



Universidad Nacional Autónoma de México

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

Facultad de Ciencias

**Caracterización taxonómica, ambiental y morfométrica
de *Staurastrum gracile* Ralfs 1848 (Chlorophyta) en
ambientes acuáticos, someros, tropicales, del centro
de México.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(SISTEMÁTICA)**

P R E S E N T A

Eva Teresa Calderón Medina

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS.: DRA. ROSALUZ TAVERA SIERRA

COMITÉ TUTOR: DRA. MA. ESTHER MEAVE DEL CASTILLO

COMITÉ TUTOR: DR. ARTURO CARLOS II BECERRA BRACHO

MÉXICO, D.F., A 22 DE AGOSTO DEL 2012



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.



Universidad Nacional Autónoma de México

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

Facultad de Ciencias

**Caracterización taxonómica, ambiental y morfométrica
de *Staurastrum gracile* Ralfs 1848 (Chlorophyta) en
ambientes acuáticos, someros, tropicales, del centro
de México.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(SISTEMÁTICA)**

P R E S E N T A

Eva Teresa Calderón Medina

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS.: DRA. ROSALUZ TAVERA SIERRA

COMITÉ TUTOR: DRA. MA. ESTHER MEAVE DEL CASTILLO

COMITÉ TUTOR: DR. ARTURO CARLOS II BECERRA BRACHO

MÉXICO, D.F., A 22 DE AGOSTO DEL 2012



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/317/12

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **16 de abril de 2012** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (SISTEMÁTICA)** del (la) alumno (a) **CALDERÓN MEDINA EVA TERESA** con número de cuenta **95022187** con la tesis titulada "**Caracterización taxonómica, ambiental y morfométrica de *Staurastrum gracile* Ralfs 1848 (Chlorophyta) en ambientes acuáticos, someros, tropicales, del centro de México**", realizada bajo la dirección del (la) **DRA. ROSA LUZ TAVERA SIERRA**:

Presidente: DR. JUAN JOSÉ MORRONE LUPI
Vocal: DR. ENRIQUE ARTURO CANTORAL URIZA
Secretario: DR. ARTURO CARLOS II BECERRA BRACHO
Suplente: DRA. HERMELINDA MARGARITA VILLEGAS RIOS
Suplente: DRA. MA. ESTHER MEAVE DEL CASTILLO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 22 de junio de 2012

M. del Coro Arizmendi Arriaga
Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa



FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSGRADO

Aradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas por su gran apoyo para realizar este trabajo.

A CONACYT por el apoyo económico (beca) brindado para la elaboración de este trabajo.

A la Dra. María Esther Meave del Castillo y al Dr. Arturo Carlos Il Becerra Bracho, por sus revisiones, sugerencias y comentarios que sin duda enriquecieron este trabajo.

Al Dr. Juan José Morrone Lupi, Dr. Enrique Arturo Cantoral Uriza, Dr. Arturo Carlos Il Becerra Bracho, a la Dra. Hermelinda Margarita Villegas Rios y Dra. Ma. Esther Meave del Castillo como parte del jurado, por la revisión de este escrito, por todos sus comentarios y correcciones, que gracias a ellos, logramos perfeccionar este trabajo.

Agradecimientos a título personal

Al laboratorio de algas continentales por su apoyo incondicional para llevar a cabo este trabajo. Gracias por transmitirme la pasión, el conocimiento y dedicación por el estudio de las algas.

A la Dra. Rosaluz Tavera Sierra por todo lo que me ha enseñado durante estos doce años de conocernos y por todo el esfuerzo puesto en este trabajo, no tengo palabras para describir lo que se siente trabajar a su lado, pero es un honor. Gracias por engrandecer mi gusto por la biología y sobretodo por las algas.

Al Dr. Eberto Novelo Maldonado, por enriquecer y compartir el gusto por las algas. Gracias por atender siempre mis dudas.

A M. en C. Guadalupe Vidal Gaona por tu invaluable intervención y paciencia en el montaje de cultivos. Gracias Lupita sin ti no hubiera sido posible realizar este trabajo.

A la Dra. Silvia Matías Espinosa del laboratorio de Microscopia Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias, por el apoyo especializado para la obtención de las microfotografías.

Erikita gracias por brindarme tu amistad, con todo lo que esa palabra abraza. Compartimos tantas cosas durante estos años, alegrías, tristezas, risas, tonterías, carreras de resistencia (el posgrado), desesperación y grandeza, y aquí estamos una vez más intentando obtener otro grado. Compartimos toda esta experiencia del posgrado, levantarse temprano, estudiar día y noche, fracasar, pasar esos fracasos, develadas constantes, hasta estudiar los fines de semana completos; me gusto compartir todo esto contigo ya que eres una persona excepcional, gracias por estar en todos estos momentos, con tu compañía fueron mas ligeros.

Marisol eres un ejemplo a seguir, gracias por ser una verdadera amiga y ayudarme en esos momentos de desesperación cuando no entendía ciertos conceptos, sobre todo antes de los exámenes o trabajos finales. Recuerdo todo el tiempo que reíamos y charlábamos, gracias invaluable momentos.

A todos los chicos del laboratorio quienes entienden y comparten mi gusto por las algas, y por todos los excelentes momentos que pasamos dentro y fuera del laboratorio.

A todos mis compañeros del posgrado por los buenos momentos.

A cada uno de mis amigos que en algún momento formaron parte de mi vida: Susana, Esteban, Joselyn, Lety, Andrés, Fernando, Ivonne, Fernanda, Vanessa, Talía, Paola, Margarita, Ulises, Yoma, Karen, Tania, Angélica, Israel, Roxana, Gustavo, Rosy, Cemiac,

Adni, Alejandro, Elisa y todos los que me faltaron, agradezco cada momento que he vivido con ustedes, vivirá por siempre en mi memoria, conocerlos ha sido un verdadero gusto.

Dedicado a:

A mi familia.....

Gracias por estar siempre conmigo y apoyarme en todo, sin ustedes no sería lo que soy.

A el amor de mi vida.....

Marco Pitteri

Te agradezco todo el amor que me has demostrado todos los días desde que empezó nuestra historia, gracias por apoyar siempre mis ideas por locas que parezcan. Invariablemente has estado a mi lado hasta en los momentos más desalentadores de mi vida, siempre tienes la palabra perfecta para ayudarme a encontrar el camino correcto, por ello y muchas razones más te llevo siempre en mi mente y corazón.

Te amo

*Nunca consideres el estudio como una obligación, sino
como una oportunidad para penetrar en el bello y
maravilloso mundo del saber.*

Albert Einstein

*Las especies que sobreviven no son las más fuertes, ni
las más rápidas, ni las más inteligentes, sino aquellas
que se adaptan mejor al cambio.*

Charles Darwin

*La ciencia se compone de errores, que a su vez, son los
pasos hacia la verdad.*

Julio Verne

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	5
HIPÓTESIS.....	8
OBJETIVOS.....	9
Objetivos generales.....	9
Objetivos particulares.....	9
AREA DE ESTUDIO.....	11
Embalse Valle de Bravo.....	13
Embalse Taxhimay.....	17
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
Trabajo de campo.....	20
Trabajo de laboratorio.....	21
Diseño experimental para el análisis de morfometría geométrica.....	25
RESULTADOS.....	29
Variables ambientales.....	29
Caracterización taxonómica de <i>Staurastrum gracile</i>	31
Ciclo de vida asexual y sexual.....	47
Polimorfismo de la especie.....	62
Análisis de morfometría geométrica.....	74
Descripción taxonómica de la especie de estudio.....	77
DISCUSIÓN.....	81
CONCLUSIONES FINALES.....	88
LITERATURA CITADA.....	90

ANEXO I.....	97
Ubicación Taxonómica y características generales de las desmidias.....	97
Radiación, simetría y asimetría de las desmidias placodermas.....	99
Cambios ontogenéticos durante la división celular de las desmidias.....	100
Reproducción sexual en desmidias.....	100
Divisiones aberrantes en desmidias.....	101
Polimorfismo.....	102
Condiciones ambientales.....	103
Problemas taxonómicos y distribución de las desmidias.....	103
Morfometría geométrica.....	106
ANEXO II.....	108
Material fotográfico y dibujos utilizados para el análisis morfométrico.....	108
ANEXO III.....	115
Referencias bibliográficas de los dibujos y fotografías utilizadas en este trabajo.....	115

Resumen en español

Este estudio sobre desmidias de México se realizó en las riberas de dos ambientes acuáticos ubicados en el centro del país, (Embalse Valle de Bravo y Embalse Taxhimay, en el Estado de México). Se seleccionó la especie *Staurastrum gracile* porque crece en las dos localidades y mostró *in situ*, poblaciones con pleomorfismo notable. Para el estudio detallado de su morfología, se aisló en cultivos unialgales con material de ambas localidades, con el objetivo de distinguir la variabilidad inherente al ciclo de vida (pleomorfismo) y la variabilidad polimórfica. Los objetivos generales de este trabajo fueron: (1) Diferenciar la variabilidad pleomórfica de la variabilidad polimórfica relacionada a las condiciones ambientales en donde se desarrolla la especie; (2) Determinar la asociación entre la plasticidad fenotípica y las condiciones tanto naturales como las condiciones de cultivos estándar y modificadas (pH extremo para la especie y nutrimentos limitados) y (3) Evaluar la delimitación de la especie con relación a algunas de sus variedades y con relación a otras especies del género *Staurastrum*, a través de un análisis morfométrico.

Los resultados más importantes fueron:

(1) La propuesta de los caracteres que deben considerarse relevantes para la taxonomía del grupo, a partir de lo que hemos definido como estado adulto y que son (a) el arreglo de 4 espinas que presentan los procesos en la parte terminal y a lo largo de ellos; (b) el cinturón ornamentado con espinas por la parte superior al istmo; (c) una serie de pequeñas espinas que exhibe la célula en vista apical y que en ocasiones se muestran en pares y (d) la ornamentación del cigoto.

(2) La caracterización de la plasticidad pleomórfica cuando sólo ocurre reproducción asexual, que fue muy amplia e inherente al desarrollo ontogenético de la especie, con la identificación de varias formas estructurales ocasionadas por la división celular que ocurre por segunda vez durante el ciclo asexual, antes de que la célula naciente esté plenamente desarrollada.

(3) La tipificación del crecimiento de esta especie en condiciones de cultivo, encontrando que es necesario un periodo de aclimatación fisiológica, en el cual a veces el crecimiento demográfico es muy lento o puede no producirse. En el caso de los cultivos estándar, es decir sin modificaciones en nutrimentos ni pH, el crecimiento de *S. gracile* fue óptimo y la aclimatación fisiológica del inóculo se logró en aproximadamente un mes, mientras que en las condiciones modificadas (pH y nutrimentos) el crecimiento de las poblaciones fue más lento (de 3 a 4 meses aproximadamente). En condiciones extremas de cultivo (como las

utilizadas para valores extremos de pH y nutrimentos limitados) se producen variaciones morfológicas que impiden el desarrollo óptimo de los individuos.

(4) La identificación de la influencia ambiental sobre la morfología de la especie, con la utilización de distintas condiciones de cultivo para realizar un seguimiento de formas de las células y tamaños de las poblaciones de *S. gracile*. Las condiciones de cultivo probadas para pH 10.0 y nutrimentos limitados mostraron la ocurrencia de un marcado crecimiento alométrico de las poblaciones, que probablemente está influenciado por las condiciones artificiales extremas en las que se desarrollaron, que afectaron las velocidades de crecimiento, causando cambios drásticos en la forma de las células. Las condiciones de cultivo probadas para pH 5.0 mostraron la ocurrencia de divisiones aberrantes de las células, que no permiten el desarrollo de nuevas hemicélulas debido a la incompleta formación de la pared (septo) durante la división celular.

(5) La propuesta de que *Staurastrum gracile* var. *nanum* es simplemente un morfotipo de la especie nominal que se desarrolla en ambientes ácidos, que además puede ser confundido con individuos de etapas juveniles de *S. gracile*, si la población se encuentra reproduciéndose sexualmente. El análisis morfométrico nos indicó, que los traslapes morfológicos observados en las etapas juveniles (respecto las dimensiones y tamaño de los procesos) de *S. gracile* en condiciones de pH 5.0, se agrupan congruentemente con los ejemplares documentados en la bibliografía para *Staurastrum gracile* var. *nanum* que crece en pH ácido.

La conclusión más importante del estudio fue establecer la importancia de abordar la taxonomía y sistemática de *S. gracile* mediante una caracterización polifásica, que incorpore criterios ecológicos, fisiológicos y morfométricos y mostrar la importancia de incorporar estudios genéticos en este contexto polifásico.

Resumen en inglés (abstract)

This study on desmids of Mexico was conducted on the shores of two aquatic environments located in the center of the country (Valle de Bravo and Taxhimay Reservoirs, State of Mexico). *Staurastrum gracile* was selected because it grows in the two locations and showed in situ populations with marked pleomorphism. For detailed morphological study, the species was isolated in unialgal cultures with material from both localities, in order to distinguish the variability inherent in the life cycle (pleomorphism) and polymorphic variability. The overall objectives of this study were: (1) Differentiate pleomorphic variability from polymorphic variability related to environmental conditions where the species is developed, (2) Determine the association between phenotypic plasticity in natural conditions and both, standard and modified culture conditions (pH extreme and nutrient limited) for species and (3) Evaluate the delimitation of the species in relation to some of its taxonomic varieties and in relation to other species of *Staurastrum* through a morphometric analysis.

The most important results were:

(1) the proposal of the characters to be considered relevant to the taxonomy of the group, from what we have defined as the adult and which are (a) the arrangement of 4 spines showing processes at the terminal and along of them, (b) the belt ornamented with spines at the top of the Isthmus, (c) a series of small spines that displays the cell apical view and sometimes are shown in pairs and (d) the ornamentation of the zygote.

(2) The characterization of pleomorphic plasticity when only asexual reproduction occurs, which was very broad, inherent to the ontogenetic development of the species, with the identification of several structural forms caused by cell division that occurs a second time during the asexual cycle, before the rising cell is fully developed.

(3) The characterization of the growth of this species in culture conditions, finding the need for a physiological acclimation period in which there is sometimes a very slow population growth or may not occur. In the case of standard cultures, i.e. unchanged in nutrients or pH, the growth of *S. gracile* was optimal and physiological acclimation of the inoculums was achieved in about a month, while in the modified conditions (pH and nutrients) the population growth was slower (approximately 3 to 4 months). In extreme conditions of cultivation (as used for extreme pH values and nutrient limited) morphological changes occur that prevent the optimal development of individuals.

(4) The identification of environmental influence on the morphology of the species with the use of different culture conditions to keep track of shapes and sizes cell populations *S.*

gracile. Culture conditions tested for pH and nutrient restricted 10.0 showed the occurrence of a marked allometric growth of populations, which is probably influenced by extreme artificial conditions in which they developed, that affected growth rates, causing drastic changes in the cell shape. The culture conditions tested for pH 5.0 showed the occurrence of aberrant cell divisions, which prevent the development of new hemicells due to incomplete formation of the wall (septum) during cell division.

(5) The proposal that *Staurastrum gracile* var. *nanum* is simply a morph of the nominal species that develops in acidic environments, which can also be confused with *S. gracile* in juvenile stages, if the population is reproducing sexually. The morphometric analysis showed us that the observed morphological overlap in juvenile stages (about the dimensions and size of processes) of *S. gracile* in conditions of pH 5.0, are grouped consistently with the specimens documented in the literature for *Staurastrum gracile* var. *nanum* growing in acidic pH.

The most important conclusion of the study was to establish the importance of addressing the taxonomy and systematics of *S. gracile* by a polyphasic characterization that incorporates ecological, physiological and morphometric criteria, and show the importance of incorporating genetic studies in this multiphase context.

Introducción (ver anexo I)

Las desmicias son un grupo de algas de agua dulce más diversos y controvertidos en su sistemática. Taxonómicamente han sido colocadas en la División Chlorophyta (algas verdes), dentro el Orden Desmiciales y Familia Desmidiaceae, conformada principalmente por los géneros *Closterium*, *Micrasterias*, *Staurastrum*, *Cosmarium*, *Euastrum*, *Pleurotaenium*, *Desmidium* y *Penium* (Hoek *et al.*, 1995). El orden Desmiciales está representado por células solitarias, pero que en ocasiones pueden formar pseudo-colonias o pseudo-filamentos; la pared celular se compone de dos capas, una de celulosa y otra de pectina, además de componentes fibrilares (Bourrelly, 1972; Hoek *et al.*, 1995) y está formada de dos mitades simétricas generalmente delimitadas por una constricción media pronunciada, estableciendo dos hemicélulas unidas por un estrecho istmo, las paredes generalmente contienen ornamentaciones y poros por los cuales es secretado el mucílago.

La sistemática tradicional de este grupo se basa esencialmente en caracteres morfológicos (forma, simetría de la célula y ornamentaciones). Desde los inicios del estudio de las desmicias han surgido problemas de interpretación de la variación morfológica, que se deben tanto a la gran complejidad estructural del grupo como a la documentación poco clara de las especies tipo (dibujos borrosos o muy pequeños y la ausencia de descripciones asociadas a los ejemplares). Uno de los problemas comunes al identificarlas, es que muchos investigadores dedicados a describir su morfología por desgracia, ponen nombres basándose en especímenes individuales en lugar de examinar las poblaciones en su conjunto, asignando una jerarquía de variedades y formas a organismos de una especie que solo difieren en pequeños rasgos morfológicos (Brook, 1981). Muchas formas se han descrito como variedades separadas o incluso especies, aunque probablemente son formas de transición que pertenecen al mismo taxón. En parte, esto es una consecuencia del escaso conocimiento de la plasticidad fenotípica inherente a las células de desmicias, por su especial modo de división (pleomorfismo durante el ciclo asexual y sexual) y en parte, a que es un grupo altamente polimórfico (formas distintas de una misma especie en un mismo hábitat). Estos problemas han derivado en un alto número de sinonimias y por lo tanto una sobre estimación de la riqueza global de sus especies (Gerrath, 1993).

Adicionalmente, su situación taxonómica se complica por el escaso conocimiento de los patrones de distribución. La distribución de las desmicias está determinada por factores climáticos (Brook, 1981), geológicos y por componentes químicos del agua, principalmente nutrientes (Bourrelly, 1972). Asimismo, son sensibles a factores como la temperatura (en intervalos de temperatura altos las desmicias presentan tamaños más pequeños) o el pH cuyos cambios pueden afectar procesos morfogénicos (Cerná

&Neustupa, 2010; Kristensen *et al.*, 2003) y las modificaciones de la forma reflejan su plasticidad fenotípica. En este contexto no sorprende que existan muchas especies con una supuesta distribución geográfica tan amplia, que abarca desde zonas polares hasta el trópico (Brook, 1981; Fott, 1971). Algunos autores han cuestionado esta interpretación, evidenciando que las descripciones taxonómicas (basadas en la morfología) de muchas especies con distribución amplia, no incluyen una documentación detallada de las variaciones ambientales asociadas con la geografía, ni tampoco de los límites de la variación fenotípica asociada a esas condiciones.

El actual patrón de distribución de las desmidias se ha tratado de explicar de acuerdo al potencial de dispersión a larga distancia, por medio de aves acuáticas migratorias (Proctor, 1966). Las microalgas pueden ser transportadas a largas distancias en las plumas, patas o en el tracto digestivo de las aves y aunque el ambiente es el que finalmente limita el establecimiento de las especies, los estanques de agua ocurrentes en las rutas migratorias pueden ser los sitios en los que se establezcan los propágulos (Heimans, 1969), así que el conocimiento confiable de los patrones de distribución geográficos, se limitará a aquellos taxones bien documentados y definidos.

La distribución geográfica de una especie es la región de la Tierra en que habita; puede ser en una zona relativamente pequeña (endémicas, es decir que no se encuentra en ningún otro lugar del mundo) o con una distribución prácticamente mundial (cosmopolita). En las desmidias la mayoría de las especies han sido registradas como cosmopolitas y la existencia de este cosmopolitismo ha llamado la atención de varios autores especialistas del grupo. Se han establecido especies con distribuciones limitadas o muy amplias, pero tales generalizaciones continúan cambiando en la medida que aumenta la información.

El punto a valorar es si actualmente es confiable la distribución de las desmidias o los argumentos que han llevado a pensar que son cosmopolitas. La disyuntiva es, si partimos de que: “aunque el ambiente selecciona, todo está en todas partes” (Heimans, 1969), entonces sería válido interpretar que muchas desmidias tienen amplios intervalos de tolerancia ambiental, que les permiten desarrollarse desde ambientes árticos hasta los trópicos, modificando o no su morfología. O bien, si partimos de que: “las especies se pueden encontrar sólo en aquellos ambientes que satisfagan todas sus demandas ecológicas” (Krieger, 1932), entonces sería válido cuestionar la calificación de “cosmopolita” mientras no sea claro si el ambiente presenta las condiciones ecológicas donde la especie es capaz de desarrollarse (ya sea con intervalos de tolerancia amplios o limitados). Parecería que la segunda opción es mejor porque se ha comprobado que las desmidias son altamente sensibles a las variaciones de temperatura y composición química de los cuerpos de agua donde habitan (Brook, 1981).

Las cuestiones que se han mencionado son en realidad de aplicación amplia a la biología, pero distingue particularmente a las desmidias. Hay que considerar que la variación morfológica puede estar asociada a diferencias ambientales que no están marcadas por la latitud, es decir que una misma especie puede llegar a tener ecoformas diferentes en una misma región (Gerrath, 1993) y como ya habíamos mencionado, en las desmidias hemos cosechado tanto una gran cantidad de sinonimias como problemas para la delimitación a nivel de especies, con las consecuentes determinaciones poco confiables.

Definitivamente el avance real en cuanto a los verdaderos límites geográficos de muchas especies de desmidias, se podrá lograr cuando se cuente con suficiente conocimiento sobre su variabilidad morfológica en intervalos amplios de condiciones ambientales y con el conocimiento detallado de los mecanismos de dispersión que puedan explicar su actual distribución, recordando que pueden existir procesos genéticos y evolutivos (procesos recientes de diferenciación), que podrían producir especies gemelas.

Bajo este panorama, abordamos este estudio seleccionando varias localidades del centro del país, en humedales del Estado de México, que reunieran condiciones favorables para la presencia de las desmidias, es decir, sitios someros (riberas de lagos), bien iluminados, con poco movimiento de agua. Buscamos que los sitios presentaran ambientes contrastantes y que compartieran especies para estudiar diferentes poblaciones comparativamente. Asimismo, las características fisiográficas y ecológicas de los sitios elegidos debieran proporcionar diferencias en calidad de agua, altitud, clima, vegetación y origen de cuenca.

Con base en varias recolecciones y como fuente de posible material de estudio se aislaron en cultivo especies de los géneros *Cosmarium*, *Pleurotaenium*, *Desmidium* y *Staurastrum*, pero se seleccionó sólo la especie *Staurastrum gracile* porque fue la mejor representada en dos de las localidades, que están aisladas geográficamente (el embalse Valle de Bravo localizado en el municipio Valle de Bravo y el embalse Taxhimay ubicado en el municipio de Villa de Carbón) y que cumplieron las características fisiográficas y ecológicas mencionadas. En ambas localidades, la especie *S. gracile* mostró *in situ*, poblaciones con pleomorfismo notable.

El establecimiento de cultivos permitió diferenciar entre la variabilidad inherente al ciclo de vida (pleomorfismo) y la variabilidad polimórfica, además de definir su morfología detallada (caracteres diacríticos y diagnósticos). El análisis del material de cultivos, respaldado por microscopía fotónica y de barrido, permitió constituir una determinación confiable a nivel específico. El segundo aspecto considerado en este estudio, fue el uso de condiciones modificadas (pH y nutrimentos) para establecer cultivos, lo que fue

importante para valorar la plasticidad fenotípica asociada con algunas condiciones ambientales. De este modo podríamos validar estas condiciones como parte de la biología de la especie estudiada y por tanto, incorporar una caracterización ecológica a su descripción taxonómica.

El análisis de la influencia y límites del pleomorfismo y polimorfismo para la delimitación de la especie, se evaluó a través de un análisis poblacional morfométrico, abordando el traslape morfológico de las distintas variedades de la especie *S. gracile* y otras relacionadas a través de información bibliográfica.

Hipotesis

En *Staurastrum gracile* Ralfs (1848), la delimitación de la especie en relación con otras especies o variedades del género, debe construirse con base en el reconocimiento de los límites pleomorficos y polimórficos, así como en la plasticidad fenotípica en condiciones de cultivo y una valoración de las condiciones ambientales del hábitat, para establecer una determinación morfológica confiable.

Si las formas reconocidas para *S. gracile* no reflejan diferencias genéticas, pero son producto de respuestas morfológicas constantes a condiciones ecológicas particulares (plasticidad fenotípica), entonces su sistemática se justifica mientras los criterios taxonómicos no cambien.

OBJETIVOS

Objetivos generales

1. Seleccionar una especie con poblaciones abundantes, compartida por las localidades de estudio, para aislar en cultivos unialgales (la especie seleccionada fue *Staurastrum gracile*)
2. Caracterizar taxonómica, morfométrica y ambientalmente a la especie *S. gracile* en humedales tropicales del centro de México.
3. Diferenciar la variabilidad pleomórfica inherente al ciclo de vida (asexual y sexual) de la variabilidad polimórfica relacionada con las condiciones ambientales en donde se desarrolla la especie.
4. Determinar la plasticidad fenotípica asociada con las condiciones ambientales naturales y con las condiciones de cultivos, modificando algunos parámetros (pH y nutrimentos) con respecto a las condiciones *in situ*.
5. Evaluar la delimitación de *S. gracile* en relación a otras especies o variedades del género *Staurastrum*, a través de un análisis morfométrico.

Objetivos particulares

1. Caracterizar las variables ambientales de los ecosistemas muestreados: temperatura, pH, conductividad, oxígeno disuelto y concentraciones de nutrimentos (fósforo total, fósforo reactivo soluble y nitrógeno inorgánico total).
2. Detallar los caracteres específicos para *S. gracile*, con base en los que han sido reconocidos en la bibliografía.
3. Obtener el espectro en la expresión *in situ* de los caracteres considerados en la bibliografía como diagnósticos (los caracteres que definen al grupo) y los diacríticos (los caracteres que separan los grupos, uno del otro) para la especie *S. gracile*.
4. Establecer y mantener cultivos unialgales (clonales) de la especie *S. gracile*.

5. Reconocer los límites de la variación polimórfica de *S. gracile* (poblaciones aisladas de Valle de Bravo y Taxhimay), a través de las condiciones de cultivo.
6. Analizar y documentar la variación fenotípica durante su desarrollo en cultivo (pleomorfismo en el ciclo de vida sexual y asexual) y madurez (individuos adultos), a través de dibujos y fotografías con microscopios fotónicos y electrónico de barrido.
7. Evaluar y documentar a partir de cultivos unialgales (clonales), la variabilidad que se expresa en *S. gracile* en condiciones variables (pH y nutrimentos) y diferenciarla de las de condiciones *in situ*.

ÁREA DE ESTUDIO

El Estado de México se sitúa en la parte central de la República Mexicana, entre los meridianos 98°36' y 100° 37' O y los paralelos 18° 22' y 20° 17' N, ocupa una superficie de 22,499.95 Km², colinda al norte con los Estados de Querétaro e Hidalgo, al sur con el Distrito Federal y los estados de Guerrero y Morelos, al poniente con el estado de Michoacán y al oriente con los estados de Puebla y Tlaxcala (GEM, 2006); en él se inician los sistemas hidrológicos más importantes del país: la cuenca del Valle de México-Panuco (RH 26), la Cuenca Río Lerma (RH 12) y la Cuenca del Río Balsas (RH18) (GEM 2007). El estado de México ubicado en la parte sur de la altiplanicie meridional mexicana, considerada una de las regiones más elevadas del país (entre 1330 y 2800 msnm aproximadamente), se caracteriza por tener grandes valles lacustres y pequeños valles intermontanos, rodeados por grandes sierras y volcanes aislados que propician una diversidad de altitudes (400 a 4500 msnm), tipos de rocas y yacimientos minerales, suelos, climas, tipos de vegetación y fauna que permiten clasificar el territorio en múltiples paisajes naturales (Madrigal *et al.*, 2010). Corresponde a dos grandes provincias fisiográficas, la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM) que comprende a la mayor parte del territorio estatal (cubre la parte oriente, norte y oeste del estado) y la Sierra Madre del Sur que se restringe a las regiones sur y suroeste del mismo (Fig. 1).

Los sitios seleccionados para este estudio presentaron características ecológicas y fisiográficas adecuadas para el crecimiento de desmidias, como cuerpos de agua someros (riberas de lagos), con buena iluminación y poco movimiento de agua, además de presentar diferencias fisiográficas y ecológicas respecto a la calidad de agua, altitud, clima, vegetación y origen de cuenca. Esto sitios fueron el embalse Taxhimay (19°50.072N y 99°23.920'O) (Tabla 1, Fig. 1, 4 y 5) en el Municipio Villa del Carbón y el embalse Valle de Bravo (19°10.350'N y 100°07.885'O) en el Municipio de Valle de Bravo (Tabla 1, Fig. 1, 2, y 3). En las riberas de ambos cuerpos de agua la profundidad era muy somera y con condiciones ecológicas similares a los humedales a pesar de presentar una columna de agua continúa.

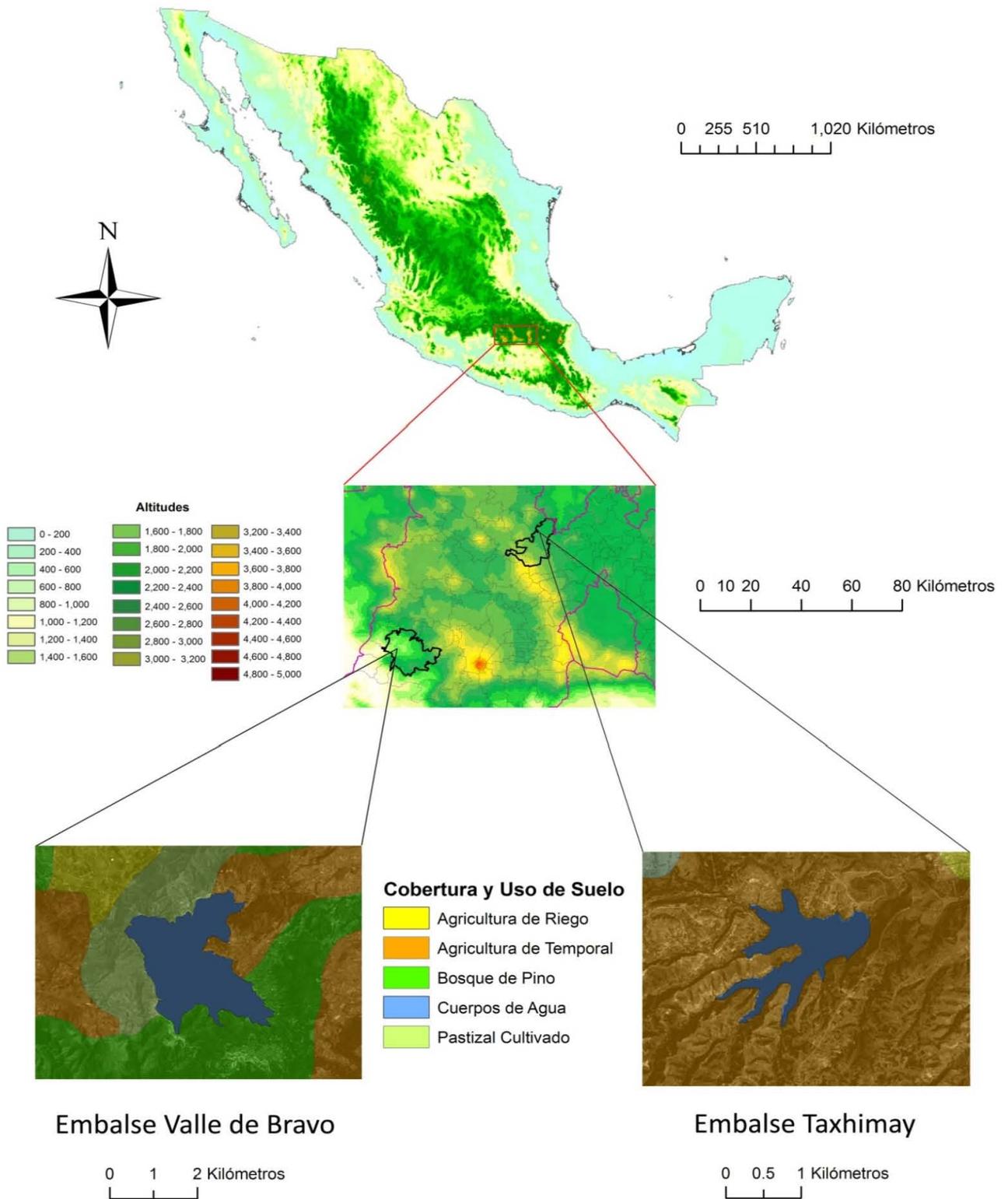


Figura 1. Ubicación del área de estudio.

Municipio	Localidades	Ambiente	Coordenadas (latitud norte y longitud oeste)	Altitud (m.s.n.m.)
Valle de Bravo	Embalse Valle de Bravo	Presa artificial	19° 11.208' N 100°08.86.636' O	1774
Villa del Carbón	Embalse Taxhimay	Presa artificial	19° 10.350' N 99°23.920' O	2215

Tabla 1. Localidades seleccionadas para este estudio en el Estado de México.

Embalse Valle de Bravo

Hidrología

La cuenca de Valle de Bravo está ubicada en la porción occidental del Estado de México. Los principales cuerpos de agua que la conforman son: el embalse Valle de Bravo y el Río Amanalco, pertenecen a la región hidrológica No. 18, Río Balsas, que aporta el abastecimiento de agua a poblaciones locales y a la zona metropolitana del Valle de México (CONABIO, 2008; CONAGUA, 2010). En el embalse Valle de Bravo los escurrimientos más importantes nacen en los cerros de La Escalerilla (2,550 m.s.n.m.), Los colorines (2,300 m.s.n.m.), San Antonio (3,300 m.s.n.m.), San Gaspar, Los Reyes (2,900 m.s.n.m.), Capulín (2,600 m.s.n.m.) y en ladera oeste del Nevado de Toluca (3,000 m.s.n.m.) entre otros.

Clima

El clima de la región es (A (b) (W1) (W) (i') g) semicálido subhúmedo con un verano fresco y prolongado, la temperatura media anual es de 19.3° C, con una estación pronunciada de secas (precipitaciones escasas de noviembre a mayo) y lluvias (de junio a octubre), la precipitación media anual en verano es del 63.4 % y en invierno del 1.0 %. Durante la primavera la temperatura comienza a aumentar considerablemente en gran parte de la región, las temperaturas más elevadas se registran durante el mes de mayo (temperatura media anual máxima en mayo es de 22.0° C) y en general la temperatura media anual es de 19.3° C, oscilando entre los 9.4° y 24.5° C (García, 2004).

Vegetación

La cobertura de suelo al norte, noreste y noroeste de la presa comprende bosque de latifoliadas caducifolio tropical o subtropical, bosque mixto, así como matorral templado subpolar y suelos agrícolas. Hacia el sur, suroeste y sureste la cobertura de suelo dominante es el bosque mixto, seguido por algunos manchones de bosque de coníferas templado subpolar y en menor proporción el matorral templado subpolar (UNITAMOS, 2011).

Los principales tipos de vegetación encontrados en la cuenca de Valle de Bravo son: bosque de oyamel (característico de elevaciones por encima de los 2,900 m.s.n.m., con clima templado subhúmedo con lluvias en verano) presente únicamente en la parte oriental de la cuenca, bosque de pino (característico de zonas montañosas con elevaciones por arriba de los 2,400 msnm), bosque de pino encino (localizado en zonas con elevaciones por arriba de los 1,800 msnm) que es la vegetación predominante de la región, bosque de encino (ubicada en la parte central de la cuenca), bosque mesófilo de montaña (se exhiben pequeños manchones donde la humedad es un poco más elevada) y pastizal inducido (resulta de la perturbación causada por el hombre, son utilizados para el régimen ganadero) ubicado hacia la parte oriental de la cuenca en alturas inferiores a los 3,000 msnm y superiores a los 2,400 m (CONABIO, 2008).

Geomorfología

Valle de Bravo pertenece al Sistema Volcánico Transmexicano (Faja Volcánica Transmexicana). El relieve se caracteriza por zonas abruptas y montañosas correspondientes a las elevaciones de la Sierra de Valle de Bravo (vinculada con la Sierra del Nevado de Toluca), Temascaltepec y Tenayac. Dentro de estas Sierras sobresalen distintas elevaciones de cerros y volcanes (con altitudes de 2,500 y 3,500 msnm) entre los cuales destacan: San Agustín, La Peña de los Muñecos, Lodo Prieto, San Antonio, El Ídolo, Piedra Herrada y Cerro Gordo (GEM, 2011).

Geología

En la región de Valle de Bravo se identifican principalmente rocas volcánicas del periodo cuaternario, rocas ígneas de composición basáltica, cuyas características incluyen aluvión y sedimentos lacustres recientes (GEM, 2011). Las zonas circundantes al Embalse Valle de Bravo exhiben rocas de tipo carbonatadas, volcanosedimentarias, clásticas, volcánicas, y rocas volcánicas del cuaternario (GEM, 2003; Instituto de Geografía, 2011).

Las formaciones rocosas de la región pertenecen al llamado segundo período eruptivo, que provocó un aumento del relieve del suelo (conformado por andesitas), originando la formación de nuevos macizos montañosos (Sierra del Valle de Bravo). Durante la tercera fase eruptiva se formaron las coladas basálticas, las hileras de conos y cráteres que surgen a los costados de las sierras (GEM, 2006 y 2011). Los cerros y lomeríos contenidos dentro de la región están constituidos por rocas efusivas que tuvieron su origen en las dos últimas etapas de actividad volcánica (época terciaria y postterciaria).

Edafología

Los tipos de suelos predominantes en Valle de Bravo son los andosoles y el acrisol, seguido del cambisol, vertisol y luviosol en menor proporción. De manera mucho menos extensa se encuentran los suelos leptosol, feozem, planosol y regosol (GEM, 2008; Instituto de Geografía, 2011).



Figura 2. Embalse Valle de Bravo zona de muestreo, primer periodo de colecta durante la época de lluvias el en el 2008 (27 y 28 de septiembre).



Figura 3. Embalse Valle de Bravo zona de muestreo, segundo periodo de colecta durante la época de lluvias en el 2010 (23 al 25 de julio).

Embalse Taxhimay

Hidrología

El embalse Taxhimay se ubica al Sur del poblado de San Luis Taxhimay en el Municipio Villa del Carbón (colindante con el estado de Hidalgo y la parte norte de la zona metropolitana del Valle de México), en el Estado de México. Esta presa fue construida en el año de 1912 con el objetivo de aprovechar las aguas del Río San Luis para riego; pertenece al distrito de riego del Río Tula, en el Valle del Mezquital del Estado de Hidalgo. Corresponde a la cuenca del río Pánuco (región hidrológica No. 26), que nace en el Cerro de San Pablo o la Bufa a 3800 msnm en la sierra La Catedral, a 9 Km al noreste de San Juan Jiquipilco y que en sus orígenes es conocido como río San Jerónimo, mantiene un curso noreste y carece de afluentes de importancia hasta ser almacenados sus escurrimientos en el embalse Taxhimay. Los principales afluentes del embalse son el Río San Luis y los aportes temporales de los ríos Las Palomas y Las Moras durante la época de lluvias.

Clima

El clima de la región (Cb (w1)(w)(i')g) es templado subhúmedo con régimen de lluvias en verano, la temperatura media anual oscila entre 12° y 18° C, con un verano fresco y largo, la oscilación térmica es de entre 5° y 7° C; el mes más frío fluctúa entre los 3° y 8° C y el mes más caliente entre los 6.5° y 22° C. La lluvia anual por cada grado de temperatura va de 43.2 a 53.3 mm (García, 2004). En las regiones con este tipo de clima la vegetación dominante incluye bosques de oyameles (característico de temperaturas medias anuales inferiores a los 12° C). En México las regiones con climas templados se localizan en las zonas montañosas o llanuras de altitud superior a 800 a 1000 msnm, lugares donde la temperatura media desciende por debajo de los 18° C (García, 2004).

Vegetación

La cobertura de suelo colindante al embalse Taxhimay está representada principalmente por suelo agrícola, seguido por matorral templado subpolar (en la parte sur, suroeste) y en menor proporción se encuentra el bosque de latifoliadas caducifolio tropical o subtropical (zona noreste) además de humedales (zona oeste) (UNITAMOS, 2011).

La vegetación de la región está conformada por bosque mixto de pino encino, matorral xerófilo y zonas de cultivo. En el bosque de encino el estrato más importante es el

arbóreo, con alturas promedio de entre los 15 y 20 m, las especies dominantes son *Quercus rugosa*, *Q. laeta* y *Q. mexicana*; el estrato arbustivo está constituido por diversas especies de las familias Compositae, Labiate, Graminae y Leguminosae. El bosque mixto incluye diversas especies de pino y encino, ubicadas principalmente en la Sierra Monte Alto. El matorral xerófilo está representado por especies de cactáceas (*Opuntia streptacantha*) y leguminosas como huizache (*Acacia famesiana*), mezquite (*Prosopis juliflora*) y palo dulce (*Eysenhardtia polystachaya*).

Geomorfología

El embalse Taxhimay forma parte de la Mesa Central de la Altiplanicie Mexicana, se caracteriza por la presencia de regiones montañosas, zonas con escasa pendiente, zonas abruptas y escarpadas, valles interiores, lomeríos y llanuras (GEM, 2006 y 2011). Presenta tres tipos de relieve distribuidos de manera irregular, el primero corresponde a zonas accidentadas (Sierra del Monte Alto y Bajo, Tepetzotlán y Cerro Gordo), el segundo está integrado por zonas semiplanas y el tercero corresponde a zonas planas. El cerro de la Bufa corresponde a la zona más alta de la región (3,600 m.s.n.m.) y en la parte más baja se encuentra el embalse Taxhimay (2,215 m.s.n.m.).

Geología

La provincia del Eje Neovolcánico Transversal se caracteriza principalmente por rocas de origen volcánico reciente (rocas ígneas) y roca verde andesita metamorfizada, pertenecientes al periodo cuaternario y mesozoico (GEM, 2007). El embalse está rodeado por roca lítica con una predominancia de rocas sedimentarias compuestas de caliza (Navarrete, 1981).

Edafología

Los tipos suelos circundantes al embalse Taxhimay están representados por cuatro grupos edáficos, los de mayor cobertura son el vertisol y el feozem, seguidos por los de menor extensión el luvisol y andosol (GEM, 2007).



Figura 4. Embalse Taxhimay, zona de muestreo, primer periodo de recolecta durante la época de lluvias en el 2008 (27 y 28 de septiembre).



Figura 5. Embalse Taxhimay cuando fue drenado al distrito de riego del río Tula en el Valle del Mezquital del Estado de México, durante el segundo periodo de muestreo en el 2010 (del 23 al 25 de julio).

