



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**El aparato estomático de Asteraceae en la Reserva  
Ecológica del Pedregal de San Ángel, México**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**(B I Ó L O G A)**

**P R E S E N T A:**

**Rivera Pérez Patricia**



**DIRECTOR DE TESIS:  
Dra. Teresa Terrazas Salgado  
2010**



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.

## Hoja de Datos del Jurado

<p>1. Datos del alumno          Apellido paterno          Apellido materno          Nombre          Teléfono          Universidad Nacional Autónoma de México          Facultad de Ciencias          Carrera          Número de cuenta</p>	<p>1. Datos del alumno          Rivera          Pérez          Patricia          28 01 75 54          Universidad Nacional Autónoma de México          Facultad de Ciencias          Biología          406076144</p>
<p>2. Datos del tutor          Grado          Nombre(s)          Apellido paterno          Apellido materno</p>	<p>2. Datos del tutor          Dra.          Teresa Margarita          Terrazas          Salgado</p>
<p>3. Datos del sinodal 1          Grado          Nombre(s)          Apellido paterno          Apellido materno</p>	<p>3. Datos del sinodal 1          Dr.          José Luis          Villaseñor          Ríos</p>
<p>4. Datos del sinodal 2          Grado          Nombre(s)          Apellido paterno          Apellido materno</p>	<p>4. Datos del sinodal 2          M. en C.          Jaime          Jiménez          Ramírez</p>
<p>5. Datos del sinodal 3          Grado          Nombre(s)          Apellido paterno          Apellido materno</p>	<p>5. Datos del sinodal 3          Dra.          María Guadalupe Antonia          Palomino          Hasbach</p>
<p>6. Datos del sinodal 4          Grado          Nombre(s)          Apellido paterno          Apellido materno</p>	<p>6. Datos del sinodal 4          Dra.          Susana          Valencia          Avalos</p>
<p>7. Datos del trabajo escrito          Título           Número de páginas          Año</p>	<p>7. Datos del trabajo escrito          El aparato estomático de Asteraceae en la          Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel,          México.          67          2010</p>

**A mi abuelo Lauro**

**A mi mamá**

**A mi papá**

## **Agradecimientos:**

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) que mediante el proyecto IN214408 “Niveles de Poliploidía en las Asteraceae de la Reserva Ecológica del pedregal de San Angel, México Distrito Federal” me brindó el apoyo económico necesario para la realización de este trabajo.

Al Herbario Nacional MEXU por darme acceso a los ejemplares de herbario y permitirme remover el material necesario para la realización de este estudio.

A mi tutora la Doctora Teresa Terrazas por su apoyo y paciencia.

**A mis profesores:** quienes me transmitieron no sólo conocimientos sino el gusto por el estudio de la biología.

En especial a Aurora Zlotnik, Rubén Castellanos, David Benavides, Margarita Ponce, Guillermina Murguía, Paula Sosenski y Lislí Solís,

A los profesores del taller de Sistemática de Angiospermas: Jaime Jiménez, Susana Valencia, Martha Martínez, Ramiro Cruz y Carolina granados,

A la maestra Alicia Rojas por todo su apoyo y cariño incondicionales.

## **A mis amigos:**

A Paola Oroza por todos los años de amistad,

A Betzabé, Jazmín, Marion, Sandra y Angie por compartir todos las buenas y malas experiencias, por tenderme la mano cuando las necesitaba y no dejarme caer nunca.

A la Factoría Escénica por hacer más divertida mi estancia en la facultad y en especial a Víctor Hernández por sus comentarios tan valiosos que me ayudaron a mejorar este trabajo.

A Miguel Ángel Chora Alva, por darme inspiración, fuerza y aliento.

# Índice de contenido

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Antecedentes.....	4
Epidermis foliar.....	6
Estomas.....	10
Efectos del CO <sub>2</sub> en el aparato estomático.....	12
Poliploidía y aparato estomático.....	14
Hábito de la planta y aparato estomático.....	15
La familia Asteraceae.....	16
Anatomía foliar de Asteraceae.....	18
Familia Asteraceae en la REPSA.....	18
Justificación.....	20
Objetivos.....	20
Material y Método.....	22
Sitio de Estudio.....	22
Obtención de ejemplares.....	24
Aclaramiento.....	25
Análisis.....	26
Resultados.....	28
Densidad estomática.....	28
Longitud.....	29
Análisis de varianza.....	42
Análisis de correlación y regresión.....	42
Discusión.....	44
Variación.....	45
Variación con respecto al CO <sub>2</sub> .....	46
Citología.....	47
Hábito.....	48
Conclusiones.....	50
Bibliografía.....	52
Apéndice 1.....	63
Apéndice 2.....	66
Apéndice 3 .....	67

## Índice de figuras

Figura 1. Esquemas de epidermis de Asteraceae.....	8
Figura 2. Esquema de vista transversal de epidermis foliar.....	9
Figura 3. Área de estudio.....	22
Figura 4. Esquemas de los aparatos estomáticos de cuatro especies de Asteraceae de la REPSA.....	31
Figura 5. Comparación de densidades estomáticas actuales y de herbario por especie.....	31
Figura 6. Esquemas de los aparatos estomáticos de tres especies de Asteraceae de la REPSA.....	32
Figura 7. Comparación de longitud de células guarda de muestras actuales y de herbario por especie..	32
Figura 8. Distribuciones de frecuencia de densidad estomática.....	33
Figura 9. Distribuciones de frecuencia de longitud de las células guarda.....	34
Figura 10. Relación entre densidad estomática y longitud de las células guarda en quince especies de Asteraceae de la REPSA.....	35
Figura 11. Esquemas de los aparatos estomáticos de tres especies de Asteraceae de la REPSA.....	36
Figura 12. Esquemas de los aparatos estomáticos de cuatro especies de Asteraceae de la REPSA.....	37
Figura 13. Esquemas de los aparatos estomáticos de tres especies de Asteraceae de la REPSA.....	38
Figura 14. Esquemas de los aparatos estomáticos de tres especies de Asteraceae de la REPSA.....	39
Figura 15. Relación entre longitud de células guarda y variables citogenéticas. (A) 2n. (B) tamaño del genoma. ....	40

## Índice de cuadros

Cuadro 1. Comparación de densidad estomática y longitud de las células oclusivas por especie para muestras actuales y de herbario.....	30
Cuadro 2. Valores de la media para longitud de células guarda y densidad estomática de muestras actuales, $2n$ , contenido de ADN y tamaño del genoma por especie.....	41



## Resumen

Se caracterizó el aparato estomático foliar de la epidermis abaxial de 15 especies de Asteraceae de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) por medio de hojas diafanizadas y se evaluó su correlación con algunas variables citogenéticas y ambientales. Se registra por primera vez el tipo de estomas de trece de las especies estudiadas, la densidad estomática para catorce especies y la longitud de células guarda para las quince especies estudiadas. Los estomas de las 15 especies son anomocíticos, que de acuerdo a la literatura, son el tipo más común para las asteráceas. La densidad estomática media (141 estomas por  $\text{mm}^2$  a 620 estomas por  $\text{mm}^2$ ) de las especies estudiadas se encuentra dentro de la amplitud reportada para la familia y las longitudes encontradas son ligeramente pequeñas (16.4  $\mu\text{m}$  a 49.37  $\mu\text{m}$ ) en comparación con otras Asteraceae. Existen diferencias ( $P < 0.0001$ ) en los rasgos foliares de las muestras actuales y de herbario con una tendencia clara a la homogeneidad de los aparatos estomáticos. Asimismo, dentro de las respuestas de las especies estudiadas a las modificaciones en las concentraciones atmosféricas de  $\text{CO}_2$  se encontraron los tres casos reportados en la literatura para otras angiospermas: aumento de la densidad estomática, disminución de la densidad estomática y ningún cambio en la densidad estomática. El tamaño de las células guarda se asocia positivamente ( $P < 0.0001$ ) y su densidad negativamente ( $P < 0.0001$ ) con el número cromosómico, contenido de ADN, tamaño del genoma y hábito de la especie, semejantes a lo registrado para otros taxa. Estos resultados apoyan relaciones complejas que existen entre los rasgos foliares, genéticos y los factores ambientales, que se afectan unos a otros.

## **Introducción**

El aparato estomático foliar es sensible a factores abióticos como la composición de gases de la atmósfera, la altitud y la exposición a la luz (Al Afas et al., 2007; Avramov et al., 2007), y a factores bióticos como la acción de fitohormonas o el tamaño del genoma de la planta (Beaulieu et al., 2008; Lake y Woodward, 2008). El estudio de las respuestas del aparato estomático ante cambios en los factores bióticos o abióticos a los que se ve expuesta una planta durante su ciclo de vida han sido estudiadas para varios grupos de angiospermas, incluidas las Asteraceae, pero no se han examinado en conjunto para esta familia en particular.

Asteraceae es una familia cosmopolita muy diversa (Bremer, 1994; Turner y Nesom, 1998). Consiste de aproximadamente 30,000 especies distribuidas en aproximadamente 2,000 géneros (Funk et al., 1994; Rzedowski, 1998; Turner y Nesom, 1998; Villaseñor, 2004). Los miembros de la familia presentan hábitos herbáceos o arbustivos y algunos pueden ser árboles o hierbas trepadoras. Debido a esta variedad de hábitos, la familia presenta diversas estructuras anatómicas y en algunos casos especializaciones ecológicas (Metcalfé y Chalk, 1979). México se considera uno de los principales centros de diversificación de la familia debido a la riqueza de especies presentes en nuestro país (Turner y Nesom, 1998; Villaseñor, 2004).

Se ha registrado una gran diversidad en la estructura anatómica foliar de las Asteraceae (Carlquist, 1957, 1966; Metcalfé y Chalk 1979; Milán et al., 2006; Adedeji y Jewoola, 2008). Entre los caracteres con valor diagnóstico que se observan en los miembros de la familia, están algunos de la epidermis foliar, como la forma celular, el curso de las anticlinales, los tipos de estomas y los tricomas (Milán et al., 2006; Delbón et al., 2007; Adedeji y Jewoola, 2008).

En la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA), Asteraceae es la familia con mayor número de especies, con aproximadamente 22 % de un total de 337 especies de plantas (Castillo-Argüero et al., 2004). Las especies de Asteraceae de la Reserva presentan varios hábitos, distintos ciclos de vida y en algunos casos, tienen números cromosómicos altos que sugieren un origen

poliploide.

Por otra parte, la existencia de listados florísticos, descripciones de la vegetación y ejemplares colectados en la REPSA desde el siglo pasado, nos permite comparar algunos rasgos foliares en las asteráceas y realizar un estudio que permita evaluar a través de análisis de correlación, cuál o cuáles factores bióticos y abióticos han afectado el aparato estomático de las Asteraceae de la REPSA durante al menos cuarenta años.

## **Antecedentes**

Las hojas, en el amplio sentido de la palabra, son altamente variables, tanto en estructura como en función, dependiendo de su localización en la planta y de la especie (Esau, 1977). Se inician como protuberancias laterales en el meristemo apical del tallo (primordios foliares) y posteriormente van desarrollándose hasta alcanzar su etapa de madurez (Esau, 1977). Aunque la morfología de la hoja se considera muy plástica, en una hoja madura podemos apreciar normalmente el pecíolo, la lámina y la nervadura central (Dickison, 2000; Gonçalves y Lorenzi, 2007).

La lámina o limbo es la región expandida responsable de la fotosíntesis y puede estar unida al tallo por el pecíolo o puede carecer de éste. La nervadura central es una región diferenciada de la hoja que porta la mayor parte de los tejidos conductores, pero puede ocurrir la presencia de más de una nervadura central en la misma hoja. También puede haber una vaina desarrollada o estípulas en la base del pecíolo (Esau, 1977; Dickison, 2000; Gonçalves y Lorenzi, 2007).

Normalmente se presentan tres tipos de tejidos en una hoja madura: el dérmico, el vascular y el fundamental. La epidermis forma la capa más exterior, las paredes externas de las células epidérmicas están impregnadas con cutina, que forma una capa de pared superficial especial conocida como la cutícula. La organización de las células epidérmicas es compacta, no presentan espacios entre si, sólo las aberturas delimitadas por dos células especializadas (células guarda) que en conjunto (la abertura y las células guarda) se denominan estoma. Los estomas se encuentran dispersos entre las células epidérmicas y su principal función es regular el intercambio gaseoso y la transpiración (Gifford y Foster, 1988; Evert, 2006; González et al., 2007). Otras células especializadas de la epidermis son los pelos, escamas y papilas colectivamente llamados tricomas (Cutler et al., 2008). Los tricomas son derivados de células epidérmicas altamente variables en estructura, forma y función (Evert, 2006). En términos generales, los tricomas se clasifican en uni y multicelulares; uniseriados, si consisten de una sola fila de células o multiseriados si tienen múltiples filas de células. También pueden estar ramificados y presentar varios tipos de formas. En algunos casos pueden producir secreciones (González et al., 2007; Cutler et al., 2008). La forma, así como la ubicación y distribución de los tricomas suelen ser caracteres diagnósticos en muchos casos.

Algunos otros tipos de células especializadas de la epidermis son las células buliformes que

intervienen en el despliegue de las hojas en crecimiento, y los idioblastos.

Subyacente a la epidermis puede o no haber una capa morfológicamente distinta: la hipodermis que consiste de células parenquimatosas o más raramente de células esclerificadas. La mayor parte del volumen de la hoja está constituido por el tejido fundamental, que es un parénquima vivo, lagunoso con cloroplastos. Este se llama mesofilo y se encuentra generalmente compuesto en su mayor parte de células parenquimatosas fotosintéticas; el parénquima en empalizada y las células con una menor proporción de cloroplastos y mayores espacios intercelulares corresponden al parénquima esponjoso. El tejido vascular se encuentra distribuido de forma variable en el mesofilo en forma de haces vasculares, llamados venas. Los haces vasculares a veces están provistos de vainas de células parenquimatosas o esclerificadas (Esau, 1976; Metcalfe y Chalk, 1979).

Aunque en el transcurso de la evolución casi todas las partes de la planta expuestas a la luz desarrollaron cloroplastos y son capaces de realizar fotosíntesis, las hojas se han especializado en esta actividad y son el principal órgano fotosintético de las plantas vasculares (Gonçalves y Lorenzi, 2007). Su anatomía exhibe características que facilitan la fotosíntesis, por ejemplo una superficie externa relativamente grande, la forma aplanada y extendida, un extenso sistema de espacios aéreos, la abundancia de cloroplastos en el tejido fundamental y una estrecha relación espacial entre los tejidos vascular y fundamental (Esau, 1976, 1977; Dickison, 2000, Gonçalves y Lorenzi, 2007).

Las hojas también son estructuras fundamentales para realizar el intercambio gaseoso y la evapotranspiración. Los estomas de las hojas son esenciales en esos dos procesos ya que son los espacios que permiten la comunicación entre los espacios interiores de la planta y la atmósfera, además son sensibles a los cambios de temperatura, cantidad de luz y humedad del ambiente, permitiendo a la planta regular sus procesos fisiológicos relacionados con dichos factores.

Los caracteres anatómicos y morfológicos de las hojas son frecuentemente usados para hacer interpretaciones en sistemática (Leelavathi et al., 1980; Lersten y Curtis, 1995, 1996; Castro et al., 1997; Milán et al., 2006; Qi, 2006; Delbón et al., 2007; Adedeji y Jewoola, 2008) y se ha encontrado que pueden resultar muy útiles en las reconstrucciones filogenéticas (Columbus, 1999; Luckow, 2002; Qi, 2006; Horn et al., 2009). Además son usados en ecología (Gindel, 1969; Chazdon y Kaufmann,

1993) y en fisiología (Young et al., 2006; Woodward y Lake, 2008), debido a que las diversas adaptaciones que presentan las hojas están fuertemente correlacionadas con factores ambientales.

### **Epidermis foliar**

La epidermis, que pertenece al tejido dérmico, es un sistema de células variables en estructura y función y constituye la cubierta del cuerpo primario de la planta (Esau, 1977). Comprende la capa superficial madura, típicamente uniseriada. Se deriva de la protodermis y consiste de células relativamente poco especializadas que componen la base de tejido sobre la cual se encuentran dispersas células más especializadas. Las células epidérmicas tienen un protoplasto viviente y pueden almacenar muchos productos del metabolismo (Esau, 1977; Dickison, 2000).

Las principales características de la epidermis de la hoja son el arreglo compacto de las células y la presencia de cutícula y estomas. Sus funciones comúnmente son el intercambio gaseoso a través de los estomas, limitar la transpiración y dar protección mecánica a través de la cutícula y almacenar agua y productos metabólicos en células especializadas conocidas como idioblastos (Esau, 1976, 1977).

Los diferentes tipos de células que componen a la epidermis son células epidérmicas, que constituyen la parte principal del tejido epidérmico; células guarda de los estomas, generalmente acompañadas de células adjuntas, diversos tricomas y en algunos casos idioblastos (Esau, 1976).

Las células epidérmicas maduras se describen comúnmente como células de forma tabular (Esau, 1976), generalmente carecen de plastidios o tienen solo plastidios rudimentarios pero suelen tener una gran cantidad de vacuolas con taninos, mucílago y cristales (Esau, 1976; Fahn 1990; Dickison, 2000). Sus paredes celulares pueden tener diferente grosor; desde muy gruesa en la parte que está en contacto con el exterior a más delgada hacia el interior del tejido de la hoja (Fahn, 1990).

Las paredes celulares de las células epidérmicas están cubiertas por un biopolímero complejo derivado de lípidos conocido como cutina, que constituye una capa extracelular especial denominada cutícula. En la cutícula se pueden distinguir dos capas; una exterior hecha solo de cutina (cutícula propiamente dicha) y otra inferior que consiste de cutina y materiales de la pared (capa cuticular) (Fahn, 1990). La cutícula se forma por la secreción de cutina o sus precursores hacia la superficie de la pared celular, en un proceso llamado cuticularización. La capa cuticular se forma en el proceso de

cutinización en el cual ocurre la deposición de cutina entre las microfibrillas de celulosa de las capas más externas de paredes celulares en donde pectina y hemicelulosa también están presentes (Fahn, 1990).

En muchas plantas entre la pared celulósica periclinal externa y la capa cuticular hay una capa muy rica en pectina. El contenido de pectina en la cutícula decrece mientras que se incrementa la cantidad de ceras (Fahn, 1990; Beck, 2005). Las ceras suelen formar microestructuras cristalinas complejas y diversas que pueden ser características con valor diagnóstico (Barthlott et al., 1998; Koch y Barthlott, 2006; Koch y Ensikat, 2008).

La cutícula cubre todas las partes de la hoja, se presenta también sobre los tricomas ordinarios y glandulares y se extiende sobre las células guarda en el poro estomático. Se ha identificado también en las superficies libres del mesofilo de las hojas y sobre las membranas internas de la epidermis en contacto con los espacios aéreos internos (Esau, 1976; Fahn, 1990).

La epidermis en vista superficial al microscopio óptico puede describirse como un tejido continuo, formado por las células epidérmicas que pueden verse elongadas o más o menos isodiamétricas y con paredes anticlinales rectas u onduladas. Esa uniformidad se ve interrumpida por las células especializadas de la epidermis, como los estomas con sus células guarda, las células anexas, los tricomas y otros idioblastos. Las células que se encuentran sobre las venas usualmente son elongadas en la dirección de la vena y las paredes anticlinales son a veces más sinuosas en la superficie abaxial que en la adaxial (Figura 1) (Cutter, 1971, Esau, 1976, Fahn, 1990; Rudall, 1992).

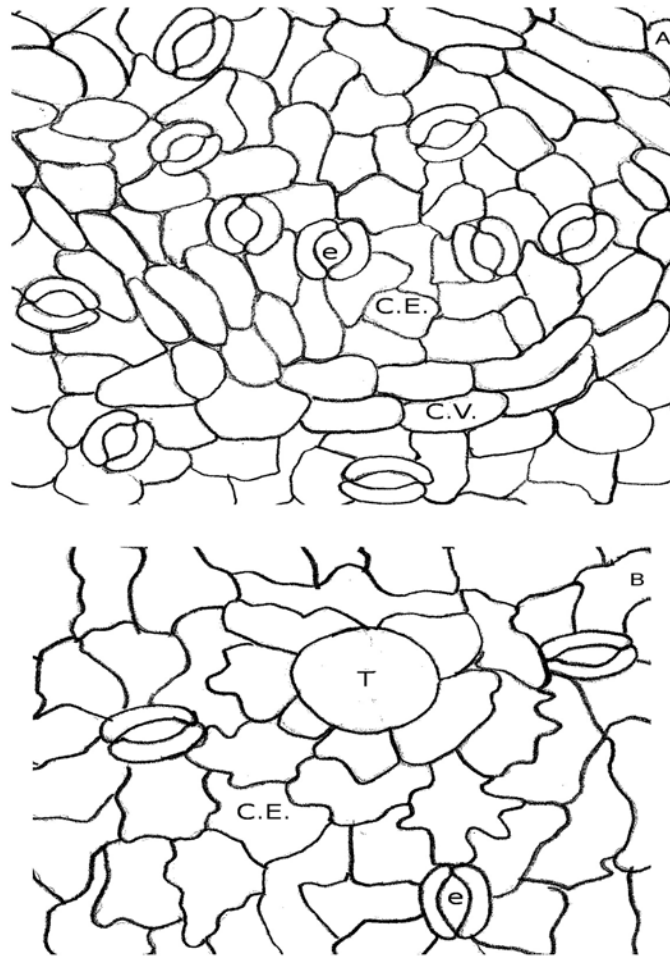


Figura 1. Esquemas de epidermis de Asteraceae. **A.** *Verbessina virgata*. **B.** *Montanoa tomentosa*. C.E. = células epidérmicas, C.V. = células epidérmicas sobre venas, e = estomas, T = tricomas.

