



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
“ZARAGOZA”

Anatomía de la hoja del género *Manfreda* Salisb.  
(AGAVACEAE)

T E S I S  
que para obtener el título de  
B I Ó L O G O  
p r e s e n t a:  
J O R G E R E Y E S R I V E R A

DIRECTOR DE TESIS: DR. ELOY SOLANO  
CAMACHO

ÉSTE PROYECTO FUE FINANCIADO POR DGAPA-  
PAPIIT CONVENIO 211103

MÉXICO, D. F.,

AGOSTO DE 2007





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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***

En este apartado quiero agradecer a todas las personas y organizaciones que ayudaron directa o indirectamente en la elaboración de este trabajo de investigación, principalmente:

A la Dirección General de Asuntos de Personal Académico. UNAM. PAPIIT, convenio IN211103 por la beca otorgada durante la elaboración de esta tesis.

A nuestra máxima casa de estudios la UNAM y la FES ZARAGOZA por darme la oportunidad de formarme como profesional, por facilitar la labor de investigación a través de sus excelentes profesores.

Al Dr. Eloy Solano Camacho por brindarme tantos conocimientos, ser un excelente profesor y director de tesis, por los valiosos comentarios que ayudaron a enriquecer esta tesis y principalmente por confiar en mí.

Al M. en C. Héctor Serrano Casas porque siempre tuvo el tiempo para ayudarme, especialmente por sus opiniones y consejos.

A la Biól. Magdalena Ayala Hernández porque la investigación que realizó sobre el género *Manfreda* me fue de gran ayuda, pero principalmente por su amistad y por las acertadas recomendaciones que me ha participado.

A mi compañera tesista Ana Rut de la Cruz Mateos por la amistad que me ha ofrecido y porque al convivir con ella me ha enseñado muchas cosas.

A la Q.F.I. María de la Luz López Martínez, por todo el apoyo otorgado durante mi estancia en el herbario FEZA.

Al M. en C. Carlos Castillejos Cruz por revisar este trabajo con detenimiento y dedicación, por las correcciones hechas para mejorarlo y por todo el apoyo otorgado.

A la Dra. Teresa Terrazas Salgado por aclarar mis dudas y aportar valiosas observaciones, así como por el apoyo técnico proporcionado.

A Ricardo, Noé Correa, Francisco, Cohetero, Iván, Osvaldo, Álvaro, Noé Ureste, Berenice, Karla y Ana por compartirme su amistad y hacer de mi carrera universitaria una aventura alegre, constructiva y llena de experiencias que han dejado en mí grandes enseñanzas.

A mí tío Adelfo por ser un ejemplo a seguir y por ayudarme con sus conocimientos en gran parte de mi vida.

A mi tío Víctor por compartir momentos tan especiales conmigo y ayudarme académicamente.

Pero en especial a mis padres, por sus sabios consejos y palabras de aliento, por ser ellos quienes se han encargado de hacer de mí un hombre de provecho, brindarme todo el apoyo para lograr mis metas, porque sin su ayuda este camino sería más difícil, por todo lo que me han dado y todo lo que me han evitado, por brindarme la inestimable oportunidad de estudiar, inculcarme los valores que poseo, por todo esto y mucho más...

***GRACIAS !!!!!***

## ***DEDICATORIA***

Este trabajo esta dedicado:

A mis padres

Quienes con mucho anhelo habían esperado este momento y su más grande deseo ha sido verme convertido en un hombre de provecho, por eso quiero decirles que sus esfuerzos y sacrificios han válido la pena pues este es el principio de mi carrera.

A mis hermanos

F. Javier †, Paulino y Judith porque siempre me han demostrado su apoyo, su confianza estando conmigo en las buenas y en las malas. Por todo lo que hemos vivido juntos y principalmente por lo que aprendo de ustedes día con día.

## CONTENIDO

		<i>Pág.</i>
<b>RESUMEN</b>		
<b>I</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>II</b>	<b>ANTECEDENTES</b>	
	2.1 Problemática taxonómica	<b>3</b>
	2.2 Importancia económica del género <i>Manfreda</i>	<b>4</b>
	2.3 Distribución geográfica y ecología del género <i>Manfreda</i>	<b>5</b>
	2.4 Estudios anatómicos en el género <i>Manfreda</i>	<b>6</b>
	2.5 Descripción del género <i>Manfreda</i>	<b>9</b>
<b>III</b>	<b>OBJETIVOS</b>	
	3.1 General	<b>10</b>
	3.2 Particulares	<b>10</b>
<b>IV</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>10</b>
<b>V</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	
	5.1 Microtecnia	<b>10</b>
	5.2 Impresión de la cutícula	<b>13</b>
	5.3 Diafanización de la lamina foliar	<b>14</b>
<b>VI</b>	<b>RESULTADOS</b>	
	6.1 <i>Manfreda elongata</i> Rose	<b>15</b>
	6.2 <i>M. galvaniae</i> A. Castañeda, S. Franco & García-Mend.	<b>17</b>
	6.3 <i>M. guttata</i> Rose	<b>19</b>
	6.4 <i>M. hauniensis</i> (J.B. Petersen) Verh.-Will.	<b>21</b>
	6.5 <i>M. longiflora</i> Rose	<b>23</b>
	6.6 <i>M. nanchititlensis</i> Matuda	<b>25</b>
	6.7 <i>M. potosina</i> (Rob. et Greenm.) Rose	<b>27</b>
	6.8 <i>M. pringlei</i> Rose	<b>29</b>
	6.9 <i>M. pubescens</i> Verh.-Will.	<b>31</b>
	6.10 <i>M. revoluta</i> Rose	<b>34</b>
	6.11 <i>M. rubescens</i> Rose	<b>36</b>
	6.12 <i>M. scabra</i> (Ortega) McVaugh	<b>38</b>
	6.13 <i>M. singuliflora</i> Rose	<b>40</b>
	6.14 <i>M. variegata</i> Rose	<b>42</b>
	6.15 Patrón de venación	<b>44</b>
<b>VII</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>47</b>
<b>VIII</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>52</b>
<b>IX</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>53</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS Y LÁMINAS

	<i>Pág.</i>
<b>FIGURA 1.</b> Distribución geográfica de 26 especies del género <i>Manfreda</i> .	<b>5</b>
<b>FIGURA 2.</b> Especies del género <i>Manfreda</i> con distribución restringida.	<b>6</b>
<b>FIGURA 3.</b> <i>M. elongata</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>16</b>
<b>FIGURA 4.</b> <i>M. galvaniae</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>18</b>
<b>FIGURA 5.</b> <i>M. guttata</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>20</b>
<b>FIGURA 6.</b> <i>M. hauniensis</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>22</b>
<b>FIGURA 7.</b> <i>M. longiflora</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>24</b>
<b>FIGURA 8.</b> <i>M. nanchititlensis</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>26</b>
<b>FIGURA 9.</b> <i>M. potosina</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>28</b>
<b>FIGURA 10.</b> <i>M. pringlei</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>30</b>
<b>FIGURA 11.</b> <i>M. pubescens</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>33</b>
<b>FIGURA 12.</b> <i>M. revoluta</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>35</b>
<b>FIGURA 13.</b> <i>M. rubescens</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>37</b>
<b>FIGURA 14.</b> <i>M. scabra</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>39</b>
<b>FIGURA 15.</b> <i>M. singuliflora</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>41</b>
<b>FIGURA 16.</b> <i>M. variegata</i> . Hoja en corte transversal y paradermal.	<b>43</b>
<b>FIGURA 17.</b> Patrón de venación de <i>M. elongata</i> , <i>M. galvaniae</i> , <i>M. nanchititlensis</i> y <i>M. scabra</i> .	<b>45</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	<i>Pág.</i>
<b>CUADRO 1.</b> Condiciones ecológicas y localidades en las que crecen las especies del género <i>Manfreda</i> .	<b>7</b>
<b>CUADRO 2.</b> Tiempo de ablandamiento con etilendiamina para los ejemplares estudiados.	<b>13</b>
<b>CUADRO 3.</b> Resumen de los caracteres diagnósticos para las especies estudiadas.	<b>46</b>

## RESUMEN

Se realizó un estudio anatómico foliar de 14 especies del género *Manfreda*: *M. elongata*, *M. galvaniae*, *M. guttata*, *M. hauniensis*, *M. longiflora*, *M. nanchititlensis*, *M. potosina*, *M. pringlei*, *M. pubescens*, *M. revoluta*, *M. rubescens*, *M. scabra*, *M. singuliflora* y *M. variegata*, recolectadas en varias localidades de la República Mexicana, con el fin de conocer las características anatómicas de cada una y determinar aquellos caracteres que ayuden a delimitar su identidad taxonómica. Se usaron plantas adultas fijadas previamente en FAA y las hojas fueron tratadas con la microtecnica convencional. Como características comunes se encontraron: epidermis tanto adaxial como abaxial uniestratificada, estomas con cámaras subestomáticas, mesofilo indiferenciado constituido únicamente por parénquima esponjoso donde domina el clorénquima, haces colaterales y venación paralelodroma. Las características que las diferencian son: cutícula gruesa en *M. nanchititlensis*, tricomas simples y peridermis abaxial en *M. pubescens*, epidermis lisa en *M. hauniensis*, *M. pubescens*, *M. revoluta* y *M. rubescens*, en contraste con la epidermis papilosa de *M. galvaniae*, *M. guttata*, *M. elongata*, *M. longiflora*, *M. nanchititlensis*, *M. potosina*, *M. pringlei*, *M. scabra*, *M. singuliflora* y *M. variegata*. Macropapilas en *M. guttata*, *M. nanchititlensis* y *M. scabra*. Engrosamientos en las células subsidiarias de los estomas de *M. scabra* y *M. variegata*, asimismo los estomas tetracíticos separan a esta última del resto de especies. *M. variegata* es la única que tiene estomas con cámara supraestomática. Finalmente una vaina parenquimática rodea los haces vasculares de *M. pringlei*.

## I INTRODUCCIÓN

En México se distribuyen todas las especies del género *Manfreda*, cinco de éstas se comparten con los Estados Unidos de Norte América: *Manfreda longiflora*, *M. maculosa*, *M. sileri*, *M. variegata* y *M. virginica*. Por otro lado, *M. scabra* tiene su límite de distribución sur en Honduras. Por lo anterior y debido a que más del 96% de especies reconocidas actualmente se encuentran en el país; México es considerado como el centro de riqueza y diversidad del género (Ayala, 2006).

Por otro lado, la familia Agavaceae fue reconocida como tal por diversos autores: Endlicher (1841), Hutchinson (1959), Takhtajan (1980) y Cronquist (1981). Desde entonces el número de géneros y especies que se reconocen para esta familia ha variado según el enfoque con el que se aborde la taxonomía del grupo. Dahlgren *et al.* (1985) y Verhoek-Williams (1998) establecieron que la familia está compuesta por ocho géneros: *Agave*, *Beschorneria*, *Furcraea*, *Hesperaloe*, *Manfreda*, *Polianthes*, *Prochnyantes* y *Yucca*. Asimismo, la composición específica del género *Manfreda* no ha sido la excepción, ya que Piña (1985) realizó un estudio sobre la taxonomía de la familia *Agavaceae* principalmente del género *Manfreda* y refirió que Baker (1877-1888) lo consideró como un subgénero junto con *Euagave* y *Littaea* dentro del género *Agave*, asimismo, le atribuyó 12 especies, mismas que validaron: Engelmann (1875), Bentham y Hooker (1883) y Jacobsen (1960), en cambio, Rose (1899-1903) reconoció a *Manfreda* como género e incluyó 17 especies, a diferencia de éste, Berger (1915) lo mantuvo como subgénero conformado por 18 especies.

Como puede observarse, desde que Hutchinson (1934) propuso su clasificación para las monocotiledóneas, muchos investigadores iniciaron una serie de estudios, taxonómicos, anatómicos, embriológicos, cariológicos, palinológicos, entre otros, con el objetivo de validar o rechazar su propuesta. En este sentido, se planteó el estudio anatómico de la hoja del género *Manfreda*, con el objetivo de encontrar caracteres que contribuyan en la delimitación taxonómica de sus especies.

## II ANTECEDENTES

### 2.1 Problemática taxonómica

La familia Agavaceae fue creada por Endlicher en 1841, en donde ubicó al género *Agave* propuesto por Carolus Linneaus en 1753, cuya especie tipo es *Agave americana* L. Posteriormente Salisbury (1866), propuso el género *Manfreda* al transferir *Agave virginica* a *Manfreda virginica*. Desde que fue propuesta esta familia ha sido objeto de mucha controversia acerca de los géneros que la conforman, situación que se acentuó cuando Hutchinson (1934) propuso el orden Agavales en donde incluyó Xanthorrhoeaceae y Agavaceae, distinguió la primera por la naturaleza seca y glumácea del perianto y la segunda por presentar perianto craso.

Hutchinson (1934) consideró a la familia Agavaceae estructurada por seis tribus con ovario súpero o ínfero y rompió con el sistema tradicional de separar las familias por la posición del ovario. De este modo, *Yuccaeae* quedó constituida por *Clistoyucca*, *Hesperaloe* y *Yucca* (incluidos *Hesperoyucca* y *Sarcoyucca*) y *Samuela*; *Dracaeneae*, en la que reunió a *Cordylina*, *Cohnia*, *Dracaena* y *Sansevieria*; *Phormieae* con *Phormium*; *Nolineae* con los géneros *Nolina*, *Calibanus* y *Dasyilirion*, todas estas tribus presentan flores hipóginas; *Agaveae* con *Agave* (incluido *Runyonia*), *Furcraea*, *Beschorneria*, *Doryanthes* y por otro lado, *Poliantheae* donde agrupó a *Polianthes*, *Prochnyantes* y *Pseudobravoia*, ambas tribus de plantas con flores epíginas. Cabe señalar que Hutchinson (1934), invalidó el género *Manfreda*.

Entre los principales aportes a la taxonomía del grupo entre 1965 y 1980, destacan los trabajos de Shinnery (1965), quien reunió a todos los miembros de la tribu *Poliantheae* que se distribuyen en Texas, bajo *Polianthes*; a este criterio extremadamente conservador se opusieron Gentry (1972), Matuda (1966; 1975) y Verhoek-Williams (1975; 1998), quienes reconocieron al género *Manfreda*. Particularmente Verhoek-Williams (1975), incluyó a *Manfreda* como género de la tribu *Poliantheae*. Por otro lado, Dahlgren *et al.* (1985) publicaron su sistema de clasificación para las monocotiledóneas, basado en todos los trabajos precedentes principalmente el de Dahlgren y Clifford (1982) y reconocieron a la familia Agavaceae dividida en dos subfamilias *Yuccoideae* y *Agavoideae*, pero ahora

*Yuccoideae*, con dos géneros *Yucca* y *Hesperaloe* y en *Agavoideae* ubicaron *Agave*, *Beschorneria*, *Furcraea*, *Manfreda*, *Polianthes* y *Prochnyanthes*; excluyeron de *Agavaceae* a *Hosta*, *Hesperocallis* y *Leucocrinum* colocándolos en la familia *Funkiaceae*.

Recientemente Verhoek-Williams (1998), reconoce a la familia *Agavaceae* y la coloca en el orden *Asparagales*, dicha familia según esta autora está conformada por ocho géneros: *Agave*, *Beschorneria*, *Furcraea*, *Hesperaloe*, *Manfreda*, *Polianthes* (incluidos, *Bravoa* y *Pseudobravoa*), *Prochnyanthes* y *Yucca*. Thiede (2001) con base en estudios filogenéticos y moleculares realizados por otros autores como Bogler y Simpson (1995, 1996), Eguiarte (1994), Eguiarte *et al.* (1995) y Hernández (1995), transfirió todas las especies de *Manfreda* y *Polianthes* al género *Agave* y consideraron a *Manfreda* como un subgénero de *Agave*.

## **2.2 Importancia económica del género *Manfreda***

Muchas de las plantas de la familia *Agavaceae* son muy utilizadas y están fuertemente arraigadas en la cultura popular. Las actividades derivadas de su uso constituyen fuentes de trabajo y satisfactores para muchos grupos humanos subdesarrollados de América, África y Asia. Uno de los principales usos de estas plantas es el textil, pues de ellas se obtienen diversos tipos de fibras duras y resistentes, que gracias a su fácil obtención por procesos simples permiten confeccionar cordeles, tapetes, cojines y cestos, entre otros utensilios. Además, dentro de esta familia se ubica el género *Agave*, ampliamente utilizado para la elaboración de bebidas alcohólicas como pulque, tequila y mezcal (García-Mendoza, 1998).

Los cormos del género *Manfreda* han sido ampliamente utilizados como jabón debido a su alto contenido de saponinas, tanto para lavar ropa como en aseo del cabello (Álvarez, 1987). Por otro lado, los rizomas se maceran y mezclan con agua por varios días para emplearlos como shampoo contra la caída del cabello (Schulz, 1928). También se le atribuyen propiedades medicinales, por ejemplo, en algunas comunidades rurales de nuestro país, es un antídoto para mordeduras de serpientes venenosas empleando raíces y hojas a manera de cataplasma, también se usa contra afecciones intestinales, aunque no se especifica la forma de uso ni la parte de la planta usada (Verhoek-Williams, 1975).

Asimismo, estas plantas son utilizadas como tónico, carminativo, antiespasmódico y veneno ligero para peces, entre otros usos (Verhoek-Williams, 1975; Solano, com. per.).

### 2.3 Distribución geográfica y ecológica del género *Manfreda*

El área de distribución del género abarca desde el sur y sureste de los Estados Unidos a los 38° de latitud norte, hasta los 12°, en el norte de Nicaragua (Fig. 1). Las 28 especies reconocidas habitan en México, dos de ellas, *Manfreda virginica* y *M. scabra*, presentan una distribución amplia que se extiende fuera del territorio mexicano. La primera abarca la porción sur y sureste de los Estados Unidos de Norteamérica, desde Texas, Oklahoma, Missouri, Illinois, Kentucky y Virginia; hasta Nuevo León y Tamaulipas. La segunda especie se extiende desde el sur de Durango hasta el norte de Nicaragua (Ayala, 2006).

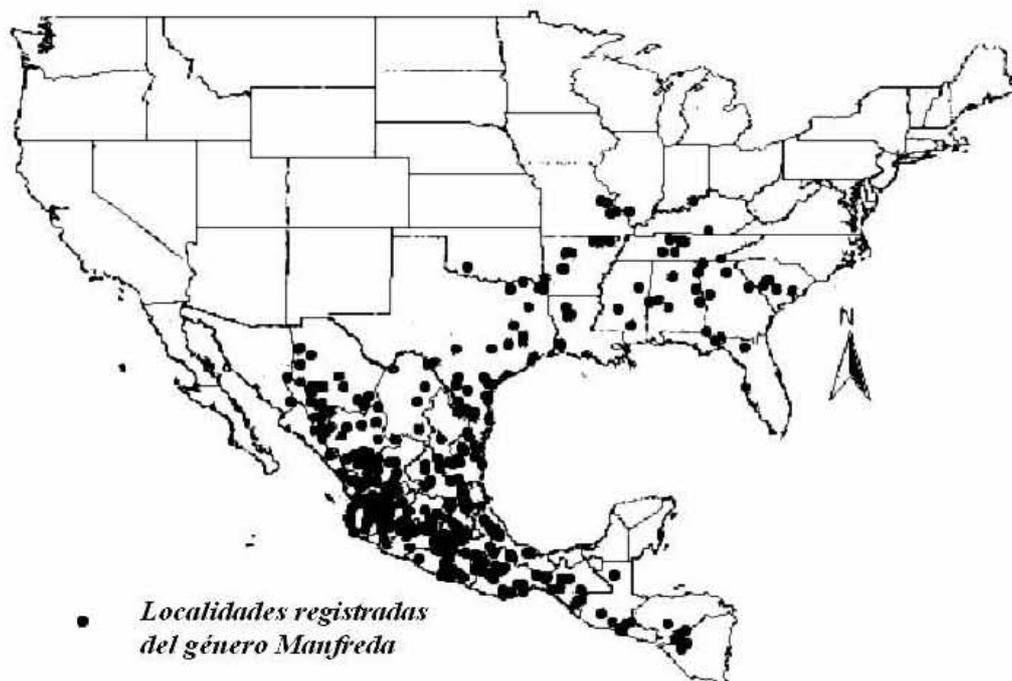


Figura 1. Distribución geográfica de 26 especies del género *Manfreda* (Tomado de Ayala, 2006).

