





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.



## INSTITUTO DE ECOLOGÍA

**C. P. AGUSTIN MERCADO**

Director de Certificación y Control Documental

Dirección General de Administración Escolar UNAM

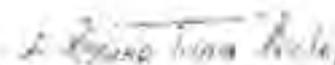
Presenta

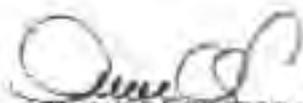
Nos permitimos informarle que el Comité Académico de **DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**, en su reunión 422 del 17 de enero de 2018, designó el siguiente jurado para la obtención de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la alumna **MONTES CARTAS CLAUDIA GABRIELA**, con número de cuenta: 87525869, con la tesis titulada: "**PATRONES DE COVARIACIÓN EN LAS CÉLULAS DEL TALLO DEL CLADO SIMARUBA**", dirigida por el **DR. MARK EARL OLSON ZUNIGA**

Presidencia:	Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán
Vocal:	Dra. Mariana Hernández Kerndt
Vocal:	Dra. Karina Boege Paré
Vocal:	Dr. Francisco Elizavinda Molina Freaner
Secretario:	Dr. Mark Earl Olson Zuniga

El Comité Académico, aprobó que la integración del jurado se realizara a solicitud de la alumna con cinco **sinodales**, en apego a la nueva normatividad, adoptándose al artículo **QUINTO TRANSITORIO**, con base a lo establecido en el **Artículo 31** de Reglamento General de Estudios de Posgrado.

Atentamente  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx. a 74 de enero de 2018

  
**DRA. LAURA ROXANA TORRES AVILÉS**  
RESPONSABLE INSTITUTO ECOLOGÍA  
PROGRAMA

  
**DRA. AUREA OROZCO RIVAS**  
COORDINADORA DEL

U. P. Ecología ambiental

Unidad de Posgrado Coordinación del Posgrado en Ciencias Biomédicas Edificio B, 1er. Piso Circuito de Posgrados Cd. Universitaria Delegación Coyoacán C.P. 04510 México, D.F. Tel: 5623 0222 Ext. 3700 | <http://www.pdcib.unam.mx> E-mail: [pdcib@unam.mx](mailto:pdcib@unam.mx)

## **Agradecimientos**

Al Posgrado en Ciencias Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo recibido durante mis estudios doctorales.

Al CONACYT por la beca doctoral # 239662 y por el financiamiento recibido a través del proyecto # 132404.

A los miembros del comité tutorial, Dr. César A. Domínguez Pérez-Tejada, Dr. Mark E. Olson Zunica, y Dr. Pablo Padilla Longoria, por la asesoría y las discusiones que hicieron posible la realización de la tesis. Sus sugerencias críticas fueron fundamentales para mejorar y avanzar en la realización del trabajo.

A los miembros del jurado, Dra. Karina Boege Paré, Dra. Mariana Benítez Keinrad, Dra. Judith Márquez Guzmán y al Dr. Francisco Molina Freaner por sus acertados comentarios para mejorar la tesis. Sus observaciones y sugerencias fueron importantes para redondear y enriquecer el trabajo. Asimismo fueron importantes sus comentarios para reflexionar sobre los distintos temas involucrados en la tesis.

Al Instituto de Biología, UNAM, por el apoyo recibido durante mi estancia.

A la Dra. Rebeca Aguirre por sus comentarios y sugerencias en los análisis multivariados.

Al Dr. Juan Fornoni por sus sugerencias para la escritura del artículo.

A la Dra. Julieta Rosell, por su constante ayuda y apoyo con las muestras, las dudas estadísticas, de señal filogenética, las filogenias y muchas pláticas sobre R, la tesis y muchas cosas más.

Al Dr. Calixto León Gómez, por su invaluable apoyo para enseñarme las técnicas anatómicas, obtener las preparaciones y orientarme en las mediciones de las variables anatómicas utilizadas en este trabajo.

A la M. en C. María Berenit Mendoza Garfias, cuya ayuda fue fundamental para llevar a cabo las mediciones anatómicas en microscopía. Su ayuda con el microscopio y su agradable plática fue enriquecedora.

Al Biól. Matiss Castorena Salaks, por su indispensable ayuda para llevar a cabo las pruebas de señal filogenética en R. Gracias por la disposición y el buen humor.

A la Dra. Angélica Cervantes Alcayde, por ayudarme con las muestras, con diversos temas de biología evolutiva y por los miles de trámites que siempre tuvo disposición para realizar. Muchas gracias Angie.

A la Dra. Lugui Sortibrán, por empezar juntas, por ayudarme con los trámites y por terminar juntas. Gracias amiga.

A mis compañeros del laboratorio del Inst. de Biología, Leonardo Alvarado, Matiss Castorena, Angélica Cervantes, Roberto Gómez, Vanessa Rojas, Julieta Rosell y Laura Trejo con quienes compartí muchos momentos y por el buen ambiente de trabajo. A la M. en C. Laura Márquez y a la Dra. Edna Naranjo, muchas gracias por las pláticas y los buenos

ratos. A Alberto Echeverría, Diana Soriano, Cecilia Martínez y Alí Segovia con quienes ya no conviví tanto pero de cualquier manera siempre tienen tiempo para un cordial saludo. A Alberto, gracias por la orientación para mejorar la calidad de la impresión. Sinceramente la pasé bien en el laboratorio. Gracias.

## Índice General

Índice general .....	1
Resumen .....	4
Abstract .....	5
I. Introducción .....	6
Modularidad biológica .....	7
Xilema secundario .....	9
Causas de la covariación de la covariación de caracteres .....	10
Clado <i>simaruba</i> .....	11
Hipótesis .....	12
Presentación de la tesis .....	13
Bibliografía .....	14
II. Características anatómicas del xilema secundario de las ramas terminales de nueve especies del clado <i>simaruba</i> y su relación con un gradiente ambiental tropical .....	17
Resumen .....	18
Introducción .....	18
Morfología-ambiente .....	18
Anatomía de la madera, función y clima .....	19
Clado <i>simaruba</i> .....	20
Materiales y métodos .....	21
Material vegetal, técnicas y variables anatómicas .....	21
Variables climáticas .....	21
Señal filogenética .....	22
Variables climáticas y anatómicas .....	23
Asignación de los tejidos de sostén, almacenamiento y conducción .....	23
Resultados .....	23
Material vegetal y variables anatómicas .....	23
Variables climáticas .....	23
Señal filogenética .....	24
Variables anatómicas .....	24
Vasos .....	24
Fibras .....	24
Parénquima .....	25
Variables climáticas y anatómicas .....	25
Asignación de tejidos de sostén, almacenamiento y conducción.....	26
Discusión .....	30
Señal filogenética .....	30
Variables anatómicas .....	30
Vasos .....	30
Fibras .....	31
Parénquima .....	31

Anillos de crecimiento .....	31
Variables climáticas y anatómicas .....	32
Asignación de tejidos .....	33
Conclusiones .....	34
Bibliografía .....	35
Anexo 1 .....	40
Anexo 2 .....	41
Anexo 3 .....	44
Anexo 4 .....	46
Fotos .....	47
III. Modularidad biológica en el xilema secundario del clado <i>simaruba</i> .....	50
Introducción .....	51
Materiales y métodos .....	54
Material vegetal, técnicas anatómicas y variables medidas .....	54
Covariación entre variables anatómicas .....	55
Análisis de conglomerados y factores .....	55
Resultados .....	56
Material vegetal, técnicas anatómicas y variables medidas .....	56
Covariación de variables anatómicas .....	56
Análisis de conglomerados y factores .....	56
Análisis de conglomerados .....	56
Análisis de factores .....	56
Discusión .....	56
Relación módulo-función .....	56
Causas de la covariación .....	57
Consideraciones metodológicas .....	59
Consideraciones finales .....	59
Bibliografía .....	60
Apéndice I .....	63
IV. Módulos morfológicos en <i>Bursera grandifolia</i> y <i>Bursera simaruba</i> en distintos ambientes .....	64
Resumen .....	65
Introducción .....	65
Materiales y métodos .....	67
Material vegetal .....	67
Señal filogenética .....	68
Análisis de correlaciones .....	68
Análisis multivariados .....	68
Variación de los caracteres anatómicos entre los sitios .....	68
Resultados .....	69
Material vegetal.....	69
Análisis de correlaciones .....	69
<i>Bursera grandifolia</i> .....	69
<i>Bursera simaruba</i> .....	70
Análisis multivariados .....	71
Conglomerados .....	71
<i>Bursera grandifolia</i> .....	71

<i>Bursera simaruba</i> .....	72
Factores .....	72
<i>Bursera grandifolia</i> .....	72
<i>Bursera simaruba</i> .....	73
Caracteres anatómicos en función de los sitios .....	75
<i>Bursera grandifolia</i> .....	75
<i>Bursera simaruba</i> .....	77
Discusión .....	79
Conjuntos de covariación .....	79
Análisis de correlaciones .....	79
Análisis multivariados .....	80
Variación de los caracteres anatómicos en los sitios .....	81
Estructura modular en las especies y el clado .....	81
Conclusiones .....	83
Bibliografía .....	84
V. Discusión general .....	89
Bibliografía .....	92

## Resumen

Uno de los aspectos más relevantes de los organismos es la gran diversidad morfológica que muestran. Las múltiples variaciones en las partes que los integran han sido estudiadas a través de la adaptación, relacionando la forma con la función para entender su desempeño bajo diferentes presiones de selección. Las diferentes partes que componen a los organismos están relacionadas entre sí formando un todo, pero al mismo tiempo tienen una independencia relativa que les permite modificarse, reflejándose en la gran variación que observamos. Una forma de abordar esta diversidad morfológica es a través de la modularidad. La modularidad se refiere a los subconjuntos de covariación de los caracteres, que tienen una relativa autonomía con respecto a otros subconjuntos en el organismo. Esta relativa independencia permite hacer ajustes en la forma, sin alterar drásticamente el resto del organismo, permitiendo la variación morfológica y manteniendo la función.

Una de las principales causas para explicar la modularidad es la selección natural que maximiza la (cuasi-) independencia entre dominios funcionales. Los módulos o subconjuntos de covariación de caracteres están fuertemente integrados por la función que realizan, la cual es favorecida por la selección. Pusimos a prueba la idea que los módulos o subconjuntos de covariación están asociados a una función en los caracteres anatómicos del xilema secundario del clado *simaruba* de *Bursera*. El xilema secundario tiene tres tejidos principales asociados a tres funciones, lo que correspondería a tres módulos en el xilema secundario. El módulo de conducción integrado por los caracteres del tejido de los elementos de los vasos, el módulo de sostén conformado por los caracteres de las fibras y uno de almacenamiento con los caracteres del parénquima.

El xilema secundario del clado *simaruba* de *Bursera* presenta un arreglo modular que responde en parte a la función. Los caracteres anatómicos se integran formando conjuntos de covariación explicados por la función, las rutas de desarrollo compartido y las disyuntivas, por lo que el presente trabajo apoya parcialmente la idea de modularidad moldeada por la función. Los conjuntos de covariación ligados por la función los pudimos reconocer en los caracteres del parénquima. El largo de los elementos de los vasos y las fibras corresponde a una asociación por el desarrollo compartido a partir del cual se generan los caracteres y un ejemplo de disyuntiva corresponde a la densidad y área de los elementos de los vasos.

El xilema secundario en *Bursera simaruba* y *B. grandifolia*, al igual que en el clado *simaruba* de *Bursera*, presentan una estructura modular similar. Los conjuntos de covariación están integrados por más de un tipo celular formando una red de interacciones entre ellos. Covariaciones presentes en el clado *simaruba* de *Bursera* se recuperan en la estructura modular de estas especies como son las relaciones del parénquima y la densidad y área de los elementos de los vasos. La covariación entre los largos de los elementos de los vasos y las fibras se mantiene en *B. simaruba*, sin embargo, esta covariación se rompe en *B. grandifolia*. Las variaciones en la estructura modular de estas especies reflejan la flexibilidad de la organización modular del xilema secundario. Estas variaciones contribuyen a la diversificación de los caracteres morfológicos, aún cuando pertenecen al mismo clado.

## Abstract

One of the most conspicuous aspects of organisms is their enormous morphological diversity. The myriad variations in the parts that make them up have been studied from the point of view of adaptation, relating form to function to understand their performance under different selective pressures. The parts that make up an organism are related amongst themselves by virtue of making up a whole, but at the same time, they have a certain degree of independence that allows them to vary evolutionarily, leading to the great variation observed across species. One way to study this morphologic diversity is through modularity. Modularity refers to suites of character covariation that have a relative autonomy with regard to other traits within the organism. This relative independence allows for variation in form, without drastically altering the rest of the organism, therefore enabling morphological variation without jeopardizing the integrity of the organism as a whole.

One of the main causes to explain modularity is natural selection maximizing the (quasi-) independence among functional domains. Modules or suites of character covariation are strongly integrated because of the function they perform which is favoured by selection. We tested the idea that modules, or suites of character covariation, are associated with a function within anatomical characters of secondary xylem from *simaruba* clade. The secondary xylem has three major tissues associated to three functions, so it could be expected that the suites of character covariation would make up three modules. However, the secondary xylem of the *simaruba* clade had a modular arrangement that only partially reflected function. The anatomical characters made up suites of character covariation that appeared to be explained by function in some cases, but shared developmental pathways and tradeoffs in others. Suites of character covariation linked to function were observed in the parenchyma characters, for example. The allocation of tissue proportions in the secondary xylem differed among species and it seemed to be explained by the numerous mechanical and environmental pressures in which these trees have developed. The vessels area and the percentage of rays changed in accordance with precipitation. Vessel element and fiber length corresponded to an association caused by shared developmental pathways, and an example of tradeoffs was the density and the area of the vessel elements.