En una vista transversal (Figura 2), la epidermis está conformada de múltiples capas, aún si se trata de una epidermis uniestratificada. La capa más interior es la conformada por las células epidérmicas ordinarias, entre las cuales se encuentran intercalados los estomas y sus células guarda. Pueden presentarse idioblastos con cristales o fibras intercaladas entre las células epidérmicas ordinarias. Los tricomas también se encuentran distribuidos entre las células ordinarias y sobresalen de la capa de células epidérmicas. Cubriendo a las células epidérmicas ordinarias, los estomas y los tricomas, se encuentra la cutícula y sobre ella las ceras epicuticulares.



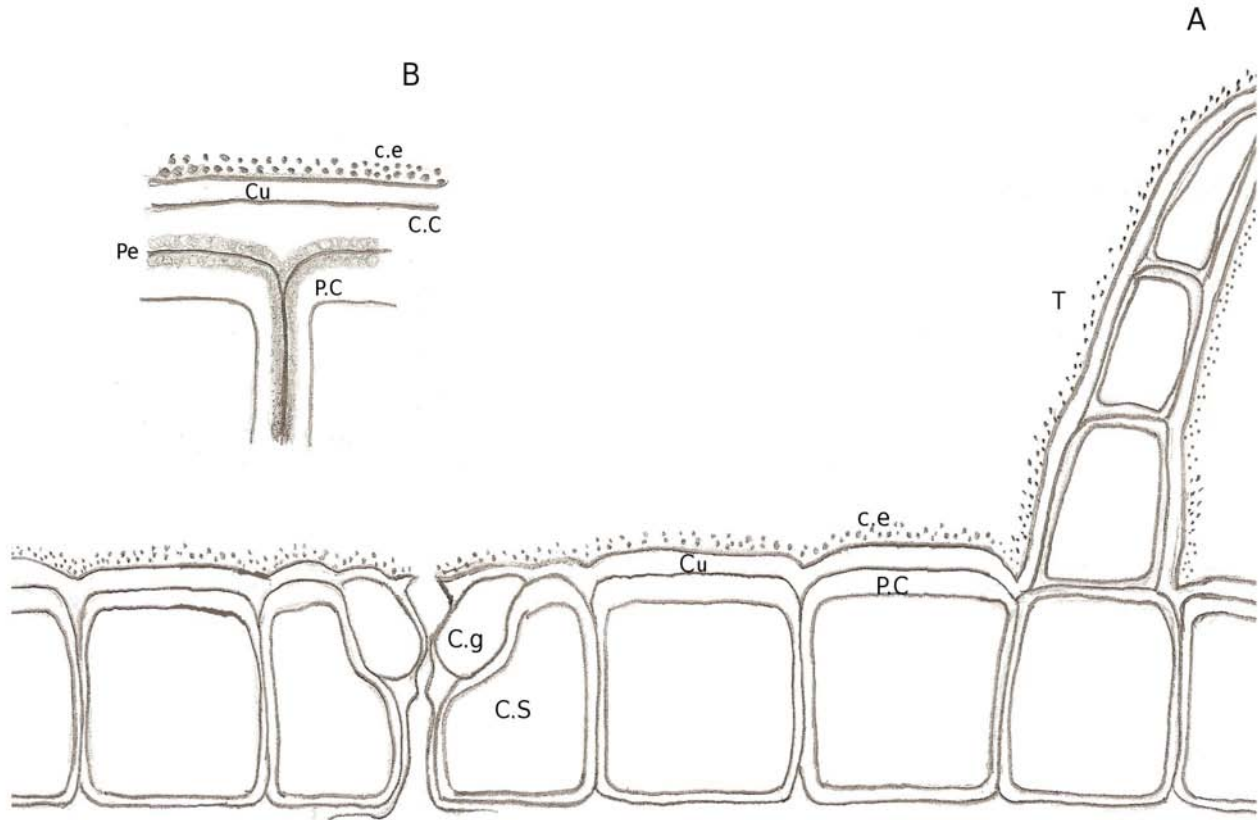


Figura 2. **A.** Vista transversal de una epidermis foliar (Cu = cutícula, ce = ceras epicuticulares, C.g = células guarda, C.s = células subsidiarias, P.C = Pared celular, T = tricoma). **B.** Detalle de la conformación de la cutícula (Pe = pectina, C.C. = capa cuticular, Cu =cutícula). (Modificado de Esau, 1976)

Entre los estudios que se llevan a cabo sobre epidermis foliar, podemos mencionar aquellos de tipo descriptivo, que se enfocan principalmente a dar cuenta de las diferencias en la anatomía y micro-morfología, principalmente de los tricomas, idioblastos, estructuras secretoras y estomas de diversos grupos de plantas (Pesacreta y Hasenstein, 1999; Melo de Pinna et al., 2002; Kandemir et al., 2006; Araújo et al., 2010). Muchos de estos estudios han mostrado la utilidad de los caracteres anatómicos en la identificación taxonómica a nivel de géneros o especies (Castro et al., 1997; Andrés-Hernández y Terrazas, 2006; Qi, 2006; Delbón et al., 2007; Adedeji y Jewoola, 2008; Syeda y Rajput, 2009); o para entender las relaciones filogenéticas (Luckow, 2002; Horn et al., 2009) y la evolución de caracteres (Horn et al., 2009).

## Estomas

Los estomas son aberturas especializadas de la epidermis foliar. Los poros están rodeados por un par de células a veces reniformes conocidas como células guarda o células oclusivas, que abren o cierran la abertura estomática y dan paso a la cámara subestomática al cambiar la presión de turgencia; de esta forma regulan la tasa de transpiración y el intercambio gaseoso entre la atmósfera y los espacios aéreos internos (Dickison, 2000). Las células guarda tienen engrosamientos de la membrana en los bordes superior e inferior y poseen cloroplastos que acumulan almidón (Esau, 1976; Dickison, 2000).

En sección transversal las células guarda se ven como dos células redondeadas o triangulares de pared gruesa entre las cuales se encuentra el poro. Los bordes exteriores del estoma parecen arcos protectores sobre el poro estomático y delimitan la cavidad (Metcalf y Chalk, 1979).

En muchas plantas dos o más células adyacentes a las células guarda parecen estar asociadas funcionalmente a ellas y se distinguen por su morfología de las otras células epidérmicas. Se les llama células anexas, adjuntas o subsidiarias. Las células subsidiarias almacenan grandes cantidades de iones y agua; y dado que no hay plasmodesmos funcionales entre las células guarda maduras, las células subsidiarias y las células epidérmicas ordinarias, esos materiales deben moverse a través del apoplasto. Al conjunto del poro, las células guarda y las células subsidiarias se le refiere frecuentemente como aparato estomático o complejo estomático (Esau, 1976; Dickison, 2000).

Los estomas pueden presentarse en ambos lados de la hoja (hojas anfistomáticas) o sólo en un lado, ya sea en el lado superior (hoja epistomática) o más comúnmente en el lado inferior (hoja hipostomática). En la gran mayoría de las hojas de dicotiledóneas, los estomas están dispersos, en algunas monocotiledóneas y coníferas, se encuentran en filas paralelas a lo largo del eje de la hoja. Pueden también localizarse al mismo nivel que las otras células epidérmicas o por debajo o encima de éstas (Esau, 1976, 1977).

Debido a la gran diversidad de estomas, se han creado numerosas clasificaciones y modificaciones de éstas basadas en criterios como el número, distribución u origen de las células guarda y/o anexas. En la literatura podemos encontrar diversos trabajos que proponen sistemas clasificatorios y nomenclaturas para los estomas (Dilcher, 1974; Metcalf y Chalk, 1979; Baranova, 1992; Prabhakar, 2004) Sin embargo, dichas clasificaciones muchas veces caen en desuso por ser poco prácticos y la nomenclatura ambigua (Prabhakar, 2004).

Entre los sistemas clasificatorios más aceptados están el propuesto por Vesque en 1889 que es el más simple al proponer cuatro tipos de estomas con base en la orientación de las células subsidiarias en relación a las células guarda: ranunculáceo, crucífero, cariofiláceo y rubiáceo (Prabhakar, 2004). La clasificación de Metcalfe y Chalk (1979) concuerda con la clasificación de Vesque, pero propone otros nombres y añade a los cuatro tipos propuestos por Vesque otros tipos con base en la apariencia de las células subsidiarias, teniendo un total de 32 tipos de estomas. Más recientemente, Prabhakar (2004) hizo una revisión en la cual propuso la existencia de diez tipos de estomas basados en la orientación de las células subsidiarias respecto a las células guarda y también define las sinonimias con nomenclaturas de otros autores.

Desde el punto de vista morfoanatómico, el aparato estomático puede ser caracterizado por la forma y el arreglo de las células subsidiarias, la morfología de las células guarda, sus bordes, los engrosamientos de sus paredes y el tamaño de las células guarda. Dichos caracteres pueden tener valor diagnóstico para el reconocimiento de especies (Rowson, 1943; Metcalfe y Chalk, 1979; Luque et al., 1999). Sin embargo, en la hoja también podemos observar características del conjunto de los estomas como distintos patrones de distribución sobre la superficie foliar o diferentes agrupamientos y orientaciones. Además, podemos tener caracteres más complejos para caracterizar al conjunto de estomas de una planta, como la frecuencia estomática, que se puede expresar como densidad estomática (número de estomas por unidad de área) o como el índice estomático ( $100S/E+S$ , donde S es el número de estomas por unidad de área y E es el número de células epidérmicas ordinarias en la misma área) (Rowson, 1943). Salisbury, en 1927, notó la correlación negativa entre el área de la hoja y la densidad estomática entre las especies.

La densidad estomática es un carácter sensible al estado de maduración de la hoja, mientras que el índice estomático es remarcablemente constante y es independiente de cualquier expansión subsecuente de la hoja (Chen et al., 2001). Estos caracteres se ven afectados por factores genéticos de la especie, que determinan el patrón de distribución de los estomas sobre la hoja y por factores ecológicos como la exposición a la luz, la humedad, la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico, la tasa de transpiración e incluso por fitohormonas como el ácido abscísico (Chen et al., 2001; Lake et al., 2001; Woodward y Lake, 2008).

Los estudios sobre el aparato estomático están principalmente enfocados en su desarrollo y en el mecanismo de los movimientos de apertura y cierre. Actualmente hay un gran número de trabajos que se enfocan a los mecanismos moleculares que disparan el movimiento de las células guarda (Ng et al., 2001); otros trabajos se enfocan al descubrimiento de los mecanismos genéticos que regulan la fisiología y el desarrollo del aparato estomático (Webb y Beker, 2002), los efectos de las diferentes fitohormonas y otros químicos ambientales sobre los patrones de desarrollo (MacAinsh et al., 2001) y, más recientemente, los efectos de los contaminantes atmosféricos sobre la fisiología del aparato estomático (Woodward et al., 2002; Dimitrova y Yurukova, 2005).

### **Efectos del CO<sub>2</sub> en el aparato estomático**

Existe evidencia de que las plantas pueden detectar y responder a las influencias antropogénicas en la composición atmosférica (Jarvis, 1989; McAinsh et al., 2001; Woodward et al., 2002, Dimitrova y Yurukova, 2005).

Los contaminantes del aire afectan el aparato estomático directa e indirectamente. Por ejemplo, a través del daño a las células subsidiarias o las células epidérmicas que cumplen esta función cuando no hay células subsidiarias anatómicamente distintas o a través de cambios en la estructura de la pared celular dentro del aparato estomático. También se ha sugerido que los contaminantes del aire influyen los estomas directamente a través de afectaciones fisiológicas en las células guarda (McAinsh et al., 2001).

Las respuestas estomáticas a los contaminantes del aire son complejas, varían entre las especies de acuerdo al tipo de contaminante, el periodo de exposición, la concentración del contaminante y las interacciones con factores ambientales incluyendo otros contaminantes (McAinsh et al., 2001).

Desde la Revolución Industrial ha habido un incremento rápido en la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico, mayoritariamente atribuible a la quema de combustibles fósiles. La concentración promedio de dióxido de carbono en marzo de 2010 fué de 391.06 partes por millón (Mauna Loa Observatory, 2010).

El dióxido de carbono está primariamente involucrado en el crecimiento de las plantas como sustrato para la fotosíntesis y participa en la activación y regulación de enzimas que afectan el

metabolismo y el crecimiento de la planta, como la Ribulosa bifosfato carboxilasa-oxigenasa. Además, puede causar el cierre estomático, lo cual reduce la conductancia estomática para vapor de agua y CO<sub>2</sub> o induce una mayor tasa de crecimiento en las hojas de las plantas que crecen en una elevada concentración de CO<sub>2</sub> (Jarvis, 1989).

Las modificaciones anatómicas observadas en las plantas expuestas a altas concentraciones de CO<sub>2</sub>, pueden ser el resultado de una mayor asimilación de CO<sub>2</sub> y de la disponibilidad de más sustrato para el crecimiento de la hoja o también pueden deberse a efectos directos en el desarrollo de las hojas (Jarvis, 1989). Está ampliamente documentado que el CO<sub>2</sub> tiene efectos sobre la frecuencia estomática (Woodward, 1987; Woodward y Lake, 2008) y el desarrollo estomático (Lake et al., 2001; Woodward et al., 2002).

Woodward (1987) demostró mediante observaciones en ejemplares de herbario que cubrían un periodo de 200 años, la relación inversa entre la densidad e índice estomático y la cantidad de CO<sub>2</sub> presente en la atmósfera. Esta relación se ha confirmado con otros grupos de plantas incluyendo algunas especies de Asteraceae de hábito herbáceo (Peñuelas y Matamala, 1990; Woodward y Kelly, 1995; Chen et al., 2001).

Se ha postulado que el aumento en la concentración atmosférica de CO<sub>2</sub> induce, en un amplio rango de especies observadas hasta la fecha, una reducción en la densidad estomática (Woodward, 1987, Woodward y Kelly, 1995, Tricker et al., 2005). Sin embargo, hay una considerable variación en las respuestas estomáticas al aumento en las concentraciones de CO<sub>2</sub> y se ha encontrado que algunas especies aumentan (Ferris y Taylor, 1994; Dimitrova y Yurukova, 2005) o no presentan modificaciones en su densidad estomática (Bettarini et al., 1998).

Examinar la respuesta de la densidad estomática al cambio en las concentraciones de CO<sub>2</sub> atmosférico es un elemento básico en el estudio y entendimiento de las respuestas de la planta completa dados sus efectos en la eficiencia de uso de agua y la tasa de asimilación de carbono (Beerling y Chaloner, 1992). Actualmente se realizan estudios para conocer mejor la respuesta de la densidad estomática a las concentraciones cambiantes de CO<sub>2</sub>: estudios de campo en plantas vivientes creciendo en diferentes altitudes; estudios en plantas creciendo en ambientes controlados; patrones históricos detectados de material de herbario y comparaciones de registros históricos con material moderno

(Beerling y Chaloner, 1992).

Se ha demostrado también que las concentraciones de CO<sub>2</sub> a las cuales se exponen las hojas maduras de *Arabidopsis thaliana*, detectan y transmiten la información de los cambios en las condiciones atmosféricas a las hojas nuevas de la misma planta, lo cual produce un ajuste apropiado del desarrollo estomático (Lake et al., 2001). Esta relación entre el aparato estomático y la concentración de CO<sub>2</sub> ha mostrado ser de gran utilidad, por ejemplo para estimar los niveles de CO<sub>2</sub> atmosférico en periodos previos al Cuaternario, usando hojas fosilizadas de plantas terrestres (Chen et al., 2001; Beerling y Royer, 2002). Se ha encontrado utilidad también en interpretaciones fisiológicas sobre la tasa de transpiración y la conductancia estomática (Woodward y Lake, 2008) y en estudios de tipo ecológico (Woodward et al., 2002, Miller-Rushing et al., 2009).

### **Poliploidía y aparato estomático**

La poliploidía, es decir, la presencia más de dos juegos de cromosomas homólogos (Leitch y Bennett, 1997; Schifino-Whittman, 2004) es un rasgo característico de los genomas vegetales y ha desempeñado un papel importante en el origen y evolución de las plantas silvestres y cultivadas (Schifino-Whittman, 2004). Las estimaciones sobre la ocurrencia de poliploidía en las plantas con flores encontradas en la literatura varían desde la más conservadora de 30 a 35% (Stebbins, 1971) hasta las que sugieren el 80% de las angiospermas (Masterson, 1994; Leitch y Bennet, 1997). Actualmente se sabe que muchas especies o complejos de especies incluyen más de un nivel de ploidía (Mishra, 1997; Gatt et al., 1999; Hull-Sanders et al., 2009).

La poliploidía afecta las redes de expresión y regulación genética (Anssour et al., 2009). Al incrementarse el número de copias de un gen y la redundancia funcional, la poliploidia libera de presiones selectivas a los genes redundantes, permitiéndoles acumular nuevas mutaciones y potencialmente nuevas funciones, modificando su adecuación (Anssour et al., 2009). Los poliploides en general son buenos colonizadores, pudiendo ocupar hábitats pioneros en los cuales los ancestros diploides no tienen éxito (Schifino-Wittmann, 2004).

Las plantas poliploides generalmente divergen de sus progenitores diploides en sus características citológicas, morfológicas, químicas, fisiológicas y ecológicas (Vyas et al., 2007;

Halverson et al., 2008; Anssour et al., 2009; Hull-Sanders et al., 2009). Por ejemplo, a nivel celular se ha demostrado que en Angiospermas el contenido de ADN y el número cromosómico, están relacionados positivamente con el tamaño celular y negativamente con la duración del ciclo celular (Beaulieu et al., 2008)

Estudios recientes han señalado que existe una fuerte correlación entre el tamaño del genoma y el tamaño celular (Beaulieu et al., 2008; Hodgson et al., 2010), particularmente con la longitud de las células guarda de los estomas. También se ha postulado que un incremento en la ploidía está generalmente acompañado por un incremento en el tamaño de las células guarda, así como un decremento en la frecuencia estomática (Stone, 1961; Przywara, 1988; Masterson, 1994; Mishra, 1997; Hull-Sanders et al., 2009; Hodgson et al., 2010). Esta correlación entre el aparato estomático y el tamaño del genoma ha sido aprovechado principalmente para identificar con simples inspecciones morfológicas los distintos niveles de ploidía en muchas especies de plantas (Przywara, 1988; Mishra, 1997; Anssour et al., 2009), además de ser utilizado para determinar el nivel de ploidía en plantas fósiles (Masterson, 1994).

### **Hábito de la planta y aparato estomático.**

Salisbury en 1927 encontró que hay una correlación entre la forma de vida de la planta y la densidad estomática foliar. De acuerdo con su estudio, los árboles tienen una mayor densidad estomática que los arbustos, los arbustos tienen una mayor densidad estomática que las hierbas y las plantas leñosas tienen una mayor densidad estomática que las hierbas y las hierbas marginales (aquellas que crecen en los márgenes del bosque).

Desde la publicación de este artículo, la correlación entre la forma de vida y el aparato estomático ha sido poco estudiada. Sin embargo, algunos estudios han tratado de encontrar correlaciones entre la historia de vida de las plantas y el aparato estomático. Por ejemplo, Hodgson et al. (2010) encontraron que hay variaciones en el tamaño de los estomas entre las plantas con diferentes historias de vida; mencionan que las especies herbáceas tienen estomas de mayor tamaño que las leñosas.

Kelly y Beerling (1995) reanalizaron los datos de Salisbury encontrando que las comparaciones

entre las formas de vida no presentan un patrón claro: los árboles no tienen mayor densidad estomática que los arbustos, estos últimos tienen mayor densidad estomática que los primeros y las plantas leñosas no tienen mayor densidad estomática que las hierbas.

Woodward y Kelly (1995) realizaron un estudio de los efectos del CO<sub>2</sub> en la densidad estomática de diversos grupos de plantas. Analizaron también la posible relación entre las respuestas de la densidad estomática al hábito de la planta. No observaron relaciones significativas entre la densidad estomática y el hábito.

Recientemente, Beaulieu et al. (2008) realizaron un estudio con 101 especies de angiospermas de diferentes formas de crecimiento, encontrando que las especies herbáceas tienen un mayor tamaño de genoma y células más grandes que el conjunto de arbustos y árboles; Los árboles por otra parte, tienden a tener un tamaño de genoma pequeño y estomas pequeños y densos.

### **La familia Asteraceae**

Asteraceae o Compositae es la familia de angiospermas más diversa (Bremer, 1994; Turner y Nesom, 1998) y con mayor número de especies (> 30,000) distribuidas en aproximadamente 2000 géneros (Funk et al., 1994, Rzedowski 1998; Turner y Nesom, 1998; Villaseñor, 2004). Clasificaciones recientes (APG 2010; Judd et al., 2002) colocan a la familia Asteraceae dentro del orden monofilético de las Asterales junto con otras diez familias como Campanulaceae y Calyceraceae que comparten la presencia de carbohidratos en forma del oligosacárido inulina, de ácido elágico y granos de polen trinucleados, así como por caracteres moleculares.