En un estudio reciente sobre la distribución geográfica del género *Manfreda*, Ayala (2006) indicó las especies con distribución restringida: *Manfreda chamelensis*, *M. fusca*, y *M. littoralis*, recientemente descritas, *M. planifolia*, *M. revoluta*, *M. rubescens* descritas por

Rose (1903); *M. guerrensis* por Matuda (1975), *M. involuta* por McVaugh (1989) y *M. angustifolia* (éste epíteto no fue publicado), asimismo dice que este fenómeno probablemente se debe a que algunas de ellas han sido poco recolectadas (Fig. 2).



Figura 2. Especies del género *Manfreda* con distribución restringida (Tomado de Ayala, 2006).

Los intervalos altitudinales en los que se desarrollan las especies de *Manfreda* son muy variables. Existen especies que crecen en altitudes relativamente bajas como *M. littoralis* (20 m), hasta especies que crecen sobre los 3000 m (Cuadro 1). La versatilidad ecológica del género, le confiere a ciertas especies, una variabilidad morfológica notable, tal es el caso de *M. guttata*, *M. pringlei* y *M. scabra*, en las que se pueden observar diferencias como; la forma y número de las hojas, las dimensiones o forma del fruto, asimismo, presentan características más variables, tales como el número de flores y la longitud de la inflorescencia (McVaugh, 1989; Galván, 2001).

**Cuadro 1. Resumen de condiciones y localidades en las que crecen las especies del género *Manfreda* (Modificado de Ayala, 2006).**

ESPECIE	DISTRIBUCIÓN	TIPO DE VEGETACIÓN	CLIMA	SUELO	ALTITUD (M)
<i>Manfreda angustifolia</i>	GRO., MOR.	Bosque de coníferas y encinos, Bosque tropical caducifolio	Calido subhúmedo y templado subhúmedo	Leptosol y Arenosol	700–2000
<i>M. brunnea</i>	CHIH., COAH., DGO.	Matorral xerófilo	Muy árido semicálido, árido semicálido y semiárido templado	Calcisol, Regosol y Leptosol	1000–1500
<i>M. chamelensis</i>	JAL.	Bosque tropical caducifolio	Cálido subhúmedo	Regosol	25 – 40
<i>M. elongata</i>	DGO., JAL., NAY.	Bosque de coníferas y encinos, Bosque tropical caducifolio	Semicálido subhúmedo	Regosol y Feozem	1000 – 1900
<i>M. guerrerensis</i>	GRO	Bosque de coníferas y encinos	Templado subhúmedo	Cambisol	2400
<i>M. guttata</i>	AGS., CHIH., DGO., S.L.P., ZAC., QRO., GTO., JAL., NAY.,	Pastizal, matorral xerófilo, Bosque de coníferas y Bosque tropical caducifolio	Semicálido subhúmedo, Semiárido templado y Templado subhúmedo	Feozem	1400 – 2500
<i>M. hauniensis</i>	EDO. MÉX., GRO., MOR.	Bosque de coníferas y Bosque tropical caducifolio	Cálido subhúmedo	Leptosol y Arenosol	700 – 2500
<i>M. jaliscana</i>	DGO., JAL., MICH., NAY., SIN., SON.	Bosque tropical caducifolio, Bosque de coníferas y encinos	Cálido subhúmedo y Semicálido subhúmedo	Feozem y Regosol	500 - 2500
<i>M. littoralis</i>	GRO., OAX.	Bosque tropical caducifolio	Cálido subhúmedo	Leptosol, Acrisol y Arenosol	20 – 150
<i>M. longibracteata</i>	MICH.	Bosque de coníferas y encinos, Bosque espinoso	Templado subhúmedo y Semicálido subhúmedo	Vertisol y Feozem	1300 – 2100
<i>M. longiflora</i>	N.L., TAMP., E.U.A. (TEX.).	Matorral xerófilo y Bosque tropical caducifolio	Árido cálido, Semiárido cálido y Semicálido subhúmedo	Calcisol y Leptosol	30 – 150
<i>M. maculata</i>	EDO. MÉX., GRO., OAX.,	Bosque de coníferas y encinos	Semicálido subhúmedo	Andosol y Feozem	1500 – 2000
<i>M. maculosa</i>	COAH., N.L., TAMP., E.U.A. (TEX.).	Matorral xerófilo	Árido cálido, Árido semicálido y Templado subhúmedo	Calcisol y Leptosol	40 – 400
<i>M. nanchitlensis</i>	EDO. MÉX.	Bosque de coníferas y Encinos	Semicálido subhúmedo	Andosol y Feozem	1600 – 2100
<i>M. planifolia</i>	CHIH., SON.	Pastizal	Semiárido templado	Calcisol y Cambisol	1500 - 2000
<i>M. potosina</i>	COAH., S.L.P., ZAC.	Matorral xerófilo y Pastizal	Árido semicálido y Semiárido templado	Leptosol , Calcisol y Regosol	1300 – 2400
<i>M. pringlei</i>	D.F., EDO. MÉX., HGO., JAL., MICH., MOR., OAX., PUE.	Bosque de coníferas, Bosque tropical caducifolio y Pastizal	Templado subhúmedo y Semifrio subhúmedo	Feozem, Andosol y Leptosol	1000 - 3000
<i>M. pubescens</i>	CHIS., MOR., OAX.	Bosque tropical caducifolio, Bosque tropical subcaducifolio, Bosque de coníferas y encinos	Cálido subhúmedo	Feozem, Regosol y Leptosol	300 – 2500
<i>M. revoluta</i>	EDO. MÉX.	Bosque tropical subcaducifolio	Semicálido subhúmedo	Feozem, Andosol y Regosol	1300 – 2200
<i>M. scabra</i>	AGS., CHIS., D.F., DGO., EDO. MÉX.,	Bosque de coníferas y encinos, Bosque tropical subcaducifolio, Bosque tropical subperennifolio y perennifolio, Pastizal	Semicálido subhúmedo, Cálido subhúmedo y Templado subhúmedo	Feozem, Vertisol, Leptosol, Regosol, Andosol y Cambisol	100 – 3050
<i>M. singuliflora</i>	CHIH., DGO., SIN., ZAC.	Bosque de coníferas y encinos	Semifrio subhúmedo y Templado subhúmedo	Regosol y Feozem	1800 – 2800
<i>M. sileri</i>	TAMP.	Matorral xerófilo	Semiárido cálido	Leptosol	60
<i>M. variegata</i>	CHIH., DGO., SIN., ZAC.	Bosque tropical caducifolio, Bosque tropical subperennifolio y Matorral xerófilo	Cálido húmedo, Semicálido subhúmedo, Árido semicálido y Semiárido cálido	Leptosol, Regosol, Calcisol y Vertisol	90 – 1800

## 2.4 Estudios anatómicos en la familia Agavaceae

La anatomía foliar en géneros de Agavaceae ha sido estudiada desde comienzos del siglo XX. Sin embargo, el uso de caracteres foliares en la identificación de las especies alcanzó relevancia con el trabajo de Müller (1909, citado por Álvarez, 1987), quien hizo una importante contribución al conocimiento de la anatomía foliar del género *Agave*. Este autor estudió 68 especies y variedades, propuso una clave basándose en los caracteres anatómicos de la epidermis, los haces vasculares y el margen de la hoja.

Por otro lado, para explicar las adaptaciones que presentan las agaváceas a condiciones de sequía severa, McCledon (1908) y Roux-Lopez (1964) estudiaron la epidermis foliar, la forma y grosor de la cutícula, así como el desarrollo de cámaras supraestomáticas en el control de la pérdida de agua.

Stebbins y Khush (1961) notaron que las hojas de Agavaceae en su epidermis carecen de células subsidiarias y consideraron que este carácter es útil para establecer las relaciones filogenéticas de la familia. Por otro lado, luego de estudiar el desarrollo y la estructura de los estomas en *Polianthes tuberosa* y *Agave*, Shah y Gopal (1970) concluyeron que si bien en estos géneros es posible encontrar diferentes tipos de estomas, en *Polianthes* son de tipo anomocítico y en *Agave* tetracíticos.

Tomlinson (1974) al estudiar el desarrollo de los complejos estomáticos de más de 100 especies de monocotiledóneas y analizar su valor como evidencia taxonómica, consideró que las divisiones de las células vecinas con respecto a la célula madre en Agavaceae son oblicuas y no intersectantes, excepto en *Yucca* y *Dracaena fragans*, mientras que, algunas otras especies de *Dracaena* carecen de divisiones. En ese mismo trabajo, Tomlinson reconoció que ningún grupo mayor de monocotiledóneas está caracterizado por un determinado patrón de desarrollo del complejo estomático, y sugirió el uso de estos caracteres en combinación con otros, para establecer las relaciones filogenéticas de esta familia.

Recientemente, Solano (2000) estudió la anatomía foliar en el género *Polianthes* y encontró caracteres útiles en la delimitación de las especies, sobre todo, en lo que se refiere a lo que el llamó células buliformes, idioblastos y fibras en los haces vasculares. El estudio anatómico de la hoja de *Polianthes*, hace pensar que la misma situación puede presentarse

en géneros cercanamente relacionados como *Manfreda*. Además en este último género no se han realizado estudios de ésta naturaleza que involucren a la mayoría de sus especies.

## 2.5 Descripción del género *Manfreda*

**Hierbas** perennes, acaulescentes. **Raíces** suculentas fusiforme, fasciculares, verticales o extendidas, de las que salen raicillas laterales, con dos tipos de tallos hipógeos, un rizoma, vertical globoso o cilíndrico, con raíces y yemas de crecimiento, un bulbo generalmente ovoide formado por las bases de las hojas engrosadas. **Hojas** agrupadas en rosetas, delgadas, semisuculentas o suculentas; lineares lanceoladas u oblanceoladas, casi planas o acanaladas, glabras o pubescentes, las nervaduras generalmente con papilas de color verde brillante o verde glauco, algunas veces con manchas pequeñas a grandes de color pardo-rojizo que varían según la exposición a la luz, ápice con punta suave, excepto en *Manfreda hauniensis*, en la cual es rígida, margen hialino o cartilaginoso, entero, papiloso o dentado; dientes pequeños, deltoides, truncadas o agudos, algunas veces bi o trifurcados, suaves. **Inflorescencias** en espiga, de 15 a 380 cm de largo, erecta o ligeramente reclinada; porción floral densa o laxa, con pocos o muchos nudos; brácteas inferiores del eje floral similares a las hojas o abruptamente más cortas. **Brácteas** deltoides a linear-lanceoladas; una flor por nudo. **Bractéolas** dos, deltoides, caudales, laterales. **Flores** sésiles o muy cortamente pediceladas, angostas a ampliamente infundibuliformes, con colores que van desde el verde al verde amarillento, verdes con manchas pardo-rojizas, rara vez blancas o rosadas, tubo recto o algo curvo (en *M. singuliflora* muy curvo), cilíndrico o infundibuliforme; segmentos del perianto oblongos, extendidos o revolutos, rara vez erectos, ápice poco o muy turgente, algunas veces cuculado; con un pequeño mechón de tricomas, olor agradable, en algunas especies, mientras que otras despiden olor repulsivo. **Estambres** 6, con inserción en la base del tubo o por debajo de los segmentos, exertos, curvos o extendidos en anthesis; anteras versátiles; estilo exerto, por lo menos otro tanto de la longitud de los segmentos (excepto en *M. potosina*), generalmente más largos que los estambres. **Estigma** trígono o trilobado con lóbulos retrorsos al madurar como en *M. longiflora*. y *M. maculosa*. **Néctar** excretado por tres ranuras situadas en la base del estilo.

**Fruto** capsular, globoso u oblongo, generalmente con los restos del perianto persistentes.

**Semillas** negras, planas y más o menos deltoides (Galván, 2001; Lott y García-Mendoza, 1994; McVaugh, 1989; Piña, 1985).

**Fruto** capsular, globoso u oblongo, generalmente con los restos del perianto persistentes.  
**Semillas** negras, planas y más o menos deltoides (Galván, 2001; Lott y García-Mendoza, 1994; McVaugh, 1989; Piña, 1985).

### **III OBJETIVOS**

#### **3.1 GENERAL**

Describir comparativamente la anatomía de la hoja de 14 especies del género *Manfreda*, así como reconocer caracteres útiles en la delimitación de las especies.

#### **3.2 PARTICULARES**

Describir las características anatómicas de la hoja en 14 especies del género *Manfreda*.

Reconocer la variación existente en los caracteres anatómicos presentes en la hoja.

Distinguir los caracteres anatómicos útiles para la separación de las especies.

Contribuir al conocimiento de la familia Agavaceae.

### **IV HIPÓTESIS**

Del mismo modo, que en el género *Polianthes*, en la hoja de *Manfreda* existen caracteres anatómicos que permitirán la delimitación de las especies, sobre todo, en la presencia de papilas, idioblastos, tricomas y fibras en los haces vasculares.

## V MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 Microtecnica

Los especímenes ya recolectados durante 2003 a 2005 en diferentes localidades de Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Tamaulipas (Cuadro 2), previamente fijados en FAA (50% de alcohol etílico al 96%; 5% de ácido acético glacial, 10% de formol comercial al 40% y 35% de agua destilada) se lavaron con agua hasta eliminar el olor del fijador. Posteriormente para evitar el endurecimiento del tejido y facilitar los cortes se almacenaron en GAA (45% alcohol etílico, 30% glicerina y 25% agua).

Para cada especie se realizaron cortes transversales de aproximadamente 0.5 cm de largo, extraídos del tercio medio de dos hojas maduras y externas a la roseta del mismo o de diferentes individuos cuando fue posible. Los cortes se ablandaron con etilendiamina al 4% en frascos de plástico de 100 mL, el tiempo de permanencia varió en función de la textura de las hojas (Cuadro 2). Después se lavaron tres veces con agua de la llave durante 30 minutos. Posteriormente se deshidrataron mediante cambios de alcohol etílico en concentraciones ascendentes (50, 70, 96 y 100%), las tres primeras con duración de siete días y la última dos. Una vez deshidratados los tejidos, se escurrieron perfectamente y se transfirieron a una solución de xilol-parafina 2:1, xilol-parafina 1:1, xilol-parafina 1:2 y por último se realizaron dos cambios con parafina pura, todos con duración de 24 h y mantenidos en una estufa Lab-Line a temperatura constante de 56°C; excepto los dos últimos cambios en los cuales se aumentó la temperatura a 60°C (Johansen, 1940; Patiño, 1986).

Terminada la infiltración los tejidos se incluyeron en parafina, con ayuda de agujas de disección, se acomodaron los tejidos según el tipo de corte para el que iban a ser destinados y se etiquetaron. Se dejaron enfriar durante un día a temperatura ambiente, se extrajeron de los moldes y se les eliminó el exceso de parafina con una navaja. Posteriormente se pegaron en bloques de madera de aproximadamente 2 cm<sup>3</sup> para facilitar el montaje en la platina del micrótopo. Se realizaron cortes transversales y paradormales de 15 µm de grosor haciendo uso de un microtomo de rotación modelo RM2125RT, marca Leica. Los cortes se adhirieron a los portaobjetos limpios y desengrasados con adhesivo de

Haupt (1% grenetina, 2% formol y 30% glicerol). Cuando se secaron, se les colocó una gota de formalina (formaldehído al 10%) para distender el tejido, se etiquetaron usando un rotulador con punta de diamante. Posteriormente se procedió a desparafinar las preparaciones con xilol. Una vez que se eliminó totalmente la parafina se colocaron en ETOH al 100%, 96%, 70% y 50% durante 10 minutos en cada cambio (Johansen, 1940; Patiño, 1986).

Después de la desparifinación los cortes se tiñeron durante 1 h con safranina al 1% a 56° C y se aclararon con ETOH al 50%, 70%, 96% y 100%; inmediatamente se tiñeron con verde rápido al 1%, se deshidrataron con ETOH al 100% por diez minutos e impregnaron con dos cambios de xilol durante cinco minutos; finalmente se montaron con resina sintética marca Sigma (Johansen, 1940; Patiño, 1986).

A continuación se procedió a observar y describir los tejidos con un microscopio óptico marca Cambridge Instruments, con objetivos 4x, 10x, 40x y 100x. Se analizaron los siguientes caracteres foliares en sección transversal y paradermal: perfil de la lámina abierta, cutícula (ornamentación), epidermis (ornamentación, presencia y forma de tricomas y arreglo de los estomas), mesofilo (disposición del parénquima en empalizada y esponjoso, presencia de idioblastos, como: taninos, rafidios, estiloides y cuerpos de sílice, entre otros) y fibras en los haces vasculares. Finalmente se registraron cualitativamente los caracteres foliares (no variables) útiles en la delimitación de las especies. Las formas de las láminas foliares se describieron de acuerdo con Ellis (1976).

**Cuadro 2.** Tiempo de ablandamiento con etilendiamina para los ejemplares estudiados.

Especie	No. de recolecta y recolector *		Estado	Tiempo en Etilendiamina (h)	Herbario:
<i>Manfreda elongata</i>	135	RRG	Nayarit	12	FEZA, MEXU
<i>M. galvaniae</i>	1582	ESC	Edo. Méx.	12	FEZA, MEXU
<i>M. galvaniae</i>	1773	ESC	Edo. Méx.	12	FEZA, MEXU
<i>M. guttata</i>	81	RRG	Guanajuato	-----	FEZA, MEXU
<i>M. guttata</i>	1538	ESC	Guanajuato	-----	FEZA, MEXU
<i>M. hauniensis</i>	1743	CCC	Guerrero	8	FEZA, MEXU
<i>M. longiflora</i>	1657-B	ESC	Tamaulipas	-----	FEZA, MEXU
<i>M. nanchititlensis</i>	1665-A	ESC	Edo. Méx.	12	FEZA, MEXU
<i>M. nanchititlensis</i>	1665-B	ESC	Edo. Méx.	12	FEZA, MEXU
<i>M. potosina</i>	1159	CCC	San Luís Potosí	-----	FEZA, MEXU
<i>M. potosina</i>	1553	ESC	San Luís Potosí	-----	FEZA, MEXU
<i>M. pringlei</i>	1719	ESC	Guerrero	8	FEZA, MEXU
<i>M. pringlei</i>	1637	ESC	Hidalgo	8	FEZA, MEXU
<i>M. pringlei</i>	1111	CCC	Puebla	8	FEZA, MEXU
<i>M. pubescens</i>	1470	CCC	Edo. Méx.	-----	FEZA, MEXU
<i>M. pubescens</i>	1711	ESC	Guerrero	-----	FEZA, MEXU
<i>M. pubescens</i>	223-A	RRG	Guerrero	-----	FEZA, MEXU
<i>M. pubescens</i>	223-B	RRG	Guerrero	-----	FEZA, MEXU
<i>M. revoluta</i>	1580	ESC	Edo. Méx.	8	FEZA, MEXU
<i>M. rubescens</i>	87	RRG	Jalisco	8	FEZA, MEXU
<i>M. scabra</i>	1723	ESC	Guerrero	12	FEZA, MEXU
<i>M. scabra</i>	1620	ESC	Hidalgo	12	FEZA, MEXU
<i>M. scabra</i>	1572	CCC	Jalisco	12	FEZA, MEXU
<i>M. singuliflora</i>	1357	CCC	Chihuahua	8	FEZA, MEXU
<i>M. variegata</i>	1623	ESC	Hidalgo	8	FEZA, MEXU
<i>M. variegata</i>	1660	ESC	Tamaulipas	8	FEZA, MEXU

\*CCC= Carlos Castillejos Cruz, ESC= Eloy Solano Camacho, RRG= Ramiro Ríos Gómez.