Focusing across populations of the widespread species *Bursera simaruba* and *B. grandifolia*, patterns paralleled those observed in *simaruba* clade, with a similar modular structure, such as the parenchyma connections and the density and area of the vessel elements. The covariation between vessel element and fiber length was observed in *B. simaruba* just as it was in the clade as a whole, though this covariation was not present in *B. grandifolia*. The variation in the modular structure on these species reveals the flexibility of modular organization in the secondary xylem. These variations contribute to morphological characters diversification, even if they belong to the same clade.

## **CAPÍTULO I**

### **Introducción**

## Introducción

### ***Modularidad biológica.***

Uno de los aspectos más sobresalientes de los organismos es la diversidad que muestran en términos de formas, tamaños, estructuras y funciones (Lewontin, 1978; Schlichting, 2004; Gaston y Spicer, 2004). Una de las principales explicaciones para la diversidad biológica es la adaptación, el ajuste entre la forma y la función (Lewontin, 1978). Desde el punto de vista de la adaptación, se suele hablar de partes aisladas de los organismos como adaptaciones (Futuyma, 2013). Por ejemplo, es común hablar del ala como una adaptación del vuelo, la aleta como la adaptación del nado, flores llamativas como adaptación que atraen a los polinizadores o láminas foliares grandes que captan mucha luz.

Sin embargo, los organismos son sistemas que desarrollan sus funciones orgánicas (por ejemplo rutas metabólicas, funciones fisiológicas, caminar, nadar, volar, atracción de polinizadores) de manera conjunta a través de la interacción de las diferentes partes que los componen (Lewontin, 1978; Pigliucci *et al.*, 1991). Entonces, si bien una estructura es muy importante en el desempeño de una función, no es la única responsable de la función. Por ejemplo el ala participa indispensablemente en el vuelo de las aves, pero no es la única responsable del vuelo. Por lo tanto, puede resultar arbitrario seleccionar únicamente una parte (por ejemplo, el ala) como la adaptación. Parecería no tener sentido hablar de “partes” atomizadas o aisladas.

El estudio de los caracteres asociados a distintas funciones orgánicas plantea entonces la interrogante de cómo reconocer dichos caracteres en un organismo, ya que no existe una independencia total de las partes que lo constituyen (Lewontin, 1978; Gould y Lewontin, 1979). Ninguna estructura de un individuo es enteramente independiente de cualquier otra estructura del mismo individuo. Esta dependencia parecería imponer un freno en las posibilidades de cambio evolutivo, porque indicaría que una modificación evolutiva a una parte del cuerpo acarrearía cambios a las otras partes. Sin embargo, si bien los organismos funcionan de manera integrada, es posible observar o reconocer una serie de caracteres más fuertemente ligados entre ellos con respecto a otros caracteres dentro del mismo organismo (Eble, 2005). De esta manera se pueden reconocer caracteres relativamente independientes entre sí, como son las estructuras reproductivas de las plantas respecto a las partes vegetativas (Berg, 1960; Pigliucci *et al.*, 1991). La covariación y la relativa independencia en los caracteres que conforman a un organismo se deben considerar para entender la adaptación y se deben generar criterios que permitan reconocer de forma no arbitraria conjuntos de caracteres que están interaccionando entre ellos de manera relativamente independiente con respecto a otros grupos de caracteres dentro del sistema biológico.

Si por un lado el aislar a los caracteres de otros caracteres para su estudio no refleja la interacción entre ellos, el hecho de estudiar al organismo como un todo tampoco resulta factible en la práctica. Generalmente tendemos a diseccionar a los organismos en partes, atomizándolos, es decir, los pensamos en términos de partes. Sin embargo, los organismos son entidades que funcionan como un todo, como un conjunto. Esto haría pensar que los organismos están conformados de tal manera que son inseparables y que tendríamos que estudiarlos como un todo en cualquier contexto, lo cual es imposible. Además, es posible que nuestra manera de atomizar a los organismos

sea arbitraria, es decir, que no coincida con unidades evolutivamente relevantes. Es así como se plantea la modularidad como una opción a la elección no arbitraria de los caracteres (Wagner, 2001), ya que sugiere subconjuntos semi-independientes y muy relacionados a una función, que contribuye a solucionar el problema de la atomización (Lewontin, 1978; Wagner, 2001; Wagner, 2007).

Los módulos biológicos son subconjuntos de caracteres que tienen una relativa autonomía con respecto a otros módulos dentro del mismo organismo tanto estructural como funcionalmente (Bolker 2000; Eble, 2005; Breuker *et al.*, 2006). La organización modular permite que los caracteres integrados funcionen como unidades de transformación evolutiva sobre las que opera la selección natural (Wagner, 1996). Estas unidades de variación relativamente independientes son inferidas a partir de las correlaciones entre los caracteres (Eble, 2005).

El planteamiento modular es una pieza clave para entender la evolución de la diversidad, ya que la organización modular permite la variación de los caracteres correspondientes a un módulo independientemente de otros módulos, y esta variación lleva a la generación de la diversidad fenotípica (Wagner, 1996; Schlosser y Wagner, 2004; Klingenberg, 2008; Frankino *et al.*, 2009). La modularidad proporciona simultáneamente flexibilidad para cambiar dentro de un módulo y persistencia de la función o la estructura en los otros módulos conformando organismos integrados a través de una red de módulos (Wagner, 1996; Breuker *et al.*, 2006; Espinosa-Soto y Wagner, 2010) que permiten la adaptación a diferentes funciones con poca interferencia con otras funciones (Wagner, 1996). La organización modular facilita la variación fenotípica e incrementa el potencial de cambio del sistema (Kirschner y Gerhart, 1998; Wagner y Altenberg, 2006; Wagner y Mezey, 2004). Durante el proceso de desarrollo de los organismos los tipos celulares se diferencian y pueden llevar a cabo diferentes funciones, de tal manera que los módulos están ligados a una función (Wagner, 1996; Breuker *et al.*, 2006). La presencia de los módulos se explica en términos de la función que realizan, ya que la selección natural favorece dicha asociación para desarrollar la función en un ambiente determinado.

Resulta entonces esencial estudiar la modularidad para entender la diversidad fenotípica. Sin embargo, no hay un consenso sobre cómo reconocer a los módulos por lo que hace falta formular definiciones y descripciones de los módulos (Rieppel, 2005). Aún cuando se tiene un concepto general de módulo aplicable a diferentes áreas del conocimiento (Simon, 1962), existe un debate sobre el concepto de módulo y cómo reconocer o delimitar estas entidades (Wagner, 1996; Bolker *et al.*, 2000; Rieppel, 2005). Los módulos pueden ser concebidos como componentes de un sistema que operan independientemente de otros componentes, como un componente del sistema que es repetidamente usado (Schlosser y Wagner, 2004), como caracteres (genes) que interactúan fuertemente (Lieberman y Feldman, 2005) o como caracteres morfológicos integrados (Klingenberg *et al.*, 2001). El primer concepto de módulo es el más usado por ser más general e incluyente y a partir de él se han planteado diferentes tipos de módulos (Wagner, 2007) intentando entender su dinámica y origen desde perspectivas diferentes, que pueden o no considerar que la selección natural juega un papel importante en el origen de la modularidad (Wagner, 1996; Force *et al.*, 2004).

Wagner (1996) planteó la hipótesis de que los módulos o subconjuntos de variación pueden emerger de dos maneras por selección natural: 1) Parcelación, que consiste en la eliminación de una fuerte interacción entre caracteres, y 2) integración de

caracteres independientes que se integran para llevar a cabo una función en particular. En el primer caso, el arreglo modular está dado por la selección direccional que favorece la parcelación porque los complejos de caracteres raramente están expuestos simultáneamente a dicha selección. En el segundo caso, la selección direccional puede favorecer la integración cuando los caracteres tienden a ser seleccionados simultáneamente y quedan integrados en un módulo de cambio fenotípico. Es así como la modularidad permite la realización de diferentes funciones manteniendo la integridad de los sistemas (Wagner, 1996).

La identificación de los conjuntos de covariación es un primer paso que antecede a la explicación de las causas de dicha integración. La hipótesis de Wagner postula que los conjuntos principales de covariación corresponden a unidades funcionales, es decir, existiría una correspondencia entre las funciones que observamos en los organismos y los conjuntos de covariación morfológica (partes) que las llevan a cabo (Wagner, 1996; Breuker *et al.*, 2006). Los subconjuntos de caracteres provenientes de un linaje que llevan a cabo funciones diferentes y tienen cierta autonomía entre partes funcionales presentarían mayor capacidad para evolucionar a fenotipos diferentes, con funciones distintas, que conjuntos de caracteres en donde cada característica está ligada a todas las demás (Espinosa-Soto y Wagner, 2010). Un cierto grado de integración durante el desarrollo permitiría que la selección natural actuara sobre los conjuntos de caracteres que llevan a cabo una función en particular en comparación con aquellos subconjuntos en donde cada carácter es independiente (Wagner, 1996). Considerando esta propuesta esperaríamos que las funciones orgánicas pudieran predecir cuáles caracteres de los organismos deberían mostrar patrones de covariación y cuáles serían independientes (Wagner 1996; Olson y Rosell, 2006; Breuker *et al.*, 2006). Los patrones de covariación e independencia se han explorado a través de diferentes técnicas para identificarlos, aunque no existe un consenso con respecto a la delimitación de los bordes entre los subconjuntos.

Para someter a prueba la hipótesis de Wagner de que los subconjuntos de caracteres que forman un módulo están ligados a una función, un sistema de estudio ideal correspondería a una estructura con pocas partes, que muestre variación morfológica y que tenga relativamente pocas funciones, lo que permitiría abarcar la mayoría de las funciones de dicha estructura en un solo estudio. La propuesta de Wagner (1996) plantea que los subconjuntos de covariación (caracteres más ligados entre sí con respecto a otros subconjuntos de caracteres) se integran para llevar a cabo una determinada función y estos caracteres frecuentemente tienen un mismo origen durante el desarrollo. Estos subconjuntos se pueden modificar, como se mencionó anteriormente, por parcelación e integración, de acuerdo con Wagner (1996). Es por ello que es pertinente considerar en el sistema de estudio conjuntos de caracteres relativamente discretos relacionados con funciones acotadas a dichos conjuntos de caracteres. El xilema secundario (madera) es una estructura pertinente ya que presenta pocas partes asociadas a funciones delimitadas y con gran variación.

### ***Xilema secundario.***

La madera ofrece un sistema de estudio adecuado para contestar esta pregunta pues muestra un número reducido de tipos celulares que son los elementos de vasos, las fibras y las células del parénquima, que están involucrados en sólo tres funciones principales, la conducción hidráulica, el sostén mecánico y el almacenamiento de

agua/productos fotosintéticos, respectivamente (Bailey y Tupper, 1918; Carlquist, 2001; Mauseth, 1988; Zanne y Falster, 2010), y cuya variación está asociada a las características ambientales (Carlquist, 2001). La combinación ideal que presenta la madera al ser un sistema sencillo, pero al mismo tiempo con tanta variación presuntamente adaptativa, permitiría identificar los conjuntos de covariación que evolucionan de manera conjunta de los que son relativamente independientes entre sí. Es por ello que la madera es un sistema pertinente para estudiar la modularidad.

Los tres tipos celulares principales de la madera, los elementos de los vasos, las fibras y el parénquima tienen un mismo origen en el cámbium vascular. Los elementos de vaso, las fibras y el parénquima axial provienen de las células fusiformes del cámbium, y el parénquima radial de las células iniciales de los radios (Fig. 2, capítulo III; Carlquist, 2001; Mauseth, 1988). Estos tres tipos celulares comparten el mismo espacio y llevan a cabo tres funciones (Bailey y Tupper, 1918; Carlquist, 2001; Mauseth, 1988). En esta perspectiva tradicional, las fibras son las células dedicadas al sostén; los vasos, a la conducción y el parénquima al almacenamiento (Carlquist, 2001; Mauseth, 1988).

Tradicionalmente se han estudiado los patrones de covariación entre caracteres de la madera y el ambiente suponiendo que cada tipo celular responde independientemente a las presiones ambientales, es decir, que los tipos celulares desempeñan funciones separadas: los vasos realizan el transporte, las fibras el soporte y el parénquima el almacenamiento (Bailey y Tupper, 1918; Carlquist, 2001; Mauseth, 1988). De acuerdo con esta posición, se podría predecir que cada tipo celular sólo se modifica en relación a la función que lleva a cabo de acuerdo con las condiciones ambientales sin que esto repercuta o se manifieste en los otros dos tipos celulares, como si fueran independientes. Sin embargo, otros estudios plantean la implicación de distintos tipos celulares en funciones diferentes a las que tradicionalmente se han asociado (Hacke y Sperry, 2001; Sperry y Hacke, 2004) y la asignación diferencial de recursos a los diferentes caracteres harían pensar que esto no ocurre así, sino que existen fuertes interacciones entre los tipos celulares y competencia por los recursos espaciales y energéticos entre los tejidos (Hacke y Sperry, 2001; Sperry y Hacke, 2004). Esto podría sugerir que las funciones no necesariamente se corresponden con los caracteres tradicionalmente asignados a cada función, sino que podríamos encontrar covariación entre caracteres de diferentes tejidos que se asocian para llevar a cabo una función en particular.

### ***Causas de la covariación de caracteres.***

Uno de los fenómenos detonadores de la covariación de caracteres entre los organismos es la competencia por recursos. Por un lado, los organismos cuentan con una cantidad finita de recursos que son asignados o repartidos en el sistema (Stearns, 1992; Rosell, 2010). La asignación de recursos hacia un carácter necesariamente acarrea una disminución en la asignación de recursos hacia otros caracteres por la limitación en la cantidad de los recursos disponibles (Stearns, 1992; Rosell, 2010). Al derivarse del mismo tejido meristemático, un incremento en el tejido conductor necesariamente acarrea una disminución en el tejido de sostén o de almacenamiento, pues la materia y energía destinadas a los vasos serán restadas a la producción potencial de parénquima o

fibras. Esto indicaría que no se puede entender aisladamente la modificación de alguno de estos tres tipos celulares asociados a las diferentes funciones.