Tradicionalmente la familia ha sido dividida en tribus con base en caracteres de las anteras, el receptáculo, la corola y el estilo (Mc Vaugh, 1984). Su taxonomía es compleja, por lo que el número de tribus, géneros y especies que la componen varía conforme pasa el tiempo y se descubren nuevas especies o se encuentran nuevos caracteres que permiten distinguir entre especies y de acuerdo al criterio del autor. Así por ejemplo, Turner y Nesom (1998) estimaron que existen 2,130 géneros y 25,500 especies; Bremer (1994) reportó alrededor de 1,535 géneros y 23,000 especies.

Para la familia Asteraceae en México se calcula que existen 361 géneros que agrupan a cerca de 3,021 especies de las cuales 65.9% son endémicas (Villaseñor, 2003). Esta riqueza de especies hace de



México uno de los principales centros de diversificación de la familia (Turner y Nesom, 1998; Villaseñor, 2004).

Los miembros de la familia pueden ser plantas herbáceas o arbustivas, rara vez arbóreas o trepadoras, tienen hojas alternas, opuestas o verticiladas, simples o compuestas y se caracterizan por presentar flores gamopétalas, más o menos densamente agregadas en cabezuelas rodeadas por un involucre de brácteas, el cáliz ausente o modificado en vilano, estambres singenésicos, el gineceo fusionado y bicarpelar, ovario ínfero con un solo óvulo de placentación basal y las cipselas con una sola semilla. A veces presentan canales resiníferos, usualmente presentan poliacetilenos y aceites aromáticos terpenoides (Cabrera-Rodríguez y Villaseñor, 1987; Villarreal et al., 1996; Judd et al., 2002). Es una familia cosmopolita, pero presentan una mayor diversidad y riqueza en regiones montañosas tropicales o subtropicales, así como en zonas áridas y en hábitats abiertos con diferentes grados de perturbación (Cabrera-Rodríguez y Villaseñor, 1987).

Esta familia presenta especies de gran importancia médica, económica, alimenticia, ornamental, cosmética (debido a la producción de aceites esenciales) y agrícola (existen un gran número de malezas que pertenecen a esta familia). Así por ejemplo, se pueden mencionar malezas como *Bidens odorata* Cav. y *Simsia amplexicaulis* (Cav.) Pers. De las especies ornamentales destacan *Helianthus annuus* L. y varias especies de *Dahlia*. Entre las especies usadas popularmente como plantas medicinales están: *Artemisia ludoviciana* Nutt., *Montanoa tomentosa* Cerv. y *Tagetes coronopifolia* Willd. (Milán et al., 2006; Delbón et al., 2007; Adedeji y Jewoola, 2008; Heike Vibrans, 2009).

### **Anatomía foliar de Asteraceae**

La estructura anatómica caular y foliar de las Asteraceae es diversa (Carlquist, 1957, 1966; Metcalfe y Chalk 1979 Milán et al., 2006; Adedeji y Jewoola, 2008). Estudios de algunos miembros de la familia se han llevado a cabo con fines descriptivos, sistemáticos o funcionales (Carlquist, 1957, 1966; Banerjee y Deshpande, 1973; Metcalfe y Chalk, 1979; Carlquist, 1982; Lapp et al., 2004; Milán et al., 2006). Por ejemplo, utilizando caracteres anatómicos y morfológicos de hoja se han establecido límites genéricos o incluso específicos (Adedeji y Jewoola, 2008; Milán et al., 2006). Las estructuras secretoras son de gran interés anatómico y su distribución restringida tiene un gran valor diagnóstico,

incluso a nivel de género (Castro et al., 1997).

La diversidad anatómica de las Asteraceae queda manifestada en su estructura foliar. Entre los caracteres que presentan más variación están la distribución de estomas en las superficies de la hoja, el posicionamiento de las células guarda en relación a las células epidérmicas ordinarias, el desarrollo de hipodermis en el lado superior de la hoja, la diferenciación de mesofilo y sistema fibrovascular y la secreción de cera en la superficie de la hoja (Metcalfé y Chalk, 1979). Esta diversidad le ha permitido ocupar una gran variedad de hábitats y diferentes nichos ecológicos. Entre las características anatómicas más sobresalientes de la familia Asteraceae, encontramos las hojas comúnmente dorsiventrales, hipostomáticas y en pocos casos anfiestomáticas, estomas anomocíticos; haces vasculares en la lámina foliar frecuentemente rodeados por una vaina parenquimática y presencia de canales secretores (Freire et al., 2005).

### **Familia Asteraceae en la REPSA**

La familia Asteraceae en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) está bien representada con 93 especies pertenecientes a 51 géneros y 11 tribus (Céspedes, 2010). Es la familia con el mayor número de especies en la REPSA, con aproximadamente 22% de un total de 337 especies de plantas (Castillo-Argüero et al., 2004). Estas plantas son comúnmente hierbas anuales o perennes u ocasionalmente arbustos caducifolios, que llegan a medir hasta 3 metros de altura. Además, se han registrado especies con números cromosómicos altos que sugieren el origen poliploide de las Asteraceae y la importancia de la poliploidía en la composición de la flora de esta familia en la REPSA. Soto (2007) menciona que los niveles de poliploidía estimados para la REPSA varían entre 30.5% y 68.5%, de acuerdo con el criterio usado para definir una especie poliploide.

Estos atributos hacen a las Asteraceae un grupo apropiado para evaluar varias de las hipótesis sobre la relación del aparato estomático con la forma de vida y con el número cromosómico alto (poliploidía ancestral). Además, las colectas realizadas en la REPSA para esta familia antes de la década de los setenta permitirán probar la hipótesis de que los cambios ambientales ocurridos en las tres últimas décadas en la Cuenca de México han modificado el número y tamaño en el aparato estomático en algunas especies.

## **Justificación**

Las investigaciones recientes acerca de las Asteraceae han sido principalmente descriptivas y se han enfocado en buscar diferencias anatómicas de importancia taxonómica entre especies muy similares. Sin embargo, hasta ahora no se le había prestado atención a la correlación que podría existir entre la microestructura foliar, particularmente el aparato estomático con el hábito, número cromosómico y contenido de ADN celular de las diferentes especies de Asteráceas.

Trabajos recientes (Beulieu et al., 2008; Hodgson et al., 2010) han comenzado a abordar esta correlación mediante análisis comparativos de diversas familias de Angiospermas, en los que se incluyen algunas especies de Asteraceae, principalmente herbáceas. Sin embargo, hasta ahora no se han hecho estudios que incluyan especies con distribución en México, de diferentes hábitos y diferente número cromosómico. Por otra parte, se ha probado en especies de otras familias que el aparato estomático es sensible a los cambios en los niveles de CO<sub>2</sub> y al cambio climático (Woodward, 1987; Bettarini et al., 1998; Hedhly et al., 2008). Lo anterior nos lleva a pensar que las plantas de la REPSA deberían estar respondiendo a los incrementos de CO<sub>2</sub> atmosférico, modificando su aparato estomático; pero nadie lo ha comprobado hasta la fecha.

La importancia de este trabajo radica en que además de ser una aportación al conocimiento del aparato estomático de algunas Asteraceae de la REPSA, es un estudio integrativo donde características del aparato estomático se relacionan con variables ambientales, como la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico y con variables citogenéticas, como el tamaño del genoma y el número cromosómico.

## **Objetivos**

- Caracterizar el aparato estomático de 15 especies de Asteraceae a través de las observaciones generadas por la microscopia de luz,
- Determinar si existen diferencias en los atributos del aparato estomático entre individuos de la misma especie, colectados antes o en la década de los setentas, asociadas al cambio atmosférico que ha ocurrido en la cuenca de la ciudad de México;
- Evaluar si existe un escalamiento positivo o negativo entre el aparato estomático y el

número cromosómico, el contenido de ADN y el tamaño del genoma y el hábito de la especie.

## Material y Método

### Sitio de Estudio

El presente estudio fue realizado dentro de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA), ubicada al suroeste de la cuenca hidrográfica del Valle de México. 19°18'21"-19°20'11" N y 99°10'15"-99°12'4" O, en un intervalo altitudinal de 2,292 a 2,365 m s.n.m., dentro del campus principal de la Universidad Nacional Autónoma de México (Figura 3).

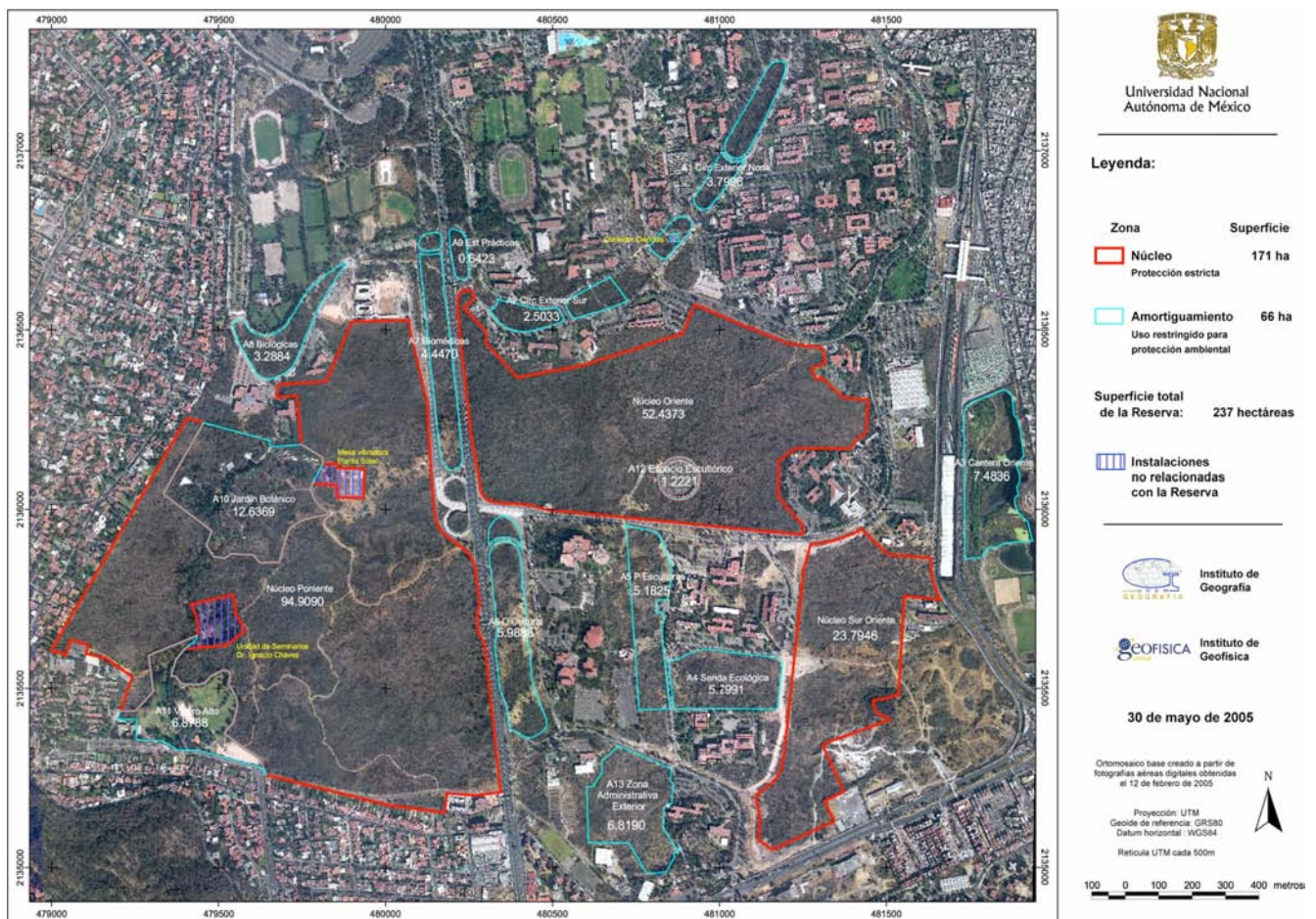


Figura 3. Área de estudio (UNAM, 2005)

La REPSA cubre un área total de 237.3 ha; 171.1 ha divididas en tres zonas núcleo y 66.2 ha en 13 zonas de amortiguamiento. (Antonio-Garcés, 2008).

El clima de la región es templado subhúmedo, con régimen de lluvias en verano [Cb (w1)(w)] . Registra una temperatura media anual de 15.6° C con variaciones extremas que van de los -6° C hasta los 34.6° C. La precipitación promedio anual es de 833 mm. La lluvia se distribuye de manera diferencial, lo que permite distinguir dos épocas: la de lluvias, que va de junio a octubre y la de secas, que abarca de noviembre a mayo (Valiente-Banuet y de Luna, 1990; Castillo-Argüero et al., 2007).

El sustrato de este sitio se originó por la erupción del volcán Xitle ocurrida hace aproximadamente 1670 años. En el terreno predomina la roca madre expuesta; el suelo de origen eólico y orgánico es joven, escaso y poco desarrollado y se acumula en grietas, fisuras y depresiones. La profundidad del suelo varía de 0 a 30 cm con un promedio de 4.5 cm. La textura es arenoso limosa con bajo contenido de fósforo, nitrógeno, potasio y calcio. El pH es ligeramente ácido de  $5.4 \pm 0.1$  a  $6.3 \pm 0.2$  (Valiente-Banuet y de Luna, 1990; Figueroa-Castro et al., 1998; Castillo-Argüero et al., 2007).

Los distintos patrones de solidificación de la lava y el efecto de los procesos físicos de enfriamiento e intemperismo dieron como resultado la presencia de una topografía irregular. La variabilidad topográfica y los cambios altitudinales determinaron la formación de múltiples comunidades biológicas, de las cuales el matorral xerófilo denominado por Rzedowski (1954) como *Senecioteum praecoxis*, es la que mayor extensión ocupa (Figueroa-Castro et al., 1998; Rojo y Rodríguez, 2002).

En la reserva se observa una amplia variedad de formas de crecimiento, donde las hierbas son la forma dominante. De acuerdo con Castillo-Argüero et al. (2009), 82 % de las plantas que se encuentran en la REPSA son hierbas, le siguen en importancia los arbustos y finalmente los árboles.

La flora de la reserva ha sido uno de los puntos principales de interés. Los informes más antiguos sobre especies vegetales recolectadas en la zona, así como las primeras descripciones de las características generales del área, datan de finales del siglo XIX y principios del XX (Castillo-Argüero et al., 2004). Por eso existe la oportunidad de estudiar sus cambios en el tiempo.

De los listados florísticos realizados en la REPSA destacan particularmente el de Rzedowski (1954) en el cual figura un total de 298 especies nativas de angiospermas y 30 arvenses; el de Valiente-Banuet y de Luna (1990) que reportan 301 especies agrupadas en 61 familias de fanerógamas. Rojo y Rodríguez (2002) registran un total de 310 especies de las cuales solo 226 eran originales de la

comunidad. Los trabajos de Castillo-Argüero et al. (2004) y Castillo-Argüero et al. (2007) reportan ambos 337 especies de plantas vasculares que pertenecen a 74 familias y 193 géneros. Más recientemente el listado hecho por Castillo-Argüero et al. (2009) reporta 377 especies pertenecientes a 73 familias y 211 géneros. Céspedes (2010) reporta 93 especies de Asteraceae, distribuidas en 51 géneros y 11 tribus. Todos los listados florísticos coinciden en que la familia mejor representada es Asteraceae.

Los estudios que se han realizado en la Reserva del Pedregal de San Ángel han tenido diversos enfoques y han abarcado distintas áreas de la biología. Los trabajos que hasta ahora han abordado el ecosistema de la reserva han sido de temas como ecología de poblaciones y de comunidades, ecofisiología, conservación, estudios ecosistémicos, cultivo de tejidos, florística e inclusive algunos relacionados con acciones jurídicas y economía. Sin embargo, no existen trabajos sobre microestructura o anatomía vegetal comparativa, pese a que existe material de herbario que data de mediados del siglo XIX de las especies de plantas presentes en la Reserva. (Castillo-Argüero et al., 2007).

### **Obtención de ejemplares**

Para determinar cuales eran las especies que se incluirían en el estudio, consultamos al doctor José Luis Villaseñor, quien nos proporcionó un listado de las especies de Asteraceae presentes actualmente en la REPSA, así como un listado de ejemplares de Asteraceae depositados en MEXU. Por otra parte, consultamos a la Doctora Guadalupe Palomino, quien es corresponsable del proyecto “Niveles de Poliploidía en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, México D.F.” para conocer aquellas especies de las cuales se ha obtenido el contenido de ADN y se ha evaluado su número cromosómico.

#### *Recolecta*

Se llevó a cabo la colecta de ejemplares de especies de Asteraceae dentro de la REPSA de agosto de 2008 a diciembre del 2009. Se colectaron de tres a cinco individuos de cada una de las 15 especies seleccionadas (Apéndice 1); de cada individuo se tomaron muestras de raíz, tallo y hojas,

cuidando que su lámina estuviera sana, sin evidencias de herbivoría o algún tipo de plaga. Las muestras fueron etiquetadas y fijadas en formaldehído-ácido acético glacial-alcohol etílico (Ruzin, 1999).

#### *Remoción de hojas de ejemplares de herbario (MEXU)*

De las 15 especies seleccionadas para este estudio también se buscaron ejemplares de herbario depositados en MEXU que hubiesen sido colectados en la REPSA antes de 1970. Se seleccionaron al menos dos ejemplares por especie para remover dos hojas por ejemplar. En todos los casos las hojas removidas estuvieron completas o bien representaban fragmentos de una región intercostal completa.

#### **Aclaramiento**

De los ejemplares colectados en 2008 y 2009, se removieron 3 hojas por cada individuo, para un total de 9 muestras por especie. De los ejemplares de herbario, solamente se removieron fracciones de hojas de hasta 2 ejemplares diferentes para cada especie. Posteriormente, con la finalidad de obtener una visión no obscurecida de las estructuras celulares de la hoja, se sometieron al proceso de aclaramiento o diafanización iniciando por lavar las hojas de los ejemplares de campo con agua corriente para eliminar los rastros de FAA.

Tanto las hojas de campo ya fijadas como las removidas de los ejemplares de herbario se colocaron en una solución de NaOH al 20% a 60° C por 12 horas, seguido de un lavado con hipoclorito de sodio (clorox comercial) al 50% por varios minutos hasta tener color blanquecino. Enseguida se lavaron y sometieron a una deshidratación en una serie de concentración ascendente de alcohol (50%, 70% y 96%). Las hojas permanecieron 24 horas en cada cambio. Después fueron colocadas en solución aclaradora BB¼ modificada (Martínez-Cabrera et al., 2007) de 2 a 90 días, hasta que las láminas estaban completamente translucidas. Una vez aclaradas las hojas se colocaron en alcohol al 96% durante 48 horas para eliminar los restos de solución aclaradora y se continuó con la tinción con safranina alcohólica durante una hora, la deshidratación hasta xilol por 24 horas y finalmente se montaron en resina sintética.

#### **Análisis**



Se llevó a cabo la cuantificación de dos parámetros en la superficie abaxial: tamaño de estoma y número de estomas por  $\text{mm}^2$  con un analizador de imágenes (Image ProPlus versión 6.1, Media Cybernetics 2006) adaptado a un microscopio Olympus BX-50. El tamaño de los estomas se midió conforme a Hernández et al. (2007), realizándose 50 mediciones de longitud de células guarda y 25 conteos de estomas por cada individuo (actuales y de herbario) por especie para calcular el número de estomas por milímetro cuadrado.

Con base en la literatura y en las observaciones de campo, se le asignó a cada especie su hábito; (hierbas, hierbas perennes, arbustos y árboles), tomando como criterio principal la ramificación de la base y la presencia o ausencia de estructuras de perennación.

Se tomaron los datos de número cromosómico diploide para doce especies del trabajo de Soto (2007). Los datos de tamaño del genoma, nivel de ploidía y contenido de ADN, así como los números cromosómicos diploides de otras tres especies fueron proporcionados por la Dra. Guadalupe Palomino, corresponsable del Proyecto “Niveles de poliploidía en las Asteraceae de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Angel, Ciudad Universitaria, México, Distrito Federal)”, del cual esta tesis forma parte.

Se realizó un análisis de correlación de Spearman para determinar si el número y el tamaño de los estomas estaban relacionados entre sí. El mismo análisis se realizó con los datos de hábito y genoma para determinar si existía correlación positiva o negativa entre el hábito, el contenido de ADN, el nivel de ploidía, el tamaño del genoma y el tamaño y el número de estomas. Además se realizó un análisis de regresión simple entre el tamaño del genoma y el tamaño del estoma con la finalidad de confirmar la predictibilidad de asociación de estas variables. También se realizaron análisis de varianza para determinar si los ejemplares de herbario y de campo son significativamente diferentes entre sí en cuanto a tamaño y número de estomas. Todos los procedimientos y análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa estadístico SAS (SAS Institute, 1989).

Finalmente, se tomaron fotografías para ilustrar los resultados encontrados y se elaboraron láminas para facilitar la comparación entre las distintas especies y entre los ejemplares de herbario y de campo de la misma especie.

