



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN SISTEMÁTICA VEGETAL Y SUELO**

**ANATOMÍA FOLIAR DE SIETE ESPECIES DEL COMPLEJO  
MILLA (ASPARAGACEAE)**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGO**

**PRESENTA:**

**JESÚS SALGADO VÁZQUEZ**

**DIRECTOR DE TESIS  
DR. JORGE ALBERTO GUTIÉRREZ GALLEGOS**

**CIUDAD DE MÉXICO**

**NOVIEMBRE 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## DEDICATORIA

A dos personas en especial:

A quien siempre me acompañó en este proceso, con sus palabras y su cariño, mi  
esposa Mariana.

A quien llegó hace casi tres años, con su dulzura, su cariño y su sonrisa, mi hija Olga  
Elena.

## AGRADECIMIENTOS

Son muchos a quienes deseo agradecer, empezando por dios quien a puesto en mi camino personas maravillosas, por quienes esteré siempre agradecido.

A mis padres, los primeros que me convencieron que hacia lo correcto cuando empecé esta carrera.

A mi hermana y cuñado, por su eterno apoyo y por darme dos sobrinas preciosas, Sofía y Jimena.

A mi maestro y amigo, Dr. Jorge A. Gutierrez Gallegos por su paciencia y ayuda incondicional.

A mi querida maestra, Biol. Carmen Loyola Blanco por ser una inspiración de vida.

A mis maestros, de profesión y de vida, Dr. Eloy Solano Camacho, M. en C. Ramiro Rios Gómez, Dra. Alejandrina Ávila Ortíz, porque siempre estuvieron dispuestos a enseñarme y compartir un poco de su gran conocimiento, con palabras de aliento y una sonrisa fraterna.

A mi universidad, y sobre todo al Herbario FEZA, por que después de tantos años, tantas enseñanzas, tanto crecimiento, tantos cambios en mi vida, siempre diré con gran orgullo SOY UNIVERSITARIO.

A mis amigos biólogos todos, Arturito, Olivio, Diego, Danae, Héctor, Beto, Bere, Carapia, con quienes compartí una de las mejores etapas de mi carrera y de mi vida.

Gracias amigos.

A mis amigos del herbario, Eliseo, Merari, Aminta, Roberto, Ezequiel, Pamela, Miguel, gracias a todos, los quiero.

Y para terminar, gracias especiales a la mujer que apareció un día, en una clase, y de la cual me enamoré de inmediato y supe que estaría conmigo por mucho mucho tiempo, mi amiga y esposa Mariana quien me dio el regalo más hermoso de la vida, mi hija Olga Elena a quien le debo las ganas que tengo de vivir. Gracias nenas.

## CONTENIDO

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. ANTECEDENTES	5
4. MATERIALES Y MÉTODOS	8
5. RESULTADOS	12
5.1 Morfología	12
5.2 Anatomía	14
6. DISCUSIÓN	24
6.1 Diferencias entre especies	27
6.2 Diferencias interespecíficas en <i>Milla</i>	28
6.3 Diferencias en <i>Bessera elegans</i>	30
6.4 Diferencias interespecíficas en <i>Dandya</i>	31
7. CONCLUSIONES	32
8. LITERATURA CITADA	33
9. APÉNDICE 1	39
10. APÉNDICE 2	40

## RESUMEN

El complejo Milla se concentra principalmente en México, siendo *Milla* el género de más amplia distribución, *Bessera* se distribuye en la vertiente del Pacífico desde Sonora hasta Oaxaca y Península de Baja California (Ramírez-Delgadillo, 1992) y *Dandya* en la Cuenca del Río Balsas. Con la finalidad de establecer sus diferencias inter e intraespecíficas, el presente estudio se planteó como objetivo general describir la morfología y la anatomía de la hoja de siete especies del complejo Milla: *Bessera elegans*, *Dandya balsensis*, *D. hannibalii*, *D. thadhowardii*, *Milla biflora*, *M. oaxacana* y *M. valliflora*. Los caracteres morfológicos de las hojas fueron observados en ejemplares de herbario, en poblaciones in situ y en plantas cultivadas ex situ. Las hojas de todas las especies estudiadas son lineares, rollizas y subrollizas. Para los estudios anatómicos las muestras de hoja recolectadas en campo fueron embebidas en parafina y tratadas con la microtecnia convencional. El perfil de la lámina generalmente es depresso-obovado, *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii* comparten la forma obtriangular. El número de haces vasculares generalmente es menor de 12 en *Dandya*, y mayor de 12 en los géneros *Bessera* y *Milla*. Las fibras asociadas al haz vascular con paredes gruesas están presentes en todas las especies estudiadas. El metaxilema en forma de "T" es un estado de carácter exclusivo de *Bessera elegans*, que

permite diferenciarla de las especies de *Dandya* y *Milla*, con el metaxilema en forma de "V". El mesófilo colapsado está presente en todas las especies estudiadas, excepto en *Dandya*. La anatomía de la hoja sólo permite reconocer con base en una combinación única de caracteres a *Dandya hannibalii*, mientras que *D. balsensis* y *D. thadhowardii* no presentan diferencias anatómicas claras.

## INTRODUCCIÓN

Los géneros que conforman el complejo Milla junto al complejo Brodiaea constituían Themidaceae (Fay y Chase, 1996; Pires et al., 2001; Pires y Sytsma, 2002) y actualmente conforman la subfamilia Brodiaeoidae, Asparagaceae (Chase et al. 2009). *Milla* Cav. comprende 11 especies, para *Dandya* H. E. Moore se reconocen cuatro, en *Bessera* Schult. f. tres, *Petronymphe* H. E. Moore dos y *Jaimehintonia* B. L. Turner es monotípico. (Gutiérrez et al., 2015, 2016). Moore (1953) diferenció los géneros del grupo por la forma del perianto, la longitud de los filamentos respecto al tamaño de la antera, la connación de los filamentos y el tamaño del ginóforo. Diversos autores (Fay y Chase, 1996; Pires et al., 2001; Pires y Sytsma, 2002; Gándara et al., 2009) han estudiado estos géneros a fin de conocer su posición filogenética, sin aclararse aún las relaciones de parentesco. Un problema recurrente es la diferente interpretación en la morfología floral, por ejemplo Lenz (1971) y Turner (1993) mencionan que existe connación de los estambres en los géneros del complejo, pero aquella sólo se presenta en las especies de *Bessera* (Gutiérrez et al., 2010). Ingram (1953) consideró que *Dandya purpusii* presentaba un ovario no estípitado similar a *Brodiaea* y propone la combinación *Brodiaea purpusii*. Ese mismo año, Moore señala que esta especie sí tiene un ginóforo

pequeño y lo transfiere a *Dandya*. Mientras que en la descripción de las especies nuevas de *Dandya* no se menciona la presencia del ginóforo (Lenz, 1971; López-Ferrari y Espejo, 1992). A la fecha, existen varias interrogantes sobre los tamaños, grados de adnación y connación de los diferentes verticilos y la presencia y características del ginóforo para los géneros de este complejo, en particular para las cuatro especies de *Dandya*. Por otro lado, las hojas en los géneros del complejo Milla se han interpretado como rollizas, subrollizas, planoconvexas y triangulares, generando heterogeneidad en sus descripciones, pero ni la morfología ni la anatomía foliar se han evaluado para conocer su valor en la delimitación de las especies de este complejo. De esta forma, el presente estudio se planteó como objetivos describir las características anatómicas y morfológicas de la hoja de siete especies del complejo Milla, comparar la variación entre *Dandya balsensis* y *D. thadhowradii*, describir las diferencias anatómicas y morfológicas para *Milla biflora*, *M. oaxacana* y *M. valiflora*, así como entre las poblaciones analizadas para *Bessera elegans*.