Además de la potencial integración por competencia de recursos, otros estudios sugieren que estos tipos celulares podrían presentar también asociación funcional. Por otro lado, si bien se suelen considerar independientes los tres tipos celulares, otros estudios nos hacen pensar que podría no ser así (Hacke y Sperry, 2001; Sperry y Hacke, 2004). Se ha mostrado que los diferentes tipos celulares pueden asociarse de manera que desarrollan de manera conjunta una función en particular (Hacke y Sperry, 2001; Sperry y Hacke, 2004). Así, por ejemplo, en ambientes con baja disponibilidad de agua, las características relacionadas con los vasos se modifican de manera que disminuya el riesgo de cavitación. Por ejemplo, se incrementa el número de vasos, se reduce el diámetro de éstos y sus paredes se engrosan. Al mismo tiempo, las fibras próximas a los vasos engrosan también sus paredes y ello parece contribuir a evitar la cavitación (Hacke y Sperry, 2001; Sperry y Hacke, 2004). De esta manera, las fibras y los vasos parecen estar contribuyendo a una misma función. Lo anterior podría indicar que los módulos, definidos por la integración de los caracteres, están compuestos por más de un tipo celular y tienen dinámicas que podrían no ser tan simples. Una vez planteado el xilema secundario como sistema de estudio, utilizamos un grupo de plantas pertenecientes a un clado que nos permitiera explorar la relación estructura-función-ambiente.

### ***Clado simaruba.***

Para explorar la relación estructura-función-ambiente seleccionamos un grupo del género *Bursera* pertenecientes al clado *simaruba* (Rzedowski *et al.*, 2005; Rosell *et al.*, 2010). Este clado es un modelo de estudio viable, ya que es un grupo con 14 especies, pero diverso en términos de las formas de vida (Rzedowski *et al.*, 2005, 2007; Rosell *et al.*, 2010). Este grupo presenta una enorme gama de tamaños, formas de crecimiento y se desarrolla en diversos ambientes (Rzedowski *et al.*, 2005, 2007; Rosell *et al.*, 2010). Esto es importante porque las diferentes especies están sometidas a distintas presiones mecánicas, de almacenamiento y de conducción, por lo que este sistema de estudio ofrece una gran variación de presiones selectivas que han resultado en diversificación adaptativa. Esto permitiría explorar la variación de los caracteres en función de las condiciones ambientales, como son los intervalos de tamaño y formas en los tipos celulares (elementos de vasos, fibras y parénquima) en los diferentes ambientes. Además, existen varias ventajas adicionales al trabajar con un clado. Las especies dentro de un clado empezaron con la misma estructura, pues descienden de un ancestro común. Esto implica que la divergencia posterior puede deberse a la acción de la selección natural sobre los diferentes caracteres. Adicionalmente, existe una hipótesis filogenética bien sustentada del grupo que podría ser utilizada al analizar estadísticamente los caracteres involucrados (Rosell *et al.*, 2010). Dado que las especies no son independientes estadísticamente unas de otras por estar cercanamente emparentadas, en los análisis de patrones de covariación es usual tomar en cuenta la relaciones de parentesco en los análisis estadísticos a través de los llamados métodos filogenéticos (Martins y Hansen, 1997).

Es claro que el trabajar con un clado permite explorar los patrones de integración durante la evolución de dicho grupo. El clado *simaruba* de *Bursera* es adecuado porque aunque todos sus miembros provienen de un ancestro común han desarrollado una gran

variación morfológica que permitirá explorar la integración de los diferentes tipos celulares en el grupo. Por ejemplo, *Bursera instabilis* es la única especie con ramas lianescentes de este clado, lo cual implica que en esta especie las demandas mecánicas pudieron haberse relajado y quizás esto nos permita observar cambios importantes en los caracteres involucrados en esta función. Dado que estas especies se desarrollan bajo diferentes condiciones ambientales, los patrones de integración entre sus caracteres pueden variar ya que las funciones tenderían a optimizarse dependiendo del ambiente y los módulos inferidos podrían modificarse. El clado *simaruba* de *Bursera* tiene la ventaja de que existe información adaptativa para las diferentes especies del clado (Rosell, 2010) que conjuntamente con la información anatómica permite hacer inferencias sobre la evolución de los módulos considerando la filogenia del grupo (O’Keefe y Wagner, 2001; Strait, 2001; en Mitteroecker y Bookstein, 2007).

### Hipótesis

Retomando la idea de modularidad propuesta por Wagner (1996) en donde los conjuntos de covariación semi-independientes que están asociados a una función tienden a evolucionar de manera conjunta por selección natural y, en el caso particular de la madera, será posible relacionar conjuntos de covariación morfológicos semi-independientes a partir de las diferentes funciones. Si este planteamiento se cumple, entonces deberán presentarse los siguientes tres módulos: Un módulo de conducción conformado por caracteres anatómicos de los vasos fuertemente relacionados entre sí, otro módulo estructural integrado por caracteres de las fibras y un módulo de almacenamiento formado por caracteres del parénquima (Fig. 1).

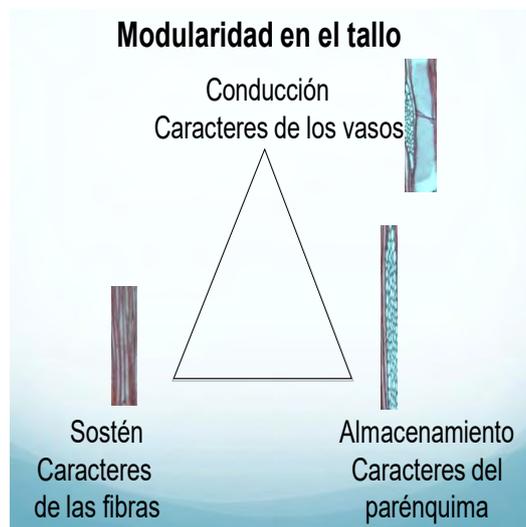


Fig. 1. Hipótesis de la modularidad en el tallo moldeada por selección. La selección favorecería tres subconjuntos de covariación o módulos en el tallo, asociados a una función. El módulo de conducción integrado por los caracteres de los elementos de los vasos, el módulo de sostén mecánico conformado por los caracteres de las fibras y un tercer módulo de almacenamiento en el que estarían covariando los caracteres anatómicos del parénquima axial y radial.

Identificamos los módulos a través de los conjuntos de covariación morfológica (covariación de los caracteres anatómicos) para delimitar los grupos de caracteres que evolucionan de manera conjunta y los que son independientes unos de otros, en las células de los tallos del clado *simaruba* de *Bursera*. Por lo tanto, esperábamos que ciertos conjuntos de covariación estuvieran asociados de manera que les fuera posible llevar a cabo una función en particular en el tallo. En este trabajo se puso a prueba la idea de que los subconjuntos de covariación se pueden explicar en términos de la función que desempeñan.

### ***Presentación de la tesis.***

El presente trabajo se realizó a través del desarrollo de tres partes. La primera de ellas, que presentamos en el capítulo II, consistió en la descripción de los caracteres anatómicos en los tallos (xilema secundario) de las especies del clado *simaruba* de *Bursera* y su relación con el ambiente. En este apartado identificamos la variación asociada a los caracteres anatómicos y las relacionamos con las condiciones ambientales de los sitios de crecimiento. Las nueve especies del clado que trabajamos se desarrollan bajo una variedad de climas y tipos de vegetación que permiten explorar la variación de los caracteres anatómicos con respecto al ambiente. La mayoría de los caracteres anatómicos registró señal filogenética por los altos valores de  $K$  y  $\lambda$ . Contrario a lo esperado, los caracteres anatómicos no mostraron una clara relación con las variables ambientales de precipitación y temperatura. En todo caso, la precipitación parece ser mayormente determinante en algunos caracteres anatómicos.

La segunda parte del trabajo, presentada en el capítulo III, corresponde a un estudio de la modularidad del xilema secundario (tallo) del clado *simaruba* de *Bursera*. Sometimos a prueba la hipótesis de que la estructura modular está determinada por la función, una idea ampliamente difundida en la modularidad biológica. Identificamos los conjuntos de covariación a través de diferentes técnicas estadísticas utilizadas en la identificación de módulos biológicos y explicamos las causas de la covariación. Los resultados mostraron que los patrones de covariación en el clado *simaruba* de *Bursera* responden no sólo a la función, sino que involucran la ontogenia y las disyuntivas establecidas por la disponibilidad de los recursos en el tallo. Este apartado corresponde al artículo publicado.

La tercera parte del trabajo consistió en explorar los patrones de covariación en dos especies del clado *simaruba* de *Bursera*, *B. grandifolia* y *B. simaruba*, que se desarrollan en distintos sitios y por lo tanto están expuestas a distintos ambientes. Este apartado corresponde al capítulo IV. Identificamos las variaciones de los caracteres anatómicos en los distintos sitios de muestreo, los conjuntos de covariación de los caracteres anatómicos y exploramos sus causas. Comparamos la estructura de covariación entre las especies y la obtenida para el clado *simaruba* de *Bursera* en el capítulo 3. La comparación nos permitió identificar patrones y covariaciones repetidas en el clado y las especies, así como las diferencias. Algunos caracteres anatómicos mostraron variación entre los sitios, sin embargo, las diferencias observadas no parecen estar explicadas totalmente por las diferencias ambientales entre los sitios. Discutimos los resultados de la estructura de covariación considerando el origen común de las especies y la característica de la modularidad que consiste en la flexibilidad para hacer

ajustes entre la forma y la función al interior de los módulos. Destacamos su importancia para explicar la diversidad morfológica.

Por último, en el capítulo V, presentamos un recuento de los capítulos anteriores en términos de la modularidad biológica, sus causas y la forma de delimitar los módulos utilizando distintas técnicas.

### **Bibliografía.**

- Bailey, I. W. y W. W. Tupper. 1918. Size variation in tracheary cells. I. A comparison between the secondary xylems of vascular cryptogams, gymnosperms, and angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Arts and Sciences of the United States of America* 54:149–204.
- Berg, R. L. 1960. The Ecological Significance of Correlation Pleiades. *Evolution* 14:171-180.
- Bolker, J. A. 2000. Modularity in development and why it matters to evo-devo. *American Zoologist* 40:770–776.
- Breuker, C. J., Debat, V. y C. P. Klingenberg. 2006. Functional evodevo. *Trends in Ecology & Evolution* 21:488–492.
- Carlquist, S. 2001. *Comparative wood anatomy: Systematic, ecological, and evolutionary aspects of dicotyledon wood (2nd ed.)* (p. 448). Berlin: Springer-Verlag.
- Eble, G. J. 2005. Morphological modularity and macroevolution: conceptual and empirical aspects. En W. Callebaut y D. Rasskin-Gutman (Eds.). *Modularity. Understanding the development and evolution of natural complex systems (Vienna Series in Theoretical Biology)* (pp. 221–238). Cambridge: MIT Press.
- Espinosa-Soto, C. y A. Wagner. 2010. Specialization can drive the evolution of modularity. *PLoS Computational Biology* 6, e1000719.
- Force, A. G., Cresko, W. A. y F. B. Pickett. 2004. Informational accretion, gene duplication, and the mechanisms of genetic module parcellation, pp. 315–337. En: G. Schlosser y G. P. Wagner (Eds.). *Modularity in Evolution and Development*, edited by University of Chicago Press, Chicago.
- Frankino, W. A., Emlen, D. J. y A. W. Shingleton. 2009. Experimental approaches to studying the evolution of animal form: The shape of things to come. En T. Garland y M. R. Rose, Jr. (Eds.). *Experimental evolution: Concepts, methods, and applications of selection experiments* (pp. 419–478). University of California Press, California.
- Futuyma, D. 2013. *Evolution*. Sunderland, Massachussettes. Sinauer Associates Inc. 656 pp.

- Gaston, K. J. y J. I. Spicer. 2004. *Biodiversity: an introduction*. Blackwell Publishing Company. United Kingdom.
- Gould, S. C y R. C. Lewontin, 1979. The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: A critique of the adaptationist programme. *Proc. R. Soc. Lond. B* 205:581-598.
- Hacke, U. G. y J. S. Sperry. 2001. Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 4:97-115.
- Kirschner, M., y J. Gerhart. 1998. Evolvability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:8420-8427.
- Klingenberg, C. P. 2008. Morphological integration and developmental modularity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39:115-132.
- Klingenberg, C. P., Badyaev, A. V., Sowry, S. M. y N J. Beckwith. 2001. Inferring Developmental Modularity from Morphological Integration: Analysis of individual Variation and Asymmetry in Bumblebee Wings. *American Naturalist* 157:11-23.
- Lewontin, R. C. 1978. Adaptation. *Scientific American* 239:156-169.
- Liberman, U. y M. W. Feldman. 2005. On the evolution of epistasis. I. Diploids under selection. *Theoretical Population Biology* 67:141-160.
- Martins, E. P. y T. F. Hansen. 1997. Phylogenies and the comparative method: a general approach to incorporating phylogenetic information into the analysis of interspecific data. *American Naturalist* 149:646-667.
- Mauseth, J. D. 1988. *Plant anatomy*. California: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 560 pp.
- Mitteroecker, P. y F. Bookstein. 2007. The conceptual and statistical relationship between modularity and morphological integration. *Systematic Biology* 56:818-836.
- Olson, M. E. y J. A. Rosell. 2006. Using heterochrony to detect modularity in the evolution of stem diversity in the plant family Moringaceae. *Evolution* 60:724-734.
- Pigliucci, M., C. Paoletti, S. Fineschi y M. E. Malvoti. 1991. Phenotypic Integration in Chestnut (*Castanea sativa* Mill.): Leaves versus Fruits. *Botanical Gazette* 152: 514-521.
- Rieppel, O. 2005. Modules, kinds and homology. *Journal of Experimental Zoology. (Mol. Dev. Evol.)* 304B:18-27.
- Rosell, J. A. 2010. Diversificación adaptativa en las plantas leñosas: Sostén, almacenamiento y conducción, en tallos del clado simaruba (*Bursera*, Burseraceae). Tesis de Doctorado en el Posgrado en Ciencias Biológicas, Instituto de Biología, UNAM. México, D. F. p. 175.