MATERIALES Y MÉTODOS

TRABAJO DE CAMPO

Los muestreos se realizaron durante la época de lluvias en el año 2008 (27 y 28 septiembre) y 2010 (23 al 25 de julio) en ambos sitios de estudio. La recolección del material biológico metafítico (desmidias) se realizó de manera aleatoria (un único sitio de colecta) en las riberas de los embalses descritos (Embalse Valle de Bravo y Embalse Taxhimay). Se midieron *in situ* parámetros físico-químicos (pH, temperatura, oxígeno disuelto y conductividad) con un ponenciómetro portátil Conductronic PC18. El análisis de los nutrientes inorgánicos (nitrato) y fósforo total se efectuó mediante los métodos espectrofotométricos (Hach, 1997), estandarizados y aprobados por USEPA (2003) para el análisis de agua.

Para el estudio taxonómico de las especies, en cada sitio de estudio se tomaron muestras con red de plancton (10 μm de abertura de malla) que fueron colocadas cada una en un frasco con un volumen de 20 ml, a los cuales se les agregó formol hasta alcanzar una concentración 2.5 % de formalina, para su preservación como muestras de herbario. Posteriormente se realizaron preparaciones semipermanentes con gelatina glicerizada para la identificación de las especies. El material recolectado y preservado fue registrado con fotografías y dibujos (Microscopios fotónicos Nikon E400 y Optiphot).

Adicionalmente se recolectó material biológico filtrando agua de cada localidad a través de dos mallas distintas (con una abertura de malla de 100 y 75 μm) con la finalidad de obtener un concentrado de muestra (250 ml) para cada sitio de estudio. Las mallas permitieron la eliminación de organismos no deseados (zooplancton y gran parte de la materia suspendida). La muestra final (concentrado de muestra) se recogió con una red de 10 μm de abertura de malla y fue utilizada para cultivar y seleccionar especies para este estudio. Por último se colectó una muestra de agua (1litro) de cada localidad que se mantuvo en frío con hielo durante el transporte al laboratorio, para la determinación de nitrato inorgánico disuelto y fósforo total. Además en cada sitio de colecta se tomó una muestra de suelo aledaño a los embalses, que posteriormente fue utilizado para el establecimiento de cultivos.

TRABAJO DE LABORATORIO

La selección de la especie de estudio se realizó a partir de especies que crecían en ambas localidades (embalse Valle de Bravo y embalse Taxhimay), entre ellas *Staurastrum gracile* se seleccionó por el alto polimorfismo que mostraron las poblaciones en condiciones *in situ*. La especie *S. gracile* se aisló en cultivos unialgales clonales, partiendo de una célula como inóculo de la población a cultivar.

La determinación taxonómica de los organismos, se efectuó utilizando los microscopios fotónicos Nikon E400 (microscopio de contraste de interferencia diferencial) y Optiphot-2 (campo claro). La especie seleccionada (*S. gracile*) fue registrada con fotografías y dibujos; se identificó empleando bibliografía especializada: West & West (1923), Irene-Marie (1938), Gronbland *et al.* (1958, 1964), Hirano (1959), Krieger & Gerloff (1962), Taft & Taft (1971) y Prescott *et al.* (1982).

S. gracile fue aislada del resto de los organismos de la siguiente forma: 1) Primero se colocó una gota del material recolectado en un porta objetos; 2) Después se observó en un microscopio fotónico (Optiphot) para seleccionar una célula; 3) Por medio de una manguera con un capilar como pipeta se absorbió la célula; 4) La célula fue lavada en varias gotas de medio de cultivo; 5) Después de varios lavados se verificó que solo estuviera presente la célula de interés, fue absorbida y colocada en un tubo con medio de cultivo UTEX (2008) modificado (agua-suelo preparado con suelo de cada localidad), diluido al 50 % con agua de la localidad. Esta dilución sólo se utilizó con los primeros aislamientos, posteriormente se usó sólo el medio UTEX modificado que aquí llamaremos “medio estándar sin modificar (s/m)”, porque conservó el pH registrado *in situ* y mantuvo la proporción de N:P 16:1 (Redfield, 1984) registrada *in situ* y que fue óptima, sin embargo, el medio estandarizado presentó una concentración de nutrientes mucho mayor que la registrada *in situ* (Tabla 2). Los cultivos fueron colocados en una cámara de condiciones controladas con un fotoperíodo (luz-oscuridad de 16-8 horas) y temperatura de 20° C.

La esterilización del agua recolectada *in situ* se realizó utilizando filtros de 0.22 µm con un dispositivo millipore estéril para eliminar bacterias, evitando la desnaturalización de los demás elementos que la conforman.

El medio-agua suelo se preparó por tindalización a través del suelo recolectado de las zonas aledañas a los embalses de cada localidad, el cual, fue molido en un mortero, y posteriormente tamizado.

Componentes	Cantidad	Concentraciones Solución Stock	Concentración final
1 Medio agua-suelo	50 mL/L		
2 MgSO ₄ ·7H ₂ O	10 mL/L	0.2 g/200 mL dH ₂ O	0.04 mM
3 K ₂ HPO ₄	10 mL/L	0.2 g/200 mL dH ₂ O	0.057 mM
4 KNO ₃	10 mL/L	2 g/200 mL dH ₂ O	0.09 mM

Tabla 2. Componentes para 1L de medio estándar sin modificar (s/m)

Sobre este medio estandarizado en condiciones de laboratorio, se elaboraron varias modificaciones, con base en las concentraciones de pH registrados en las localidades de recolecta (embalse Taxhimay pH 8.4 y embalse Valle de Bravo pH 10.6) y nutrientes registradas en condiciones *in situ* para cada sitio de estudio. En los medios con pH modificado se establecieron condiciones contrastantes: pH 5 y 10 para el embalse Taxhimay y pH 5 en el embalse Valle de Bravo. Para el medio con nutrientes modificados, estos se realizaron diluyendo el medio estandarizado para lograr una oligotrofia extrema, pero conservando la proporción 16:1 y el pH registrado en cada sitio de estudio (Tablas 3 y 4).

Componentes	Cantidad Medio estándar sin modificar (s/m)	Cantidad Medio de cultivo con nutrientes modificados	Concentraciones Solución stock	Concentración final
(1) Medio agua-suelo	50 ml/L	50 ml/L		
(2) MgSO ₄ ·7H ₂ O	10 ml/L	10 ml/L	0.2 g/200 ml dH ₂ O	0.04 mM
(3) K ₂ HPO ₄	10 ml/L	5 µl /L	0.2 g/200 ml dH ₂ O	0.0057 mM
(4) KNO ₃	10 ml/L	178 µl/L	2 g/200 ml dH ₂ O	0.09 mM

Tabla 3. Dilución de los nutrientes del medio de cultivo estándar sin modificar (s/m) para el embalse Valle de Bravo

Componentes	Cantidad Medio de cultivo estándar	Cantidad Medio de cultivo con nutrimentos modificados	Concentraciones Solución stock	Concentración final
(1) Medio agua-suelo	50 ml/L	50 ml/L		
(2) MgSO ₄ ·7H ₂ O	10 ml/L	10 ml/L	0.2 g/200 ml dH ₂ O	0.04 mM
(3) K ₂ HPO ₄	10 ml/L	8.67 µl /L	0.2 g/200 ml dH ₂ O	0.0057 mM
(4) KNO ₃	10 ml/L	411.11 µl/L	2 g/200 ml dH ₂ O	0.09 mM

Tabla 4. Dilución de los nutrimentos del medio de cultivo estándar sin modificar (s/m) para el embalse Taxhimay

Mediante el material *in situ* recolectado en el campo y de las poblaciones aisladas en cultivos se realizó: 1) una descripción morfológica detallada de la especie; 2) el establecimiento de cuadros con caracteres morfológicos específicos de la especie; 3) un análisis de la variabilidad fenotípica de *S. gracile* durante sus ciclos de vida (asexual y sexual) y 4) una evaluación de la variabilidad fenotípica durante su fase adulta.

Se utilizaron los cultivos estándar (s/m) para el análisis de la variabilidad morfológica durante su ciclo de vida y fase adulta (madura), la cual fue registrada mediante fotografías y dibujos con cámara lúcida (Microscopios fotónicos Nikon E400 y Optiphot). También parte del material se preparó para su observación al microscopio electrónico de barrido (JSM5310-LV Jeol).

Por otra parte, los cultivos modificados con diferentes concentraciones de nutrimentos y pH, se utilizaron para evaluar la respuesta y plasticidad fenotípica de la especie. Los cambios morfológicos asociados a estos ambientes, se registraron por medio de fotografías (microscopios fotónicos Nikon E400 y Optiphot) y dibujos.

Se ensayó un método de Microscopía electrónica de Barrido (MEB) específico para desmidias, debido a la copiosa cantidad de mucílago generada en las paredes celulares, que dificultaba la visibilidad de las imágenes. El método estuvo conformado por 4 fases distintas, la primera involucró la eliminación del mucílago y colecta de las células, en la segunda se realizó la fijación primaria y secundaria del material a fotografiar, en la tercera

se realizó un lavado con buffer de NaCac (cacodilato de sodio) a 0.1 M, y en la cuarta las muestras se deshidrataron en una batería de alcoholes (50%, 70%, 95% y 100%), y en la última fase se realizó el secado a punto crítico, para su posterior cubrimiento con oro y observación al MEB.

Durante la eliminación del mucílago y colecta de las células, se utilizaron cultivos unialgales (clonales) de *S. gracile*, que fueron diluidos en medio de cultivo para evitar el empalme de las células. A partir de las diluciones se suspendió un concentrado de muestra (cultivo) de 5 ml en una solución de CTAB 2X durante 24 horas previas al proceso de fijación, con el objetivo de remover el mucílago (Tavera & Calderón, observaciones personales). A través de un filtro con diámetro de 1.3 cm y abertura de poro de 10 y 20 μm , se colectaron las células por succión con jeringa. Una vez colectadas las células en el filtro se colocaron en un sobre de malla fina y fueron etiquetadas por número de muestra.

La fijación primaria de las muestras (sobre de malla fina + filtro) se llevó a cabo con glutaraldehído al 2% (GTA) y medio s/m, durante 30 minutos (la solución fijadora contiene 1.6 ml de GTA al 2% y 38.4 ml de medio de cultivo). La fijación secundaria se realizó durante 2 horas con una solución fijadora que contenía 16 ml de GTA al 2%, 20 ml de buffer de cacodilato de sodio (NaCac) con pH de 7.2 y 18.4 ml de medio de cultivo.

En seguida de la fijación secundaria, la muestra fue lavada cuatro veces durante 10 minutos en buffer de NaCaC a 0.1 M (la solución buffer contiene 20 ml de NaCac 0.1M y 20 ml de agua destilada).

Posteriormente las muestras se deshidrataron en series de etanol de 50%, 70%, 95% y 3 x 100% durante 15 minutos cada uno. La muestra se transfirió después a una caja de Petri con etanol al 100%. Fue muy importante que las muestras no se dejaran secar durante los pasos antes mencionados, para evitar el colapso y distorsión de las células.

El secado a punto crítico se efectuó mediante un aparato de bomba de presión que llevó a cabo la deshidratación. El etanol fue remplazado con CO_2 líquido bajo presión, la temperatura se elevó por encima del punto crítico del CO_2 líquido, pasando inmediatamente a la fase gaseosa, las muestras se secaron en cuanto el líquido se transformó en gas. Los filtros contenidos en los sobres de malla fina fueron colocados en un cilindro de aluminio y cubiertos con oro, para su visualización en el microscopio electrónico de barrido (MEB).

Diseño experimental para el análisis de morfometría geométrica

La evaluación estadística se enfocó en la delimitación de *S. gracile* en relación con sus variedades y otras especies relacionadas morfológicamente del género *Staurastrum*. Para ello se determinaron los ejemplares que fueron utilizados para el análisis (población muestral), que abarcaron ejemplares de condiciones *in situ*, cultivados en condiciones estándar, y en pH 5 de ambas localidades, además de dibujos o fotografías registradas en la literatura para las especies seleccionadas (Tabla 5) (Ver referencias en el Anexo II). No se consideraron los ejemplares de cultivos con pH 10 y nutrimentos modificados debido a su crecimiento alométrico marcado, pues el programa de morfometría impone restricciones para formas alométricas y la distribución de los puntos de referencia para los ejemplares de pH 10 hubiera sido imprecisa.

Para el análisis de morfometría geométrica se eligieron un total de 55 ejemplares (fotografías y dibujos), representados por células juveniles de cultivos estándar durante el ciclo sexual (que se traslapaban con variedades de la especie) y células adultas en condición de (s/m) y pH 5 (cultivos modificados) e *in situ* de cada sitio de estudio. También se incluyeron dibujos y fotografías de ejemplares adultos de *Staurastrum gracile* Ralfs 1848, *Staurastrum gracile* var. *nanum* Wille 1880, *Staurastrum gracile* var. *coronulatum* Boldt 1885 y *Staurastrum paradoxum* Meyen ex Ralfs 1848, registrados en la bibliografía (Tabla 5).

Para la evaluación de la forma de la célula de cada ejemplar seleccionado (fotografías y dibujos), se digitalizaron 24 puntos de referencia con el software IMP morphometrics software, Serie Tpsdig, los cuales representaron los caracteres morfológicos más importantes que se han evaluado para reconocer a la especie *S. gracile*. Los puntos de referencia se colocaron en la parte media del margen apical de las hemicélulas (Fig. 6, puntos 1 y 2), en los márgenes del istmo (Fig. 6, puntos 3 y 4), en la parte basal de cada proceso (Fig. 6, puntos del 5 al 12), en la zona cóncava de los márgenes laterales de las hemicélulas (Fig. 6, puntos 13, 14, 17 y 18), en el área convexa de los márgenes laterales basales (Fig. 6, puntos 15, 16, 19 y 20) y en la parte apical de los procesos (Fig. 6, puntos 21, 22, 23 y 24).

Número de Ejemplares	Embalse Valle de Bravo	Embalse Taxhimay	Tipo de ejemplar	Origen del ejemplar (ver anexo II)
6	✓		Adultos	Cultivo (s/m)
6		✓	Adultos	Cultivo (s/m)
5	✓		Adultos	Muestras <i>in situ</i>
4		✓	Adultos	Muestras <i>in situ</i>
5	✓		Adultos ciclo sexual	Cultivo (s/m)
6	✓		Juveniles ciclo sexual	Cultivo (s/m)
4	✓		Adultos	Cultivo pH 5
5		✓	Adultos	Cultivo pH 5
Ejemplares elegidos de la literatura (Ver referencias en el anexo II)				
6	<i>Staurastrum gracile</i>		Adultos	Literatura
3	<i>Staurastrum paradoxum</i>		Adultos	Literatura
2	<i>Staurastrum gracile</i> var. <i>coronulatum</i>		Adultos	Literatura
3	<i>Sataurastrum gracile</i> var. <i>nanum</i>		Adultos	Literatura

Tabla 5. Ejemplares seleccionados para el análisis morfométrico (se señala con una palomita la localidad a la que pertenecen los ejemplares).

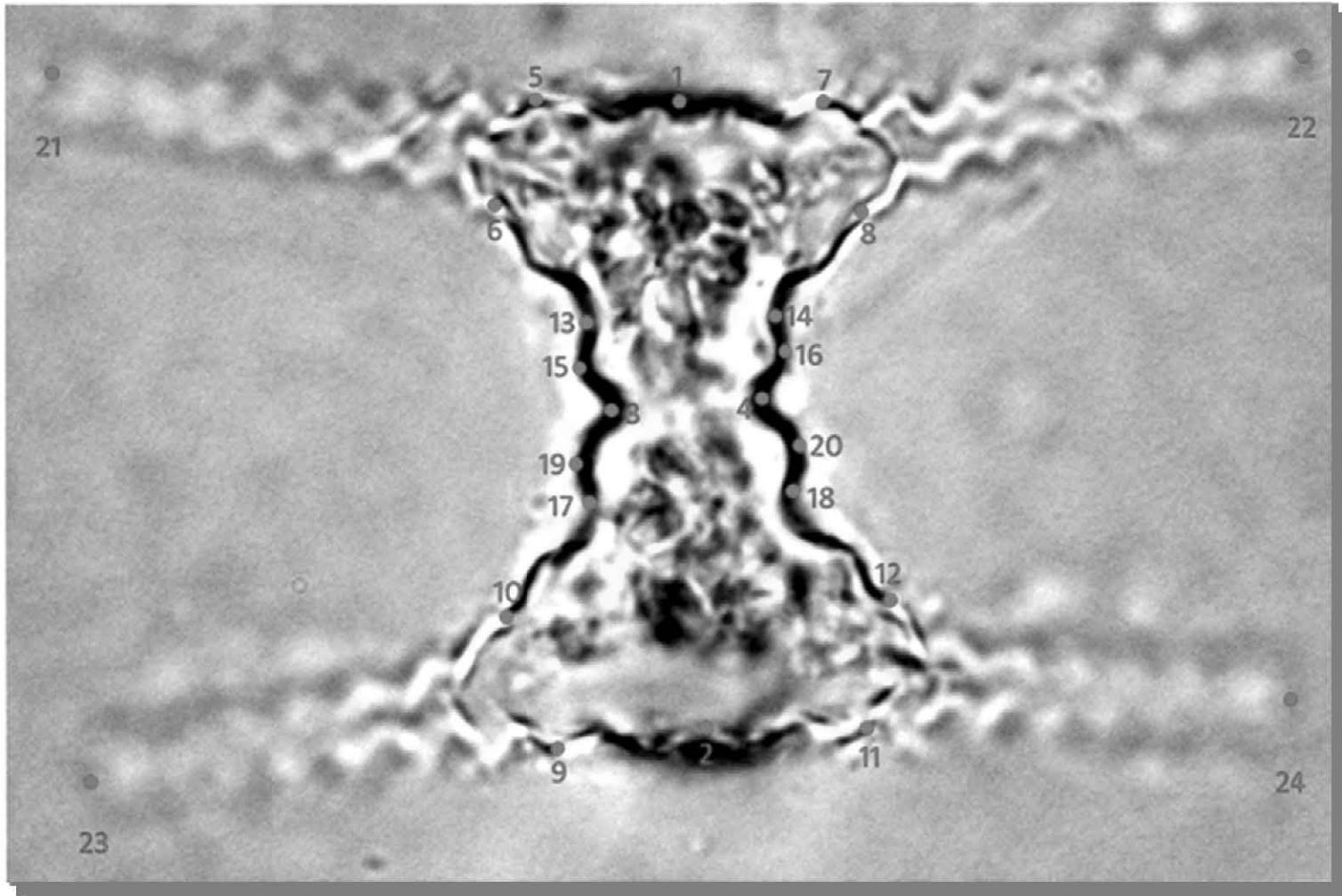


Figura 6. Puntos de referencia seleccionados para el análisis de morfometría geométrica.

El análisis estadístico se ejecutó a partir de los ejemplares (fotografías y dibujos) con puntos de referencia digitalizados, se efectuó un análisis generalizado de coordenadas comunes llamado Procrustes (GPA), con el software MorphoJ 1.03d (Klingenberg, 2011), procedimiento que eliminó la variación de la ubicación, orientación y escala de las muestras digitalizadas en superposiciones y sistemas de coordenadas comunes (Figura 7). Posteriormente se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA por sus siglas en inglés) y Canónico (CVA) con el mismo software (MorphoJ 1.03d). Con base en estos análisis se evaluó la forma a partir de un sistema de coordenadas comunes, que permitió clasificar y separar grupos en una representación gráfica.

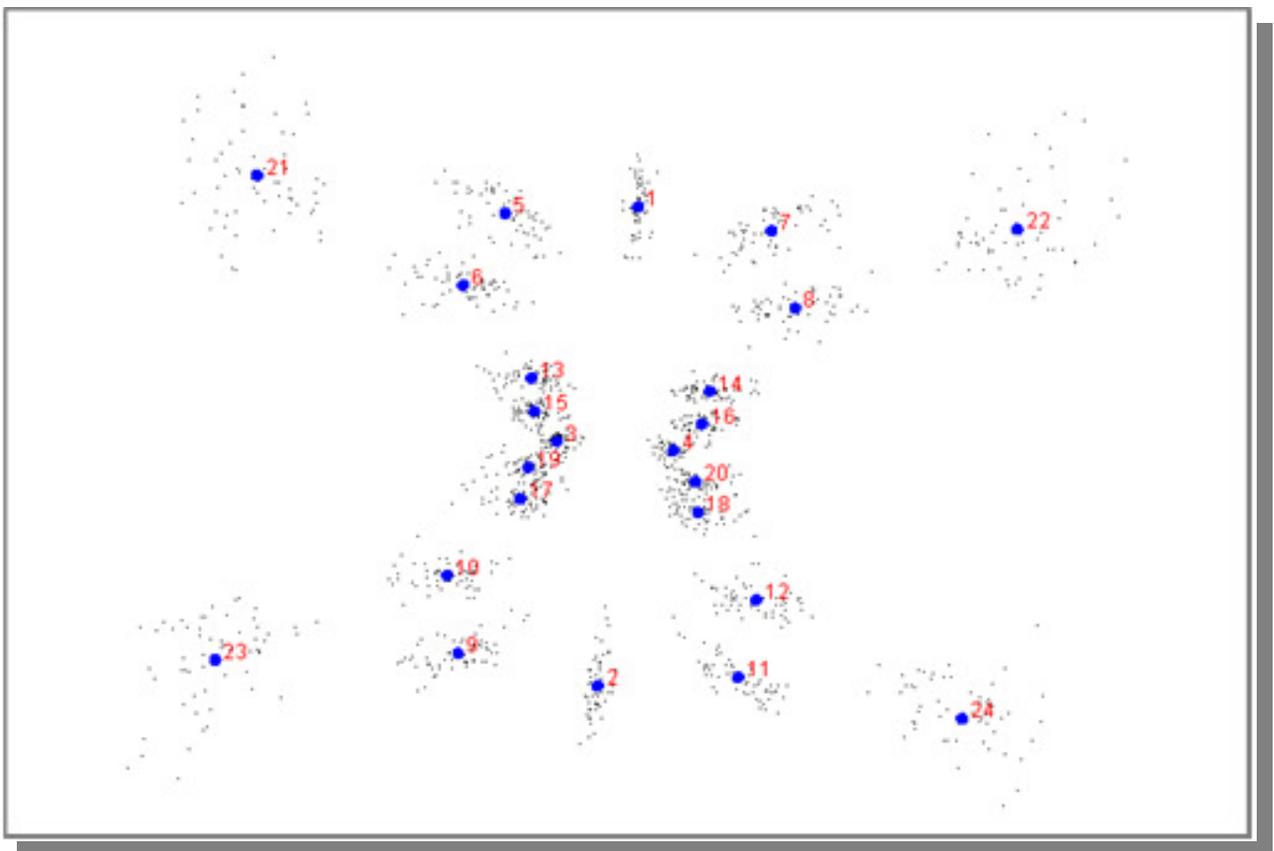


Figura 7. Análisis Generalizado de Procrustes (GPA).

RESULTADOS

Variables ambientales

Los valores de las variables ambientales tomados durante el primer muestreo en la época de lluvias (26 al 28 de septiembre del 2008) en el embalse Valle de Bravo fueron las siguientes: pH 10.6 unidades, temperatura 22.8° C, oxígeno disuelto 7.74 g l⁻¹, conductividad de 0.15 mS cm⁻¹. En el caso del Embalse Taxhimay el pH fue de 8.45, la temperatura de 17.9° C, el oxígeno disuelto de 4.8 g l⁻¹, la conductividad de 0.12 mS cm⁻¹ (Tabla 6). Las variables ambientales registradas en ambos sitios de estudio mostraron distintos valores, las diferencias más pronunciadas se observaron en la temperatura, pH y oxígeno disuelto (Tabla 6).

En cuanto al segundo muestreo durante la época de lluvias (23 al 25 de julio 2010) en el embalse Valle de Bravo los valores de las variables ambientales fueron las siguientes: pH 11.6 unidades, temperatura 21.9° C, oxígeno disuelto 8.8 g l⁻¹ y conductividad de 0.160 mS cm⁻¹. Los valores ambientales registrados en ambos periodos de estudio fueron muy similares, aunque presentaron ligeras variaciones (Tabla 6).

En el embalse Taxhimay no fue posible realizar el segundo periodo de recolecta (2010), debido a que la presa había sido drenada al distrito de riego del Río Tula, en el Valle del Mezquital del Estado de Hidalgo.

Los datos sobre las concentraciones de nutrimentos para las dos localidades durante el primer periodo de muestreo en su forma nitrogenada (amonio y nitrato) y fósforo total se encuentran registrados en la Tabla 7. Las concentraciones de nutrimentos (Amonio, Nitritos, Nitratos, Fosforo total y Nitrógeno inorgánico soluble) presentaron valores muy similares en ambos sitios de estudio (Tabla 7).

Los nutrimentos inorgánicos disueltos (nitrato, nitrito y amonio) y fósforo total durante el segundo periodo de muestreo en el embalse Valle de Bravo, se reportan en la Tabla 7. Comparando las concentraciones de nutrimentos registradas en esta localidad en ambos muestreos, mostraron diferencias significativas en las diferentes formas (orgánica e inorgánicas disueltas) de los nutrimentos (Tabla 7).

Variables ambientales	Embalse Valle de Bravo (primer periodo de muestreo)	Embalse Taxhimay (primer periodo de muestreo)	Embalse Valle de Bravo (segundo periodo de muestreo)
Temperatura °C	22.8	17.9	21.9
pH	10.6	8.45	11.6
Conductividad mS	0.15	0.12	0.160
Oxígeno disuelto mg l ⁻¹	7.74	4.8	8.8
Ubicación	N 19° 10.350' O 100° 08.636'	N19° 50.072' O 99° 23.920'	N 19° 10.350' O 100° 08.636'
Elevación msnm	1772	2215	1772
Sensor (hora de la toma de datos)	14:49	14:30	12:20

Tabla 6. Registro de las variables ambientales de ambos sitios de estudio durante ambos periodos de muestreo en época de lluvias (27 al 28 de septiembre del 2008 y del 23 al 25 de julio en el 2010).

Nutrientos	Embalse Valle de Bravo (primer periodo de muestreo)	Embalse Taxhimay (primer periodo de muestreo)	Embalse Valle de Bravo (segundo periodo de muestreo)
Amonio mg l ⁻¹ y M NH ₄ -N	0.05 mg l ⁻¹ 0.000901 M	0.05 mg l ⁻¹ 0.000901 M	0.18 mg l ⁻¹ 0.0032 M
Nitratos mg/l y M NO ₃ -N	2.1 mg l ⁻¹ 0.159634 M	2.3 mg l ⁻¹ 0.174826 M	0.01 mg l ⁻¹ 0.0007 M
Nitritos mg l ⁻¹ y M NO ₂ -N	0.004 mg l ⁻¹ 0.000240 M	0.004 mg l ⁻¹ 0.000240 M	0.001 mg l ⁻¹ 0.00006 M
Fósforo total mg l ⁻¹ y M P _{tot}	0.44 mg l ⁻¹ 0.041787 M	0.47 mg l ⁻¹ 0.044636 M	0.11 mg l ⁻¹ 0.0104 M
NID M	0.161115 M	0.176307 M	0.00396 M

Tabla 7. Concentraciones de nutrientes (mg l⁻¹ y Molar) registradas en época de lluvias (durante ambos periodos de muestreo, del 27 al 28 de septiembre del 2008 y del 23 al 25 de julio en el 2010) en ambos sitios de estudio.

Caracterización taxonómica de *Staurastrum gracile*

Empleando bibliografía especializada se identificaron los caracteres diagnósticos que definen al grupo más relevantes para determinar especies del género *Staurastrum*. Los más importantes fueron: la forma de las células, dimensiones y forma del istmo, constricción media, forma del sinus; ornamentaciones de la pared, número y dirección de los procesos, forma de los márgenes apicales y basales en vista frontal; en vista apical, forma de las células, ornamentaciones de la pared y tipo de márgenes laterales. Durante la etapa reproductiva la forma del cigoto, ornamentaciones de la cigospora y dimensiones (diámetro) de las células (Tabla 8 y Fig. 8).

La especie de estudio (*S. gracile*) exhibió los siguientes estados de carácter: hemicélulas con forma cuneiformes o de taza, istmo estrecho (Fig. 8b c y h) que en ocasiones presenta ornamentaciones (espinas) en la parte superior del mismo (Fig. 9a), una constricción media ligera (Figs. 13m y 8b g), sinus agudo (Fig. 12i, 8b c) o en forma de U (Figs. 14p, 8b h), procesos divergentes (Figs. 12k , 13 l y 8b a), rectos (Figs. 9c y 14q) o convergentes, ornamentados con un arreglo de 4 espinas a lo largo y en la parte terminal de los mismos (Figs. 10f, 8b a), en vista frontal células con márgenes apicales ligeramente convexos a rectos (Figs. 9b y 13n, 8b e y f), los márgenes basales son convexos y divergen hacia los procesos (Figs. 12j y 8b i); células en vista apical con forma triangular (8b m) o cuadrangular, con márgenes laterales rectos a ligeramente convexos (Figs. 10 e y 8b k), cercanos a estos márgenes frecuentemente se observan una serie de pequeñas espinas emarginales, que algunas veces se muestran pareadas dentro de cada margen lateral de la célula (Figs. 10d y 8b l), el cigoto es globoso con procesos que se ramifican dicotómicamente en la parte terminal y presentan dientes divergentes en el ápice de las ramificaciones (Fig. 11g). Las dimensiones registradas en las células fueron: el largo con procesos, largo sin procesos, ancho con procesos, ancho sin procesos, ancho del istmo, y durante la reproducción sexual se registró el diámetro de la cigospora con y sin procesos (Fig. 11 g, h y Tabla 8). De acuerdo con estos criterios taxonómicos (caracteres diagnóstico y estados de carácter) reconocimos dos poblaciones de *Staurastrum gracile*.

Las poblaciones de *S. gracile* en ambas localidades presentaron diferentes dimensiones, pues las poblaciones de embalse Valle de Bravo mostraron individuos más pequeños dentro del intervalo reconocido para la especie, mientras que las del embalse Taxhimay presentaron un intervalo mayor (Tabla 8). También se observó que la mayor parte de los caracteres diagnósticos reconocidos en la bibliografía para la especie de estudio, eran compartidos con otros taxones, como *Staurastrum paradoxum* y *Staurastrum gracile* var. *coronulatum*.

A partir de una documentación bibliográfica reconocimos que las variedades de *S. gracile* han sido separadas principalmente por sus dimensiones, sin embargo *S. gracile* var. *coronulatum* exhibe ciertos rasgos morfológicos, como las ornamentaciones emarginales pareadas dentro de cada margen lateral en vista apical, que son compartidos tanto con la especie nominal como con *S. gracile* de nuestras localidades. También la documentación bibliográfica realizada evidenció un problema de identificación taxonómica entre *S. gracile* y *S. paradoxum*. Para algunos autores no ha sido fácil distinguir estas dos especies (West & West, 1923; Irene-Marie, 1938), debido a que ambas comparten varios estados de carácter, y hasta ahora han sido diferenciadas por el tamaño (grosor) y divergencia de los procesos, además de la presencia o ausencia de las ornamentaciones (espinas) emarginales dentro de los márgenes laterales en vista apical (Irene-Marie, 1938). Las ornamentaciones en vista apical han sido consideradas como un rasgo morfológico específico para separar a estas especies, ya que *S. paradoxum* no debería presentarlas, sin embargo existen varias descripciones que han registrado a *S. paradoxum* con tales espinas en cada margen lateral en vista apical (West & West, 1923; Hirano, 1959).

Los estados de carácter que comparte la especie *Staurastrum gracile* registrada en nuestros sitios de estudio y *Staurastrum paradoxum* descrita en la bibliografía fueron: la forma de la célula cuneiforme, los procesos divergentes, los márgenes apicales ligeramente convexos, el istmo estrecho (Figs. 15, 16, 17, 18 y Tabla 9 y 10); en vista apical la forma (triangular y cuadrangular), ornamentación (espinas emarginales a lo largo de cada margen lateral de la célula) y márgenes rectos a ligeramente convexos de las células y los procesos rematados con cuatro espinas terminales (Tabla 9 y Fig. 19). Los caracteres no compartidos entre ambas especies son: los márgenes apicales rectos a ligeramente cóncavos, la constricción media profunda (*Staurastrum paradoxum*) y el sinus en forma de U (*Staurastrum gracile*) (Tabla 9). En vista apical las poblaciones de *S. gracile* de ambas localidades, presentaron ornamentaciones cercanas a los márgenes laterales de la célula (espinas emarginales en cada margen lateral, que ocasionalmente se presentan en pares) (Figs. 20 y 22), rasgo que fue compartido con *Staurastrum gracile* var. *coronulatum* (Fig. 21), además de las dimensiones y la forma general de los individuos (Figs. 23, 24, 21).

A través de una exploración bibliográfica sobre las descripciones y dibujos por autores especializados en la taxonomía del grupo (desmidias), se observó que la plasticidad fenotípica de *S. gracile* es amplia (Figs. 15-19 a, b y c). Nuestras poblaciones *in situ* coincidieron morfológicamente con los reportados por West & West (1923) e Irene-Marie (1938) ya que compartieron procesos divergentes y en vista apical presentaron una radiación triradial o tetradial. Durante esta exploración, se observó también una traslape entre la especie *Staurastrum gracile* y *Staurastrum paradoxum*, sobre todo relacionada con la divergencia de los procesos, tamaño y forma de las hemicélulas (Figs.

15 a, b, c; 16 a, b, c; 17 a, b, c; 18 a, b, c; 19 a, b, c, d, y Tabla 9). Además se identificó que los Individuos reconocidos bajo el nombre de *S. gracile* han sido registrados para varios estados de los Estados Unidos y la mayoría de las provincias de Canadá, Inglaterra, Europa y Asia, por tal motivo se menciona su distribución cosmopolita (West & West, 1923; Hirano, 1959; Prescott *et al.*, 1982) (Tabla 10).

En la naturaleza las poblaciones de *S. gracile* se caracterizaron por presentar procesos (3 o 4) divergentes y ligeramente divergentes a casi rectos. De acuerdo al grado de divergencia y cantidad de los procesos se determinó que existían tres morfotipos dentro de las poblaciones, el morfotipo 1 se caracterizó por tener en vista frontal procesos largos y divergentes con una radiación trirradiada (tres procesos) en vista apical, el cual se manifestó con mayor frecuencia a nivel poblacional (Figs. 26, 28, 30 y 31), el morfotipo 2 con procesos menos divergentes a casi rectos que en vista apical fue trirradiado (Figs. 25, 27, 29 y 31), y el morfotipo 3 con procesos divergentes en vista frontal y una radiación tetra radiada en vista apical, presentándose en menor proporción dentro de las poblaciones.

Dimensiones de las células	Embalse Taxhimay en condiciones <i>in situ</i>	Embalse Valle de Bravo condiciones <i>in situ</i>	Diámetro de la cigospora del embalse Valle de Bravo en cultivo estándar
Largo con procesos	24.9 – 68.06 μm	28.22 – 49.8 μm	26 – 36.3 μm
Largo sin procesos	18.26 – 31.54 μm	19.92 – 21.58 μm	18.48 – 21.78 μm
Ancho con procesos	28.22 – 71.38 μm	21.58 – 49.8 μm	27.06 – 36.3 μm
Ancho sin procesos	11.62 – 16.6 μm	11.62 – 13.28 μm	18.48 – 21.78 μm
Istmo	4.8 – 6.6 μm	4.8 – 6.6 μm	

Tabla 8. Dimensiones registradas para *Staurastrum gracile in situ* en ambos sitios de estudio.

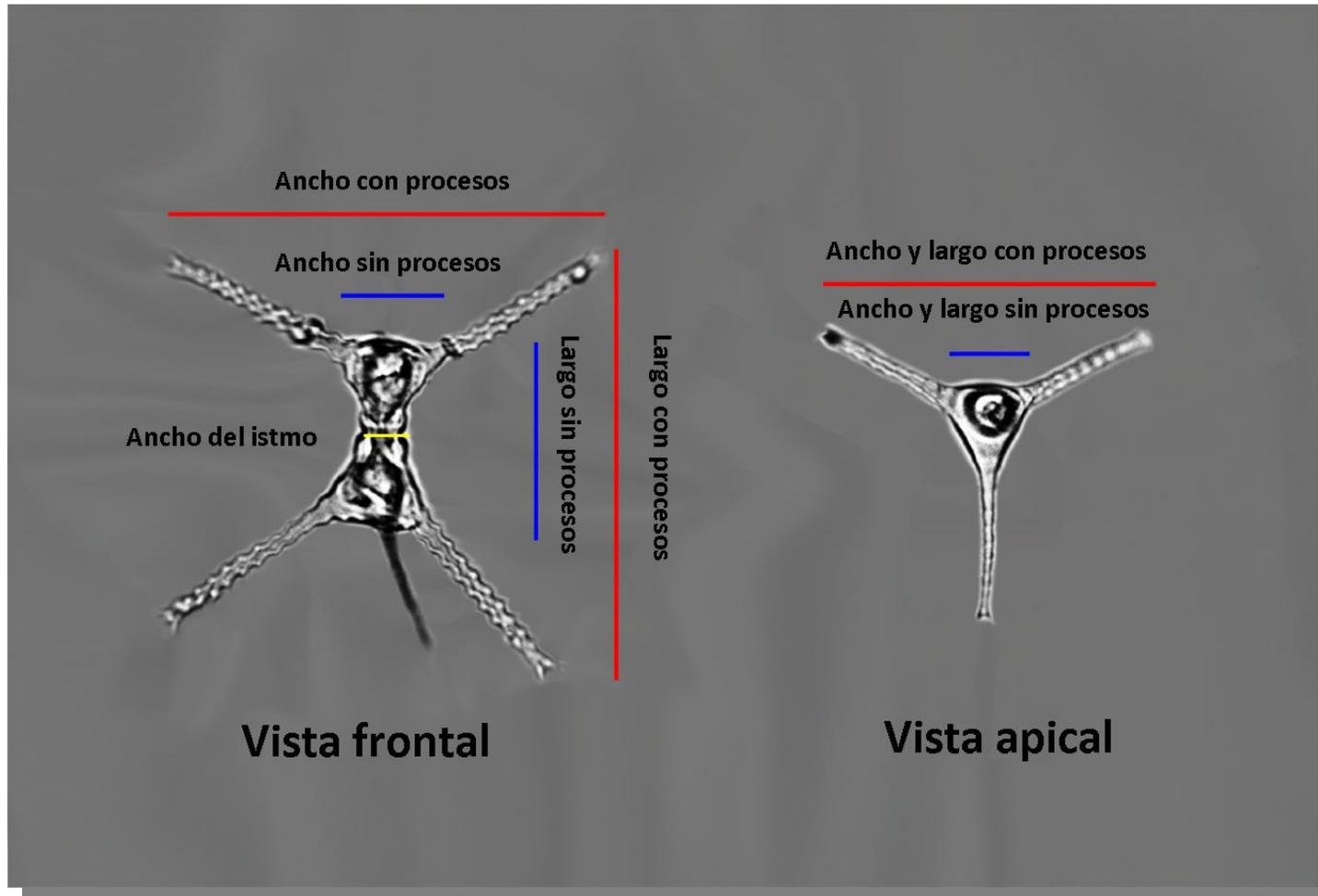


Figura 8a. Dimensiones registradas de los ejemplares de ambas localidades.