## 5.2 Impresión de la cutícula

Para la observación de los estomas, además de la microtecnica señalada, se realizaron impresiones cuticulares de los ejemplares mantenidos vivos. En el haz y envés de las hojas se colocó barniz comercial para uñas, al secarse se desprendió de las mismas y se montaron sellando las preparaciones con el mismo producto. Después se procedió a su observación y descripción.

El cálculo del índice estomático (I. E.) se obtuvo contando los estomas en cinco campos distintos de las impresiones (haz y envés) con ayuda de una cuadrícula de 1 mm<sup>2</sup> y

el microscopio óptico anteriormente señalado, finalmente se obtuvo la media aritmética (Solano, 2000).

### **5.3 Diafanización de la lamina foliar**

La técnica de diafanización fue utilizada para observar el patrón de venación. Se realizaron cortes transversales de 5 cm de largo del tercio medio de la hoja, cuando éstas eran muy anchas, el corte incluyó la mitad de la misma hasta la nervadura central. Los cortes se colocaron en cajas Pétri debidamente etiquetadas, las cuales contenían NaOH al 0.25%, durante 12 horas para eliminar los contenidos celulares; después de este tiempo se desechó la solución anterior y se agregó cloro comercial (NaClO) al 50%, dejándolos reposar el tiempo necesario para blanquearlos totalmente, enseguida se lavaron con agua destilada hasta eliminar completamente el cloro, se colocaron en ETOH al 70% y 96% durante 24 h en cada cambio. Se tiñeron con safranina al 1% durante 24 h, después se eliminó el exceso de colorante lavando por unos segundos con ETOH al 96%. Se agregó una mezcla de ETOH-aceite de clavo-xilol 1:1:1 durante 12 h. Por último, se lavaron con xilol y se montaron con resina (Ruzin, 1999). Para describir el patrón de venación se siguió la clasificación de Hickey (1973).

## VI RESULTADOS

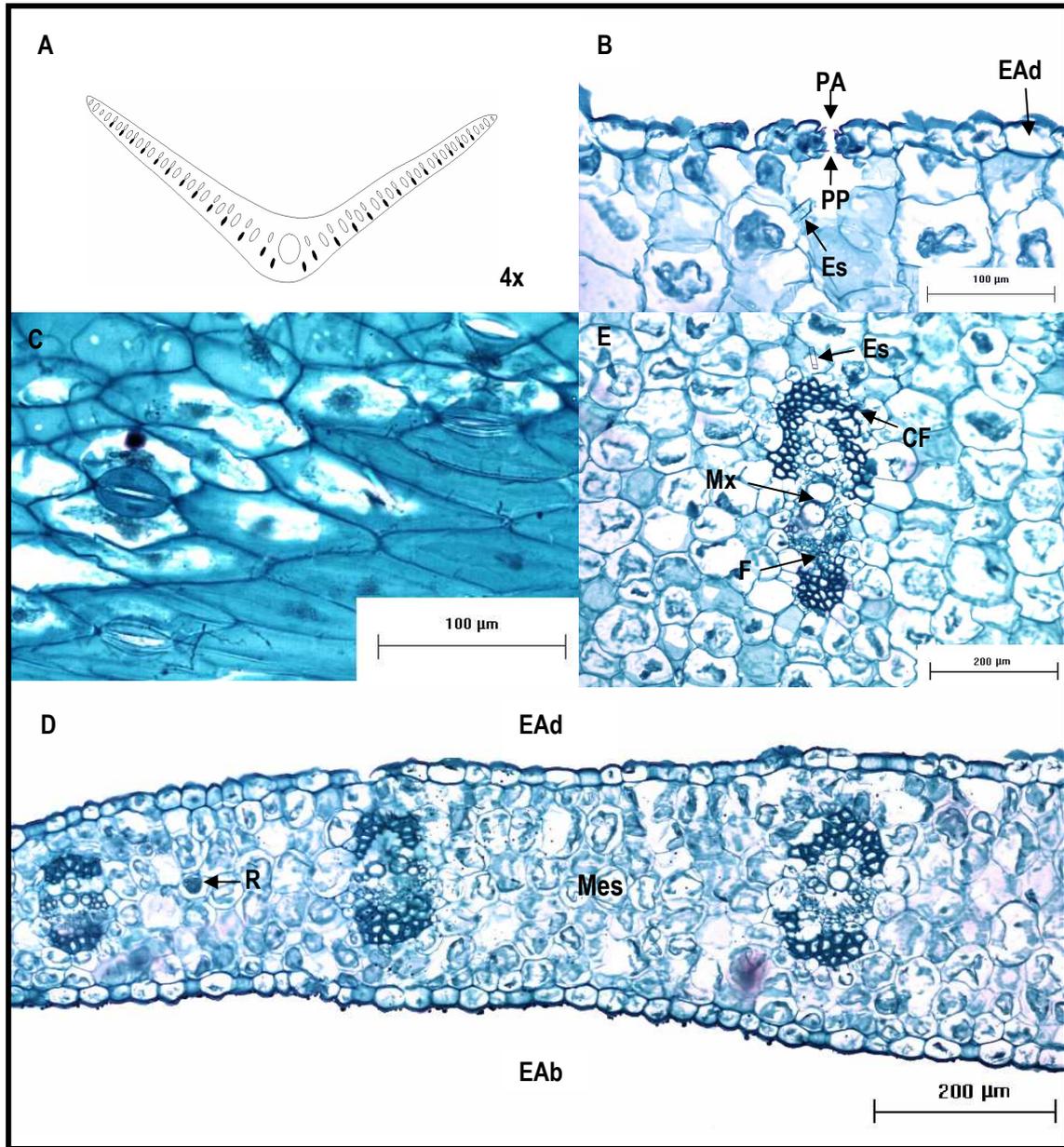
A continuación se presenta en orden alfabético la descripción anatómica de cada una de las especies estudiadas y los datos de recolecta se presentan en el cuadro 2.

### 6.1 *Manfreda elongata*

En sección transversal (TR), el perfil de la lámina abierta de las hojas maduras tiene forma de “V” abierta (Fig. 3A). La cutícula es lisa y moderadamente gruesa. La epidermis está formada por células más o menos cuadradas y sólo las del envés presentan micropapilas. La lámina foliar es anfiestomática, los estomas son abundantes en ambas superficies. Las células oclusivas presentan prolongaciones anteriores y posteriores (engrosamientos de cutina) (Fig. 3B). En corte paradermal (PR) se observan dos células subsidiarias, romboides, alargadas, paralelas a las oclusivas. El resto de las células epidérmicas son hexagonales y alargadas (Fig. 3C).

El mesofilo está constituido completamente por parénquima esponjoso, la forma de las células es irregular, con paredes delgadas y espacios intercelulares pequeños. Se aprecian pocos rafidios distribuidos por todo el mesofilo, los estiloides también son escasos, se observan por debajo de la epidermis y también depositados en las células cercanas al haz vascular o en el parénquima esponjoso (Fig. 3D).

Los haces vasculares en sección transversal se disponen formando tres líneas, son colaterales y ovalados, los de mayor tamaño se distribuyen en la parte media del mesofilo, los más pequeños se disponen hacia los márgenes; los adaxiales poseen pocas fibras y los abaxiales muchas. El xilema se dispone hacia el haz, los elementos de vaso son ovalados, con paredes gruesas, los elementos de mayor diámetro corresponden al metaxilema y se encuentran en el centro del haz. El floema se orienta abaxialmente, consta de elementos de tubo criboso más pequeños y poliédricos. Las fibras son muy abundantes (45-50), dispuestas en los extremos de los haces de mayor tamaño (Fig. 3E).



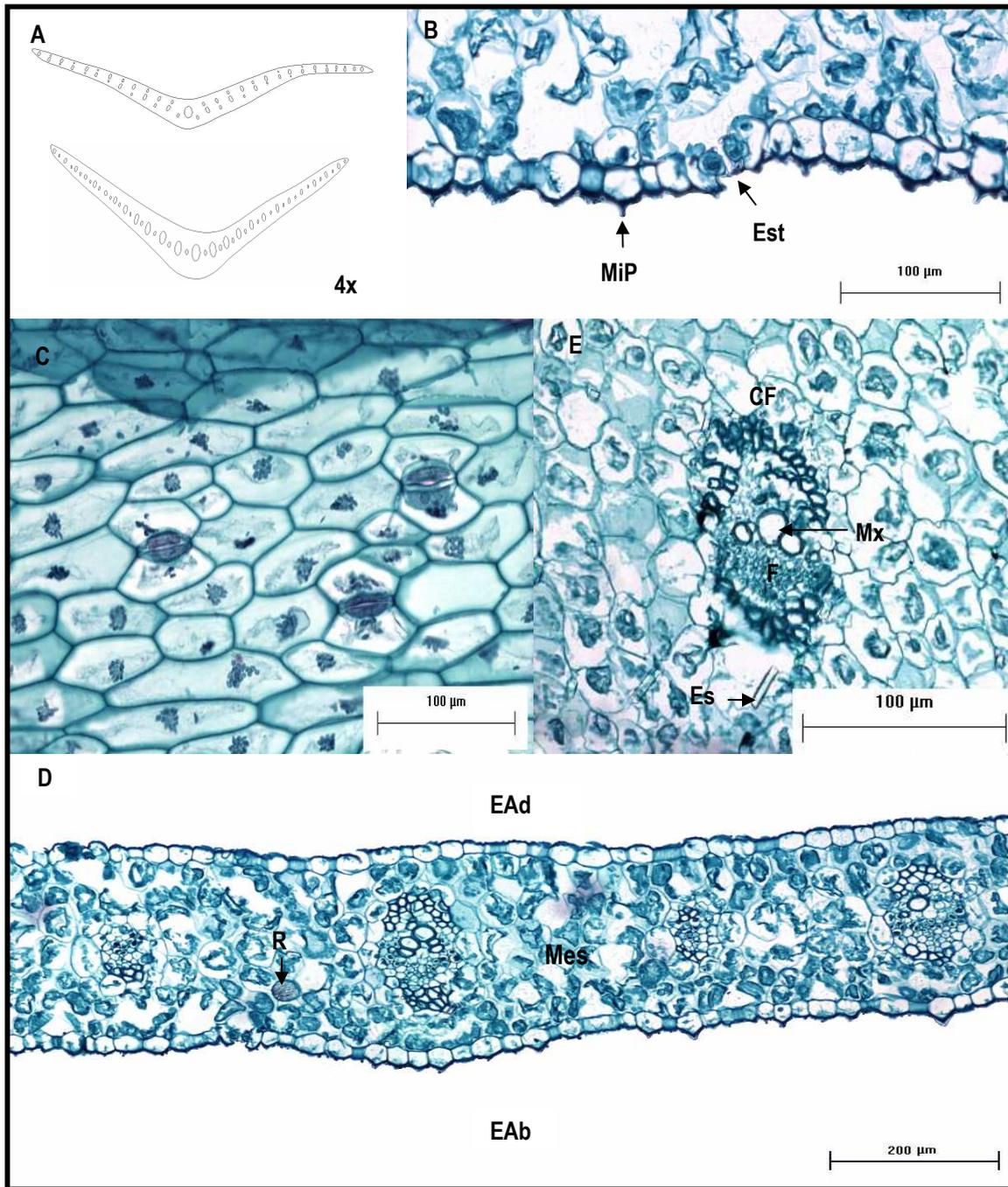
**Figura 3: *Manfreda elongata*.** **A.** Corte transversal (TR), forma de la lámina foliar, distribución de haces vasculares. Donde predominan las fibras están representados por óvalos más oscuros. **B.** (TR), epidermis adaxial (EAd), estiloide (Es), estoma con proyecciones anteriores (PA) y posteriores (PP). **C.** Paradermal (PR), epidermis con estomas paracíticos. **D.** (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd) lisa, abaxial (EAb) papilosa, mesofilo (Mes), rafidio (R). **Fig. E.** (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx), estiloide (Es), casquete de fibras (CF).

## 6.2 *Manfreda galvaniae*

En corte transversal la hoja tiene forma de “V” abierta (Fig. 4A). La cutícula es delgada y lisa. Las células epidérmicas son algo redondeadas y sólo las del envés son papilosas. Las células subsidiarias son irregulares pero del mismo tamaño que el resto de las epidérmicas, las oclusivas son pequeñas y presentan proyecciones anteriores y posteriores con forma de gancho (Fig. 4B). En corte paradermal, las células subsidiarias son deltoides y paralelas a las oclusivas, el resto de las epidérmicas tienen forma poliédrica (Fig. 4C).

El mesofilo está compuesto por parénquima esponjoso, con células irregulares, algunas más o menos isodiamétricas, de paredes delgadas que dejan ver espacios intercelulares pequeños (Fig. 4D). Hay escasos rafidios distribuidos por todo el mesofilo, pero principalmente en las zonas marginales de la hoja, en cambio, los estiloides son abundantes y están contenidos en las células cercanas al haz vascular.

Los haces vasculares son colaterales, ovalados, se pueden disponer en dos filas de casi el mismo tamaño o en una fila, pero entonces se alterna un haz grande con un pequeño. El xilema, orientado hacia la cara adaxial está formado por vasos de forma redonda con paredes gruesas y al centro del haz elementos del metaxilema. El floema, orientado hacia el envés, está formado por elementos de tubo criboso pequeños de paredes más delgadas con forma poliédrica. Las fibras son abundantes (25–30) con paredes muy gruesas y se encuentran formando casquetes en los extremos del haz (Fig. 4E).



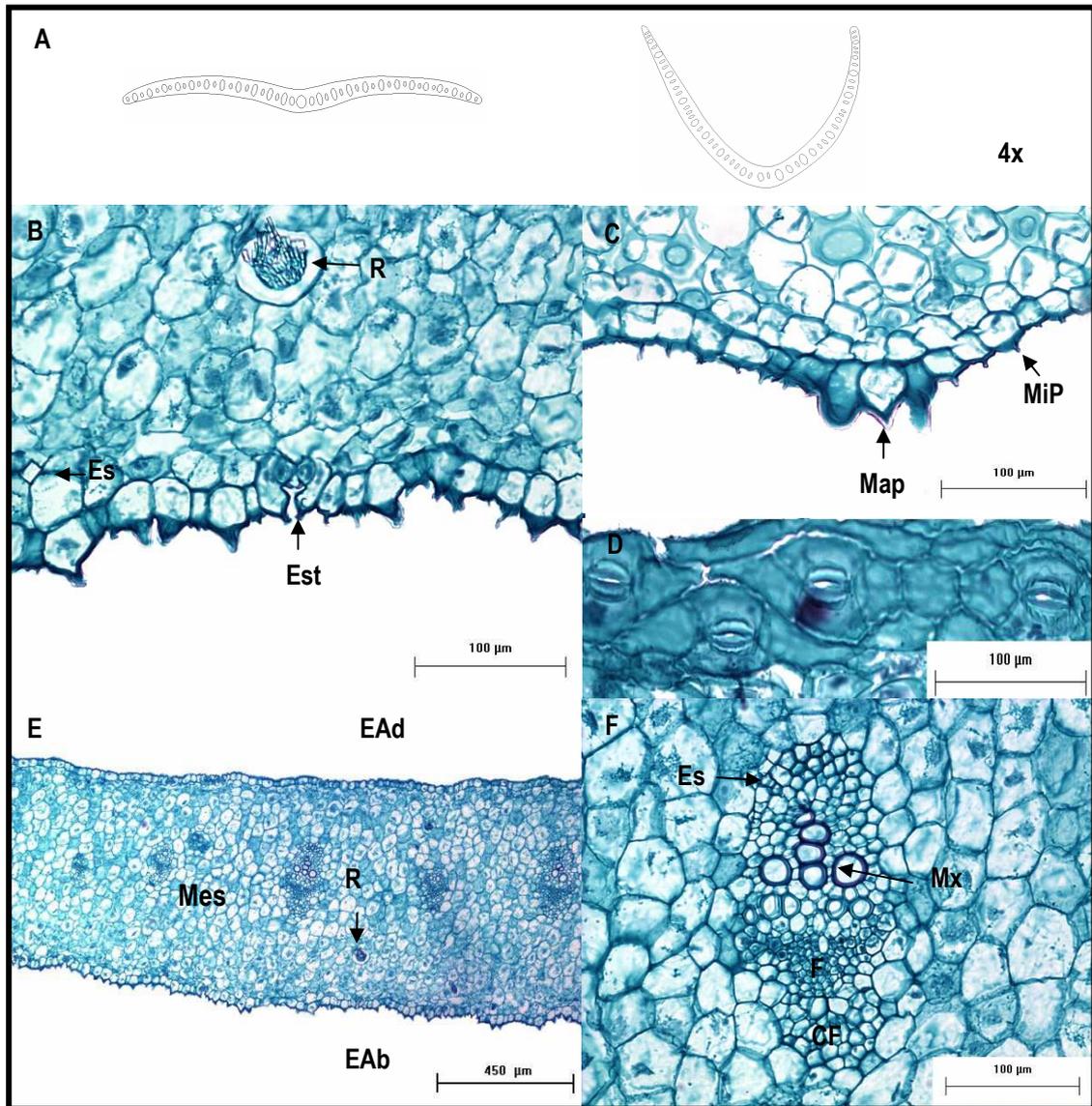
**Figura 4: *Manfreda galvaniae*.** A. (TR), forma de la lámina, distribución de los haces vasculares. B. Epidermis abaxial, micropapilas (MiP), estoma con proyecciones (Est). C. (PR), células epidérmicas, estomas paracíticos. D. (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd) lisa, abaxial (EAb) papilosa, mesofilo (Mes), rafidio (R). E. (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx), estiloide (Es), casquete de fibras (CF).

### 6.3 *Manfreda guttata*

En sección transversal la lámina es ligeramente ondulada o presenta forma de “V” abierta (Fig. 5A). La cutícula es delgada y estriada o muy estriada. Las hojas son anfiestomáticas, con mayor número de estomas en el envés (I.E. = 48 céls/mm<sup>2</sup> en el haz y 59 céls/mm<sup>2</sup> en el envés), células epidérmicas rectangulares en el haz, algunas presentan forma redonda y macropapilas escasas, agrupadas en número de tres, sobretodo en el envés (Figs. 5B y 5C). Las células subsidiarias son más grandes que las oclusivas, las proyecciones anteriores están más desarrolladas que las posteriores y tienen forma de gancho, las cámaras subestomáticas están delimitadas por células más irregulares que las del resto del mesofilo. El complejo estomático es paracítico (Fig. 5D).