## Resultados

Las quince especies estudiadas tienen estomas anomocíticos. Las células epidérmicas tuvieron en su mayoría paredes anticlinales rectas, pero en algunas especies se observan células con contornos ligeramente ondulados a ondulados (Figuras 4, 6, 11-14). En la lámina foliar de la mayoría de las especies estudiadas se observó la presencia de tricomas.

### Densidad estomática

La densidad estomática ( $e/mm^2$ ), la longitud de las células guarda y el hábito de 15 especies de Asteraceae estudiadas de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel se sintetizan en el cuadro 1. Para las especies colectadas en fechas recientes se encontró que *Lagascea rigida* (Figura 4A) tuvo una menor densidad estomática,  $141 e/mm^2$ , en tanto que la especie con mayor densidad estomática fue *Verbesina virgata* (Figura 4B) con  $620 e/mm^2$  (Cuadro 1, Figura 5). En estas mismas especies se observaron los datos mínimo y máximo extremos, pues *L. rigida* fue la especie en la que se presentó la frecuencia mínima observada ( $70 e/mm^2$ ) y *V. virgata* la que presentó la frecuencia máxima ( $941 e/mm^2$ ).

Para las muestras de herbario *Pittocaulon praecox* (Figura 4C) presentó la menor densidad estomática ( $218 e/mm^2$ ) y *Dahlia coccinea* (Figura 4D) la especie con mayor densidad estomática ( $824 e/mm^2$ ) (Cuadro 1, Figura 5). En este caso, las frecuencias mínima y máxima extremas se presentaron en estas mismas especies, con  $70 e/mm^2$  en *P. praecox* y  $1011 e/mm^2$  en *D. coccinea*.

La distribución de frecuencias de estomas de las muestras actuales (Figura 8A) fue diferente a la distribución de frecuencias encontrada en los ejemplares de herbario (Figura 8B). Las muestras actuales tienen un comportamiento bimodal, donde la mayoría de las muestras está alrededor de los  $280 e/mm^2$  y  $540 e/mm^2$ . Las muestras de herbario, por su parte se muestran sesgadas hacia la izquierda, es decir hacia los valores menores de densidad estomática, alrededor de los  $270 e/mm^2$ , pero presentaron una mayor dispersión de valores máximos. Así mismo, se observó una reducción en la variación en las muestras actuales.

## Longitud

Con respecto a la longitud de las células guarda, para las muestras actuales *Melampodium perfoliatum* (Figura 6A) fue la especie que presentó la menor longitud promedio (16.4  $\mu\text{m}$ ) y *Pittocaulon praecox* (Figura 6B) presentó la mayor longitud promedio (31.25  $\mu\text{m}$ ). Por otra parte los valores extremos los presentaron *Sonchus oleraceus* (12.38  $\mu\text{m}$ ) y *Lagascea rigida* (49.37  $\mu\text{m}$ ).

Para las muestras de herbario, *Galinsoga parviflora* (Figura 6C) presentó la menor longitud (14.78  $\mu\text{m}$ ) y *P. praecox* (Figura 6D) nuevamente tuvo los estomas más largos (31.25  $\mu\text{m}$ ) (Cuadro 1, Figura 7). Los valores extremos se encontraron dentro de las mismas especies, *G. parviflora* con 8.56  $\mu\text{m}$  de longitud de las células guarda y *P. praecox* con 46.56  $\mu\text{m}$  de longitud.

La distribución de frecuencias de longitud de las células guarda de las muestras actuales (Figura 9A) fue diferente a la distribución de frecuencias encontrada en los ejemplares de herbario (Figura 9B). En este caso, las muestras actuales tienen un comportamiento sesgado hacia la izquierda, (alrededor de las 19  $\mu\text{m}$ ), siendo raras las células de más de 30  $\mu\text{m}$  de longitud. Por su parte, las muestras de herbario (Figura 9B) muestran un comportamiento parecido a una normal, en el cual la mayoría de las observaciones caen entre 17 y 23  $\mu\text{m}$  de longitud, alcanzando valores máximos hasta casi 50  $\mu\text{m}$  de longitud.

Cuadro 1. Comparación de densidad estomática y longitud de las células oclusivas por especie para muestras actuales y de herbario. Letras minúsculas diferentes indican que hay diferencia significativa entre los ejemplares de esa especie para la densidad; letras mayúsculas diferentes indican que hay diferencia significativa entre ejemplares de la misma especie para el tamaño.

Especie	Acrónimo	Habito	Densidad estomática actual	Longitud actual	Densidad estomática herbario	Longitud herbario
<i>Acourtia cordata</i> (Cerv.) B.L. Turner	acco	Hierba perenne	202 ± 64 a	25.09 ± 2.24 A	284 ± 46 b	30.39 ± 2.93 B
<i>Baccharis sordescens</i> DC.	baso	Arbusto	160 ± 38 a	24.78 ± 1.76 A	294 ± 57 b	18.3 ± 1.65 B
<i>Bidens odorata</i> Cav.	biod	Hierba anual	502 ± 64 a	16.84 ± 1.63 A	499 ± 86 a	15.31 ± 1.24 A
<i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.	csbi	Hierba anual	297 ± 60 a	18.79 ± 2.93 A	470 ± 51 b	19.67 ± 2.11 A
<i>Dahlia coccinea</i> Cav.	daco	Hierba perenne	506 ± 89 a	20.89 ± 1.86 A	824 ± 119 b	17.19 ± 2.01 B
<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.	gapa	Hierba anual	290 ± 58 a	20.99 ± 2.38 A	703 ± 88 b	14.78 ± 3.75 B
<i>Lagascea rigida</i> (Cav.) Stuessy	lari	Hierba perenne	141 ± 32 a	24.36 ± 3.65 A	682 ± 99 b	16.48 ± 1.38 B
<i>Melampodium perfoliatum</i> (Cav.) Kunth	mepe	Hierba anual	554 ± 66 a	16.40 ± 1.85 A	321 ± 59 b	23.92 ± 2.01 B
<i>Montanoa tomentosa</i> Cerv.	moto	Arbusto o árbol	498 ± 53 a	20.42 ± 1.72 A	593 ± 85 b	16.76 ± 1.51 B
<i>Pittocaulon praecox</i> (Cav.) H. Rob. et Brettell	pipa	Árbol	279 ± 61 a	27.06 ± 3.74 A	218 ± 85 b	31.25 ± 7.34 B
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	sool	Hierba anual	542 ± 106 a	18.83 ± 3.11 A	248 ± 48 b	22.98 ± 2.02 B
<i>Stevia salicifolia</i> Cav.	stsa	Arbusto	310 ± 55 a	18.22 ± 2.54 A	231 ± 48 b	24.83 ± 3.54 B
<i>Verbesina virgata</i> Cav.	vevi	Arbusto	620 ± 113 a	18.1 ± 1.46 A	516 ± 98 b	17.74 ± 1.62 B
<i>Viguiera excelsa</i> (Willd.) Benth et Hook. f. ex Hemsl	viex	Hierba perenne	379 ± 93 a	20.25 ± 3 A	296 ± 44 b	24.48 ± 2.70 B
<i>Zinnia peruviana</i> (L.) L.	zipe	Hierba anual	270 ± 39 a	22.00 ± 1.7 A	263 ± 67 a	22.09 ± 1.93 A

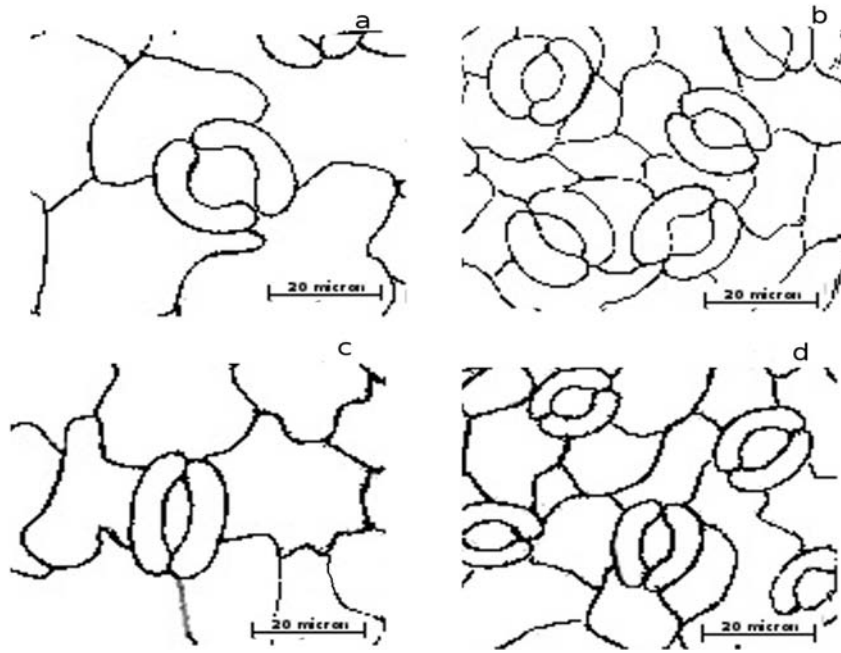


Figura 4. Esquemas de los aparatos estomáticos de cuatro especies de Asteraceae de la REPSA. (a) *Lagascea rigida* (actual). (b) *Verbesina virgata* (actual). (c) *Pittocaulon praecox* (herbario) y (d) *Dahlia coccinea* (herbario).

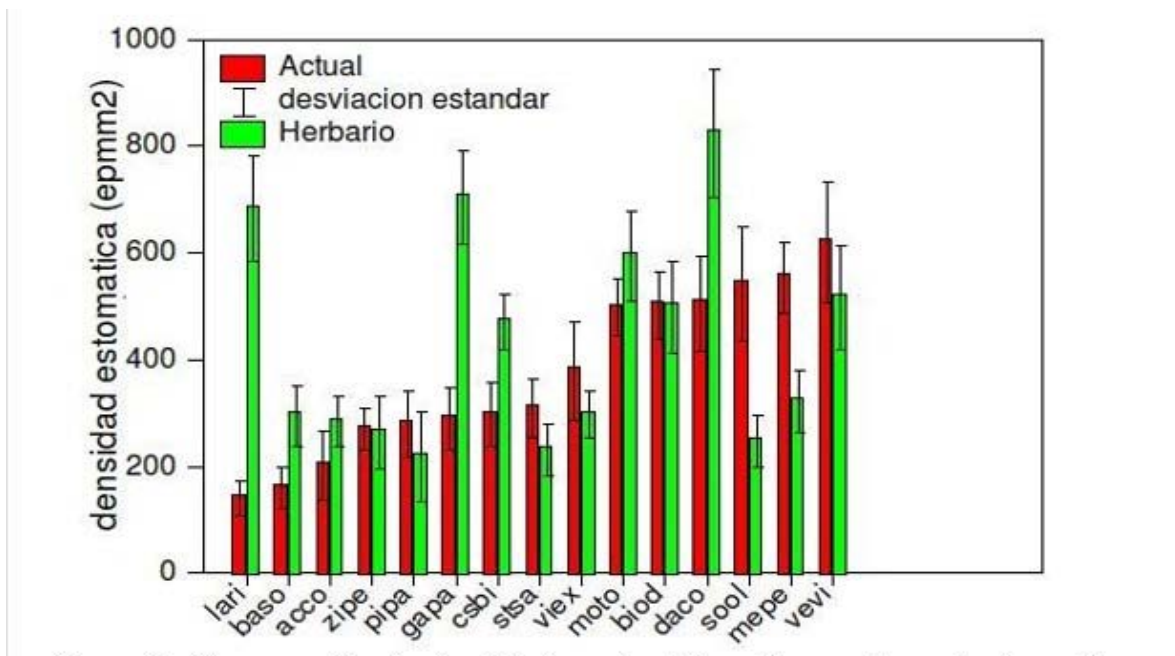


Figura 5. Comparación de densidades estomáticas en especímenes actuales y de herbario por especie. Especies presentadas de menor a mayor densidad de especímenes actuales.

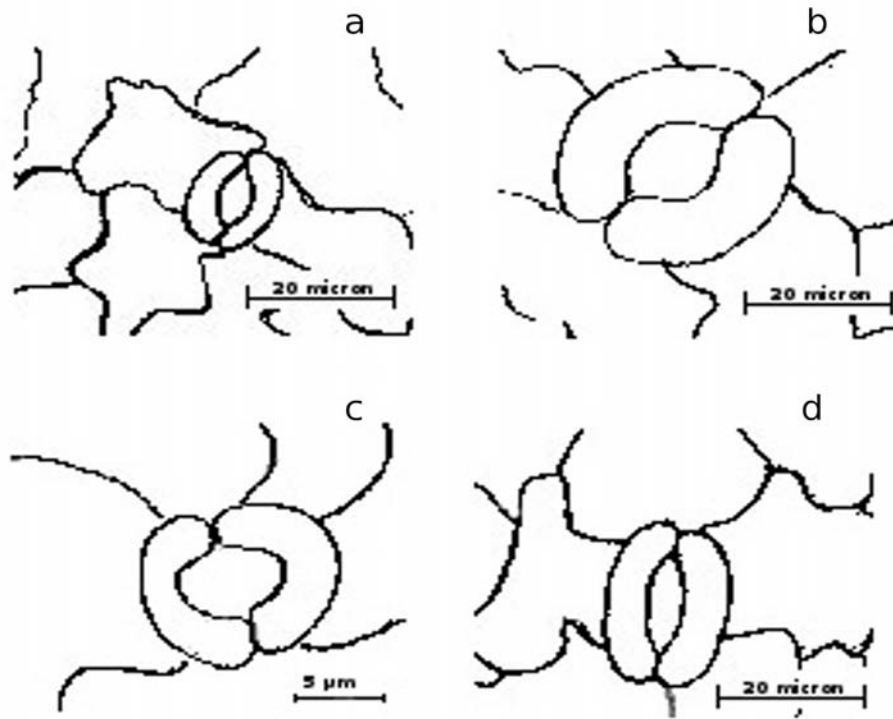


Figura 6. Esquemas de los aparatos estomáticos de tres especies de Asteraceae de la REPSA. (a) *Melampodium perfoliatum* (actual). (b) *Pittocaulon praecox* (actual). (c) *Galinsoga parviflora* (herbario). (d) *Pittocaulon praecox* (herbario).

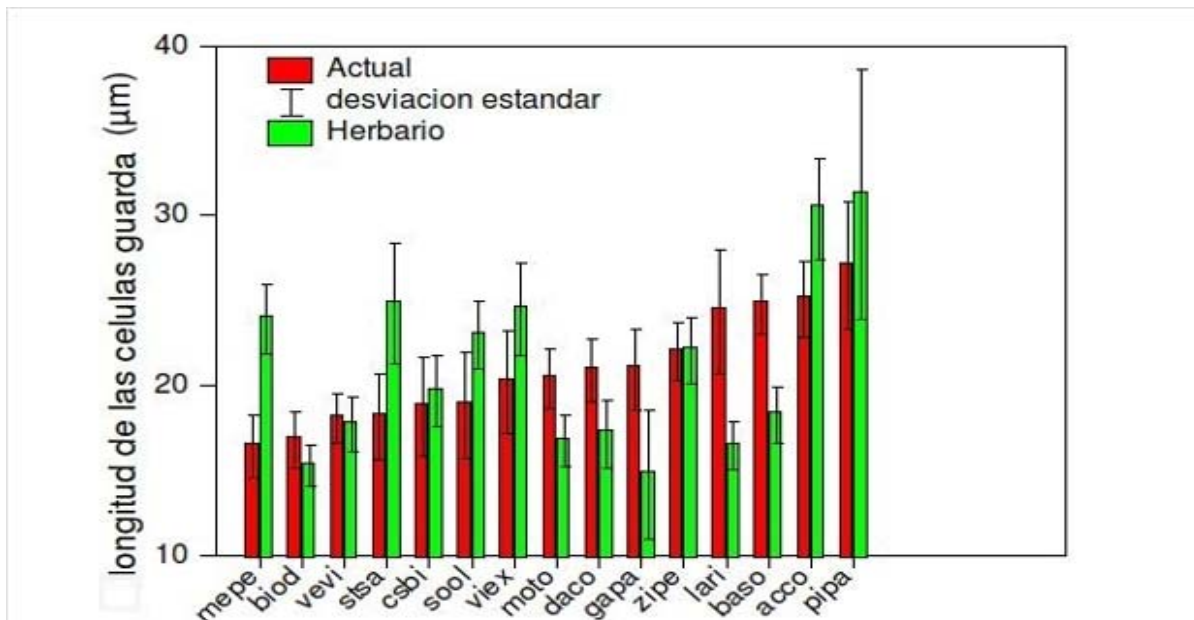
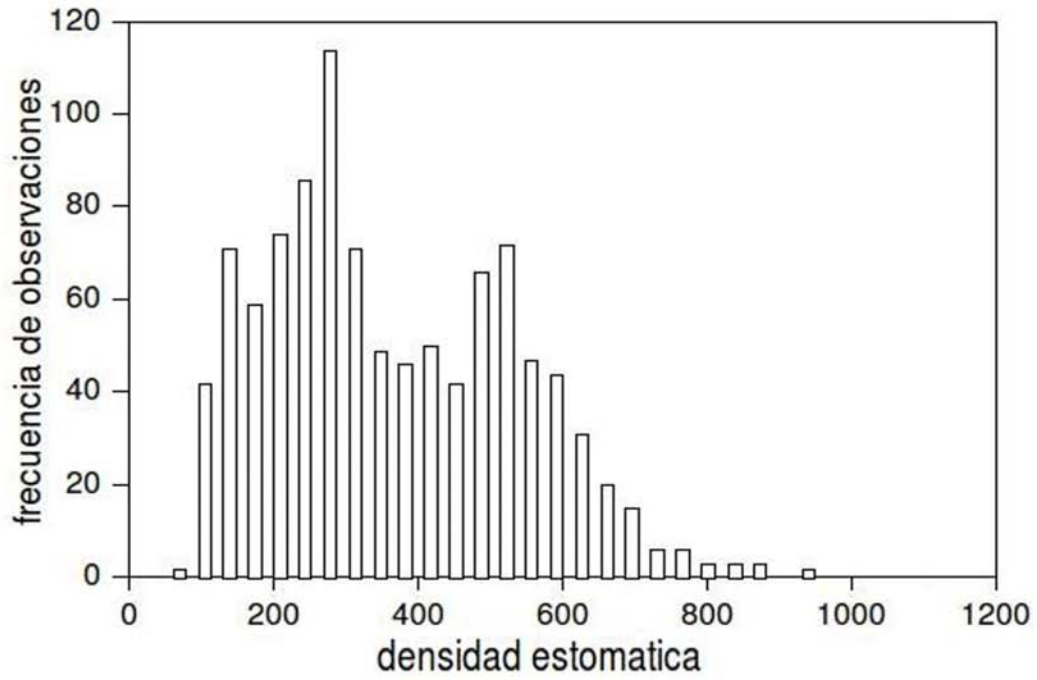


Figura 7. Comparación de la longitud de células guarda de muestras actuales y de herbario por especie. Especies presentadas de menor a mayor longitud de células de ejemplares actuales.



**B**

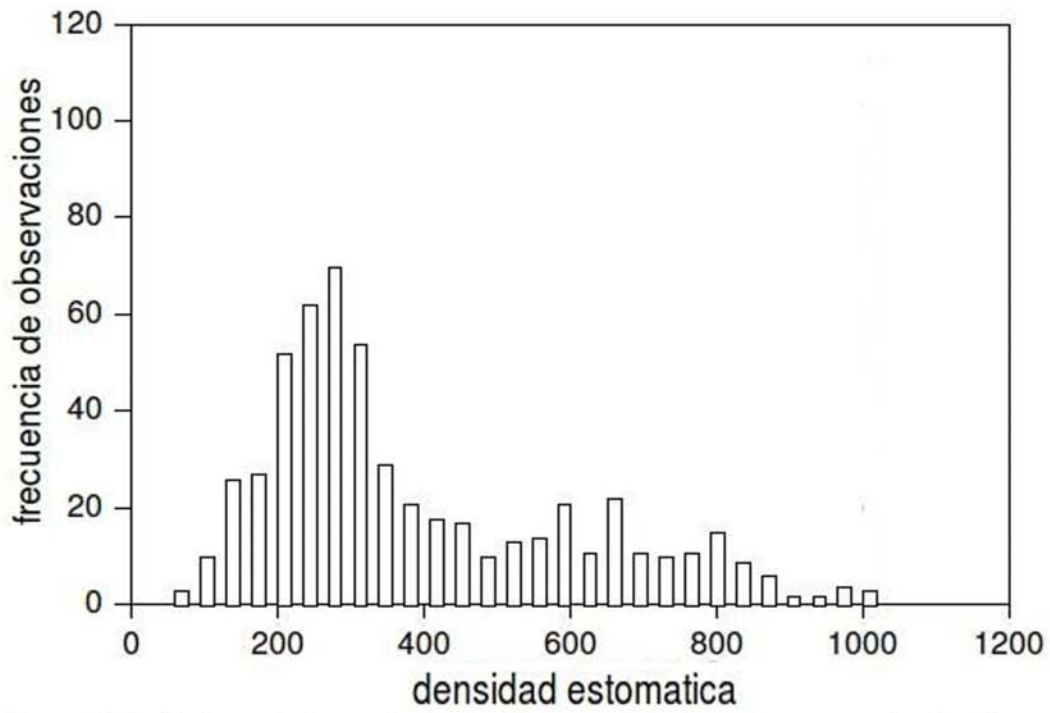


Figura 8. Distribuciones de frecuencia de densidad estomática. (A) Muestras actuales. (B) Muestras de herbario.