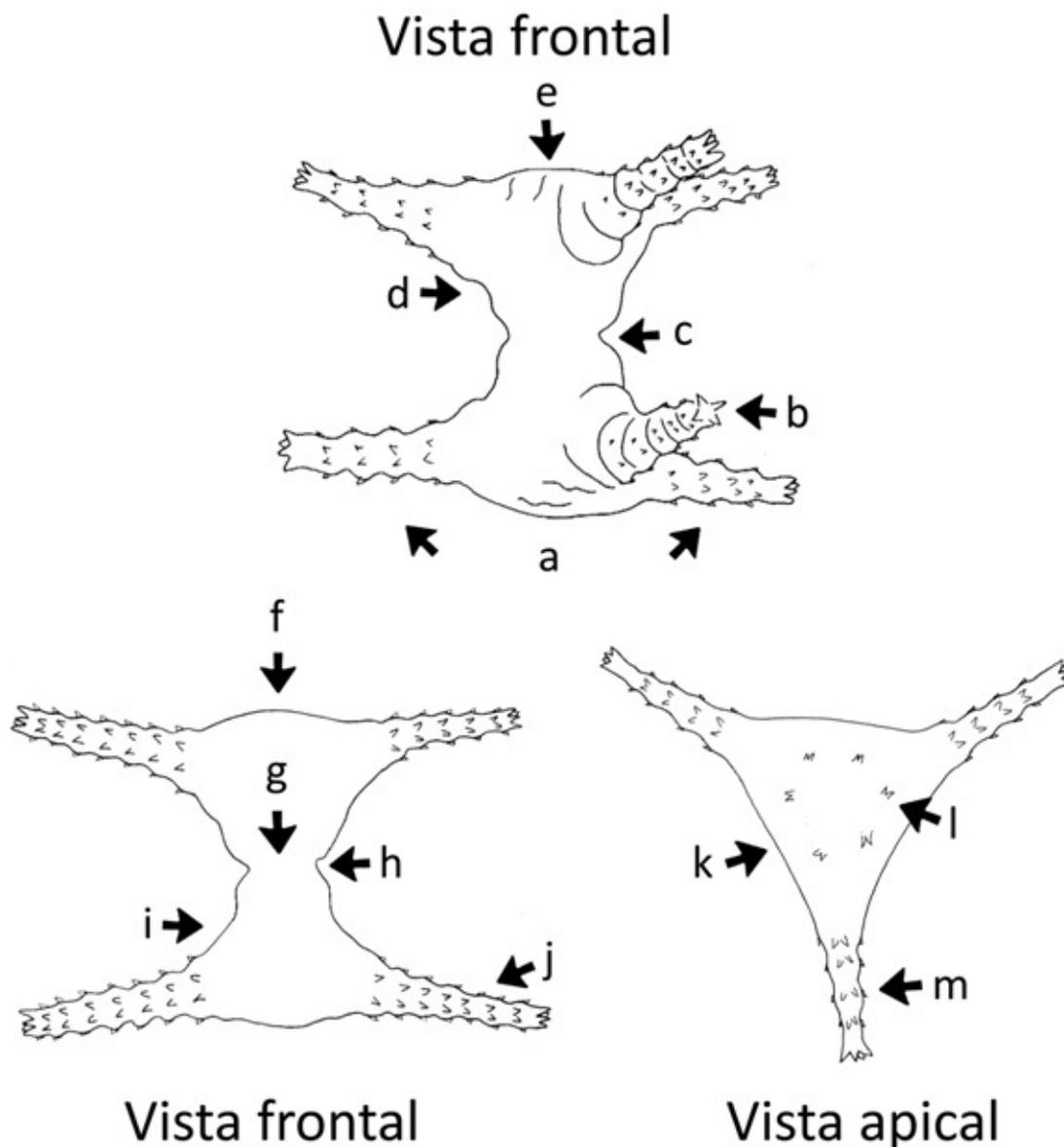
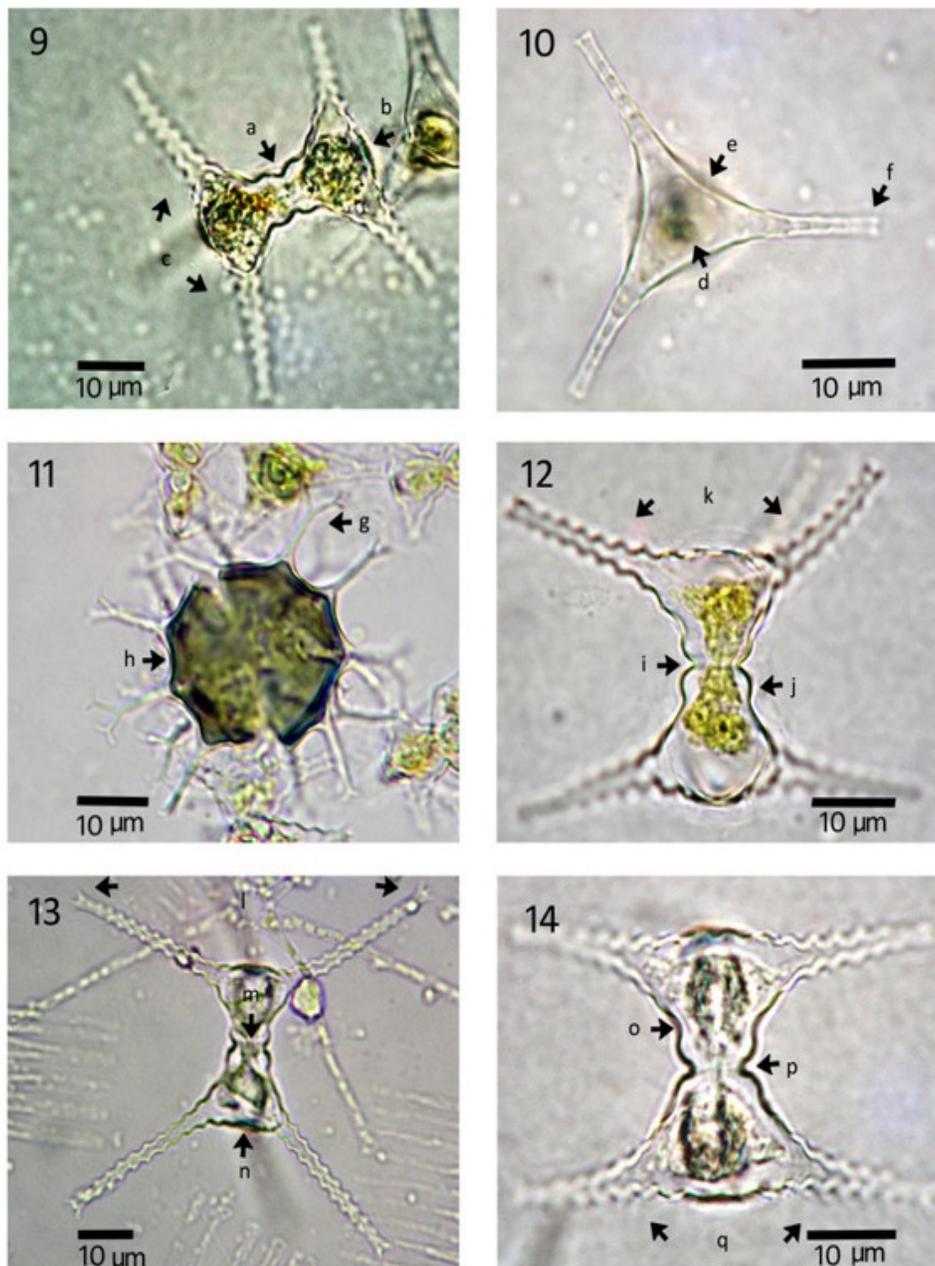


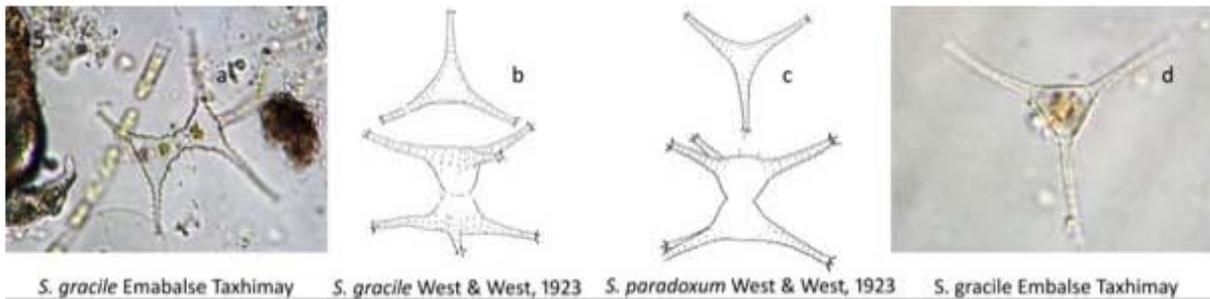
Figura 8b. Representación gráfica de los caracteres diagnósticos y diacríticos, relevantes para la determinación taxonómica de *Staurastrum gracile*, obtenida a partir de nuestro material fotográfico de microscopía fotónica y barrido; a) Procesos ligeramente divergentes a casi rectos, con un arreglo de anillos de cuatro espinas divergentes que comienza desde la base de los procesos hasta la parte terminal de los mismos; b) Arreglo de cuatro espinas divergentes en la parte apical de los procesos; c y h) Isthmo estrecho con forma de U o ligeramente agudo; d) Ángulos superiores que proyectan los procesos; e y f) Márgenes apicales rectos a ligeramente convexos; g) Constricción media ligera; i) Márgenes basales de la hemicélula ligeramente convexos que divergen hacia los procesos; j) Procesos largos y delgados de longitud variable, cada proceso presenta un arreglo de anillos de 4 espinas divergentes; k) Célula en vista apical con márgenes laterales rectos a ligeramente convexos; l) Dentro de los márgenes laterales en vista apical la célula muestra una serie de pequeñas espinas emarginales que en ocasiones se muestran en pares; m) Célula trirradiada que exhibe tres procesos que se proyectan en cada hemicélula.



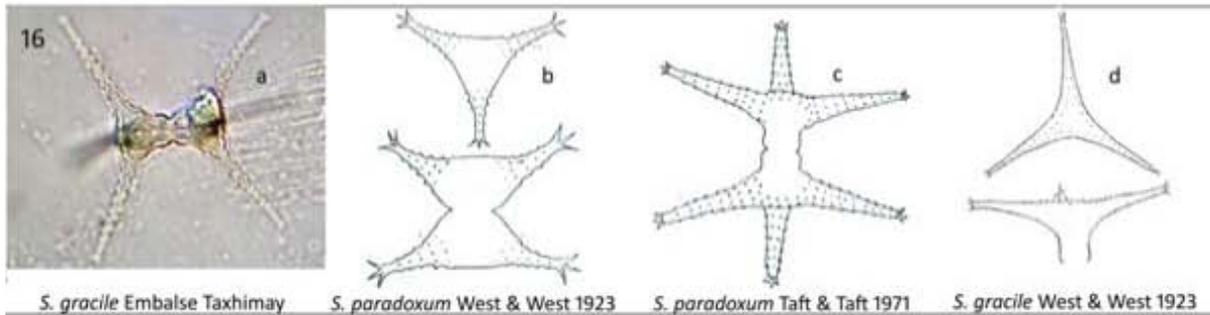
Figs. 9-14. Estados de caracteres relevantes para la determinación taxonómica de *Staurastrum gracile*. a) Istmo estrecho; b y n) Márgenes apicales rectos a ligeramente convexos; c) Procesos ligeramente divergentes; d) En vista apical ornamentaciones (espinas) emarginales a lo largo de cada margen lateral de la célula; e) En vista apical márgenes laterales rectos a ligeramente convexos; f) Procesos con ornamentaciones en la parte terminal (4 espinas); g y h) Cigospora madura ornamentada con largos procesos, que en su parte terminal presentan 4 dientes divergentes; k y l) Procesos divergentes ornamentados con un arreglo de 4 espinas divergentes; i) Sinus agudo; j) Márgenes basales ligeramente convexos que divergen hacia los procesos; m) Constricción media ligera; o) Ángulos superiores que proyectan los procesos; p) Sinus en forma de U; q) Procesos rectos ornamentados con espinas terminales (4 espinas).

Estados de carácter	<i>Staurastrum gracile</i> (Embalse Taxhimay)	<i>Staurastrum paradoxum</i> (literatura)
Células cuneiformes con forma de taza.	X	X
Procesos divergentes	X	X
Sinus agudo	X	X
Sinus en forma de U	X	–
Márgenes apicales ligeramente Rectos	X	–
Márgenes apicales ligeramente convexos	X	X
Constricción media ligera	X	X
Constricción media profunda		X
Istmo estrecho	X	X
Vista vertical triangular y cuadrangular	X	X
Procesos con un arreglo de anillos de 4 espinas a lo largo de ellos y en la parte terminal.	X	X
En vista frontal márgenes rectos a ligeramente convexos.	X	X
En vista apical márgenes rectos a ligeramente cóncavos		X
Ornamentaciones (espinas) emarginales en vista apical.	X	X

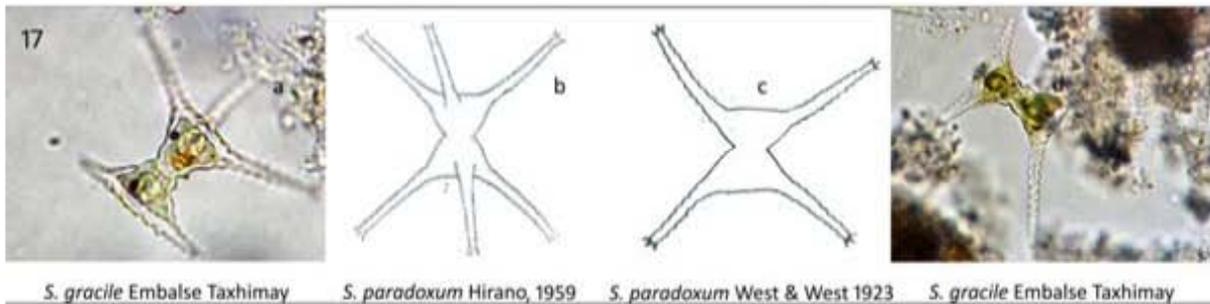
Tabla 9. Estados de carácter que comparte la especie *Staurastrum gracile* registrada para el sitio de estudio Presa Taxhimay y *Staurastrum paradoxum* descrita en la literatura (West & West, 1923; Irene-Marie, 1938; Hirano, 1959; Taft & Taft, 1971; Prescott *et al.*, 1982).



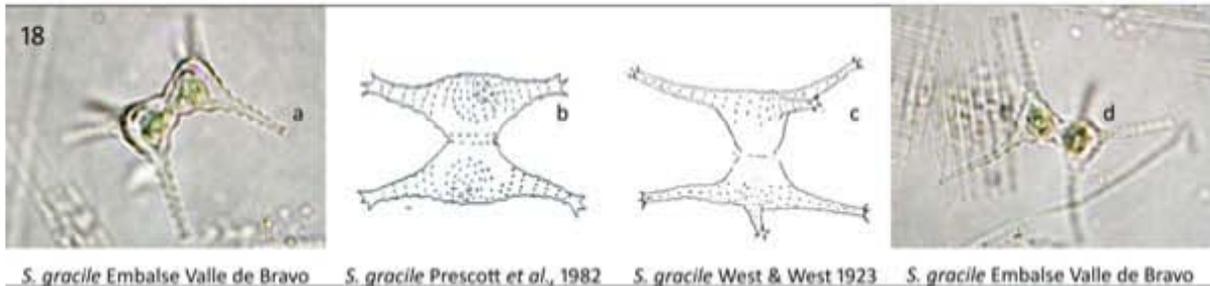
15. *S. gracile* Embalse Taxhimay *S. gracile* West & West, 1923 *S. paradoxum* West & West, 1923 *S. gracile* Embalse Taxhimay



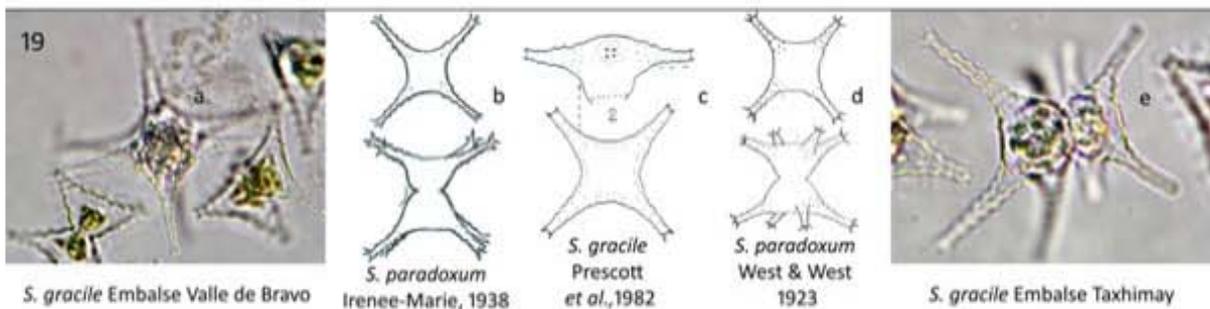
16. *S. gracile* Embalse Taxhimay *S. paradoxum* West & West 1923 *S. paradoxum* Taft & Taft 1971 *S. gracile* West & West 1923



17. *S. gracile* Embalse Taxhimay *S. paradoxum* Hirano, 1959 *S. paradoxum* West & West 1923 *S. gracile* Embalse Taxhimay

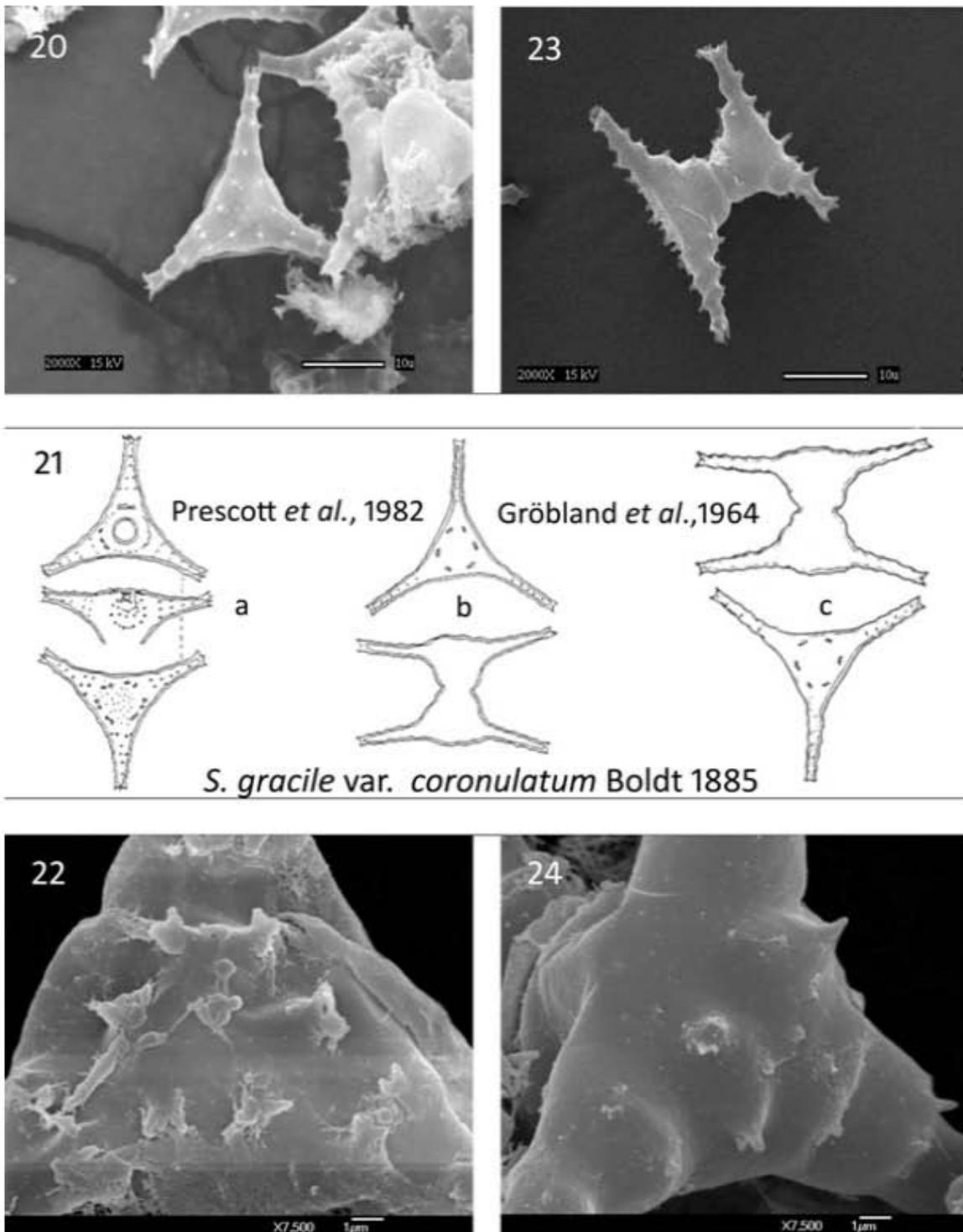


18. *S. gracile* Embalse Valle de Bravo *S. gracile* Prescott et al., 1982 *S. gracile* West & West 1923 *S. gracile* Embalse Valle de Bravo



19. *S. gracile* Embalse Valle de Bravo *S. paradoxum* Irene-Marie, 1938 *S. gracile* Prescott et al., 1982 *S. paradoxum* West & West 1923 *S. gracile* Embalse Taxhimay

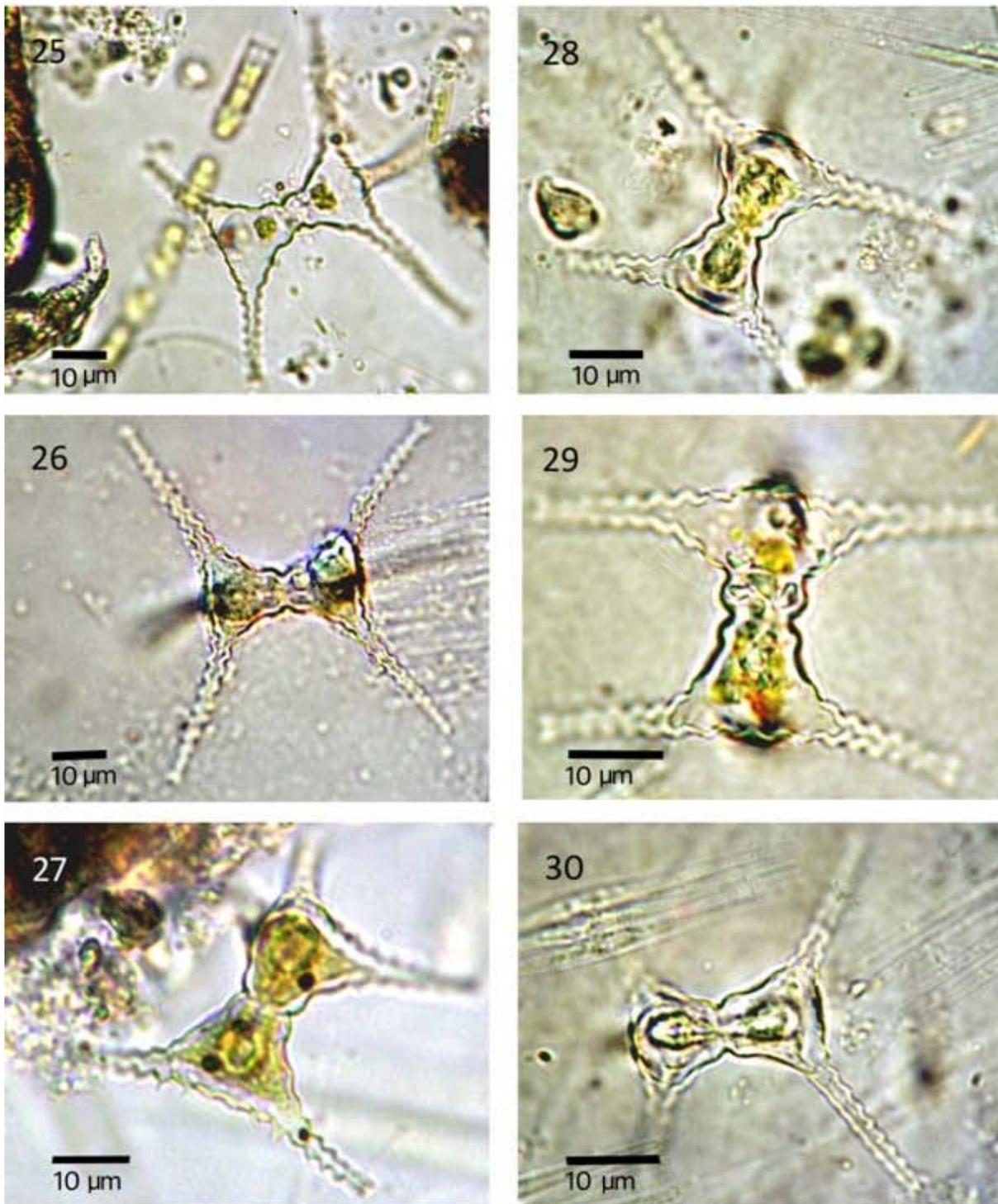
Figs. 15-19 a, b, c y d. Caracteres morfológicos compartidos entre ambas especies (*Staurastrum gracile* y *Staurastrum paradoxum*) a partir de bibliografía especializada (consultar anexo III para las referencias de los dibujos).



Figs. 20-24. Rasgos morfológicos que comparte *Staurastrum gracile* con la variedad *coronulatum* de *Staurastrum gracile*. Figs. 20, 22 y 24) Vista apical ornamentada con una serie de pequeñas espinas emarginales, que en ocasiones se muestran en pares dentro de cada margen lateral de la célula, Fig. 23) Individuos juveniles del ciclo sexual, que presenta un arreglo de 4 espinas en la parte terminal de los procesos.

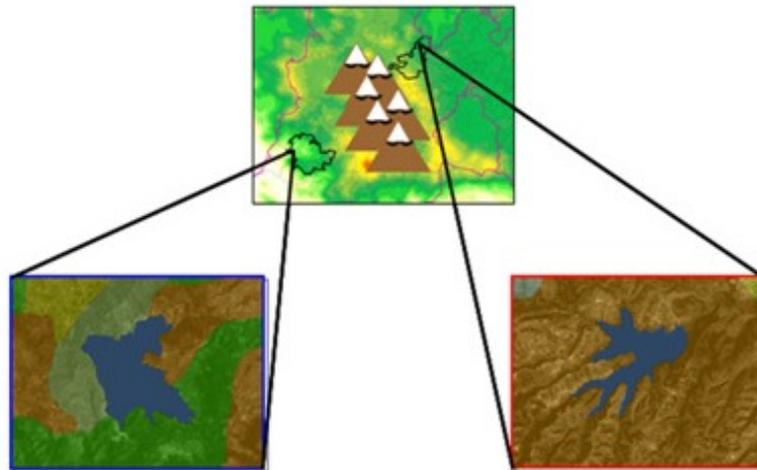
Autor	<i>Staurastrum gracile</i>	Distribución geográfica local	<i>Staurastrum paradoxum</i>	Distribución geográfica mundial
West y West, 1923	L/cp= 27 - 60 μm A/cp= 44 - 110 μm I= 5.5 - 13 μm	Islas Británicas	L/cp= 21 - 36 μm A/cp= 41 - 70 μm I= 5 - 12 μm	Cosmopolita
M. Hirano, 1959	L/cp= 28 - 47 μm A/cp= 39 - 77 μm I= 8.4 - 11 μm	Japón	L/cp= 33 - 69 μm A/cp= 36 - 65 μm I= 4 - 6.5 μm	Cosmopolita
Taft y Taft, 1971		Estados Unidos, Lago Erie pH= 10	A/cp= 53 μm I= 7 μm	Cosmopolita
Croasdale y Scott 1976	L/cp= 40 μm A/cp= 42 μm I= 8 μm	Australia		Cosmopolita
Prescott <i>et al.</i> , 1982	L/cp= 37 - 47 μm A/cp= 73 - 93 μm I= 8 - 10 μm	Estados Unidos		Cosmopolita
Irene-Marie, 1938	L/cp= 27 - 107 μm A/cp= 44 - 118 μm I= 5.5 - 13 μm	Canadá (Montreal, St-Hubert) humedales de turbera con pH de 7 - 8	L/cp= 35 - 45 μm A/cp= 41 - 88 I= 5 - 12	Cosmopolita
Jiménez, 2005	L/cp= 25 μm A/cp= 35 μm I= 7.5 μm	Estado de México, Lago artificial Mijiaza (Villa del Carbón) con un pH 7.5.		
Localidad Embalse Taxhimay	L/cp= 24.9 – 68.06 μm A/cp= 28.22 – 71.38 μm I= 4.8 – 6.6 μm pH 8.45	Estado de México (Villa del Carbón)		
Localidad Embalse Valle de Bravo	L/cp= 28.22 – 49.8 μm A/cp= 21.58 – 49.8 μm I= 4.98 – 6.64 μm pH 10.6	Estado de México (Valle de Bravo).		

Tabla 10. Una Revisión en la literatura sobre las dimensiones y distribución geográfica de *Staurastrum gracile* y *Staurastrum paradoxum* en comparación con los registros obtenidos en Embalse Valle de Bravo y Embalse Taxhimay. Lcp= largo con procesos, Acp=ancho con procesos, I= istmo.



Figs. 25-30. Morfotipos de *Staurastrum gracile* presentes en condiciones naturales en ambas localidades de estudio relacionados con la divergencia de los procesos. Figs. 25 y 27) Morfotipo 2 con procesos ligeramente divergentes a casi rectos perteneciente al embalse Taxhimay; Fig. 26) Morfotipo 1 con procesos largos y divergentes del embalse Taxhimay; Figs. 28 y 30) Morfotipo 1 con procesos largos y divergentes registrado en el embalse Valle de Bravo; Fig. 29) Morfotipo 2 con procesos rectos del embalse Valle de Bravo.

Sistema Volcánico Transversal



Embalse Valle de Bravo *in situ*

Embalse Taxhimay *in situ*

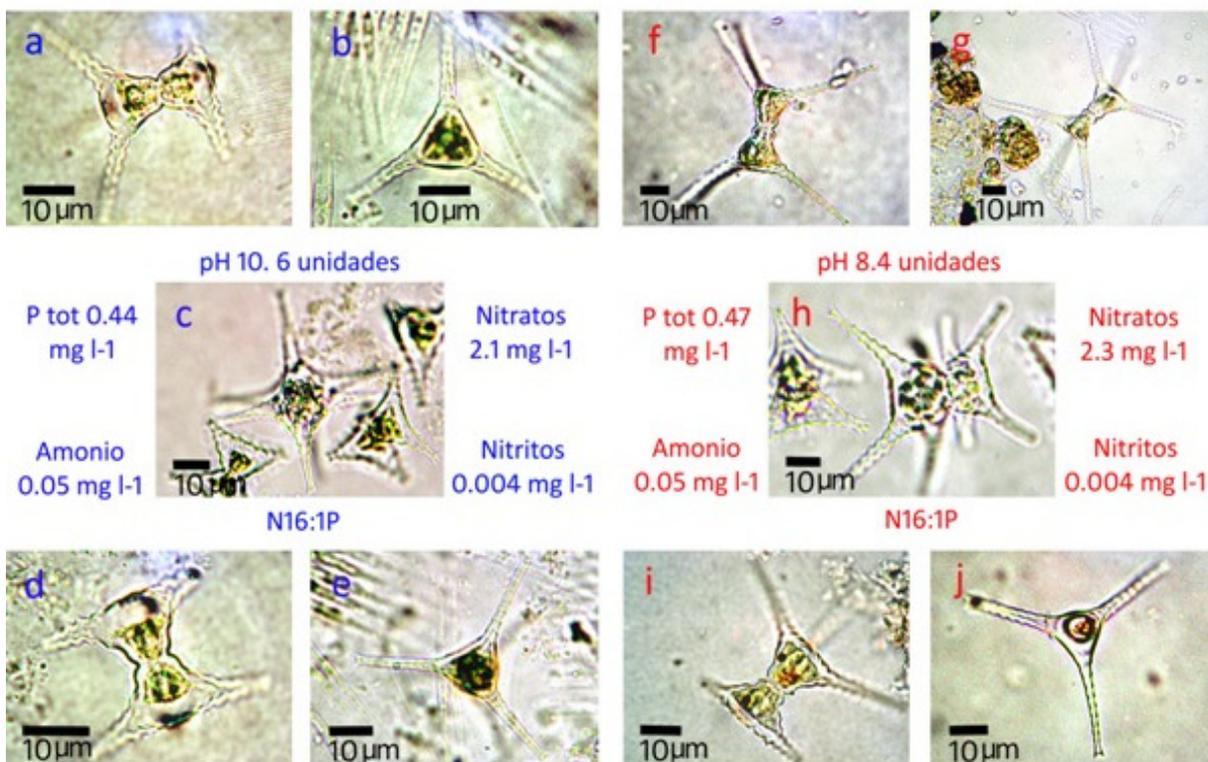
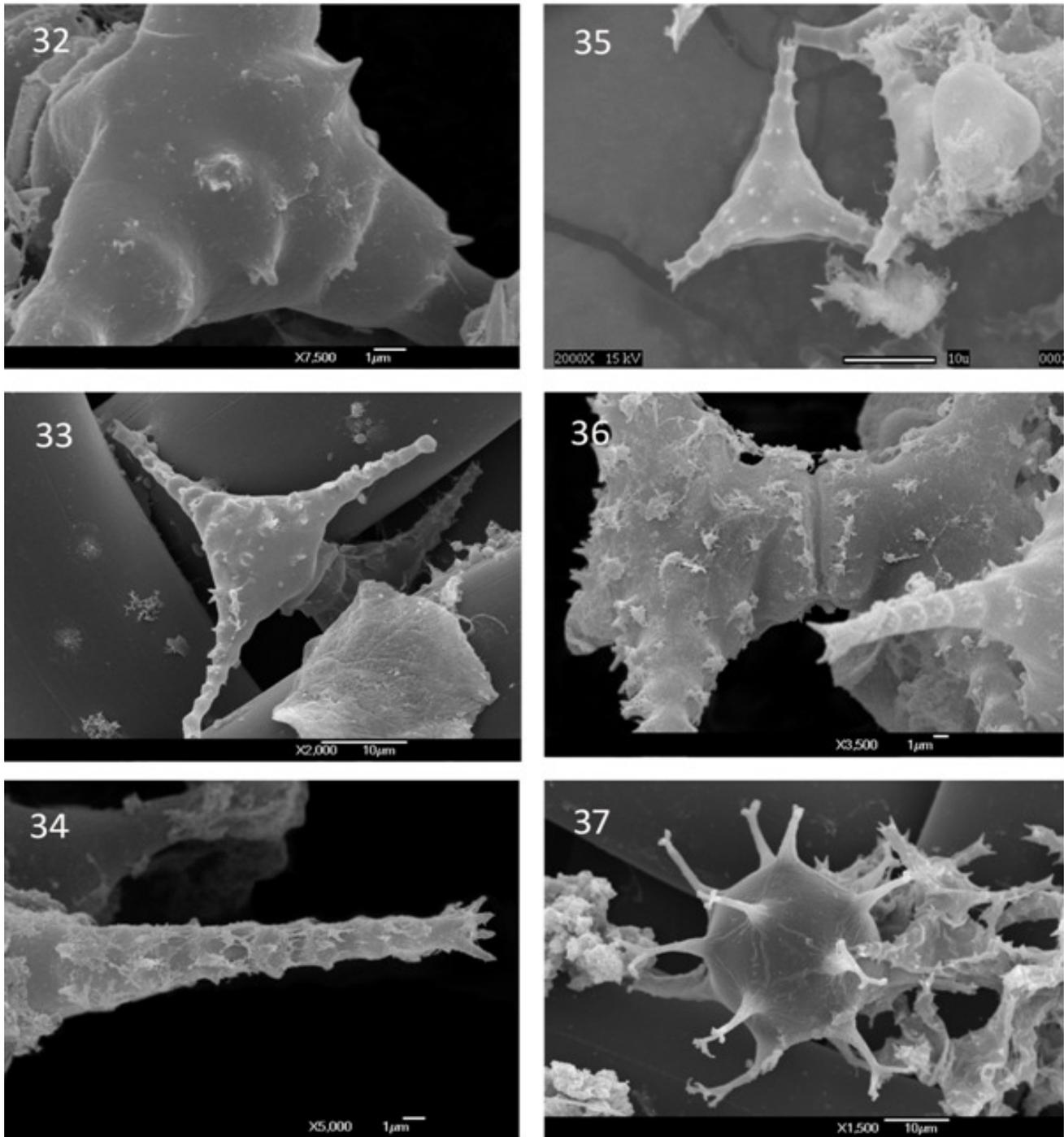


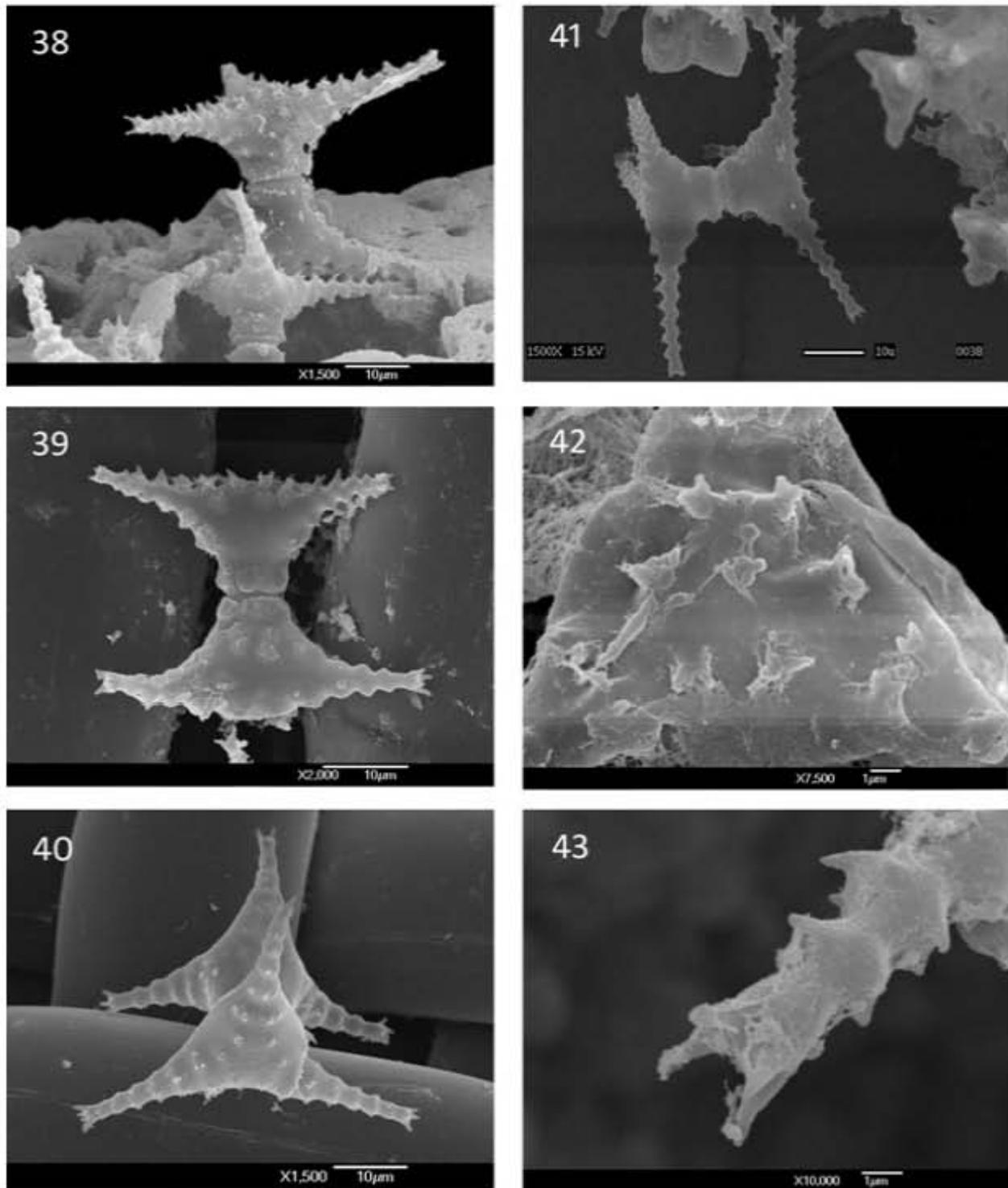
Fig. 31. Morfotipos registrados en ambos sitios de estudio (el color azul representa el embalse Valle de Bravo y en rojo representa el embalse Taxhimay), separados por una barrera geográfica (parte del Eje Neovolcánico Transversal), indicando las concentraciones de nutrientes (cuerpos de agua eutróficos) y pH en donde se desarrollaron. Figs. a, b, f y g) Morfotipo1 con procesos divergentes en vista frontal y en vista apical trirradiado; Figs. c y h) Morfotipo3 en vista apical con una radiación tetraradiada y en vista frontal con 4 procesos divergentes; Figs. d, e, h y j) Morfotipo2 con procesos ligeramente convergentes a casi rectos en vista frontal y en vista apical con una radiación trirradiada.

A partir del material cultivado (s/m) se tomaron fotografías con el microscopio electrónico de barrido (JSM5310-LV Jeol) y se determinaron algunas características de la especie que no eran visibles de forma objetiva con los microscopios fotónicos (Nikon E400 y Optiphot), como las espinas que forman un cinturón que rodea el cuerpo de la célula por la parte superior del istmo (Figs. 36 y 38), las cuatro espinas apicales que presenta en la zona terminal de los procesos (Figs. 34 y 43), el arreglo de anillos de 4 espinas a lo largo de los márgenes de los procesos (Fig. 34), en vista apical una serie de pequeñas espinas emarginales, que en ocasiones se muestran en pares dentro de cada margen lateral de la célula (Figs. 32, 33, 40 y 42) y durante el ciclo sexual una cigospora globosa con 18 procesos (Fig. 37), que en la parte terminal se ramifican dicotómicamente y presentan 4 dientes divergentes en el ápice de las ramificaciones (un par en cada ramificación) (Fig. 37).

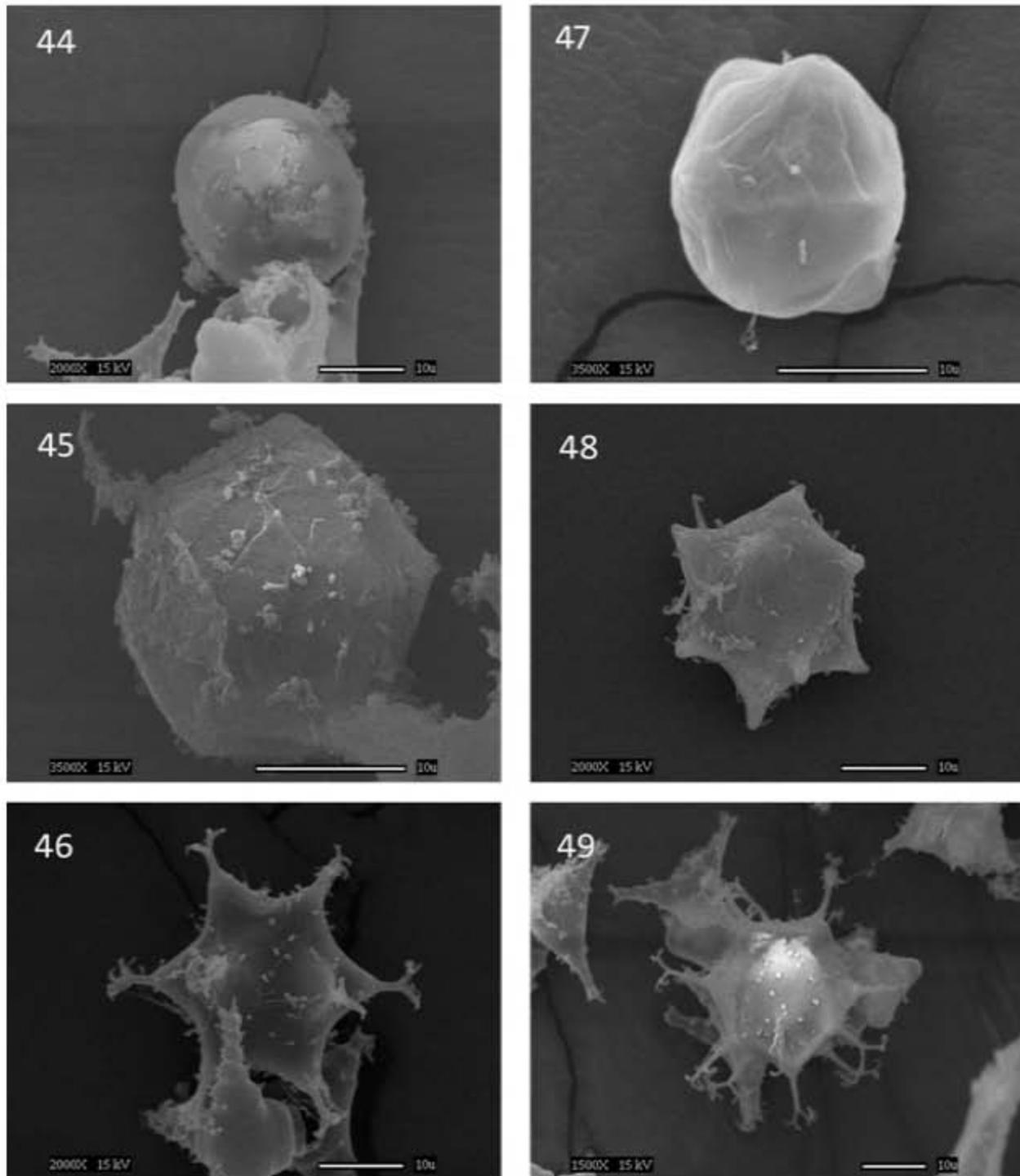
También se establecieron los estados de carácter diacríticos característicos de la etapa adulta a través de la observación poblacional. Las células adultas se distinguieron por el desarrollo completo de los procesos en ambas hemicélulas (Figs. 38,39 y 41), la presencia de anillos conformados con 4 espinas divergentes que presentan los procesos en la parte terminal y en hileras separadas a toda su longitud (Figs. 34 y 43), un cinturón de espinas que rodea el cuerpo de las células por la parte superior al istmo (Fig. 36 y 38) y en vista apical una serie de pequeñas espinas emarginales dentro de cada margen lateral de la célula (Figs. 32, 33, 35, 40 y 42). Durante la reproducción sexual (se explicará con mayor detalle en los apartados correspondientes) se observó una variación morfológica relacionada con la ornamentación del cigoto que debería tener peso taxonómico en la determinación de la especie *S. gracile* (Figs. 44, 45, 46, 47,48 y49).



Figs. 32-37. Caracteres morfológicos que no eran visibles de forma objetiva con los microscopios fotónicos, característicos de la etapa adulta. Figs. 32, 33 y 35) Célula en vista apical ornamentada con una serie de pequeñas espinas emarginales, que algunas veces se muestran en pares dentro de cada margen lateral; Fig. 34) Arreglo de anillos de 4 espinas divergentes a lo largo de los procesos y en la parte terminal de los mismos, Fig. 36) Célula adulta con un cinturón de espinas que rodean el cuerpo de la célula por la parte superior al istmo; Fig. 37) Cigospora globosa ornamentada con 18 procesos, que en la parte terminal se ramifican dicotómicamente y presentan 4 dientes divergentes en el ápice de las ramificaciones (dos en cada ramificación).



Figs. 38-43. Estados de carácter diacríticos característicos de la etapa adulta. Figs. 38, 39, 41, y 43) Célula adulta con procesos completamente desarrollados en ambas hemicélulas, que presenta 4 espinas divergentes en la parte terminal y a lo largo de los procesos; Figs. 40 y 42) Célula adulta en vista apical ornamentada con espinas emarginales dentro de cada margen lateral.