- Rosell, J. A., Olson, Weeks, M. E., De-Nova, J. A., Medina Lemos, R., Pérez Camacho, J. y Eguiarte, L. E. 2010. Diversification in species complexes: Tests of species origin and delimitation in the *Bursera simaruba* clade of tropical trees (Burseraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57:798–811.
- Rzedowski, J., R. Medina y G. Calderón. 2005. Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). *Acta Botanica Mexicana* 70:85–111.
- Rzedowski, J., Medina, R. y G. Calderón. 2007. Segunda restauración de *Bursera ovalifolia* y nombre nuevo para otro componente del complejo de *B. simaruba* (Burseraceae). *Acta Botanica Mexicana* 81:45-70.
- Schlösser, G. y G. P. Wagner. 2004. Introduction: The modularity concept in developmental and evolutionary biology. En G. Schlösser y G. P. Wagner (Eds.). *Modularity in development and evolution* (pp. 1–11). Chicago: The University of Chicago Press.
- Schlichting, C. 2004. The diversity of Complexity. En: M. Pigliucci y K. Preston (Eds.). *Phenotypic Integration*. Oxford University Press. 317 pp.
- Simon, H. A. 1962. The Architecture of Complexity. *Proceedings of the American Philosophical Society*. 106:467-482.
- Sperry, J. S. y U. G. Hacke. 2004. Analysis of circular bordered pit function I. Angiosperm vessels with homogenous pit membranes. *American Journal of Botany* 91:369–385.
- Stearns, S. C. 1992. *The evolution of life histories*. New York: Oxford University Press.
- Wagner, G. P. 1996. Homologues, natural kinds and the evolution of modularity. *American Zoologist* 36:36–43.
- Wagner, G. P. 2001. Characters, units and natural kinds: An introduction. En: G. P. Wagner (Ed.), *The character concept in evolutionary biology* (pp. 1–11). San Diego, California: Academic Press.
- Wagner, G. P. 2007. The developmental genetics of homology. *Nature Reviews. Genetics* 8:473-479.
- Wagner, G. P. y L. Altenberg. 1996. Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* 50:967–976.
- Wagner, G. P. y J. G. Mezey. 2004. The role of genetic architecture constraints in the origin of variational modularity. En: G. Schlösser y G. P. Wagner (Eds.), *Modularity in development and evolution* (pp. 338–358). Chicago: The University of Chicago Press.
- Zanne, A. E. y D.S. Falster, 2010. Plant functional traits – linkages among stem anatomy, plant performance and life history. *New Phytologist* 185:348-351.

## **CAPÍTULO II**

**Características anatómicas del xilema secundario de las ramas terminales de nueve especies del clado *simaruba* y su relación con un gradiente ambiental tropical.**

Características anatómicas del xilema secundario de las ramas terminales de nueve especies del clado *simaruba* y su relación con un gradiente ambiental tropical.

## Resumen

La adaptación de los caracteres implica una relación entre la estructura-función-ambiente que tiende a maximizar el desempeño del carácter. Exploramos las características anatómicas del xilema secundario de nueve especies del clado *simaruba* de *Bursera* y las relacionamos con las condiciones ambientales y la forma de vida de la especie. Registramos diferencias en la asignación de los tejidos de sostén, conducción y almacenamiento del xilema secundario en las ramas terminales de las especies. La asignación diferencial de los tejidos podría estar relacionada con la forma de vida de la especie ya que *Bursera instabilis*, con ramas lianescentes, asigna mayor proporción de tejido al almacenamiento que al sostén. Al estar relajado el soporte mecánico la especie puede hacer una asignación favoreciendo el almacenamiento, a diferencia de la mayoría de las especies que asignan una gran proporción de tejido al sostén. Contrario a lo esperado, no encontramos relación entre los caracteres anatómicos y las condiciones ambientales en las ramas terminales, excepto por el área de los elementos de vasos y el porcentaje de los radios, ambos relacionados con la precipitación anual y la estacionalidad de la precipitación. Discutimos la relación de estos caracteres anatómicos y la precipitación en términos de la función que desempeñan, así como la posible relación entre las variables anatómicas y las funcionales para evaluar su respuesta conjunta al ambiente. La interacción de caracteres anatómicos y funcionales podría ayudarnos a entender mejor la relación estructura-función-ambiente que puede contribuir a diversificar las funciones y la variación morfológica en las ramas terminales.

## Introducción

### *Morfología-ambiente.*

La gran diversidad morfológica es uno de los aspectos más relevantes de los organismos (Schliting, 1989; Muller y Newman, 2003; Gaston y Spicer, 2004). Un aspecto esencial para entender el surgimiento y mantenimiento de esta gran diversidad es a través de la adaptación. La adaptación explora la función de las estructuras en los diferentes ambientes en que se desarrollan (Lewontin, 1978; Futuyma, 2013; Sober, 2006) y contribuye a explicar la variación morfológica (Lewontin, 1978). Dada su importancia, la relación entre la morfología y el ambiente ha sido ampliamente estudiada en diferentes grupos biológicos (Zelditch y Moscarella, 2004; Rogers y Cheverud, 2004; Santamarina y Roselló, 2012). Nos propusimos explorar la relación entre la morfología y el ambiente para tratar de entender la diversidad morfológica a través de diversos caracteres, la interacción entre ellos y el ambiente. Para explorar esta relación consideramos a la anatomía de la madera, la cual ha estudiado la relación entre la forma y la función para explicar la relación entre la estructura y la función de los caracteres en distintos ambientes de manera reiterada (Esau, 1977; Fahn, 1982; Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001).

### ***Anatomía de la madera, función y clima.***

La anatomía de la madera trata no sólo de la descripción de los caracteres anatómicos, sino también de entender su estructura, función y las ventajas selectivas que presentan bajo diferentes condiciones ambientales (Esau, 1977; Fahn, 1982; Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001;), de tal manera que muchas de las interpretaciones de la anatomía de la madera están basadas en la selección natural (Mauseth, 1988). Una estructura que resulta particularmente útil al evaluar esta relación es el xilema secundario (tallo) de las plantas. La madera ofrece un sistema de estudio relativamente sencillo pues consta de un número reducido de tipos celulares que son los elementos de vasos, las fibras y las células del parénquima, que están involucrados en sólo tres funciones principales claramente acotadas, la conducción hidráulica, el sostén mecánico y el almacenamiento de agua/productos fotosintéticos, respectivamente (Bailey y Tupper, 1918; Carlquist, 1975; Mauseth, 1988; Zanne y Falster, 2010). Las variaciones en estos caracteres anatómicos (variaciones morfológicas de los elementos de vasos, fibras y células del parénquima) están asociadas a las características ambientales con la idea que estas modificaciones reflejan su desempeño (Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001).

Los estudios sobre anatomía de la madera se enfocan en el tallo principal o tronco de la planta aunque estudios más recientes también involucran a las ramas terminales (Rosell, 2010; Ziemińska *et al.*, 2013, 2015). Las ramas son importantes porque están en contacto directo con las hojas de las plantas y el ambiente (Ziemińska *et al.*, 2013, 2015). Al igual que en el eje principal de la planta, las ramas terminales presentan los tres principales tejidos que son el de sostén, almacenamiento y conducción.

El tejido de conducción está integrado por un sistema de elementos de vasos encargados de distribuir el agua y los nutrimentos a toda la planta. Los vasos son elementos cilíndricos huecos distribuidos axialmente a lo largo de la planta rodeados por una pared doble con punteaduras que les permiten estar en contacto con las células aledañas, ya sean otros elementos de vasos o de otro tipo celular, a través de la pared primaria o membrana celular (Fahn, 1982; Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001). Las variaciones morfológicas en los elementos de vasos son un claro ejemplo de las modificaciones que pueden presentarse en estas estructuras en relación al ambiente (Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001, Jacobsen *et al.*, 2005, 2007a). En ambientes con baja disponibilidad de agua, las características relacionadas con los elementos de vasos se modifican de manera que disminuye el riesgo de cavitación. Por ejemplo, se reduce el diámetro de éstos y sus paredes se engrosan (Ewers, 1985; Hacke y Sperry, 2001; Carlquist, 1975, 2001; Sperry y Hacke 2004; Jacobsen *et al.*, 2005, 2007a, 2007b). En condiciones con mayor disponibilidad de agua el lumen de los elementos de vasos se incrementa permitiendo un mayor flujo de agua y fotosintatos a través de ellos (Ewers, 1985; Carlquist, 1975, 2001; Hacke y Sperry, 2001; Jacobsen *et al.*, 2005, 2007a). La disponibilidad de agua y las modificaciones anatómicas de los elementos de vasos son un ejemplo de cómo se ha explorado la relación entre la forma (características anatómicas de los elementos de vasos), la función (conducción) y el ambiente (disponibilidad de agua). El sistema de elementos de vasos está inmerso en una matriz de fibras que compone el tejido de sostén.

El sistema de sostén está compuesto por fibras con forma cilíndrica, alargada, estrecha en los extremos, en forma de huso. Al igual que los vasos, se distribuyen axialmente en la planta. La principal función del sistema de sostén es dar soporte a las

diferentes estructuras de la planta (Fahn, 1982; Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001). Las plantas pueden reforzar la matriz de fibras ya sea incrementando su proporción, engrosando sus paredes y modificando el lumen de las fibras (Jacobsen *et al.*, 2005, 2007a, 2007b; Ziemińska *et al.*, 2013, 2015). Se ha observado que gran parte de estas modificaciones están asociadas a la densidad de la madera y sus características mecánicas (Jacobsen *et al.*, 2007a; Rosell, 2010; Ziemińska *et al.*, 2013, 2015). Al igual que el sistema de conducción está inmerso en el tejido de sostén, también podemos reconocer distintos tipos celulares que conforman el sistema de almacenamiento en el xilema secundario.

El sistema de almacenamiento está integrado por las células de los radios y las del parénquima axial con forma de cubo. Estas células contienen almidón y otros derivados fotosintéticos. Los radios están ubicados en posición transversal o radial en la planta, formando hileras de uno o más radios que se pueden observar en los cortes transversales (IAWA, 1989b; Fahn, 1982; Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001). El parénquima axial está distribuido axialmente en la planta y generalmente próximo a los vasos. La proximidad entre el parénquima axial y los elementos de los vasos favorece el intercambio de productos de manera más eficiente (IAWA, 1989b, d; Fahn, 1982; Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001). Altos porcentajes de parénquima en el corte transversal y con gran contenido de almidón contribuyen a incrementar la densidad de la madera, una característica importante ante las variaciones ambientales (Jacobsen *et al.*, 2007a). La madera resulta ser un sistema relativamente sencillo al presentar tres tipos de tejidos principales, pero al mismo tiempo desarrolla una gran variación morfológica en sus estructuras, que permite estudiar la relación forma-función-ambiente presuntamente favorecida por la selección.

Además de poder estudiar la relación forma-función-ambiente en el tallo, el xilema secundario también nos permite estudiar las disyuntivas (Stearns, 1992) entre los tres principales tipos de tejidos que realizan la conducción, el sostén y el almacenamiento (Fahn, 1982; Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001). Previamente se ha planteado la disyuntiva entre las tres funciones del tallo (Chave *et al.*, 2009; Zanne y Falster, 2010). Por ejemplo, en sitios relativamente secos se favorece el almacenamiento del agua a expensas del soporte mecánico, mientras que en sitios húmedos el soporte mecánico es favorecido a expensas del almacenamiento en la planta (Medina, 1995; Borchert y Pockman, 2005; Moles *et al.*, 2009), lo que se podría ver reflejado en las diferentes proporciones de los tejidos de conducción, sostén y almacenamiento dependiendo de las condiciones ambientales (Niklas, 1993; Sterk *et al.*, 2006). El tallo nos permite explorar las disyuntivas entre los distintos tipos de tejidos y la relación entre la morfología-función-ambiente dependiendo de las presiones de selección a las que están sometidas las plantas.

### ***Clado simaruba***

Evaluamos la variación morfológica de los caracteres anatómicos del tallo en un grupo de plantas pertenecientes al clado *simaruba* de *Bursera*. Como mencionamos en el capítulo anterior, el clado *simaruba* tiene ventajas que nos permiten explorar las modificaciones en los caracteres anatómicos asociados a la conducción (elementos de los vasos), sostén (fibras) y almacenamiento (parénquima), relacionarlas con el ambiente en el que crecen los individuos y considerar las relaciones filogenéticas entre las especies al analizar los datos.