## ANTECEDENTES

Los géneros *Bessera*, *Dandya*, *Milla*, *Jaimehintonia* y *Petronymphe* conforman el complejo Milla y conjuntamente con el complejo *Brodiaea* constituyen la subfamilia *Brodiaeoideae* (Chase *et al.*, 2009). *Milla* es el género del complejo con el mayor número de especies (11 spp.), para *Dandya* se reconocen cuatro, en *Bessera* tres, *Petronymphe* dos y *Jaimehintonia* es monotípico (Gutiérrez *et al.*, 2015, 2016).

El género *Bessera* se distribuye al occidente y centro de México a lo largo de la Faja Neovolcánica Transversal; *Dandya* se distribuye a lo largo de la Vertiente del Pacífico y la Cuenca del Río Balsas en un tipo de clima árido con lluvias en verano y otoño, se le encuentra en matorral rosetófilo y de pino y encino; *Milla* al ser de más amplia distribución se le encuentra en diferentes ambientes, principalmente aridos, templados, y tropicales secos.

Las especies del complejo Milla son hierbas geófitas, con raíces contráctiles y cormos cubiertos por las bases membranáceas de las hojas; hojas dispuestas en una roseta basal, lineares, aplanadas o rollizas o subrollizas; inflorescencias en umbelas, flores trímeras, erectas, hipocrateriformes, ovario sostenido por un ginóforo; fruto

capsular; semillas negras y brillantes. (Moore, 1953; Gutiérrez *et al.*, 2015).

*Milla biflora* es la especie del género que tiene una amplia distribución en Megamexico III (Rzedowski, 1991) y de ella se han segregado algunas especies (Ravenna, 1971; Howard, 1999; Gutiérrez y Solano, 2015). Caso similar ocurre con *Bessera elegans*, que se distribuye en la vertiente del Pacífico desde Sonora hasta Oaxaca y Península de Baja California (Ramírez-Delgadillo, 1992). *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii* presentan distribución simpátrica en la Cuenca del Río Balsas y su morfología es similar, aspecto que dificulta su reconocimiento (Gutiérrez *et al.*, 2010).

Algunos autores han estudiado los géneros del complejo para conocer su posición filogenética (Fay y Chase, 1996; Pires *et al.*, 2001; Pires y Sytsma, 2002; Gándara *et al.*, 2009). Sin embargo, las relaciones de parentesco aún no están aclaradas. Por ejemplo, las hojas en los géneros del complejo *Milla* se han interpretado como rollizas, subrollizas, planoconvexas y triangulares, generando heterogeneidad en sus descripciones, pero ni la morfología ni la anatomía foliar se han evaluado para conocer su valor en la delimitación de las especies de este complejo.

La anatomía foliar ha sido fuente de caracteres en la sistemática de las plantas vasculares (Anderson y Creech, 1975; Johnson, 1980; Goldblatt

et al., 1990; Rudall y Mathew, 1990; Rudall, 1991; Kocsis et al., 2004; De Gennaro et al., 2010; Mota-Alves, 2013). Esta fuente de datos apoya el reconocimiento a diferentes niveles taxonómicos en monocotiledóneas; por ejemplo, Lynch et al., (2006) reconocen subfamilias en Hyacinthaceae. Tanker y Kurucu (1981) apoyaron las secciones del género *Allium* o bien se ha contribuido en el reconocimiento de nuevas especies (Brullo et al., 1989; Echevarría et al., 1988; Membrives et al., 2003; Ceja-Romero et al., 2009).

Para responder a la pregunta acerca de las posibilidades de la anatomía foliar para resolver problemáticas taxonómicas en el nivel genérico, el presente estudio tuvo como objetivos generales describir la morfología y la anatomía foliar de siete especies del complejo Milla; comparar la variación anatómica foliar de *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii* y evaluar la variación foliar de *Milla biflora* y *Bessera elegans*. Para ello se colectaron ejemplares en campo que fueron preparados para ser seccionados transversalmente y analizar su anatomía; las mediciones se hicieron de ejemplares de herbario.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron en campo individuos de las especies *Bessera elegans*, *Dandya balsensis*, *D. hannibalii*, *D. thadhowardii*, *Milla biflora*, *M. oaxacana* y *M. valliflora* (Fig. 1) (Apéndice 1). *Bessera elegans* se seleccionó por su distribución amplia en la vertiente del pacífico mexicano; *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii* se eligieron por su cercanía morfológica y distribución geográfica simpátrica, *D. hannibalii* fue recolectada previamente y su posición filogenética es dudosa (Gutiérrez, 2016); *Milla biflora* se estudió por ser la especie de más amplia distribución del complejo y por considerarse un complejo (complejo *Milla biflora*); *Milla oaxacana* y *M. valliflora* por ser dos especies separadas a partir de poblaciones previamente reconocidas como parte de *Milla biflora*.



Figura 1. Especies del complejo Milla estudiadas: A) *Bessera elegans*, B) *Dandya balsensis*, C) *D. thadhowardii*, D) *Milla biflora*, E) *M. oaxacana*, F) *M. valliflora*.

En un total de 15 localidades (Apéndice 2) se recolectaron tres individuos por especie, junto con los ejemplares de respaldo correspondientes depositados en el herbario FEZA. Los individuos completos fueron fijados en formalina-ácido acético-etanol (Ruzin, 1999). Una hoja de cada individuo se disectó en su tercio medio, de este se separó un fragmento de 1 cm aproximadamente, para ser deshidratado en un cambiador automático Leica TP1020 (Fig. 3) con alcohol ter-butílico a concentraciones de 20, 40, 60 80, 90 y 100% durante 12 horas cada una, y se incluyeron en parafina con punto de fusión de 56°C. Una vez incluidos los fragmentos, se hicieron secciones transversales con un grosor de 10-12  $\mu\text{m}$  en un micrótomó rotatorio Leica RM2125RT (Fig. 3); enseguida se tiñeron con safranina y verde rápido y se montaron en resina sintética. La morfología de la hoja se describió de acuerdo con Moore (1953), excepto el perfil de la lámina donde se adaptó la propuesta de Radford et al. (1974) para figuras planas (Fig. 2), observadas en secciones transversales. Los tejidos de la lámina foliar se describieron de acuerdo con Lynch et al. (2006), por medio de un microscopio óptico Leica DM750 (Fig. 3).

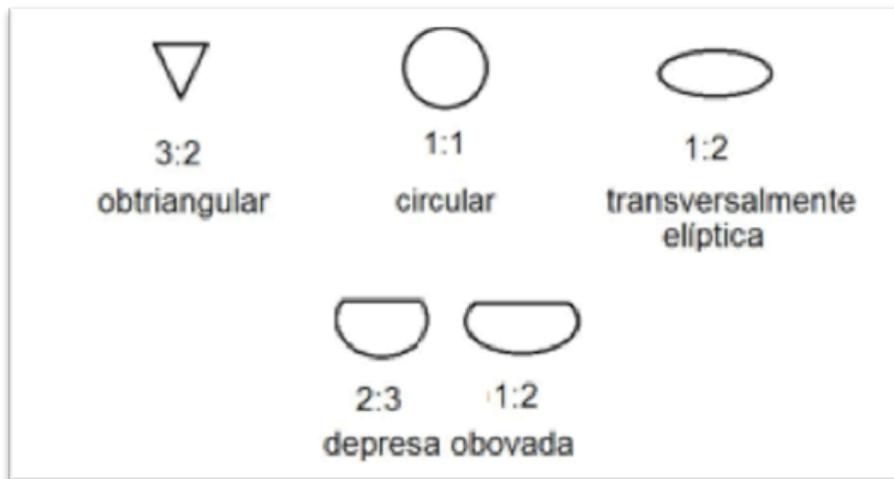


Figura 2. Forma geométrica de las hojas en sección transversal de los géneros y especies del complejo Milla. Modificadas de Radford et al. (1974). Los números indican la proporción longitud-ancho de la lámina.