Figs.44-49. Variación ontogenética de la cigospora de la especie *S. gracile*, que debería de tener peso taxonómico en la determinación de la especie. Fig. 44) cigoto que aun no se a diferenciado en cigospora; Figs. 45, 47 y 48) Cigoto que comienza a diferenciarse en cigospora, con la formación de los primeros procesos; 46) Cigospora en fase juvenil que aun no a terminado de desarrollar todos sus procesos; Fig. 49) Cigospora adulta que presenta sus 18 procesos bien desarrollados.

Ciclo de vida asexual y sexual (pleomorfismo)

Durante el ciclo asexual en condiciones de (s/m), se encontró que la variación fenotípica era muy amplia, e inicia con el alargamiento gradual del istmo (Figs. 50, 62, 66 y 78), después se comienza a desarrollar una nueva pared entre las dos células hijas (Figs. 51, 66, 79 y 82), las nuevas hemicélulas continúan desarrollándose hasta alcanzar el estado adulto (Figs. 52, 53, 56, 59, 60, 61, 63, 67, 64, 71, 73, 77, 80, 83, 93, 94, 92 y 95). Sin embargo algunas células, todavía sin haber alcanzado la madurez llevan a cabo nuevamente la división celular, dando lugar a una gran variedad de formas (Figs. 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 67, 64, 68, 65, 69, 70, 74, 71, 75, 72, 83, 84, 85, 87, 88, 86, 89, 90, 93 y 91). Durante este ciclo se observaron células maduras que tenían bien desarrollados sus procesos en ambas hemicélulas (con sus 4 espinas apicales) (Figs. 50, 60, 61, 62, 73, 77, 78, 92 y 95), células inmaduras que presentaban procesos poco desarrollados en ambas hemicélulas (con o sin espinas apicales), que en ocasiones estaban más desarrollados en una hemicélula que en la otra (Figs. 53, 54, 55, 56, 57, 58, 67, 64, 69, 70, 75, 72, 83, 84, 85, 86, 90, 93, y 91). Finalmente todas las formas juveniles observadas continuaron su desarrollo hasta alcanzar la forma adulta de la especie (Figs. 50, 60, 61, 62, 73, 77, 78, 92 y 95).

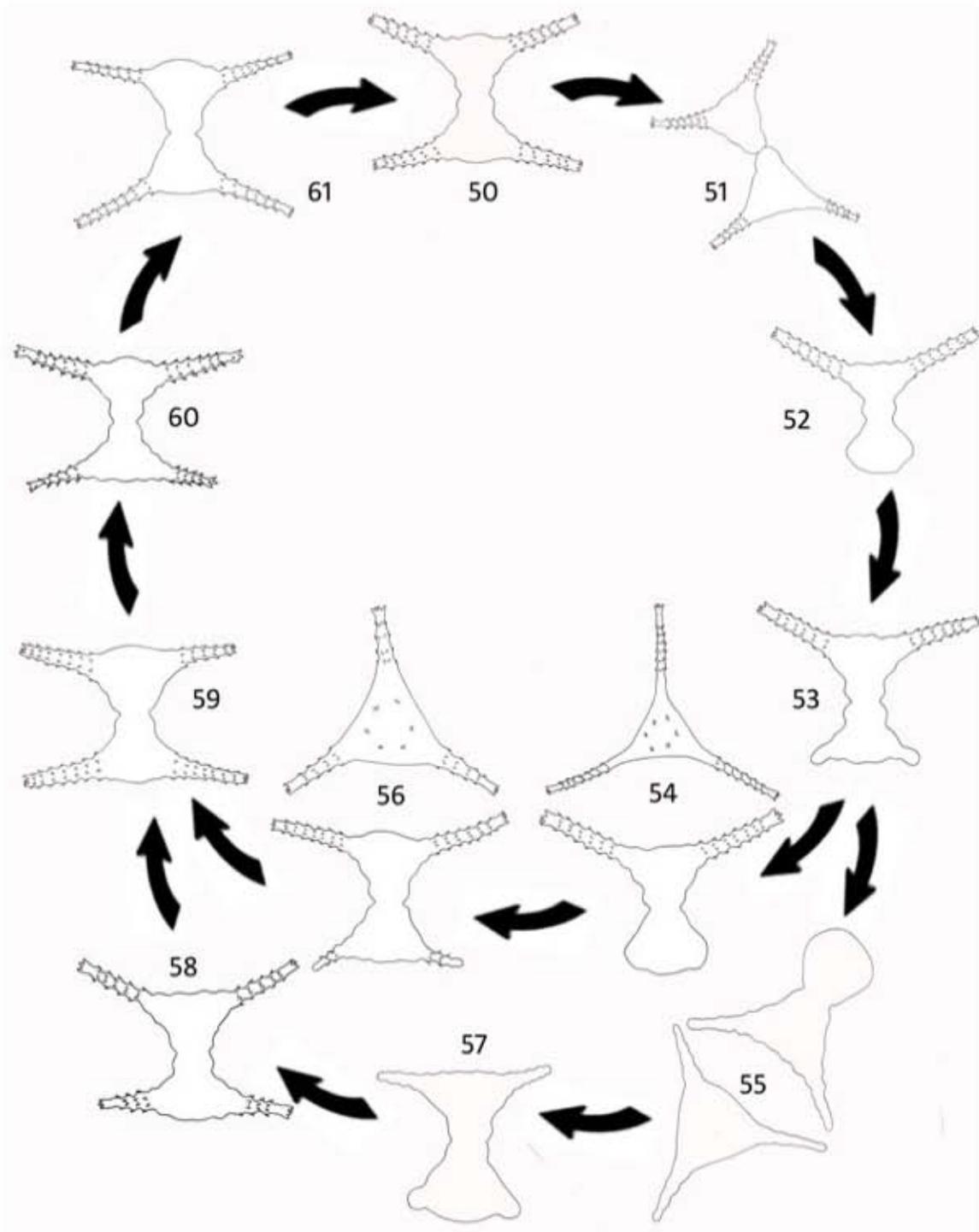
Por otra parte se registró el ciclo reproductivo sexual de *S. gracile* en condiciones (s/m) y se determinó que existía una amplia variabilidad fenotípica asociada a la ornamentación del cigoto (estas fases fueron registradas con fotografías y dibujos). Se observó que la reproducción sexual comienza con la aproximación de dos células y la secreción de mucílago abundante entre ellas (Figs. 96 y 115); inmediatamente se alarga la pared por la parte central de una célula, simultáneamente con la diferenciación del protoplasto para formar un gameto. Las paredes de cada célula del par se abren en la parte del istmo y surgen los gametos (isogametos), que son expuestos hacia la matriz común de mucílago entre los pares de las células (Figs. 96, 97, y 115). Los gametos de estas dos células se fusionan (plasmogamia) y se produce un cigoto de forma irregular (Fig. 98, 99, 100, 116, 117, 131 y 132) que comienza a formar distintas capas, una interna (endospora), una capa gruesa intermedia (mesospora) y una capa externa (exospora) que contiene los procesos ornamentados con 4 espinas apicales. Con el desarrollo de estas capas recibe el nombre de cigospora. La cigospora cambia relativamente rápido (en condiciones de cultivo), pues se observan estados de madurez diferentes en la misma muestra. Los cambios se perciben porque las cigosporas exhiben distintas formas que varían en el número de procesos (Figs. 101, 102, 103, 104, 105, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141 y 142); en la etapa final de desarrollo cada cigospora madura, presentan forma globosa y muestran 18 procesos, que en la parte terminal se ramifican dicotómicamente, presentando 4 dientes divergentes en el ápice de las ramificaciones (un par en cada ramificación) (Figs. 106, 124 y 142). En esta etapa la cigospora inicia meiosis y finalmente germina rompiendo la capa externa liberando las dos células haploides, unidas entre sí (Figs. 106 y 124). Cada célula hija haploide derivada del cigoto, se contrae, sin desligarse y se divide (Figs. 107, 108, y 109),

formando cada hemicélula, con una morfología normal. Al final, cada célula con su nueva hemicélula se desliga de su hermana (Figs. 109, 110, 125, 126, 127, 143, 144, 145, 146 y 147). En esta etapa, aun no tiene las características reconocibles de la especie.

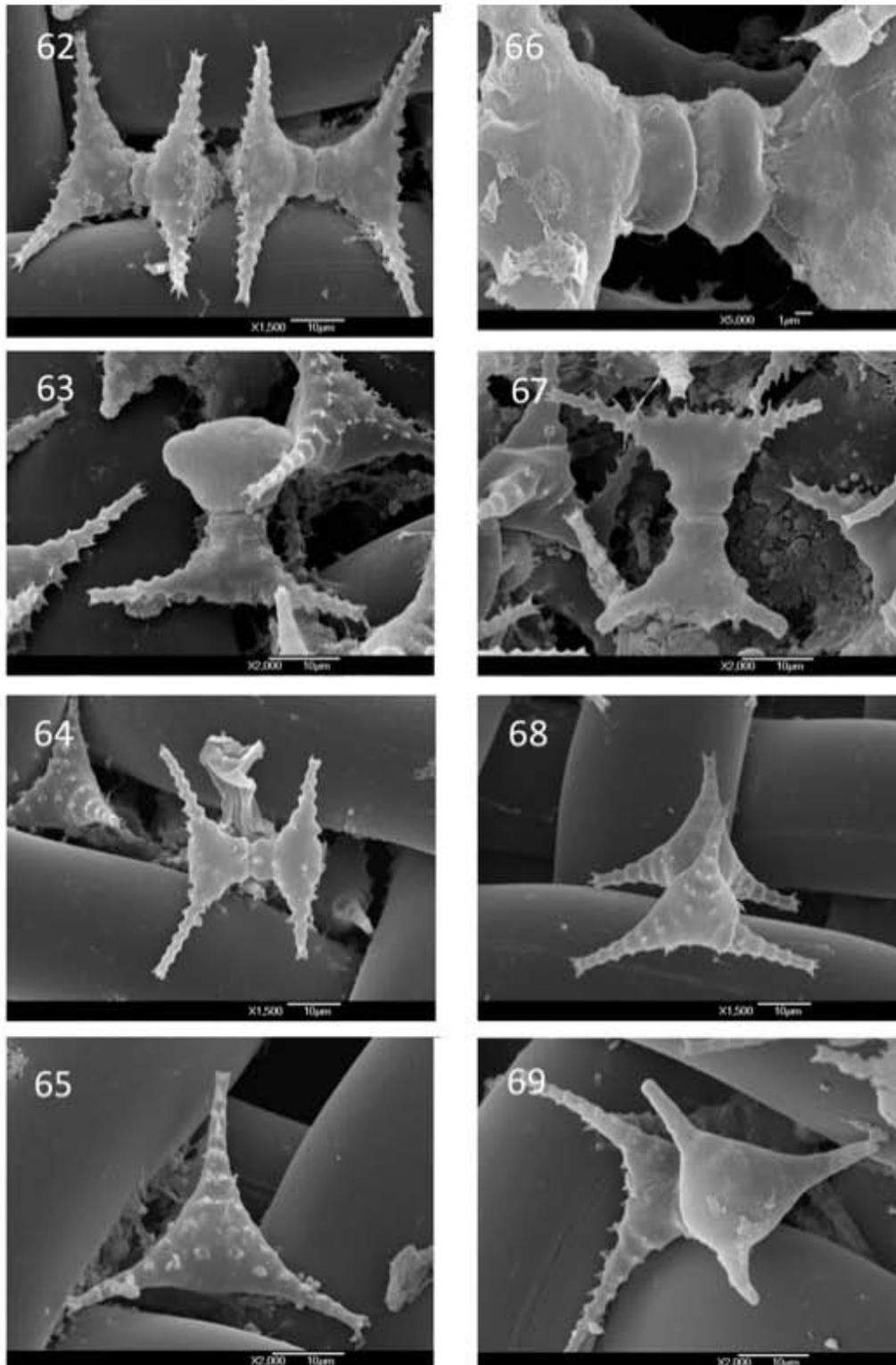
Se inicia enseguida el desarrollo de los procesos (Figs. 111, 112, 128, 148, 149, 150 y 151), hasta llegar a la etapa juvenil, con procesos cortos pero bien diferenciados (Figs. 113, 129 y 152), que pueden o no mostrar el arreglo de las 4 espinas terminales; presentan menor tamaño que los individuos adultos, no exhiben el cinturón de espinas en la parte superior del istmo y en vista apical pueden o no presentar el arreglo de espinas emarginales dentro de cada uno de los márgenes laterales (Fig. 155 y 156). En esta etapa de crecimiento se identificaron similitudes morfológicas con la variedad *nanum* de *Staurastrum gracile* (Figs. 155, 156, 159 a y b), por el tamaño de sus procesos, forma y dimensiones de las células registradas en la bibliografía (Tabla 13). También se encontró un traslape morfológico con los individuos reportados en cultivos con pH 5 de ambas localidades (Figs. 157 y 158), respecto al tamaño de los procesos y dimensiones de las células.

Dimensiones de las células	Individuos juveniles durante el ciclo de vida de <i>Staurastrum gracile</i> .	Ejemplares de <i>Staurastrum gracile</i> var. <i>nanum</i> de la literatura.
Largo con procesos	25.08 – 31.02 μm	14 – 27.5 μm
Largo sin procesos	23.1 – 26.4 μm	
Acho con procesos	29.7 – 38.94 μm	23 – 36 μm
Ancho sin procesos	13.2 – 14.52 μm	
Istmo	5.28 – 5.94 μm	4 – 8.7 μm

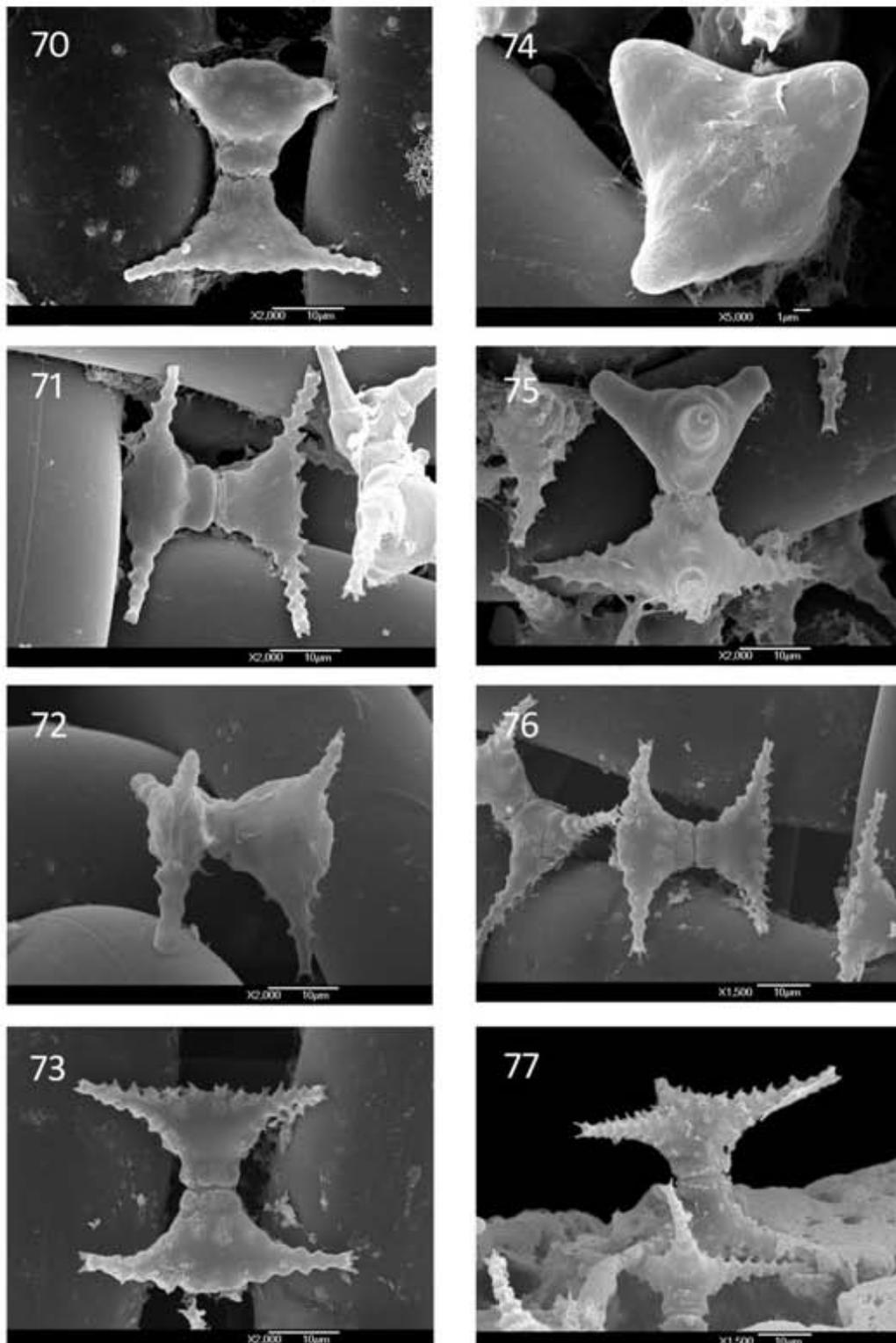
Tabla 11. Traslape de las dimensiones de individuos juveniles durante el ciclo de vida de *Staurastrum gracile* & *Staurastrum gracile* var. *nanum*.



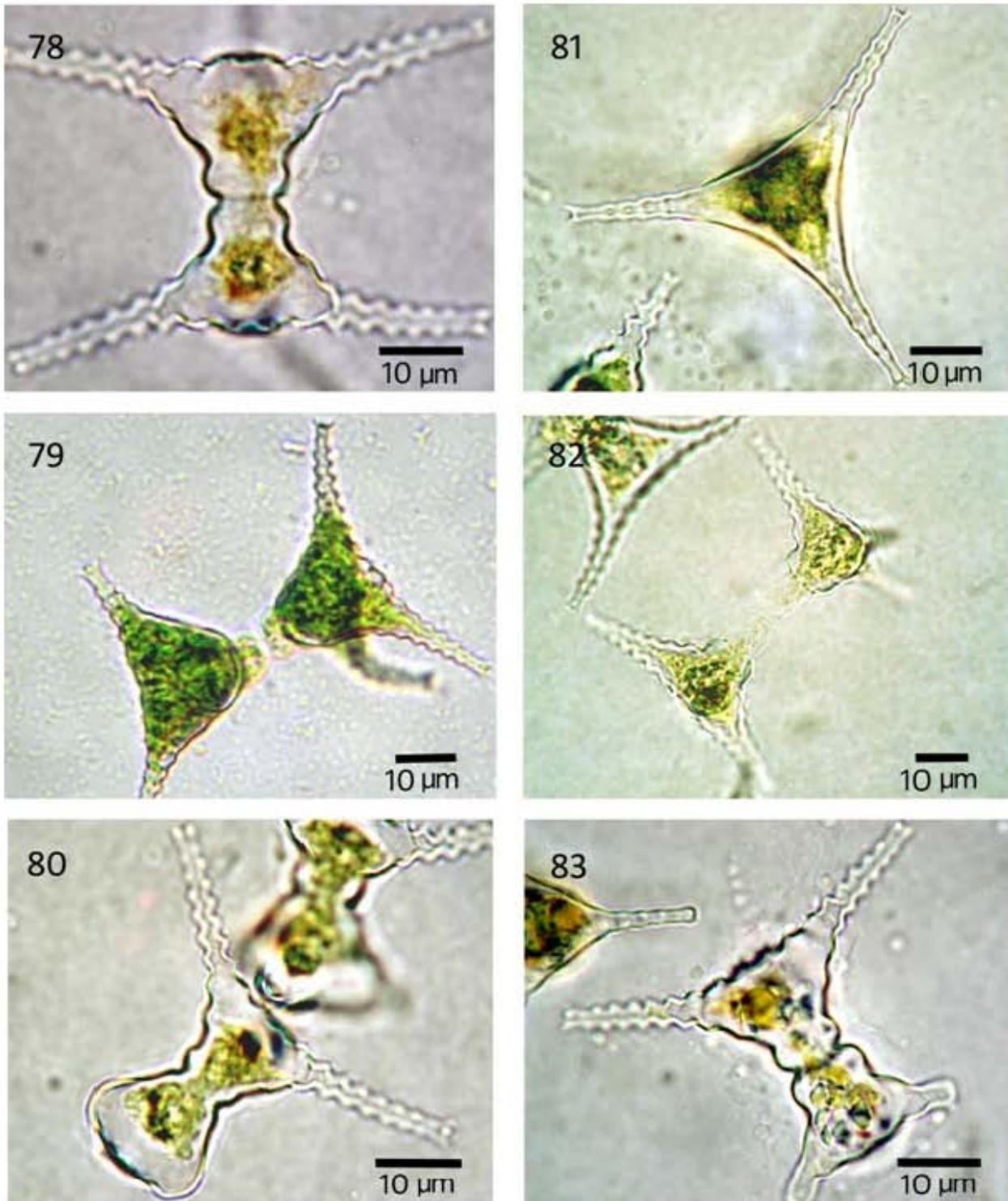
Figs. 50-61. Representación grafica del ciclo reproductivo asexual realizada a partir de nuestro material fotográfico obtenido con microscopia fotónica y de Barrido. Figs. 60, 61 y 50) Células adultas que comienzan alargarse en la parte del istmo; Fig. 51) Formación de la pared que divide a las dos células hijas, a la altura del istmo; Figs. 52 y 53) Las nuevas hemicélulas continúan desarrollándose después de la división celular; Figs. 54, 55, 56, 57 y 58) Las células sin haber alcanzado la madurez llevan a cabo nuevamente la división celular generando una gran variedad de formas; Figs. 54, 56, 55, 57 y 58) Todas las formas juveniles generadas continúan su desarrollo hasta alcanzar el estado adulto; Fig. 59) Célula adulta.



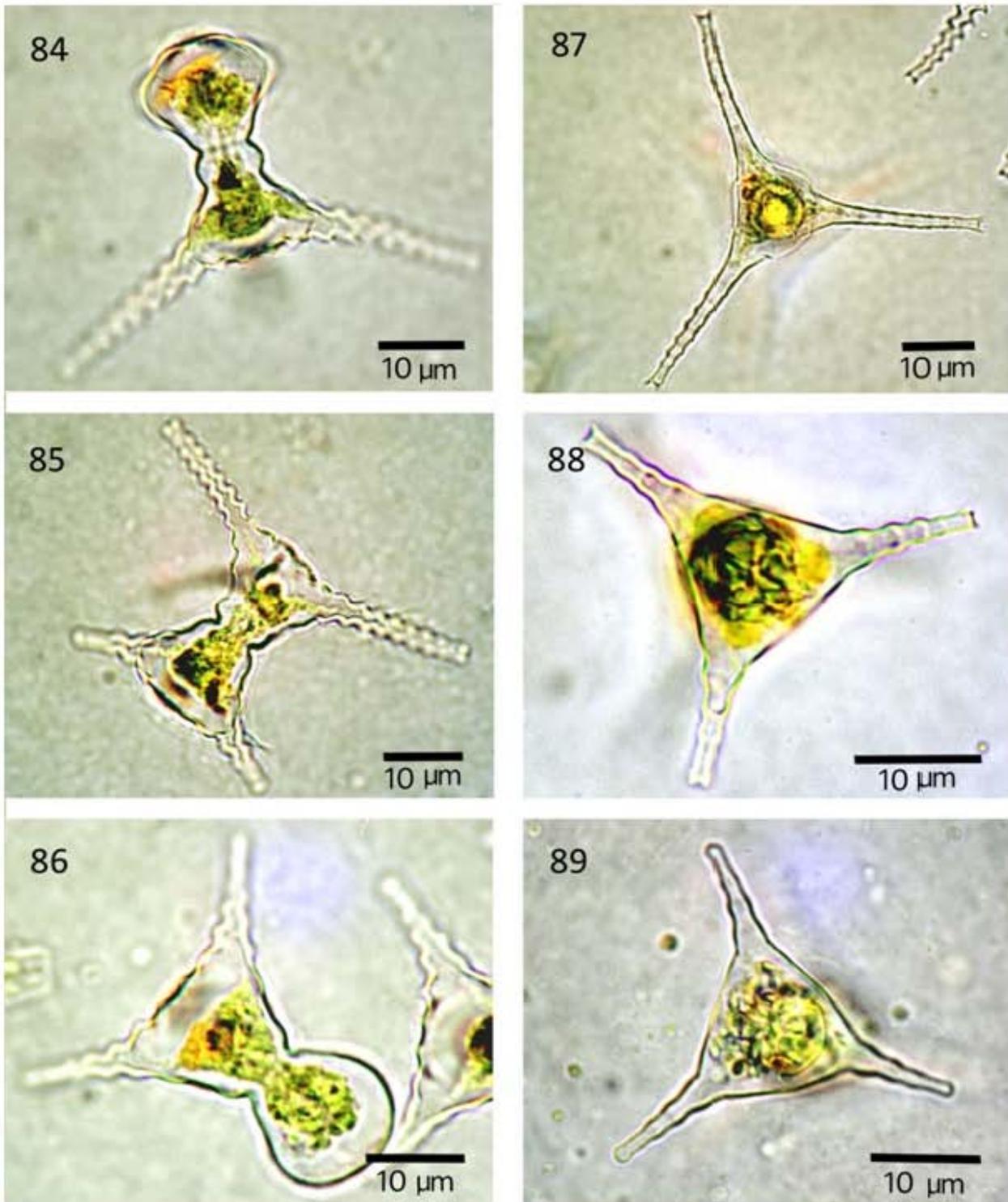
Figs. 62-69. Ciclo reproductivo asexual registrado con microscopía electrónica de barrido. Fig. 62) Células adultas; Fig. 66) Célula adulta que comienza a dividirse por la parte media de la célula para formar dos células hijas; Figs. 63, 64, 65, 67, 68 y 69) Células juveniles que continúan desarrollándose después de la división celular, en esta etapa sin llegar a la madurez sucede nuevamente la división celular.



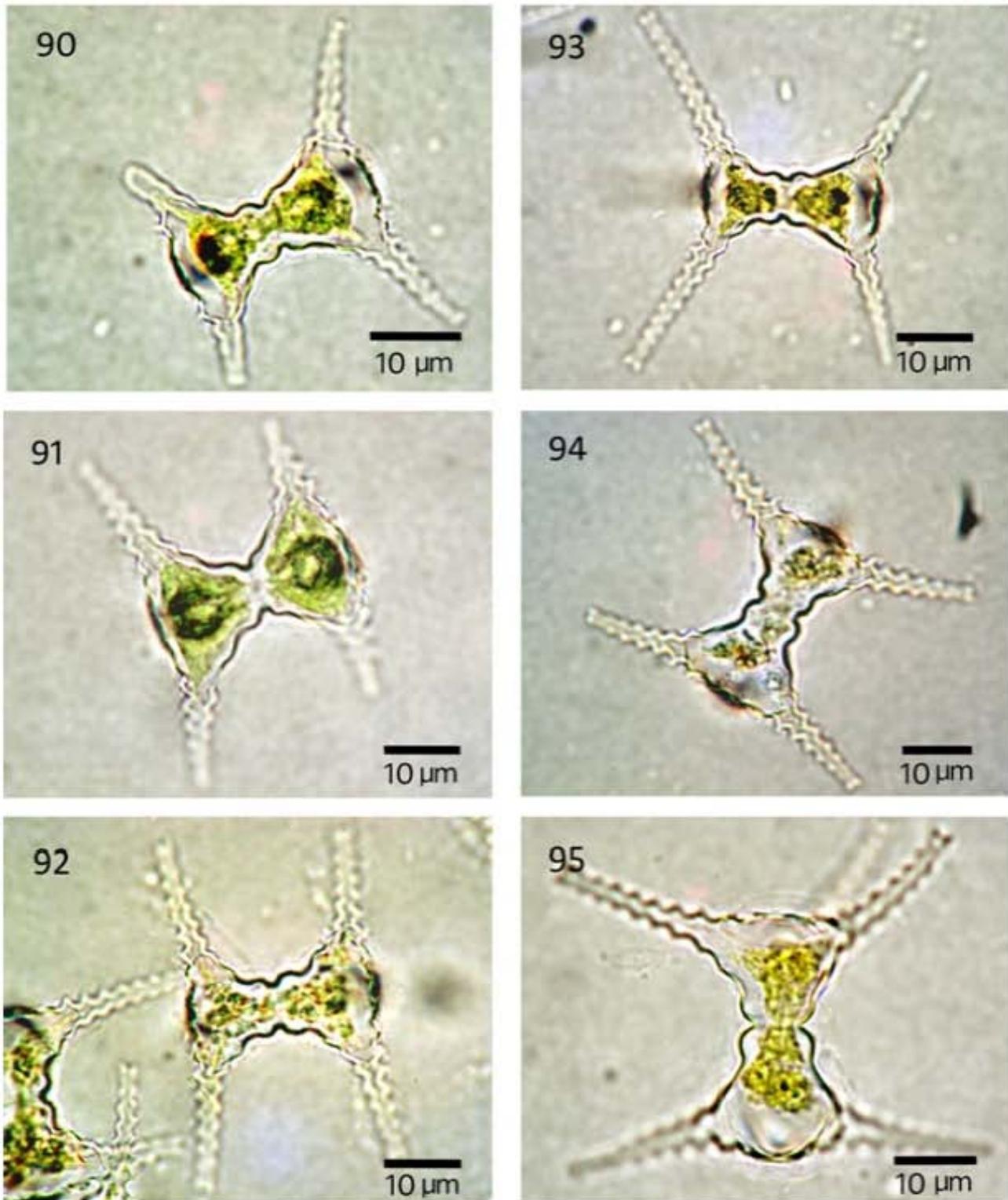
Figs. 70-77. Ciclo reproductivo asexual registrado con microscopía electrónica de barrido. Figs. 70, 74, 71, 75, 72 y 76) Durante la nueva división celular se originan una gran diversidad de formas, que continúan su desarrollo hasta llegar a la etapa madura; Fig. 73) Célula juvenil que casi alcanza el estado adulto; Fig. 77) Célula adulta.



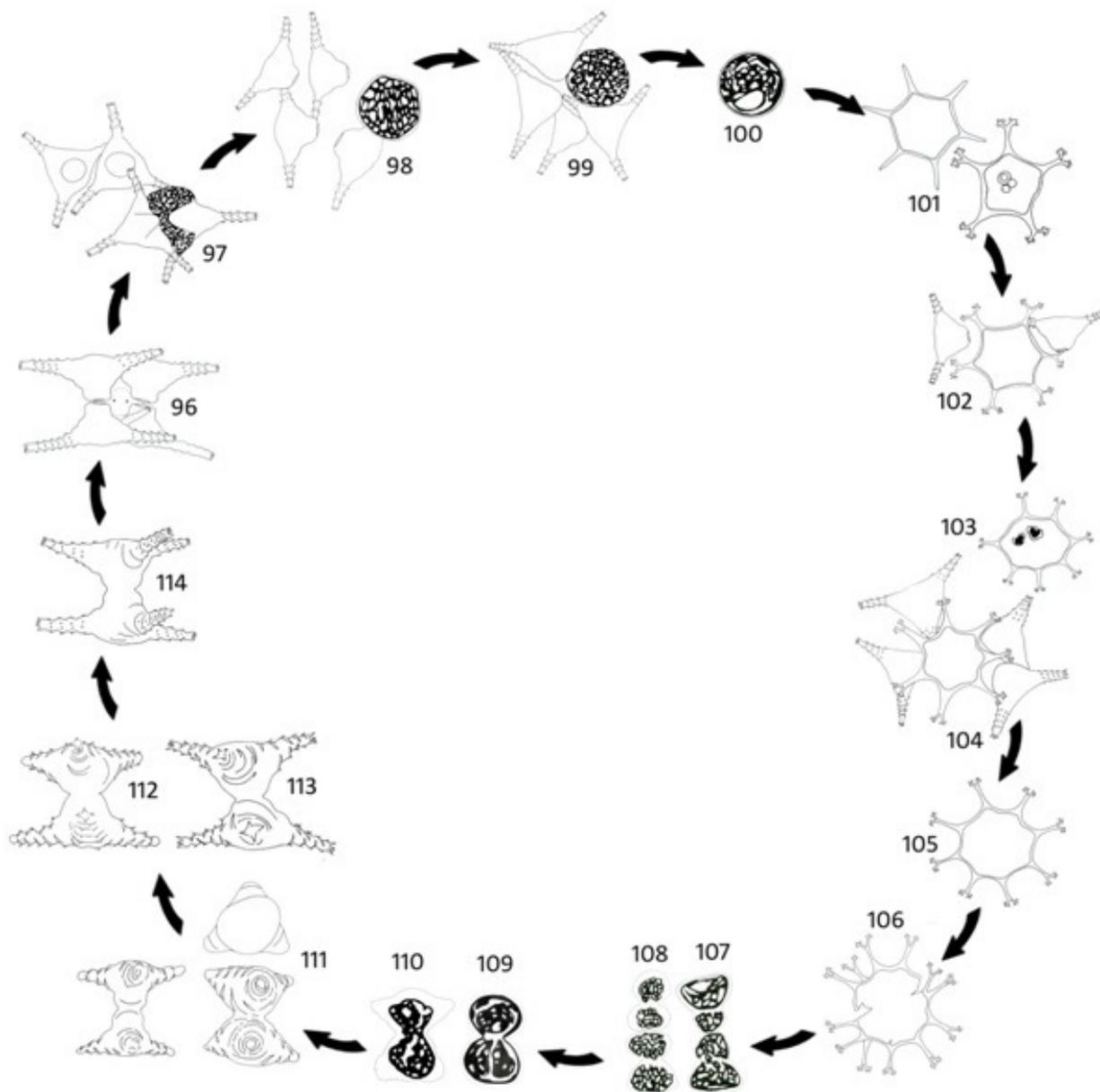
Figs.78-83. Ciclo reproductivo asexual registrado con microscopios fotónicos. Figs. 78 y 81) Célula adulta que comienza alargarse por la parte media de la célula y en vista apical con procesos bien desarrollados; Figs. 79 y 82) Formación de las nuevas hemicélulas; Figs. 80 y 83) Células juveniles que continúan desarrollándose después de la división celular, que pueden sufrir una segunda división celular sin haber alcanzado el estado adulto.



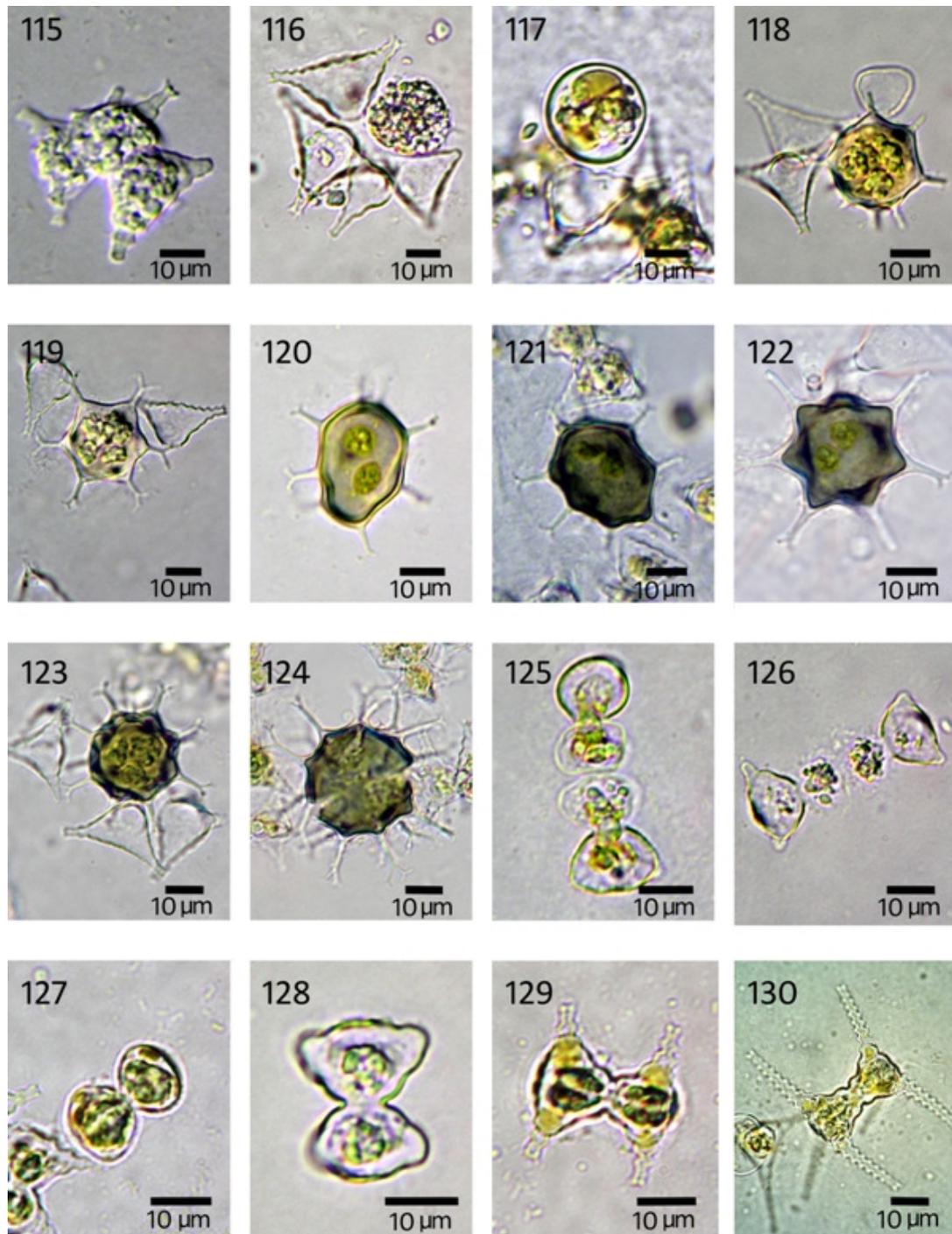
Figs. 84-89. Ciclo reproductivo asexual registrado con microscopios fotónicos. Las células sin haber llegado a la madurez, efectúan una segunda división celular generando una gran variedad de formas. Figs. 84, 85, 87 y 88) Células con una hemicélula completamente formada y la otra que comienza a desarrollarse, en vista apical con una radiación triradial; Figs. 86 y 89) Células con una hemicélula que aun no está completamente formada y la otra que apenas comienza a desarrollarse, en vista apical con una radiación triradial.



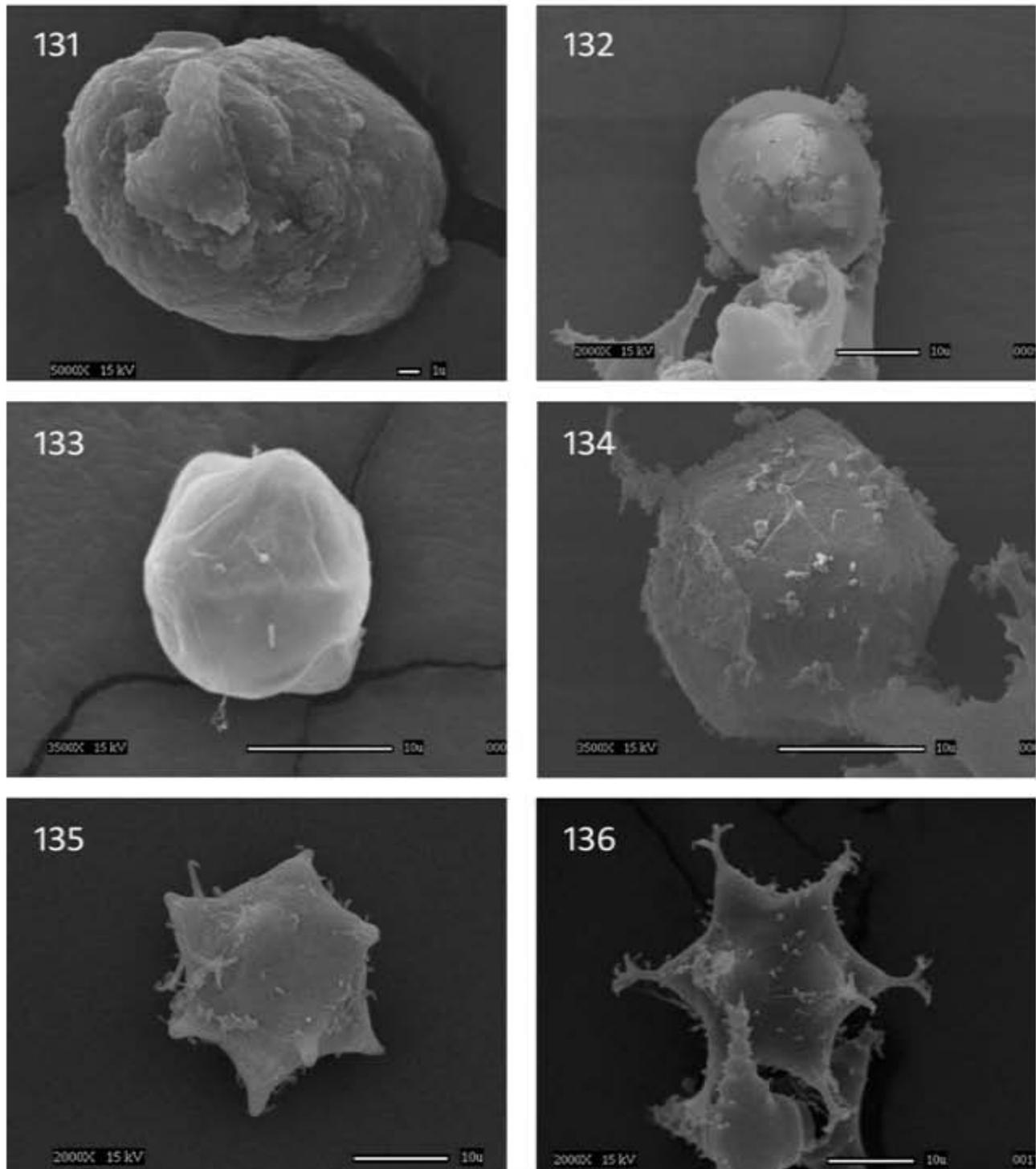
Figs. 90-95. Ciclo reproductivo asexual registrado con microscopios fotónicos. Figs. 90, 91 y 93) Todas las formas juveniles continúan desarrollándose hasta alcanzar el estado adulto; 92 y 94) Células juveniles que están por alcanzar el estado adulto; Fig. 95) Célula adulta con sus procesos bien desarrollados en ambas hemicélulas.