## Materiales y métodos

### *Material vegetal, técnicas y variables anatómicas.*

Los datos anatómicos del xilema secundario los obtuvimos a partir de las ramas terminales de nueve especies del clado *simaruba* (anexo 2) de *Bursera*. Los segmentos de ramas corresponden a individuos adultos creciendo bajo diferentes condiciones ambientales y distintas formas de vida (Rzedowski *et al.*, 2004, 2005; Rosell *et al.*, 2010). Los segmentos de ramas fueron los mismos que se utilizaron en los estudios de sus propiedades biomecánicas (Rosell, 2010). Se colectó una rama por individuo, siete individuos por especie en cada localidad, excepto para *B. grandifolia* y *B. simaruba* que fueron colectadas en cuatro localidades cada una. Las ramas de aproximadamente 1.5 cm de diámetro fueron cortadas en trozos cilíndricos y conservadas en alcohol al 70% hasta su preparación en laboratorio. Los trozos fueron incluidos en polietilenglicol (PEG; Sandoval-Zapotitla *et al.*, 2005) para posteriormente realizar los cortes en microtomo rotatorio de aproximadamente 18  $\mu\text{m}$ . Los cortes transversales fueron teñidos con azul alciano y safranina. Además, realizamos los macerados utilizando solución de Jeffrey (Ruzin, 1999) que teñimos con safranina. Los cortes transversales y los macerados los montamos de forma permanente para su observación en microscopio óptico (Olson y Carlquist, 2001) utilizando el programa Image-Pro Plus v. 7.0 para Windows (Media Cybernetics, Inc., Bethesda, MD) para realizar las mediciones. Elegimos las variables anatómicas con base en la función que tradicionalmente se postula que desempeñan en términos de conducción (caracteres de los vasos), sostén (caracteres de las fibras) y almacenamiento (caracteres del parénquima), las tres funciones principales en el xilema secundario (anexo 1 del capítulo III). Concretamente medimos el porcentaje, la densidad, el área, el largo y el grosor de la pared de los elementos de los vasos; de las fibras, el porcentaje, el área, el largo y el grosor de la pared de las fibras; del parénquima, el porcentaje y el área de las células de los radios, el área y el grosor de la pared del parénquima axial (anexo 1 del capítulo III). A partir de estas preparaciones medimos 25 datos por variable (Carlquist, 1975) en la parte externa del xilema secundario, para cada una de las siete ramas de las nueve especies y los analizamos con R (R Development Core Team 2015).

### *Variables climáticas.*

Un aspecto determinante para entender el funcionamiento de las características anatómicas es el ambiente y en particular el clima. Una gran variedad de estudios muestran la relación entre las condiciones ambientales y la estructura de los caracteres morfológicos (Jacobsen *et al.*, 2007a; Ziemińska *et al.*, 2013, 2015). Para explorar la relación entre las características anatómicas y climáticas colectamos las muestras de individuos creciendo en distintos hábitats tropicales que van desde los bosques tropicales caducifolios hasta los lluviosos (Rzedowski *et al.*, 2004, 2005; Rosell *et al.*, 2010). Estos bosques abarcan un gradiente climático representado en distintos sitios de la costa del Pacífico (desde Colima hasta Oaxaca), el Golfo de México (Veracruz y Quintana Roo) y Morelos en el centro del país (anexo 2). Para explorar esta relación obtuvimos 19 variables climáticas de los 15 sitios muestreados mediante el paquete *WorldClim Global Climate GIS Database* (<http://www.worldclim.org>; Hijmans *et al.*, 2005; anexo 1). De estas 19 variables climáticas eliminamos las que tuvieron alta

colinealidad (Sokal y Rolph, 2012). La colinealidad la detectamos mediante el análisis de correlaciones a través del coeficiente de correlación de Pearson y las gráficas de correlación entre las variables ( $r \geq 0.7$ ,  $p \leq 0.05$ ,  $n = 15$ ). Las variables climáticas empleadas en el análisis de regresión múltiple fueron temperatura promedio anual (TPA), precipitación anual (PA), estacionalidad de la precipitación (EP) y temperatura máxima del mes más cálido (TMMMC). Las variables fueron transformadas mediante logaritmos para cumplir con los criterios de normalidad y homocedasticidad (Sokal y Rolph, 2012) cuando fue necesario.

### ***Señal filogenética.***

El método comparativo permite evaluar las relaciones entre un conjunto de datos de especies en distintas condiciones ambientales (Felsenstein, 1985; Harvey y Pagel, 1991; Garland *et al.*, 1992). Al trabajar con un conjunto de especies relacionadas filogenéticamente en diferentes grados, el grado de relación entre las especies se puede reflejar en la cantidad de similitud de los caracteres estudiados. Esto sucede porque las especies más cercanamente relacionadas comparten más de la historia evolutiva y han tenido menos tiempo para divergir que las especies más distantemente relacionadas. Esto implica que no hay una independencia de la especie y que todas están relacionadas en cierto grado. La no independencia de las especies se evalúa comúnmente a través de dos métodos que son el método de contrastes independientes filogenéticos (Felsenstein, 1985) y el método de mínimos cuadrados generalizados (GLS) (Martins y Hanssens, 1997). Debido a la no independencia de las especies, es necesario evaluar si los caracteres estudiados presentan arrastre o señal filogenética que debe ser tomada en cuenta en el momento de analizar los datos. La señal filogenética la evaluamos con los estadísticos  $\lambda$  (Pagel, 1999) y K (Blomberg *et al.*, 2003) mediante el programa “ape” (Paradis *et al.*, 2004) y “phytools” (Revell, 2012) implementados en R (R Development Core Team, 2015). Una vez obtenidos los estadísticos  $\lambda$  y K fue posible determinar qué variables se analizarían de forma tradicional y en cuáles análisis se debería tener en cuenta la filogenia. La filogenia utilizada fue la propuesta por Rosell *et al.* (2010) ajustando el árbol a las nueve especies de las cuales obtuvimos los datos.

Debido a que los valores de K fueron altos decidimos realizar los análisis estadísticos con y sin filogenia cuando fue posible y comparar dichos resultados. Los valores de K cercanos a 1 indican que la variable muestra señal filogenética y el análisis permite obtener un nivel de significancia asociado a K (Blomberg *et al.*, 2003). Sin embargo, se pueden presentar valores de K altos y no ser significativos, lo que puede estar asociado al número de datos involucrados durante el análisis (Sokal y Rolph, 2012). Por ejemplo, los análisis de correlaciones que involucran un número relativamente reducido de datos muestran valores de correlación altos que no son significativos, mientras que valores de correlación bajos pueden ser significativos debido a un gran número de datos involucrados durante el análisis (Sokal y Rolph, 2012). Los análisis que permiten obtener K llevan a cabo el cálculo de las correlaciones de caracteres y su nivel de significancia considerando la filogenia. Así como el nivel de significancia está influenciado por el número de datos en las correlaciones, sucede lo mismo con el valor de K y su nivel de significancia asociado. Considerando lo anterior y que tenemos un número reducido de especies (nueve especies) decidimos tener en cuenta la influencia de la señal filogenética durante los análisis ya que los valores de K fueron cercanos a 1.

### ***Variables climáticas y anatómicas.***

Tradicionalmente las funciones de las variables anatómicas del xilema secundario y sus modificaciones morfológicas se han explicado en términos de las condiciones ambientales (Esau, 1975; Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001). Evaluamos la relación entre el ambiente y los caracteres anatómicos a través de regresiones múltiples. Este análisis requirió considerar la filogenia del grupo, para lo cual utilizamos el método de mínimos cuadrados generalizados (GLS) mediante los paquetes “ape” y “nlme” implementados en R (Revell, 2012; R Development Core Team, 2015). Como mencionamos en el apartado anterior, también realizamos las regresiones múltiples sin considerar la filogenia y comparamos los resultados.

### ***Asignación de los tejidos de sostén, almacenamiento y conducción.***

Dado que los tres principales tipos de tejidos del xilema secundario comparten el espacio en el tallo y que llevan a cabo tres funciones distintas, consideramos que la asignación diferencial de los mismos podría variar en función de las condiciones ambientales y la forma de vida de las especies. Las relaciones entre los tres tipos de tejidos pueden sufrir ajustes, ya que las plantas están expuestas a condiciones ambientales que pueden favorecer una u otra función en el tallo (Sperry *et al.*, 2008; Rosell *et al.*, 2010; Poorter *et al.*, 2010). Las variables anatómicas incluyeron el porcentaje de tejido asignado a vasos, fibras y radios observados en los cortes transversales. Analizamos la asignación diferencial de cada uno de los tres tejidos principales, porcentaje de vasos, fibras y radios, con análisis de varianzas de una vía y Tukey para detectar diferencias entre las especies cuando los análisis de varianza fueron significativos (Sokal y Rolph, 2012).

## **Resultados**

### ***Material vegetal y variables anatómicas.***

Obtuvimos 34,125 datos provenientes de 105 ramas de siete individuos adultos por especie/sitio. Los datos estadísticos de los caracteres anatómicos de las nueve especies que trabajamos del clado *simaruba* de *Bursera* están resumidos en la tabla 1 del capítulo III.

### ***Variables climáticas.***

Las variables climáticas de los sitios en los que se colectaron las ramas muestran las condiciones de precipitación y temperatura a las que están expuestos los individuos de los que se obtuvieron las muestras. Observamos una variedad de condiciones tanto de temperatura como de precipitación. Por ejemplo, los intervalos de precipitación anual van de 193 mm en Colima, Col. a 3484 mm en Los Tuxtlas, Ver., con temperaturas promedio anuales que oscilan entre 20.6°C en Tepic, Nay. y 28.4°C en Río Papagayo, Guer. (anexo 2). La variación anual de la temperatura va de 13.8°C en Cozumel, Q. Roo a 25°C en Zacatepec, Mor. La precipitación del mes más húmedo puede variar de 2 mm

en Colima, Col. a 595 mm en Los Tuxtlas, Ver. y la precipitación del mes más seco puede variar de 1mm en lugares como Jalisco, Guerrero y Morelos a 60 mm en Los Tuxtlas, Ver., lo que hace una diferencia de 59 mm en la estación seca. Estas condiciones se reflejan en la variedad de hábitats tropicales que abarcan bosques tropicales subcaducifolios, caducifolios y lluviosos (Rzedowski *et al.*, 2004, 2005; Rosell *et al.*, 2010).

### **Señal filogenética.**

El método comparativo investiga las asociaciones entre caracteres de un grupo de especies y la relación de estos caracteres con las condiciones ambientales considerando la posible no independencia de las especies (Harvey y Pagel, 1991). Al considerar el posible efecto de la historia evolutiva de las especies sobre los caracteres, primeramente detectamos los caracteres con señal filogenética a través de los estadísticos de  $K$  y  $\lambda$ . Las variables anatómicas registraron valores altos de  $K$  en la mayoría de los casos aunque no fueron significativos. Las variables anatómicas de conducción (porcentaje, área, densidad, grosor de la pared y largo de los elementos de vasos), de sostén (porcentaje, grosor de la pared y largo de la fibra) y de almacenamiento (área de las células del radio y grosor de la pared del parénquima axial) registraron valores de  $K \geq 0.7$  y  $\lambda \approx 1$  en los casos de densidad y largo de los elementos de vasos y porcentaje de fibras (anexo 3). Las variables de almacenamiento (porcentaje de radios, área de la fibra y del parénquima axial) resultaron con valores de  $K < 0.7$  y  $\lambda \approx 0$  (anexo 3). Si bien los valores de  $K$  no fueron significativos ( $p \geq 0.05$ ), en general fueron altos. Debido a ello realizamos las regresiones múltiples con y sin considerar el efecto filogenético y comparamos los resultados.

### **Variables anatómicas.**

Los principales caracteres del xilema secundario son los elementos de los vasos, las fibras y las células del parénquima, de los cuales hacemos una breve descripción. La descripción estadística por especie está resumida en el anexo 3 y algunos aspectos de las preparaciones permanentes se muestran en las fotos 1-4.

*Vasos.* Los vasos ocupan entre el 20 y 33 por ciento del tejido en el corte transversal. El lumen de los elementos de vasos varía entre 2617 y 4453  $\mu\text{m}^2$ , los elementos de vasos tienen una longitud mediana (IAWA, 1989d) que varía de 322 a 430  $\mu\text{m}$  y el grosor de sus paredes de 1.6 a 2  $\mu\text{m}$ . Los elementos de vasos son abundantes (56-105/mm<sup>2</sup>). *Bursera arborea*, *B. attenuata*, *B. grandifolia*, *B. laurihuertae*, *B. longipes*, *B. simaruba* (Agua Caliente, Jal.; Tierra Colorada, Guer.; Los Tuxtlas, Ver.) presentan anillos de crecimiento, mientras que en *B. instabilis*, *B. krusei*, *B. ovalifolia* y *B. simaruba* (Cozumel, Q. Roo.) los elementos de los vasos tienen un patrón de distribución regular. Observamos que *B. longipes* tiene una marcada disminución del área del vaso hacia el centro.

*Fibras.* Las fibras son el tejido más abundante (53-69%) en los cortes transversales. El lumen de las fibras es menor al de los vasos (285 a 506  $\mu\text{m}^2$ ), las fibras son más largas que los elementos de vasos (486 y 657  $\mu\text{m}$ ) pero se consideran cortas (menores a 900  $\mu\text{m}$ ; IAWA, 1989c) y los grosores de las paredes están entre 1.5 y 1.8

µm. Las fibras, cuya principal función es el sostén, también presentan grandes cantidades de almidón en *Bursera longipes* y *B. simaruba* y *B. ovalifolia* donde observamos fibras septadas.

**Parénquima.** Los radios representan el tejido más escaso de los tres tipos (9-14%) dispuestos en bandas de 2 a 4 células en el corte transversal. El parénquima axial es escaso y paratraqueal. El área de las células de los radios varía de 337 a 537 µm<sup>2</sup>. Tanto el área del parénquima axial (118 a 191 µm<sup>2</sup>) como los grosores de paredes de las células (0.7 a 0.9 µm) son relativamente menores a los lúmenes y grosores de paredes de los elementos de vasos y las fibras. Las paredes del parénquima axial son las más delgadas de los tres tipos de tejidos.

### **Variables climáticas y anatómicas**

Una de las aproximaciones para entender la función de las estructuras o caracteres anatómicos es interpretarlos en términos de las condiciones ambientales en que se desarrollan las especies. La relación entre la morfología explicada por la función y mediada por el ambiente sería un indicio de la condición adaptativa del carácter. Por ejemplo, la disponibilidad de agua está asociada a la modificación de los caracteres de conducción para maximizar el uso del agua y reducir los riesgos de embolismo (Mauseth, 1988; Carlquist, 1975; 2001). Sin embargo, contrario a lo esperado sólo el área de los vasos se incrementa y el porcentaje de radios disminuye en relación a la precipitación anual y la estacionalidad de la precipitación al tomar en cuenta la señal filogenética en el análisis de regresión múltiple (tabla 1 y 2). El resto de los caracteres estudiados parece no responder al gradiente ambiental explorado, tanto si consideramos la señal filogenética como si no lo hacemos durante los análisis de regresión múltiples. Los caracteres anatómicos presentan una gran variación de tamaños y formas (anexo 3), aunque sólo dos caracteres anatómicos se modifican ante las condiciones de precipitación, lo que sugeriría que la variación de estos dos caracteres es adaptativa.