Figura 3. Equipamiento utilizado para el procedimiento de laboratorio: 1) Cambiador automático Leica TP1020; 2) Microtomo rotatorio Leica RM2125RT; 3) Microscopio óptico Leica DM 750.

## RESULTADOS

A continuación, se presenta la descripción morfológica y anatómica de la hoja para las especies del complejo *Milla*. Se mencionan los nombres de las especies solamente en los casos donde existe variación interespecífica.

**Morfología.** Las hojas son lineares, principalmente rollizas (Fig. 4) y subrollizas, triangulares en *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii* (Fig. 5A, B). La base es aplanada e incolora, con ápice agudo y margen entero. La longitud de la lámina varía de 14.5 cm en *Milla valliflora* hasta 80 cm en *Bessera elegans*. El diámetro de la hoja rolliza es variable, por ejemplo en *Milla valliflora* es de 0.5 mm, mientras que en *M. biflora* se registró de 18.0 mm. Las especies con lámina triangular tienen una anchura de 2.0-3.0 mm en *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii*. El número de hojas por planta varía desde dos en *Milla biflora* hasta ocho en *Bessera elegans* (Fig. 5C, D). La disposición de la lámina es generalmente postrada, ocasionalmente erecta antes de anthesis o decumbente en la población de *Milla biflora* ubicada en Tlacotepec, Puebla. (Fig. 5C). Las hojas son glabras y sobre las nervaduras se desarrollan prominencias que han sido descritas como papilas o agujijones (Moore, 1953; Howard 1999). Para el presente

trabajo se describieron como papilas, debido a su forma cónica y de ápice redondeado.



Figura 4: forma rolliza de la hoja, vista desde un corte transversal, se observan las prominencias en la epidermis y el mesófilo hueco.

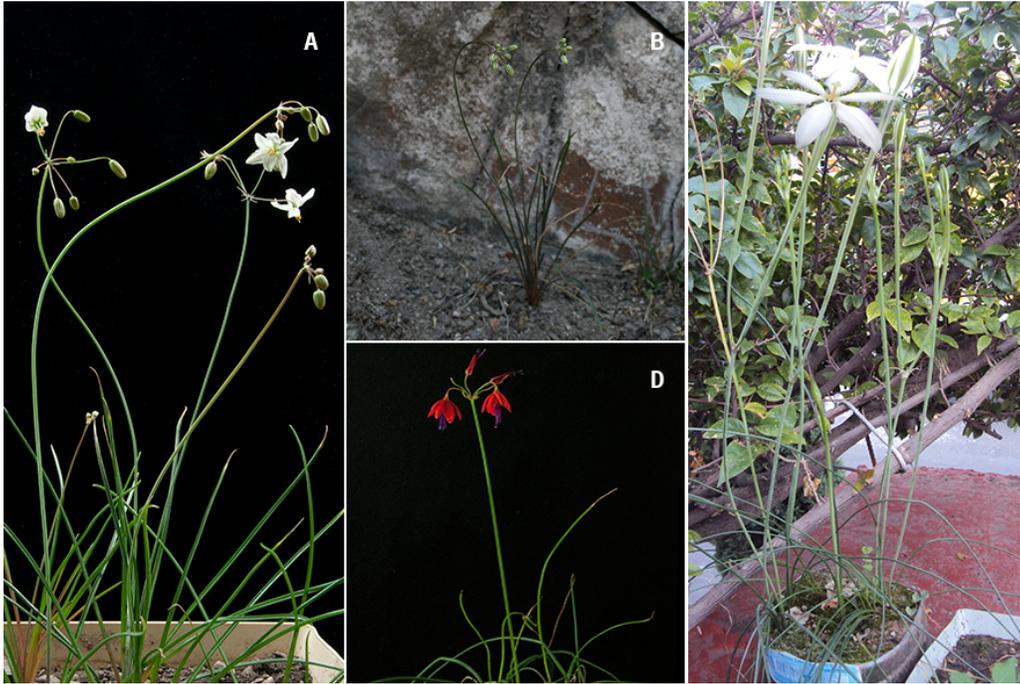


Figura 5: Hojas del complejo Milla. A) *Dandyia balsensis*, triangulares; B) *Dandyia thadhowardii*, triangulares quilladas; C) *Milla biflora*, rollizas; D) *Bessera elegans*, subrollizas.

**Anatomía.** El perfil de la lámina en sección transversal es variable y predomina la forma depresa obovada y circular (Cuadros 1, 2, 3; Fig. 6 A-D). Las hojas de *Dandyia balsensis* y *D. thadhowardii* presentan quilla abaxialmente (Fig. 6B,E) y se distinguen por su forma obtriangular (Cuadro 2), mientras que, *Bessera elegans* y *Milla biflora* presentan perfil de la lámina depreso-obovado (Cuadro 1, 3). En sección transversal la cutícula es estriada y delgada ( $< 1.5 \mu\text{m}$ ) en todas las especies examinadas la epidermis es uniestratificada, con células

cuadradas o rectangulares, con la pared anticlinal más larga (Fig. 7C). En la epidermis comúnmente se observan conjuntos de tres células que provocan un levantamiento de la célula central que forma una

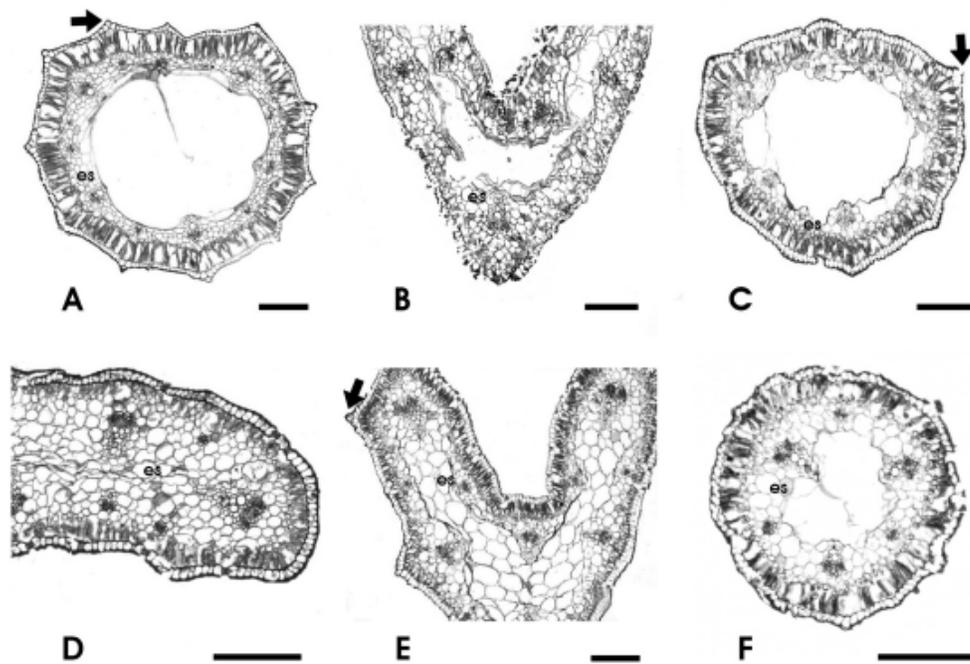


Figura 6. Perfil de la lámina foliar de los géneros del complejo Milla, observados en sección transversal. A. *Bessera elegans*, depresso-obovado. B. *Dandyia balsensis*, obtriangular. C. *Milla biflora*, depresso-obovado. D. *Milla biflora*, estrechamente-oblonga-transversalmente. E. *Dandyia thadhowardii*, obtriangular. F. *Milla biflora*, circular. es = esponjoso, flechas = protuberancias. Escala 300  $\mu$ m.