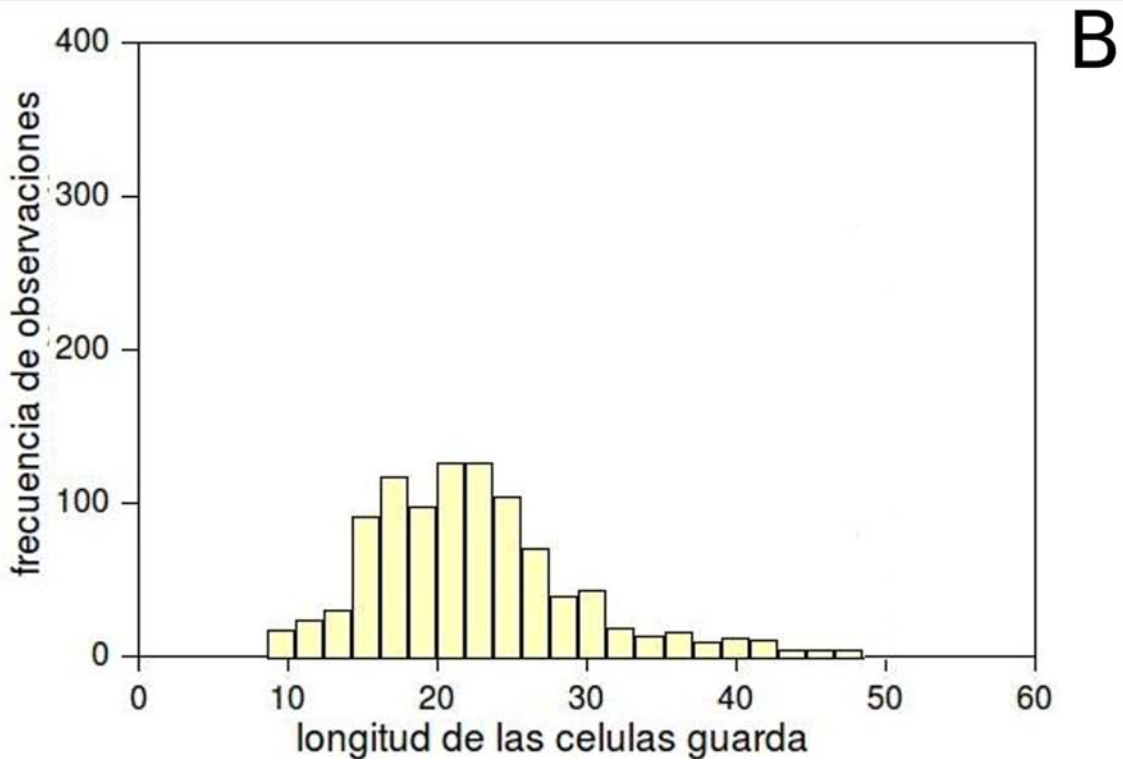
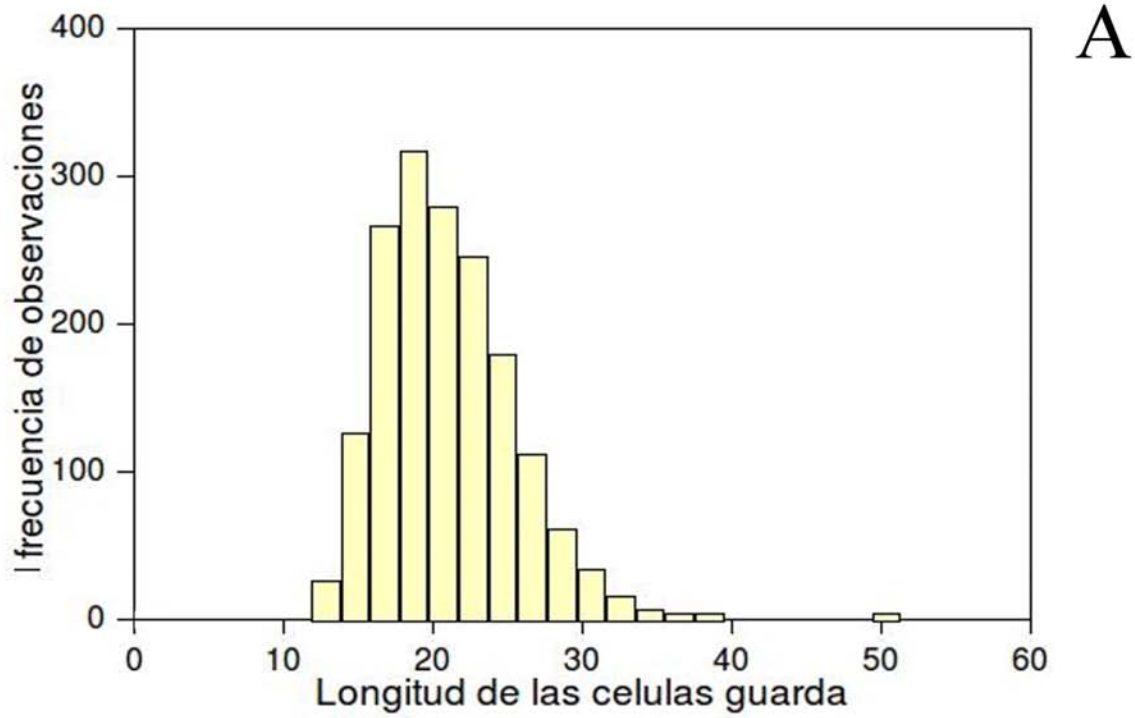


Figura 9. Distribuciones de frecuencia de longitud de las células guarda. (A) Muestras actuales. (B) Muestras de herbario.



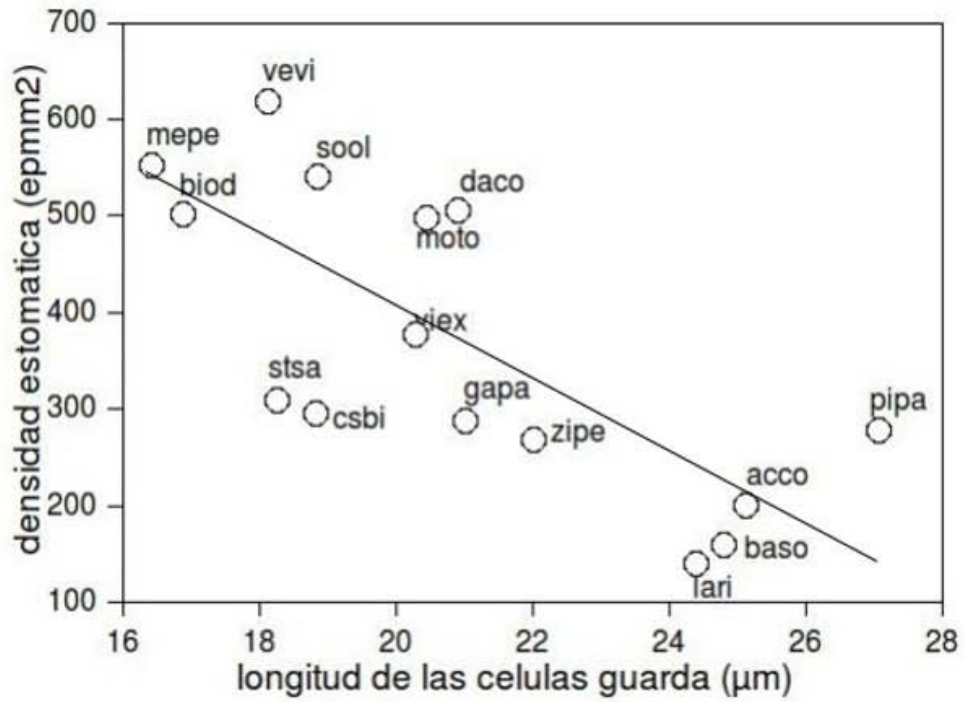


Figura 10. Relación entre la densidad estomática y la longitud de las células guarda en quince especies de Asteraceae de la REPSA.

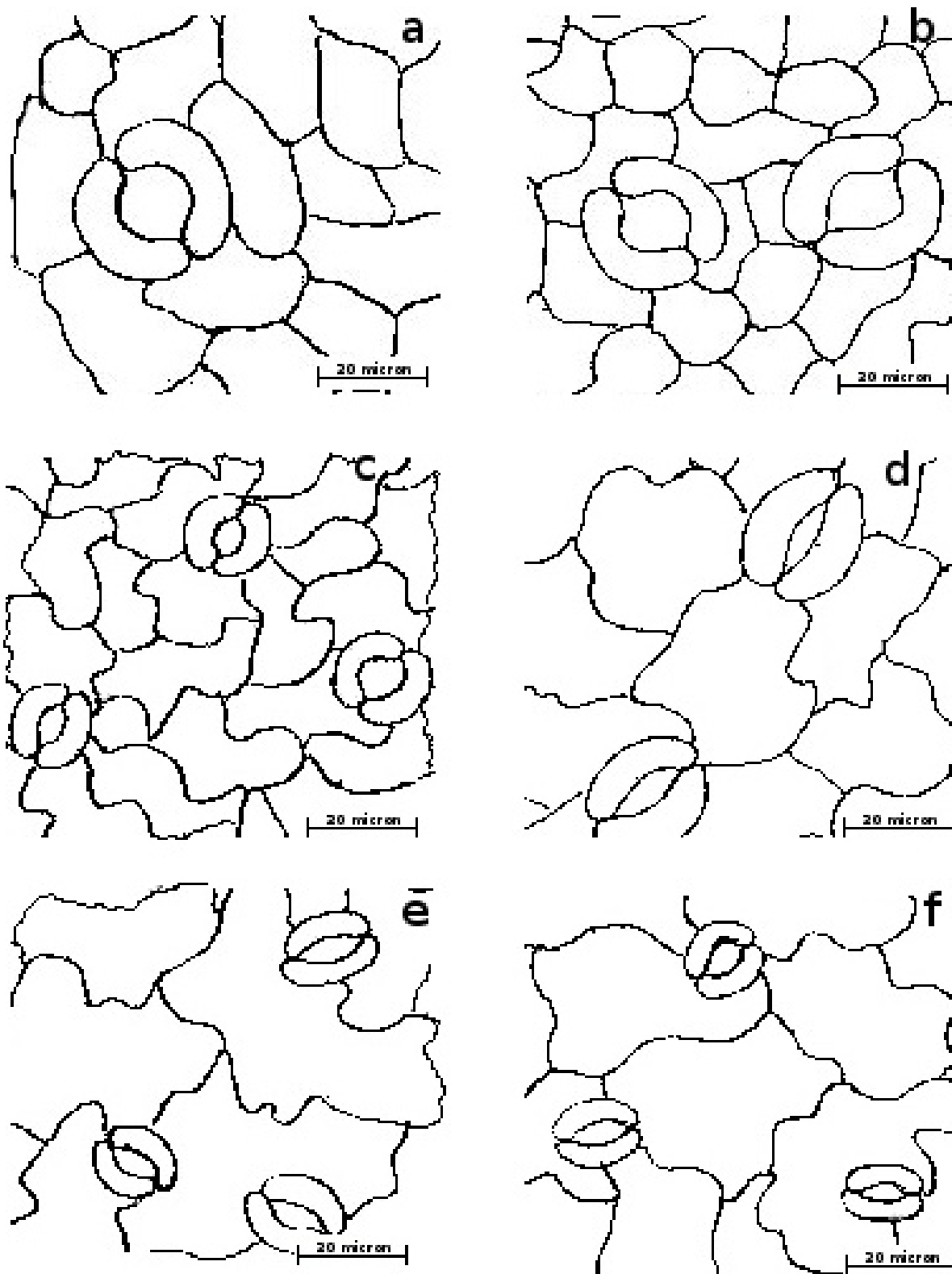


Figura 11. Esquemas de los aparatos estomáticos de tres especies de Asteraceae de la REPSA. Se presentan comparativamente las muestras de herbario (izquierda) y las actuales (derecha). (a,b) *Acourtia cordata*, (c,d) *Baccharis sordescens*, (e,f) *Cosmos bipinnatus*.

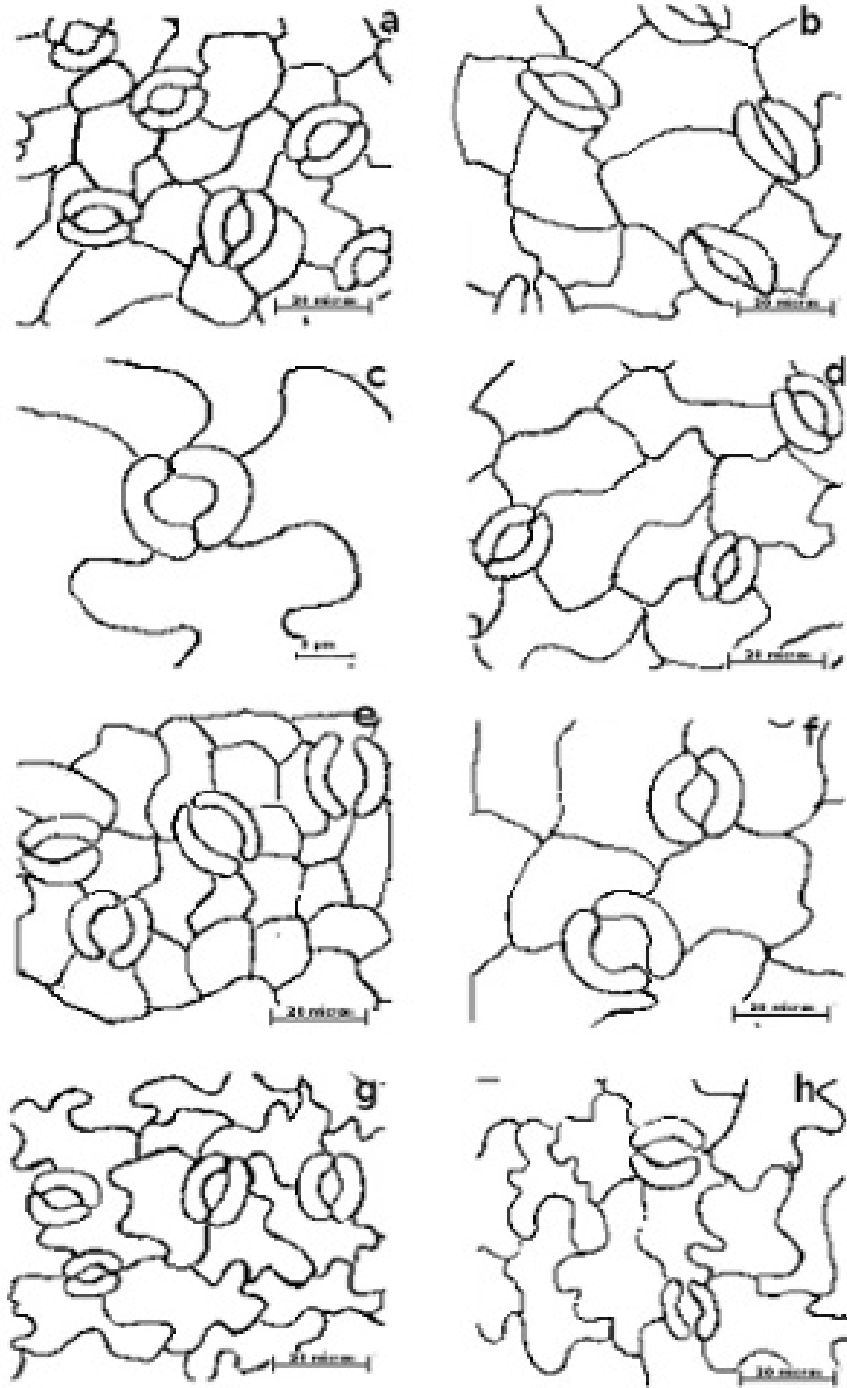


Figura 12. Esquemas de los aparatos estomáticos de cuatro especies de Asteraceae de la REPSA. Se presentan comparativamente las muestras de herbario (izquierda) y las actuales (derecha). (a,b) *Dahlia coccinea*, (c,d) *Galinsoga parviflora*, (e,f) *Lagascea rigida*, (g,h) *Montanoa tomentosa*.

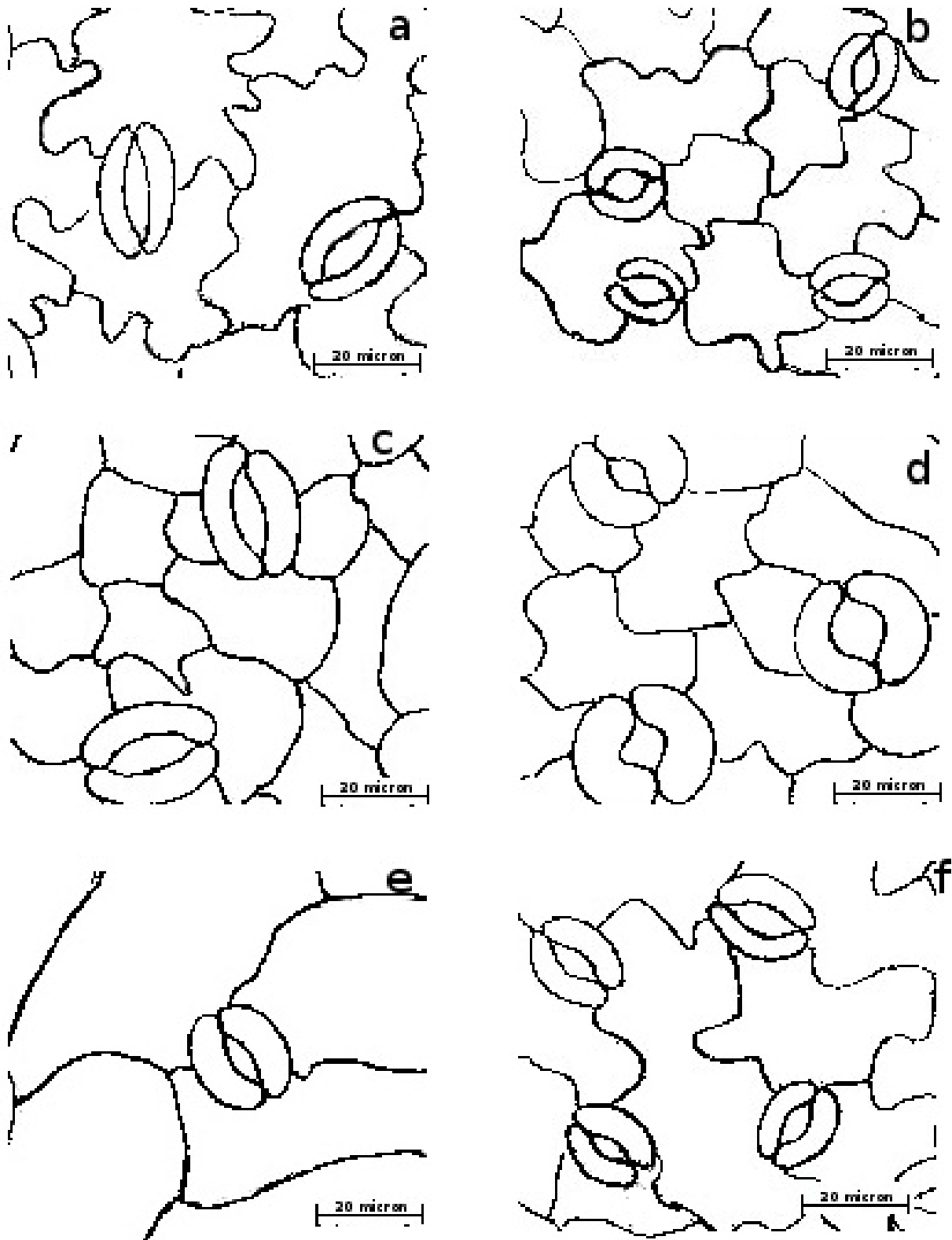


Figura 13. Esquemas de los aparatos estomáticos de tres especies de Asteraceae de la REPSA. Se presentan comparativamente las muestras de herbario (izquierda) y las actuales (derecha). (a,b) *Melampodium perfoliatum*, (c,d) *Pittocaulon praecox*, (e,f) *Sonchus oleraceus*.