Tabla 1. Análisis de regresión múltiple del área de los elementos de vasos (AV) con señal filogenética en función de la precipitación anual (PA) y estacionalidad de la precipitación (EP).

Variable	Coficiente	Error estándar	t	p
Intercepto	-27720.472	7739.561	-3.581660	0.0116
PA	1.336	0.346	3.864758	0.0083
logEP	14593.992	3647.147	4.001481	0.0071

Modelo de mínimos cuadrados ajustado con máxima verosimilitud utilizando la filogenia propuesta por Rosell *et al.*, 2010. n=9.

Tabla 2. Análisis de regresión múltiple del porcentaje de radios (R) con señal filogenética en función de la precipitación anual (PA) y estacionalidad de la precipitación (PE).

Variable	Coficiente	Error estándar	t	p
Intercepto	84.77092	23.216377	3.651341	0.0107
PA	-0.00339	0.001037	-3.265609	0.0171
logEP	-34.38727	10.940356	-3.143158	0.0200

Modelo de mínimos cuadrados ajustado con máxima verosimilitud utilizando la filogenia propuesta por Rosell *et al.*, 2010. n=9.

### ***Asignación de los tejidos de sostén, almacenamiento y conducción.***

Un acercamiento al xilema secundario nos permite observar que los tejidos de sostén, almacenamiento y conducción tienen una proporción distinta entre las especies (Figs. 1 y 2; tablas 3-5). La especie que asigna mayor porcentaje de tejido al almacenamiento a través de los radios es *Bursera instabilis*, con ramas lianescentes, y es también la que menor cantidad de tejido asigna a las fibras (sostén; Fig. 1), difiriendo significativamente de *B. attenuata*, *B. grandifolia*, *B. krusei* y *B. ovalifolia* en el porcentaje de radios (Fig. 2a, anexo 4) y de *B. arborea*, *B. attenuata*, *B. grandifolia* (Chamela, Jal., anexo 4b), *B. krusei*, *B. laurihuertae*, *B. ovalifolia* y *B. simaruba* (Cozumel, Q. Roo. y Tierra Colorada, Guer.) en el porcentaje de fibras (Fig. 2c, anexo 4b). Probablemente el soporte mecánico está relajado y por lo tanto, puede asignar una mayor cantidad de tejido al almacenamiento. *Bursera simaruba*, que crece en Los Tuxtlas, Ver., y *B. instabilis* son las especies que destinan una mayor cantidad de tejido a la conducción (Fig. 1), lo que es congruente con las condiciones de alta humedad en las que se desarrolla *B. simaruba* (Los Tuxtlas, Ver.), las cuales le permiten incrementar el área de los vasos (tabla 1). *B. instabilis* podría asignar una mayor proporción de tejido a la conducción al no tener que asignarlo al soporte mecánico. *B. instabilis* sólo difirió significativamente de *B. arborea*, *B. simaruba* (Cozumel, Q. Roo. y Tierra Colorada, Guer., Fig. 2b, anexo 4c), mientras que *B. simaruba* (Los Tuxtlas, Ver.) sólo difirió significativamente de *B. laurihuerte* y *B. simaruba* (Cozumel, Q. Roo. y Tierra Colorada, Guer., Fig. 2b, anexo 4c) en la proporción de vasos. *B. simaruba* (Tierra Colorada, Guer.) y *B. arborea* son los individuos que más tejido asignan a las fibras (Fig. 1). Aunque la asignación al tejido de sostén sólo difirió significativamente de *B. instabilis* y *B. simaruba* (Los Tuxtlas, Ver., Fig. 2c, anexo 4b). *B. arborea* es la que menos invierte en proporción de tejido de conducción aunque sólo difirió significativamente de *B. instabilis* (Fig. 2b, anexo 4c). Estos resultados indican que las especies hacen asignaciones diferentes en términos de sostén, almacén y conducción que pueden estar relacionadas con el ambiente al mostrar variación entre los sitios y con la forma de crecimiento de la especie.

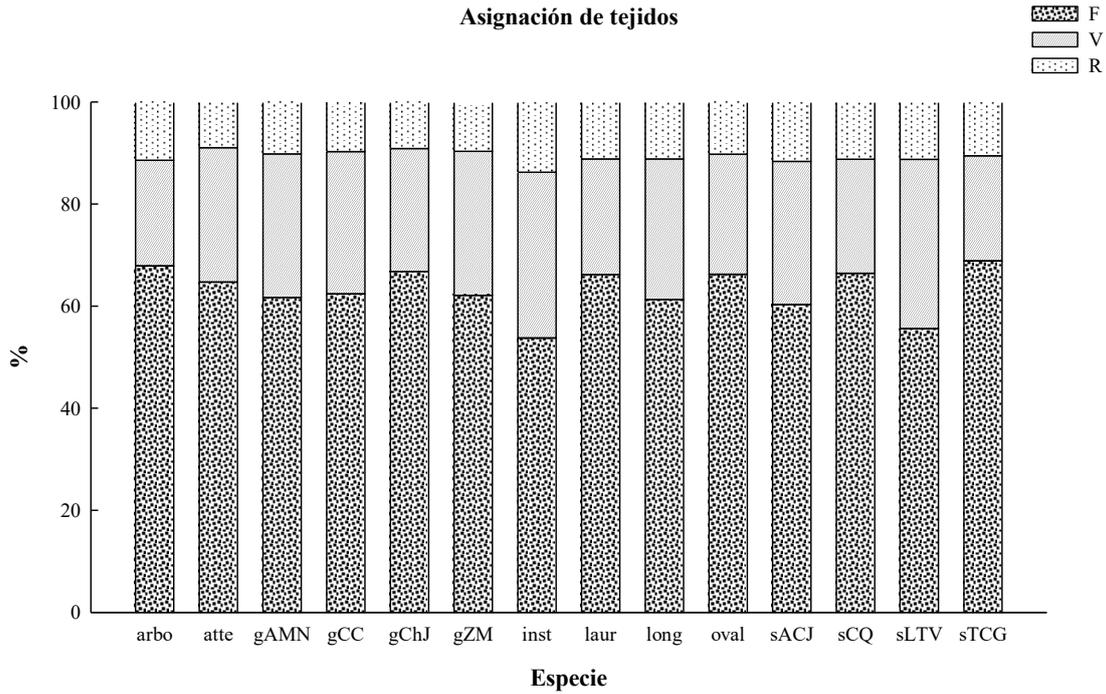


Fig. 1. Asignación del porcentaje de fibras, vasos y radios en las nueve especies de *Bursera*. Abreviaciones: F, fibras; V, elementos de vasos; R, radios; arbo, *B. arborea*; atte, *B. attenuata*; gAMN, *B. grandifolia* Agua Milpa, Nay.; gCC, *B. grandifolia* Colima, Col.; gChJ, *B. grandifolia* Chamela, Jal.; gZM, *B. grandifolia* Zacatepec, Mor.; inst, *B. instabilis*; krus, *B. krusei*; laur, *B. laurihuertae*; long, *B. longipes*; oval, *B. ovalifolia*; sACJ, *B. simaruba* Agua Caliente, Jal.; sCQ, *B. simaruba* Cozumel, Q. Roo.; sLTV, *B. simaruba* Los Tuxtlas, Ver.; sTCG, *B. simaruba* Tierra Colorada, Guerrero.

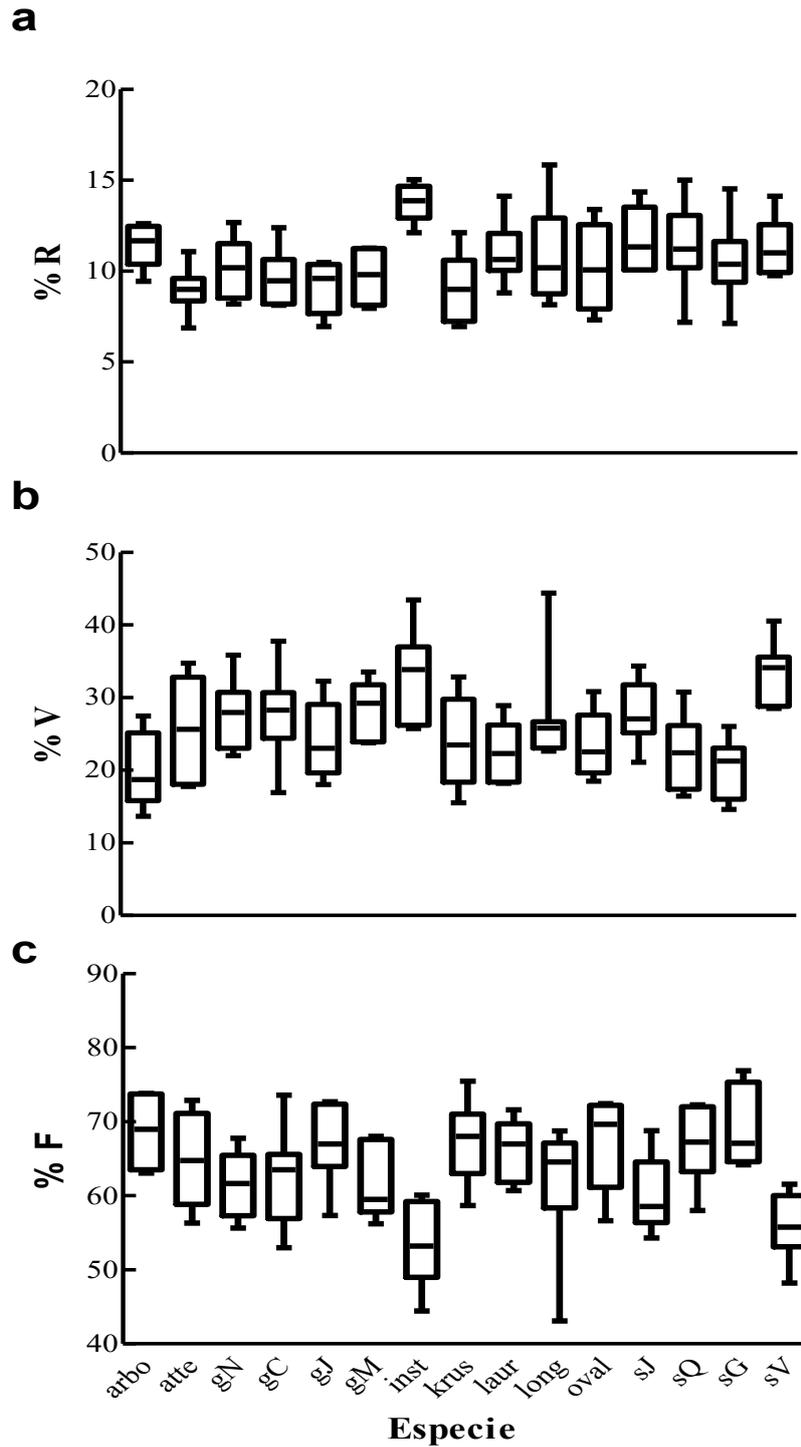


Fig. 2. Asignación de los tejidos de a) almacenamiento, b) conducción y c) sostén en el tallo. Abreviaciones: arbo, *Bursera arbórea*; atte, *B. attenuata*; gN, *B. grandifolia*, Agua Milpa, Nayarit; gC, *B. grandifolia*, Colima, Colima; gJ, *B. grandifolia*, Chamela, Jalisco; gM, *B. grandifolia*, Zacatépec, Morelos; inst, *B. instabilis*; krus, *B. krusei*; long, *B. longipes*; oval, *B. ovalifolia*; sJ, *B. simaruba*, Agua Caliente, Jal.; sQ, *B. simaruba*, Cozumel, Q. Roo; sG, *B. simaruba*, Tierra Colorada, Guerrero; sV, *B. simaruba*, Los Tuxtlas, Ver. ; R, % de radios; V, % de vasos; F, % de fibras.

Tabla 3. Análisis de varianza del porcentaje de radios en relación a las especies.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Especie	155.5	14	11.11	3.477	0.0001
Residuales	287.6	90	3.196		

Tabla 4. Análisis de varianza del porcentaje de fibras en relación a las especies.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Especie	1972	14	140.89	4.392	0.000006
Residuales	2887	90	32.08		

Tabla 5. Análisis de varianza del porcentaje de vasos en relación a las especies.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Especie	1522	14	108.72	3.699	0.00007
Residuales	2645	90	29.39		

## Discusión

Describimos las características anatómicas de los tres principales tejidos del xilema secundario en las ramas terminales de un grupo de especies del clado *simaruba* de *Bursera* con diferentes formas de vida creciendo en un gradiente ambiental tropical, que abarca distintos tipos de bosques tropicales subcaducifolios, caducifolios y lluviosos con diferencias de temperatura promedio anual de 7.8°C y 3291 mm de precipitación anual entre los sitios. El grupo de especies que trabajamos descienden de un ancestro común por lo que las diferencias que observamos entre las especies corresponderían a modificaciones posteriores, probablemente relacionadas con el ambiente. La relación de los caracteres anatómicos con las condiciones ambientales serían un indicio de adaptación, donde la selección natural habría moldeado las variaciones optimizando la relación carácter-función en términos del ambiente (Lewontin, 1978). Los caracteres anatómicos mostraron variación entre las especies y tienen señal filogenética por sus valores altos de  $K$  y  $\lambda$  (anexo 2). De los caracteres anatómicos medidos sólo dos caracteres mostraron relación con variables ambientales (tabla 1). Estos caracteres fueron el área de los elementos de vasos, a nivel celular, y el porcentaje de los radios, a nivel de tejido, que se relacionaron con la estacionalidad de la precipitación y la precipitación anual. Las especies tuvieron proporciones de tejidos distintas que podrían estar relacionadas con su forma de vida que tenderían a maximizar su desempeño. La relación del área de los elementos de vasos y el porcentaje de radios con la precipitación y los ajustes en la proporción de tejidos son indicios del posible efecto de la selección natural sobre estos caracteres. Los caracteres que no estuvieron relacionados con el ambiente, como se esperaba, abren la posibilidad de explorar dichos caracteres considerando las restricciones en el desarrollo y la integración de estos caracteres con variables funcionales y mecánicas para explicar su variación. A continuación desarrollamos dichos aspectos.