Cuadro 1. Características anatómicas de la hoja de *Bessera elegans*. Forma de la hoja en sección transversal = FHST: TE = transversalmente-elíptica, DO = dePRESa-obovada. Número de capas celulares en la epidermis = NCCE. Número de haces vasculares = NHV. Número de fibras asociadas el haz vascular = NFV. Grosor de la pared celular de la fibras = GPCF: D = delgada, G = gruesa. Mesofilo = M: H = colapsado.

Especie/Caracter	Distribución geográfica en México (Número recolecta)	FHST	NCCE	NHV	NFV	GPCF	M
<i>Bessera elegans</i>	Guerrero (802)	TE	12	12	4-13	D	H
	Jalisco (1253)	DO	12	12	4-13	D	H
	Nayarit (1386)	TE	10	16	4-13	G	H
	Oaxaca (3)	TE	12	12	4-13	G	H

Cuadro 2. Características anatómicas de la hoja de especies del género *Dandya*. Forma de la hoja en sección transversal = FHST: TE = transversalmente-elíptica, OT = obtusangular. Número de capas celulares en la epidermis = NCCE. Número haces vasculares = NHV. Grosor de la pared celular de la fibras = GPCF: D = delgada, G = gruesa. Mesofilo = M: S = sólido.

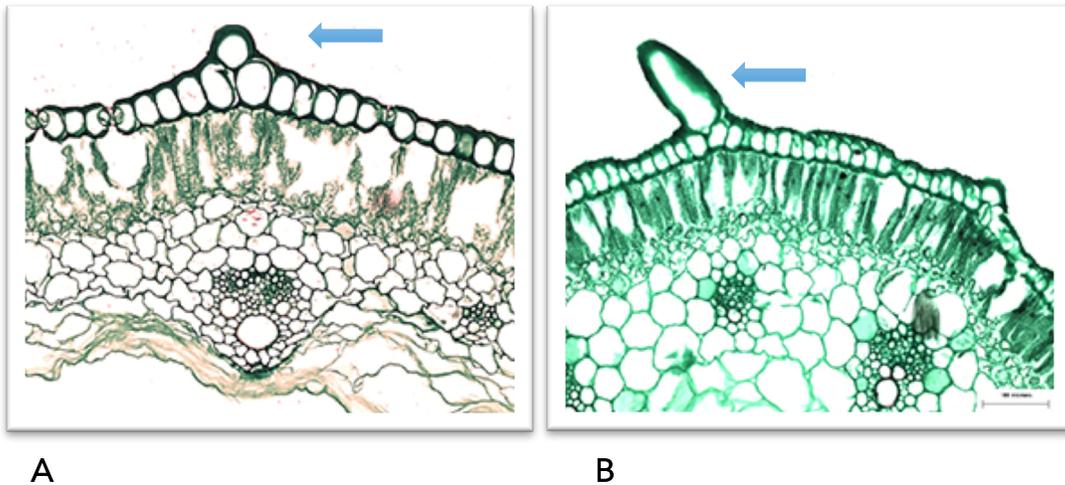
Especie/Caracter	Distribución geográfica en México (Número recolecta)	FHST	NCCE	NHV	GPCF	M
<i>Dandya balsensis</i>	Morelos (791, 1115)	OT	12	10	G	S
<i>D. hannibalii</i>	Michoacán (1241)	TE	16	12	D	S
<i>D. thadhowardii</i>	Guerrero (798, 841)	OT	12	10	G	S
	Michoacán (1240)	OT	12	10	G	S

Cuadro 3. Características anatómicas de la hoja de especies del género *Milla*. Forma de la hoja en sección transversal = FHST. C = circular, TE = transversalmente-elíptica, DO = deprimida-obovada, Número de series de prominencias = NSP. Forma de las células epidérmicas = FCE. R = rectangulares anticlinalmente. Número haces vasculares = NHV. Número de fibras asociadas al haz vascular = NFV. Grosor de la pared celular de la fibras = GCF: D = delgada, G = gruesa. Mesofilo = M. H = colapsado. (a) *M. biflora* = prominencias cortas (<50 µm), (b) *M. biflora* = prominencias largas (50-100 µm).

Especie/Caracter	Distribución geográfica en México (Número de colecta)	FHST	NSP	FCE	NHV	NFV	GCF	M
<i>Milla valliflora</i>	Oaxaca, Puebla	C	6	R	6	6-10	G	H
(a) <i>M. biflora</i>	D.F. (1195), Puebla (1254,1263)	DO	8-10	R	12	25-30	G	H
(b) <i>M. biflora</i>	Puebla (1257).	TE	6	R	12	---	G	H
<i>M. oaxacana</i>	Oaxaca	DO	14	R	18-20	8-12	D	H

protuberancia (Fig. 7A). Estas protuberancias están asociadas a los haces vasculares de mayor tamaño, y a veces son conspicuas debido a la elongación de la célula central (Fig. 7B). La pared periclinal externa de la epidermis es delgada o engrosada, las anticlinales comúnmente delgadas, excepto en *Bessera elegans* que tiene todas las paredes gruesas (Fig. 8). Cuando la pared es gruesa, se deduce su naturaleza celulósica, a partir de la tinción obtenida con verde rápido (Sandoval, 2005). Los estomas son superficiales y se ubican en el nivel de las células epidérmicas ordinarias, con prolongaciones anteriores y posteriores (Fig. 9), y observados en sección paradermal, son paracíticos. El mesófilo está conformado de parénquima en empalizada uniestratificado, con células uniformes excepto en *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii* que son más cortas en la cara abaxial (Fig. 10A). Presentan parénquima esponjoso compacto con células de menor a mayor tamaño hacia el centro de la hoja y de forma isodiamétrica (Fig. 10B). La parte más interna del mesofilo se colapsa o hay lisis celular y se forma un hueco excepto en las especies de *Dandya* (Fig. 6D, E). Todas las especies presentan rafidios dispersos en el mesofilo (Fig. 11A). Los haces vasculares son colaterales, se disponen formando un anillo discontinuo, donde se alternan uno de mayor tamaño con otro más pequeño, y su número es variable en cada especie, presentando los extremos de variación *Bessera elegans* y las especies de *Milla* (Cuadros 1,3). El xilema se dispone hacia el centro del mesófilo, donde

el metaxilema forma una "T" en *Bessera elegans* (Fig. 11C) y una "V" en el resto de las especies (Fig. 11B); el floema se orienta hacia la epidermis y está acompañado de pocas fibras. La mayoría de las especies presentan pocas fibras (< 15) con pared delgada o gruesa, pero en *Milla biflora* comúnmente tiene mayor abundancia de éstas (> 20) y con paredes más gruesas (Cuadro 3).



A

B

Figura 7. Detalles anatómicos de la lámina foliar de los géneros del complejo Milla, observados en sección transversal. A. *Bessera elegans* (J. Gutiérrez y E. Bravo 1386) protuberancias epidérmicas (flecha). B. *Milla biflora* (J. Gutiérrez et al. 1162) protuberancias epidérmicas conspicuas (flecha).