El mesofilo se halla compuesto únicamente por parénquima esponjoso. Los estiloides son escasos, están distribuidos principalmente en las células más cercanas a la epidermis y contenidos en las células cercanas a los haces vasculares (Fig. 5B). Los rafidios son abundantes en las zonas marginales de la hoja (Fig. 5E).

El sistema vascular se dispone en la parte media del mesofilo, alternándose haces grandes con pequeños, de forma ovalada y colaterales. Las fibras son abundantes o escasas (1-30) y se localizan hacia los extremos formando casquetes (Fig. 5F).



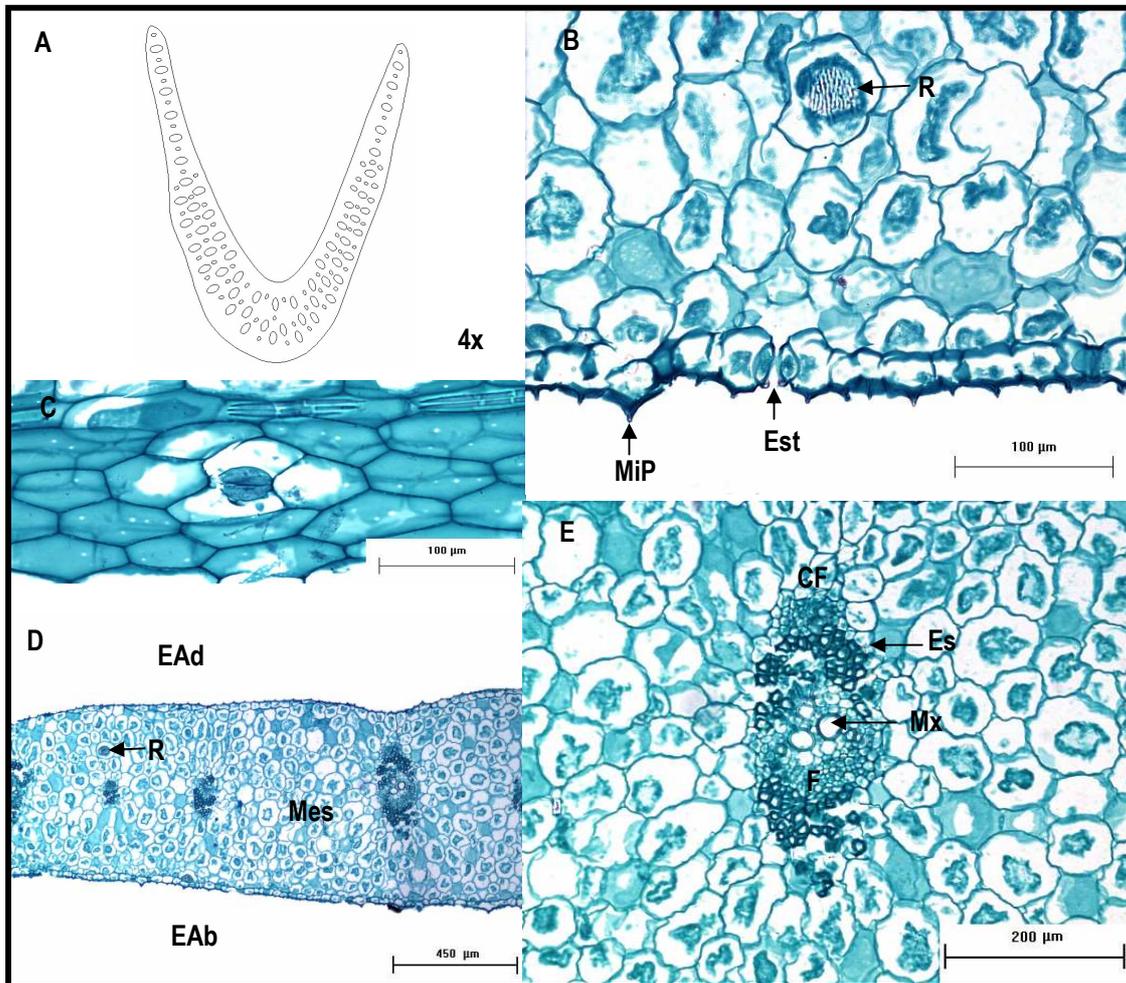
**Figura 5: *Manfreda guttata*.** A. (TR), forma de la lámina, distribución de los haces vasculares. B. (TR), epidermis abaxial, estoma (Est), rafidio (R), estiloide (Es). C. (TR), epidermis abaxial, macropapilas (Map), micropapilas (MiP). D. (PR), células epidérmicas, estomas parásitos. E. (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd) lisa, abaxial (EAb) papilosa, mesofilo (Mes), rafidio (R). F. (TR). haz vascular: floema (F). metaxilema (Mx). estiloide (Es). casquete de fibras (CF).

#### 6.4 *Manfreda hauniensis*

En sección transversal, la hoja tiene forma de “V” cerrada (Fig. 6A). La cutícula es delgada y lisa. Las hojas son anfiestomáticas, con mayor número de estomas en el envés (I.E.= 25 céls/mm<sup>2</sup> en el haz y 34 céls/mm<sup>2</sup> en el envés) y células epidérmicas cuadradas, a rectangulares, con micropapilas en ambas superficies de la hoja. Las células subsidiarias son más grandes que el resto de las epidérmicas, las oclusivas presentan proyecciones anteriores en forma de gancho más desarrolladas que las posteriores, se observan cámaras subestomáticas delimitadas por células más irregulares que el resto del mesofilo (Fig. 6B). En corte paradermal se aprecian los estomas paracíticos con células subsidiarias romboides paralelas a las oclusivas, el resto de las células epidérmicas son hexagonales (Fig. 6C).

El mesofilo consta únicamente de parénquima esponjoso, con células más o menos isodiamétricas de paredes delgadas con espacios intercelulares medianos. Los rafidios son abundantes, se distribuyen principalmente debajo de la epidermis, al igual que los estiloides, pero estos últimos son escasos (Fig. 6D).

Los haces vasculares son colaterales. Se distribuyen en tres filas, en cada una se alternan haces grandes, ovalados con haces pequeños, no obstante, en los extremos marginales de la hoja solo persisten los haces de la fila central. El xilema tiene posición adaxial, consta de elementos de vaso que en corte transversal tienen forma más o menos circular. El metaxilema se halla en el centro del haz con elementos de diámetro mayor. El floema se orienta hacia el envés, está compuesto por elementos de tubo criboso más pequeños y de forma poliédrica. Las fibras son abundantes (25–30) y forman casquetes en los extremos del haces, tienen paredes muy gruesas y forma poliédrica más grandes que los elementos del floema y más pequeñas que los elementos del metaxilema (Fig. 6E).



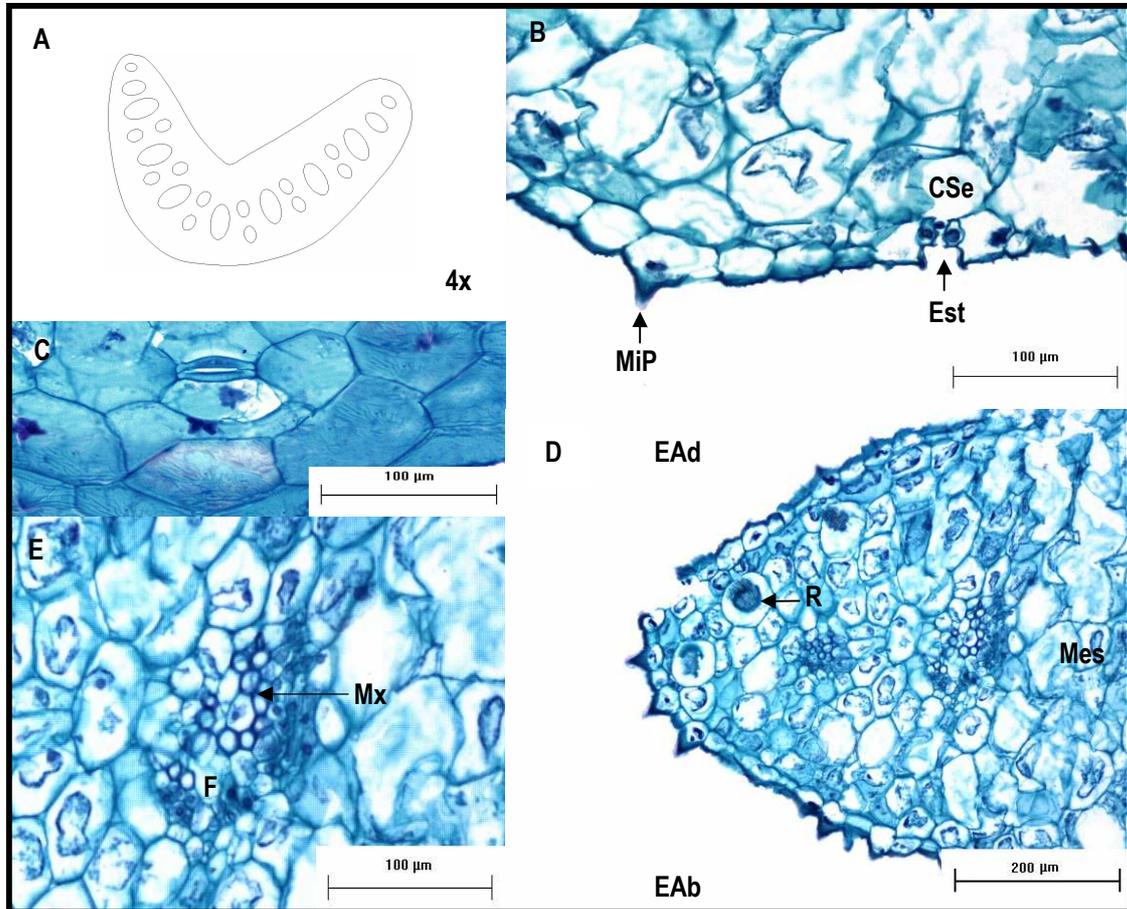
**Figura 6:** *Manfreda hauniensis*. **A.** (TR), forma de la lámina, distribución de los haces vasculares. **B.** (TR), epidermis abaxial, estoma (Est), micropapilas (MiP), rafidio (R). **C.** (PR) Epidermis, estomas paracíticos. **D.** (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd), abaxial (EAb) papilosas, mesofilo (Mes), rafidio (R). **E.** (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx), estiloide (Es), casquete de fibras (CF).

### **6.5 *Manfreda longiflora***

En corte transversal la hoja tiene forma de “V” abierta (Fig. 7A), la cutícula es delgada e irregularmente estriada. Las hojas son anfiestomáticas con mayor número de estomas en el haz (I.E. = 38 céls/mm<sup>2</sup> en el haz y 22 céls/mm<sup>2</sup> en el envés). Las células epidérmicas son rectangulares a más o menos cuadradas, las células del envés presentan micropapilas de mayor tamaño que las del haz. Los estomas presentan células subsidiarias irregulares y casi del mismo tamaño que el resto de las células epidérmicas, las oclusivas son muy pequeñas de forma ovalada (Fig. 7B). En corte paradermal el complejo estomático es de tipo paracítico, con células subsidiarias deltoides y ápice truncado, paralelas a las oclusivas, estas últimas son más pequeñas que el resto de las epidérmicas, las cuales presentan forma poliédrica y más alargada (Fig. 7C).

El mesofilo se halla constituido únicamente por parénquima esponjoso. Presenta abundantes rafidios que se distribuyen principalmente debajo de la epidermis y los estiloides son muy escasos (Fig. 7D).

Los haces vasculares son colaterales. Se distribuyen en la parte media del mesofilo, alternándose un haz de mayor tamaño con dos más pequeños. El xilema tiene posición adaxial y está formado por elementos de vaso ovalados, el metaxilema se localiza en el centro del haz y se caracteriza por el mayor diámetro de sus elementos. El floema se orienta hacia la cara abaxial y está constituido por elementos de tubo criboso de tamaño más pequeño de forma poliédrica. Las fibras están ausentes (Fig. 7E).



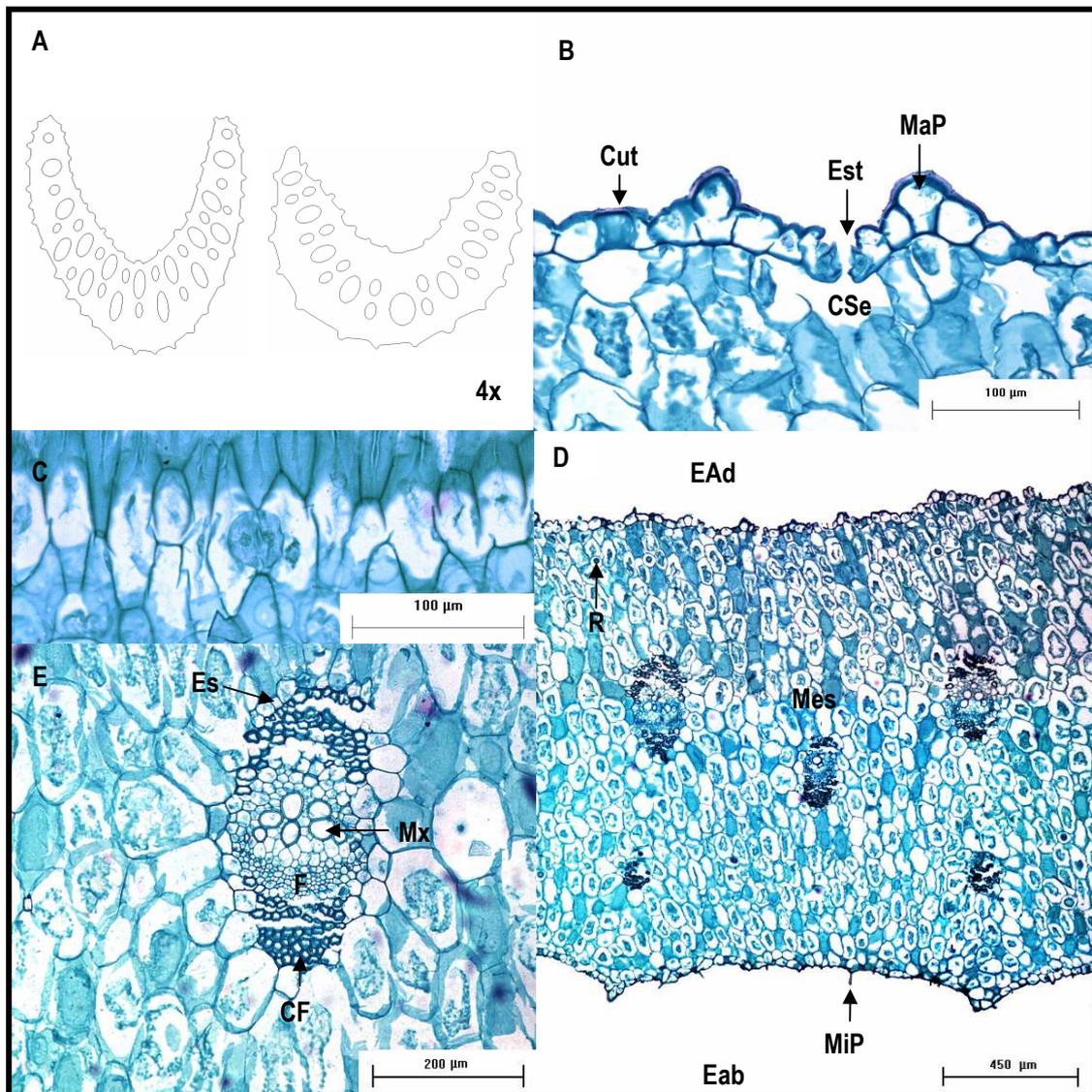
**Figura 7: *Manfreda longiflora*.** A. (TR), forma de la lámina, distribución de haces vasculares. B. (TR), epidermis abaxial, micropapilas (MiP), estoma (Est), cámara subestomática (CSe). C. (PR) epidermis, estoma paracítico. D. (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd), abaxial (EAb), mesofilo (Mes), rafidio (R). E. (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx).

## 6.6 *Manfreda nanchitlensis*

En corte transversal la hoja tiene forma de “V” abierta (Fig. 8A). La cutícula es lisa y gruesa. La epidermis consta de células cuadradas a rectangulares, con macro y micropapilas, las primeras se agrupan en número de tres y están distribuidas tanto en el haz como en el envés. Las células subsidiarias y las oclusivas tienen forma arriñonada, generalmente las primeras son del mismo tamaño que el resto de las epidérmicas, las oclusivas son más pequeñas con prolongaciones anteriores en forma de gancho, se observan cámaras subestomáticas delimitadas por células irregulares (Fig. 8B). En corte paradermal los estomas son paracíticos, las células subsidiarias son paralelas a las oclusivas con forma romboide a hexagonal alargadas, las oclusivas tienen forma de media luna. El resto de las células epidérmicas son poliédricas (Fig. 8C).

El mesofilo está formado por parénquima esponjoso, las células son irregulares con paredes delgadas y espacios intercelulares pequeños. Los rafidios son abundantes y se distribuyen principalmente debajo de la epidermis. (Fig. 8D). Los estiloides se encuentran depositados en las células cercanas a los haces vasculares.

Los haces vasculares son colaterales. Se distribuyen formando una o dos filas de haces grandes alternados con haces de menor tamaño. El xilema orientado hacia la cara adaxial, está compuesto por elementos de vaso de forma ovalada, el metaxilema se dispone en el centro del haz y se caracteriza por un mayor diámetro en sus elementos. El floema se orienta hacia el envés y está formado por elementos de tubo criboso poliédricos de tamaño más pequeño. Las fibras son abundantes (20–35) y forman casquetes en los extremos de los haces (Fig. 8E).