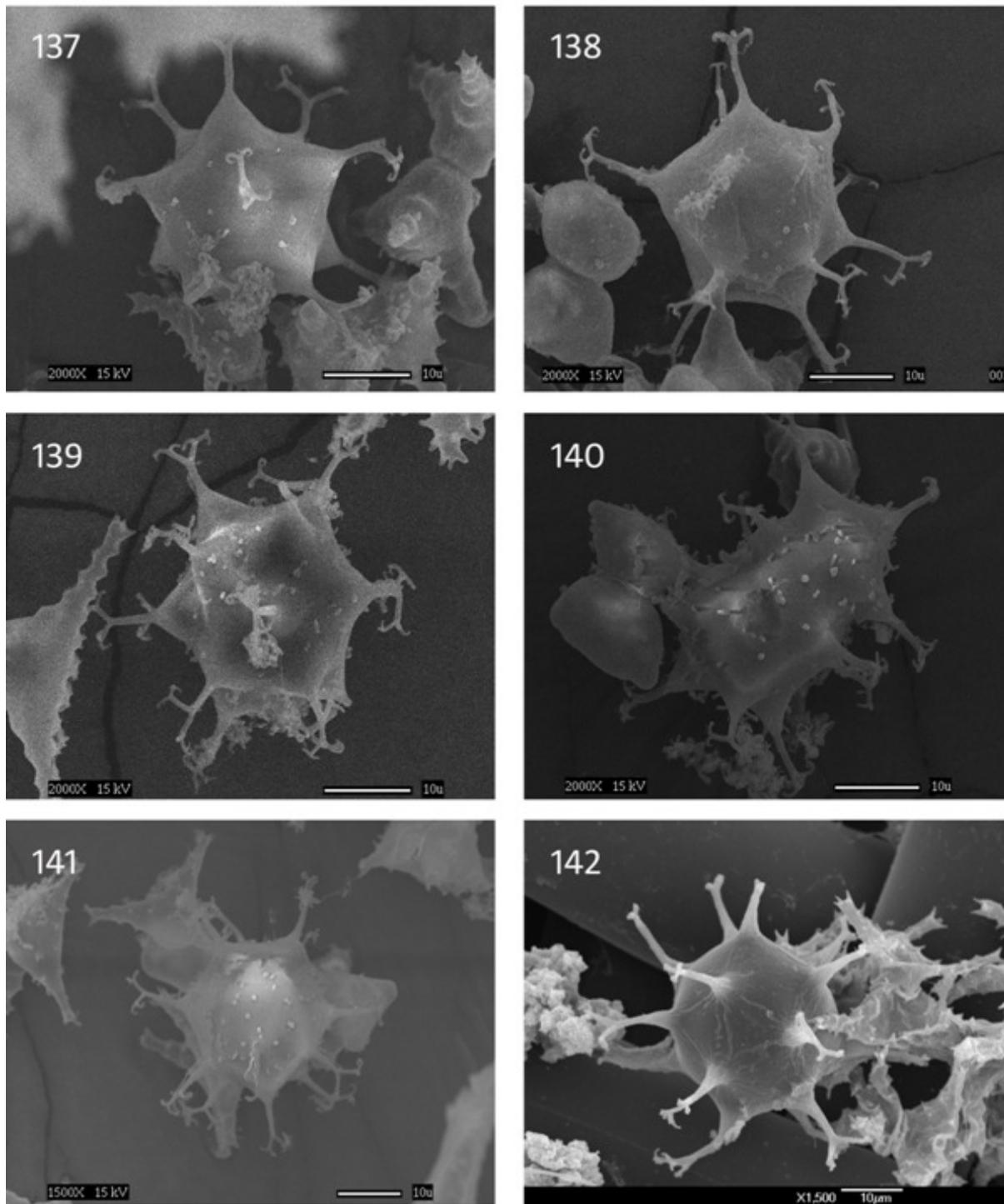
Figs. 96-114. Representación gráfica del ciclo reproductivo sexual realizada a partir del material fotográfico obtenido con microscopía fotónica y de Barrido. Fig. 96) Surgimiento de los gametos por la parte central del istmo; Figs. 96 y 97) Los gametos son expulsados a una matriz común de mucílago entre los pares de las hemicélulas; Fig. 98) Los gametos de cada individuo se fusionan y forman un cigoto con forma irregular; Figs. 99, 100 y 101) el cigoto comienza a formar distintas capas (endoespora, mesoespora y exoespora, con el desarrollo de estas recibe el nombre de cigospora; Figs. 101, 102, 103, 104 y 105) La cigospora cambia y exhibe formas distintas que varían en el número de los procesos; Figs. 106) En su etapa final de desarrollo, la cigospora presenta forma globosa con 18 procesos bien desarrollados, que en la parte terminal se ramifican dicotómicamente y presentan 4 dientes divergentes en el ápice de las ramificaciones (un par en cada ramificación); Figs. 106 y 107) La cigospora adulta germina rompiendo la capa externa y libera dos células haploides; Figs. 107 y 108) Cada célula hija haploide derivada del cigoto se contrae, sin desligarse y se divide; Figs. 109 y 110) Después por división celular se producen nuevas hemicélulas con una morfología normal; Figs. 111 y 112) Células con procesos en desarrollo; Fig. 114) Célula adulta con procesos bien desarrollados.



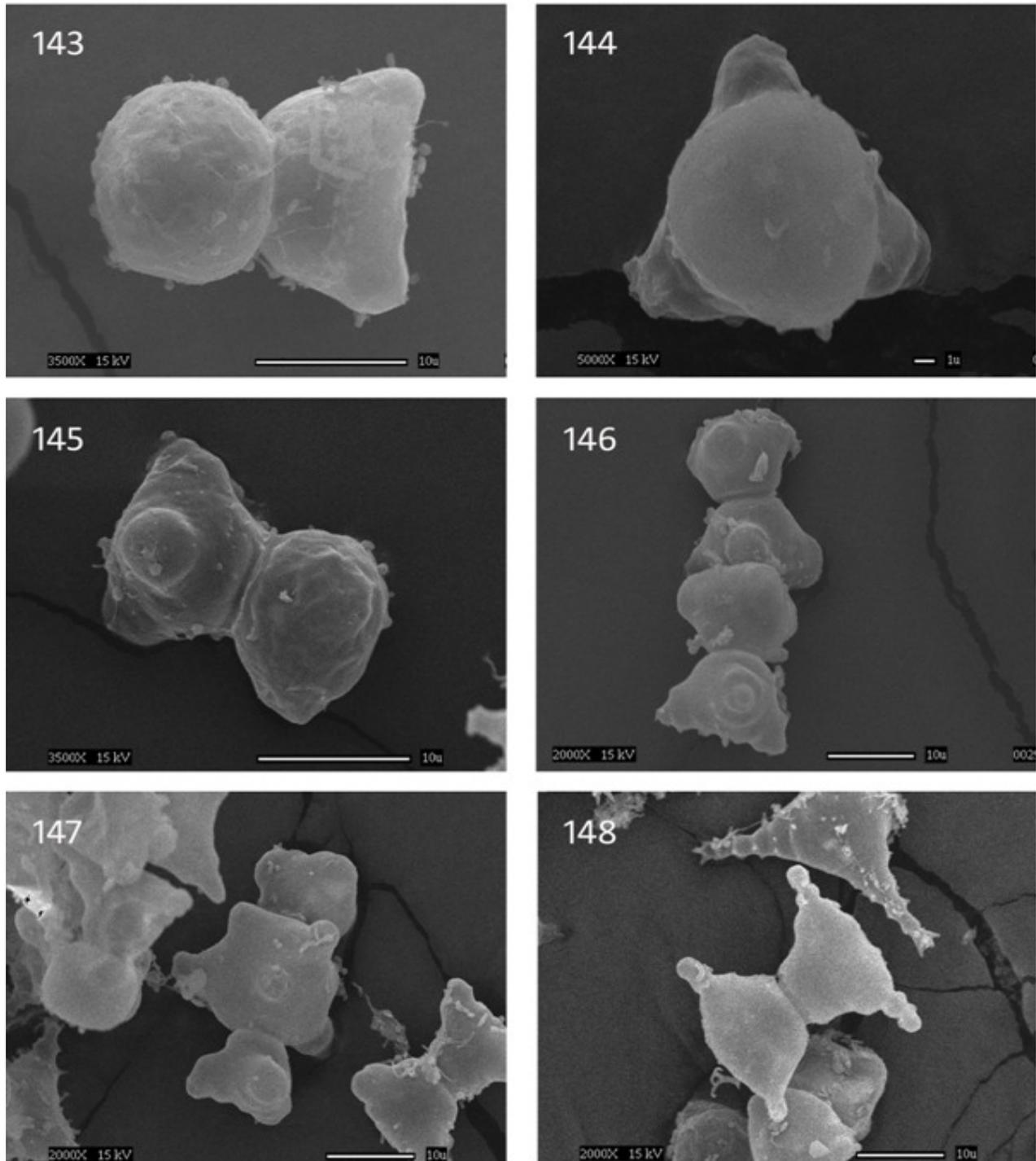
Figs. 115-130. Ciclo reproductivo sexual de *Staurastrum gracile* reportado en condiciones de cultivo estándar (s/m) con microscopios fotónicos. Fig. 115) Surgimiento de los gametos por la parte central del istmo; Fig. 116) Los gametos son expulsados a una matriz común de mucílago y se fusionan; Fig. 117) Se forma un cigoto que comienza a formar distintas capas (endospora, mesospora y exospora); Figs. 118, 119, 120, 121, 122 y 123) La cigospora cambia y exhibe formas distintas que varían en el número de los procesos; Fig. 124) La cigospora adulta germina rompiendo la capa externa y libera dos células haploides; Fig. 125) Las células se contraen; Figs. 126, 127, 128 y 129) Después por división celular se producen nuevas hemicélulas con morfología normal; Fig. 130) Célula adulta.



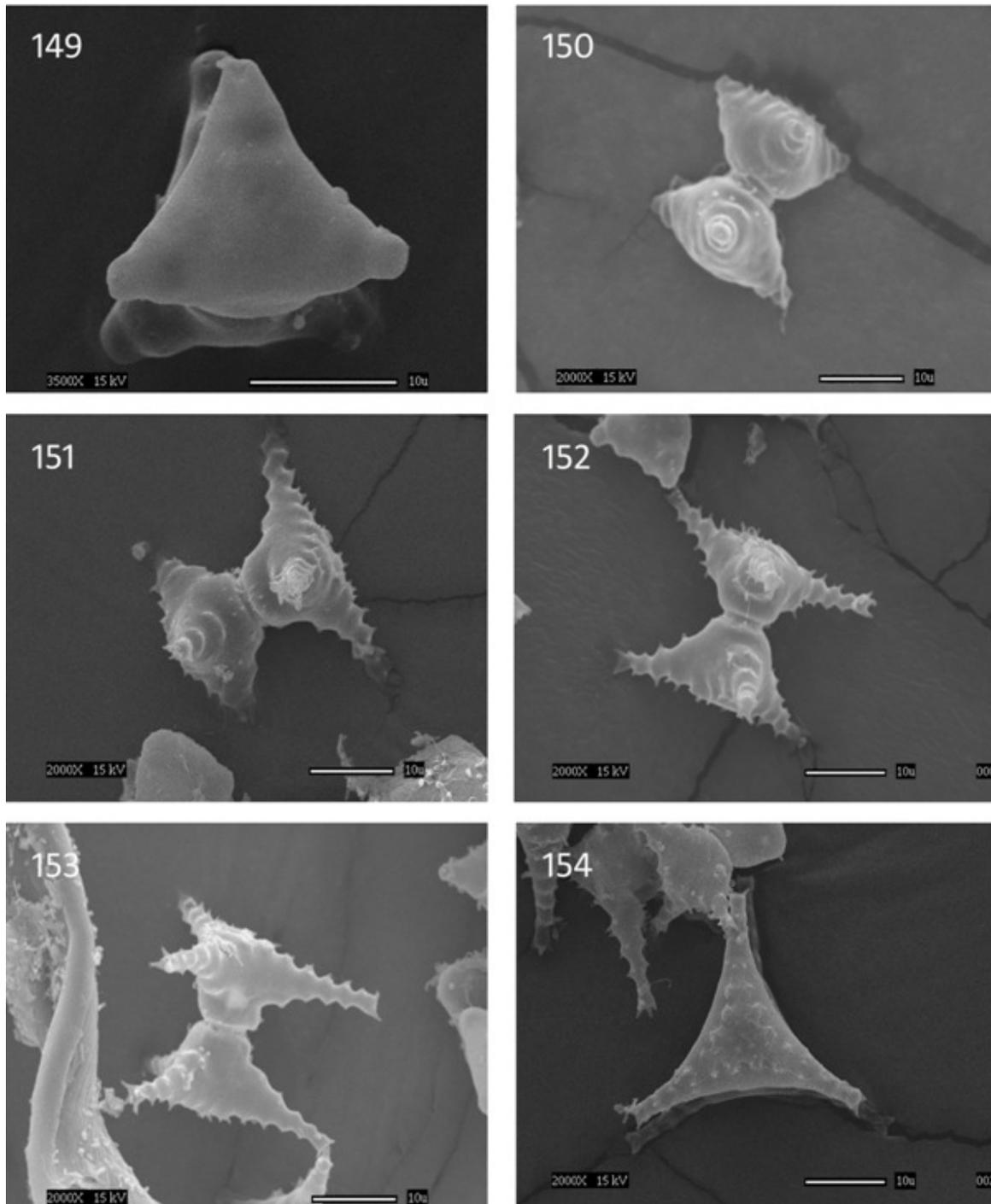
Figs. 131-136. Ciclo reproductivo sexual de *Staurastrum gracile* reportado en condiciones de cultivo estándar (s/m) con MEB. Figs. 131, 132, 133, 134, 135 y 136) Variación ontogenética de la cigospora relacionada con la forma (adquisición de la forma geométrica de la cigospora) y el desarrollo de los procesos.



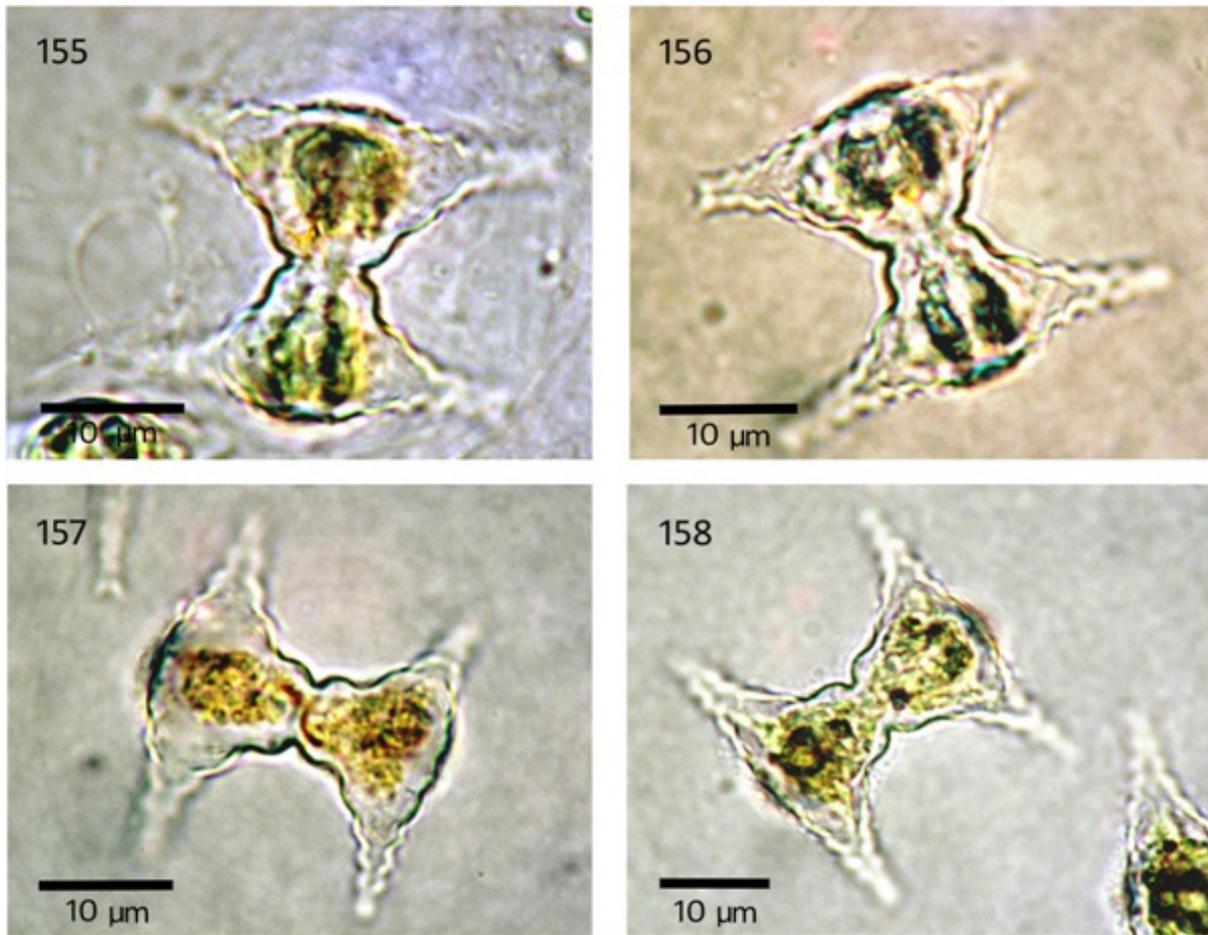
Figs. 137-142. Ciclo reproductivo sexual de *Staurastrum gracile* reportado en condiciones de cultivo estándar (s/m) con MEB. Figs. 137, 138, 139, 140 y 141) Variación ontogenética de la cigospora relacionada con la forma y número de los procesos; Fig. 142) Cigospora adulta con 18 procesos bien desarrollados, que en la parte terminal se ramifican dicotómicamente y presentan 4 dientes divergentes en el ápice de las ramificaciones (un par en cada ramificación).



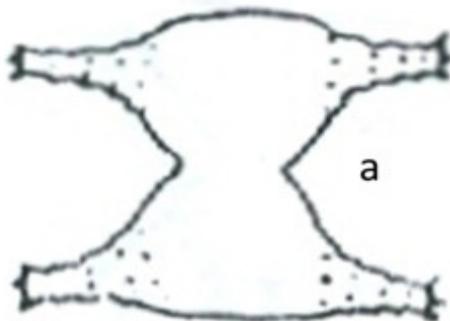
Figs. 143-148. Ciclo reproductivo sexual de *Staurastrum gracile* reportado en condiciones de cultivo estándar (s/m) con MEB. Figs. 143, 144, 145, 146 y 147) La cigospora adulta germina y libera las dos células haploides que se contraen y se dividen formando cada una de las hemicélulas con una morfología normal. En esta etapa no tiene las características reconocibles de la especie; Fig. 148) Se inicia el desarrollo de los procesos.



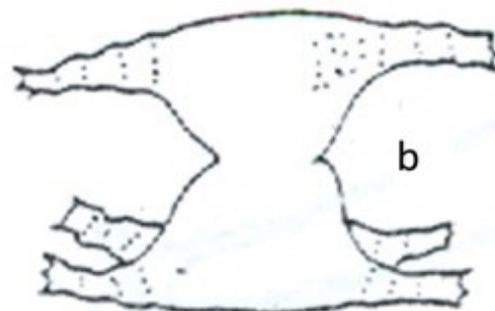
Figs. 149 – 154) Ciclo reproductivo sexual de *Staurastrum gracile* reportado en condiciones de cultivo estándar (s/m) con MEB. Figs. 149, 150 y 151) Se inicia el desarrollo de los procesos en ambas hemicélulas hasta llegar a la etapa juvenil; Fig. 152) etapa juvenil con procesos cortos pero bien diferenciados; Figs. 153 y 154) célula adulta con procesos bien diferenciados con un arreglo de anillos de 4 espinas divergentes a lo largo de los márgenes de los procesos y en la parte terminal de los mismos, en vista apical con una serie de pequeñas espinas emarginales, que algunas veces se muestran en pares dentro de cada margen lateral.



159 *Staurastrum gracile* var. *nanum* Wille 1880



West & West 1923



Prescott *et al.*, 1982

Figs. 155-159. Traslape morfológico entre individuos juveniles (ciclo sexual) e individuos adultos cultivados en pH 5 de *S. gracile*, así como esquemas de *Staurastrum gracile* var. *nanum* de la literatura (ver referencias en el anexo III). Figs. 155 y 156) individuos juveniles del ciclo sexual, Fig. 157) Individuo cultivado en pH 5 (embalse Taxhimay); Fig. 158) Individuo cultivado en pH5 (embalse Valle de Bravo); Fig. 159 a y b) Esquemas de la bibliografía de *S. gracile* var. *nanum*.

Polimorfismo de la especie

El polimorfismo observado en las poblaciones *in situ* de la especie *S. gracile* está relacionado con dos aspectos fundamentales que caracterizan al género *Staurastrum*, el grado de divergencia de los procesos y el tipo de radiación celular (cantidad de procesos), que es un carácter variable dentro de nuestras poblaciones. La mayoría de los individuos mostraron procesos largos y divergentes, con una vista apical trirradiada (morfotipo 1) (Figs. 160, 161, 163, 164 y 166) y en menor cantidad se observaron individuos con procesos ligeramente divergentes a casi rectos, con una vista apical trirradiada (morfotipo 2) (Figs. 25, 29, 27, 31 y 166), e individuos con procesos largos y divergentes con radiación tetraradiada en vista apical (morfotipo 3) (Figs. 162 y 165). Se encontró que la radiación dominante era la trirradiada (tres procesos) (Figs. 161, 164, y 166), sin embargo, también se observaron individuos con una radiación tetraradiada (cuatro procesos) en menor cantidad (Figs. 162, 165 y 166). Comparando las poblaciones *in situ* de ambas localidades, se determinó que las células tenían diferentes dimensiones, pues la población del embalse Taxhimay mostró medidas cercanas al extremo mayor del intervalo de la especie, mientras que la población del embalse Valle de Bravo mostró medidas cercanas al extremo menor del intervalo (Tabla 13, 14 y Figs. 166).

Al cultivar individuos de la localidad Taxhimay en (s/m), encontramos que no presentaron procesos largos y divergentes (morfotipo 1) la mayor parte de la población (Figs. 160 y 170) como los reportados en condiciones *in situ*, se observó una ligera disminución en el tamaño (longitud) y grado de divergencia de los procesos, a diferencia de los individuos del embalse Valle de Bravo que no mostraron una disminución en el tamaño de los procesos (longitud), pero si en el grado de divergencia (Figs. 167, 163 y Tabla 13 y 14). Los morfotipos observados de ambas localidades en condiciones de cultivo (s/m) fueron los siguientes: el morfotipo 1 con procesos largos y divergentes de longitud menor a los registrados en condiciones naturales, que en vista apical presentó una radiación trirradiada (Figs. 167, 170, 173 y 174), el morfotipo 3 con procesos largos y convergentes con vista apical tetraradiada (Figs. 175, 176, 177, 178 y 179) y el morfotipo 2 con procesos ligeramente divergentes a rectos de longitud menor a los reportados *in situ* (Figs. 168, 171, 173 y 174). En cultivo se observó notablemente la disminución del morfotipo 1 y morfotipo 3, a diferencia del morfotipo 2 que se manifestó en mayor cantidad en ambas localidades, en cambio aunque de manera escasa surgieron tres nuevos morfotipos, el morfotipo "4" que se distinguió por procesos largos (la mayoría de las veces menores a los reportados *in situ*) convergentes trirradiales (Figs. 169, 172, 173 y 174), el morfotipo "5" con 7 procesos largos (heptaradiados) en vista apical y ligeramente divergentes en vista frontal (Fig. 180) y el morfotipo "6" con 5 procesos largos en vista apical y ligeramente divergentes en vista frontal (Fig. 181).

La radiación celular de los individuos en los cultivos fue básicamente trirradiada (Figs. 173 y 174), pero también se registraron algunos individuos con una radiación tetraradiada (Figs. 175, 176, 177, 178 y 179) o incluso, pentaradiada y heptaradiada (Figs. 180 y 181), en menor cantidad dentro de las poblaciones.

Por otra parte los individuos de ambas localidades desarrollados en condiciones de pH ácido (pH 5), disminuyeron en tamaño (talla de las células y longitud de los procesos, aun mas pequeños que los observados en los individuos de cultivo sin modificar) y no desarrollaron los característicos procesos largos que identifican a la especie en condiciones *in situ* (Tabla 12 y Figs. 182, 183, 185, 186); como se mencionó, durante la etapa adulta se detectó un parecido morfológico de los organismos en cultivo con *Staurastrum gracile* var. *nanum* registrada en la bibliografía (Tabla 14 y Fig. 184); reportada en humedales de turbera con ambiente ácidos.

Durante la división celular en el ciclo asexual en los cultivos con pH 5, se registraron divisiones aberrantes; la aberración consistió en que las hemicélulas no se separaron durante la mitosis (no formaron una nueva pared entre ellas). De esta manera el istmo se alargó, pero no desarrolló las dos nuevas hemicélulas separadas, porque el septo no se formó completamente, así que las formas resultantes fueron hemicélulas con forma cuadrada o rectangular en el área del istmo. El desarrollo incompleto del septo impidió que las hemicélulas pudieran crecer hasta alcanzar la forma natural (Figs. 187, 188, 189, 190, 191 y 192).

En los cultivos con pH 10 (realizados con individuos del embalse Taxhimay, ciclo asexual) se observó una reducción más pronunciada de los procesos y tamaño de las células que en los cultivos con pH 5 (Tabla 15 y Fig. 193, 196). En cuanto a los cultivos con bajas concentraciones de nutrimentos, los individuos de ambas localidades mostraron una disminución en la longitud de los procesos más marcada que en los cultivos con pH modificados (Tabla 15, 16 y Figs. 199, 200, 201, 202, 203, 204). En ambos cultivos (pH 10 y nutrimentos modificados) encontramos que las velocidades de crecimiento fueron distintas para las diferentes partes de la célula durante el desarrollo. Las formas observadas fueron poco simétricas, las hemicélulas presentaron tamaños distintos y el desarrollo de sus procesos no fue uniforme (Figs. 194, 195, 196, 197, 198, 199, 201, 202 y 203). Las formas adultas marcadamente alométricas encontradas en estos cultivos recordaron lejanamente a las formas juveniles de etapas tempranas de la reproducción asexual.

Es importante mencionar que el crecimiento de *S. gracile* en condiciones de (s/m) fue óptimo, la aclimatación fisiológica del inóculo a las nuevas condiciones ambientales del medio de cultivo, se dio aproximadamente al mes de inoculado el cultivo. Mientras que en

los cultivos con medios modificados (pH y nutrientes), el crecimiento de *S. gracile* fue diferente, se observó un retardo más pronunciado en la aclimatación fisiológica del inóculo (3 a 4 meses aproximadamente) y la fase de crecimiento fue muy lenta.

Dimensiones	<i>Staurastrum gracile</i> var. <i>nanum</i>	Cultivos pH 5 embalse Valle de Bravo (etapa adulta)	Cultivos pH 5 embalse Taxhimay (etapa adulta)
Largo con procesos	14 – 27.5 μm	19.14 -28.08 μm	23.1 – 26.4 μm
Largo sin procesos		19.4 – 26.4 μm	21.78 – 25.08 μm
Ancho con procesos	23 – 36 μm	29.7 – 38.94 μm	19.8 – 31.02 μm
Ancho sin procesos		13.2 – 14.52 μm	13.2 – 14.52 μm
Istmo	4 – 8.7 μm	6.6 μm	4.62– 6.6 μm

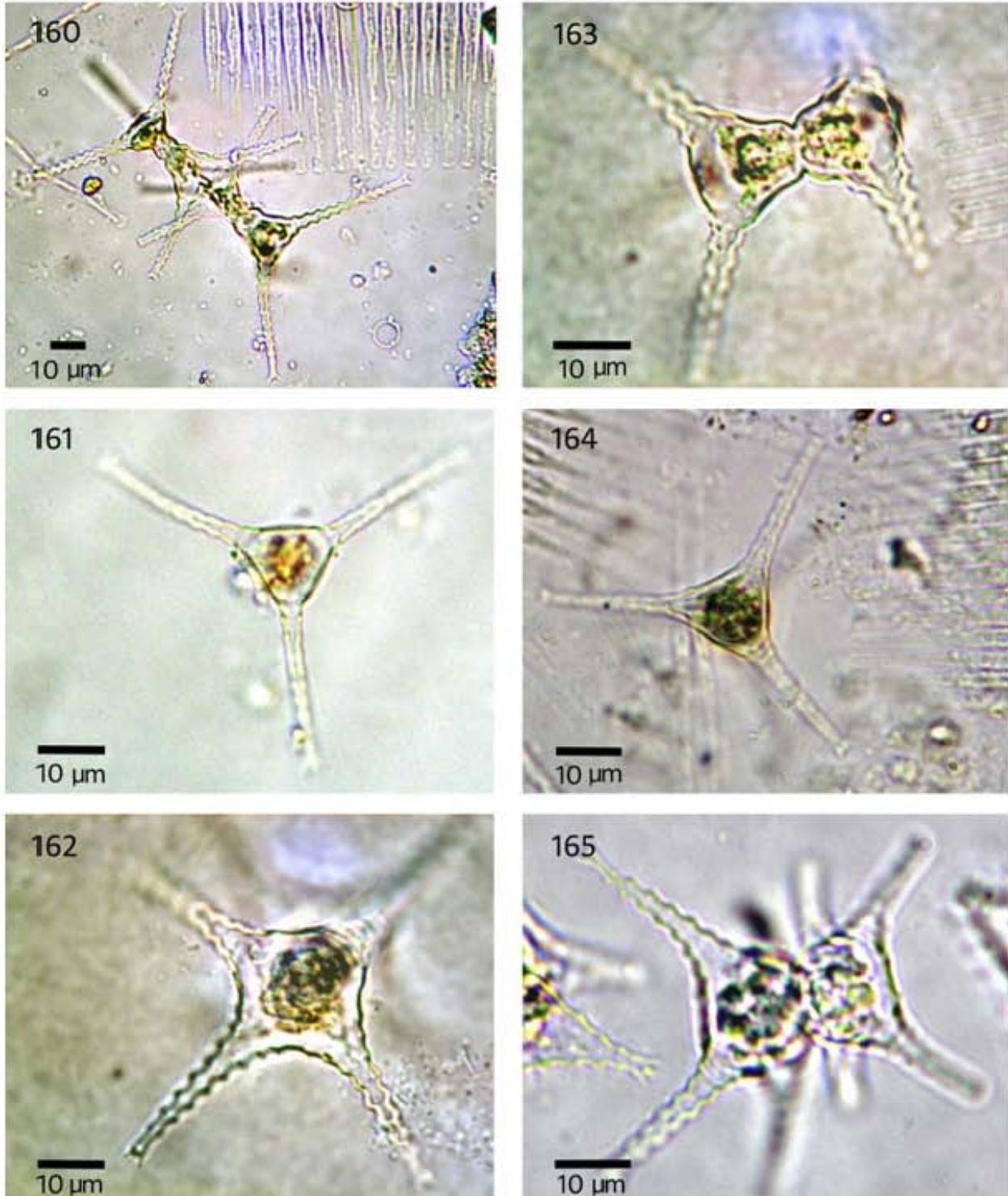
Tabla 12. Dimensiones registradas de *Staurastrum gracile* en condiciones de cultivo con pH 5 del embalse Valle de Bravo y Taxhimay

Dimensión de las células en μm	<i>In situ</i>	Cultivos estándar	Cultivo pH 5	Cultivo pH 10	Cultivo con nutrimentos limitados.
Largo con procesos	24.9 - 68.06	28.38 - 56.1	23.1 - 26.4	20.46 - 27.06	25.08 - 33
Largo sin procesos	18.26 - 31.54	26.4 - 29.04	21.78 - 25.08	19.8 - 27.72	23.1 - 29.7
Ancho con procesos	28.22 - 71.38	26.08 - 58.08	19.8 - 31.02	11.88 - 32.34	15.84 - 31.68
Ancho sin procesos	11.62 - 16.6	11.22 - 15.18	13.2 - 14.52	11.22 - 13.2	8.58 - 13.2
Ancho del Istmo	4.8 - 6.6 μm	5.28 - 6.6	4.62 - 6.6	4.62 - 6.6	4.62 - 5.94

Tabla 13. Dimensiones registradas de los ejemplares del embalse Taxhimay.

Dimensión de las células en μm	<i>In situ</i>	Cultivo estándar	Cultivo estándar (ciclo sexual)	Cultivo pH 5	Cultivo con nutrimentos limitados.
Largo con procesos	28.22 - 49.8	25.08 - 55.44	26.4 - 48.84	19.14 - 28.08	17.82 - 31.02
Largo sin procesos	17.22 - 25.08	19.2 - 31.02	19.14 - 25.74	19.4 - 26.4	16.5 - 25.74
Ancho con procesos	21.58 - 49.8	21.12 - 58.08	22.41 - 44.88	29.7 - 38.94	16.5 - 33
Ancho sin procesos	11.62 - 13.28	10.56 - 16.5	11.88 - 13.2	13.2 - 14.52	9.9 - 13.2
Ancho del Istmo	4.96 - 6.6	5.28 - 6.6	4.62 - 5.94	5.2 - 6.6	4.62 - 6.6

Tabla 14. Dimensiones registradas de los ejemplares del embalse Valle de Bravo.



Figs. 160-165. Polimorfismo observado en las poblaciones *in situ* relacionado con la divergencia de los procesos y radiación de la célula. Figs. 160 y 161) Morfotipo 1 procesos divergentes, embalse Taxhimay; Fig. 162) Morfotipo 3 células en vista apical tetraradiales, embalse Taxhimay; Figs. 163 y 164) Morfotipo 1 procesos divergentes, embalse Valle de Bravo; Fig. 165) Morfotipo 3 células en vista apical tetraradiales, embalse Valle de Bravo.

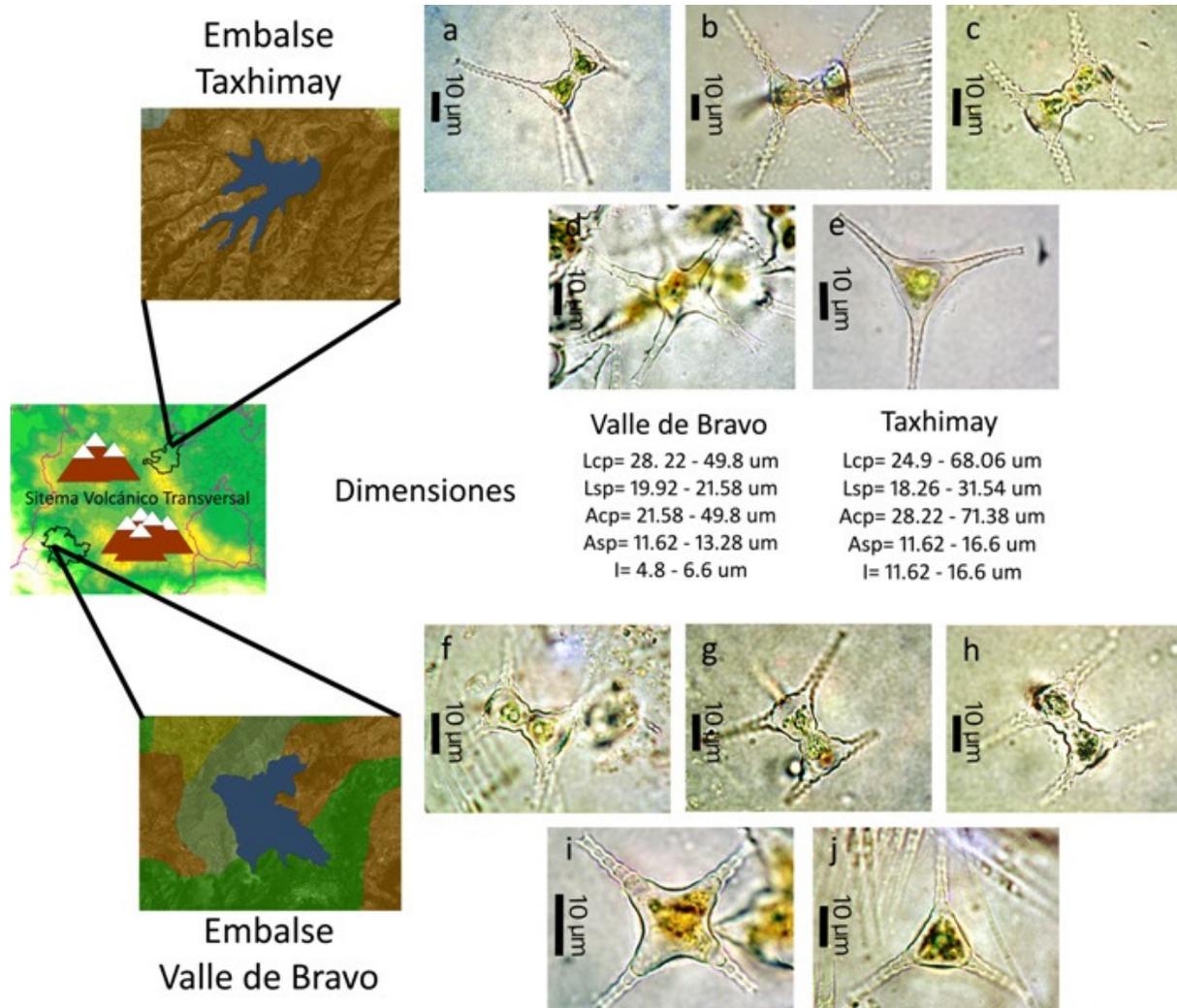


Fig. 166. Polimorfismo observado en las poblaciones *in situ* aisladas por una barrera geográfica (valles y cordilleras) relacionado con la divergencia de los procesos, dimensiones y radiación de la célula. Lcp= largo con procesos, Lsp= largo sin procesos, Acp= ancho con procesos, Asp= ancho sin procesos y l= tamaño del istmo.