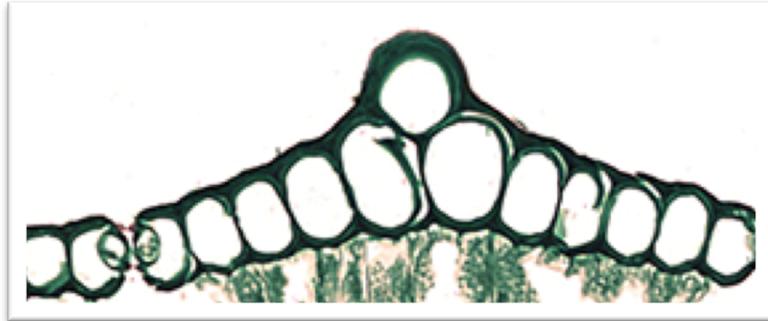


Figura 8. Detalles anatómicos de la lámina foliar de los géneros del complejo Milla, observados en sección transversal: *Bessera elegans* (J. Gutiérrez & E. Bravo 1386) paredes epidérmicas gruesas.

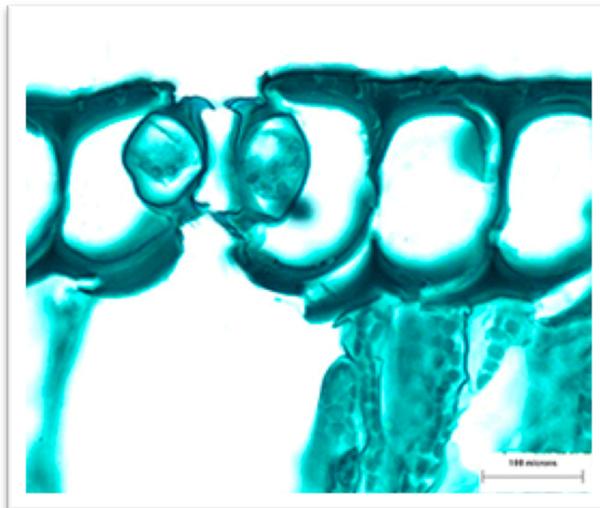


Figura 9. Detalles anatómicos de la lámina foliar de los géneros del complejo Milla, observados en sección transversal: *Dandya balsensis* (J. Gutiérrez 791) estomas con prolongaciones anteriores y posteriores.

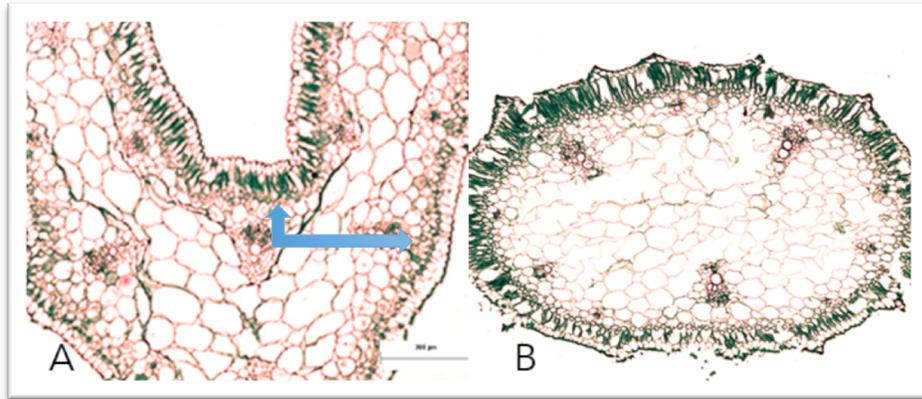


Figura 10. Detalles anatómicos de la lámina foliar de los géneros del complejo Milla, observados en sección transversal: A. *Dandya thadhowardii* (J. Gutiérrez 844) parénquima en empalizada más corto en la cara abaxial. B. *D. hannibalii* (J. Gutiérrez 1241) parénquima esponjoso con células de menor a mayor tamaño hacia el centro de la hoja.

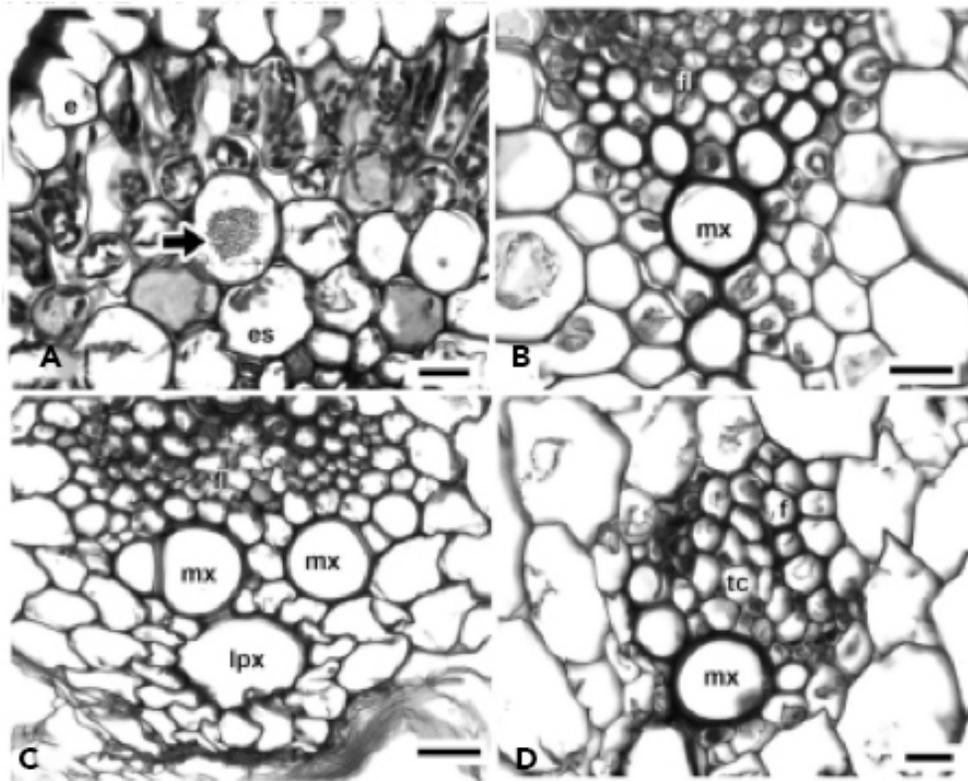


Figura 11. Detalles anatómicos de la lámina foliar de los géneros del complejo Milla, observados en sección transversal. A. *Dandya balsensis* (J. Gutiérrez 791) rafidio (flecha). B. *D. thadhowardii* (J. Gutiérrez 798) haz vascular en forma de "V". C. *Bessera elegans* (J. Gutiérrez & E. Bravo 1386) haz vascular en forma de "T". D. *Dandya hannibalii* (J. Gutiérrez et al. 1241) floema con fibras en desarrollo. es = esponjoso, fl = floema, lpx = laguna del protoxilema, mx = metaxilema. Escalas en A, B = 100  $\mu$ m; F, G = 50  $\mu$ m; C, E, H, I = 20  $\mu$ m; D = 10  $\mu$ m.