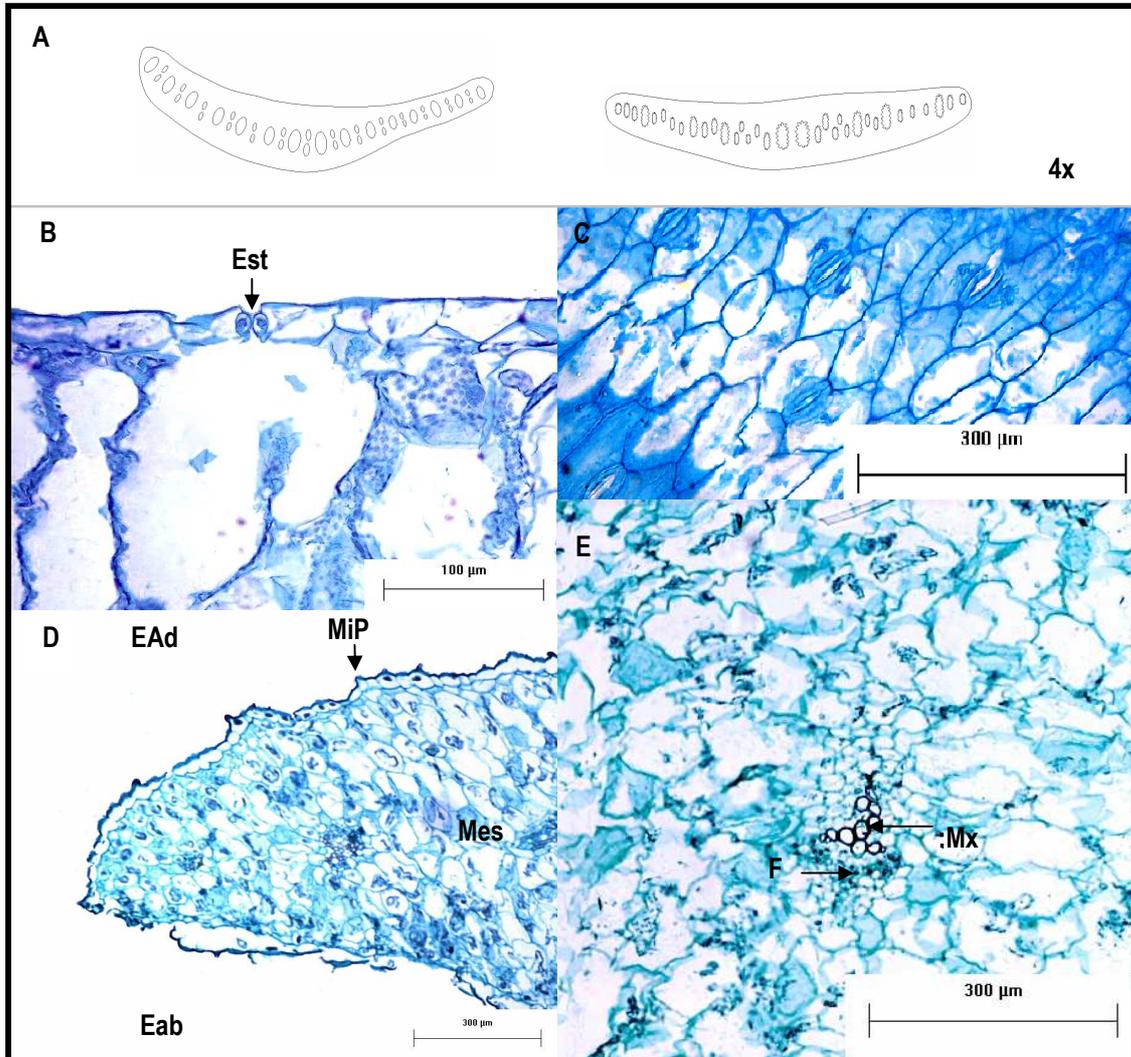
**Figura 8:** *Manfreda nanchititlensis*. A. (TR), forma de la lámina, distribución de haces vasculares. B. (TR), epidermis adaxial, macropapilas (MaP), estoma (Est), cámara subestomática (CSe), cutícula gruesa (Cut). C. (PR), células epidérmicas, estoma paracítico. D. (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd) y abaxial (EAb) con micropapilas (MiP), mesofilo (Mes) rafidio (R). E. (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx), estiloide (Es), casquete de fibras (CF).

### **6.7 *Manfreda potosina***

En corte transversal la forma de la hoja es recta (Fig. 9A). La cutícula es delgada, en algunas porciones es lisa y en otras estriada. Las células epidérmicas son rectangulares o de forma variable, la mayoría presenta micropapilas que varían en tamaño, principalmente en el envés. Los estomas presentan cámaras subestomáticas. Las células subsidiarias son alargadas con forma rectangular, las oclusivas son muy pequeñas y redondas (Fig. 9B). En corte paradermal el complejo estomático es paracítico, las células subsidiarias paralelas a las oclusivas son aproximadamente dos veces más grandes con forma romboide, las oclusivas son de menor tamaño, el resto de las células epidérmicas tiene forma poliédrica (Fig. 9C).

El mesofilo está formado por parénquima esponjoso, con células de paredes delgadas y forma muy irregular con espacios intercelulares medianos. Los rafidios y estiloides son escasos y están distribuidos en todo el mesofilo (Fig. 9D).

Los haces vasculares se distribuyen en la parte media del mesofilo, alternándose un haz de mayor tamaño y forma ovalada con dos o más haces pequeños casi redondos y colaterales. El xilema se orienta hacia la cara adaxial, consta de elementos de vaso que en forma transversal tienen forma ovalada, el metaxilema se encuentra en el centro del haz, los elementos de tubo criboso que lo conforman tienen un diámetro mayor. El floema tiene posición abaxial y consta de elementos más pequeños en diámetro, con forma poliédrica. Las fibras están ausentes. Los estiloides se encuentran en las células cercanas a los haces vasculares (Fig. 9E).



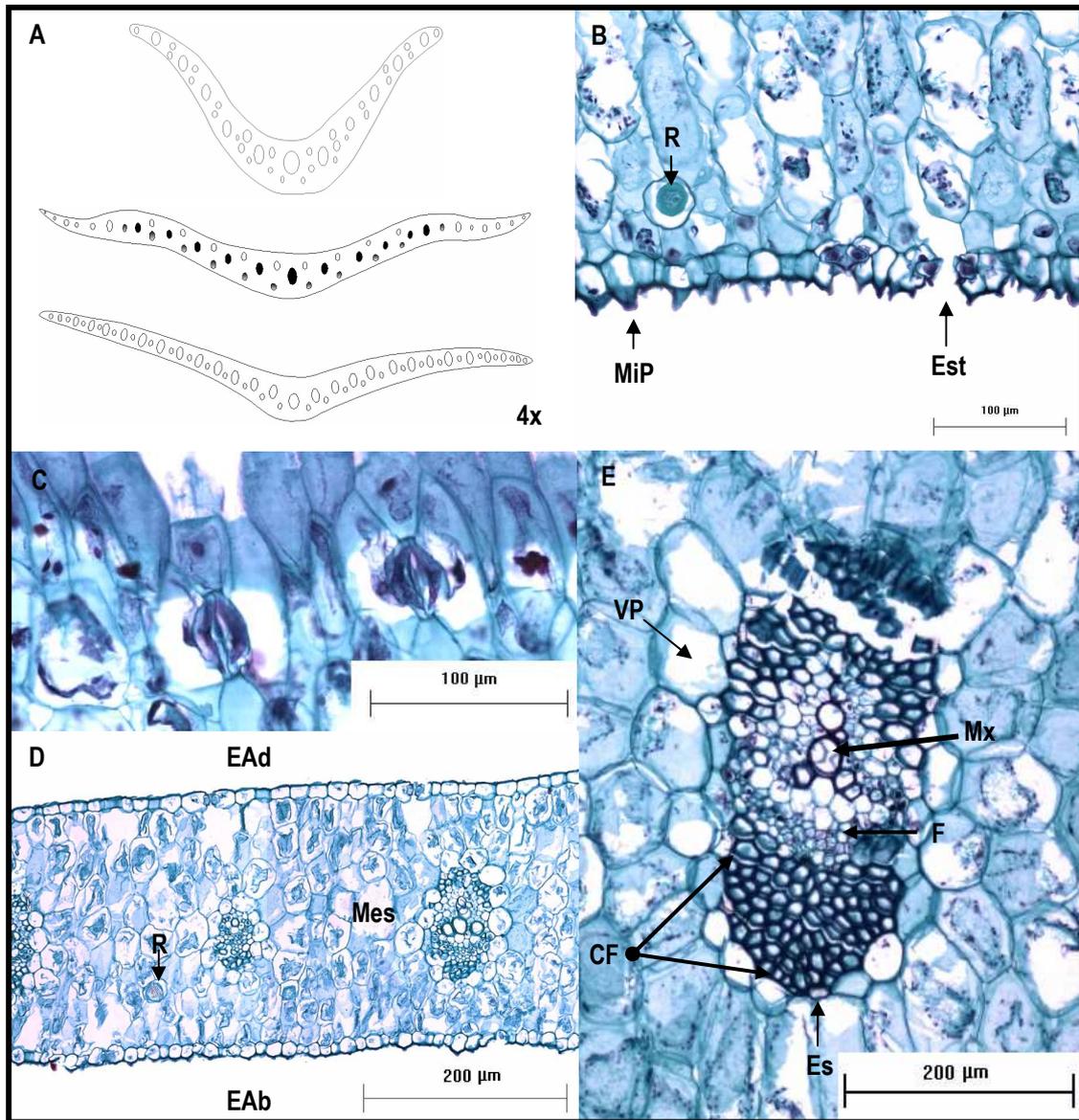
**Figura 9: *Manfreda potosina*.** A. (TR), forma de la lámina, distribución de haces vasculares. B. (TR), epidermis adaxial, estoma (Est). C. (PR), células epidérmicas, estomas paracíticos. D. (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd), abaxial (EAb), micropapilas (MiP), mesofilo (Mes). E. (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx).

### **6.8 *Manfreda pringlei***

En corte transversal hoja tiene forma de “V” abierta a ligeramente ondulada (Fig. 10A). La cutícula puede ser lisa o estriada con un espesor variable. La epidermis está formada por células cuadradas a casi esféricas, papilosas principalmente en el envés, los estomas presentan cámaras subestomáticas delimitadas por células irregulares (Fig. 10B). En corte paradermal los estomas son paracíticos, las subsidiarias son romboides alargadas y paralelas a las oclusivas, el resto de las epidérmicas son poliédricas (Fig. 10C).

El mesofilo está formado únicamente por parénquima esponjoso, con células irregulares y espacios intercelulares pequeños. Los rafidios están distribuidos principalmente debajo de la epidermis (Fig. 10D). Los estiloides son escasos y se pueden observar depositados en la capa más externa de los haces vasculares.

Los haces vasculares son colaterales, ovalados y rodeados por una vaina parenquimática en la que se encuentran escasos estiloides. Se pueden disponer en una o tres filas, los de mayor tamaño se encuentran en la parte media del mesofilo y los más pequeños se alternan por arriba o por debajo de éstos. El xilema con posición adaxial está formado por elementos de vaso ovalados, los elementos de mayor diámetro corresponden al metaxilema y se encuentran en el centro del haz. El floema se orienta hacia el envés y consta de elementos de tubo criboso más pequeños con forma poliédrica. Las fibras varían en número (5- 55), se disponen en los extremos de los haces a manera de casquetes (Fig. 10E).



**Figura 10: *Manfreda pringlei*.** A. (TR), forma de la lámina, distribución de los haces vasculares. Donde predominan las fibras están representados por óvalos más oscuros. B. (TR), epidermis abaxial micropapilas (P), estoma (Est), rafidio (R). C. (PR), epidermis, estomas paracíticos. D. (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd), abaxial (EAb), mesofilo (Mes), rafidio (R). E. (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx), vaina parenquimática (VP), estiloide (Es), casquete de fibras (CF).

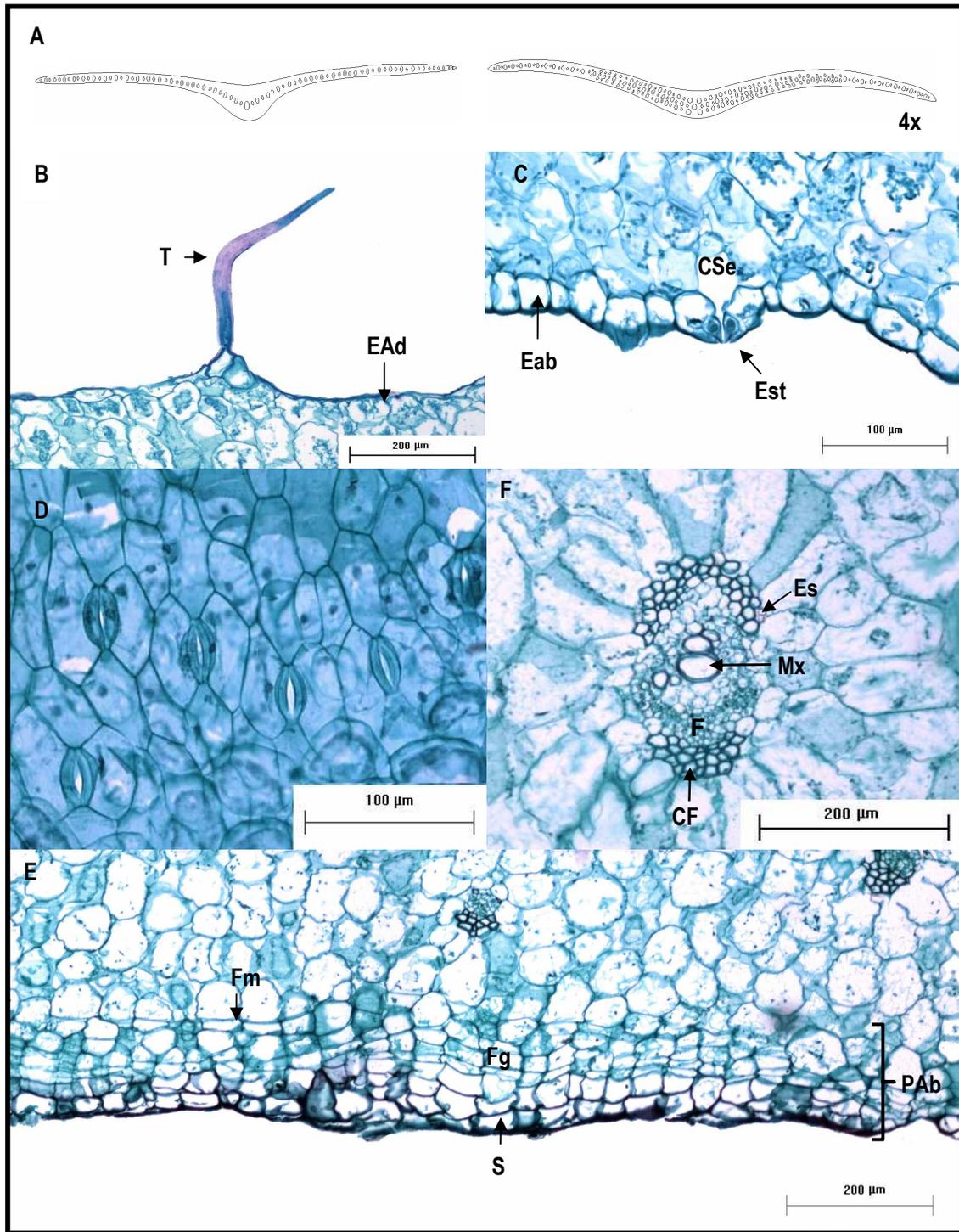
### 6.9 *Manfreda pubescens*

En corte transversal la forma de la hoja es recta a ligeramente ondulada (Fig. 11A). Cutícula delgada, con porciones lisas o estriadas. La epidermis es lisa, con células alargadas a más o menos cuadradas. Los tricomas son unicelulares y están distribuidos abundantemente en ambas superficies de la hoja, las células laterales son frecuentemente alargadas o poliédricas, sin embargo, pueden cambiar de tamaño y forma (Fig. 11B). Los estomas son más abundantes en el envés con un índice estomático de 27 céls/mm<sup>2</sup> y 21 céls/mm<sup>2</sup> en el haz, la hoja se considera como anfiestomática. Por otro lado, las células subsidiarias tienen forma arriñonada, las oclusivas son más pequeñas e irregulares con proyecciones anteriores y posteriores, presentan cámaras subestomáticas delimitadas por las células del mesofilo (Fig. 11C). En corte paradermal se aprecia la forma de las células del complejo estomático y las células epidérmicas poliédricas, el complejo estomático es de tipo paracítico. Las células subsidiarias se disponen paralelamente a las oclusivas, tienen forma alargada y varían en tamaño, las oclusivas tienen forma de media luna y un denso contenido celular (Fig. 11D). Se presenta una porción peridérmica, que deriva del mesofilo principalmente en el envés. El súber presenta dos a tres estratos de células, rectangulares o irregulares. El felógeno está constituido por dos capas de células; internamente se observa el felema también con dos capas de células (Fig. 11E).

El mesofilo consta de parénquima esponjoso, con células de forma irregular, paredes delgadas, y formando pequeños espacios intercelulares. Los rafidios se distribuyen escasamente por todo el mesofilo, los estiloides varían entre los individuos, en algunos son abundantes y en otros escasos, además del mesofilo también se pueden hallar asociados a los haces vasculares.

El sistema vascular de la hoja queda formado por haces de tamaño grande alternados con uno o más haces pequeños, todos están alineados en la parte media del mesofilo formando una fila o se pueden disponer en tres hileras, aunque hacia los márgenes sólo persiste una sola fila. Los haces son colaterales, de forma ovalada. El xilema se orienta hacia el haz y consta de elementos de vaso que en corte transversal tienen forma ovalada. El floema tiene posición abaxial, constituido por elementos de tubo criboso con forma

poliédrica. Las fibras varían en número (4– 28), se agrupan formando casquetes en los extremos del haz vascular (Fig. 11F).



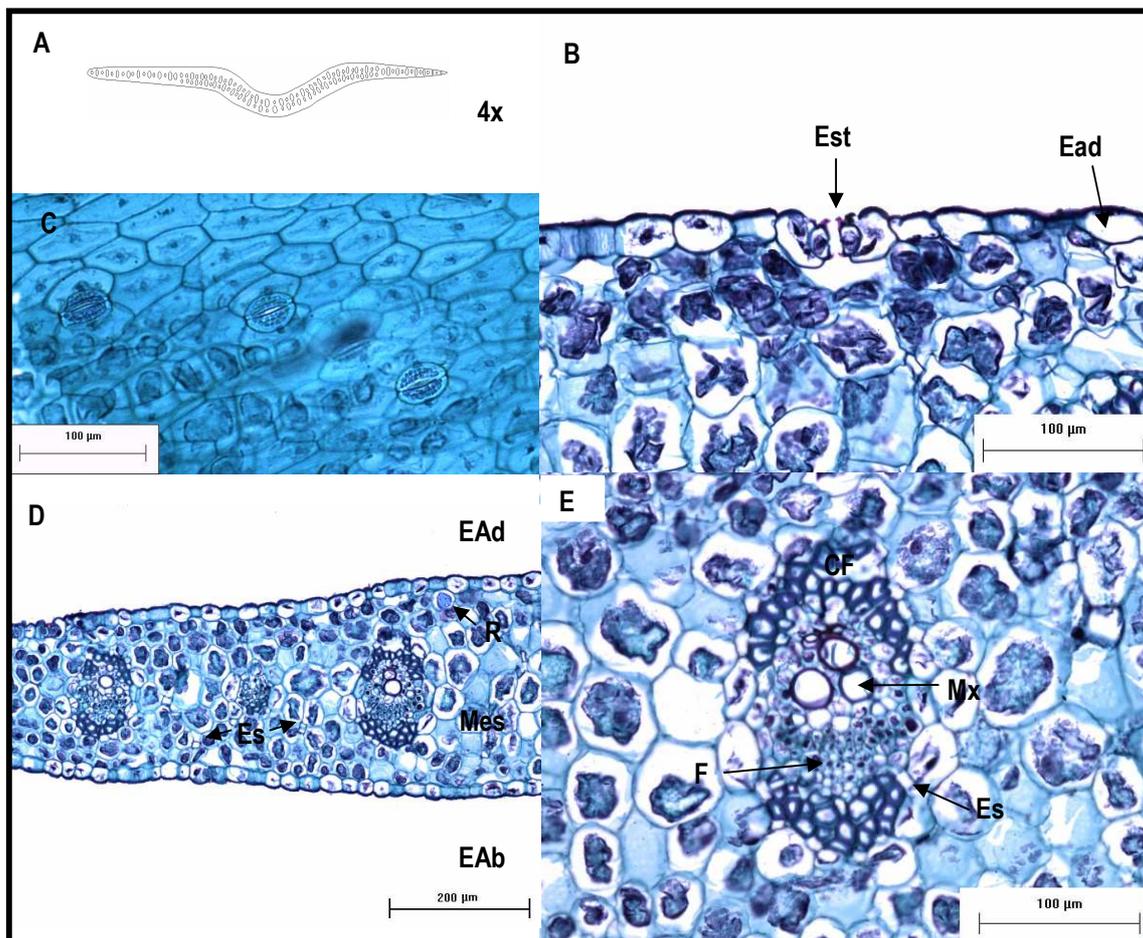
**Figura 11: *Manfreda pubescens*.** A. (TR), forma de la hoja, disposición de haces vasculares. B. (TR), epidermis adaxial (EAd), tricoma (T). C. (TR), epidermis abaxial (Eab), estoma (Est), cámara subestomática (CSe). D. (PR), epidermis, estomas paracíticos. E. (TR), peridermis abaxial (PAb), súber (S), felógeno (Fg), felema (Fm). F. (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx), estiloide (Es), casquete de fibras (CF).