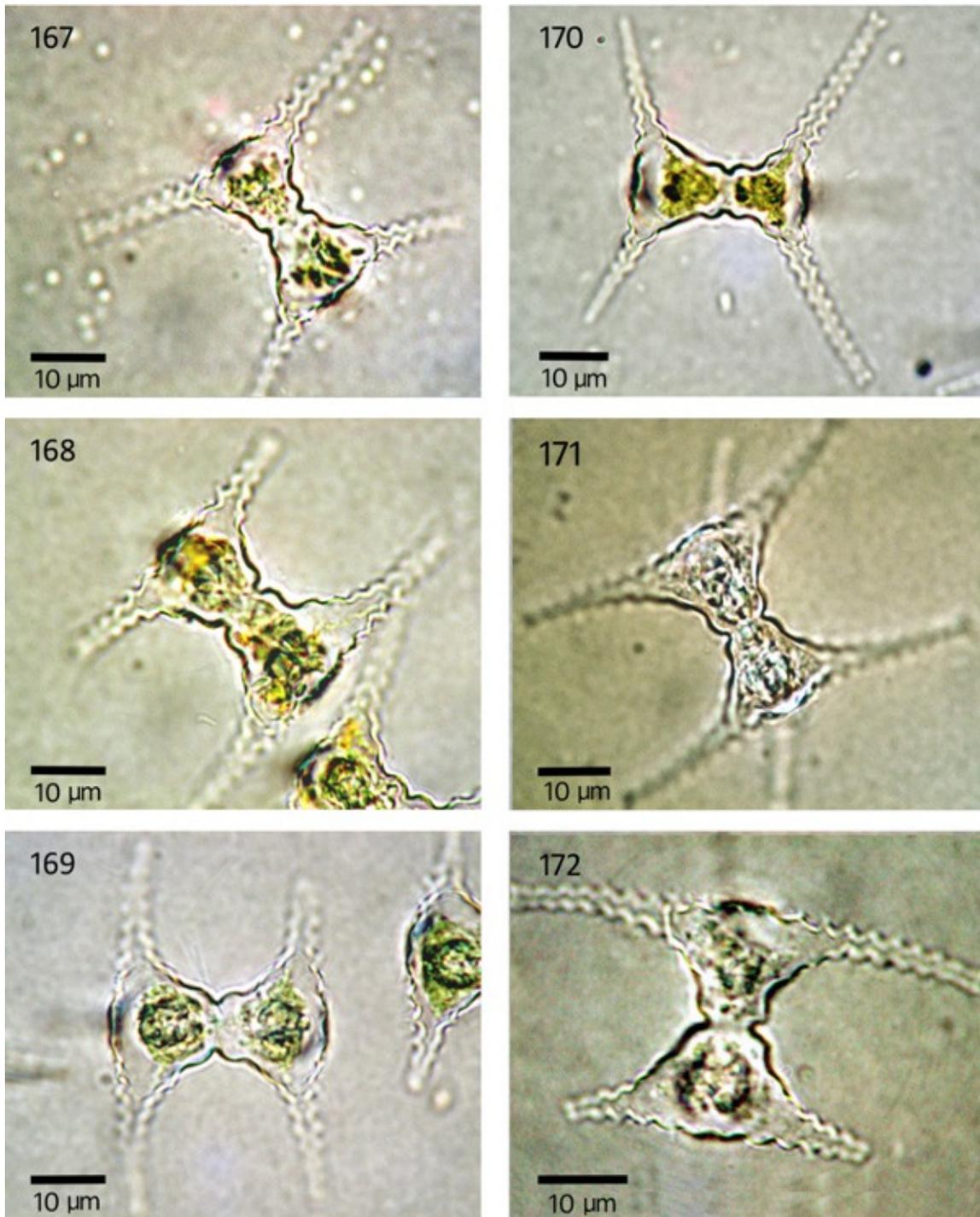
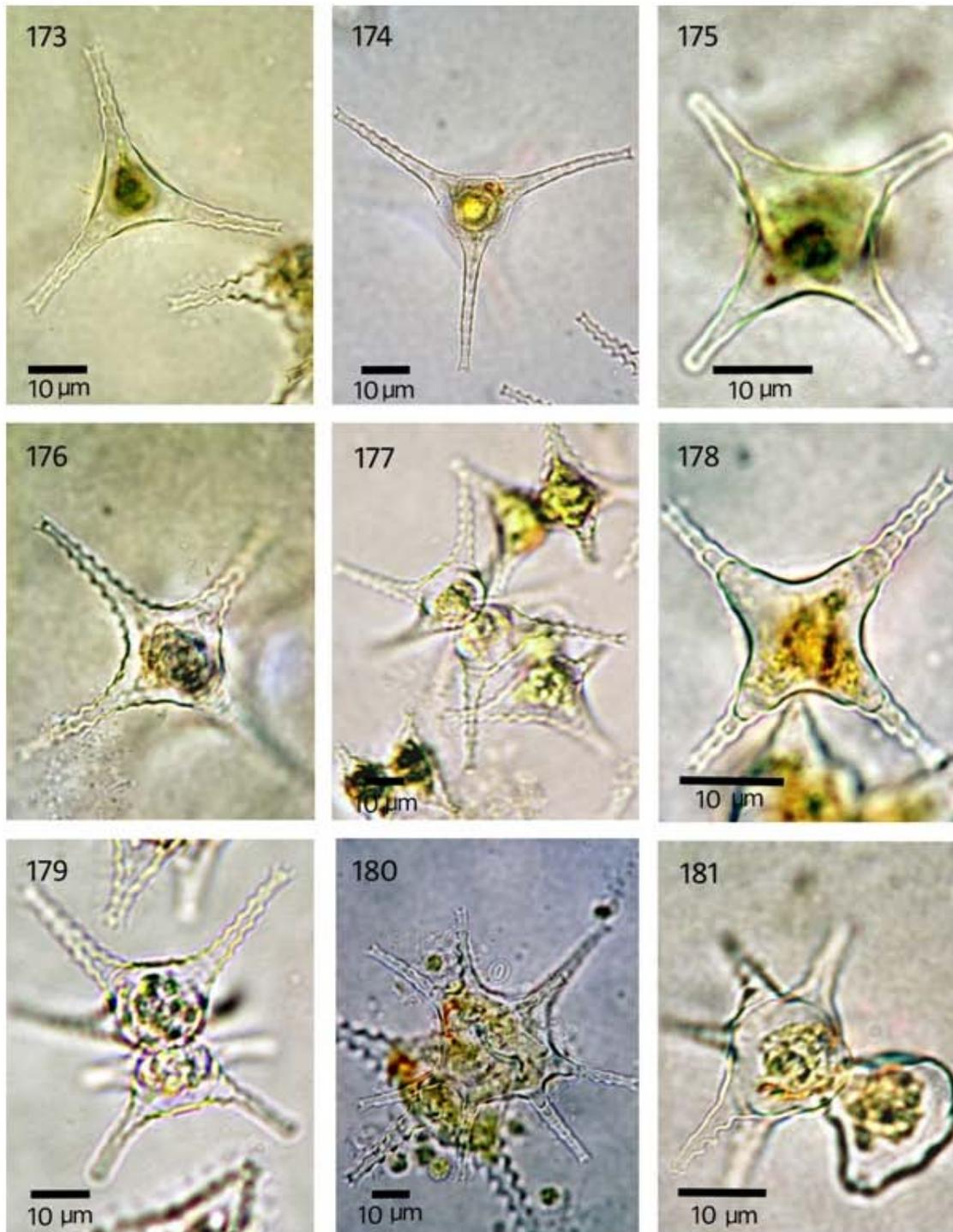
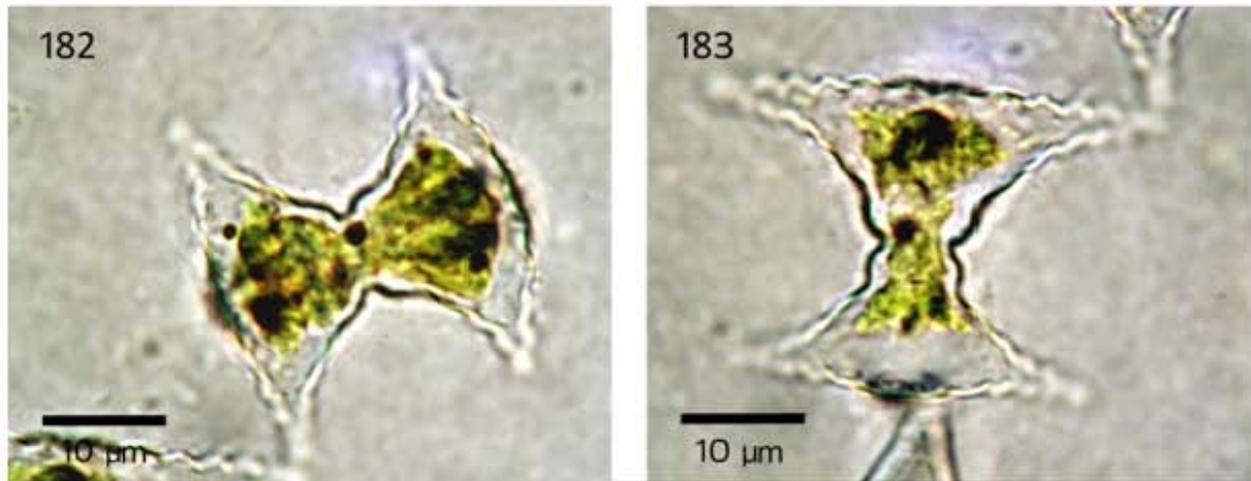


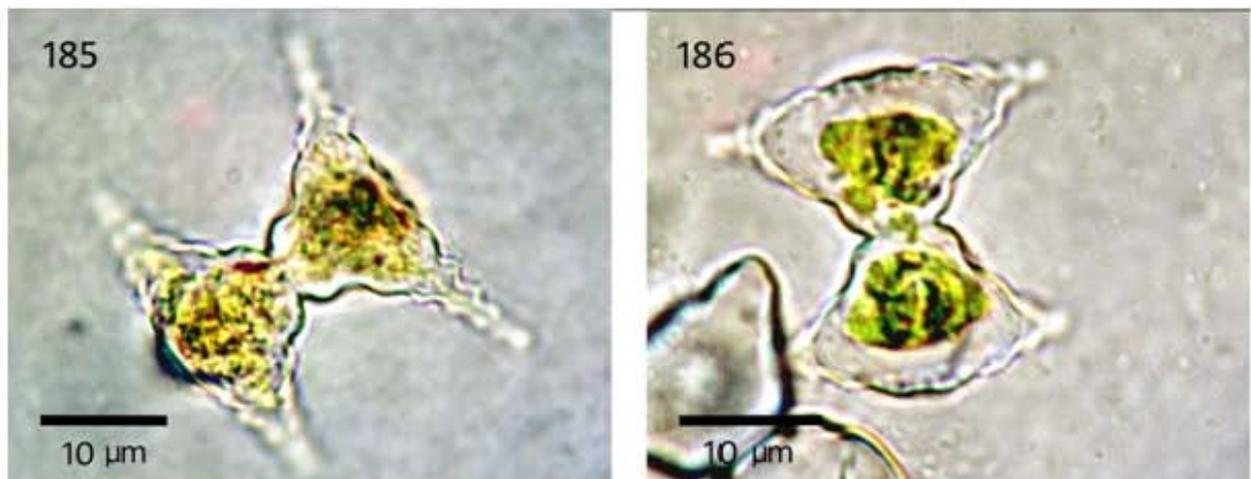
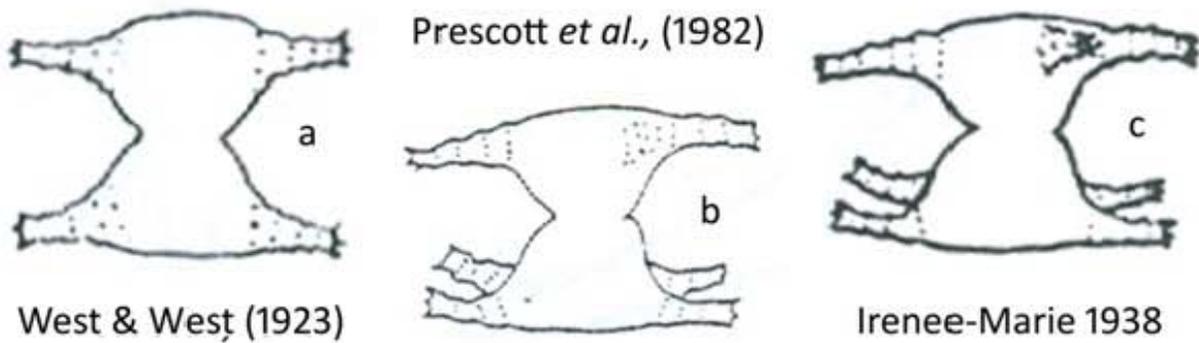
Fig. 162-172. Morfotipos registrados en condiciones de cultivo estándar (s/m) relacionados con la dirección de los procesos. Fig.167) Morfotipo 1 procesos divergentes, embalse Valle de Bravo; 168) Morfotipo 2 procesos casi rectos, embalse Valle de Bravo; 169) Morfotipo 4 procesos ligeramente convergentes, embalse Valle de Bravo; Fig. 170) Morfotipo 1, procesos divergentes, embalse Taxhimay; Fig. 171) Morfotipo 2 procesos casi rectos, embalse Taxhimay; Fig. 172) Morfotipo 4 procesos ligeramente convergentes embalse Taxhimay.



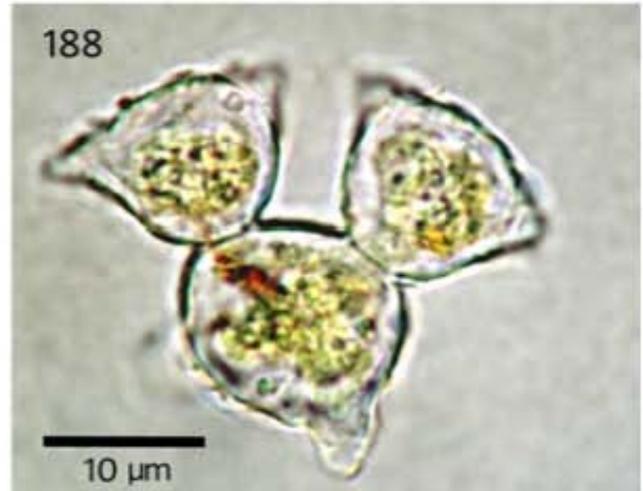
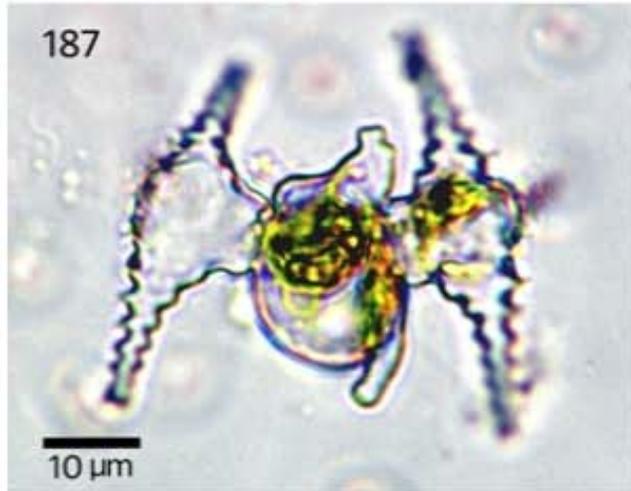
Figs. 173- 181. Polimorfismo registrado en condiciones de cultivo (s/m) relacionado con la radiación de las células en vista apical. Fig. 173) Individuo del embalse Valle de Bravo con radiación trirradiada en vista apical; Fig. 174) Individuo del embalse Taxhimay con radiación trirradiada en vista apical; Figs. 175, 177 y 178) Individuos del embalse Taxhimay con radiación tetra-radiada; Figs. 176 y 179) Individuos del embalse Valle de Bravo con radiación tetra-radiada; Fig. 180) Individuo del embalse Taxhimay con radiación hepta-radiada en vista apical; Fig. 181. Individuo del embalse Valle de Bravo con radiación hepta-radiada en vista apical.



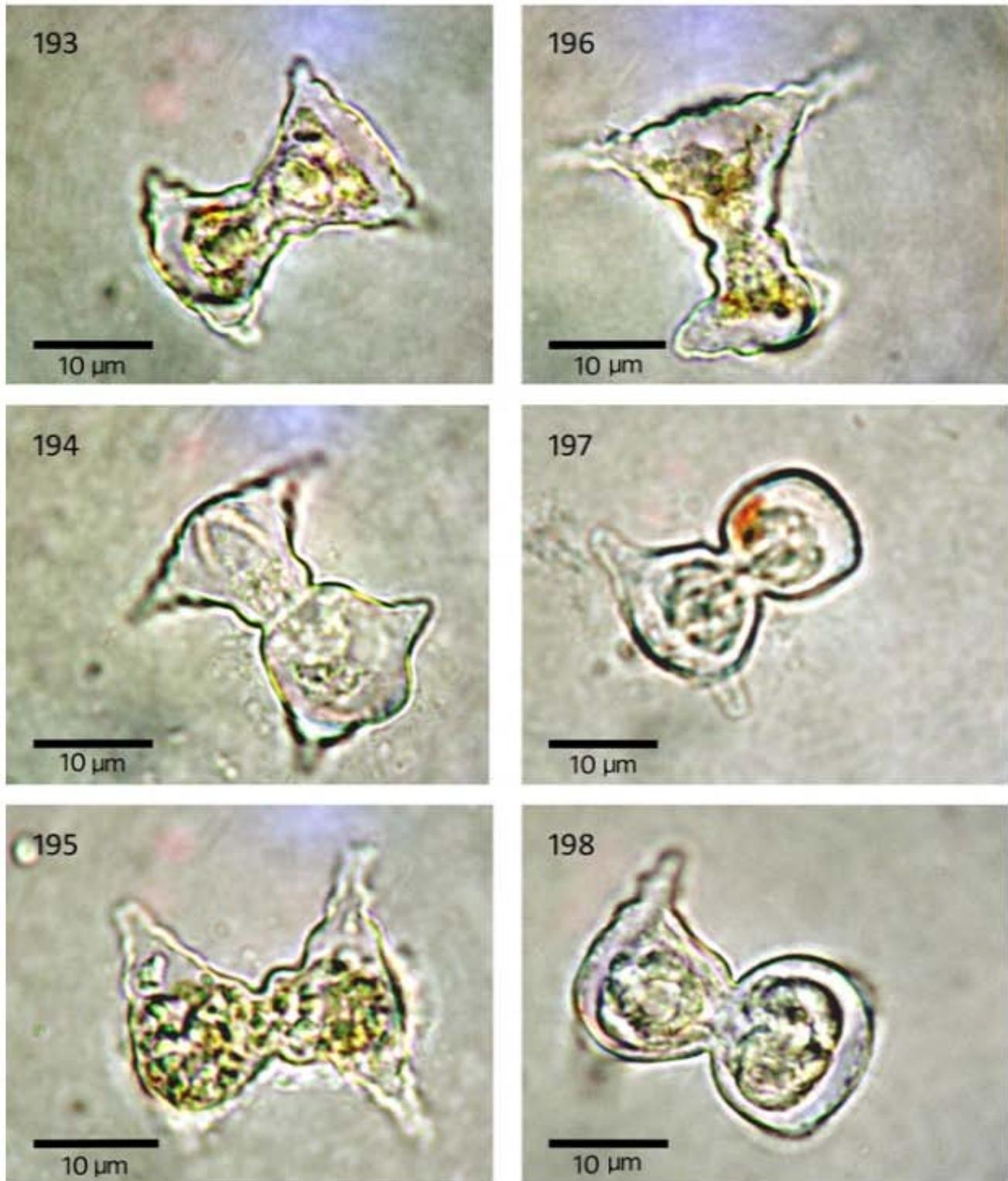
184 *Staurastrum gracile* var. *nanum* Wille 1880



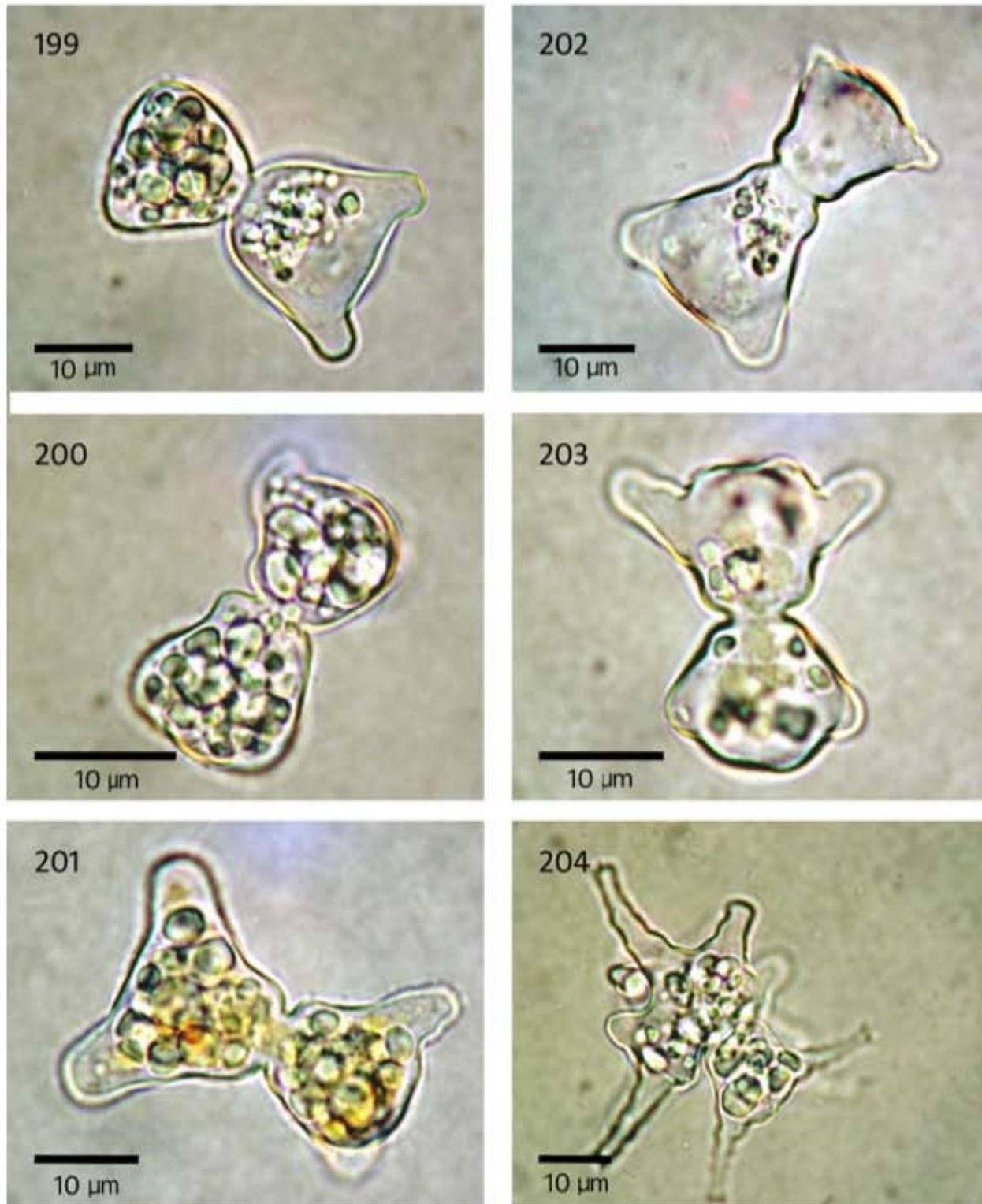
Figs. 182-186. Una comparación de los individuos de ambas localidades desarrollados en cultivos con pH 5 y los ejemplares registrados en la bibliografía para la variedad *nanum* de *S. gracile* (consultar las referencias de los ejemplares en el anexo III). Figs. 182 y 183) Individuos del embalse Valle de Bravo, Figs. 185 y 186) Individuos del embalse Taxhimay; Fig. 184 a, b y c) Ejemplares seleccionados de la literatura.



Figs. 187-192. Divisiones aberrantes presentes en condiciones de cultivos modificados (pH y nutrientes). Figs. 187, 189 y 191) Células con división aberrante registradas en el embalse Taxhimay; Figs. 188, 190 y 192) Células con división aberrante observadas para el embalse Valle de Bravo.



Figs. 193-198. Los individuos registrados en cultivos modificados con pH 10 del embalse Taxhimay, mostraron una reducción en la talla de las células y de los procesos (longitud), además de presentar un crecimiento alométrico marcado.

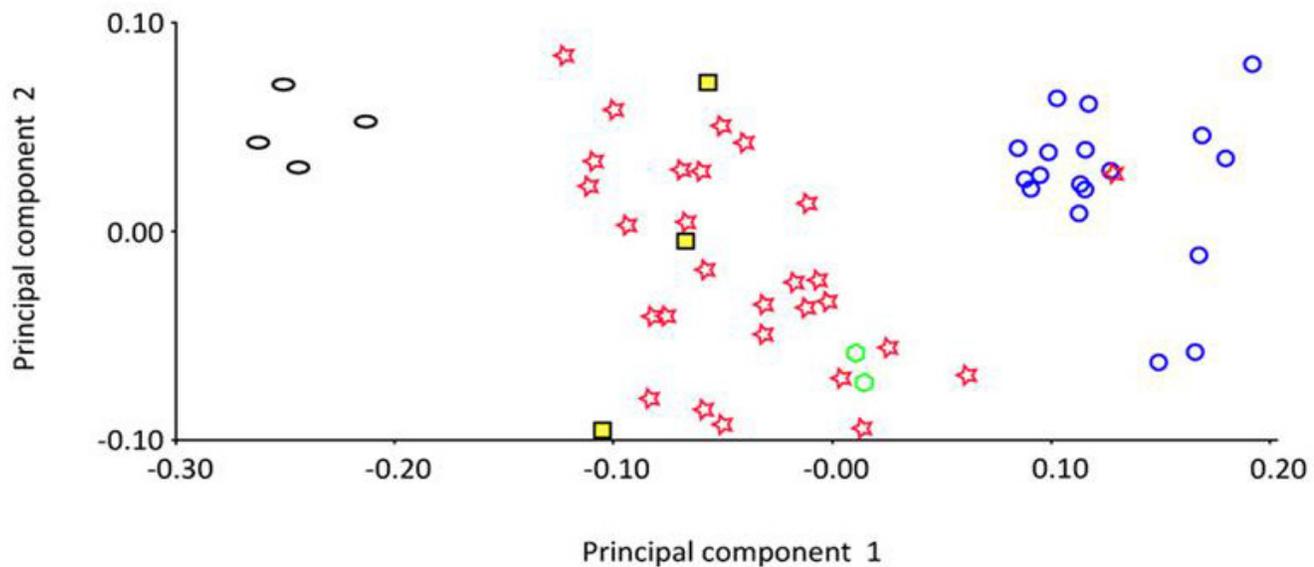


Figs. 199-204. Individuos registrados para ambas localidades en condiciones de cultivo con nutrientes limitados. Las células presentaron una reducción pronunciada en el tamaño de los procesos y un crecimiento alométrico marcado Figs. 199, 200 y 201) Embalse Taxhimay, Figs. 202, 203 y 204) Embalse Valle de Bravo.

Análisis de morfometría geométrica

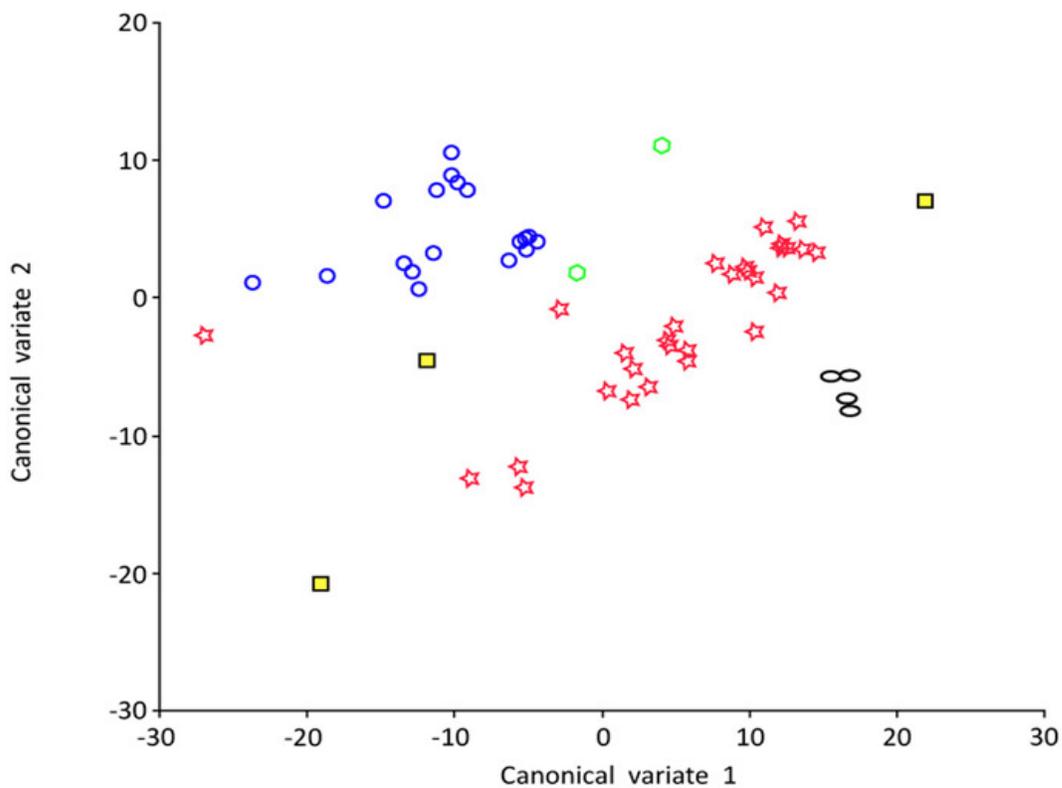
Se realizó un análisis estadístico de morfometría geométrica con el objetivo de evaluar la delimitación taxonómica de *S. gracile* en relación con especies o variedades del género *Staurastrum*. El Análisis de componentes principales (PCA por sus siglas en inglés) basado en un sistema de coordenadas comunes produjo 44 PC (componentes principales) distintos a cero (Fig. 205). El primer eje del PC abarcó 59.5% de la variación total de los datos (explicó la mayor parte de la variación de los datos). El PCA fue una herramienta útil para clasificar grupos y produjo una representación gráfica que permitió observar tres grupos distintos (Fig. 205), el primero estuvo representado por individuos adultos del embalse Taxhimay en condiciones *in situ* (color negro), el segundo lo conformaron individuos adultos del embalse Taxhimay de cultivos estándar, adultos del embalse Valle de Bravo tanto de condiciones *in situ* como de cultivos estándar (con reproducción sexual y asexual) e individuos (fotografías y dibujos de *Staurastrum gracile* y *Staurastrum gracile* var. *coronulatum*) seleccionados de la bibliografía (color rojo). El tercer grupo estuvo constituido por individuos adultos de cultivos con condiciones modificadas (pH5) de ambos sitios de estudio y de etapas juveniles del ciclo reproductivo sexual, así como de ejemplares (fotografías y dibujos) de *Staurastrum gracile* var. *nanum* elegidos de la bibliografía (color azul). Asimismo, tres individuos tomados de la bibliografía, de *Staurastrum paradoxum*, que no formaron un grupo, sino que se mantuvieron dispersos (puntos color rosa) y en la periferia del grupo rojo en el análisis de PC y del grupo azul en el análisis Canónico (Fig. 205 y 206).

El Análisis de Variables Canónicas (CVA por sus siglas en inglés) ilustró los grupos más cercanos y lejanos entre sí, mediante una transformación de variables (eigenvalores) que maximizó el coeficiente de variabilidad entre y dentro de los grupos (Fig. 206). Esta técnica estadística explicó el 50.6 % de la variabilidad total de los datos. El gráfico del CVA representó con mayor depuración de variabilidad, la separación y clasificación de los tres grupos formados con CP, evidenciando, a excepción de *S. paradoxum*, los traslapes morfológicos con variedades de la especie nominal y otras especies de *Staurastrum*. En el análisis de CVA la variedad *coronulatum* de *Staurastrum gracile* (de la literatura), tampoco se integró con claridad en alguno de los grupos (Fig. 206).



- ☆ Ejemplares Adultos Taxhimay (cultivo s/m), adultos Valle de Bravo (*in situ* y cultivo s/m), adultos Valle de Bravo (reproducción sexual, cultivos s/m), registrados en la bibliografía de *Staurastrum gracile*.
- Ejemplares de *Staurastrum paradoxum* de la bibliografía.
- Ejemplares de *Staurastrum gracile* var. *coronulatum* de la bibliografía.
- Ejemplares Adultos de cultivos con pH 5 (ambas localidades), de etapas juveniles en la reproducción sexual y *Staurastrum gracile* var. *nanum* de la bibliografía.
- Ejemplares adultos de Taxhimay *in situ*.

Fig. 205. Análisis de componentes principales.



- ☆ Ejemplares Adultos Taxhimay (cultivo s/m), adultos Valle de Bravo (*in situ* y cultivo s/m), adultos Valle de Bravo (reproducción sexual, cultivos s/m), registrados en la bibliografía de *Staurastrum gracile*.
- Ejemplares de *Staurastrum paradoxum* de la bibliografía.
- Ejemplares de *Staurastrum gracile* var. *coronulatum* de la bibliografía.
- Ejemplares Adultos de cultivos con pH 5 (ambas localidades), de etapas juveniles en la reproducción sexual y *Staurastrum gracile* var. *nanum* de la bibliografía.
- Ejemplares adultos de Taxhimay *in situ*.

Fig. 206. Análisis de Variables Canónicas.

Descripción taxonómica de la especie de estudio

División Chlorophyta

Clase Zygnematophyceae

Orden Desmidiiales

Familia Desmidiaceae

Genero *Staurastrum*.

***Staurastrum gracile* Ralfs 1948**

Células cuneiformes de talla mediana con forma de tazón. Las hemicélulas en vista frontal presentan una constricción media ligera; el sinus es agudo o tiene forma de U (Figs. 14p y 12i), el istmo es estrecho (Fig. 9 a), en las células maduras presentan un cinturón de espinas por la parte superior al istmo que rodea el cuerpo de la célula (Figs. 36 y 38); los márgenes apicales son rectos a ligeramente convexos (Figs. 9b y 13n), los márgenes basales de cada hemicélula son ligeramente convexos y divergen hacia los procesos (Fig. 12j). Las hemicélulas en vista frontal se amplían hacia los márgenes apicales, los ángulos superiores (ubicados entre los márgenes basales y los márgenes apicales) forman procesos largos y delgados de longitud variable (Fig. 14o); a nivel poblacional el grado de divergencia de los procesos es diverso, pueden ser divergentes (Figs. 167 y 170), rectos (Figs. 168 y 171) o ligeramente convergentes (Figs. 169 y 172). Cada proceso presenta un arreglo de anillos con 4 espinas divergentes, que comienza desde la base de los procesos (inicia en los ángulos superiores) hasta la parte terminal de los mismos (Figs. 34 y 43). En vista apical las células son trirradiadas (Figs. 161, 164, 173 y 174) o tetradiadas (Figs. 162, 165, 177, 178 y 179), es decir que exhibe 3 a 4 procesos que se proyectan de cada hemicélula, y en algunas ocasiones puede presentar un mayor número de radiaciones (pentarradiadas y hexarradiadas) (Figs. 180 y 181). Los márgenes laterales de las células en vista apical son rectos a ligeramente convexos (Figs. 10e y 35), dentro de estos márgenes laterales la célula exhibe una serie de pequeñas espinas emarginales que en ocasiones se muestran en pares (Figs. 32, 33, 40 y 42). Durante el ciclo sexual la cigospora tiene forma globosa y muestra 18 procesos, que en la parte terminal se ramifican dicotómicamente y presentan 4 dientes divergentes en el ápice de las ramificaciones (un par en cada ramificación) (Fig. 37)

La poblaciones de *S. gracile* en condiciones *in situ* están representadas principalmente por individuos que exhiben procesos amplios y divergentes (morfotipo 1) (Figs. 26, 28, 30 y 31) así como individuos con procesos casi rectos (morfotipo 2) (Figs. 25, 27, 29 y 31) en menor cantidad. En condiciones de cultivos enriquecidos en nutrimentos (cultivo estándar s/m) con pH de 8.4 (embalse Taxhimay) y 10.6 unidades (Valle de Bravo) los individuos con los característicos procesos largos y divergentes reportados en condiciones *in situ*, se manifestaron en menor cantidad. Los individuos desarrollados bajo estas condiciones ambientales mostraron una disminución en el tamaño de los procesos (longitud) y en el grado de divergencia de los mismos (Tablas 15 y 16). La forma dominante fue la del morfotipo 2 (con procesos ligeramente divergentes a casi rectos) (Figs. 168 y 171) y en menor cantidad encontramos el morfotipo 1 (individuos con procesos divergentes con longitud menor a los registrados en condiciones naturales) (Figs. 167 y 170) y el morfotipo 3 (individuos con procesos ligeramente convergentes) (Figs. 169 y 172). En condiciones de pH ácido (cultivos con pH 5), la población de *Staurastrum gracile* tanto del Embalse Valle de Bravo como de Taxhimay, exhibió una reducción pronunciada en el tamaño de las células y longitud de sus procesos (Figs. 182, 183, 185 y 186), además se observaron divisiones aberrantes en las células (Figs. 187, 188, 189, 190, 191 y 192). Para la población de Presa Taxhimay en pH 10 igualmente se observó una reducción en tamaño y longitud de los procesos más pronunciada que en condiciones de pH 5 (Figs. 193, 194, 195, 196, 197 y 198). En condiciones de cultivo con nutrimentos en baja concentración los procesos de los individuos fueron aún menores a los registrados en los cultivos con pH modificado (Figs. 199, 200, 201, 202, 203 y 204).

Al evaluar y documentar la variabilidad expresada de *S. gracile* en condiciones contrastantes como cultivos estándar (s/m) y modificados (pH y nutrimentos), se observó que parte de la variabilidad morfológica estuvo asociada con el tamaño de las células, lo cual nos permitió ampliar el intervalo de dimensiones en la descripción de la especie y definir la variabilidad morfológica asociada a las distintas condiciones ambientales en las cuales se desarrolla. Las dimensiones de los individuos se encuentran registradas en la tabla 15.

Embalse	Dimensiones de los individuos en μm	Unidades de pH	Proporción de nutrimentos	Tipo de ambiente
Taxhimay <i>in situ</i>	Lcp= 24.9 – 68.06 Lsp= 24.9 – 31.54 Acp= 28.22 – 71.38 Asp= 11.62 – 16.6 Istmo= 4.96 – 6.6	pH de 8.4 unidades	16:1 Nitrógeno : fosforo	Ambiente Eutrófico
Valle de Bravo <i>in situ</i>	Lcp= 28.22 – 49.8 Lsp= 17.22 -25.08 Acp= 21.58 – 49.8 Asp = 11.62 – 13.28 Istmo= 4.96 – 6.6	pH 10.6 unidades	16:1 Nitrógeno : fosforo	Ambiente Eutrófico
Taxhimay cultivo estándar s/m	Lcp= 28.38 – 56.1 Lsp= 26.4 – 29.04 Acp= 26.08 – 58.08 Asp= 11.22 – 15.18 Istmo= 5.28 – 6.6	pH ajustado a 8.4 unidades	Conservo la proporción 16:1 Nitrógeno : fosforo	Medio de Cultivo enriquecido con nutrimentos
Valle de Bravo cultivo estándar s/m	Lcp=25.08 – 55.44 Lsp= 19.2 – 31.02 Acp= 21.12 – 58.08 Asp= 10.56 – 16.5 Istmo= 5.28 – 6.6	pH ajustado a 10.6 unidades	Conservo la proporción 16:1 Nitrógeno : fosforo	Medio de Cultivo enriquecido con nutrimentos
Taxhimay cultivo con pH modificado	Lcp= 23.1 – 26.4 Lsp= 21.78 – 25.08 Acp= 19.8 – 31.02 Asp= 13.2 – 14.52 Istmo= 4.62 – 6.6	pH 5.0 unidades	Conservo la proporción 16:1 Nitrógeno : fosforo	Medio de Cultivo enriquecido con nutrimentos
Valle de Bravo cultivo con pH modificado	Lcp= 19.14 – 28.08 Lsp= 19.4 – 26.4 Acp= 29.7 – 38.94 Asp= 13.2 – 14.52 Istmo= 5.2 – 6.6	pH 5.0 unidades	Conservo la proporción 16:1 Nitrógeno : fosforo	Medio de Cultivo enriquecido con nutrimentos

Embalse	Dimensiones de los individuos en μm	Unidades de pH	Proporción de nutrientes	Tipo de ambiente
Taxhimay cultivo con pH modificado	Lcp= 20.46 – 27.06 Lsp= 19.8 – 27.06 Acp= 11.88 – 32.34 Asp= 11.22 – 13.2 Istmo= 4.62 – 6.6	pH 10 unidades	Conservo la proporción 16:1 Nitrógeno : fosforo	Medio de Cultivo enriquecido con nutrientes
Valle de Bravo cultivo con nutrientes modificados	Lcp= 17.82 – 31.02 Lsp= 16.5 – 25.74 Acp= 16.5 – 33 Asp= 9.9 – 13.2 Istmo= 4.62 – 6.6	pH ajustado a 10.6 unidades	Conservo la proporción 16:1 Nitrógeno : fosforo	Medio de Cultivo limitado por nutrientes
Taxhimay cultivo con nutrientes modificados	Lcp= 25.08 – 33 Lsp= 23.1 – 29.7 Acp= 15.84 – 31.68 Asp= 8.58 – 13.2 Istmo= 4.62 – 5.94	pH ajustado a 8.4 unidades	Conservo la proporción 16:1 Nitrógeno : fosforo	Medio de Cultivo limitado por nutrientes

Tabla 15. Dimensiones registradas de los individuos para ambas localidades tanto en condiciones ambientales naturales como de cultivo, con sus distintas modificaciones (nutrientes y pH).

DISCUSIÓN

A partir de los caracteres morfológicos específicos reconocidos en la literatura, identificamos dos poblaciones de la especie *Staurastrum gracile* en los sitios de estudio. Las poblaciones mostraron diferentes intervalos de tamaño y variaciones morfológicas asociadas a las condiciones naturales donde se desarrollaron, así que el polimorfismo dentro de las poblaciones en condiciones naturales fue notable y se expresó en diferentes morfotipos (1, 2 y 3). Las formas encontradas estuvieron relacionadas con la radiación y tamaño de las células, longitud y divergencia de los procesos.

Por otra parte, el uso del microscopio de barrido durante la evaluación morfológica de la especie fue de gran importancia, ya que permitió la caracterización fina de algunos caracteres diagnósticos y diacríticos que no eran visibles de forma objetiva con los microscopios fotónicos.

Con el establecimiento de los cultivos y herramientas de microscopía evaluamos de manera adecuada la morfología de la especie, y comparando con lo que ha sido planteado en la literatura, hicimos una propuesta de los caracteres que deben considerarse relevantes, para una identificación confiable de la especie, a partir de lo que hemos definido como estado adulto y que son: 1) El arreglo de anillos de 4 espinas en los procesos; 2) El cinturón ornamentado con pequeñas espinas por la parte superior al istmo; 3) La serie de pequeñas espinas emarginales en vista apical y 4) la ornamentación de la cigospora madura.

El establecimiento de cultivos sin modificar las condiciones *in situ* (s/m) nos permitió valorar la morfología de la especie a nivel poblacional y diferenciar entre la variabilidad inherente al ciclo de vida (pleomorfismo) y la variabilidad polimórfica que puede expresarse como diferentes fenotipos dentro de las poblaciones. El uso de los cultivos con condiciones modificadas (pH y nutrimentos), fue entonces importante en la valoración de la plasticidad fenotípica asociada a diversas condiciones ambientales.

La variabilidad polimórfica fue muy amplia en condiciones del cultivo s/m, y se mostró en diferentes fenotipos que se presentan como los morfotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 sin modificar condiciones. Las formas encontradas estuvieron relacionadas con varios aspectos que caracterizan al género *Staurastrum*, la radiación de las células, tamaño y divergencia de los procesos. Parece ser que el polimorfismo observado en los cultivos s/m estuvo relacionado con la capacidad de los organismos de producir diferentes fenotipos en respuesta a la variación ambiental propia (Schamalhausen, 1986) del ecosistema en donde se desarrollan.

Durante el ciclo asexual encontramos que las células presentan diversas formas durante su crecimiento; es decir, este pleomorfismo es inherente a la ontogenia descrita para la especie y en el ciclo asexual se relaciona con la segunda división celular, que ocurre antes de que la célula esté completamente desarrollada. En el caso del ciclo reproductivo sexual registramos formas distintas de la cigospora que tienen que ver con su proceso de formación; por ello sugerimos que la cigospora en la etapa adulta sea utilizada como un criterio taxonómico para la delimitación de *S. gracile*. Sin duda la importancia de definir los límites pleomórficos y el establecimiento de los rasgos morfológicos constantes durante la etapa adulta, se finca en la identificación correcta de la especie.

La plasticidad morfológica que se observó en los adultos en condiciones de cultivos modificados (pH y nutrimentos) de ambas localidades, estuvo relacionada con un tamaño pequeño de las células y de los procesos, así como con la presencia de divisiones celulares aberrantes y en diferentes grados de crecimiento alométrico de las poblaciones.

Los individuos desarrollados en cultivos con condiciones modificadas (con pH 5.0, pH 10.0 y nutrimentos modificados con respecto a las condiciones *in situ*) pueden enfrentar un estrés porque la célula tiende a mantener el pH neutro de su citoplasma (Gimmler & Weis, 1992). Se ha planteado que la reducción observada en la superficie-volumen de las células (Cerna & Neustupa, 2010) podría minimizar el estrés causado por los iones H^+ que penetran en las paredes y membranas de las células, reduciendo así la exposición al ambiente ácido (Coesel, 1982). Esto es porque las concentraciones muy bajas de pH pueden dañar las paredes de las células, ya que se debilitan los enlaces de hidrógeno en los filamentos de celulosa que contienen las paredes, lo que puede dar lugar a la expansión incontrolada de las células. La respuesta que observamos de los individuos (*S. gracile*) ante las condiciones de pH modificado, sobre todo en cultivos con pH ácido, fue la presencia de divisiones aberrantes en una cierta proporción de la población, que de acuerdo con nuestras observaciones, impidieron el desarrollo de nuevas hemicélulas debido a la incompleta formación de la pared (septo) durante la división celular. Por el contrario, el marcado crecimiento alométrico abarcó la mayoría de los individuos en las poblaciones en condiciones de pH básico y nutrimentos pobres, así que esta combinación de factores puede afectar las velocidades de crecimiento poblacional al causar cambios drásticos en la forma de las células.

Cabe destacar que tanto los cultivos *s/m*, como en aquéllos con pH y nutrimentos modificados empleados durante el estudio, proporcionaron un ambiente artificial donde creció *S. gracile*. En condiciones ideales estos cultivos debieron haber sido similares al entorno natural del alga, pero en realidad existieron muchas diferencias significativas. La imposición de un ambiente distinto a su entorno natural causa inevitablemente un periodo de aclimatación fisiológica, en el cual el crecimiento demográfico es muy lento o

no se produce. En el caso de los cultivos estándar (s/m) el crecimiento de *S. gracile* fue óptimo, la aclimatación fisiológica del inóculo se logró en aproximadamente un mes, mientras que en los cultivos modificados (pH y nutrimentos) el establecimiento del cultivo fue más lento (de 3 a 4 meses aproximadamente). Parece ser que la aclimatación lleva tiempo y si la diferencia ambiental es extrema (como un cambio abrupto del pH o nutrimentos escasos), se producen variaciones en la estructura y fisiología del individuo como respuesta al ambiente (Morales & Trainor, 1999) y por lo tanto en algunas ocasiones los cultivos no se desarrollaran de forma adecuada. Existe la posibilidad de que las poblaciones de *S. gracile* en ambientes naturales con pH 5.0, aún con individuos de tamaño pequeño, sean menos numerosas que las que crecen en ambientes neutros a ligeramente alcalinos.

Al evaluar y documentar la variabilidad expresada de *S. gracile* en condiciones contrastantes como cultivos estándar (s/m) y modificados (pH y nutrimentos), concluimos que parte de la variabilidad morfológica estaba asociada a las dimensiones de las células, por lo que ampliamos el intervalo de dimensiones descrito para la especie de estudio. La delimitación de la variabilidad morfológica en una gama de condiciones ambientales contrastantes, nos permitió evaluar los posibles límites ambientales en donde se puede desarrollar la especie, sin alterar completamente sus procesos morfogenéticos, lo que nos puede dar una idea de los verdaderos límites ambientales en donde puede desarrollarse esta especie. Los datos obtenidos nos plantean que la evaluación de las variables ambientales es esencial no solo para el establecimiento de cultivos sino para identificar la variación morfológica asociada al ambiente y finalmente para la validación de las condiciones ecológicas como parte de la biología de las especies y de su descripción taxonómica. Cabe resaltar que el hecho de que *S. gracile* creciera en diferentes condiciones ambientales y manifestara distintas respuestas morfológicas a cada condición, podría sugerir cosmopolitismo de la especie. El comopolitismo se justifica solo cuando una especie crece en las condiciones ambientales que le son apropiadas, pero el crecimiento de *S. gracile* en condiciones variables de cultivo sugiere que su estrategia es diferente, cuando las condiciones ecológicas varían se manifiestan respuestas morfológicas diferentes, adecuadas a esa variación. La sola interpretación morfológica no es suficiente, debe abordarse polifásicamente.

