Research and Techniques* 26: 489-495.
- Bremer, K. 1994. *Asteraceae: Cladistics and classification*. Timber Press. Portland, Oregon. 752 p.
- Cronquist, A. 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia Univ. Press. New York. 1262 p.
- Drury, D. G. 1967. *A taxonomic study of Compositae with special reference to Senecio*. Ph. D. Dissertation. Univ. of Southampton. Southampton, South Africa. 132 p.
- Fahn, A. 1990. *Plant Anatomy*. Pergamon Press. 4a. Edición. New York. 588 p.
- Grashoff, J. L. y B. L. Turner. 1970. The New Synantherology -A case in point for points of view. *Taxon* 19: 914-917.
- Hanks, S. y D. E. Fairbrothers. 1970. Effects of preparation techniques on pollen prepared for SEM observations. *Taxon* 19: 879-886.
- Hearle, J. W. S., J. T. Sparrow y P. M. Cross. 1972. *The Use of the Scanning Electron Microscope*. Pergamon Press. New York. 278 p.
- Heywood, V. H. (Ed.), 1971. *Scanning Electron Microscopy: Systematic and Evolutionary Applications*. Academic Press, London. 331 p.
- Jeffrey, C. 1987. Developing descriptors for systematic analyses of Senecioneae (Compositae). *Bot. Jahrb. Syst.* 108: 201-211.
- Jeffrey, C., P. Halliday, M. Wilmot-Deary y S. W. Jones. 1977. Generic and sectional limits in Senecio (Compositae): 1. Progress Rep. *Kew Bull.* 32: 47-67.

- King, R. M. y H. Robinson. 1970. The New Synantherology. *Taxon* 19: 6-11.
- McVaugh, R. 1983. *Flora Novo-Galiciana. A Descriptive Account of the Vascular Plants or Western Mexico. Vol. 12. Compositae*. William R. Anderson (Editor General). The University of Michigan Press. Ann. Arbor. 1157 p.
- Porter, C. L. 1959. *Taxonomy of Flowering Plants*. Freeman and Company. Londres. 452 p.
- Radford, A. E., W. C. Dickison, J. R. Massey y C. Ritchie-Bell. 1974. *Vascular plant systematics*. Harper & Row. New York. 891 p.
- Robinson, H. y R. D. Brettell. 1973. Studies in the Senecioneae (Asteraceae). IV. The genera *Mesadenia*, *Syneilesis*, *Miricacalia*, *Koyamacalia* and *Sinacalia*. *Phytologia* 27(4): 265-276.
- Stace, C.A. 1984. *Plant taxonomy and biosystematics*. Edward Arnold. Londres. 264 p.
- Stuessy, T. F. 1973. Revision of the genus *Baltimora* (Compositae, Heliantheae). *Fieldiana, Bot.* 36: 31-50.
- Stuessy, T. F. 1990. *Plant Taxonomy: The Systematic evaluation of comparative data*. Columbia Univ. Press. New York. 514 p.
- Tanaka, A. 1994. Osmium Conductive Metal Coating for SEM Specimens Using Sublimated Osmium Tetroxide in Negative Glow Phase of DC Glow Discharge. *J. Electron Microscopy.* 43: 177-182.
- Turner, B. L. 1977. Summary of the Biology of the Compositae. In: Heywood, V. H., J. B. Harborne, y B. L. Turner (Eds.). *The Biology and Chemistry of the Compositae*. Academic Press. New York. Vol. 2. pp. 1105-1118.
- Villaseñor, J. L. 1986. Revisión de *Senecio* Sección *Mulgedifolii* (Compositae: Senecioneae). Tesis de Maestría. Fac. de Ciencias. U.N.A.M. México, D. F. 97 p.
- Villaseñor, J. L. 1991. The Systematics of *Senecio* section *Mulgediifolii* (Asteraceae: Senecioneae). Ph. D. Dissertation. The Claremont Graduate School. Claremont, California. 241 p.

Villaseñor, J. L. 1993. La Familia Asteraceae en México. *Vol. Esp. (XLIV). Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 117-124.

Vincent, L. P. D. 1984. *A study of the interrelationships of some Natal species of Senecio (Asteraceae/ Compositae)*. Ph. D. Dissertation, Univ. of Natal. Pietermaritzburg, South Africa. 214 p.

Weberling, F. 1989. *Morphology of flowers and inflorescences*. Cambridge University Press. Cambridge. 405 p.

Wetter, M. A. 1983. Micromorphological characters and generic delimitation of some new world Senecioneae (Asteraceae). *Brittonia* 35 (1): 1-22.

Wood, C. E. Jr. 1974. *A Student's Atlas of Flowering Plants: Some Dicotyledons of Eastern North America*. Harper and Row Pub. New York. 120 p.