### **6.10 *Manfreda revoluta***

En corte transversal la hoja tiene forma de “V” muy abierta (Fig. 12A). La cutícula es lisa y delgada. Las células epidérmicas son más o menos cuadradas en ambas superficies de la hoja, en algunas zonas se aprecian un poco aplanadas. Las células subsidiarias son relativamente más grandes que el resto, las oclusivas son pequeñas con prolongaciones en forma de gancho, presentan cámaras subestomáticas (Fig. 12B). En plano paradermal se observa el complejo estomático paracítico, las células subsidiarias son romboides alargadas y paralelas a las oclusivas, el resto de las células epidérmicas tiene forma poliédrica (Fig. 12C).

El mesofilo consta de parénquima esponjoso en su totalidad, con células irregulares de paredes delgadas y espacios intercelulares pequeños. Los rafidios están escasamente distribuidos por todo el mesofilo. Los estiloides son muy abundantes y se pueden encontrar depositados en las células próximas a los haces vasculares (Fig. 12D).

Los haces vasculares son colaterales, ovalados, la forma puede variar según el tamaño, los más grandes son ovalados y los más pequeños son de forma casi circular. Se distribuyen en la parte media del mesofilo, alineados en dos filas, cada una con haces vasculares grandes alternados con haces pequeños. El xilema, en posición adaxial, consta de células más o menos circulares, el metaxilema se encuentra en la parte media del haz y los elementos de vaso que lo forman tienen un diámetro mayor. El floema se encuentra orientado hacia el envés y está constituido por células más pequeñas y forma poliédrica. Las fibras son abundantes (13–26) y forman casquetes en los extremos de los haces (Fig. 12E).



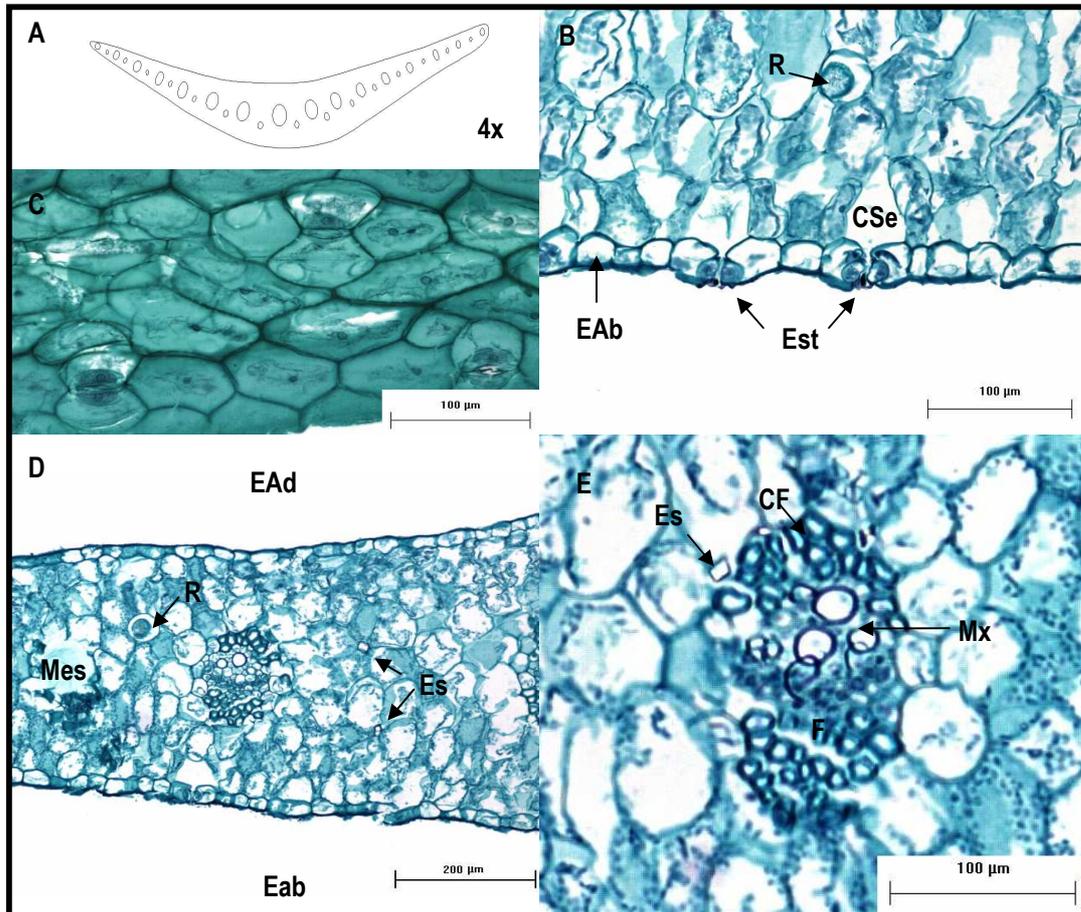
**Figura 12: *Manfreda revoluta*.** A. (TR), forma de la hoja, disposición de los haces vasculares. B. Epidermis adaxial (Ead), estoma (Est). Fig. C. (PR), epidermis, estomas paracíticos. D. (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd), abaxial (EAb), mesofilo (Mes) Rafidio (R). E. (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx), estiloide (Es), casquete de fibras (CF).

### **6.11 *Manfreda rubescens***

En corte transversal la hoja tiene forma de “V” abierta (Fig. 13A). La cutícula es lisa y delgada. La epidermis está formada por células rectangulares. Los estomas presentan cámaras subestomáticas, las células subsidiarias son del mismo tamaño que el resto de las epidérmicas y las oclusivas tienen prolongaciones anteriores y posteriores muy desarrolladas en forma de gancho (Fig. 13B). En corte paradermal se observan los estomas paracíticos con células subsidiarias romboides y células epidérmicas poliédricas (Fig. 13C).

El mesofilo está formado por parénquima esponjoso en su totalidad, con células de forma irregular, paredes delgadas y espacios intercelulares pequeños. Los rafidios son escasos y se distribuyen por todo el mesofilo (Fig. 13D). Los estiloides son abundantes, algunos pueden estar depositados en las células cercanas a los haces vasculares.

Los elementos vasculares constituyen haces colaterales, ovalados. Se distribuyen en la parte media del mesofilo formando una fila en la que se alternan haces grandes con pequeños. El xilema, con posición adaxial, está compuesto por elementos de vaso más o menos circulares. El metaxilema se localiza en el centro del haz y está formado por elementos de diámetro más grande. El floema, constituido por elementos de tubo criboso con forma poliédrica, más pequeños que los del xilema, está orientado hacia la cara abaxial. Las fibras son abundantes (20-25) y se distribuyen en los extremos de los haces a manera de casquetes (Fig. 13E).



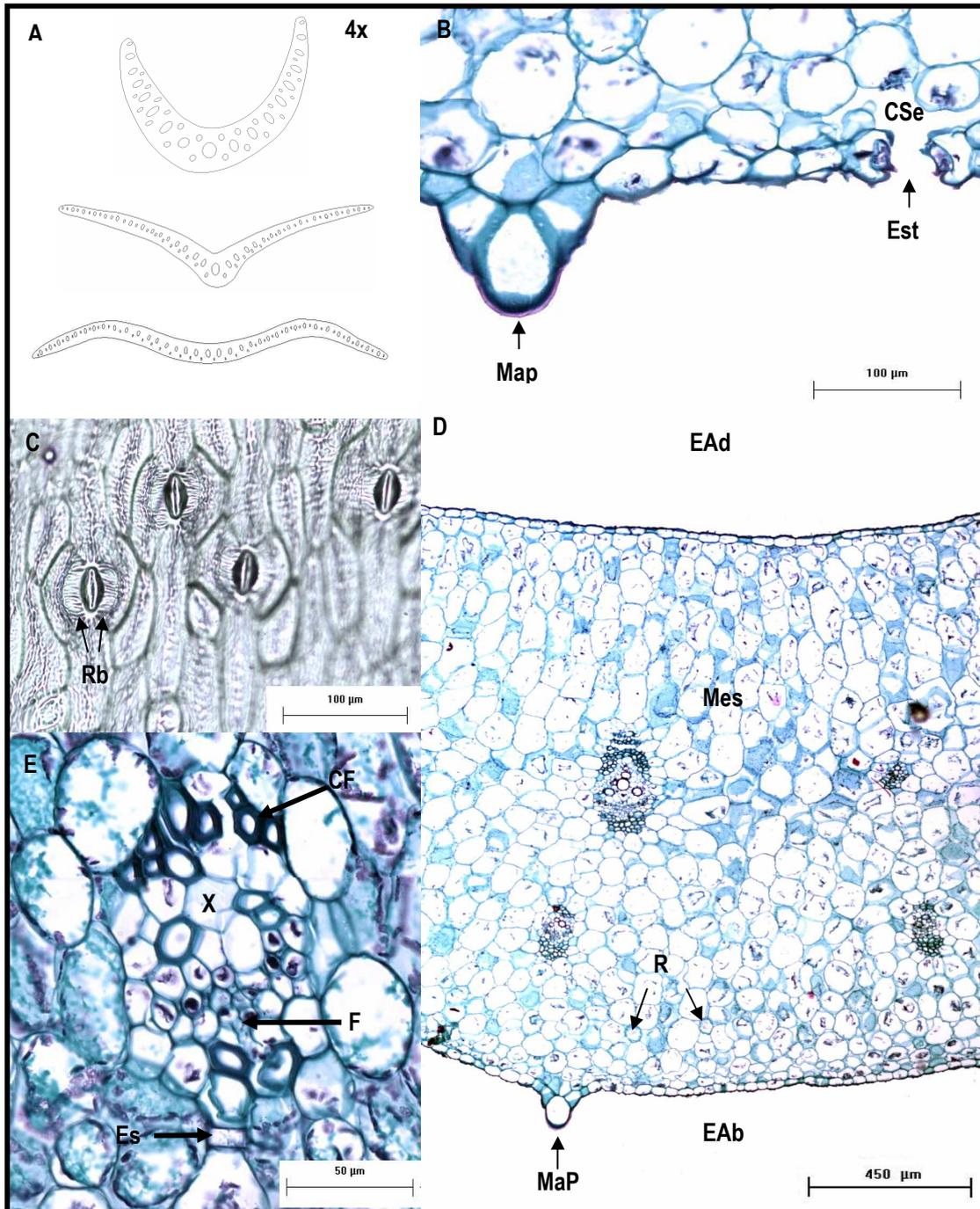
**Figura 13: *Manfreda rubescens*.** A. (TR), forma de la hoja, disposición de los haces vasculares. B. (TR), epidermis abaxial (EAb), estoma (Est), cámara subestomática (CSe), rafidio (R). C. (PR), epidermis, estomas paracíticos. D. (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd), abaxial (EAb), mesofilo (Mes), rafidio (R), estiloide (Es). E. (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx), estiloide (Es), casquete de fibras (CF).

### **6.12 *Manfreda scabra***

En corte transversal las hojas tiene forma de “V” abierta a ligeramente ondulada (Fig. 14A), son anfiestomáticas, con mayor número de estomas en el envés (I.E.= 30 céls/mm<sup>2</sup> en el haz y 38 céls/mm<sup>2</sup> en el envés). La cutícula es delgada y estriada. La epidermis consta de células más o menos cuadradas a rectangulares, con macro y micropapilas en ambas superficies, las primeras se agrupan en número de tres (Fig. 14B). Los estomas presentan cámaras subestomáticas delimitadas por células irregulares, las células subsidiarias son irregulares del mismo tamaño que el resto de las epidérmicas, las oclusivas poseen proyecciones anteriores y posteriores. En corte paradermal se aprecian los estomas paracíticos con células subsidiarias romboides, paralelas a las oclusivas y con rebordes en la parte mas interna, el resto de las epidérmicas son poliédricas (Fig. 14C).

El mesofilo consta de parénquima esponjoso únicamente, formado por células de forma irregular, de paredes delgadas y espacios intercelulares medianos. Los rafidios varían en los individuos analizados de abundantes a escasos y están distribuidos por todo el mesofilo, debajo de la epidermis (Fig. 14D). Los estiloides son abundantes y algunos se hallan depositados en las células cercanas a los haces vasculares.

Los haces vasculares son ovalados, colaterales. Se distribuyen formando una o tres filas en las que se alternan haces grandes con más pequeños. El xilema tiene posición adaxial, está formado por elementos de vaso más o menos circulares, el metaxilema, compuesto por elementos de diámetro más grande, se encuentra al centro del haz. El floema, orientado hacia el envés, está constituido por elementos de tubo criboso con diámetro más pequeño y forma poliédrica. Las fibras son abundantes (15-45) y forman casquetes en los extremos de los haces (Fig. 14E).



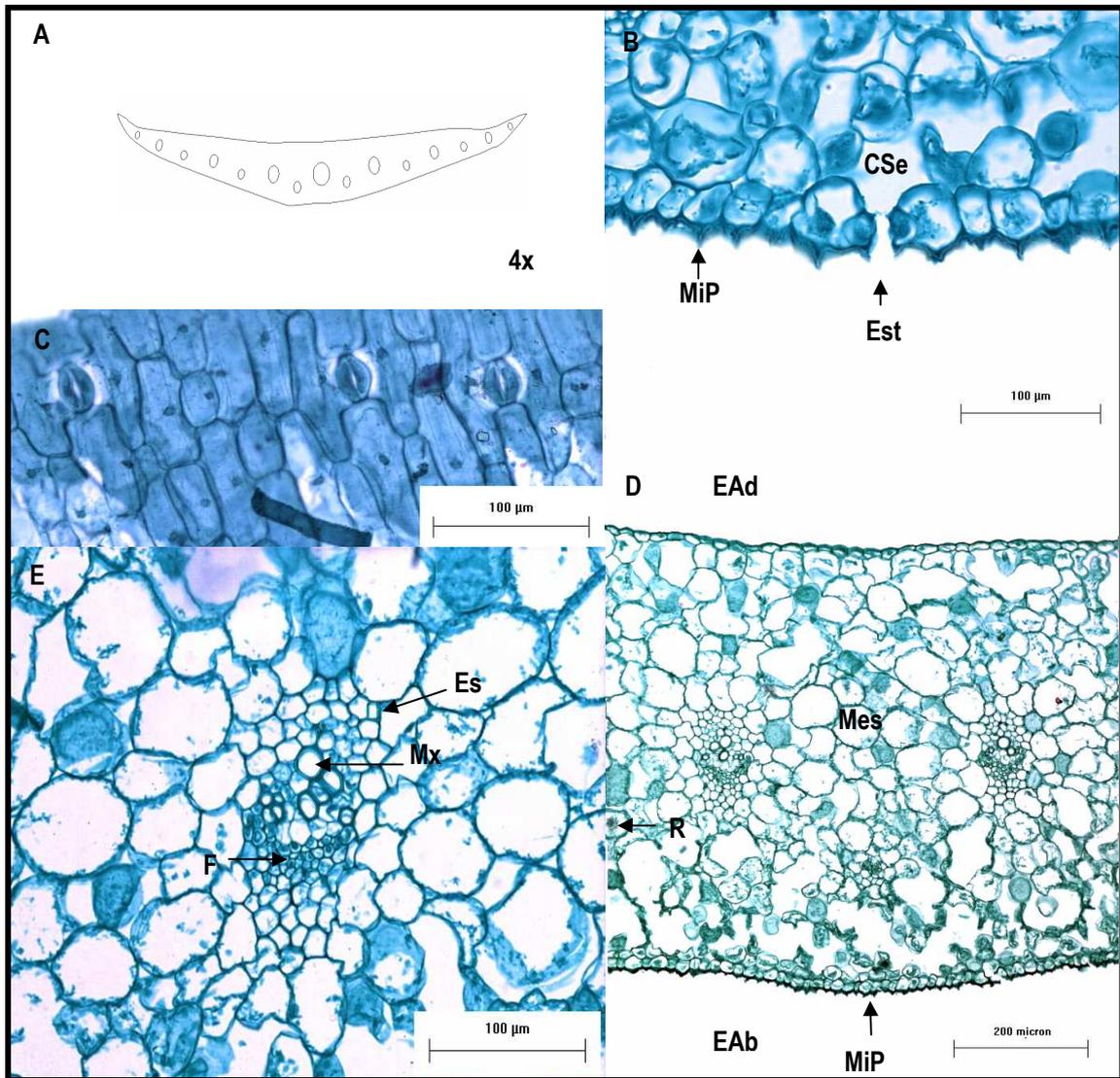
**Figura 14: *Manfreda scabra*.** A. (TR), forma de la hoja, disposición de los haces vasculares. B. (TR), epidermis abaxial (EAb), estoma (Est), cámara subestomática (CSe), macropapilas (MaP). C. Impresión cuticular, estomas paracíticos, rebordes (Rb) en las subsidiarias. D. (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd), abaxial (EAb), mesofilo (Mes), rafidios (R). E. (TR), haz vascular; floema (F), xilema (X), estiloide (Es), casquete de fibras (CF).

### **6.13 *Manfreda singuliflora***

La forma de la hoja en corte transversal es recta (Fig. 15A). La cutícula es delgada y lisa en ambas superficies. En las células epidérmicas del envés se aprecian micropapilas abundantes. La forma de estas células varía en cada superficie; en el haz son rectangulares y en el envés algo cuadradas. Los estomas se encuentran tanto en el haz como en el envés, (Fig. 15B). En corte paradermal se aprecia el complejo estomático de tipo paracítico con células subsidiarias angulares y alargadas, las oclusivas son oblongas con uno de los lados recto, el resto de las epidérmicas son rectangulares (Fig. 15C).

El mesofilo únicamente está formado por parénquima esponjoso, las células tienen forma isodiámetrica con paredes delgadas y espacios intercelulares grandes. Los rafidios y estiloides se distribuyen de manera escasa por todo el mesofilo y se encuentran por debajo de la epidermis, los estiloides se hallan depositados en las células cercanas a los haces vasculares ( Fig. 15D).

Los haces vasculares se alinean en la parte media del mesofilo, alternándose uno de mayor tamaño, con otro pequeño, ambos de forma ovalada a casi esférica. Los haces vasculares son colaterales. El xilema se compone de elementos de vaso que en corte transversal tienen forma más o menos circular con paredes gruesas y está orientado hacia la cara adaxial, el metaxilema se ubica en el centro del haz vascular, se caracteriza por elementos de mayor diámetro. El floema se orienta hacia el envés y consta de elementos de tubo criboso más pequeños de forma poliédrica (Fig. 15E). Las fibras están ausentes.