En las localidades de estudio *S. gracile* se caracterizó por presentar procesos largos y divergentes, que es una de sus características morfológicas predominantes de las poblaciones en condiciones naturales, pero es uno de los caracteres taxonómicos más obvios traslapados entre *Staurastrum gracile* y *Staurastrum paradoxum*. Aquí es importante aclarar que de acuerdo con la literatura hay además otros caracteres que

ambas especies comparten (ver Tabla 12). Mediante la exploración sobre las descripciones y dibujos por autores especializados en el grupo, se comprobó que ambas especies han estado sujetas a considerables variaciones y formas que se traslapan entre las dos, sobre todo asociadas con la divergencia de los procesos, con la forma y con las dimensiones de las células. Como resultado del traslape, los registros florísticos basados en un número escaso de individuos, pueden ser referidos tanto a una especie como a otra (West & West, 1923). Hasta ahora estas dos especies se han diferenciado por el tamaño (grosor) y divergencia de los procesos, además de la presencia de ornamentaciones (espinas) emarginales dentro de los márgenes laterales en vista apical (Irene-Marie; 1938) y estas ornamentaciones son consideradas como un rasgo morfológico específico para diferenciarlas, ya que *S. paradoxum* no las presenta con frecuencia. De acuerdo con West & West (1923) e Hirano (1959) *S. paradoxum* presenta ornamentaciones dentro de cada margen lateral. También encontramos que *S. paradoxum* se describe con una constricción media muy profunda y un sinus agudo, a diferencia de *Staurastrum gracile* que presenta una constricción menos profunda y un sinus frecuentemente redondeado, en forma de U. Al respecto, consideramos que hay que tener cuidado con estas diferencias ya que probablemente estén relacionadas con la etapa inicial de la división celular durante el ciclo reproductivo asexual. Cuando las células adultas de *S. gracile* comienzan a diferenciarse con un alargamiento por la parte media de ambas hemicélulas, dan lugar a una constricción media más profunda con un sinus con forma de U. Cuando las células adultas de *S. gracile* no están en división, la constricción media es más ligera y la forma del sinus tiene una apariencia más aguda, como en *S. paradoxum*. Por ello pensamos que en realidad no se ha encontrado un carácter morfológico que tenga el peso suficiente para poder separar estas dos especies.

Las poblaciones de *S. gracile* en vista apical presentaron además una serie de pequeñas espinas emarginales dentro de cada margen lateral de las células (que algunas veces se muestran en pares), rasgo que nos llevó a detectar un traslape morfológico con *Staurastrum gracile* var. *coronulatum*, variedad que presenta espinas emarginales en pares dentro de cada margen lateral de las células en vista apical, aunque sus dimensiones y tamaño de los procesos sean menores a los que presenta la especie nominal. Es importante decir que en tanto que este carácter se encuentra sólo en el ápice de la célula no fue usado en el análisis morfométrico, pues esta ornamentación de espinas no se observa en la vista frontal, que es la única posible de analizar por morfometría porque la forma y tamaño de las células de este género no facilitan obtener suficiente número de individuos colocados en vista apical.

Cuando se variaron las condiciones de cultivo, en el caso del pH 5.0, se hizo clara la razón de algunos traslapes con otras variedades de la especie, como con *Staurastrum gracile* var. *nanum* que está descrita para ambientes ácidos. De acuerdo con la literatura, la diferencia en tamaño (células y procesos) con la especie nominal es contundente, pero nuestras poblaciones de *S. gracile* en cultivos ácidos (pH 5.0) mostraron la morfología de la variedad *nanum* de *S. gracile*. El hecho de que la forma *nanum* no esté presente en los sitios de estudio, podría indicar la posibilidad de que se desarrolle exclusivamente en ambientes ácidos como los humedales de turbera en Canadá, en donde esta variedad fue descrita. Las especies ampliamente distribuidas, como es el caso de *S. gracile* reportada con una distribución cosmopolita, (en Estados Unidos y la mayoría de las provincias de Canadá, Inglaterra, Europa y Asia, West & West, 1923; Hirano, 1959; Prescott *et al.*, 1982), y pueden variar a lo largo de su distribución geográfica, ya sea morfológica, fisiológica o genéticamente.

En taxonomía, una variedad se designa cuando se reconocen características morfológicas (fenotipo) suficientemente diferentes de las de la especie nominal. Esto sugiere que esas diferencias son consistentes, es decir que pueden ser observadas en varias poblaciones de otras áreas. Cuando esta morfología particular se asocia con condiciones ecológicas particulares, en ecología se reconoce a esta entidad (población) como un ecotipo, que implica, por definición, una separación genética con respecto a la especie. En el caso de las especies de *Staurastrum* (y desde luego de varias desmicias más), no hay estudios que demuestren la existencia de aislamiento genético entre variedades. Por ejemplo, no se ha observado si *S. gracile* var. *nanum* cumple un ciclo de vida distinto que la variedad nominal, justo por desarrollarse solo en pH ácido. En el caso de nuestros cultivos, cuando *S. gracile* var. *gracile* creció en pH ácido, sólo se reprodujo asexualmente, lo que tal vez implica que es el pH el factor que permite su crecimiento (con una morfología diferente) pero no su reproducción. Claramente esto en la naturaleza puede conducir a la generación de especies distintas disparadas por el aislamiento ecológico de las poblaciones, pero no puede afirmarse que haya ocurrido.

Entonces, si la determinación taxonómica se basa exclusivamente en morfología, la justificación de las variedades es clara porque en ningún ecosistema acuático se modifica el pH de básico a ácido, sin que el ambiente sufra alguna alteración severa o crónica (por ejemplo lluvia ácida). En taxonomía la variedad tiene sentido porque es la forma de destacar un fenotipo evidentemente diferente, sin que implique una medida o juicio sobre un posible aislamiento genético de la especie nominal, pero en ecología es necesario probar que existe un aislamiento.

La modificación sustancial de la forma que encontramos, generó la perspectiva de analizar la morfología observada en cultivos e in situ a través de un análisis de morfometría

geométrica que separó un grupo conformado con nuestros especímenes de *S. gracile* de cultivos ácidos, con especímenes de *S. gracile* var. *nanum*, tomados de la literatura. Un efecto similar ocurrió cuando el análisis de morfometría geométrica reunió en este grupo a los individuos juveniles de *S. gracile*, que también por el tamaño se traslaparon con los especímenes de *S. gracile* var. *nanum*. Datos que nos llevan a considerar que *Staurastrum gracile* var. *nanum*, es una forma de la especie nominal que se desarrolla en ambientes ácidos, que de acuerdo con nuestros resultados, si fuera capaz de crecer en ambientes neutros a básicos, se confundiría con las etapas juveniles de la variedad nominal, y/o además desarrollaría los procesos más largos y mayores dimensiones. Esto claramente no sucede, pero nuestros resultados cuestionan completamente el estatus real (taxonómico, ecológico y evolutivo) de la variedad *nanum*.

Una situación semejante ocurrió cuando se introdujeron en el análisis morfométrico algunos ejemplares tomados de la literatura, de *Staurastrum gracile* var. *coronulatum* y de *S. paradoxum*, que en lugar de formar grupos separados, se integraron al grupo de *S. gracile* var. *gracile* o al de *S. gracile* var. *nanum*. Es justo decir que fueron pocos los individuos de la variedad *coronulatum* (dos ejemplares) y de *S. paradoxum* (tres ejemplares) que se incorporaron en el análisis y esto pudo sesgar los resultados, de modo que esta observación sobre la debilidad de la distinción *gracile-gracile* con *gracile-coronulatum* y con *S. paradoxum* solo es preliminar. Consideramos que es necesario incluir datos genéticos para resolver si algunas de estas variedades podrían ser consideradas como la misma especie, o por el contrario como especies gemelas.

Es importante mencionar que el análisis morfométrico reafirmó que la población del embalse Valle de Bravo fue efectivamente *S. gracile* var. *gracile* y conformó un grupo sólido, tanto de los individuos de condiciones *in situ*, como de cultivo, además de agruparse con individuos de la variedad nominal reportados en la bibliografía.

Los individuos adultos del embalse Taxhimay en condiciones *in situ* se separaron en un grupo único. Puede ser que se trate de respuestas morfológicas adaptadas a condiciones ambientales locales, pero como en este caso existen cadenas montañosas que separan estos dos embalses, tal vez las poblaciones estudiadas se localizan de forma discontinua (Figs. 1, 31 y 166) y podría no existir un flujo genético. Aun no sabemos si existan diferencias genéticas que nos permitan considerarlos ecotipos.

Actualmente las investigaciones son cada vez más detalladas y precisas, efectuadas con métodos genéticos, y han puesto de manifiesto que muchas especies tienen una extensa distribución (especies cosmopolitas) y una ecología particular. Este no es el caso de *Staurastrum gracile*, que se supone se distribuye en todos los continentes, porque no se han incorporado esos estudios filogeográficos. La forma de etiquetar correctamente estas

morfologías similares que pueden ocupar hábitats distintos o coexistir en el mismo hábitat, es mediante el estudio de aspectos bioquímicos, genéticos y fisiológicos (aproximación polifásica).

Queremos enfatizar que la identificación de especies a partir de datos morfológicos y morfométricos no es suficiente. Los estudios genéticos son necesarios para obtener información crucial sobre los mecanismos de plasticidad a nivel genético, sobre todo en especies con amplia distribución geográfica, como en el caso de *S. gracile*, ya que un carácter fenotípico es producto no solo de la información genética, sino también del ambiente que lo moldea y de la interacción entre genes; por tal motivo los estudios de ecología molecular son importantes para resolver problemas de variación fenotípica entre las poblaciones, enfocados al uso de marcadores genéticos para apoyar la decisión si un organismo pertenece o no a una especie determinada.

Conclusiones finales

- *Staurastrum gracile* tanto en condiciones ambientales naturales como de cultivos modificados, es una especie altamente polimórfica.
- Analizando las poblaciones de *S. gracile* en condiciones naturales y de cultivo concluimos que ni el tamaño, ni la divergencia de los procesos, ni la radiación pueden ser utilizados confiablemente. Una contribución importante de este trabajo fue que ampliamos el intervalo de dimensiones descrito para la especie de estudio, pero es casi seguro que esto incrementará el número de traslapes entre *S. gracile* y otras especies del género.
- Con base en los caracteres específicos que han sido reconocidos en la literatura planteamos una propuesta de los estados de caracteres (diagnósticos y diacríticos) que deben ser relevantes para una identificación confiable de la especie a partir de lo que hemos definido como estado adulto y que son (a) el arreglo de anillos con 4 espinas que presentan los procesos en la parte terminal y a lo largo de ellos; (b) el cinturón ornamentado con espinas por la parte superior al istmo; (c) una serie de pequeñas espinas emarginales dentro de los márgenes laterales que exhibe la célula en vista apical, que en ocasiones se muestran en pares y (d) la ornamentación del cigoto.
- También planteamos la importancia de determinar las fases de la reproducción sexual enfocada a la formación de la cigospora adulta como un criterio de peso taxonómico para la delimitación de la especie.
- El establecimiento de cultivos (s/m) nos permitió valorar la morfología de la especie a nivel poblacional y diferenciar entre la variabilidad inherente al ciclo de vida (pleomorfismo) y la variabilidad polimórfica que se expresó como diferentes fenotipos dentro de las poblaciones adultas. Sin duda la importancia de reconocer los límites pleomórficos contribuirá a la identificación correcta de la especie.
- La delimitación de la variabilidad morfológica en una gama de condiciones ambientales contrastantes, nos dio una idea de los verdaderos límites ambientales en donde puede desarrollarse esta especie, sin alterar completamente sus procesos morfogenéticos.
- Mediante una exploración bibliográfica y evaluación morfométrica reafirmamos que existe un traslape morfológico entre *S. gracile* y *S. paradoxum* y concluimos

que no se ha encontrado un carácter morfológico que tenga el peso suficiente para poder separar estas dos especies.

- La plasticidad morfológica explicada por el pH ácido (pH 5.0), corresponde con la variedad *nanum* de *S. gracile*, y refleja que la especie reconoce las diferencias de pH y responde polimórficamente. Evidentemente este resultado cuestiona la validez, al menos, de la variedad *nanum*.
- La taxonomía y sistemática de las especies de desmidias puede resolverse con una caracterización ecológica amplia. Una aproximación polifásica parece ser obligada, incorporando criterios fisiológicos y morfométricos además de una caracterización genética precisa.

Literatura Citada

- Adams D. C., Rohlf F. J. & Slice D. E. 2004. *Geometric Morphometrics: Ten year of progress following the 'revolution'*. Ital. J. Zool. 71: 5-16.
- Bourrelly, P. 1972. *Les Algues d'eau Douce. Initiation á la Systématique. I. Les Algues Vertes*. Boubée & Cie. Paris, Francia. 569 pp.
- Brandham, P.E. & Godward M.B.E. 1965. *The inheritance of mating type in desmids*. New Phytol. 64: 428-435.
- Brook, A.J. 1959. *Staurastrum paradoxum mayen and Staurastrum gracile Ralfs in the British freshwater plankton and a revision of the anatinum group of radiate desmids*. Trans. Roy. Soc. Edinburgh 63(3); 589-628.
- Brook, A. J. 1981. *The biology of Desmids*. University of California Press. Great Britain. 276 pp.
- Bookstein F. L., Chernoff B., Elder R. L., Humphries J. M., Smith G. R. & Strauss R. E. 1995. *Morphometrics in evolutionary biology*. Spec. Publ. 15. Philadelphia: Acad. Nat. Sci. Philadelphia. 277 pp.
- Bookstein F. L. 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press, Cambridge. 435 pp.
- Calle D. A., Quiñonez M., Erazo H. & Jaramillo N. 2008. *Discriminación por morfometría geométrica de once especies de Anopheles (nyssorhynchus) presentes en Colombia*. Biomedica. 28: 371-385
- Catalano S., Goloboff P. A. & Giannini N. 2010. *Phylogenetic morphometrics (I): the use of landmark data in a phylogenetic framework*. Cladistics. 26: 11-20.
- Cerná, K. & Neustupa, J. 2010. *The pH-related morphological variations of two acidophilic species of Desmidiaceae (Viridiplantae) isolated from a lowland peat bog, Czech Republic*. Aqual Ecol. 44:409-419.
- Cerná K. & Neustupa J. 2010. *The pH-related morphological variations of two acidophilic species of Desmidiaceae (Viridiplantae) isolated from a lowland peat bog; Czech Republic*. Aqual Ecol. 44:409-419.
- Coesel, P.F.M. & Teixeira, R.M.V. 1974. *Notes on sexual reproduction in Desmid II. Experiences with conjugation experiments in uni-algal cultures*. Acta. Bot. Neerl. 23: 603-611.

Coesel P.F.M. 1982. *Structural characteristics and adaptations of desmid communities*. J Ecol 70:163-177.

Coesel, P.F.M. & Krientz, L. 2008. *Diversity and geographic distributions of desmids and other coccoid green algae*. Biodivers Conserv. 17:381-392.

CONABIO 2008. *Monitoreo de Ecosistemas, Caso Valle de Bravo, Principales Tipos de Vegetación*. Último acceso: mayo de 2012.

http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/cambios_veg/doctos/localizacion_valle.html

Comisión Nacional del Agua, 2010. *Estadísticas del Agua en México*. www.conagua.gob.mx

Croasdale H. & Scott A. M. 1976. *New or otherwise interesting desmids from N. Australia*. Nov. Hediwigia. 27: 501-595.

Dryden I. L. & Mardia K. V. 1998. *Statistical shape analysis*. John Wiley & Sons, New York. 347 pp.

Ducellier, R. 1915. *Contribution à l'étude du polymorphisme et des monstruosities chez les Desmidiacées*. Bull. Soc. Bot. Genève. 7:75-118.

Fott, B. 1971. *Algekunde*. Gustav Fischer, Jena. 581 pp.

Friedl T., 1996. *Evolution of the polyphyletic genus Pleurastrum (Chlorophyta): inferences from nuclear-encoded ribosomal DNA sequences and motile cell ultrastructure*. Phycologia: Vol. 35:456-469.

Garcia E., 2004. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Instituto de Geografía UNAM. 1-90.

GEM, 2003. *Diagnostico Ambiental región VIII Valle de Bravo*. Último acceso: mayo de 2012.

<http://www.fundaciontlaloc.org/biblioteca/DiagnosticosAmbientalesRegionales/R08%20Valle%20de%20Bravo.pdf>

GEM, 2006-2011. *Programa de Desarrollo Regional, Macro Región III Oriente Región IV Cuautitlán Izcalli*. Gobierno del Estado de México. Último acceso: mayo de 2012.

<http://transparencia.edomex.gob.mx/copladem/informacion/sectoriales/M%20III%20-%20R%20IV%20Cuautitlan%20Izcalli.pdf>

GEM, 2006. *Diagnóstico Ambiental del Estado de México por Regiones Hidrográficas 2007*. Gobierno del Estado de México Secretaria de Medio Ambiente.

GEM, 2007. *Diagnostico Ambiental del Estado de México por Regiones hidrográficas 2007*. Gobierno del Estado de México, Secretaria del Medio Ambiente. Último acceso: mayo de 2012.

http://gacontent.edomex.gob.mx/idc/groups/public/documents/edomex_archivo/sma_pdf_da_em_2007.pdf

GEM 2008. *Bases de Diagnóstico: Identificación de Zonas Susceptibles a la Erosión en el Estado de México*. Gobierno del Estado de México, Secretaria de Medio Ambiente. Último acceso: mayo de 2012.

http://gacontent.edomex.gob.mx/idc/groups/public/documents/edomex_archivo/sma_pdf_base_diag_ide_zon_sus.pdf

GEM 2011. *Programa de desarrollo regional. Macro Región V Poniente región XV Valle de Bravo*. Último acceso: mayo de 2012.

www.transparencia.edomex.gob.mx/

Gerrath, J. F. 1993. *The biology of desmids: A decade of progress*. Briopress, Bristol, UK. Vol. 9:79-192.

Gerrath, J.F. 2003. *Conjugating green algae and desmid*. In: Eehr, J.D.; Sheath R.G. (Eds) *Fresh water algae of North America: ecology and classification*. Elsevier Science Academic Press. 507 pp.

Gimmler H. & Weis U. 1992. *Dunaliella acidophila-life at pH 1.0*. In: AvronM, Ben Amotz A (eds) *Dunaliella, Physiology, Biochemistry and biotechnology*. CRC Press. Boca Taton. 99-133 pp.

Gonzalez-José R., Escapa I., Neves W. A., Cúneo R. & Pucciarelli H. M. 2008. *Cladistic analysis of continuous modularized traits provides phylogenetic signals in Homo evolution*. Nature. 6891; 1-5.

Guerrero J. A., De Luna E. & Sanchez-Hernández C. 2003. *Morphometrics in the quantification of character state identity for the assessment of primary homology: an analysis of character variation of the genus Artibeus (Chiroptera: Phyllostomidae)*. Biological Journal of the Linnean Society. 80: 45-55.

Graham, L. E. & Wilcox L. W. 2000. *Algae*. Prentice-Hall, London, UK. 640 pp.

Grönbländ, R., Scott A.M. & Croasdale 1964. *Desmidid from Uganda and Lake Victoria*. Societas pro fauna et flora fennica (eds). Acta Botanica Fennica 66. 57 pp.

Grönbländ, R., Gerald, A. & Scott, M. 1958. *Sudanese Desmids*. Societas pro fauna et flora fennica (eds). Acta Botanica Fennica 58. 70 pp.

- Hach. 1997. *DR/2010 Spectrophotometer. Procedures manual*. Loveland: Hach Co.
- Hirano M. 1959. *Flora Desmidiarum Japonicarum*. Kioto.
- Heimans J. 1969. *Ecological, phytogeographical and taxonomic problems with desmids*. *Vegetatio* 17:50-82.
- Hoek, C., Mann, D.G. & Jahns, H. M. 1995. *Algae. An introduction to phycology*. Cambridge University Press. 623 pp.
- Howell E. T. & South G. R. 1981. *Population dynamics of Tetmemorus (Chlorophyta, Desmidiaceae) in relation to a minerotrophic gradient on a Newfoundland fen*. *British Phycological Journal*. 16: 297:312.
- Ichimura T. & Watanabe M. 1974. *The Closterium calosporum complex from the Rynku Islands variación and taxonomic problems*. *Mem. Nat. Sci. Tokyo*. 7: 89-102.
- Instituto de Geografía 2011. *Atlas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. Último acceso: mayo de 2012.
- <http://www.igeograf.unam.mx/web/iggweb/index.html>
- Irene-Marie, 1938. *Flore Desmidale de la Region de Montreal*. Laprairie, Canada. 547pp.
- Jiménez G. 2005. *Desmidiales de algunas localidades del Estado de México*. Facultad de Estudios Superiores Iztacala U.N.A.M.
- Kallio, P. 1951. *The significance of nuclear quality in the genus Micrasterias*. *Ann. Bot. Soc. Zool.-Bot. Fenn. 'Vanamo'*, 24:1-120.
- Kallio, P. 1963. *The effects of ultraviolet radiation and some chemicals on morphogenesis in Micrasterias*. *Ann. Acad. Sci. Fenn.* 70; 1-39.
- Kiermayer, P. 1954. *Die Vakuolen der Desmidiaceen ihr Verhalten bei Vitalfärbung und zentrifugierungsversuchen*. *Sitz. Akad. Wiss. Wien Math. Nat. Kl. Abt. I.* 163:175-222
- Kies, L. 1968. *Über die Zygotenbildung bei Micrasterias papillifera*. *Bréb. Flora (B)*. 157, 301-313.
- Kies, L. 1970. *Elektronenmikroskopische untersuchungen über Bildung und Struktur der Zygotenwand bei Micrasterias papillifera. I. Das Exospor*. *Protoplasma*. 70:21-47.
- Klingenberg C.P. 2011. *MorphoJ: a integrate software Packaged for geometric morphometrics*. *Molecular Ecology Resources*. 11:353-357.
- http://www.flywings.org.uk/MorphoJ_page.htm
- Krieger W. 1933. *Die Desmidiaceen Europas mit Berücksichtigung der aussereuropäischen Arten*. *Rabenhorsts Kryptogamen-Flora*. 13:1.

- Krieger W. 1932. *Die Desmidiaceen der Deutschen limnologischen Sunda-Expedition*. Arch. Hydrobiol. Suppl. 11:129-230.
- Kristensen, T. N., Pertoldi, C., Andersen D. H. & Loeschcke, V. 2003. *The use of fluctuating asymmetry and phenotypic variability as indicator of developmental instability; a test of a new method employin*.
- Licalli, T.C. 1973. *Cytokinesis in Micrasterias rotate; Problems of directed primary wall depositions*. Protoplasma. 78:433-443.
- Ling, H. U. & Tyler, P.A. 1974. *Interespecific hybridity in the desmid genus Pleurotaenium*. J. Phycol. 10:225-230.
- McCourt, R.M. 1995. *Green algal phylogeny*. Trends in Ecology and Evolution. 10: 159-163.
- Matias A., De la Riva J.X., Torrez M. & Dujardin J. P. 2001. *Rhodnius robustus in Bolivia identified by its Wings*. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 96: 947-950.
- Madrigal, D., Franco R., Espinosa L.M., González M. A., & Reyes A. 2010. *Caracterización de las regiones tectónicas del Estado de México a través de la aplicación de geotecnologías*. Revista Geográfica de América Central. N° Especial II semestre: 15-33.
- Mattox K.R. & Stewart K.D., 1984. Clasification of the green algae: a concept based on comparative cytology. In *The Systematics of the Green Alga* (eds. D.E.G. Irvine and D.M. John). Systematics Association Special Volume 27. Academic Press, London, pp. 29-72.
- Mishler, B. D., Lewis, L. A., Buchheim, M. A., Renzaglia, K. A., Garbary D. J., Delwiche, C. F., Zechman F. W., Kantz, T. S. & Chapman, R. L. 1994. *Phylogenetic relationships of the "green algae", and the "Bryophytes "*. Annals of the Missouri Botanical Garden. 81:451-483.
- Monroy C., Bustamante D. M., Rodas A., Rosales-Mejía M. & Tabaru Y. 2003. *Geographic distribution and morphometric differentiation of Triatoma nítida Usinger 1939 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Guatemala*. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 98: 37-43.
- Morales E. A. & Trainor F.R., 1999. *Phenotypic plasticity in scenedesmus implicacions for algal taxonomy and ecology*. Gayana Bot. 56(2) 77-86.
- Navarrete N. A. 1981. *Contribución a la biología del charal (Chirostoma jordani) de la Presa Taxhimay*. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala U.N.A.M.
- Nesustupa J. St'astný J. & Hodac L. 2008. *Temperature-related phenotypic plasticity in the green microalga Micrasterias rotate*. Aquatic Microbial Ecology, Inter- Research, Open access. 51:77-86.

- Neustupa J. & Hodac L. 2005. *Changes in shape of the coenobial cells of an experimental strain of Pediatrum duplex var. duplex (Chlorophyta) reared at different pHs*. Preslia 77: 439-452.
- Neustupa J. & Skaloud P., 2007. *Geometric morphometrics and qualitative patterns in the morphological variation of five species of Micrasterias (Zygnemophyceae, Viridiplantae)*. Preslia 79:401-417.
- Neustupa J. & Stastný J. 2006. *The geometric morphometric study of Central European species of the genus Micrasterias (Zygnematophyceae, Viridiplantae)*. Preslia. 78: 253-263.
- Neustupa J. & Skaloud P. 2007. *Geometrics and qualitative patterns in the morphological variation of five species of Micrasterias (Zygnemophyceae, Viridiplantae)*. Preslia. 79:401-417.
- Neustupa J., St'astný J. & Hodac L. 2008. *Temperature-related phenotypic plasticity in the green microalga Micrasterias rotata*. Aquatic Microbial Ecology. 51: 77-86.
- Pickett-Heaps, J. D. 1975. *Green Algae, Structure, Reproduction and Evolution of Selected Genera*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Playfair, G. I. 1910. *Polymorphism and Life-History in the Desmidiaceae*. Proc. Linean Soc. N.S. Wales. 35(2):459-495.
- Prescott G.W., Bicudo C. E. M. & Vinyard, W. C. 1982. *A synopsis of North American Desmids: Part II. Desmidiaceae; placodermae Section 4*. University of Nebraska Press, U.S.A. 700 pp.
- Proctor V. W. 1966. *Dispersal of desmids by waterbirds*. Phycologia 5:227-232.
- Ralfs J. 1848. *British Desmidiaceae*. Reeve, Benham y Reeve; King William Street Strand, London.
- Redfield A.C. 1984. *On the proportions of organic derivatives in sea water y their relation to the composition of plankton*. University Press. Liverpool.
- Rohlf F. J. 2006. *Tps series*. Departament of Ecology and Evolution. State University of New York at Stony Brook, New York.
- Rohlf F. J. & Marcus L. F. 1993. *A revolution in morphometrics*. Trends Ecol. Evol. 8: 129-132.
- Rosengerg, M. 1940. *Formación and division of binucleate giant cells in Micrasterias Americana (her)*. Ralfs. New Phytol. 39:80-85.

- Savriama Y., Neustupa J. & Klingenberg C. P. 2010. *Geometric morphometrics of symmetry and allometry in Micrasterias rotata (Zygnemophyceae, Viridiplantae)*. Nova Hedwigia, Beiheft. 136: 43-54.
- Schmalhausen I.I. 1986. *Factor of evolution*. University Chicago Press. United States of America. 327 pp.
- Strauss R. E. & Bookstein J. M. 1982. *A comment upon the uses of Fourier methods in systematics*. Syst. Zool. 31: 85-92.
- Taft, C. E & Taft C.W. 1971. *The algae of western lake Erie*. The Ohio State University, Columbus, Ohio.
- Teiling, E. 1948. *Staurodesmus, genus novum*. Bot. Notiser. 101:49-83.
- Telling, E. 1957. *Morphological investigations of asymmetry in desmids*. Botaniska Notiseh. Vol. 110.
- UNITAMOS 2011. *Unidad de Informática para las Ciencias Atmosféricas y Ambientales Centro de la Atmósfera*. Último acceso: mayo de 2012.
<http://www.atmosfera.unam.mx/uniatmos/atlas/kml/>
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) 2003. *In vitro determination of chlorophyll and pheophytin a in marine and freshwater algae by fluorescence*. Cincinnati, OH: National Exposure Research Laboratory, US Environmental Protection Agency (available in: <http://www.epa.gov/nerlewww/marinmet.htm>)
- UTEX, 2008. *The Culture Collection of Algae*. Último acceso: mayo de 2012.
<http://web.biosci.utexas.edu/utex/media.aspx>
- West W. & West G. S. 1904. *British Desmidiaceae*. Vol. I. Printed for the Ray Society, London. 299 pp.
- West W. & West G. S. 1923. *British Desmidiaceae*. Printed for the Ray Society, London. 299 pp.
- Winter P.A. & Biebel P. 1967. *Conjugación in a heterothallic Staurastrum*. Proc. Pa Acad. Sci. 42: 76-79.
- Yung Y. K., Strokes P. & Gorham E. 1986. *Algae of selected continental and maritime bogs in North America*. Canadian Journal of Botany 64:1825-1833.
- Zelditch M. L., Swiderski D. L., Sheets H. D. & Fink W. L. 2004. *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Elsevier Academic Press, New York and London. 437 pp.

ANEXO I

Ubicación Taxonómica y características generales de las desmidias

Las desmidias se ubican taxonómicamente en la División Chlorophyta (algas verdes) de acuerdo con Hoek *et al.* (1995) está subdividida en 11 clases. Una de ellas es Zygnematophyceae, que se caracteriza por exhibir dos niveles de organización, especies unicelulares (o formadoras de cadenas) y especies filamentosas no ramificadas; con base en ello se clasifican en los Ordenes Zignematales y Desmidiales.

El Orden Desmidiales (falta la autoridad) está representado por células solitarias, que algunas veces forman pseudo-colonias o pseudofilamentos; la pared celular está formada por dos mitades simétricas que están delimitadas por una marcada constricción media, estableciendo dos hemicélulas unidas por un estrecho istmo, las paredes generalmente contienen ornamentaciones y poros por el cual es secretado mucílago. Los cloroplastos de las células presentan formas diversas y están delimitados por una doble membrana, que contiene tilacoides agrupados en pilas (2 a 6 lamelas), compuestos principalmente clorofila *a* y *b*. Los pirenoides corresponden a una región diferenciada dentro del cloroplasto y a menudo son penetrados por los tilacoides, cada uno está rodeado por una capa de cojinetes de almidón. La reproducción sexual se produce por conjugación (fusión de gametos ameboideos); la mitosis es semicerrada y durante la telofase se mantiene el huso (persistente). La citocinesis se lleva a cabo a través del crecimiento interno de un surco de segmentación y en algunos casos de una placa celular formada dentro de un fragmoplasto. Este orden, es muy diverso, contiene aproximadamente 30 géneros y 5,000 especies (Hoek *et al.*, 1995).

La Familia Desmidiace (falta la autoridad) está constituida por los géneros *Closterium*, *Micrasterias*, *Staurastrum*, *Cosmarium*, *Euastrum*, *Pleurotaenium*, *Desmidium* y *Penium*, principalmente; los organismos contenidos tienen formas variables, ya sean circulares, semicirculares, triangulares, elípticas, alargadas, ovaladas, piramidales, reniformes y radiadas (Brook, 1981; West & West, 1904). Las hemicélulas tienen tres vistas; frontal, lateral y apical, las cuales deben estar bien documentadas para la determinación taxonómica específica. Las células contienen diferentes márgenes, ondulados, crenados, dentados, aserrados o enteros. La pared celular está compuesta por dos capas, una de celulosa y otra de pectina (Bourrelly, 1972), además de componentes fibrilares que constituyen un componente estructural complejo, que le confieren rigidez y fuerza (Hoek *et al.*, 1995). Contiene poros, por los cuales es secretado el mucílago y pueden ser visibles o no al microscopio de luz; habitualmente la célula esta ornamentada con gránulos,

denticulaciones, espinas y verrugas, dispuestas en un patrón consistentemente simétrico y son importantes en estudios a nivel específico.

El género *Staurastrum* exhibe un amplio rango de morfologías, la mayoría de las especies presentan células con simetría radial y usualmente una vista apical triangular, aunque también hay cuadrangulares, pentagonales o hexagonales. En vista frontal las hemicélulas presentan formas elípticas, semicirculares, triangulares, cuadrangulares, poligonales y en forma de tazón; las esquinas de las células pueden ser redondeadas, pero en el caso de las especies planctónicas, los ángulos se extienden en forma de procesos. Los procesos pueden estar ornamentados con espinas y en la parte apical comúnmente se observan 3 o 4 espinas cortas y divergentes (Brook, 1981). En el género, las formas trirradiadas son las más comunes, aunque este carácter suele variar en algunas especies (y así ser tetraradiadas o pentaradiadas). Las formas con más radios pueden aparecer en una población, sin ser la forma dominante de la misma (Brook, 1981).

Las algas verdes han sido consideradas como un grupo monofilético, su radiación evolutiva ha producido un amplio conjunto de tipos morfológicos, tales como células unicelulares con o sin flagelos, colonias móviles o sin movilidad, colonias con forma cenobial, células multinucleadas cenocíticas, filamentos no ramificados y filamentos ramificados (Pickett Heaps, 1975; Mattox & Stewart, 1984; McCourt, 1995; Friedl, 1996). Tradicionalmente han sido clasificadas de acuerdo a su morfología, sin embargo, líneas de investigación recientes basadas en el análisis ultraestructural del aparato flagelar, mitosis y citocinesis, así como estudios de bioquímica comparativa, historia de vida y análisis moleculares han evidenciado que los tipos morfológicos en las algas verdes corresponden a una evolución paralela. Recientemente análisis filogenéticos basados en caracteres moleculares y morfológicos indican que existen 4 linajes monofiléticos (Clases) de algas verdes con miembros multicelulares: Ulvophyceae, Trebouxiophyceae, Chlorophyceae y Charophyceae (representan el linaje ancestral de las plantas terrestres); y aunque las Prasinofíceas no son consideradas un grupo monofilético se han agregado dentro de la Clase Prasinophyceae por conveniencia (Mishler *et al.*, 1994). En este esquema las demidias son ubicadas dentro de la Clase Charophyceae, y son divididas en dos grupos distintos, de acuerdo con la morfología externa y rasgos de la pared celular (Graham & Wilcox, 2000). El primer grupo ha sido relacionado con formas filamentosas (Zignematales) y está representado por formas unicelulares que presentan una pared homogénea, sin poros, las células pueden ser rectas a ligeramente curvadas o con forma cilíndrica, son conocidas informalmente como desmidias saccodermas (*Spirotaenia*, *Mesotaenium*, *Maugeotia* *Cylindrocystis*, *Netrium*). El segundo grupo está constituido por formas unicelulares y pseudofilamentos (arreglos lineales de células con baja adherencia),

que contienen poros y presentan una constricción en la región media de la célula, dividiéndolas en dos hemicélulas simétricas unidas por un estrecho istmo (desmidias placodermas). Las desmidias placodermas están representadas por los géneros *Closterium*, *Cosmarium*, *Staurastrum*, *Micrasterias*, *Euastrum*, *Xanthidium*, *Gonatozygon*, *Pleurotaenium*, *Triploceras*, *Cosmocladium*, *Bambusina*, *Spondylosium*, *Hyalotheca*, *Desmidium* y *Onychonema*. En este trabajo se adoptó la clasificación de Hoek (1995), porque la determinación taxonómica de la especie seleccionada (*Staurastrum gracile* Ralfs 1848) se realizó principalmente a partir del análisis de los caracteres morfológicos, aunque también tomamos en cuenta algunos caracteres ultraestructurales.

Radiación, simetría y asimetría de las desmidias placodermas

Además de la gran variedad de formas presentes en las desmidias, es evidente que una de las características únicas de estas algas, al menos en el caso de las desmidias placodermas es su elaborada estructura polisimétrica. Cada célula se divide por una línea de sutura o istmo, de tal modo que cada hemicélula es simétrica e igual a la otra. En vista frontal partiendo de un eje vertical y uno horizontal, cada lado de la célula es simétrico. En vista apical el plano de simetría es de tipo perpendicular, la forma de las células es triangular o angular y en algunos casos las esquinas de los ángulos se extienden en forma de procesos presentando diferentes planos de simetría que dependen de los grados de radiación (3, 4, 5 radios; más de 5-12 son plurirradiadas).

Las pequeñas diferencias en ornamentación, talla o proporciones, influyen en la simetría, y en la mayoría de los casos son variaciones fenotípicas que dependen del cambio en los factores ambientales (Telling, 1957; Brook, 1981). En cuanto a la asimetría en las desmidias podemos encontrar los siguientes tipos: asimetría no vertical, de torsión, lateral, corporal y semiradial (Telling, 1957; Brook, 1981). Ciertas desmidias colocadas dentro del género *Staurastrum* no son más que formas trigonales del género *Cosmarium* (sin procesos) el cual presenta normalmente simetría bilateral (ej. *Cosmarium orbiculatum* Ralfs, *Staurastrum orbiculare* (Ehrenb.) Ralfs. Dentro del género *Staurastrum* Meyen, algunas especies muestran simetrías mezcladas (entre dos y tres radios o entre tres y cuatro radios) en una misma célula, originando las formas llamadas Janus (donde las dos hemicélulas de un mismo individuo presentan diferente número de radios).

Cambios ontogenéticos durante la división celular de las desmidias

En la división celular precedida por mitosis, el istmo se alarga gradualmente y se desarrolla una nueva pared entre las células hijas: la pared crece a través de la adición de vesículas que contienen el material de la pared, que probablemente se derivan del aparato de Golgi (Hoek *et al.*, 1995). La pared de cada hemicélula joven es finamente fibrilar (pared primaria) y a medida que la nueva hemicélula crece, se añade más material a la pared principal (secundaria) hasta que se completa su expansión. Después la pared secundaria se deposita sobre la cara interna de la pared primaria y se compone principalmente de bandas planas de 8 a 12 microfibrillas de celulosa. Al final de la división las dos células nuevas se encuentran unidas por los ápices (Hoek *et al.*, 1995).

Durante el ciclo de vida de las desmidias existe la aparición de dos o más formas estructurales (pleomorfismo). Playfair (1910) encontró que las desmidias registradas para Australia (en climas cálidos, aguas someras y estancadas), la división celular se lleva a cabo una segunda vez antes de que la célula naciente este plenamente desarrollada (estado adulto) lo que da lugar a una multitud de formas diversas. Sin embargo, todas las formas inmaduras se siguen desarrollando hasta que llegan a la forma completamente desarrollada (madura) y por lo tanto finalmente reúnen las características de la especie. Este tipo de división celular ha sido reportada ampliamente en las desmidias placodermas, de los géneros *Cosmarium* y *Micrasterias* (Pickett-Heaps, 1975; Kallio, 1951,1963; Kiermayer, 1954; Licalli, 1973).

Reproducción sexual en desmidias

En todos los organismos del orden Zygnematales la reproducción sexual ocurre por conjugación; la pared de cada célula se alarga formando ejes longitudinales en ángulo recto entre sí (formación de papilas), los cuales están envueltos por mucílago. La pared de cada célula también se divide en el istmo y surge un gameto (isogameto) ameboideo. En algunas especies cultivadas del género *Staurastrum* se ha observado que en la parte central de las células (istmo) se forma una papila envuelta en mucilago (Pickett-Heaps, 1975) mientras que en otros casos los gametos son expulsados hacia una matriz común de mucilago entre los pares de células, sin la formación de ningún tubo de conjugación (Winter & Biebel, 1967). En ambos escenarios los gametos entran en contacto rápidamente, abandonan las paredes y se fusionan entre sí (plasmogamia). Se produce un cigoto con forma irregular y aparecen numerosas vacuolas contráctiles rodeando al cigoto. En una hora, la primera ornamentación es visible en la pared del cigoto; en el curso de tres semanas, se forman distintas capas, mesospora (pared gruesa media), endospora (pared

interna) y exospora (capa externa que contiene las espinas). Pueden pasar meses para que la espora germine y cuando esto ocurre la capa externa se abre y libera a los núcleos diploides al medio circundante (mucilaginoso). Cada núcleo se divide por meiosis produciendo cuatro núcleos haploides, el protoplasto se divide para dar dos células binucleadas, por lo que uno de los núcleos de cada célula hija se degenera, entonces se producen dos células uninucleadas haploides. Cada célula hija haploide derivada del cigoto, se contrae por la parte media de la célula. Después de la primera división celular mitótica se producen nuevas hemicélulas con una morfología normal (Hoek *et al.*, 1995) (Lamina 4, 5 y 6).

A partir de los estudios realizados sobre la reproducción sexual en cultivos de desmidias, Ling & Tyler (1974) sugieren que el modo de reproducción sexual podría ser considerado como un criterio esencial para la delimitación de especies de desmidias. Los taxónomos dedicados a las desmidias, han puesto énfasis en la morfología de la cigosporas para el reconocimiento de taxones. Sin embargo es evidente que las espinas de las cigosporas como un criterio taxonómico para el reconocimiento de especies deben ser tratadas con precaución ya que su desarrollo puede ser influenciado por la turgencia de la célula (Coesel & Teixeira, 1974; Ichimura & Watanabe, 1974; Kies, 1968, 1970).

Divisiones aberrantes en desmidias

Las desmidias en condiciones de cultivo, especialmente medios de cultivos viejos, presentan comúnmente divisiones aberrantes: el cuerpo de las células muestra forma cuadradas o rectangulares intercaladas entre las dos hemicélulas. Esto sucede cuando el istmo se alarga pero no puede desarrollar las dos hemicélulas separadas, a causa de una falla en la formación del septo durante la mitosis (Rosenberg, 1940). Las formas resultantes después de la división celular, parecen tener relación con el grado de insuficiencia de la formación del septo. En algunas especies de *Cosmarium* se han observado células alargadas que contienen dos núcleos en cada lado del istmo, que surgen de una célula normal y su desplazamiento por el istmo, seguido de la citocinesis. Así una de las células recién formada es binucleada y la otra anucleada, la célula binucleada es diploide, y las nuevas hemicélulas que se forman a partir de su división son significativamente más grandes que las normales. También se ha observado que algunas hemicélulas no se separan durante la mitosis y como resultado, las nuevas hemicélulas no se desarrollan adecuadamente, aunque se establezca un septo (muy grueso) a través del istmo (Brook, 1981).

Polimorfismo

El polimorfismo (formas distintas de una misma especie en una misma población) es un aspecto fundamental que caracteriza a este grupo (Playfair, 1910), ya que la sistemática se basa en la forma, radiación y simetría de las células, por lo que la variación de éstas dentro de una población, podría traer dificultades para su determinación taxonómica. El incremento de la plasticidad fenotípica ha sido correlacionado con el estrés ambiental, que es designado como una restricción externa que limita las tasas de adquisición de un recurso, así como el crecimiento y reproducción de los organismos. Los factores que causan estrés pueden ser físicos (radiación visible, radiación ultravioleta, estrés osmótico y desecación), nutricionales (deficiencia de nutrientes) y bioquímicos (pH, sustancias tóxicas). Kristensen *et al.* (2003), y Cerná & Neustupa (2010) han reportado que las desmidias desarrolladas en condiciones ambientales con bajas y altas temperaturas (cultivos) presentan tamaños más pequeños o radiaciones diferentes. También los cambios abruptos en pH pueden afectar sus procesos morfogenéticos.