## DISCUSIÓN

Las hojas en las especies estudiadas del complejo *Milla* son rollizas, subrollizas o triangulares. Esta última condición fue descrita por Lenz (1971) para el género *Milla*, al cual lo ubicó en Liliaceae. Las formas de la lámina señaladas son comunes en diversos géneros de Asparagales (Blunden *et al.*, 1973; Tanker y Kurucu, 1981; Lynch *et al.*, 2006; Sandoval, 2010). Así, en Hyacinthaceae las hojas son rollizas, subrollizas y aplanadas. En Agavaceae y Orchidaceae son frecuentemente aplanadas; mientras que en Iridaceae las hojas son aplanadas, cuadradas, plegadas, conduplicadas o rollizas (Rudall, 1991) y en Alliaceae son aplanadas, rollizas y subrollizas, familia donde previamente se había clasificado a *Milla* (Dahlgren *et al.*, 1985). De las tres formas de la lámina descritas para los géneros del complejo *Milla*, las hojas rollizas y subrollizas muestran amplia variación, no obstante, al observar el perfil de la lámina en sección transversal, se distinguen grupos bien definidos. Así, el perfil de lámina de las hojas rollizas se observan de forma circular en *Milla valliflora*, mientras que las subrollizas son transversalmente-elípticas en *Bessera elegans*, *Dandya hannibalii* y *M. biflora*, depresa-obovadas en *B. elegans*, *M. oaxacana* y *M. biflora*. En este sentido la forma del perfil de la lámina observado en sección transversal es un estado de carácter que permite separar las especies analizadas.

En los géneros del complejo Milla la epidermis es uniestratificada igual que en otros géneros de Asparagales (Rudall, 1991; Lynch *et al.*, 2006). La presencia de protuberancias en la superficie de la epidermis es común en los géneros del complejo Milla, y éstas también se han registrado en algunas especies de Tigridieae (Rudall, 1991) y *Paepalanthus* (Ericaulaceae) (Mota-Alves *et al.*, 2013). Es de suma importancia identificar estas protuberancias en secciones transversales ya que observadas en secciones paradermales o vistas al microscopio estereoscópico se han descrito como denticulaciones hialinas (Moore, 1953) y pueden llegar a confundirse con prominencias. Con base en su longitud, estas protuberancias epidérmicas se clasificaron en dos grupos: largas (50-100  $\mu\text{m}$ ) correspondientes a la localidad de Tlacotepec, Puebla y cortas (<50  $\mu\text{m}$ ) de las localidades de Coyoacán, Distrito Federal; Tepeaca y Azumbilla en Puebla, que permitieron separar las poblaciones de *Milla biflora*. Las prominencias cortas son el estado de carácter más común en las especies estudiadas.

La presencia de pared primaria gruesa, de naturaleza celulósica en la epidermis se interpreta como colenquimatoso y es común en las especies analizadas. Esta epidermis le confiere a la lámina rigidez y flexibilidad; por ejemplo, *Bessera elegans* tiene todas las paredes de su epidermis engrosadas e intervienen para que las hojas sean erectas

antes de la antesis, porque la energía y la turgencia del agua se destina al desarrollo de la inflorescencia.

El desarrollo de parénquima en empalizada es común en todas las especies estudiadas; mientras que el tamaño de sus células es homogéneo en la mayoría de ellas, excepto en *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii* que presentan células del parénquima en empalizada más cortas en la cara abaxial. Posiblemente el cambio de tamaño se relaciona con la forma obtriangular de la lámina. En los géneros del complejo Milla el parénquima esponjoso se colapsa y forma un hueco, la condición más común, lo cual coincide con lo descrito para los géneros *Allium*, *Asphodelus* y *Sisyrinchium* (Tanker y Kurucu, 1981; Goldblatt *et al.*, 1990). El colapso del parénquima esponjoso y la lisis celular es característico de las hojas fistulosas. Este carácter también se presenta en hojas xeromórficas como en *Eriocaulon fistulosum* (Eriocaulaceae), *Juncus* spp. (Juncaceae) y *Gagea bohémica* (Liliaceae) (Niklas, 1991; Peruzzi *et al.*, 2008). La presencia de hojas fistulosas en las especies estudiadas, posiblemente sea una adaptación a ecosistemas secos para evitar la pérdida excesiva de agua, mantener una menor temperatura respecto al ambiente y almacenar mayor cantidad de CO<sub>2</sub> para la fotosíntesis (Gibson, 1996). En las especies del complejo Milla analizadas, la presencia de hojas bifaciales se correlaciona con la condición fistulada. La correlación de estos

caracteres posiblemente sea una novedad evolutiva para los géneros del complejo. Para confirmar esta hipótesis es necesario evaluar la anatomía de los otros géneros del complejo Milla y los contenidos en *Brodiaea*, que desarrollan hojas tanto aplanadas como subrollizas (Hoover, 1939).

Los haces vasculares son colaterales en las especies estudiadas del complejo Milla, excepto en *Bessera elegans* y presentan metaxilema dispuesto en forma de "V", distribución común en algunas Iridaceae (Goldblatt et al., 1990), donde se denomina en forma de arco. Por otra parte, Rudall (1991) señala que la presencia y disposición de las fibras en los haces vascular son caracteres de importancia taxonómica para distinguir especies, como lo demostró Ceja-Romero et al. (2009) en *Sisyrinchium*. Sin embargo, en las especies del complejo Milla, las fibras siempre se sitúan sobre el floema y son comúnmente escasas, observándose que la presencia de abundantes fibras con paredes gruesas se relaciona con el desarrollo de hojas grandes, favoreciendo un mayor soporte. Lo anterior se presenta generalmente en los taxa que desarrollan hojas de más de 50 centímetros de longitud como en *Bessera elegans* y *Milla biflora*.

**Diferencias entre especies.** *Bessera elegans* es la única especie que presenta metaxilema en forma de "T" y todas las paredes de la epidermis colenquimatosas. Hay especies que se pueden

reconocer por la combinación única de atributos foliares. Por ejemplo, *Dandya hannibalii* tiene el perfil de la lámina, transversalmente elíptico al igual que *Bessera* y *Milla* observado en sección transversal. En cambio, *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii* presentan el perfil de la lámina obtriangular y abundante tejido parenquimatoso dispuesto a lo largo de la costa. Las poblaciones de *Milla biflora* (Del. Coyoacán, Distrito Federal [1195]; Mpio. Tepeaca, Puebla [1254] y Mpio. Azumbilla, Puebla [1263]) comparten el perfil de la lámina depresa obovado (Cuadro 3). Los haces vasculares son comúnmente más numerosos en *Bessera* (12-20) y *Milla* (6-38), las especies de *Dandya* tienen de 8-12 haces. Todas las especies estudiadas presentan fibras con paredes gruesas, pero son más numerosas en las especies de *Bessera* y *Milla* (13 y 37 respectivamente) y el mesofilo sólido agrupa a las especies *Dandya balsensis*, *D. hannibalii* y *D. thadhowardii*.

**Diferencias interespecíficas en *Milla*.** En *Milla oxacana* y *M. valliflora*, la anatomía foliar revela que existe una combinación única de caracteres que permite reconocerlas (Cuadro 3). Ravenna (1971) describió a *Milla oxacana* con base en diferencias morfológicas florales de poblaciones que Moore (1953) reconoció como parte de *M. biflora*. En este estudio se muestra que *Milla oxacana* difiere de *M. biflora* por la presencia de 14 series de prominencias epidérmicas y el margen revoluto en la cara abaxial (Cuadro 3). Asimismo, Gutiérrez y Solano

(2015), utilizaron la presencia de rizomas, forma rolliza de la hoja, número de flores, forma de los tépalos externos y tamaño de los filamentos para separar a *Milla valliflora* de *M. biflora*. *Milla biflora*, es de amplia distribución geográfica (sur de los Estados Unidos de Norte América hasta Honduras) y comparte la mayoría de los estados de carácter anatómicos observados en *M. oaxcana* y *M. valliflora*. Moore (1953) describió a *Milla biflora* como una especie polimórfica, con hojas estrechamente lineares, canaliculadas en la cara superior y redondeadas en la inferior, con diminutas denticulaciones hialinas sobre las nervaduras que a veces están ausentes. Esta variación morfológica fue confirmada en este estudio y adicionalmente se reconocen otras formas (Cuadro 3). Gándara et al., (2014) sugieren que *Milla biflora* no es monofilética y que en realidad existen otras especies ocultas bajo este nombre. Los resultados aquí presentados apoyan esta aseveración ya que la anatomía foliar es variable en sus poblaciones. Con base en la variación foliar de *Milla biflora* se reconocen dos grupos, y será de suma importancia poner a prueba estos caracteres foliares en un análisis morfológico y molecular combinado para conocer las relaciones filogenéticas en el género.