### ***Señal filogenética.***

La señal filogenética evalúa la influencia de la historia evolutiva del grupo sobre los caracteres. La mayoría de los caracteres anatómicos tienen señal filogenética, como lo indican los valores altos de  $K$  y  $\lambda$ . La presencia de la señal filogenética lleva a pensar que la historia del grupo juega un papel importante en la morfología de los caracteres anatómicos (Jacobsen *et al.*, 2007a, Cervantes, 2017) y que se debe considerar la filogenia del grupo al realizar los análisis sobre estos caracteres anatómicos.

### ***Variables anatómicas.***

#### ***Vasos.***

Los elementos de vasos mostraron una disposición y agrupación similar en especies como *Bursera instabilis*, *B. krusei*, *B. ovalifolia* y *B. simaruba* (Cozumel, Q. Roo.). El patrón de distribución regular en los elementos de vasos es común en muchas especies (León, 2006) expuestas a un abasto regular de agua durante el crecimiento y puede contribuir a regular el impacto de la cavitación (Durán-Guerra *et al.*, 2014). La cavitación es el inicio o núcleo de la fase de vapor cuyo resultado sería que los

conductos de los elementos de los vasos se llenaran de vapor (embolismo) (Zimmermann, 1983). Esto resultaría en una reducción de la conducción hidráulica (Sperry *et al.*, 1988).

### ***Fibras.***

Las diversas modificaciones anatómicas en las fibras se han relacionado con las condiciones ambientales en las que crecen las plantas. Al igual que los elementos de vasos, presentan grandes variaciones en sus paredes, lumen y proporción que modifican la densidad de la madera, las condiciones mecánicas de los tallos y contribuyen a mejorar el transporte de agua en la planta (Jacobsen *et al.*, 2007a; Ziemińska *et al.*, 2013, 2015, Rosell, 2010; Gotsch *et al.*, 2010; Lens *et al.*, 2011). Cuando el área de las paredes de las fibras aumenta, la densidad de la madera se incrementa y se refuerza el sistema hidráulico (Jacobsen *et al.*, 2005; Gotsch *et al.*, 2010; Lens *et al.*, 2011), mientras que con el lumen la relación es inversa (Jacobsen *et al.*, 2007a; Ziemińska *et al.*, 2013, 2015). Además de reforzar el sostén, también contribuyen al almacenamiento como lo observamos en nuestras muestras y se ha reportado en otras especies de *Bursera* (Rosell, 2010; Durán-Guerra *et al.*, 2014).

### ***Parénquima.***

La presencia de las células radiales organizadas en series favorecen el abasto rápido horizontal para el transporte de agua, la traslocación y conducción de metabolitos del floema (Durán-Guerra *et al.*, 2014). Además, la presencia de parénquima paratraqueal en estas especies, al igual que en el caso de los radios seriales, contribuye a una rápida traslocación de los vasos a las células del parénquima axial de agua y almidón (Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001). Ambos tipos celulares, las células radiales y las del parénquima axial tienen una posición que favorece la traslocación de fotosintatos y agua de otros tipos celulares y el almacenamiento de productos. Las modificaciones que observamos tanto en los elementos de vasos, como las fibras y el parénquima reflejan una gran variación morfológica (anexo 2) que contribuye a la diversidad morfológica del xilema secundario.

### ***Anillos de crecimiento.***

Otra característica que observamos en el xilema secundario fue la formación de los anillos de crecimiento en *Bursera arborea*, *B. attenuata*, *B. grandifolia*, *B. laurihuertae*, *B. longipes* y *B. simaruba* (Agua Caliente, Jal., Tierra Colorada, Guer. y Los Tuxtlas, Ver.). Los anillos de crecimiento están relacionados con la disponibilidad de agua (Carlquist, 1975; Mauseth, 1988; Durán-Guerra *et al.*, 2014). En ambientes con baja disponibilidad de agua y desecantes se presentan cambios en la actividad del cambium vascular reflejados en la modificación del diámetro de los vasos y las fibras (Durán-Guerra *et al.*, 2014). En las especies del clado *simaruba* de *Bursera* estos anillos se presentan formando bandas de vasos. Los anillos de crecimiento pueden ser el resultado del engrosamiento y/o reducción del diámetro radial de las paredes de las fibras (Carlquist, 1975, 2001; León, 2006; López-Ayala *et al.*, 2006; Durán-Guerra *et al.*, 2014) y de la diferencia entre la densidad y diámetro de los vasos en la madera temprana y tardía (López-Ayala *et al.*, 2006) formados por la alternancia de las

temporadas de secas y lluvias (Husch *et al.*, 1972; Jacoby 1989; Worbes, 1999) en las zonas tropicales.

Además de los anillos de crecimiento, observamos la modificación en el área de los elementos de los vasos que está relacionada con la disponibilidad de agua. La disminución en el área de los elementos de los vasos hacia el margen de la madera tardía observado cualitativamente en *Bursera longipes* se ha asociado a una respuesta tardía a la pérdida de hojas en especies caducifolias como *B. lancifolia* (Durán-Guerra *et al.*, 2014). Sin embargo, en *B. longipes* esta disminución en el área de los elementos de vaso podría estar relacionada con una reducción en la conductividad hídrica en ciertos periodos del año.

Las especies que no mostraron anillos de crecimiento, aunado a un patrón de distribución regular en los elementos de los vasos, al parecer han contado con un aporte relativamente continuo de agua durante su crecimiento. *Bursera krusei*, *B. ovalifolia* y *B. simaruba* (Cozumel) reciben precipitaciones anuales por arriba de los 1300 mm, excepto *B. instabilis* (790 mm). La falta de anillos de crecimiento en *B. instabilis*, a pesar de crecer en una zona con baja precipitación, no es del todo clara.

### ***Variables climáticas y anatómicas.***

Considerando la relación estructura-función-ambiente exploramos las características del xilema secundario en relación a las condiciones ambientales en las que se desarrollan los individuos tratando de entender su desempeño (Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001; Martínez-Cabrera *et al.*, 2009). La asociación entre los caracteres morfológicos y las variables ambientales podría ser indicio de adaptaciones que involucrarían un desempeño más eficiente. Considerando esto, exploramos la relación entre las variables anatómicas y las ambientales a través de regresiones múltiples. Al comparar los resultados de los análisis de regresión múltiple con y sin filogenia observamos que los resultados fueron similares. Los caracteres anatómicos no están relacionados con las variables climáticas, excepto en el caso del área de los elementos de vasos y el porcentaje de los radios al incorporar el efecto de la filogenia.

El área de los elementos de vasos está relacionada con la disponibilidad de agua (PA y EP). Si la planta tiene una mayor disponibilidad de agua que puede aprovechar, puede incrementar el área de los vasos, maximizando la conducción (Esau, 1977; Mauseth, 1988; Carlquist, 2001). Este carácter está generalmente asociado a otro que es la densidad de los elementos de vasos (Carlquist, 2001; capítulo II). A pesar de ello, no obtuvimos una relación entre la densidad de vasos y las condiciones de precipitación. La densidad de vasos parece permanecer sin cambios ante la variación de la precipitación, además que sus valores de  $K$  y  $\lambda$  fueron de los más altos, junto con el largo de los elementos de los vasos. Las relaciones entre el área de los elementos de vasos y la densidad de los mismos es evidente en los tallos principales de las plantas (Mauseth, 1988; Carlquist, 2001), mientras que en las ramas terminales estas relaciones no son tan claras (Ziemińska *et al.*, 2015).

Generalmente los estudios anatómicos del xilema secundario describen las características del tallo principal de la planta y es ahí donde se presentan las relaciones entre los caracteres anatómicos y ambientales. Cada vez son más los estudios que utilizan las ramas terminales para evaluar las estructuras del xilema secundario

(Jacobsen *et al.*, 2007a; Rosell, 2010; Ziemińska *et al.*, 2013, 2015; Cervantes, 2017 Cosme *et al.*, 2017). Las ramas terminales se han utilizado para realizar estudios anatómicos por estar en contacto directo con las hojas tanto espacial como funcionalmente (Ziemińska *et al.*, 2013, 2015) y por estar más expuestas que el eje principal o tronco. Algunas características son similares en ramas y troncos como es el caso de la densidad de la madera y su relación con las paredes de las fibras (Jacobsen *et al.*, 2007a; Fujiwara *et al.*, 1991; Martínez-Cabrera, 2004; Ziemińska *et al.*, 2013, 2015). Sin embargo, otros caracteres parecen comportarse de manera distinta. Ejemplo de ello son la correlación negativa entre el parénquima y la densidad del xilema en las ramas (Jacobsen *et al.*, 2007a) que no se presenta en el tronco principal (Martínez-Cabrera, 2004; Poorter *et al.*, 2010; Fichtler y Worbes, 2012). Algo similar podría ocurrir con la relación entre las variables anatómicas que medimos y las ambientales. Comportamientos que se observan en el tronco podrían no presentarse en las ramas sin que se haya detectado a qué se deben estas diferencias (Ziemińska *et al.*, 2015). Además de un comportamiento diferente entre los troncos y las ramas podría explorarse la integración de distintos tipos de caracteres anatómicos y funcionales que de manera conjunta respondan a las variables ambientales.

La integración de diversos caracteres podría mostrar un panorama más amplio de cómo responden éstos ante las variaciones ambientales. Estudios previos han mostrado la relación entre caracteres funcionales y mecánicos con las variables ambientales en las mismas ramas de las cuales obtuvimos los datos anatómicos (Rosell, 2010). La incorporación de las variables anatómicas en coordinación con variables funcionales contribuiría a explicar de manera más completa la relación estructura-función-ambiente en el xilema secundario de las ramas terminales.

### ***Asignación de tejidos.***

El xilema secundario está compuesto por tres tejidos principales que tradicionalmente corresponden al sostén, la conducción y el almacenamiento integrados en el tallo de la planta. Diversos estudios han reportado ajustes entre estos tejidos dependiendo de las condiciones ambientales. Tan sólo por el hecho de compartir un espacio delimitado, cualquier modificación en alguno de ellos repercute en los otros dos tipos de tejidos. De los tres tipos de tejido, las plantas asignan mayor proporción de tejido al sostén, lo cual está reflejado en la gran proporción de fibras observadas en los cortes transversales. Una gran proporción de fibras, además de contribuir al sostén de las estructuras, incrementa la densidad de la madera, lo que se ha asociado con diferentes estrategias hidráulicas y de resistencia a la cavitación (Ziemińska *et al.*, 2013, 2015; Gotsch *et al.*, 2010; Lens *et al.*, 2011) como mencionamos anteriormente. La mayor parte de las especies que trabajamos provienen de individuos con forma de vida arbórea y arbustiva lo cual concuerda con la mayor asignación al tejido de sostén (%F). Esta idea es reforzada si consideramos que *Bursera instabilis*, con ramas lianescentes, mostró una reducción en el tejido de sostén y registra una de las mayores proporciones de tejido de almacenamiento y conducción comparado con el resto de las especies (Fig. 1). Al parecer la forma lianescente de las ramas le permite a la planta asignar una mayor proporción de tejido al almacenamiento y conducción al estar relajada la función de soporte. Este caso parece tratarse de un ajuste entre el almacenamiento y el sostén (Meinzer *et al.*, 2003; Bucci *et al.*, 2004; Pratt *et al.*, 2007; Scholz *et al.*, 2007; Sperry *et al.*, 2008; Poorter *et al.*, 2010), aunque también observamos modificaciones en el tejido

de conducción (Meinzer *et al.*, 2003; Preston *et al.*, 2006; Sperry *et al.*, 2008). Es decir, los recursos se canalizan o mueven a almacenamiento y conducción a costa del sostén (Chave *et al.*, 2009; Rosell, 2010). El siguiente tejido con mayor proporción observado en el xilema secundario corresponde a la conducción.

El tejido de conducción está conformado por los elementos de vasos cuyas características están relacionadas principalmente con la disponibilidad de agua (Mauseth, 1988; Carlquist, 1975, 2001). Una alta proporción de tejido de conducción lo podemos observar en *Bursera simaruba*, que se desarrolla en Los Tuxtlas, Ver. y *B. instabilis*. En el caso de *B. instabilis*, como mencionamos en el párrafo anterior, sus ramas lianescentes influyen en la disminución en el porcentaje de fibras, lo que le permite a la planta realizar un ajuste, reasignando mayor proporción de recursos al almacenamiento y la conducción. Aunado a la forma de las ramas, *B. instabilis* se desarrolla en Chamela, Jal. (790 mm), un ambiente relativamente seco comparado con Los Tuxtlas, Ver., donde se favorecería el almacenamiento a costa del sostén (Meinzer *et al.*, 2003; Pratt *et al.*, 2007) en lo que parecería un ajuste ante las condiciones ambientales y las presiones mecánicas a las que está expuesta. Con respecto a *B. simaruba* de Los Tuxtlas, Ver., esta especie se desarrolla en un sitio cuya precipitación anual es alta a lo largo del año (3484 mm) lo que podría explicar su alta proporción de tejido de conducción (Fig. 1). Las condiciones favorables de disponibilidad de agua le permiten un crecimiento relativamente continuo (Lopez-Ayala *et al.*, 2006) con una mayor asignación a conducción. Estos resultados resaltan la idea que la planta realiza ajustes en los tejidos del xilema secundario que al parecer involucran al ambiente, aún cuando sólo el porcentaje de radios estuvo relacionado con la precipitación. Las distintas combinaciones de tejidos o patrones favorecerían el desempeño de las funciones.