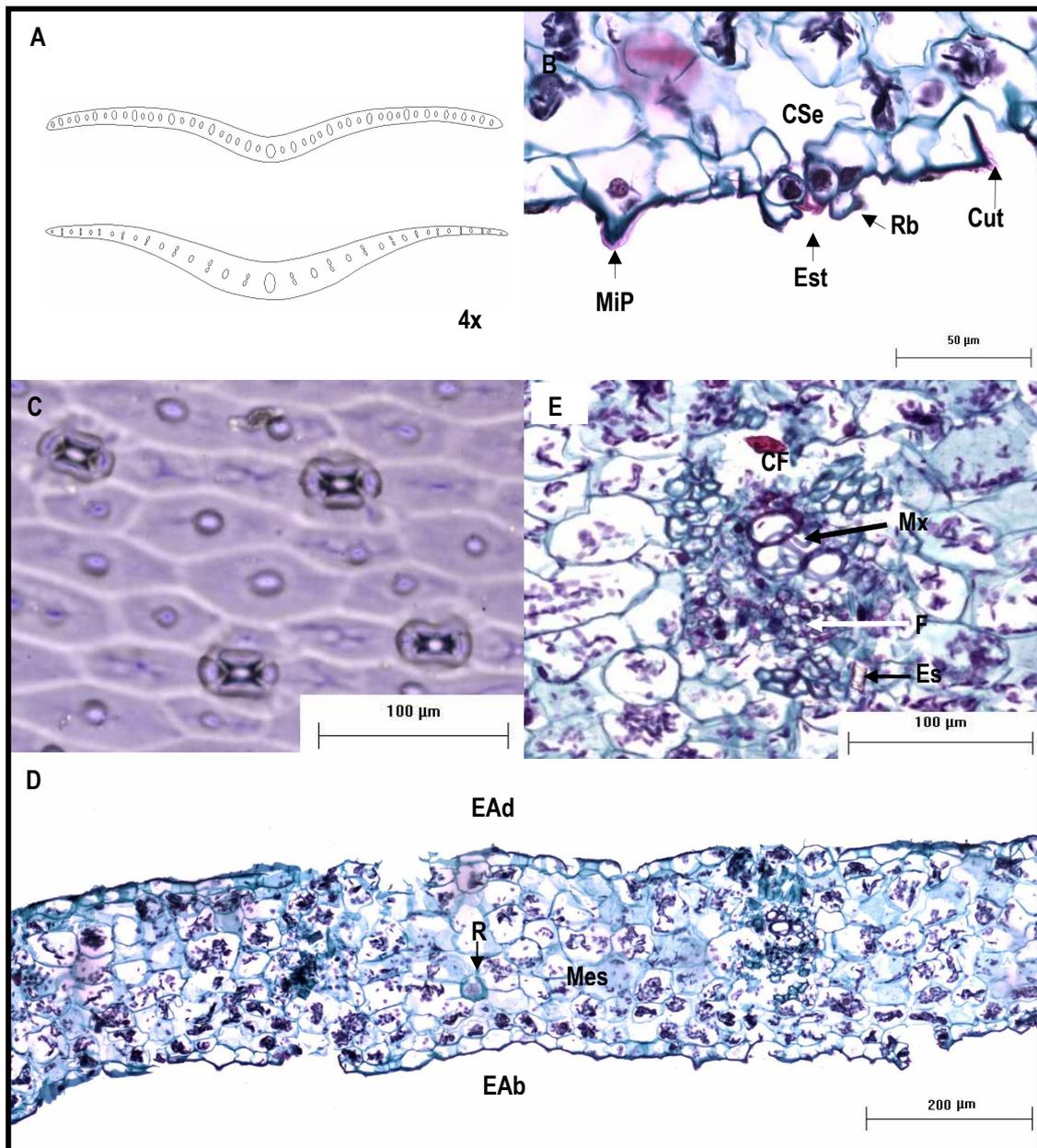
**Figura 15:** *Manfreda singuliflora*. **A.** (TR), forma de la hoja, disposición de los haces vasculares. **B.** (TR), epidermis abaxial (EAb), Estoma (Est), cámara subestomática (CSe). **C.** (PR), epidermis, estomas parásitos. **D.** (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd), abaxial (EAb), micropapilas (MiP), mesofilo (Mes), rafidio (R). **E.** (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx), estiloide (Es).

#### 6.14 *Manfreda variegata*

En corte transversal las hojas tienen forma de “V” abierta (Fig. 16A). La cutícula es delgada, en algunas regiones es lisa y en otras estriada. La epidermis se compone de células rectangulares a cuadradas con micropapilas únicamente en el envés. Las hojas son anfistomáticas (I.E. = 34 céls/mm<sup>2</sup> en el haz y 33 céls/mm<sup>2</sup> en el envés). Las células subsidiarias poseen rebordes que forman cámaras supraestomáticas. Las oclusivas son pequeñas con proyecciones anteriores y posteriores en forma de gancho. En corte paradermal se aprecia el complejo estomático tetracítico y la forma poliédrica de las células epidérmicas. Asimismo se hacen más evidentes las cámaras supraestomáticas, las células subsidiarias y sus rebordes (Figs. 16B y 16C).

El mesofilo consta de parénquima esponjoso únicamente, con células irregular de pared delgada y espacios intercelulares muy pequeños. Los rafidios abundan en todo el mesofilo (Fig. 16D). Los estiloides son escasos y pueden encontrarse depositados en las células próximas a los haces vasculares.

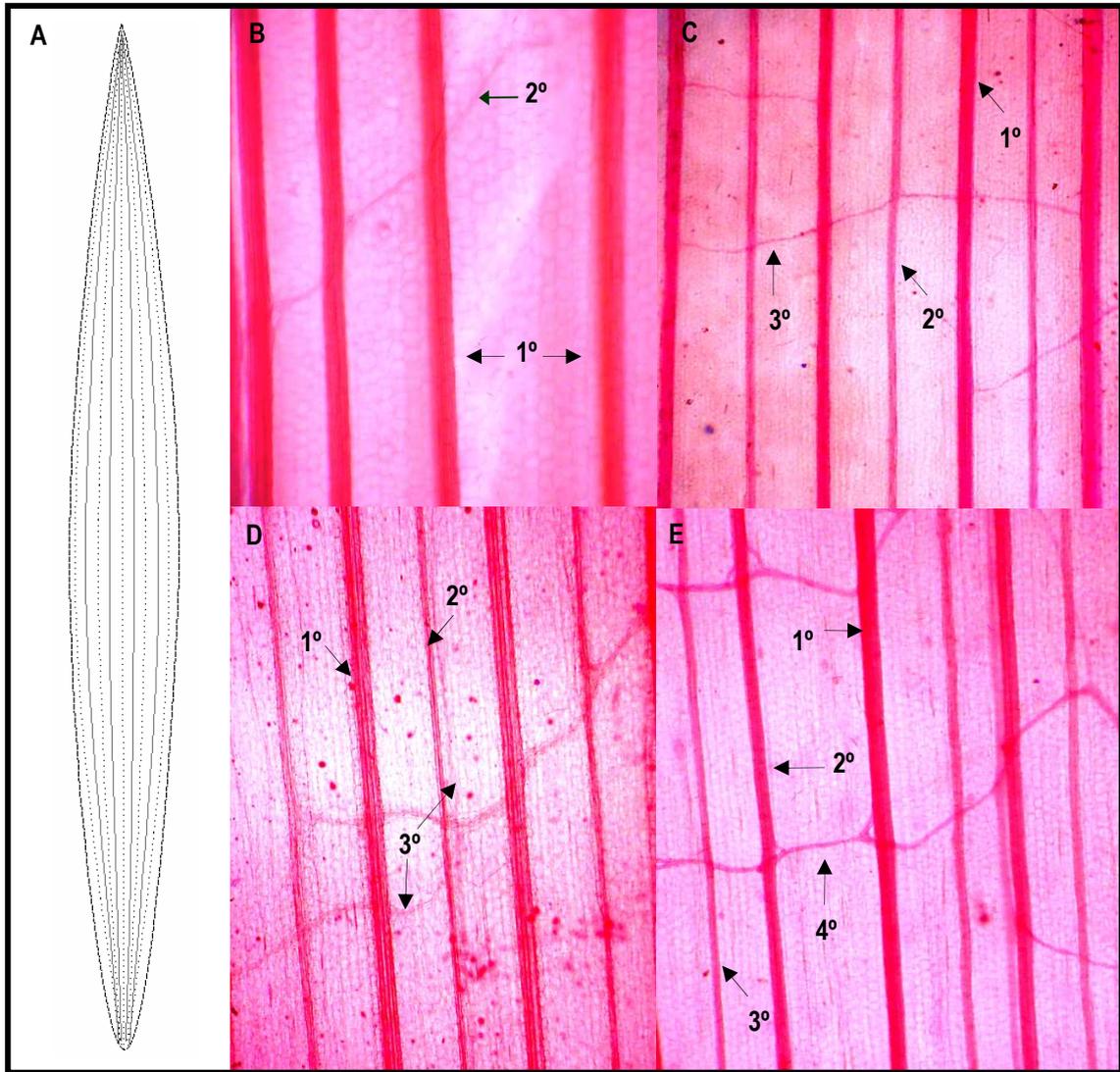
Los haces vasculares son colaterales, ovalados. Se distribuyen en la parte media del mesofilo, alternándose haces grandes y pequeños. El xilema se encuentra orientado hacia la cara adaxial, formado por elementos de vaso ovalados, el metaxilema se localiza en el centro del haz y es de mayor diámetro. El floema está formado por elementos de tubo criboso poliédricos y tiene posición abaxial. En algunos individuos las fibras son escasas (5-20) y forman casquetes en los extremos de los haces vasculares, en otros están ausentes (Fig. 16E).



**Figura 16: *Manfreda variegata*.** A. (TR), forma de la hoja, disposición de los haces vasculares. B. (TR), epidermis abaxial con micropapilas (MiP), estoma, cámara subestomática (CSe), reborde (Rb), cutícula (Cut). C. Impresión cuticular, epidermis con estomas tetracíticos. D. (TR), vista general, epidermis adaxial (EAd), abaxial (EAb), mesofilo (Mes), rafidios (R). E. (TR), haz vascular; floema (F), metaxilema (Mx), vaina parenquimática (VP), estiloide (Es) casquete de fibras (CF).

### 6.15 Patrón de venación

La diafanización de las hojas reveló una venación paralelodroma en todas las especies incluidas en este estudio, con venas que van del primer al cuarto orden. Las venas de primer y segundo orden son paralelas con dirección acrópeta (Fig. 17A), (excepto en *Manfreda nanchititlensis* donde las venas de 2° orden sólo se presentan a manera de ramificaciones, Fig. 17B). En *M. galvaniae*, *M. guttata*, *M. hauniensis*, *M. longiflora*, *M. pringlei*, *M. pubescens*, *M. revoluta*, *M. rubescens*, *M. singuliflora* y *M. variegata* las ramificaciones están representadas únicamente por venas de tercer orden, la mayoría con trayectoria ortogonal, es decir, las ramificaciones tienen un ángulo recto, no obstante, pueden presentarse escasas ramificaciones con un ángulo mayor que no sobrepasa los 135° con respecto a la vena de origen (Fig. 17C). En *M. scabra* las venas de 3° se presentan como ramificaciones y pueden ser paralelas sólo en algunos espacios a las de 1° y 2° ordenes (Fig. 17D). En cambio, *M. elongata* presenta venas de 1°, 2° y 3° ordenes paralelas con dirección acrópeta y las de cuarto orden se observan como ramificaciones, algunas con un ángulo poco mayor de los 90° (Fig. 17E).



**Figura 17.** A. Patrón de venación en las hojas del género *Manfreda*. B: Venación de *M. nanchititlensis*, venas primarias paralelas con trayectoria acrópeta y ramificaciones de 2° orden. C. *M. galvaniae*, venas de 1° y 2° orden paralelas, ramificaciones de 3°. D. *M. scabra*, las ramificaciones de 3° orden son paralelas a las de 1° y 2° orden sólo en algunos espacios. E. *M. elongata*, venas de 1°, 2° y 3° órdenes paralelas con dirección acrópeta y ramificaciones de 4° orden.

**Cuadro 3.** Resumen de los caracteres diagnósticos para las especies estudiadas.

TAXA	PERFIL	HOJA	CUTICULA	EPIDERMIS	ESTOMAS	RAFIDIOS	ESTILOIDES	H.V.	FIBRAS
<i>Manfreda elongata</i>	"V" abierta	Anfiestomática, I. E. H. = 43 I. E. E.= 32	Lisa y mediana 1.61 $\mu$	Papilosa (Envés)	Paracíticos, C/ Cse	Escasos	Escasos en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados.	Abundantes 45-50
<i>M. galvaniae</i>	"V" abierta	Anfiestomática	Lisa y delgada 1.23 $\mu$	Papilosa (H y E)	Paracíticos, C/ Cse	Escasos	Abundantes en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados.	Abundantes 25-30
<i>M. guttata</i>	"V" abierta a ligeramente ondulada	Anfiestomática, I. E. H = 48 I. E. E.= 59	Estriada y delgada 1.26 $\mu$	Papilosa (H y E), Macropapilas (Envés)	Paracíticos, C/ Cse	Abundantes	Escasos, subepidérmicos y en H. V.	Colaterales, ovalados.	Abundantes a escasas 1-30
<i>M. hauniensis</i>	"V" cerrada	Anfiestomática, I. E. H = 25 I. E. E = 35	Lisa y delgada 1.27 $\mu$	Lisa	Paracíticos, C/ Cse	Abundantes, subepidérmicos	Escasos en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados.	Abundantes 25-30
<i>M. longiflora</i>	"V" abierta	Anfiestomática, I. E. H = 38 I. E. E = 22	Irregular y delgada 1.34 $\mu$	Papilosa (H y E)	Paracíticos, C/ Cse	Abundantes, subepidérmicos	Muy escasos	Colaterales, ovalados.	Ausentes
<i>M. nanchitlensis</i>	"V" abierta	Anfiestomática	Lisa y gruesa 2.85 $\mu$	Papilosa (H y E) Macropapilas (H y E)	Paracíticos, C/ Cse	Abundantes, subepidérmicos	Escasos en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados.	Abundantes 20-35
<i>M. potosina</i>	recta	Anfiestomática	Irregular y delgada 1.59 $\mu$	Papilosa (H y E)	Paracíticos, C/ Cse	Escasos	Escasos en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados.	Ausentes
<i>M. pringlei</i>	"V" abierta a ligeramente ondulada	Anfiestomática	Variable y delgada 0.9 - 1.2 $\mu$	Papilosa (H y E)	Paracíticos, C/ Cse	Abundantes, subepidérmicos	Escasos en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados y con V. P.	Abundantes a escasas 5-55
<i>M. pubescens</i>	recta a ligeramente ondulada	Anfiestomática, I. E. H = 22 I. E. E.= 27	Irregular y delgada	Lisa C / tricomas y peridermis abaxial	Paracíticos, C/ Cse	Escasos	Variables en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados.	escasas 4-28
<i>M. revoluta</i>	ligeramente ondulada	Anfiestomática	Lisa y delgada 1.22 $\mu$	Lisa	Paracíticos, C/ Cse	Escasos	Abundantes en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados.	Abundantes 13-26
<i>M. rubescens</i>	"V" abierta	Anfiestomática	Lisa y delgada 1.10 $\mu$	Lisa	Paracíticos, C/ Cse	Escasos	Abundantes en Mes. H. V.	Colaterales, ovalados.	Abundantes 20-25
<i>M. scabra</i>	"V" abierta a ligeramente ondulada	Anfiestomática, I. E. H = 30 I. E. E= 38	Estriada y delgada 1.17 $\mu$	Papilosa (H y E), Macropapilas (Envés)	Paracíticos, C/ Cse, Rebordes	Variables	Abundantes en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados.	Abundantes 15-45
<i>M. singuliflora</i>	Recta	Anfiestomática	Lisa y delgada 1.22 $\mu$	Papilosa (Envés)	Paracíticos, C/ Cse	Escasos	Escasos en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados.	Ausentes
<i>M. variegata</i>	"V" abierta	Anfiestomática	Irregular y delgada 1.34 $\mu$	Papilosa (Envés)	Tetracíticos, C/ Cse y CSE Rebordes	Abundantes	Escasos en Mes. y H. V.	Colaterales, ovalados.	Escasas 5-20

**Abreviaturas:** C. = Células, C/ Cse = Con cámaras subestomáticas, CSE: Cámaras supraestomáticas, E = Envés, H = Haz, H. V.= Haz vascular, I.E.= Índice estomático, Mes. = Mesofilo, V. P. = Vaina parenquimática.

## VII DISCUSIÓN

El perfil de la lámina abierta en sección transversal es un carácter útil en la delimitación taxonómica de muchas especies de angiospermas (Ellis, 1976). En este contexto, la forma de la lámina foliar en corte transversal, permite establecer grupos de especies del género estudiado. *Manfreda potosina*, *M. pubescens* y *M. singuliflora* presentan una lámina foliar recta; *M. revoluta* ligeramente ondulada. Sin embargo, en *M. guttata*, *M. pringlei* y *M. scabra* varía de ligeramente ondulada a una forma de “V” abierta, asimismo, *Manfreda elongata*, *M. galvaniae*, *M. longiflora*, *M. nanchititlensis*, *M. rubescens* y *M. variegata* presentan lámina en forma de “V” abierta, mientras que en *M. hauniensis* es de “V” cerrada. Solano (2000) también analizó este carácter en especies del género *Polianthes* y le permitió definir grupos de especies. La forma más común es la recta y menos frecuente la de “V” cerrada. En otras monocotiledóneas como *Iris juncea* es oval, para *Iris* subgénero *Hermadactyloides* cuadrada, o en forma de “V” para *Iris xanthoclora* (Rudall y Mathew, 1993). El perfil de lámina, en especies con hojas no crasas, se relaciona con las condiciones de humedad, de este modo, las taxa que crecen y se desarrollan en condiciones áridas y semiáridas, el perfil adquiere forma de “V”, pliegan su lámina para proteger los estomas de las altas temperaturas (Esau, 1982). Sin embargo, muy probablemente *M. potosina* que crece en ambientes áridos, en lugar de presentar láminas involutas, desarrolló hojas muy crasas y nodrizaje con otras especies como acacias.

La cutícula lisa en *Manfreda elongata*, *M. galvaniae*, *M. hauniensis*, *M. nanchititlensis*, *M. revoluta*, *M. rubescens* y *M. singuliflora* permite distinguirlas de *M. guttata* y *M. scabra* en las cuales es estriada. En *M. longiflora*, *M. potosina*, *M. pubescens* y *M. variegata* se observa una cutícula irregular con porciones lisas y estriadas; en cambio, en *Manfreda pringlei* la cutícula varía de lisa a estriada entre individuos. García- Mendoza (1987) indicó que en el género *Beschorneria* la cutícula es estriada. En relación con el espesor de la misma, es gruesa en *M. nanchititlensis*, intermedio en *M. elongata* y delgada en el resto de las especies, no obstante, en *M. pringlei* es variable pero muy delgada. La forma y el grosor de esta capa fueron estudiadas por Solano (2000) en el género *Polianthes*, registró cutícula lisa en *P. densiflora* y en el resto de las especies estriada, en todas ellas es

delgada. El grosor de la cutícula también se relaciona con el grado de aridez en el cual se desarrollan los taxa. *Agave*, *Beschorneria*, *Furcraea* y *Yucca*, presentan cutícula gruesa y hojas persistentes adaptados a condiciones de sequía. Los géneros herbáceos de Agavaceae de forma general desarrollan cutículas delgadas (Blunden y Binns, 1970; Blunden y Jewers 1973; Álvarez, 1990). Algunos géneros y especies de Agavaceae que presentan cutícula gruesa habitan en bosques templados, pero prefieren los hábitats más secos de los mismos.