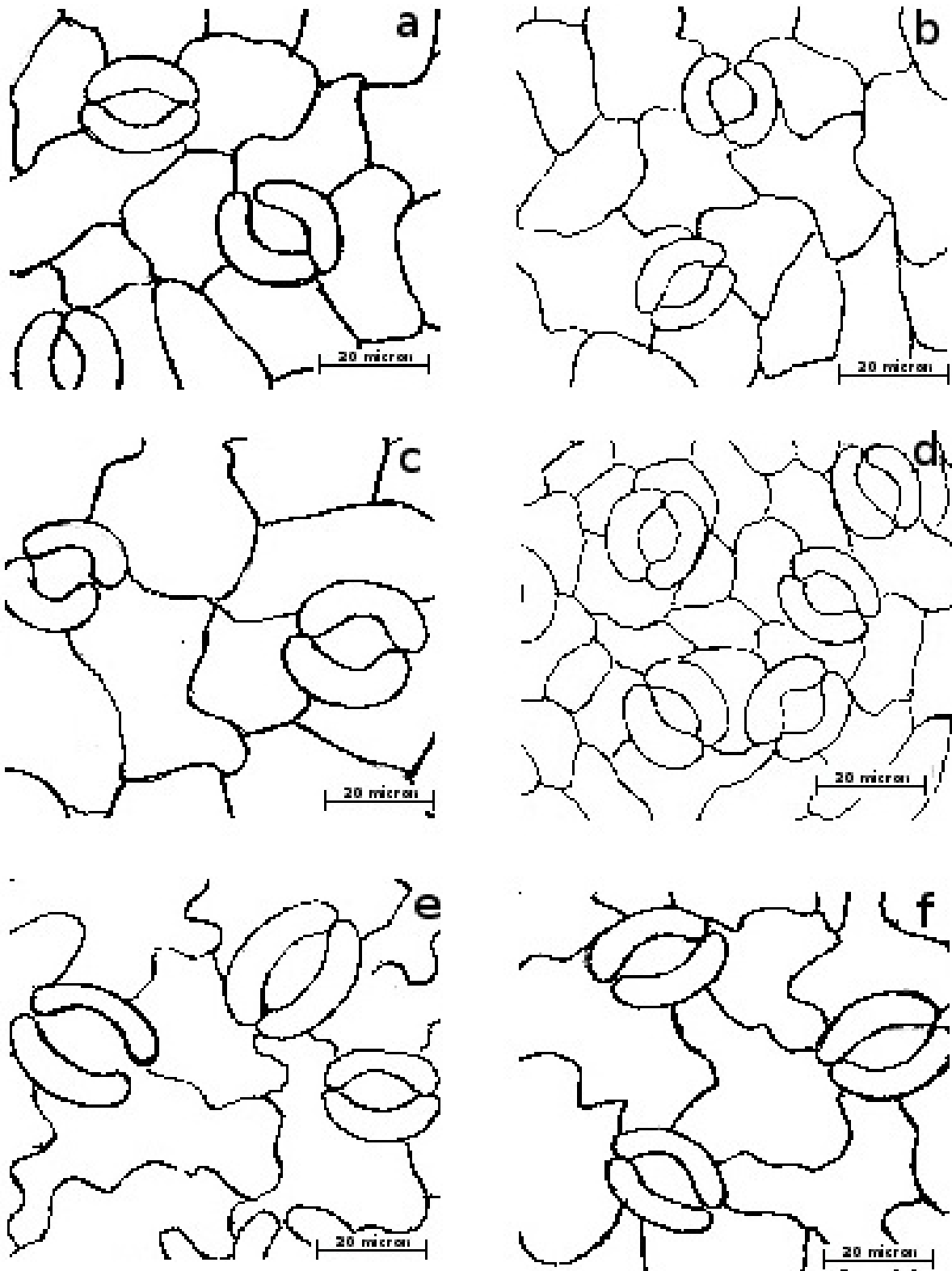


Figura 14. Esquemas de los aparatos estomáticos de tres especies de Asteraceae de la REPSA. Se presentan comparativamente las muestras de herbario (izquierda) y las actuales (derecha). (a,b) *Stevia salicifolia*, (c,d) *Verbesina virgata*, (e,f) *Viguiera excelsa*.

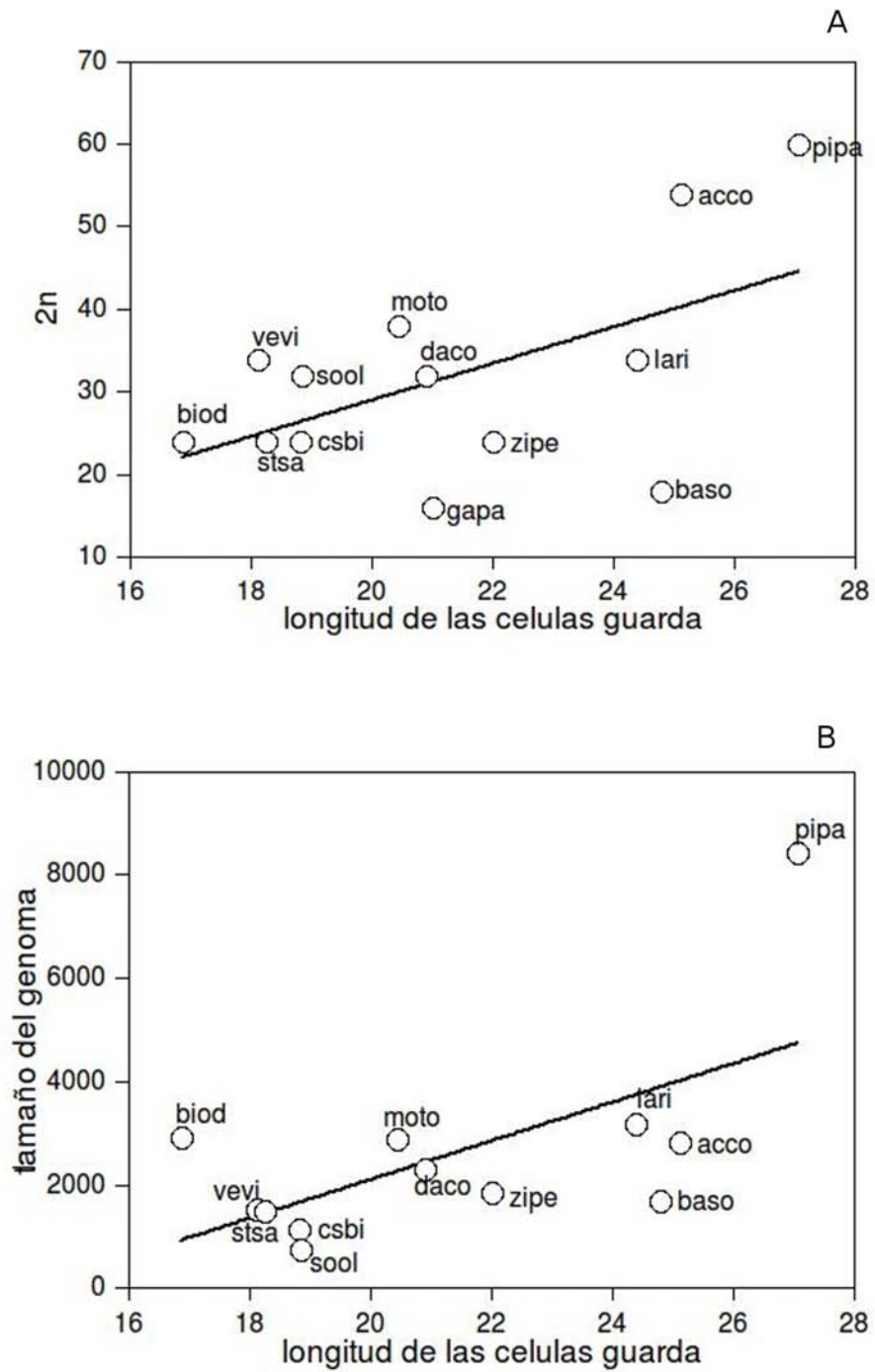


Figura 15. Relación entre la longitud de células guarda y variables citogenéticas. (A) 2n. (B) tamaño del genoma. Los acrónimos utilizados están explicados en el Cuadro 1.

Cuadro 2. Valores de la media para la longitud de células guarda y la densidad estomática de muestras actuales, 2n, contenido de ADN y tamaño del genoma por especie (Valores de 2n tomados de Soto 2007).

Espece	Habito	Longitud actual	Densidad estomática actual	2n	Contenido de ADN (pg)	Tamaño del genoma (mpb)
<i>Acourtia cordata</i>	Hierba perenne	25.09	202	54	5.76	2823
<i>Baccharis sordescens</i>	Arbusto	24.78	160	18	3.44	1686
<i>Bidens odorata</i>	Hierba anual	16.84	502	24	5.97	2925
<i>Cosmos bipinnatus</i>	Hierba anual	18.79	297	24	2.35	1149
<i>Dahlia coccinea</i>	Hierba perenne	20.89	506	32	4.73	2316
<i>Galinsoga parviflora</i>	Hierba anual	20.99	290	16	-	-
<i>Lagascea rigida</i>	Hierba perenne	24.36	141	34	6.47	3172
<i>Melampodium perfoliatum</i>	Hierba anual	16.40	554	.	3.78	-
<i>Montanoa tomentosa</i>	Arbusto o árbol	20.42	498	38	5.91	2894
<i>Pittocaulon praecox</i>	Árbol	27.06	279	60	17.18	8418
<i>Sonchus oleraceus</i>	Hierba anual	18.83	542	32	3.03	742
<i>Stevia salicifolia</i>	Arbusto	18.22	310	24	3.19	1513
<i>Verbesina virgata</i>	Arbusto	18.10	620	34	3.15	1544
<i>Viguiera excelsa</i>	Arbusto	20.25	379	.	15.02	-
<i>Zinnia peruviana</i>	Hierba anual	22.00	270	24	3.8	1864

## **Análisis de varianza**

El análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas para la densidad estomática entre las especies de plantas actuales y las provenientes de herbario ( $F=29.15$ , g.l. 29,  $p < 0.0001$ ,  $N = 63$ ). Por otra parte el análisis de comparación de medias (Tukey) mostró que también hay diferencias significativas en la densidad estomática de las muestras actuales y las procedentes de herbario para trece de las quince especies estudiadas (Cuadro 1). En siete especies (*Acourtia cordata*, *Baccharis sordescens*, *Cosmos bipinnatus*, *Dahlia coccinea*, *Galinsoga parviflora*, *Lagascea rigida* y *Montanoa tomentosa*) se observó una disminución de la densidad estomática (Cuadro 1, Figuras 5, 11-12), mientras que en *Melampodium perfoliatum*, *Pittocaulon praecox*, *Sonchus oleraceus*, *Stevia salicifolia*, *Verbersina virgata* y *Viguiera excelsa* se observó un aumento de la densidad (Cuadro 1, Figuras 5, 13-14). Para el caso de la longitud de las células guarda, también se encontraron diferencias significativas entre las plantas actuales y las procedentes de herbario ( $F=4.97$ , g.l. 29,  $p < 0.0001$ ,  $N = 63$ ). Doce especies tuvieron diferencias significativas entre las medias de las muestras de herbario y las actuales (Cuadro 1). En este caso, seis especies (*A. cordata*, *M. perfoliatum*, *P. praecox*, *S. oleraceus*, *S. salicifolia* y *V. excelsa*) tuvieron una disminución en la longitud de sus células guarda, y seis especies (*B. sordescens*, *D. coccinea*, *G. parviflora*, *L. rigida*, *M. tomentosa* y *V. virgata*) presentaron un aumento en la longitud (Figuras 7, 11-14).

## **Análisis de correlación y regresión**

Existe una asociación negativa y significativa entre la densidad estomática y la longitud de las células guarda ( $-0.69$ ,  $p < 0.0001$ , Figura 10). Es decir, mientras menor sea la longitud de las células guarda, mayor densidad de estomas habrá en la superficie foliar. Por ejemplo, en *Melampodium perfoliatum* se encontraron células guarda de poco más de  $16 \mu\text{m}$  de longitud y una densidad estomática de cerca de  $550 \text{ e}/\text{mm}^2$ , comparado con *Pittocaulon praecox* que tuvo  $27 \mu\text{m}$  de longitud en las células guarda, es decir más grandes que los de la primera especie, pero tuvo una densidad estomática de  $279 \text{ e}/\text{mm}^2$ , menor que la de *M. perfoliatum* (Figura 10). Se encontraron también especies aberrantes que no presentan el comportamiento esperado, dada la correlación entre las variables; tal es el caso de *Cosmos bipinnatus* y *Stevia salicifolia*, que presentaron una longitud de



células guarda pequeña y baja densidad estomática (Cuadro 1, Figura 10).

Esta correlación queda bien ejemplificada al comparar las muestras actuales con las de herbario puesto que aquellas especies en las que ocurrió un aumento en la densidad estomática de los ejemplares de herbario con respecto a los actuales, experimentaron también una disminución en la longitud de las células guarda y viceversa. Por ejemplo, *Melampodium perfoliatum* y *Stevia salicifolia* tuvieron una disminución en la longitud de las células guarda pero un aumento en la densidad estomática. *Baccharis sordescens* y *Lagascea rigida* representaron el caso contrario, pues tuvieron un aumento en la longitud de las células guarda pero una disminución en la densidad (Cuadro 1).

Se encontró una correlación positiva y significativa entre la longitud de las células guarda y  $2n$  (0.57,  $p < 0.0001$ ) (Figura 15 A), el contenido de ADN (0.42,  $p < 0.0001$ ) y el tamaño del genoma (0.52,  $p < 0.0001$ ) (Figura 15 B, Cuadro 2). La regresión mostró que 18% de la variación se puede explicar por la longitud de las células guarda y es altamente significativa ( $R^2 = 0.18$ ,  $p > 0.0008$ ,  $n=15$ ).

La densidad estomática se encontró correlacionada de forma baja pero significativa con el contenido de ADN (-0.14,  $p < 0.0001$ ),  $2n$  (-0.13,  $p < 0.0001$ ) y el tamaño del genoma (-0.17,  $p < 0.001$ ). También se encontró una correlación negativa baja (-0.19,  $p < 0.0001$ ) entre el hábito de la planta y la densidad estomática; así los arbustos y árboles tienden a tener los valores de densidad estomática más bajos, mientras que en las hierbas anuales y perennes se tienen densidades mayores. El hábito se correlacionó significativamente con la longitud de las células guarda (0.29,  $p < 0.0001$ ), con el número  $2n$  (0.38,  $p < 0.0001$ ), con el contenido de ADN (0.55,  $p < 0.0001$ ) y con el tamaño del genoma (0.54,  $p < 0.0001$ ).

## Discusión

En este trabajo se reportan por primera vez el tipo de estomas, la densidad estomática y la longitud de células guarda para 14 especies de Asteraceae presentes en México: *Accourtia cordata*, *Baccharis sordescens*, *Bidens odorata*, *Cosmos bipinnatus*, *Dahlia coccinea*, *Lagascea rigida*, *Melampodium perfoliatum*, *Montanoa tomentosa*, *Pittocaulon praecox*, *Stevia salicifolia*, *Verbesina virgata*, *Viguiera excelsa* y *Zinnia peruviana*. Además es el primer reporte sobre la densidad estomática y longitud de células guarda para *Sonchus oleraceus* y el primer reporte de longitud de células guarda para *Galinsoga parviflora*.

El tipo de estomas encontrado en las especies estudiadas es anomocítico, que es la forma más común registrada para las Asteráceas (Metcalf y Chalk, 1979; Lapp et al., 2004; Milán et al., 2006; Delbón et al., 2007; Zarinkamar, 2007; Adedeji y Jewoola, 2008).

La densidad estomática abaxial reportada para otras Asteraceae está entre 21 estomas por mm<sup>2</sup> para *Zinnia violacea* (Rai et al., 2010) y 409 estomas por mm<sup>2</sup> en *Centaurea zavandica* (Zarinkamar, 2007). Los valores de densidad que se encontraron en la REPSA van de 141 estomas por mm<sup>2</sup> en *Lagascea rigida* a 620 estomas por mm<sup>2</sup> en *Verbesina virgata*. La mayoría de las especies estudiadas presentó valores medios de densidad estomática dentro de la amplitud registrada para la familia, pero en seis especies se encuentra por encima. Las densidades reportadas para otras especies de los géneros *Bidens* y *Sonchus* (Ferreira et al., 2002; Apéndice 2), también son menores a las encontradas en este estudio. Lo mismo ocurre con la densidad reportada para *Galinsoga parviflora* (Procópio et al., 2003; Apéndice 2). Probablemente esta diferencia sea debida a que dichos reportes son de plantas colectadas en campos de cultivo de localidades brasileñas que seguramente están menos contaminados (y tienen menores concentraciones de CO<sub>2</sub> atmosférico) que la REPSA.

La longitud media de estomas reportada para otras Asteraceae es de 29.51 µm, con una longitud mínima de 17.37 µm y una máxima de 70.79 µm (Hodgson et al., 2010). Los valores encontrados en este estudio van de 16.4 µm en *Melampodium perfoliatum* a 27.06 µm en *Pittocaulon praecox*. La longitud de las células guarda de *Baccharis sordescens* concuerda con la reportada para otras especies del género (Freire et al., 2007). En el caso de las especies de los géneros *Bidens*, *Sonchus* y *Verbesina*, las longitudes para la REPSA son menores a las reportadas por Freire et al. (2005) para Argentina. Las longitudes encontradas para la 15 especies de la REPSA se pueden considerar como ligeramente

pequeñas en comparación con otras Asteráceas. Esto concuerda con lo que se señala en la literatura (Hetherington y Woodward, 2003; Hodgson et al., 2010) acerca de que los estomas pequeños tienden a mostrar mayor eficiencia de uso de agua y dado que las especies estudiadas se encuentran en un hábitat seco, tienden a tener estomas pequeños.

## **Variación**

Chen et al. (2001) consideran que la densidad estomática es un carácter sensible al estado de maduración de la hoja. Debido a que en este estudio se examinaron solamente hojas maduras de cada una de las 15 especies, se puede afirmar que la variación aquí registrada es propia de cada especie y no está asociada al estado de maduración de la hoja. Además todas están expuestas a las mismas condiciones macroambientales, como son una temperatura media anual de 15.6° C y una precipitación media anual de 833 mm (Valiente Banuet y de Luna, 1990; Castillo Argüero et al., 2007) en el matorral xerófilo sensu Rzedowski (1954).

La variación encontrada entre las quince especies puede representar parte de la amplitud de la variación en la densidad estomática propia de cada género o posiblemente está asociada a otros factores, como el efecto de la concentración del CO<sub>2</sub> atmosférico (Lake et al., 2001; Woodward y Lake, 2008) o el efecto del tamaño del genoma (Beaulieu et al., 2008; Hodgson et al., 2010) como se discutirá más adelante.

El patrón de variación de la densidad estomática y la longitud de las células guarda difiere entre ejemplares actuales y otros recolectados en la REPSA hace aproximadamente 40 años (Figuras 8, 9). Se aprecia que en las plantas actuales hay una tendencia a homogeneizar sus aparatos estomáticos. Esto se confirma con los coeficientes de variación obtenidos tanto para densidad estomática como para la longitud de las células guarda de los ejemplares actuales y los ejemplares de herbario. Así, la densidad estomática y la longitud de las células guarda de los ejemplares de herbario fue de 53.69 y 27.68, respectivamente. Esta variación es mayor que la registrada para las muestras actuales, cuyos coeficientes de variación fueron de 46.45 para la densidad estomática y 19.17 para la longitud de las células guarda. Estos resultados apoyan las observaciones de Eckerson (1908) de que el tamaño de los estomas es menos variable que su número.

## Variación con respecto al CO<sub>2</sub>

Las respuestas de diferentes especies a los incrementos en la concentración atmosférica de CO<sub>2</sub>, son variables tanto en intensidad como en dirección (Ferris y Taylor, 1994; Bettarini et al., 1998; Tricker et al., 2005). En este estudio, se encontraron los tres casos reportados en la literatura para plantas expuestas a concentraciones elevadas de CO<sub>2</sub>: disminución de la densidad, aumento de la densidad y especies sin cambios.

Los resultados obtenidos mostraron que en siete especies (*Acourtia cordata*, *Baccharis sordescens*, *Cosmos bipinnatus*, *Dahlia coccinea*, *Galinsoga parviflora*, *Lagascea rigida* y *Montanoa tomentosa*) se redujo la densidad estomática. Estos resultados apoyan las propuestas de que la tendencia general de las plantas expuestas a concentraciones elevadas de CO<sub>2</sub> es reducir su densidad estomática (Woodward, 1987; Penuelas y Matamala, 1990; Woodward y Kelly, 1995; Woodward et al., 2002, Woodward y Lake, 2008) y además en cinco de esas especies, la disminución de la densidad estomática se vio acompañada de un aumento en la longitud de las células guarda. Las dos especies que no aumentaron la longitud de sus células fueron *A. cordata* y *C. bipinnatus*. En *A. cordata* ocurrió una disminución de la longitud de las células guarda y en *C. bipinnatus* la longitud de las células guarda se mantuvo igual a través del tiempo. El comportamiento anómalo de *A. cordata* puede deberse a que la longitud de sus estomas ya es grande (25.09 µm) y su genoma no le permite aumentar más su tamaño celular. Por otra parte *C. bipinnatus* tiene estomas pequeños y un genoma pequeño que difícilmente le permitiría aumentar su tamaño celular.

En seis especies (*Melampodium perfoliatum*, *Pittocaulon praecox*, *Sonchus oleraceus*, *Stevia salicifolia*, *Verbesina virgata* y *Viguiera excelsa*) se observó un aumento en la densidad en respuesta a los cambios de CO<sub>2</sub> atmosférico; este aumento se acompañó con una reducción en la longitud de las células guarda. Estos resultados apoyan los reportes del que el aumento de densidad estomática es una respuesta al aumento de CO<sub>2</sub> atmosférico en especies de diferente forma de crecimiento (Ferris y Taylor, 1994).