Como ya se mencionó las prominencias epidérmicas cortas (<50 µm) se presentan en *Milla oaxacana* y *M. valliflora* además de las poblaciones 1195 (Del. Coyoacán, Distrito Federal), 1254 (Mpio. Tepeaca, Puebla) y

1263 (Mpio. Azumbilla, Puebla) de *M. biflora*. Las prominencias largas (50-100  $\mu\text{m}$ ) sólo se presentan en la población 1257 del Mpio. Tlacotepec, Puebla. (Cuadro 3).

**Diferencias en *Bessera elegans*.** Esta especie se diferencia por un haz vascular en forma de "T". Sin embargo, sus poblaciones difieren en la forma tridimensional de las hojas. Así las poblaciones 3 (Dto. Putla, Mpio. Putla Villa de Guerrero, Oaxaca) y 1386 (Mpio, Nayar, Nayarit) poseen forma transversalmente elíptica, mientras que las poblaciones 802 (Mpio. Coyuca de Catalán, Guerrero) y 1253 (Mpio. Cocula, Jalisco) muestran una forma depresa-obovada. Otras diferencias encontradas se observan en el número de series epidérmicas, número de haces vasculares y grosor de la pared celular de las fibras (Cuadro 1). *Bessera elegans* es una especie de amplia distribución geográfica en la vertiente del pacífico mexicano, Faja Volcánica Transmexicana y Cuenca del Rio Balsas. Los diferentes ambientes donde se desarrolla posiblemente han favorecido una diversidad morfológica en sus hojas. Así también las estructuras florales de esta especie presentan colores diversos y la connación de sus estambres tiene diferente longitud. Moore (1953) describió tres grupos dentro de esta especie que denominó A,B,C; con base en el tamaño de la flor y la presencia o ausencia de prolongaciones entre la connación de los estambres. Estudios morfológicos, cariológicos y moleculares

podrían apoyar la circunscripción de *Bessera elegans*, y comprobar la existencia de *Bessera tuitensis* propuesta por Ramírez-Delgadillo (1992).

**Diferencias interespecíficas en *Dandya*.** El estudio anatómico foliar revela que *Dandya hannibalii* es la única especie que presenta caracteres diferenciables, como la forma circular de la hoja, número de capas celulares en la epidermis (16) y número de haces vasculares (12) (Cuadro 2). Por el contrario *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii* no presentaron diferencias morfológicas ni anatómicas que permitan separarlas. Gutiérrez *et al.* (2010) tampoco encontraron diferencias en la anatomía floral de estas dos especies. *Dandya balsensis* fue descrita como una especie cercana a *D. thadhowardii* con base en diferencias en el tamaño de los tépalos, filamentos de los estambres y gineceo (López-Ferrari y Espejo, 2001). Sin embargo, la distribución de estas dos especies es simpátrica y probablemente se trate de una sola entidad taxonómica.

## CONCLUSIONES

La morfología de las hojas en las especies de *Bessera* y *Milla* presentan caracteres específicos que permiten diferenciarlos. En el caso de *Dandya balsensis* y *D. thadhowardii*, no existe variación que permita separarlas taxonómicamente. Además, resulta significativa la presencia en el complejo de prominencias interpretadas como papilas o dientes y permite la posibilidad de hacer otros estudios sobre la utilidad de este carácter.

Las diferencias anatómicas entre las especies de *Bessera* y *Milla* son importantes para distinguir entre especies y particularmente *B. elegans* y *M. biflora* y debe de estudiarse utilizando otros atributos para circunscribir la especie.

Con base en los resultados, se concluye que los caracteres con valor taxonómico son la forma de la hoja en sección transversal y la forma del haz vascular permite diferenciar al menos a *Bessera*.

## LITERATURA CITADA

- Anderson, L.C. y J. B. Creech. 1975. Comparative leaf anatomy of *Solidago* and related Asteraceae. *American Journal of Botany* **5**: 486-493.
- Blunden, G., Y. Yi y K. Jewers. 1973. The comparative leaf anatomy of *Agave*, *Beschorneria*, *Doryanthes* and *Furcraea* species (Agavaceae: Agaveae). *Botanical Journal of Linnean Society* **66**: 157-179.
- Brullo, S., P. Pavone y G. Spampinato. 1989. *Allium pentadactyli* (Liliaceae), a new species from S. Italy. *Willdenowia* **19**: 115-120.
- Ceja-Romero, J., A. Espejo-Serna y A. R. López-Ferrari. 2009. Una nueva especie de *Sisyrinchium* (Iridaceae) del estado de Guanajuato, México. *Acta Botanica Mexicana* **87**: 83-90.
- Chase, M.W., Reveal, J.L. y Fay, M.M. 2009. A subfamilial classification for the expanded asparagalean families Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* **161**: 132-136.
- Dahlgren, R. M. T., H. T. Clifford y P. F. Yeo. 1985. The families of the Monocotyledons, structure, evolution and taxonomy. Springer-Verlag. Berlin.
- De Gennaro, D., R. Pozner y O. Morrone. 2010. Anatomía foliar de *Sacciolepis* Nash (Poaceae). *Candollea* **2**: 197-210.

- Echevarría, C., A. Morilla y M. Serrano. 1988. Cuatro nuevas especies con anatomía foliar tipo Kranz: *Salsola vermiculata* L., *Cyperus capitatus* Vandélli, *Sporobolus pungens* (Schreber) Kunth, *Spartina densiflora* Brongn. *Lagascalia* **15**: 527-533.
- Fay, M. F. y M. W. Chase 1996. Resurrection of Themidaceae for the *Brodiea* alliance, and recircumscription of Alliaceae, Amaryllidaceae and Agapanthoideae. *Taxon* **45**: 441-451.
- Gándara, E., V. Sosa y J. L. León de la Luz. 2009. Morphological and molecular evidence in the delimitation of *Bheria* and *Bessera*, two genera of the *Milla* complex (Themidaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **85**: 113-124.
- Gándara, E., C. D. Specht y V. Sosa. 2014. Origin and diversification of the *Milla* clade (Brodiaeoideae, Asparagaceae): A Neotropical group of six geophytic genera. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **75**: 118-125.
- Gibson A .C. 1996. Structure-function relations of warm desert plants. Springer Verlag, New York, New York.
- Goldblatt, P., P. Rudall y J. E. Henrich. 1990. The genera of the *Sisyrinchium* alliance (Iridaceae: Iridoideae): Phylogeny and relationships. *Systematic Botany* **15**: 497-510.
- Gutiérrez, J. 2016. Sistemática del género *Milla* (Themidaceae). Tesis de Doctorado. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Gutiérrez, J. y E. Solano. 2015. *Milla valliflora* (Themidaceae), a new species from southern Mexico. *Brittonia* **67**: 43-47.
- Gutiérrez, J., Salgado, J., Grego, D. y Terrazas T. 2015. Morfología y anatomía foliar de los géneros del complejo *Milla* (Themidaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* **86**: 652-660.
- Gutiérrez, J., T. Terrazas, L. Hernández y D. Martínez-Cabrera. 2010. Anatomía floral de los géneros del complejo *Milla* (Themidaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **87**: 1-12.
- Holmgren, P. K., W. Keuken y E. K. Schofield. 1990. Index Herbariorum. International Association for Plant Taxonomy. The New York Botanical Garden, New York.
- Hoover, R. F. 1939. A definition of the genus *Brodiaea*. *Bulletin Torrey Botanical Club* **66**: 161-166.
- Howard, T. M. 1999. Three new *Milla* species from Mexico. *Herbertia* **54**: 232-237.
- Johnson, C. T. 1980. The leaf anatomy of *Leptospermum* Forst (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany* **28**: 77-104.
- Kocsis, M., J. Darok y A. Borhidi A. 2004. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (Rubiaceae) species. *Plant Systematic and Evolution* **248**: 205-221.
- Lenz, L. W. 1971. Chromosome number in the genus *Milla* Cav. (Liliaceae). *Aliso* **3**: 321-322.