En algunas poblaciones de desmidias a menudo es posible encontrar un gran intervalo de variación morfológica (células asimétricas) asociados a condiciones ambientales extremas (Brook, 1981). Ducellier (1915) documentó formas aberrantes en diversos géneros de desmidias e indicó que las variaciones en la forma de las hemicélulas jóvenes (nuevas) pueden ocurrir por un cambio en las condiciones ambientales durante su formación, mientras que las células maduras conservan la morfología original. Estudios experimentales sobre el polimorfismo en desmidias (*Staurastrum polymorphum*) en condiciones de cultivo, que han evaluado el efecto de la temperatura en las tasas de crecimiento; ha mostrado la importancia de la temperatura en la producción del número de radios. Así las células trirradiadas o tetraradiadas se producen a 5° C, sin embargo a una temperatura más alta (20°C) las células dominantes fueron las trirradiadas (Brandham & Godward 1965). Neustupa y colaboradores (2008) evaluaron la variación morfológica relacionada con la temperatura para la especie *Micrasterias rotata* (Grev.) Ralfs, a partir de un análisis morfométrico, encontrando que el aumento de la temperatura afecta el tamaño y forma de las células de la población (cultivos con condiciones modificadas). Recientemente Cerná & Neustupa (2010) evaluaron la plasticidad fenotípica de poblaciones (*Euastrum binale* var. *gutwinskii* Croasdale y *Staurastrum hirsutum* (Ehrenb.) Ralfs) a través de un análisis morfométrico, que fueron cultivadas con diferentes rangos de pH (3.5 a 6.5) y observaron que los cambios morfológicos van acompañados por una reducción de la talla en concentraciones altas de pH.

Condiciones ambientales

En general las desmicias se desarrollan en lagos oligotróficos y mesotróficos de agua dulce, estanques, arroyos (con baja conductividad) y pantanos (Howell & South, 1981; Yung *et al.*, 1986). Gerrath (2003) y Hoek *et al.* (1995) ubican a las desmicias especialmente en ecosistemas de agua dulce con valores de pH bajos a neutros (4-7) a menudo oligotróficos (pobres en nitratos y fosfatos) y en cuerpos de agua con pH de 7-9 que suelen ser eutróficos (más o menos ricos en nitratos y fosfatos). En el plancton de lagos ingleses aproximadamente el 59 % de las especies son registradas en aguas oligotróficas, 8% en aguas mesotróficas, y 24% en aguas eutróficas (Brook, 1981). El CO₂ libre como fuente de carbono para la fotosíntesis está en cantidades apreciables en agua dulce, con un pH por debajo de 8-8.5, así que las especies de cuerpos de agua dulce eutróficos con pH de 8-9 tienen la capacidad de utilizar tanto el bicarbonato como el CO₂ libre. La mayoría de las especies son metafíticas y viven enredadas entre las plantas superiores, ó alrededor de los márgenes del cuerpo de agua; pocas especies son consideradas verdaderamente planctónicas (pequeños organismos de 9-20 µm) (Hoek *et al.*, 1995). Estas especies se caracterizan por la presencia de procesos largos (ej. *Staurastrum*), espinas largas (ej. *Staurodesmus* y *Xanthidium*), o células muy largas (ej. *Triploceras*). En lagos templados y debido a sus tasas de crecimiento relativamente lentas (división celular cada 2-5 días) las desmicias planctónicas suelen alcanzar su densidad máxima a finales del verano o en otoño (Gerrath, 2003).

Problemas taxonómicos y distribución de las desmicias

Antes que en otros países, la flora de las desmicias fue estudiada minuciosa e intensamente en las Islas Británicas y Escandinavia. La primera monografía que dio descripciones y cifras de casi 200 especies, fue la realizada por Ralfs (1848), denominada "British Desmidiaceae". Esta publicación más tarde fue aceptada por el Congreso Botánico Internacional como el punto de partida de la nomenclatura de las desmicias, toda vez que sirvió como base para la identificación de especies de este grupo y además estimuló en gran medida el estudio de las desmicias en todo el mundo, dando como resultado un crecimiento rápido de publicaciones (listados de especies). Los taxónomos desde entonces identificaban las especies a partir de las descripciones dadas por Ralfs y cuando una forma presentaba diferencias menores eran nombradas como una variedad, si la diferencia era mayor y no habría podido ser identificada por estas, es descrita como una nueva especie, de tal forma que el número de especies y variedades se incrementaron rápidamente no sólo en las Islas Británicas sino también en Europa Occidental y países fuera de Europa.

En este tiempo, generalmente un dibujo fue aceptado como el tipo taxonómico de especies o variedades, sin embargo algunas veces tales imágenes presentan problemas interpretativos (dibujos borrosos o muy pequeños), o no son suficientes para exponer la variación de los taxa debido a que estos organismos conforman un grupo estructuralmente complejo (con gran variedad de formas con ornamentaciones y proyecciones muy complicadas), por lo que tales esquemas muchas veces impedían hacer una buena reproducción de la especie tipo, además en ocasiones no presentaban ningún tipo de descripción asociada a ellos, lo cual repercutió en las descripciones subsecuentes realizadas a partir de ese material. También es común encontrar descripciones que en ciertos aspectos son inexactas, las cuales han dado lugar a un gran número de sinonimias y de identificaciones incorrectas.

La gran variedad de formas presentes en las desmidias, complica también la situación anterior. Uno de los problemas taxonómicos comunes al identificar taxones del género *Staurastrum*, es que muchos investigadores dedicados a describir su morfología, por desgracia ponen nombres basándose en especímenes individuales, en lugar de examinar las poblaciones en su conjunto, como consecuencia han dado rangos taxonómicos específicos de variedades y formas, a organismos de una misma especie que solo difieren en un grado de radiación (Brook, 1981), siendo simplemente variabilidad fenotípica de la población. Teiling (1948) ha señalado que no hay condiciones o reglas de nomenclatura para hacer frente a las desmidias con radiación variable, a veces frecuentemente descritas como variedades o formas por presentar desviaciones morfológicas de mayor o menor grado. La descripción de la especie tipo en algunos casos se realiza a partir de un único ejemplar de una muestra bastante atípica, en lugar de hacerse una descripción basada en los diferentes caracteres encontrados en una población; como dice Brook (1981), quien afirma que el uso de la variedad y forma ha sido muy caprichoso, así una variedad es considerada a partir de la primera desviación respecto a la especie tipo, sin importar el carácter ni la magnitud de la variación del mismo. Cualquier desviación que se encuentre después de haber determinado una variedad se indica como forma. Afortunadamente se ha originado una tendencia más rigurosa en materia taxonómica sobre las desmidias, de tal forma que el rango de la morfología exhibida por una población, se registra en los estudios nuevos, lo que a generado la comprobación y aclaración de inconsistencias taxonómicas de muchas variedades y formas descritas en la literatura sin validez taxonómica (Brook, 1981).

Un problema ecológico que deriva de esta práctica está relacionado con las estimaciones globales de la riqueza de especies en desmidias, que varía ampliamente en vista del alto número de sinonimias actuales (es decir, mismas especies registradas con diferentes

nombres). El escaso conocimiento de la plasticidad fenotípica inherente a las células de desmidias, como consecuencia de su especial modo de división (pleomorfismo durante el ciclo asexual), ha llevado a que muchas formas se describan como variedades separadas o incluso especies, siendo simplemente formas de transición. Las estimaciones del total de la riqueza de especies de desmidias recientes en la literatura van de 1,500 a 12,000 (Gerrath, 1993); sin embargo con esta nueva concepción se menciona que la estimación correcta de desmidias en todo el mundo es de aproximadamente 3,000 especies (Gerrath, 1993).

Los estudios biogeográficos en su mayoría están relacionados con plantas y animales superiores, debido a que estos grupos muestran una distribución claramente marcada, correlacionada con el clima o barreras geográficas (mares, cadenas montañosas entre otros), las formas inferiores como es el caso de las algas o bacterias han recibido menor atención por los biogeógrafos. Su situación taxonómica se complica además por el escaso conocimiento de los patrones de distribución. La distribución de las desmidias está determinada por factores climáticos (temperatura) (Brook, 1981), geológicos (cordilleras montañosas y océanos) y por componentes químicos del agua (pH y nutrientes) (Burrely, 1972), que regulan las condiciones ecológicas donde se desarrollan. Las desmidias parecen ser muy sensibles a las condiciones ambientales, especialmente a la química del agua y algunas parecen tener una distribución bastante restringida (Brook, 1981). En este contexto, sorprende que existan muchas desmidias cuya distribución puede decirse que es casi ubicua (cosmopolitas) (Fott, 1971; Brook, 1981). En efecto existen especies de desmidias que se han documentado con una distribución geográfica amplia, registradas en todas las latitudes, desde zonas polares hasta el trópico. El tema de las especies cosmopolitas que tienen distribución casi mundial y que existen en más de un continente, en ocasiones ha sido cuestionado, porque una distribución geográfica muy amplia solo es posible si una especie encuentra todas sus demandas ecológicas en muchos sitios (Krieger, 1933), o si una especie presentan rangos de tolerancia ambientales amplios que le permitan una distribución extensa, sin embargo la mayoría de las descripciones taxonómicas existentes basadas en la morfología, no incluyen datos ambientales asociados con la geografía, y por lo tanto no es posible asociar la variación fenotípica a las condiciones ambientales en donde se desarrollan.

Por otra parte, Proctor (1966) menciona que un factor importante para explicar el actual patrón de distribución parece ser el potencial de dispersión a larga distancia, por medio de aves acuáticas migratorias. Las algas pueden ser transportadas a distancias considerables en las plumas, patas o el tracto digestivo de las aves migratorias. Los estanques de agua ocurrentes en sus rutas migratorias pueden ser favorecidos por una mayor accesibilidad

(Heimans, 1969). Sin embargo, el ambiente (cuestiones climáticas) es el que finalmente limita el establecimiento de las especies en estos ambientes y el conocimiento confiable de los patrones de distribución geográficos, se limitará a aquellos taxones que no se confundan con otros.

Morfometría geométrica

El análisis de la forma juega un papel importante en los estudios biológicos y en la taxonomía de las algas, una gran variedad de procesos biológicos producen diferencias en la forma de los organismos, tales como el desarrollo ontológico, adaptación a factores geográficos locales, diversificación evolutiva, entre otros. Estas variaciones en la forma podrían indicar distintos papeles funcionales entre los organismos o respuestas a las presiones selectivas, así como diferencias entre los procesos de crecimiento y morfogénéticos de los mismos (Zelditch *et al.*, 2004).

La morfometría es una manera cuantitativa de abordar la variación de la forma y su covariación con otras variables (Bookstein, 1991; Dryden & Mardia, 1998). La morfometría tradicional utilizó análisis estadísticos multivariados para un conjunto de variables cuantitativas como longitud, ancho y altura de las unidades biológicas a evaluar (Adams *et al.*, 2004), sin embargo se ha identificado que estas variables contienen poca información sobre la forma, debido al solapamiento de las medidas que corren en direcciones similares, complicando la descripción de las diferencias en la forma, además de no representar de forma correcta las características homólogas del organismo (Zelditch *et al.*, 2004). Posteriormente Bookstein y sus colegas (Strauss & Bookstein, 1982; Bookstein *et al.*, 1995) consideraron las medidas y dirección de las muestras en un espacio más uniforme, a través de puntos de referencia (Kendall) morfológicos biológicamente homólogos, que junto con el desarrollo de una teoría estadística rigurosa para el análisis de la forma, hizo posible el uso combinado de métodos estadísticos multivariados y métodos de visualización directa de las formas biológicas, enfocados esencialmente en la captura geométrica de las estructuras morfológicas. Esta nueva manera de analizar la morfología de los organismos se le llamó morfometría geométrica (Rohlf & Marcus, 1993).

La morfometría geométrica (Bookstein, 1991, Rohlf & Marcus, 1993, Adams *et al.*, 2004, Zelditch *et al.*, 2004) ha sido utilizada para diferenciar poblaciones en estudios ontogenéticos, así como la detección de diferencias entre poblaciones de diferentes regiones geográficas (Monroy *et al.*, 2003), e inclusive como herramienta taxonómica en la discriminación de especies (Matias *et al.*, 2001; Calle *et al.*, 2008). También los datos morfométricos han sido aprovechados en la postulación de hipótesis cladísticas,

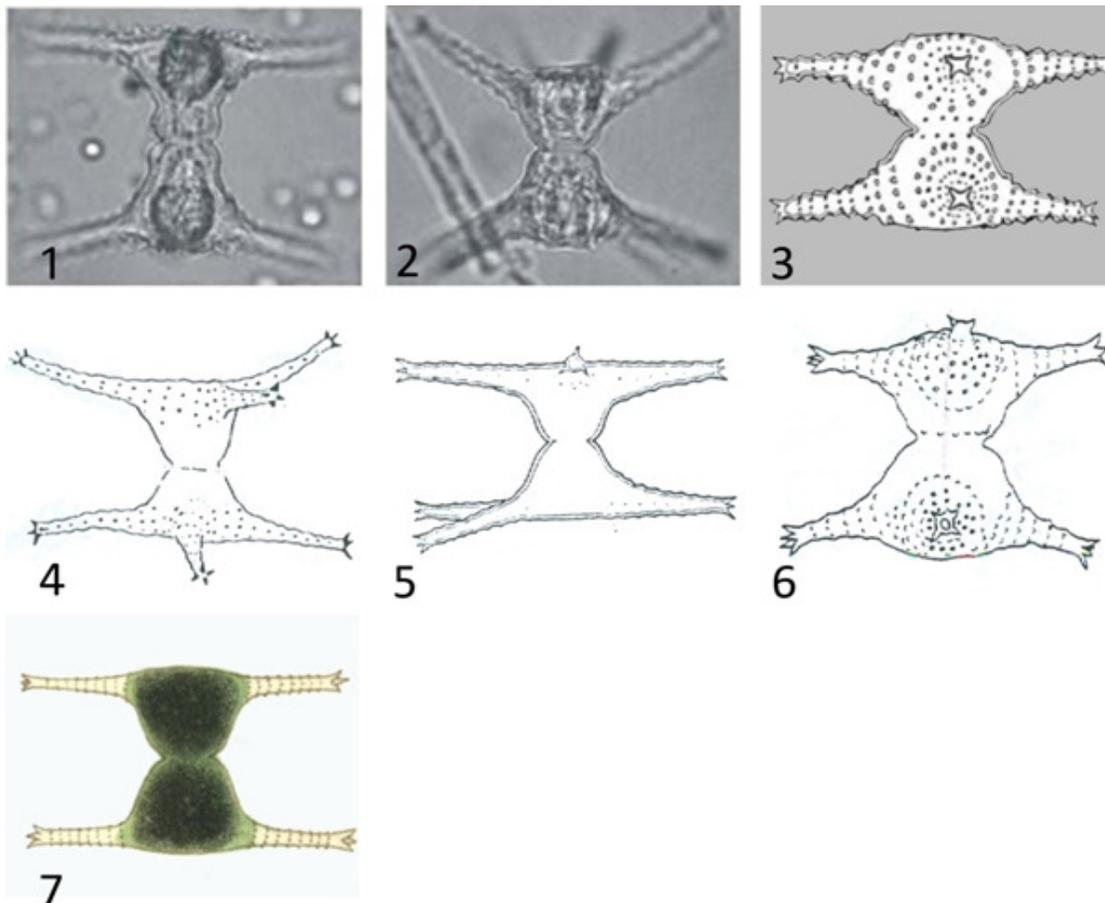
manifestando que estos caracteres contribuyen en el apoyo de grupos monofiléticos (Guerrero *et al.*, 2003; González- José *et al.*, 2008). Recientemente se han desarrollado algoritmos para realizar análisis cladísticos a partir de la inclusión directa sin codificación de las coordenadas (x, y, y 3D) de especímenes alineados, obtenidas a partir de los análisis de morfometría geométrica (Catalano *et al.*, 2010).

Los métodos de morfometría geométrica (Bookstein, 1991) han sido utilizados para resolver diversos problemas taxonómicos y ecológicos enfocados en el estudio de las desmidias (Neustupa & Hodac, 2005), se han empleado para caracterizar con precisión los patrones de variación morfológica y cuantificación de los niveles de plasticidad entre especies o poblaciones (Neustupa & Stanstný, 2006; Neustupa & Skaloud, 2007; Neustupa *et al.*, 2008; así como en la evaluación de la simetría y alometría de las células (Savriama *et al.*, 2010). También la combinación de análisis moleculares, morfológicos y de morfometría geométrica han marcado una nueva forma de revelar los patrones de diferenciación fenotípica y filogenética en este grupo (Cerná & Neustupa, 2010).

En este estudio el análisis morfométrico contribuirá en la evaluación de la influencia de los límites pleomórficos y polimórficos en la delimitación de la especie de estudio (*S. gracile*), además de abordar algunos traslapes morfológicos de las distintas variedades de *S. gracile* y otras relacionadas a través de información bibliográfica.

ANEXO II. Material fotográfico y dibujos utilizados para el análisis morfométrico

Ejemplares de *Staurastrum gracile* Ralfs seleccionados de la literatura.



1 y 2. Tomado de M. Luscinska, 2005. *Phytoplankton of the Szczecin lagoon (the great lagoon)*. Oceanological and Hydrobiological Studies. Vol. XXXIV, No.1., p. 22. Pl. 9, Fig. 7.

3. Tomado de M. Stamenkovic & M. Cvijan, 2008. *Desmid flora (Chlorophyta, Zygnematophyceae) of the Danube in the province of Vojvodina (Northern Serbia)*. Arch. Biol. Sci., Belgrade, 60 (2), 181-199., p. 191. Pl 3, Fig. 17.

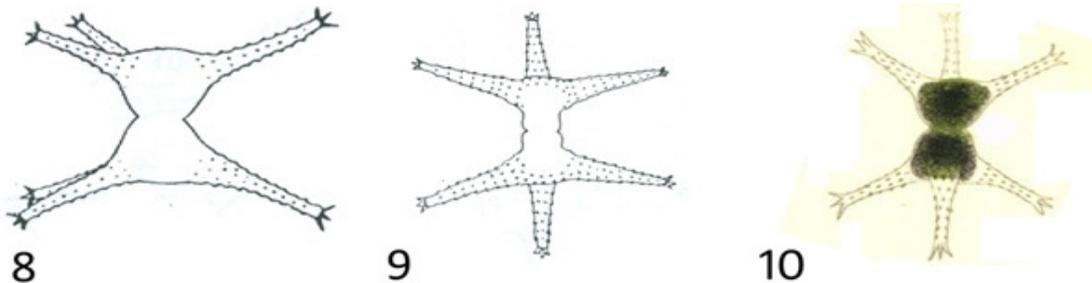
4. Tomado de W. West & Wests, M.A., 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p. 96, Pl CXLIV, Fig. 4a, 5.

5. Tomado de M. Hirano, 1959. *Flora Desmidiarum Japonicarum, Contributions from the Biological Laboratory Kyoto University No. 9*, Kyoto., p. 361, Pl XLV, Fig 4.

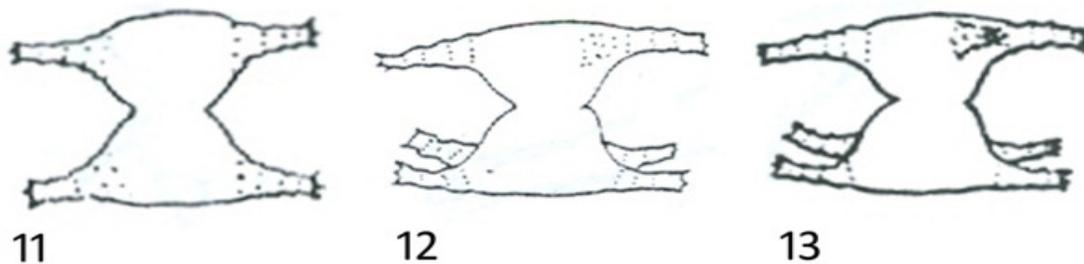
6. Tomado de G. W. Prescott *et al*, 1982. *A synopsis of North American Desmid, Part II. Desmidiaceae: Placodermae Section 4*. University of Nebraska Press., p. 212. Pl. 412, Fig. 9.

7. Tomado de J. Ralfs, (1848). *The British Desmidiaceae*. London., p. 136. Pl. 22, Fig. 12.

Ejemplares de *Staurastrum paradoxum* Meyen ex Ralfs 1848 seleccionados de la literatura.



Ejemplares de *Staurastrum gracile* var. *nanum* Wille seleccionados de la literatura.



8. Tomado de West & Wests, 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p. 96, Pl. CXLV, Fig. 2a.

9. Tomado de Taft & Taft, 1971. *The algae of Western lake Erie*. Ohio State University., p. 79. Pl. XIX, Fig 471.

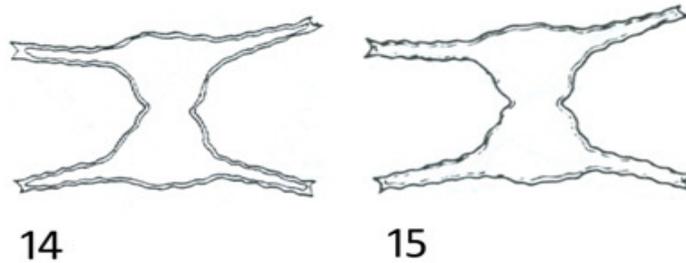
10. Tomado de J. Ralfs, 1848. *The British Desmidiaceae*. London., p. 138. Pl. 23, Fig. 8b.

11. Tomado de West & Wests, 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p. 100, Pl. CXLIV, Fig. 8a.

12. Tomado de G. W. Prescott *et al*, 1982. *A synopsis of North American Desmid, Part II. Desmidiaceae: Placodermae Section 4*. University of Nebraska Press., p. 213. Pl. 413, Fig. 9.

13. Tomado de Irene-Marie, 1938. *Flore Desmidiale de la Region de Montreal*. Laprairie Canada., p.314. Pl. 49, Fig.

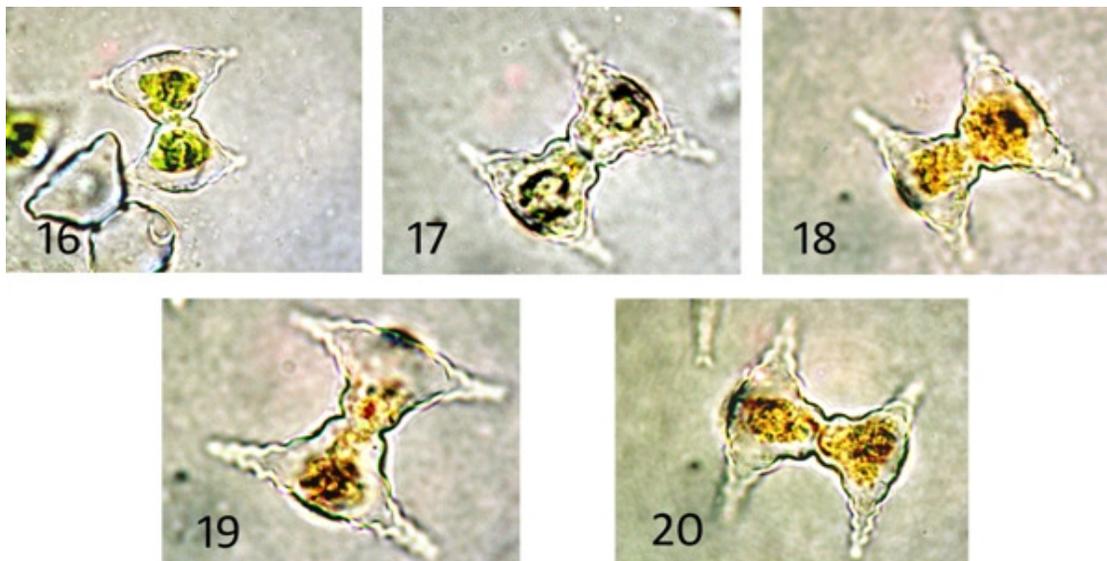
Ejemplares de *Staurastrum gracile* var. *coronulatum* Boldt seleccionados de la literatura.



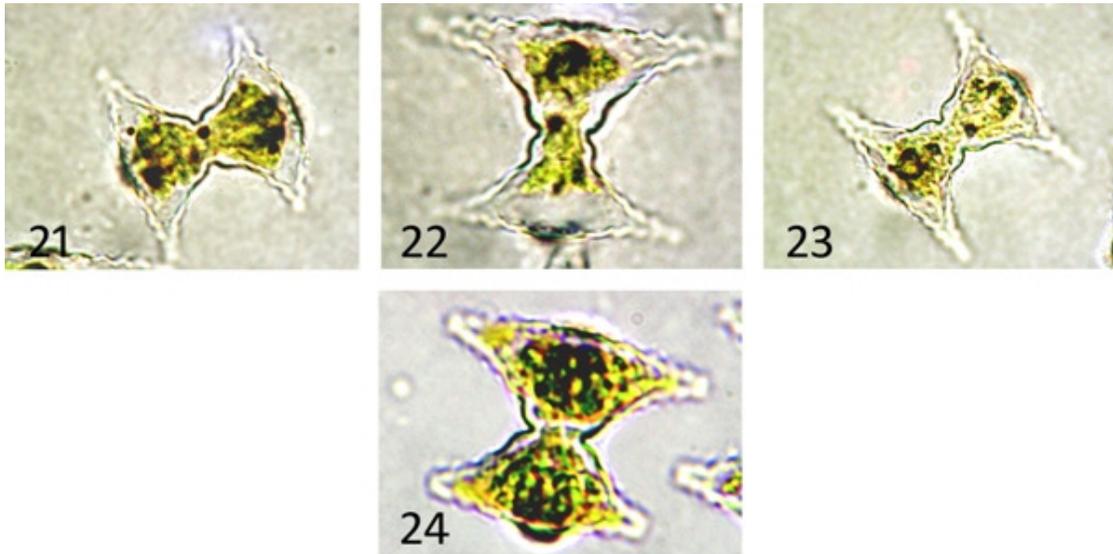
14. Tomado de G. W. Prescott *et al*, 1982. *A synopsis of North American Desmid, Part II. Desmidiaceae: Placodermae Section 4*. University of Nebraska Press., p. 212. Pl. 413, Fig. 4.

15. Tomado de Gröbbländ *et al*, 1964. *Desmids from Uganda and Lake Victoria*. Helsinki., p. 32. Pl. VII, Fig. 153.

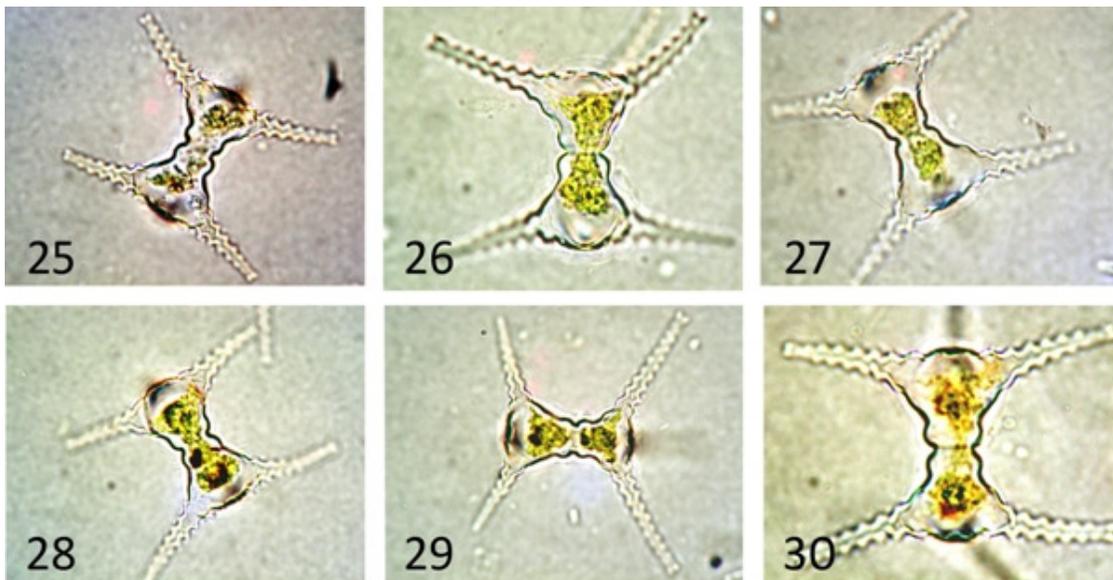
Ejemplares de *Staurastrum gracile* de cultivos con pH 5.0 del embalse Taxhimay.



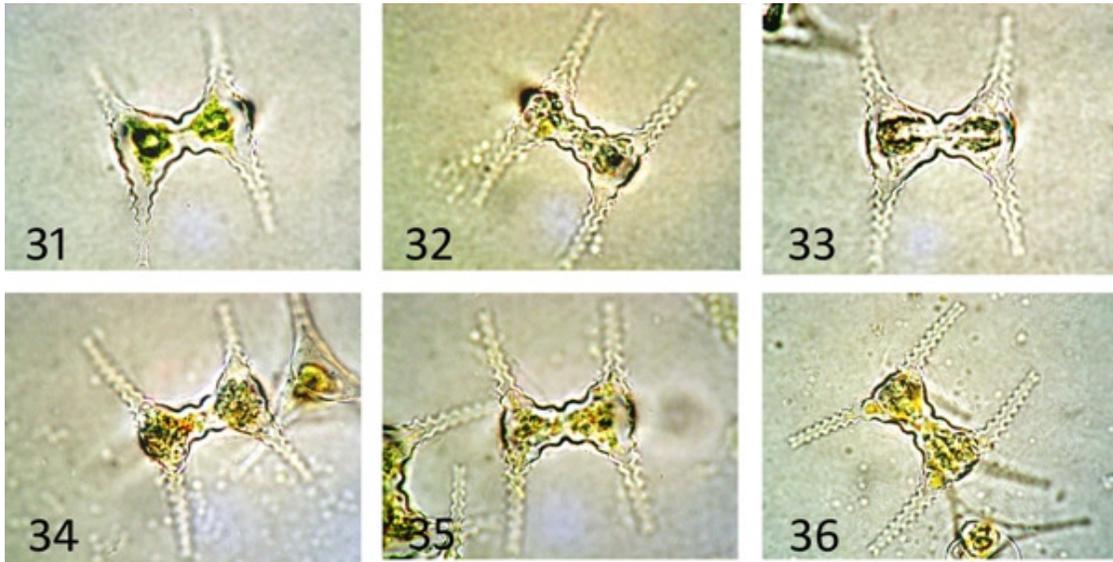
Ejemplares de *Staurastrum gracile* de cultivos con pH 5.0 del embalse Valle de Bravo.



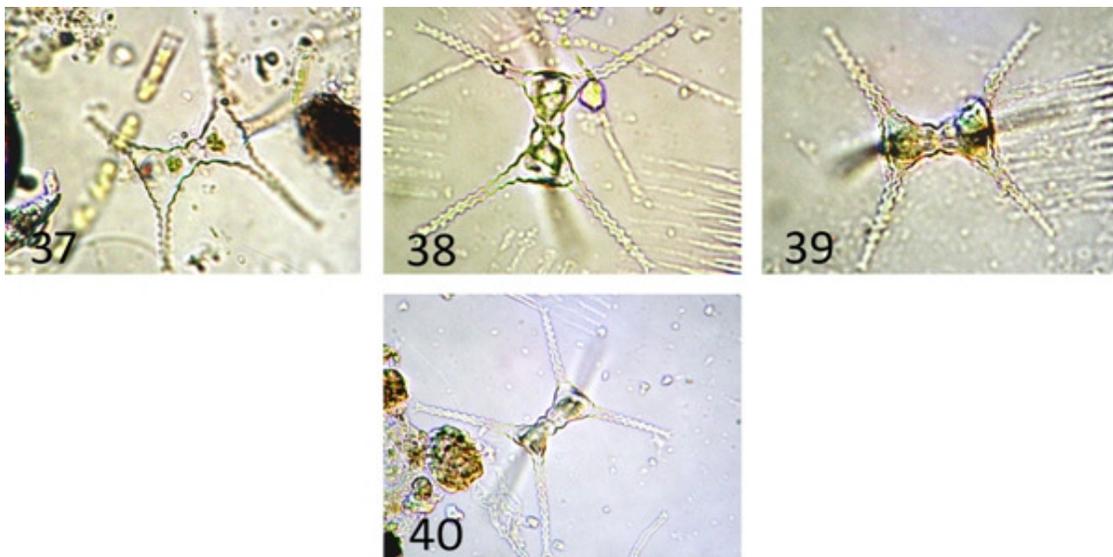
Ejemplares de *Staurastrum gracile* de cultivos estándar (s/m) embalse Taxhimay.



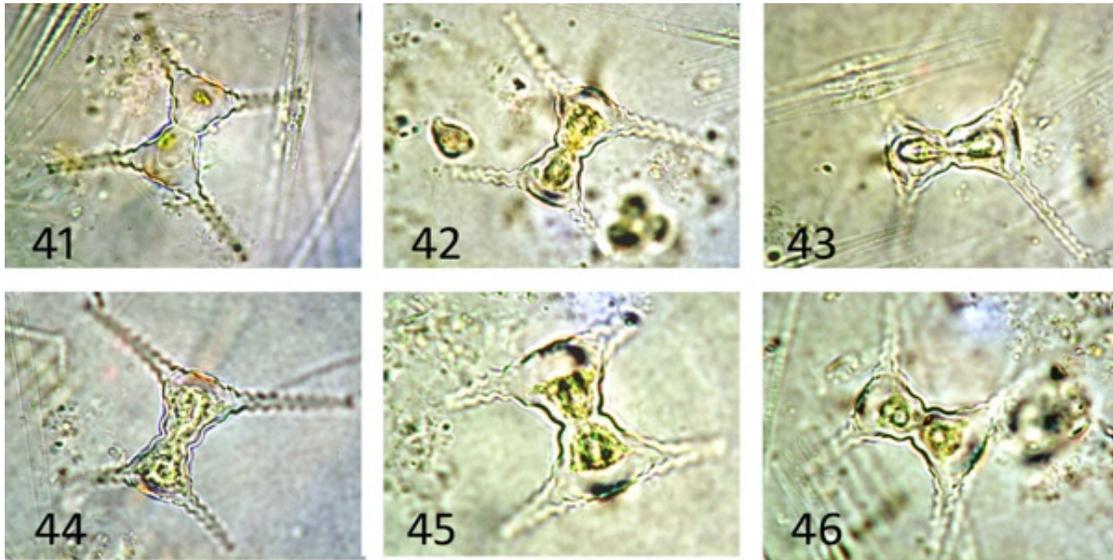
Ejemplares de *Staurastrum gracile* de cultivos estándar (s/m) embalse Valle de Bravo.



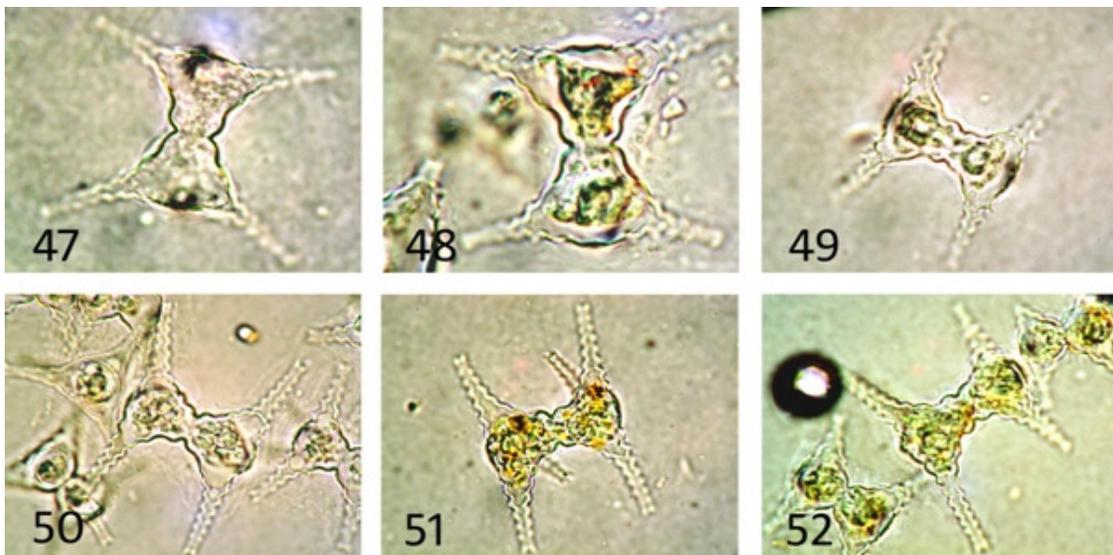
Ejemplares de *Staurastrum gracile* in situ embalse Taxhimay.



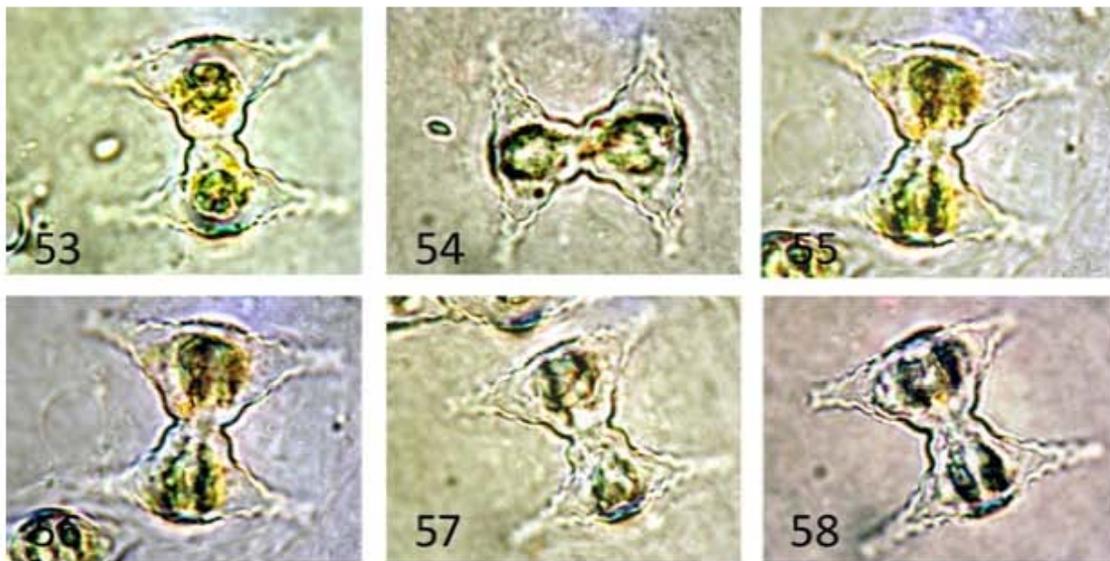
Ejemplares de *Staurastrum gracile* in situ embalse Valle de Bravo.



Ejemplares Adultos de *Staurastrum gracile* durante el ciclo sexual, embalse Valle de Bravo.



Ejemplares de *Staurastrum gracile* de etapas juveniles durante el ciclo reproductivo sexual.



ANEXO III. Referencias bibliográficas de los dibujos y fotografías utilizadas en este trabajo (se encuentran en el texto)

Fig. 15a. Ejemplar registrado condiciones naturales de *Staurastrum gracile* en el embalse Taxhimay.

Fig. 15b. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum gracile*. W. West, F.L. S., & G.S. Wests, M.A., 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p. 96, Pl. CXLIV, Fig. 5a y b.

Fig.15c. Ejemplar seleccionado de la literatura *Staurastrum paradoxum*. W. West, F.L. S., & G.S. Wests, M.A., 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p. 101, Pl. CXLV, Fig. 2a y b.

Fig. 15d. Ejemplar registrado en condiciones naturales de *Staurastrum gracile* en el embalse Taxhimay.

Fig. 16a. Ejemplar registrado en condiciones naturales de *Staurastrum gracile* en el embalse Taxhimay.

Fig. 16b. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum paradoxum*. W. West, F.L. S., & G.S. Wests, M.A., 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p. 101, Pl. CXLV, Fig. 4a y b.

Fig. 16c. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum paradoxum*. C.E. Taft & C.W. Taft, 1971. *The Algae of Western Lake Erie*. Ohio State University., p. 79. Pl. XIX, Fig 471.

Fig. 16d. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum gracile*. W. West, F.L. S., & G.S. Wests, M.A., 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p. 96, Pl. CXLIV, Fig. 6a y b.

Fig. 17a. Ejemplar registrado en condiciones naturales de *Staurastrum gracile* en el embalse Valle de Bravo.

Fig. 17b. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum paradoxum*. M. Hirano, 1959. *Flora Desmidiarum Japonicarum, Contributions from the Biological Laboratory Kyoto University No. 9*, Kyoto., p. 359, Pl XLV, Fig 7.

Fig. 17c. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum paradoxum*. W. West, F.L. S., & G.S. Wests, M.A., 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p.101, Pl. CXLV, Fig.5.

Fig. 17d. Ejemplar registrado en condiciones naturales de *Staurastrum gracile* en el embalse Taxhimay.

Fig. 18a. Ejemplar registrado en condiciones naturales de *Staurastrum gracile* en el embalse Valle de Bravo.

Fig. 18b. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum gracile*. G. W. Prescott, M. Bicudo & W. C. Vinyard, 1982. *A synopsis of North American Desmid, Part II. Desmidiaceae: Placodermae Section 4*. University of Nebraska Press., p. 212. Pl. 412, Fig. 8.

Fig. 18c. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum gracile*. W. West, F.L. S., & G.S. West, M.A., 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p.96, Pl. CXLIV, Fig.5b.

Fig. 18d. Ejemplar registrado en condiciones naturales de *Staurastrum gracile* en el embalse Valle de Bravo.

Fig. 19a. Ejemplar registrado en condiciones naturales de *Staurastrum gracile* en el embalse Valle de Bravo.

Fig. 19b. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum paradoxum*. Irene-Marie, 1938. *Flore Desmidiale de la Region de Montreal*. Laprairie Canada., p.301. Pl. 48, Fig. 11 y 12.

Fig. 19c. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum gracile*. G. W. Prescott, M. Bicudo & W. C. Vinyard, 1982. *A synopsis of North American Desmid, Part II. Desmidiaceae: Placodermae Section 4*. University of Nebraska Press., p. 212. Pl. 413, Fig. 2.

Fig. 19d. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum paradoxum*. W. West, F.L. S., & G.S. West, M.A., 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p.101, Pl. CXLV, Fig.1a y b.

Fig. 19 e. Ejemplar registrado en condiciones naturales de *Staurastrum gracile* en el embalse Taxhimay.

Fig. 21a y b. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum gracile* var. *coronulatum*. G. W. Prescott, M. Bicudo & W. C. Vinyard, 1982. *A synopsis of North American Desmid, Part II. Desmidiaceae: Placodermae Section 4*. University of Nebraska Press., p. 212. Pl. 413, Fig. 3 y 4.

Fig. 21c. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum gracile* var. *coronulatum*. R. Gröbland, A. M. Scott & H. Croasdale, 1964. *Desmids from Uganda and Lake Victoria*. Helsinki., p. 32. Pl. VII, Fig. 153.

Fig. 159a y 184a. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum gracile* var. *nanum*. W. West, F.L. S., & G.S. West, M.A., 1923. *A monograph of the British Desmidiaceae*. Ray Society, p. 100, Pl. CXLIV, Fig. 8a.

Fig. 159b y Fig. 184b. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum gracile* var. *nanum*. G. W. Prescott, M. Bicudo & W. C. Vinyard, 1982. *A synopsis of North American Desmid, Part II. Desmidiaceae: Placodermae Section 4*. University of Nebraska Press., p. 213. Pl. 413, Fig. 9.

Fig. 184a. Ejemplar seleccionado de la literatura de *Staurastrum gracile* var. *nanum*. Irene-Marie, 1938. *Flore Desmidiale de la Region de Montreal*. Laprairie Canada., p.314. Pl. 49, Fig. 12.