La epidermis es uniestratificada en todas las especies incluidas en este trabajo. Las células en vista superficial, son poliédricas en la mayoría de las especies estudiadas, únicamente en *Manfreda singuliflora* se observan rectangulares y en *M. elongata* y *M. hauniensis* son hexagonales. En corte transversal la forma de las células es muy variable aun entre individuos de la misma especie, no obstante, se puede separar a *M. elongata*, *M. pringlei* y *M. revoluta* donde son cuadradas, a diferencia de estas, *M. rubescens* y *M. potosina* presentan células rectangulares. Sólo *M. pubescens* presenta una peridermis que aparece en las hojas más viejas, principalmente en la superficie abaxial.

En la epidermis se pueden apreciar otros caracteres, que tienen importancia taxonómica como presencia de macropapilas y tricomas, que permiten establecer grupos y delimitar especies. La epidermis papilosa tanto en las superficies adaxial como abaxial se presenta en *M. galvaniae*, *M. guttata*, *M. longiflora*, *M. nanchititlensis*, *M. potosina*, *M. pringlei* y *M. scabra*; mientras que, *M. elongata*, *M. singuliflora* y *M. variegata* las poseen únicamente en el envés. En ambas superficies las papilas se disponen formando líneas sobre las nervaduras o en los márgenes, situación que ya había sido registrada por Verhoek-Williams (1998), tanto en *Manfreda* como en *Beschorneria*, *Furcraea*, *Hesperaloe*, *Hesperoyucca*, *Prochnynathes* y *Yucca* y Solano (2000) en *Polianthes*. En cambio *M. hauniensis*, *M. pubescens*, *M. revoluta* y *M. rubescens* tienen epidermis lisa. Solano (2000) mencionó que en el género *Polianthes* el tipo de epidermis le permitió establecer grupos de especies en este género. Únicamente se presentan tricomas en *M. pubescens*, en general éstos son raros tanto en las hojas, como en los tallos de la familia Agavaceae y cuando se presentan son simples; Solano (2000) también los observó en *Polianthes graminifolia*.

Las macropapilas están presentes en ambas superficies de lámina en *M. nanchititlensis*. En *M. guttata* y *M. scabra* únicamente se localizan en el envés; en el resto

de las especies están ausentes. Solano (2000) señaló a las macropapilas como células buliformes en el género *Polianthes* e indicó que la presencia de este tipo de células es un carácter diagnóstico. Según Esau (1982) y Moreno (1984) las papilas son un tipo de tricoma que se caracterizan por presentar una forma más o menos cónica con ápice redondeado, la primera autora indicó que su función es una cuestión abierta al debate, podrían estar relacionadas en evitar la pérdida de agua, pues aíslan el mesófilo del calor excesivo. El complejo estomático en la mayoría de especies estudiadas es paracítico, con dos células subsidiarias paralelas a las oclusivas, resultado que concuerda con Álvarez (1990), quien además observó este tipo de estomas en *Pseudobravoia*, *Bravoia*, *Prochnyanthes* y *Polianthes*; en este último género también fueron señalados por Solano (2000). Aunque los complejos estomáticos tetracíticos caracterizan a *Agave*, *Beschorneria*, *Clystoyuca*, *Furcraea*, *Hesperaloe*, *Hesperoyucca*, *Samuela* y *Yucca*. En este estudio se observaron tetracíticos en *Manfreda variegata*, aunque Álvarez (1990) también los refiere para *Manfreda scabra*.

Por otro lado, Tomlinson (1974) consideró en las monocotiledóneas a los estomas paracíticos como avanzados y a los anomocíticos primitivos. En el género aquí estudiado y en la familia Agavaceae como lo refirió Álvarez (1990), se hace difícil distinguir si el complejo estomático es primitivo o avanzado, debido a la variabilidad que presenta, producto de las adaptaciones a los diferentes ambientes en los que se desarrollan sus especies y que hacen converger su complejo estomático. Álvarez (1990) consideró primitivos los estomas tetracíticos (presentes en *Agave*) y que los paracíticos y anomocíticos derivaron de éstos.

Las células subsidiarias en sección transversal tienen mayor altura que las epidérmicas. En *Manfreda variegata* presentan un reborde que rodea a las oclusivas, éste fue descrito por Álvarez (1990) en *M. brachystachya* (*M. scabra*) como una ligera proyección o labio, aunque en este estudio para esta especie el reborde únicamente se observó paralelo a las oclusivas. Dicho reborde se considera como una adaptación que presentan las agaváceas a las condiciones de sequía severa y su función se relaciona con el control de la pérdida de agua (McCledon, 1908 y Roux-Lopex, 1964).

La impresión cuticular reveló que los taxa de este género presentan hojas anfiestomáticas. El número de estomas tanto en el haz como en el envés varía entre especies y entre los individuos de la misma especie, situación que ya había sido señalada por Dahlgren *et al.* (1985) para la familia Agavaceae. En algunas especies como *Manfreda guttata*, *M. hauniensis*, *M. pubescens* y *M. scabra*, los estomas predominan en el envés. En *M. longiflora* y *M. variegata* el Índice estomático es mayor en la superficie adaxial. Los tricomas se presentan exclusivamente en *M. pubescens*, son de tipo unicelular, eglandular, simples y se distribuyen de manera abundante en ambas caras de la hoja. Este carácter la separa del resto de las especies. Las hojas anfiestomáticas también se presentan en el género *Polianthes*. Verhoek-Williams (1998) registró que los tricomas son escasos en la familia Agavaceae, Solano (2000) los señaló únicamente en *Polianthes graminifolia* y en las especies de aquí estudiadas se presentan en *Manfreda pubescens*.

El mesofilo es indiferenciado en todas las especies estudiadas, formado por parénquima esponjoso en su totalidad (clorénquima). García-Mendoza (1987) encontró en *Beschorneria* parénquima en empalizada hacia el haz, constituido por una sola capa. Por otro lado, Solano (2000) indicó que en la mayoría de las especies de *Polianthes* el mesofilo es indiferenciado. Blunden y Jewers (1973) refirieron que en Agavaceae el parénquima en empalizada puede o no estar presente. Golblatt (1990) mencionó que al menos en Iridaceae, el mesofilo indiferenciado es plesiomórfico. Esta hipótesis se apoya en observaciones ontogenéticas que hizo Rodionenko (1961, citado por Rudall, 1990), quien encontró que la primera hoja de *Iris bungei* es unifacial, mientras que, todas las que aparecen posteriormente son bifaciales.

En cuanto a las sustancias ergásticas los estiloides y rafidios son muy variables, por lo tanto, no son caracteres con valor diagnóstico en la delimitación de especies del género *Manfreda*. Dahlgren *et al.* (1985) señaló que los pseudo-rafidios, refiriéndose a los estiloides, son típicos de la familia Agavaceae y que están presentes en células suberizadas o en pequeñas células solitarias, asimismo, indicó que en general los rafidios son escasos. Los estiloides en *M. guttata* se observan inmediatamente debajo de la epidermis. También se encuentran distribuidos por todo el mesofilo y principalmente en las células cercanas a los haces vasculares del resto de las especies, sin embargo, en *M. longiflora* son muy

escasos y no se observan en los haces vasculares. En el género *Polianthes* los estiloides son raros o escasos en la mayoría de las especies y del mismo modo, pueden estar asociados a las fibras de los haces vasculares, o menos frecuentemente a las células del mesofilo (Solano, 2000).

Los rafidios se encuentran distribuidos principalmente debajo de la epidermis de *M. hauniensis*, *M. longiflora*, *M. nanchititlensis*, *M. pringlei* y *M. scabra*; mientras que, en *M. elongata*, *M. galvaniae*, *M. guttata*, *M. potosina*, *M. pubescens*, *M. revoluta*, *M. rubescens*, *M. singuliflora* y *M. variegata*, se pueden observar por todo el mesofilo. En *Polianthes* los rafidios están ausentes en *P. densiflora* y en el resto de las especies pueden ser escasos o abundantes (Solano, 2000). No se encontraron cuerpos de sílice en las células del mesofilo, este resultado coincide con *Polianthes*.

Las fibras de los haces vasculares están ausentes en *Manfreda longiflora*, *M. potosina* y *M. singuliflora*, en el resto de las especies se localizan en ambos polos de los haces y son abundantes, excepto en *M. pubescens* y *M. variegata* donde son escasas. En *M. pringlei* y *M. guttata* varían de abundantes a escasas entre los individuos. La misma variabilidad registró Solano (2000) en el género *Polianthes*, encontró que únicamente *Polianthes howardii* carece de fibras.

La venación es paralelodroma en todas las especies. No obstante en *M. nanchititlensis* las venas de primer orden se disponen todas paralelamente con dirección acrópeta, a diferencia de las demás, en las que se alterna una vena de primer orden con una de segundo. Las ramificaciones de cuarto orden se presentan en *M. elongata*.

## VIII CONCLUSIONES

Existen varias características anatómicas que son útiles en la delimitación de las especies o en la conformación de grupos. El complejo estomático generalmente es paracítico, excepto en *Manfreda variegata* que desarrolla estomas tetracíticos. La presencia de rebordes en las células subsidiarias son característicos de *M. scabra* y *M. variegata*, en las demás especies esta estructura no se presenta. La epidermis lisa separa a *M. hauniensis*, *M. pubescens*, *M. revoluta* y *M. rubescens* del resto. Asimismo la epidermis papilosa caracteriza a *M. elongata*, *M. galvaniae*, *M. guttata*, *M. longiflora*, *M. nanchititlensis*, *M. potosina*, *M. pringlei*, *M. scabra*, *M. singuliflora* y *M. variegata*. Las macropapilas sólo se presentan en *M. guttata*, *M. nanchititlensis* y *M. scabra*. Únicamente *M. pubescens* presenta tricomas y una peridermis abaxial. La presencia de estiloides subepidérmicos separa a *M. guttata* de las demás especies, la ausencia de éstos en los haces vasculares delimita a *M. longiflora*. Los rafidios en posición subepidérmica definen a *M. hauniensis*, *M. longiflora*, *M. nanchititlensis*, *M. pringlei* y *M. scabra*.

Las fibras de los haces vasculares son útiles taxonómicamente ya que separan a *M. longiflora*, *M. potosina* y *M. singuliflora* en las cuales están ausentes, en el resto de las especies varían de escasos a abundantes.

## IX BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, A. 1987. Sistemática y Filogenia de la familia Agavaceae Endlincher. Tesis, Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de la Habana. Facultad de Biología, Jardín Botánico Nacional. La Habana.
- Álvarez, A. 1990. El complejo estomático en la familia Agavaceae II. Epidermis adulta. *Feddes Repert.* **101**: 113-114.
- Ayala, H. Ma. M. 2006. Patrones de Diversidad y Distribución del género *Manfreda* Salisb. Agavaceae. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Baker, J. G. 1877. The genus *Agave*. *Gard. Chron.* **7**: 171-808..
- Baker, J. G. 1888. Handbook of Amaryllidaceae. George Bells & Sons, London.
- Bentham, G & J. D. Hooker. 1883. *Genera plantarum*. Reeve & Co. London.
- Berger, A. 1915. Die Agaven. Beiträge zuiner Monographie. Jena.
- Blunden, G. & Binns, W. W. 1970. The leaf anatomy of *Yucca glauca*. Nutt. *Bot. J. Linn. Soc.* **63**: 133-141.
- Blunden, G. Y. & K. Jewers. 1973. The comparative leaf anatomy of *Agave*, *Beschorneria*, *Doryanthes* and *Furcraea* species (Agavaceae: Agaveae). *Bot. J. Linn. Soc.* **66**: 157-179.
- Bogler, D. J. & Simpson, B. B. 1995. A Chloroplast DNA study of Agavaceae. *Sys. Bot.* **20**: 191-205.
- Bogler, D. J. & Simpson, B. B. 1996. Phylogeny of Agavaceae based on ITSrDNA sequence variation. *Amer. J. Bot.* **83**: 1225-1235.
- Cronquist A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- Dahlgren, R. M. & H. T. Clifford, 1982. The monocotyledons a comparative study. Academic Press. London.
- Dahlgren, R. M., H. T. Clifford & P. F. Yeo. 1985. The families of monocotyledons. Structure, evolution and taxonomy. Springer Verlag. New York.

- Eguiarte L., M. Duval., G. Learn Jr. & M. Clegg. 1994. The systematic status of the Agavaceae and Nolinaceae and related Asparagales in the monocotyledons: An analysis based on the rbcL gene sequence. *Bol. Soc. Bot. México* **54**: 36-56.
- Eguiarte, L. E. 1995. Hutchinson (Agavales) vs. Huber y Dahlgren (Asparagales). Análisis moleculares sobre filogenia y evolución de la familia Agavaceae *sensu* Hutchinson dentro de las Monocotiledóneas. *Bol. Soc. Bot. México* **56**: 45-56.
- Ellis, R. P. 1976. A procedure for standarizing comparative leaf anatomy in the Poaceae I. The leaf-blade as viewed in transverse section. *Bothalia* **12**: 65-109.
- Endlicher, S. L. 1836-1841. *Genera Plantarum*. Wien.
- Engelmann, G. 1875-1876 ("1868-1877"). Notes on *Agave*. Trans. Acad. Sci. St. Louis **3**: 291-321.
- Esau, K. 1982. Anatomía de las plantas con semilla. Hemisferio Sur. Buenos Aires.
- Galván, R. 2001. *Manfreda*. Págs. 128-1249. En: G. C. Rzedowski y J. Rzedowski (eds.). Flora Fanerogámica del Valle de México. 2ª ed. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro.
- García-Mendoza, A. 1987. Monografía del género *Beschorneria* Kunth. Agavaceae. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- García-Mendoza, A. 1998. Con sabor a maguey. Instituto de Biología, Jardín Botánico, UNAM. México.
- Gentry, H. S. 1972. The Agave family in Sonora. Agriculture Handbook. Washington.
- Gentry, H. S. 1973. The agaves of Baja California. *Occas. Calif. Acad. Sci.* **130**: 1-119.
- Goldblatt, P. 1990. Phylogeny and systematics of Iridaceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **77**: 607-627.
- González, B. A. R. 1998. Descripción morfológica y anatómica del tallo de *Polianthes* L. (Agavaceae). Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México.
- Hernández, S. L. G. 1995. Análisis cladístico de la familia Agavaceae. *Bol. Soc. Bot. México.* **56**: 57-68.
- Hickey, L. J. 1973. Classification of the architecture of dicotyledonous leaves. *Amer. J. Bot.* **60**: 17-33

- Hickey, L. J. & Wolfe, J. A. 1975. The bases of Angiosperm phylogeny: vegetative morphology. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **62**: 538-589.
- Hutchinson, J. 1934. The families of flowering plants. Monocotyledons. London.
- Hutchinson, J. 1959. The families of flowering plants. Monocotyledons. Vol. II. Clarendon Press. Oxford.
- Jacobsen, J. 1960. A handbook of succulent plants. 1 Blandford.
- Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. Mc. Graw-Hill. New York.
- Lott, E. J. & García-Mendoza, A. 1994. Agavaceae. Págs. 35-47. En G. Davidse, M. Sousa & A. O. Chater (eds.). Flora Mesoamericana. Vol. 6. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. México, D. F.
- Matuda, E. 1966. Nuevas especies de *Manfreda* (Amarillidaceae) de México. *Ciencias.* **24**: 189-191.
- Matuda, E. 1975. Una nueva *Manfreda* de Guerrero. *Cact. Suc. Méx.* **20**: 46-48.
- McClendon, J. F. 1908. On xerophytic adaptation of leaf structure in *Yucca*, *Agave* and *Nolina*. *Amer. Naturalist*, **42**: 308-316.
- McVaugh, R. 1989. Liliaceae. En: Anderson W.R. (ed.). Flora Novo-Galiciana. **15**: 120-293.
- Moreno, N. P. 1984. Glosario Botánico Ilustrado. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, Xalapa, Veracruz. México.
- Patiño, J. C. 1986. Microtecnia Vegetal. Trillas. México.
- Piña, I. 1974. Algunas especies del género *Yucca* del noreste de México. *Cact. Suc. Méx.* **19**: 3-11.
- Piña, I. 1977. Taxonomía de *Yucca* y plantas afines. *Cact. Suc. Méx.* **30**: 27-32.
- Piña, I. 1985. Consideraciones sobre el género *Manfreda* II. *Cact. Suc. Méx.* **30**: 84-90.
- Rose, J. N. 1899. Studies of mexican and Central American plants. No. 2. A proposed rearrangement of the sub order Agaveae. *Contr. U.S. Natl. Herb.* **5**: 151-157.
- Rose, J. N. 1903. Amaryllidaceae. *Contr. U.S. Natl. Herb.* **8**: 8-23.
- Roux-Lopez, J. 1964. Estudio morfológico de la epidermis de algunas xerófitas mexicanas. Tesis Doctoral. *Méx. Biol. Abstr.* **47**. No. 63931.

- Rudall, P. 1990. Comparative leaf morphogenesis in Iridaceae. *Bot. Jahrb. Syst.* **112**: 241-260.
- Rudall, P. & V. Mathew. 1993. Leaf anatomy of the bulbous irises. *Bot. Jahrb. Syst.* **115**: 63-76.
- Rudall, P. 1995. New records of secondary thickening in monocotyledons. *IAWA J.* **16**: 261-268.
- Ruzin S. E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford, New York: Oxford University Press.
- Salisbury, R. A. 1866. Genera of plants: a fragment containing part of Liriogamae. John van Voorst London.
- Schulz, E. D. 1928. Texas wild flowers. Laidlaw Brothers. Chicago.
- Shah, G. L. & B. V. Gopal. 1970. Structure and development of stomata on the vegetative and floral organs of some Amaryllidaceae. *Ann. Bot.* **34**: 737-750.
- Shinners, L. H. 1965. Texas Polianthes. including *Manfreda* (*Agave* subgenus *Manfreda*) and *Runyonia* (Agavaceae). *Sida* **2**: 333-338.
- Solano, C. E. 2000. Sistemática del género *Polianthes* L. (Agavaceae). Tesis, Doctor en Ciencias. Facultad de Ciencias, División de Estudios de Postgrado, UNAM. México.
- Stebbins, C. L. & G. S. Khush. 1961. Variation in the organization of the stomatal complex in the leaf epidermis of monocotyledons and its bearing on their phylogeny. *Amer. J. Bot.* **48**: 51-59.
- Takhtajan A. 1980. Outline of the classification of flowering plants. *Bot. Rew.* **46**: 225-359.
- Thiede, J. 2001. Agavaceae. Págs. 5-76. En: Eggli, U & Hartman, H. E. K. (eds.). Illustrated Handbook of succulent Plants: Monocotyledons. Springer. Berlin.
- Tomlinson, P. B. 1974. Development of the stomatal complex as a taxonomic character in the monocotyledons. *Taxon.* **23**: 109-128.
- Verhoek-Williams, S. 1975. A study of the Tribe Poliantheae (including *Manfreda*) and revision of *Manfreda* and *Prochnyanthes* (Agavaceae). Cornell Univ. Ph. D. Dissertation. Ithaca, New York.

Verhoek-Williams, S. 1998. Agavaceae. Págs. 60-70. En: The families and genera of vascular plants monocotyledons Liliaceae (except Orchidaceae). Vol. III. K. Kubitski (ed.). Springer Verlag. Berlin.