- López-Ferrari R. y A. Espejo. 2001. Una nueva especie de *Dandya* (Alliaceae) de la Cuenca del Río Balsas, México. *Acta Botánica Mexicana* **18**: 11-15.
- Lynch, A. H., P. Rudall y D. F. Cutler. 2006. Leaf anatomy and systematics of Hyacinthaceae. *Kew Bulletin* 61: 145-159.
- Membrives, N., J. Pedrola-Monfort y J. Cuajapé-Castells J. 2003. Leaf morphology and anatomy of genus *Androcymbium* (Colchicaceae) in Southwest Africa. *Collectanea Botanica a Barcinonensi Botanico Instituto Edita* **26**: 83-99.
- Moore, H. E. 1953. The genus *Milla* (Amaryllidaceae-Allieae) and its allies. *Gentes Herbarum* **8**: 262-262.
- Mota-Alves, P. G., V. T. Scatena y M. Trovó. 2013. Anatomy of scapes, bracts, and leaves of *Paepalanthus* sect. *Diphyomene* (Eriocaulaceae, Poales) and its taxonomic implications. *Brittonia* **65**: 262-272.
- Niklas, K. J. 1991. Bending stiffness of cylindrical plant organs with a 'core-rind' construction: Evidence from *Juncus effusus* Leaves. *American Journal of Botany* **4**: 561-568.
- Peruzzi, L., A. Peterson, J. M. Tison y J. Peterson. 2008. Phylogenetic relationships of *Gagea* Salisb. (Liliaceae) in Italy, inferred from molecular and morphological data matrices. *Plant Systematic and Evolution* **276**: 219-234.

- Pires, J. C., M. F. Fay, W. S. Davis, L. Hufford, J. Rova, M. W. Chase y K. J. Sytsma. 2001. Molecular and phylogenetic analyses of Themidaceae (Asparagales). *Kew Bulletin* **56**: 601-626.
- Pires, J. C. y J. Sytsma. 2002. A phylogenetic evaluation of a biosystematic framework: *Brodiaea* and related petaloid monocots (Themidaceae). *American Journal of Botany* **89**: 1342-1359.
- Radford, A. E., W. C. Dickinson, J. R. Massey y C. R. Bell. 1974. Vascular plant systematic. Harper and Row. New York.
- Ramírez-Delgadillo, R. 1992. Una nueva especie de *Bessera* (Liliaceae) del Occidente de Jalisco, México. *Boletín del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara* **1**: 131-136.
- Ravenna, P. F. 1971. A new *Milla* species from Mexico. *Plant Life* **27**: 60, 89-90.
- Rudall, P. y B. Mathew. 1990. Leaf anatomy in *Crocus* (Iridaceae). *Kew Bulletin* **45**: 535-544.
- Rudall, P. 1991. Leaf anatomy in Tigridaeae (Iridaceae). *Plant Systematics and Evolution* **175**: 1-10.
- Ruzin, S. E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford University Press. New York.
- Rzedowski, J. 1991. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botanica Mexicana* **14**: 3-21.

- Sandoval, E., J. García-Cruz, T. Terrazas y J. L. Villaseñor. 2010. Relaciones filogenéticas de la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae) inferidas a partir de caracteres estructurales y secuencias de ADN (ITS y matK): un enfoque combinado. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **81**: 263-279.
- Sandoval, E. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Cuadernos 38 del Instituto de Biología. México, D.F.
- Tanker, N. y S. Kurucu. 1981. Leaf anatomy in relation to taxonomy in species of *Allium* found in Turkey. *Quarterly Journal of Crude Drug Research* **19**: 173-179.

Apéndice 1. Material examinado de los géneros del complejo Milla. Localidades: *Bessera elegans* Schultes f. GUERRERO: Mpio. Coyuca de Catalán; NAYARIT: Mpio. Nayar; JALISCO: Mpio. Cocula; OAXACA: Dto. Putla, Mpio. Putla Villa de Guerrero; *Dandya balsensis*. López-Ferr. & Espejo MORELOS: Mpio. Tlaquiltenango; *Dandya hannibalii* L. W. Lenz MICHOACÁN: Mpio. Huetamo; *Dandya thadhowardii* L. W. Lenz GUERRERO: Mpio. Coyuca de Catalán; *Milla biflora* Cav. DISTRITO FEDERAL: Del. Coyoacán; PUEBLA: Mpio. Azumbilla; Mpio. Tepeaca, Mpio. Tlacotepec; *Milla valliflora* J. Gut. & E. Solano. OAXACA: Dto. Nochixtlán, Mpio. Suchixtlahuaca; PUEBLA; *Milla oaxacana* Ravenna. OAXACA: Dto. Etlá, Mpio. Huitzo. Acrónimos de los herbarios revisados o donde se depositaron los ejemplares de acuerdo con Holmgren *et al.* (1990).

## Apéndice 2.

Especie	Localidad	Recolector	No. de colecta
Bessera elegans Schultes f.	Mpio. Coyuca de Catalán. Guerrero.	J. Gutiérrez	802
	Mpio. Cocula. Jalisco.	J. Gutiérrez	1253
	Mpio. Nayar. Nayarit	J. Gutiérrez y E. Bravo	1386
	Dto. Putla, mpio. Putla Villa de Guerrero. Oaxaca	J. Salgado	3
Dandya balsensis López-Ferr. & Espejo	Mpio. Tlalquitenango. Morelos	J. Gutiérrez	791, 1115
Dandya hannibalii L. W. Lenz	Mpio. Huetamo. Michoacán	J. Gutiérrez	1241
Dandya thadhowardii L. W. Lenz	Mpio. Iguala. Guerrero	J. Gutiérrez	798, 841
	Mpio. Coyuca de Catalán. Guerrero	J. Gutiérrez	844

	Mpio. Huetamo. Michoacán	J. Gutiérrez	1240
Milla biflora Cav.	Del. Coyoacán. Distrito Federal	J. Gutiérrez	1195
	Mpio. Azumbilla. Puebla	J. Gutiérrez y R. Ríos	1263
	Mpio. Tepeaca. Puebla	J. Gutiérrez y R. Ríos	1254
	Mpio. Tlacotepec. Puebla	J. Gutiérrez y R. Ríos	1257
Milla oaxacana Ravenna	Dto. Etl, mpio. Huitzo. Oaxaca	J. Gutiérrez	1193
Milla valliflora J. Gut. & E. Solano	Dto. Nochixtlán, mpio. Suchixtlahuaca. Oaxaca	J. Gutiérrez	1151