Dada la correlación negativa entre longitud de las células guarda y la densidad estomática, se esperaba que las especies que aumentaron su densidad, disminuyeran su longitud y viceversa. En *Melampodium perfoliatum*, *Pittocaulon praecox*, *Sonchus oleraceus*, *Stevia salicifolia* y *Viguiera excelsa*, se observó un aumento en la densidad, acompañado de una disminución de la longitud,

mientras que en *Baccharis sordescens*, *Dahlia coccinea*, *Galinsoga parviflora*, *Lagascea rigida* y *Montanoa tomentosa* se registró una disminución de la densidad estomática y se observó el esperado aumento de longitud.

Las relaciones entre tamaño del genoma y longitud de las células (escalamiento positivo), tamaño del genoma y densidad estomática (escalamiento negativo) y longitud de las células guarda y densidad estomática (escalamiento negativo) reportadas para otras angiospermas (Eckerson, 1908; Masterson, 1994; Hetherington y Woodward, 2003; Beaulieu et al., 2008; Loranger y Shipley, 2010) quedan confirmadas para las especies estudiadas. No sólo eso, sino que los resultados confirman las afirmaciones de otros autores de que hay relaciones complejas entre los rasgos foliares, el genoma de la planta y el ambiente, que hacen que los efectos ambientales y genéticos que inciden sobre una característica afecten a otra (Dimitrova y Yurukova, 2005; Loranger y Shipley, 2010).

De acuerdo con Bettarani et al. (1998) los estomas pueden responder a elevaciones en las concentraciones de CO<sub>2</sub> atmosférico en el largo plazo, respuesta que no necesariamente está asociada a un cambio en el número y distribución de sus estomas. Tal podría ser el caso de *Bidens odorata* y *Zinnia peruviana*, especies donde no se registró ninguna modificación en el aparato estomático. Ambas son hierbas anuales que se encuentran principalmente durante la época de lluvias, por lo que podríamos atribuir la aparente falta de respuesta a que al desarrollarse durante la época de lluvias se ven expuestas a concentraciones menores de CO<sub>2</sub> atmosférico. Sin embargo, podrían estar respondiendo a los contaminantes atmosféricos mediante modificaciones fisiológicas como por ejemplo en la conductancia estomática, por lo que es necesario realizar estudios de tipo fisiológico en estas dos especies.

## **Citología**

Los resultados obtenidos en este estudio apoyan las propuestas recientes sobre la relación positiva entre el tamaño de las células guarda y el tamaño del genoma en las angiospermas (Beaulieu et al., 2008; Hodgson et al., 2010) y la relación negativa entre el tamaño del genoma y la densidad estomática (Beaulieu et al., 2008).

De las plantas incluidas en este estudio, al menos *Acourtia cordata* (n= 27), *Dahlia coccinea* (n= 16), *Lagascea rigida* (n= 17), *Montanoa tomentosa* (n= 19), *Pittocaulon praecox* (n= 30) y *Verbesina virgata* (n= 17), presentan números cromosómicos haploides altos, con posible poliploidía ancestral, rasgo que se sugiere como una característica importante para el éxito de estas especies

dominantes en el ecosistema de la Reserva (Soto, 2007). De acuerdo con Soto (2007), la poliploidía ha sido un factor importante en la colonización, establecimiento y dominancia de la flora de Asteraceae de la REPSA, puesto que presentan atributos genéticos y genómicos como mayor heterocigocidad y menor depresión por endogamia, que les confieren ventajas adaptativas. Este podría ser también el caso de *Pittocaulon praecox* que tiene el mayor tamaño de genoma y el mayor número cromosómico.

La relación encontrada entre la longitud de las células guarda y el tamaño del genoma para la 15 especies estudiadas ( $r^2= 0.18$ ,  $p> 0.0008$ ) es menor a la reportada por Hodgson et al. (2010) para otras angiospermas ( $r^2= 0.36$ ,  $p< 0.001$ ,  $n=446$ ) y para Eudicotiledóneas ( $r^2= 0.26$ ,  $p< 0.001$ ,  $n= 326$ ), pero es mayor que la reportada por los mismos autores para Asteraceae ( $r^2= 0.08$ ,  $p<0.05$ ,  $n= 51$ ). Hodgson et al. (2010) indican además la asociación entre la longitud de las células guarda y el tamaño del genoma para dos tribus de Asteraceae (Anthemideae y Lactuceae), siendo ( $r^2= 0.18$ ) mayor que la reportada para Anthemideae, pero menor que para Lactuceae. Obtener los valores del tamaño del genoma y la longitud de las células guarda para todas las especies de Asteraceae de REPSA permitirá evaluar si existe variación o se mantienen dentro de los valores registrados a nivel mundial para la familia por Hodgson et al. (2010).

## **Hábito**

Dadas las correlaciones obtenidas en este estudio, las hierbas tienden a tener una mayor densidad estomática y estomas más pequeños que los árboles que tienen menos estomas pero más grandes. Esto contradice lo propuesto por Beaulieu et al. (2008) para otras angiospermas (incluyendo algunas asteráceas de hábito herbáceo), quienes mencionan que los árboles tienen el menor tamaño celular y la densidad estomática más alta. Sin embargo, confirma la existencia de una relación entre los rasgos foliares (longitud de las células guarda y densidad estomática) y el hábito de la planta. Por otra parte, las variables citogenéticas mostraron tener una relación altamente significativa con el hábito, con lo cual se confirman también las propuestas de que el tamaño del genoma es uno de los componentes importantes de la historia y forma de vida de las plantas (Ohri, 2005; Beaulieu et al., 2008; Hodgson et al., 2010).

Beaulieu et al. (2008) señalan que el tamaño del genoma está relacionado con la densidad estomática y el tamaño del estoma y el hábito de de las plantas. De esta forma, el componente genético

juega un papel importante en la determinación de la historia ecológica y la forma de vida de las especies, al predisponer mediante cambios en los rasgos foliares de la planta a una estrategia ecológica y un hábito particular. En la muestra de 15 especies de Asteraceae con cuatro hábitos distintos no fue posible relacionar los valores mínimos, medios, ni máximos a ningún hábito en particular, ni encontrar un patrón claro que confirme lo arrojado por el análisis de correlación. Es importante no perder de vista que el hábito no es un carácter aislado, pues como lo muestran los resultados, está relacionado con otros atributos de la planta y en conjunto están sujetos a diversas presiones ambientales y ecológicas. Es necesaria una muestra de mayor tamaño por cada hábito para evidenciar, tanto la relación entre hábito y densidad estomática, como la dirección del patrón de dicha relación que siguen las Asteráceas.

## Conclusiones

El estudio del aparato estomático es complejo, debido a las distintas variables ambientales, genéticas y de desarrollo que afectan su anatomía. El aparato estomático de las Asteraceae se ha descrito como muy diverso y en este trabajo se demuestra dicha diversidad.

El estudio comparativo de muestras de herbario y actuales de la misma especie permitió evidenciar que en las plantas actuales hay una tendencia a homogeneizar sus aparatos estomáticos a lo largo del tiempo. La variación observada en plantas de la REPSA no se puede atribuir a modificaciones en características ambientales determinadas por la posición geográfica o a cambios edáficos, por lo que es razonablemente atribuible a modificaciones en los cambios atmosféricos que se han presentado en la cuenca de México al contener una megaciudad.

La mayoría de las especies estudiadas respondió al aumento de CO<sub>2</sub> atmosférico con una disminución en su densidad estomática como lo reportado en la literatura. Sin embargo, se encontró que algunas especies aumentaron su densidad estomática y, en una menor proporción (dos especies) no ocurrieron cambios. Siendo las Asteráceas un grupo tan diverso, no es de extrañar encontrar tal diversidad en las respuestas a las concentraciones de CO<sub>2</sub>.

Quedan plenamente confirmadas para este grupo particular de plantas de la REPSA, las relaciones entre tamaño del genoma y la longitud de las células guarda y la densidad estomática, propuestas por diversos autores para las angiospermas. Con ello cual se manifiesta la importancia del componente genético en el éxito de este grupo taxonómico dentro del ecosistema de la REPSA. Dadas estas relaciones, se sugiere que las especies con genomas grandes y números cromosómicos altos tienen células guarda con longitudes grandes y bajas densidades estomáticas.

Las correlaciones significativas entre longitud de las células guarda y contenido de ADN; longitud de las células guarda y ploidía y longitud de las células guarda y tamaño del genoma apoyan los patrones propuestos para otras angiospermas. Las correlaciones entre densidad estomática y las variables citogenéticas, aunque bajas, también son significativas, e indican que el componente genético ha sido un factor importante para la adaptación de las Asteraceae a los cambios atmosféricos que han experimentado durante los últimos cuarenta años las plantas de la REPSA.

Además se confirman las relaciones entre el hábito, la densidad estomática, la longitud de las



células guarda, el contenido de ADN y el tamaño del genoma, lo cual es indicativo de que el genoma, a través de los rasgos foliares, puede predisponer a las plantas a ciertas estrategias ecológicas y formas de vida. Por lo tanto, el estudiar a los otros representantes de Asteraceae en la REPSA permitirá confirmar estos resultados.

Con esto se abren nuevas perspectivas de investigación, pues seguramente otros grupos de plantas experimentaron cambios similares en la REPSA y los cambios registrados seguramente se acompañan con cambios fisiológicos y ecológicos.

## **Bibliografía**

- Adedeji, O. y O. A. Jewoola. 2008. Importance of leaf epidermal characters in the Asteraceae family. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 36: 7-16.
- Al Afas, N., N. Marron y R. Ceulemans. 2007. Variability in *Populus* leaf anatomy and morphology in relation to canopy position, biomass production and varietal taxon. *Annals of Forest Science* 64: 521-532.
- Andrés-Hernández R. y T. Terrazas. 2006. Anatomía foliar y del pecíolo del género *Rhus* s.str. (Anacardiaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 78: 95-106.
- Anssour, S., T. Krügel, T. F. Sharbel, H. P. Saluz, G. Bonaventure y I. T. Baldwin. 2009. Phenotypic, genetic and genomic consequences of natural and synthetic polyploidization of *Nicotiana attenuata* and *Nicotiana obtusifolia*. *Annals of Botany* 103: 1207-1217.
- Antonio-Garcés, J. I. 2008. Restauración ecológica de la zona de amortiguamiento ocho de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel D.F. (México). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM. 58 pp.
- Araújo, J. S., A. A. Azevedo, L. C. Silva y R. M. Meira 2010. Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 16 species of Malpighiaceae found in the Cerrado area (Brazil). *Plant Systematics and Evolution* 286: 117-131.
- Avramov, S., D. Pemac y B. Tucic. 2007. Phenotypic plasticity in response to an irradiance gradient in *Iris pumila*: adaptative value and evolutionary constraints. *Plant Ecology* 190: 275-290.
- Banerjee, G. y B. D. Deshpande. 1973. Foliar venation and leaf histology of certain members of Compositae. *Flora* 162: 529-532.
- Baranova, M. 1992. Principles of comparative stomatographic studies of flowering plants. *The Botanical Review* 58: 49-99.
- Barthlott, W., C. Neinhuis, D. Cutler, F. Ditsch, I. Meusel, I. Theisen y H. Wilhelmi. 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Botanical Journal of the Linnean Society* 126: 237-260.
- Beaulieu, J. M., I. J. Leitch, S. Patel, A. Pendharkar y C. A. Knight. 2008. Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. *New Phytologist* 179: 975-986.

- Beck, C. 2005. An introduction to plant structure and development. Cambridge University Press. New York. 431 pp.
- Beerling, D. J. y W. Chaloner. 1992. Stomatal density as an indicator of atmospheric CO<sub>2</sub> concentration. *The Holocene* 2: 71-78.
- Beerling, D. J. y D. L. Royer. 2002. Reading a CO<sub>2</sub> signal from fossil stomata. *New Phytologist* 153: 387-397.
- Bettarini, I., F. P. Vaccari y F. Miglietta. 1998. Elevated CO<sub>2</sub> concentrations and stomatal density: observations from 17 plant species growing in a CO<sub>2</sub> spring in central Italy. *Global Change Biology* 4: 17-22.
- Bremer, K. 1994. Asteraceae, cladistics and classification. Timber Press. Portland, Oregon. 752. pp
- Cabrera-Rodríguez, L. y J. L. Villaseñor. 1987. Revisión bibliográfica sobre el conocimiento de la familia Compositae en México. *Biotica* 12: 131-147.
- Carlquist, S. 1957. Anatomy of Guayana Mutisieae. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 9: 441-476.
- Carlquist, S. 1966. Wood anatomy of Compositae: a summary, with comments on factors controlling wood evolution. *Aliso* 6: 25-44.
- Carlquist, S. 1982. Wood and bark anatomy of *Scalesia* (Asteraceae). *Aliso* 10:301-312.
- Castillo-Argüero, S., G. Montes-Cartas, M. A. Romero-Romero, Y. Martínez-Orea, P. Guadarrama-Chávez, I. Sánchez-Gallén y O. Núñez-Castillo. 2004. Dinámica y conservación de la flora del matorral xerófilo de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Angel (D.F.) México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 74: 51-75.
- Castillo-Argüero, S., Y. Martínez-Orea, M. A. Romero-Romero, P. Guadarrama-Chávez, O. Núñez-Castillo, I. Sánchez-Gallén, y J. A. Meave. 2007. La reserva ecológica del Pedregal de San Ángel: Aspectos florísticos y ecológicos. Secretaria Ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 294 pp.
- Castillo-Argüero, S., Y. Martínez-Orea, J. A. Meave, M. Hernández-Apolinar, O. Núñez-Castillo, G. Santibañez-Andrade y P. Guadarrama-Chavez. 2009. Flora: susceptibilidad de la comunidad a

- la invasión de malezas nativas y exóticas. En: Lot A. y Z. Cano-Santana (eds). Biodiversidad del ecosistema del Pedregal de San Angel. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. Pp. 107-134.
- Castro, M. M., H. F. Leitao-Filho y W. R. Monteiro. 1997. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*. 20 163-174.
- Céspedes, C. L. A. 2010. Riqueza florística de Asteraceae em los fragmentos de vegetación de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, México D.F. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 36 pp.
- Chazdon, R. L. y S. Kaufmann. 1993. Plasticity of leaf anatomy of two rain forest shrubs in relation to photosynthetic light acclimation. *Functional Ecology* 7: 385-394.
- Chen, L., C. Li, W. Chaloner, D. Beerling, Q. Sun, M. Collinson y P. Mitchell. 2001. Assessing the potential for the stomatal characters of extant and fossil *Ginkgo* leaves to signal atmospheric CO<sub>2</sub> change. *American Journal of Botany* 88: 1309-1315.
- Columbus, J. 1999. Morphology and leaf blade anatomy suggest a close relationship between *Bouteloua aristidoides* and *B. (Chondrosium) eriopoda* (Gramineae: Chloridoideae). *Systematic Botany* 23: 467-478.
- Cutler, D. F., T. Botha y D. Wm. Stevenson. 2008. *Plant anatomy*. Blackwell Publishing. 302 pp.
- Cutter, E. 1971. *Plant anatomy*. Part 2. Organs. Edward Arnold. 323 pp.
- Delbón, N., M. T. Cosa, N. Dottori y L. Stiefkens. 2007. Análisis comparativo de los caracteres epidérmicos en *Flourensia campestris* y *F. oolepis* (Asteraceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. 42: 245-250.
- Dickison, W. C. 2000. *Integrative plant anatomy*. Hartcourt Academic Press. 533 pp
- Dilcher, D. L. 1974. Approaches to the identification of angiosperm leaf remains. *The Botanical Review* 40: 1-157.
- Dimitrova, I. y L. Yurukova. 2005. Bioindication of anthropogenic pollution with *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae): metal accumulation, morphological and stomatal leaf characteristics. *Phytologia Balcanica* 11: 89-96.

- Eckerson, S. H. 1908. The number and size of the stomata. *The Botanical Gazette* 46: 221-224.
- Esau, K. 1976. Anatomía vegetal. Ediciones Omega. 779 pp.
- Esau, K. 1977. Anatomy of seed plants. 2nd Edition. John Wiley & Sons. 550 pp.
- Evert, R. 2006. Esau's plant anatomy. 3ª edición. Wiley Interscience. 601 pp.
- Fahn, A. 1990. Plant anatomy. Pergamon Press. 588 pp.
- Ferris, R. y G. Taylor. 1994. Stomatal characteristics of four native herbs following exposure to elevated CO<sub>2</sub>. *Annals of Botany* 73: 447-453.
- Ferreira, E. A., S. O. Procópio, E. A. M. Silva, A. A. Silva y R. J. N. Rufino. 2002. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas II- *Bidens pilosa*, *Emilia sonchifolia*, *Ageratum conyzoides* e *Sonchus asper*. *Planta Daninha Viçosa-MG* 20: 327-335.
- Figueroa-Castro, D. M., Z. Cano-Santana y E. Camacho-Castillo. 1998. Producción de estructuras reproductivas y fenología reproductiva de cinco especies de compuestas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 63: 67-74.
- Freire, S., A. Arambarri, N. D. Bayón, G. Sancho, E. Urtubey, C. Monti, M. C. Novoa y M. N. Colares. 2005. Epidermal characteristics of toxic plants for cattle from the Salado River basin (Buenos Aires, Argentina) *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 40: 241-281.
- Freire, S. E., E. Urtubey y D. A. Giuliano. 2007. Epidermal characters of *Baccharis* (Asteraceae) species used in traditional medicine. *Caldasia* 29: 23-38.
- Funk, V. A., R. J. Bayer, S. Keeley, R. Chan, L. Watson, B. Gemeinholzer, E. Schilling, J. L. Panero, B. G. Baldwin, N. Garcia-Jacas, A. Susanna y R. K. Jansen. 1994. Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. *Biologiske Skrifter* 55: 343-374.
- Gatt, M., K. Hammett y B. Murray. 1999. Confirmation of ancient polyploidy in *Dahlia* (Asteraceae) using genomic *in situ* hybridization. *Annals of Botany* 84: 39-48.
- Gindel, I. 1969. Stomatal number and size as related to soil moisture in tree xerophytes in Israel. *Ecology* 50: 263-267.
- Gifford, E. y A Foster. 1988. Morphology and evolution of vascular plants. 3ª edición. W.H. Freeman

and Company. 626 pp.

- Gonçalves, E. G. y H. Lorenzi. 2007. Morfologia vegetal: Organografía e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares. Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA. 416 pp
- González, E. A., P. E. Cedillo y L. Diaz. 2007. Morfología y anatomía de las plantas con flores. Universidad Autónoma de Chapingo. 276 pp.
- Halverson, K., S. B. Heard, J. D. Nason y J. O. Stireman III. 2008. Differential attack on diploid, tetraploid and hexaploid *Solidago altissima* L. by five insect gallmakers. *Oecologia* 154: 755-761.
- Hedhly, A, J. Hormaza y M Herrero, 2008. Global warming and sexual plant reproduction. *Trends in Plant Science* 14: 30-36.
- Hernández, M., T. Terrazas, A. Delgado-Alvarado y M. Luna-Cavazos. 2007. Los estomas de *Myrtillocactus geometrizans* (Mart. ex. Pfeiff.) Console (Cactaceae): variación en su área de distribución. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 235-240.
- Hetherington, A. M. y F. I. Woodward. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424: 901-908
- Hodgson, J. G., M. Sharafi, A. Jalili, S. Díaz, G. Montserrat-Martí, C. Palmer, B. Cerabolini, S. Pierce, B. Hamzehee, Y. Asri, Z. Jamzad, P. Wilson, J. A. Raven, S. R. Band, S. Basconcelo, A. Bogard, G. Charter, M. Charles, P. Castro-Díez, J. H. C. Cornelissen, G. Funes, G. Jones, M. Khoshnevis, N. Pérez-Harguindeguy, M. C. Pérez-Rantomé, F. A. Shirvany, F. Vendramini, S. Yazdani, R. Abbas-Azimi, S. Boustani, M. Dehghan, J. Guerrero-Campo, A. Hynd, E. Kowsary, F. Kazemi-Saeed, B. Siavash, P. Villar-Salvador, R. Craigie, A. Naqinezhad, A. Romo-Díez, L. de Torres Espuny y E. Simmons. 2010. Stomatal vs genome size in angiosperms: the somatic tail wagging the genomic dog? *Annals of Botany* 105: 573-584.
- Horn, J., J. B. Fisher, P. B. Tomlinson, C. E. Lewis y K. Laubengayer. 2009. Evolution of lamina anatomy in the palm family (Arecaceae). *American Journal of Botany* 96: 1462-1486.
- Hull-Sanders, H., R. H. Johnson, H. A. Owen y G. A. Meyer. 2009. Effects of poliploidy on secondary chemistry, physiology and performance of native and invasive genotypes of *Solidago gigantea* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 96: 762-770.

- Jarvis, P. G. 1989. Atmospheric carbon dioxide and forests. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 324: 369-392.
- Judd, W. S., C. S. Campbell, E. A. Kellogg, P. F. Stevens y M. J. Donoghue. 2002. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. 2ª edición. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts. 576 pp.
- Kandemir, A., S. Makbul, Z. Turkmen y M. Yilmaz. 2006. Morphological, anatomical and palynological investigation on *Sonchus erzincanicus* Matthews (Asteraceae). *Turkey Journal of Botany* 30: 405-411.
- Kelly, C. K. y D. J. Beerling. 1995. Life plant form, stomatal density and taxonomic relatedness: a reanalysis of Salisbury (1927). *Functional Ecology* 9: 422-431.
- Koch, K. y W. Barthlott. 2006. Plant epicuticular waxes: chemistry, form, self assembly and function. *Natural Product Communications* 1: 1067-1072.
- Koch, K. y H. Ensikat. 2008. The hydrophobic coatings of plant surfaces: Epicuticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly. *Micron* 39: 759-772.
- Lake, J. A., W. P. Quick, D. J. Beerling y F. I. Woodward. 2001. Signals from mature to new leaves. *Nature* 441: 154.
- Lake, J. A. y F. I. Woodward. 2008. Response of stomatal numbers to CO<sub>2</sub> and humidity: control by transpiration rate and abscisic acid. *New Phytologist* 179: 397-404.
- Lapp, M., D. Jáuregui y T. Ruiz-Zapata. 2004. Anatomía foliar de ocho especies venezolanas del género *Oyedaea* DC. (Asteraceae-Heliantheae). *Acta Botanica Venezuelica* 27: 1-16.
- Leelavathi, P., N. Ramayya y M. Prabhakar. 1980. Foliar stomatal distribution patterns in Leguminosae and their taxonomic significance. *Phytomorphology* 30: 195-204.
- Leitch, I. J. y M. D. Bennett. 1997. Polyploidy in angiosperms. *Trends in Plant Science* 2: 470-476.
- Lersten, N. y J. Curtis. 1995. Two foliar idioblasts of taxonomic significance in *Cercidium* and *Parkinsonia* (Leguminosae:Caesalpinioideae). *American Journal of Botany* 82: 565-570.
- Lersten, N. y J. Curtis. 1996. Survey of leaf anatomy, especially secretory structures of tribe Caesalpinieae (Leguminosae: Caesalpinioideae). *Plant Systematics and Evolution* 200: 21-39.
- Loranger, J. y B. Shipley. 2010. Interspecific covariation between stomatal density and other functional leaf traits in a local flora. *Botany* 88: 30-38.

- Luckow, M. 2002. Anatomical features of the leaves in the *Dichrostarys* group (Leguminosae: Mimosoideae) and their utility for phylogenetic studies. *Systematic Botany* 27: 29-40.
- Luque, R., N. L. de Menezes y J. Semir. 1999. Anatomía foliar de *Lychnophora* Mart. (Vernonieae: Asteraceae). *Plantula* 2: 141-152.
- Martínez-Cabrera, D., T. Terrazas y H. Ochotorena. 2007. Leaf architecture of *Hamelia*. *Feddes Repertorium* 118: 286-310.
- Masterson, J. 1994. Stomatal size in fossil plants: Evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* 264: 5157.
- McAinsh, M. R., N. H. Evans, L. T. Montgomery y K. A. North 2001. Calcium signalling in stomatal responses to pollutants. *New Phytologist* 153: 441-447.
- McVaugh, R. 1984. Compositae. Flora Novo-Galiciana. Volumen 12. Anderson W.R., editor. Ann Arbor The University of Michigan Press.
- Media Cybernetics. 2006. Image-Pro Plus. Versión 6.1.0.346 para Windows 2000/ XP Professional.
- Melo de Pinna, G. F. A., J. E. Kraus y N. L. Menezes. 2002. Morphology and anatomy of leaf mine in *Richterago riparia* Roque (Asteraceae) in the campos rupestres of Serra do Cipó, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 62: 179-185.
- Metcalf, C. y L. Chalk. 1979. *Anatomy of the dicotyledons*. 2nd edition. Oxford University Press. 276 pp.
- Milán, P., A. Hissae Hayashi y B. Appezzato-da-Glória. 2006. Comparative leaf morphology and anatomy of three Asteraceae species. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49: 135-144.
- Miller-Rushing, A.J., R. B. Primack, P. H. Templer, S. Rathbone y S. Mukunda. 2009. Long term relationships among atmospheric CO<sub>2</sub>, stomata and intrinsic water use efficiency in individual trees. *American Journal of Botany*. 96: 1779-1786.
- Mishra, M. K. 1997. Stomatal characteristics at different ploidy levels in *Coffea* L. *Annals of Botany*. 80: 689-692.
- Ng, C. K-Y., M. R. McAnish, J. E. Gray, L. Hunt, C. P. Leckie, L. Mills y A. M. Hetherington. 2001. Calcium based signaling system in guard cells. *New Phytologist* 151: 109-120.



- Ohri, D. 2005. Climate and growth form: the consequences for genome size in plants. *Plant Biology* 7: 449-458.
- Peñuelas, J. y R. Matamala. 1990. Changes in N and S leaf content, stomatal density and specific leaf area of 14 plant species during the last three centuries of CO<sub>2</sub> increase. *Journal of Experimental Botany* 41: 1119-1124.
- Pesacreta, T. y K. Hasenstein. 1999. The internal cuticle of *Cirsium horridulum* (Asteraceae) leaves. *American Journal of Botany* 86: 923-928.
- Prabhakar, M. 2004. Structure, delimitation, nomenclature and classification of stomata. *Acta Botanica Sinica* 46: 242-252.
- Procópio, S. O., E. A. Ferreira, E. A. M. Silva, A. A. Silva, R. J. N. Rufino y J. B. Santos. 2003. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III- *Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*. *Planta Daninha Viçosa-MG* 21:1-9
- Przywara, L., K. Pandey y P. Sanders. 1988. Length of stomata as an indicator of ploidy level in *Actinidia deliciosa*. *New Zeland Journal of Botany* 26: 179-182.
- Qi, A. C. 2006. Morphological characters of leaf epidermis in Schisandraceae and their systematic significance. *Journal of Plant Biology* 49: 80-87.
- Rai, A., K. Kulshreshtha, P. K. Srivastava, C. S. Mohanti. 2010. Leaf surface structure alterations due to particulate pollution in some common plants. *Environmentalist* 30: 18-23.
- Rojo, A. y J. Rodríguez. 2002. La flora del Pedregal de San Angel. Instituto Nacional de Ecología. México D.F. 95pp
- Rowson, J. M. 1943. Significance of stomatal index as differential character. *Quarterly Journal of Pharmacy and Pharmacology* 16: 24-31.
- Rudall, P. 1992. *Anatomy of flowering plants*. 2ª ed. Cambridge University Press. New York. 110 pp.
- Ruzin, E.S. 1999. *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press. New York. 322 pp.
- Rzedowski, J. 1954. Vegetación del Pedregal de San Ángel (Distrito Federal, México). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (Instituto Politécnico Nacional)*, México 8: 59-129.
- Rzedowski, J. 1998. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. En Ramamoorthy T.P,

- Bye R, Lott A. y J. Fa (eds.) Diversidad biológica de México: orígenes y distribución. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 129-145.
- SAS Institute. 1989. SAS procedure guide. Release 6.03. SAS Institute. 1028 pp.
- Salisbury, E. J. 1927. On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. 216: 1-65.
- Schifino-Wittmann, M. 2004. Poliplodia e seu impacto na origem e evolução das plantas silvestres e cultivadas. Revista Brasileira de Agrociência 10: 151-157.
- Soto, T. F. 2007. Poliploidía en las Asteráceas en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. Tesis de Maestría (Posgrado en Ciencias Biológicas), Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold. London.
- Stone, D. 1961. Ploidal level and stomatal size in the American Hickories. Brittonia 13: 293-302.
- Syeda, S. y M. T. Rajput. 2009. S.E.M. Structure distribution and taxonomic significance of foliar stomata in *Sibbaldia* L. species (Rosaceae). Pakistan Journal of Botany. 41: 2137-2143.
- Turner, B. L. y G. L. Nesom. 1998. Biogeografía, diversidad y situación de peligro o amenaza de Asteraceae de México. En Ramamoorthy T. P, R. Bye, A. Lott y J. Fa, (eds.) Diversidad biológica de México: orígenes y distribución. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Pp: 545-561
- Tricker, P. J., H. Trewin, O. Kull, G. J. Clarkson, E. Eensalu, M. Tallis, A. Colella, C. P. Doncaster, M. Sabatti y G. Taylor. 2005. Stomatal conductance and not stomatal density determines the long term reduction in leaf transpiration of poplar in elevated CO<sub>2</sub>. Oecologia 143: 652-660.
- UNAM, 2005. Acuerdo por el que se rezonifica, delimita e incrementa la zona de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria. Gaceta UNAM 2 Junio 2005: 20-21.
- Valiente-Banuet, A. y E. De Luna. 1990. Una lista florística actualizada para la reserva del Pedregal de San Angel México D.F. Acta Botanica Mexicana 9: 13-30.
- Villarreal, Q. J., R. J. Valdés y J. L. Villaseñor. 1996. Corología de las Asteráceas de Coahuila, México. Acta Botánica Mexicana 36: 29-42

- Villaseñor, J. L. 2003. Diversidad y distribución de las magnoliophyta de México. *Interciencia*. 28: 160-167.
- Villaseñor, J. L. 2004. Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 75: 105–135.
- Vyas, P., M. S. Bisht, S. Miyazawa, S. Yano, K. Noguchi, I. Terashima y S. F. Funayama-Noguchi. 2007. Effects of polyploidy on photosynthetic properties and anatomy in leaves of *Phlox drumondii*. *Functional Plant Biology* 34: 673-682.
- Webb, A. R. y A. J. Baker. 2002. Stomatal biology: New techniques, new challenges. *New Phytologist* 153: 365-369.
- Woodward, F. I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO<sub>2</sub> from pre-industrial levels. *Nature* 327: 617-618.
- Woodward, F. I. y C. K. Kelly. 1995. The influence of CO<sub>2</sub> concentration on stomatal density. *New Phytologist*. 131: 311-327.
- Woodward, F. I. y J. A. Lake. 2008. Response of stomatal numbers to CO<sub>2</sub> and humidity: control by transpiration rate and abscisic acid. *New Phytologist* 179: 397-404.
- Woodward, F. I., J. A. Lake y W. P. Quick. 2002. Stomatal development and CO<sub>2</sub>: ecological consequences. *New Phytologist* 153: 477-484.
- Young, J., S. Menta, M. Israelsson, J. Godoski, E. Grill y J. Schroeder. 2006. CO<sub>2</sub> signaling in guard cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 7506-7511.
- Zarinkamar, F. 2007. Stomatal observations in dicotyledons. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10: 199-219.

Páginas Electronicas:

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/paginas/lista-plantas.htm#ASTERACEAE>.

Heike Vibrans (ed.). 2009. *Malezas de México*. 2010.

[Mauna Loa Observatory: http://www.co2now.org/](http://www.co2now.org/). 2010.

APG: <http://www.mobot.org/mobot/research/APweb/>. 2010.

## **Apéndice 1. Algunas características morfológicas y fenológicas de las especies estudiadas.**

***Acourtia cordata* (Cerv.)B.L. Turner.** Hierba perenne, erecta hasta 1.5 m de alto. Tallo simple, a veces ramificado en las partes superiores, piloso. Hojas alternas, sésiles, hasta 20 cm de largo y 9 cm de ancho, oblongas o elípticas, acuminadas a obtusas en el ápice, espinuloso-dentadas en el margen, más o menos escabrosas en el haz, glandular pubérulas en el envés. Florece durante noviembre y diciembre.

***Baccharis sordescens* DC.** Arbusto hasta un metro de alto. Tallo ramificado, densamente tomentoso. Hojas caducas, alternas, subsésiles; hasta 3.5 cm de largo y 1.8 cm de ancho, oblongo-elípticas con la base atenuada, el ápice obtuso y el margen aserrado, haz pubescente y envés densamente tomentoso. Florece durante noviembre y diciembre.

***Bidens odorata* Cav.** Hierba anual, erecta o ascendente, hasta 150 cm de alto. Tallo escaso o profusamente ramificado, casi glabro. Hojas opuestas, pecioladas, hasta 20 cm de longitud incluyendo el pecíolo; limbo partido con 3 a 5 foliolos simples, ovados o lanceolados y serrados, casi glabros a pilosos. En estado vegetativo de marzo a septiembre, en floración de agosto a noviembre.

***Cosmos bipinnatus* Cav.** Hierba anual, erecta, 20 cm a 120 cm de alto. Tallo poco ramificado, casi glabro. Hojas opuestas, sésiles o con pecíolos alados; 3 a 11 cm de largo, bipinnadas con los segmentos muy angostos, con el ápice acuminado y endurecido, glabras. Se encuentra en estado vegetativo de marzo a agosto, florece de mayo a noviembre.

***Dahlia coccinea* Cav.** Hierba perenne, erecta, 0.4 a 3 m de alto. Tallo ramificado en la porción floral, glabro o escasamente piloso. Hojas opuestas, pecioladas; de 10 a 25 cm de longitud, pinnadas a tripinnado compuestas, foliolos ovado elípticos con el ápice agudo, margen crenado-aserrado, con pelos cortos y ásperos. Florece de junio a noviembre.

***Galinsoga parviflora* Cav.** Hierba anual, erecta o algo extendida, 10 a 100 cm de alto. Tallo ramificado, esporádicamente pubescente. Hojas opuestas, pecioladas a subsésiles, hasta 10 cm de largo y 7 de ancho, ovadas o lanceoladas, acuminadas en el ápice, subenteras a crenadas o serradas en el margen, hispido-pilosas en ambas caras. Se le encuentra en forma vegetativa de marzo a septiembre, en floración de mayo a noviembre.

***Lagascea rigida* (Cav.) Stuessy.** Hierba perenne, erecta, hasta 2 m de alto. Tallo muy ramificado, glabro o poco piloso. Hojas opuestas cortamente pecioladas, 4.3 a 10 cm de largo y 1.5 a 6.7 cm de ancho, lanceoladas, con el ápice agudo y la base obtusa, fuertemente aserradas, moderadamente estrigosas en ambas superficies. Florece de septiembre a noviembre.

***Melampodium perfoliatum* (Cav.) Kunth.** Hierba anual, erecta, hasta 2 m de alto. Tallo usualmente ramificado, de glabro a pubérulo. Hojas opuestas, sésiles o pecioladas, de 8 a 20 cm de longitud y 5 a 15 cm de ancho, rómbicas, deltoides o sagitadas, con el ápice agudo, margen serrulado y base connata, estrigosas. Generalmente florece de septiembre a noviembre.

***Montanoa tomentosa* Cerv.** Arbusto o árbol, hasta 3 m de alto. Tallo muy ramificado, tomentoso. Hojas opuestas, pecioladas, de 12 cm de largo y 9 cm de ancho, triangulares a ovadas, con el ápice agudo, margen subentero, base truncada, estrigosas en el haz, vilosas en el envés, con gotitas de exudado resinoso. Florece de octubre a noviembre.

***Pittocaulon praecox* (Cav.) H. Rob et Brettell.** Arbusto o árbol, hasta 4 metros de alto. Tallo muy ramificado candelabroiforme, succulento, glabro. Hojas caducas, en fascículos y aglomeradas en los extremos de las ramas, pecioladas, de 2 a 18 cm de largo y 2 a 10 cm de ancho, ovadas, lobuladas con 5 a 7 lóbulos el lobulo terminal acuminado, con márgenes enteros. Glabras en ambas superficies. Florece de febrero a junio.

***Sonchus oleraceus* L.** Hierba anual, erecta, 30 a 100 cm de alto. Tallo ramificado, glabro o con pelos glandulosos. Hojas alternas, sésiles, de 15 a 25 cm de largo, muy variables en forma, runcinado-pinatífidas a casi enteras, usualmente con numerosos dientes espinosos en el margen, algunas veces inconspicuamente dentadas. Florece prácticamente todo el año.

***Stevia salicifolia* Cav.** Arbusto hasta 1m de alto. Tallo ramificado, glabro, ramas pubérulas. Hojas opuestas, sésiles a brevemente pecioladas, de 1.5 a 11 cm de longitud y 1-22 mm de ancho, lineares a oblongas, elípticas o lanceoladas, agudas en el ápice, enteras o remotamente aserradas en el margen, glabras resinosas. Florece de julio a noviembre.

***Verbesina virgata* Cav.** Arbusto, 1 a 2 m de alto. Tallo ramificado, pubérulo o glabro. Hojas alternas, sésiles o cortamente pecioladas; de 4 a 20 cm de largo, 0.5 a 4.5 cm de ancho, linear-lanceoladas, con el apice agudo y base redondeada, margen subentero a aserrado, cortamente estrigosas en haz y envés. Florece de agosto a octubre.

***Viguiera excelsa* (Willd.) Benth. et Hook. f. ex Hemsl.** Hierba perenne, erecta, hasta 2 metros de alto. Tallo simple o poco ramificado, estrigoso a hispido. Hojas superiores alternas e inferiores opuestas, subsésiles o pecioladas, de 5 a 5 cm de3 largo, 2 a 5 cm de ancho, lanceoladas a oblongo-ovadas, con el ápice agudo a acuminado, margen subentero a finamente serrulado. Florece de octubre a noviembre.

***Zinnia peruviana* (L.) L.** Hierba anual, erecta, hasta 90 cm de alto. Tallo poco ramificado, finamente estrigoso a hirsuto. Hojas opuestas, sésiles, de hasta 7 cm de longitud y 3 cm de ancho, linear lanceoladas, agudas a obtusas en el ápice, enteras, tuberculado-hispidas en ambas caras. Se encuentra de septiembre a noviembre, florece de julio a diciembre.

**Apéndice 2. Datos comparativos reportados por otros autores (ver citas en texto) y reportados en este estudio de tipo de estoma, densidad estomática y longitud de células guarda de los géneros estudiados. (N.R. No hay reportes).**

Género	Tipo de estomas	Longitud de células guarda (µm)	Densidad estomática (estomas por mm <sup>2</sup> )	Longitud (µm) este estudio	Densidad (estomas por mm <sup>2</sup> ) este estudio
<i>Acourtia</i>	N.R.	N.R.	N.R.	25.09	202
<i>Baccharis</i>	actinocíticos, anisocíticos, ciclocíticos tetracíticos estaurocíticos, anomocíticos	24-66	N.R.	24.78	160
<i>Bidens</i>	anisocíticos, anomocíticos braquiparacíticos	30-38	217	16.84	502
<i>Cosmos</i>	N.R.	N.R.	N.R.	18.79	297
<i>Dahlia</i>	N.R.	N.R.	N.R.	20.89	506
<i>Galinsoga</i> <i>Galinsoga parviflora</i>	anomocíticos	N.R. N.R.	156	20.99	290
<i>Lagascea</i>	N.R.	N.R.	N.R.	24.36	141
<i>Melampodium</i>	N.R.	N.R.	N.R.	16.40	554
<i>Montanoa</i>	N.R.	N.R.	N.R.	20.42	498
<i>Pittocaulon</i>	N.R.	N.R.	N.R.	27.06	279
<i>Sonchus</i> <i>Sonchus oleraceus</i>	anomocíticos	24-28 N.R.	298 N.R.	18.83	542
<i>Stevia</i>	anomocíticos	N.R.	N.R.	18.22	310
<i>Verbesina</i>	anomocíticos	22-30	N.R.	18.10	620
<i>Viguiera</i>	N.R.	N.R.	N.R.	20.25	379
<i>Zinnia</i>	N.R.	56	21	22.00	270



**Apéndice 3. Ejemplares de herbario utilizados en este estudio (todos ellos depositados en el Herbario nacional de México (MEXU) Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.**

*Acourtia cordata* (Cerv.)**B.L. Turner.** Oscar Hinojosa Espinosa 442; C. G. Pringle 4360.

*Baccharis sordescens* DC. R. Hernández 2399.

*Bidens odorata* Cav. Oscar Hinojosa Espinosa 518; Dudley B. Gold 631; Dudley B. Gold 632.

*Cosmos bipinnatus* Cav. Oscar Hinojosa Espinosa 440; Matuda 19449.

*Dahlia coccinea* Cav. Oscar Hinojosa Espinosa 446; Matuda 19484; Fred A. Barkley y John B. Paxson 515.

*Galinsoga parviflora* Cav. Oscar Hinojosa Espinosa 475; Nelly Diego 211.

*Lagascea rigida* (Cav.) **Stuessy.** Oscar Hinojosa Espinosa 483; Arthur Cronquist 10315-1/2.

*Melampodium perfoliatum* (Cav.) **Kunth.** Nelly Diego 209.

*Montanoa tomentosa* Cerv. A. Gómez-Pompa 122; F. Miranda 707.

*Pittocaulon praecox* (Cav.) **H. Rob et Brettell.** Oscar Hinojosa Espinosa 505; Matuda 26149; M. Nee 203.

*Sonchus oleraceus* L. Oscar Hinojosa Espinosa 456; Dudley B. Gold 641.

*Stevia salicifolia* Cav. Leonardo Céspedes 638; Matuda 19464; Dudley B. Gold 601.

*Verbesina virgata* Cav. Oscar Hinojosa Espinosa 437 ; E. Lyonnet 828; F. Miranda 14.

*Viguiera excelsa* (Willd.) **Benth. et Hook. f. ex Hemsl.** E. Lyonnet 559.

*Zinnia peruviana* (L.) L. Oscar Hinojosa Espinosa 508; C.G. Pringle 6520 . F. Miranda 715.