## Conclusiones

Las variables anatómicas del xilema secundario mostraron una gran variación con respecto al tamaño y a la asignación de tejidos en el tallo.

La proporción de tejidos en el xilema secundario fue diferente entre las especies y esto parece estar relacionado con la forma de vida, como se aprecia en la asignación diferencial de la proporción de tejidos en *Bursera instabilis*.

Las variables anatómicas el área de los elementos de los vasos y el porcentaje de radios estuvieron relacionadas con la precipitación anual y la estacionalidad de la precipitación. La variación de estas variables y su relación con las características ambientales, llevan a considerar la idea adaptativa en estos caracteres. Sin embargo, el resto de las variables no mostraron relación con las variables ambientales de precipitación y temperatura, contrario a lo esperado. No descartamos la idea de que los caracteres anatómicos en combinación otros caracteres en el tallo (por ejemplo funcionales) pudieran mostrar una relación con el ambiente que nos ayudaría a entender la diversidad morfológica que observamos.

## Bibliografía.

- Bailey, I. W. y W. W. Tupper, 1918. Size variation in tracheary cells: I. A comparison between the secondary xylems of vascular cryptogams, gymnosperms and angiosperms. *Proc. Am. Acad. Arts Sci* 54:149-204.
- Blomberg S. P., Garland, T. y A. R. Ives. 2003. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution* 57:717–745.
- Borchert, R. y W. T. Pockman. 2005. Water storage capacitance and xylem tension in isolated branches of temperate and tropical trees. *Tree Physiol.* 25:457-466.
- Bucci, S. J., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Scholz, F. G., Franco, A. C. y M. Bustamante. 2004. Functional convergence in hydraulic architecture and water relations of tropical savanna trees: from leaf to whole plant. *Tree Physiology* 24: 891-899.
- Carlquist, S. 1975. Ecological strategies of xylem evolution. Berkeley, California: University of California Press. 259 pp.
- Carlquist, S. 2001. Comparative wood anatomy: Systematic, ecological, and evolutionary aspects of dicotyledon wood. Berlin: Springer-Verlag. 448 pp.
- Cervantes A., M. A. 2017. Tamaño corporal, escalamiento anatómico y diversificación morfológica en las especies mexicanas de *Manihot* (Euphorbiaceae). Tesis de doctorado. Instituto de Biología, UNAM. 128 pp.
- Chave, J., Coomes, D., Jansen, S., Lewis, S. L., Swenson, N. G. y A. E. Zanne. 2009. Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* 12:351-366.
- Cosme, L. H. M., J. Schiatti, F. R., Costa, C. y R. S. Oliveira. 2017. The importance of hydraulic architecture to the distribution patterns of trees in a central Amazonian forest. *New Phytologist* 215:113–125.
- Durán-Guerra, O., Quintanar, I., Villanueva-Díaz, J., Jaramillo-Pérez, A. T. y J. Cerano Paredes. 2014. Características anatómicas de la madera de *Bursera lancifolia* (Schltdl.) Engl. con potencial dendrocronológico. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 5:76–89.
- Esau, K. 1977. Anatomy of seed plants (2nd ed.). New York: J. Wiley. 550 pp.
- Ewers, F.W. 1985. Xylem structure and water conduction in conifer trees, dicot trees, and lianas. *IAWA Bulletin.* 6:309–317.
- Fahn, A. 1982. Plant Anatomy. Pergamon Press. Oxford. 544 pp.
- Felsenstein, J. 1985. Phylogenies and the comparative method. *Am. Nat.* 126:1–25.
- Fichtler E. y M. Worbes. 2012. Wood anatomical variables in tropical trees and their relation to site conditions and individual tree morphology. *IAWA Journal* 33:119–140.

- Fujiwara S, Sameshima K, Kuroda K y N. Takamura. 1991. Anatomy and properties of Japanese hardwoods. I. Variation of fibre dimensions and tissue proportions and their relation to basic density. *IAWA Bulletin NS* 12:419–424.
- Futuyma, D. 2013. *Evolution*. Sunderland, Massachusetts. Sinauer Associates Inc. 656 pp.
- Gaston, K. J. y J. I. Spicer. 2004. *Biodiversity: an introduction*. Blackwell Publishing Company. United Kingdom.
- Garland, T.J., Harvey, P. H. y A. R. Ives. 1992. Procedures for the analysis of comparative data using phylogenetically independent contrasts. *Syst. Biol.* 41: 18–32.
- Gotsch, S., Geiger, E., Franco, A., Goldstein, G., Meinzer, F. y W. Hoffmann. 2010. Allocation to leaf area and sapwood area affects water relations of co-occurring savanna and forest trees. *Oecologia* 163:291–301.
- Hacke, U. G., y J. S. Sperry. 2001. Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology. Evolution and Systematics* 4:97–115.
- Harvey, P. H. y M. D. Pagel. 1991. *The Comparative Method in Evolutionary Biology*. Oxford University Press. Nueva York, Estados Unidos. 239 Pág.
- Husch, B., Miller, C. I. y T. W. Brees. 1972. *Forest Mensuration*. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA. 410 p.
- Hijmans, R. J, Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G. y A. Jarvis. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25:1965–1978.
- IAWA, Editor. 1989a. Axial parenchyma and rays. *IAWA Bulletin* 10:270-281.
- IAWA, Editor. 1989b. Rays. *IAWA Bulletin* 10:282-297.
- IAWA, Editor. 1989c. Tracheids and Fibres. *IAWA Bulletin* 10:262-269.
- IAWA, Editor. 1989d. Vessels. *IAWA Bulletin* 10:236-262.
- Jacobsen, A. L., Ewers, F. W., Brandon-Pratt, R.W., Paddock III, A. y S. D. Davis. 2005. Do Xylem Fibers Affect Vessel Cavitation Resistance? *Plant Physiology*. 139:546–556.
- Jacobsen, A. L., Agenbag, L., Esler, K. J., Brandon-Pratt, R., Ewers, F. W. y S. D. Davis. 2007a. Xylem density, biomechanics and anatomical traits correlate with water stress in 17 evergreen shrub species of the Mediterranean-type climate region of South Africa. *Journal of Ecology*. 95:171–183.
- Jacobsen, A. L., Brandon-Pratt, R., Ewers, F. W. y S. D. Davis. 2007b. Cavitation resistance among 26 chaparral species of southern California. *Ecological Monographs*. 77:99–115.
- Jacoby, G. C. 1989. Overview of tree-ring analysis in tropical regions. *IAWA Bull.* 10: 99-108.

- Lens, F., Sperry, J. S., Christman, M. A., Choat, B., Rabaey, D. y S. Jansen. 2011. Testing hypotheses that link wood anatomy to cavitation resistance and hydraulic conductivity in the genus *Acer*. *New Phytologist* 190:709–723.
- León H., W. J. 2006. Anatomía de la madera de 13 especies del orden Sapindales que crecen en el Estado de Mérida, Venezuela. *Acta Bot. Venez.* 29:269-296.
- Lewontin, R. C. 1978. Adaptation. *Scientific American*. 239:156-169.
- López-Ayala, J.L.; Valdez-Hernández, J.I., Terrazas, y R. Valdez-Lazalde. 2006. Anillos de crecimiento y su periodicidad en tres especies tropicales del estado de Colima, México. *Agrociencia* 40:533-54.
- Mauseth, J. D. 1988. *Plant Anatomy*. Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 560 pp.
- Martínez-Cabrera, H. I., Jones, C. S., Espino, S. y H. Mochen-Schenk. 2009. Wood anatomy and density in shrubs: Responses to varying aridity along transcontinental transects. *American Journal of Botany* 96: 1388–1398.
- Martins, E. P., y T. F. Hansen. 1997. Phylogenies and the comparative method: a general approach to incorporating phylogenetic information into the analysis of interspecific data. *Am. Nat.* 149:646-667.
- Meinzer, F. C., James, S. A., Goldstein, G. y D. Woodruff. 2003. Whole-tree water transport scales with sapwood capacitance in tropical forest canopy trees. *Plant, Cell and Environment* 26:1147- 1155.
- Moles, A. T., Warton, D. I., Warman, L., Swenson, N. G., Laffan, S. W., Zanne, A. E., Pitman, A., Hemmings, F. A. y M. R. Leishman. 2009, Global patterns in plant height. *J. Ecol.* 97:923-932.
- Muller, G. B. y S. A. Newman. 2003. *Origination of organismal form: beyond the gene in developmental and evolutionary biology*. Cambridge, MIT Press. 332 pp.
- Niklas, K. J. 1993. Influence of tissue density-specific mechanical properties on the scaling of plant height. *Ann. Bot.* 72:173-179.
- Olson, M. E. y S. Carlquist. 2001. Stem and root anatomical correlations with life form diversity, ecology, and systematics in *Moringa* (Moringaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 135:315-348.
- Paradis E., Claude, J. y K. Strimmer. 2004. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics (Oxford, England)* 20:289–290.
- Pagel, M. 1999. Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature* 401: 877–884.
- Pratt, R. B., Jacobsen, A. L., Ewers, F. W. y S. D. Davis. 2007. Relationships among xylem transport, biomechanics and storage in stems and roots of nine Rhamnaceae species of the California chaparral. *New Phytologist* 174:787-798.

- Preston, K. A., Cornwell, W. K. y J. L. Denoyer. 2006. Wood density and vessel traits as distinct correlates of ecological strategy in 51 California coast range angiosperms. *New Phytologist* 170:807-818.
- Poorter, L., McDonald, I., Alarcón, A., Fichtler, E., Licona, J., Peña-Calors, M, Sterck, F., Villegas, Z. y U. Sass-Klaassen. 2010. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist* 185:481- 492.
- R Development Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing; R Foundation for Statistical Computing:Vienna, Austria, v. 3.2.1.
- Revell, L. J. 2012. phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution* 3:217–223.
- Rogers, R. A. y J. M. Cheverud. 2004. Morphological integration in primate evolution. En: M. Pigliucci y K. Preston. *Phenotypic Integration*. Oxford University Press. N. Y. U. S. A.
- Rosell, J. 2010. Diversificación adaptativa en las plantas leñosas: Sostén, almacenamiento y conducción en tallos del clado *Simaruba* (*Bursera*, Burseraceae). Tesis de doctorado. Instituto de Biología, UNAM. México, D. F. 175 pp.
- Rosell, J., Olson, M. E., Weeks, A., Arturo De-Nova, J., Medina Lemos, R., Pérez-Camacho, J., Ferial, T. P., Gómez-Bermejo, R., Montero, Juan C. y Luis E. Eguiarte. 2010. Diversification in species complexes: Tests of species origin and delimitation in the *Bursera simaruba* clade of tropical trees (Burseraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57:798–811.
- Rzedowski, J., Medina, R. y G. Calderón, G. 2004. Las especies de *Bursera* (Burseraceae) en la cuenca superior del Río Papaloapan (México). *Acta Botanica Mexicana* 66:23-151.
- Rzedowski, J., Medina, R. y G. Calderón, G. 2005. Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). *Acta Botanica Mexicana* 70:85–111.
- Ruzin, S. E. 1999. *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press, Oxford, UK. 307 pp.
- Sanatamarina, M. del P. y J. Roselló Caselles. 2012. *Anatomía y morfología de las plantas superiores*. Valencia, Univ. Politécnica. 139 pp.
- Sandoval-Zapotitla, Rojas, E, A., Guzmán, C., Carmona, L., Ponce, R. M., León, C., Loyola, C., Vallejo, M. A. y A. Medina. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la Anatomía Vegetal. Cuadernos del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México 38:278 pág.
- Schlichting, C. D. 1989. Phenotypic integration and environmental change. *BioScience* 39:460-464.

- Scholz, F. G., Bucci S. J., Goldstein, G, Meinzer, F. C., Franco y A. C., Miralles-Wilhelm, F. 2007. Biophysical properties and functional significance of stem water storage tissues in Neotropical savanna trees. *Plant Cell Environ* 30:236–248.
- Sperry, J. S. y U. G. Hacke. 2004. Analysis of circular bordered pit function I. Angiosperm vessels with homogenous pit membranes. *American Journal of Botany* 91:369–385.
- Sperry, J.S., Donnelly, J.R. y M.T. Tyree. 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell and Environment* 11:35-40.
- Sperry, J. S., Meinzer, F. C. y K. A. McCulloh. 2008. Safety and efficiency conflicts in hydraulic architecture: scaling from tissues to trees. *Plant, Cell and Environment* 31:632-645.
- Sober, E. 2006. *Conceptual issues in evolutionary biology*. Cambridge, Massachusetts. MIT Press. 612 pp.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 2012. *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*. New York: W. H. Freeman and Company. 937pp.
- Sterck, F. J., van Gelder, H. A. y L. Poorter. 2006. Mechanical branch constraints contribute to life-history variation across tree species in a Bolivian forest. *J. Ecol.* 94:1192-1200.
- Worbes, M. 1999. Annual growth rings, rainfall-dependent growth and long-term growth patterns of tropical trees from the Caparo Forest Reserve in Venezuela. *J. Ecol.* 87:391-403.
- Zanne, A.E. y D.S. Falster, 2010. Plant functional traits – linkages among stem anatomy, plant performance and life history. *New Phytologist*. 185:348-351.
- Zelditch, M. L. y R. A. Moscarella. 2004. Form, function and life history: Spatial and temporal dynamics of integration. En: Piglucci, M. y K. Preston. *Phenotypic integration*. Oxford, Univ. Press. 274- 301 Pág.
- Ziemińska, K., Butler, D. W., Gleason, S.M., Wright, I.J. y M. Westoby. 2013. Fibre wall and lumen fractions drive wood density variation across 24 Australian angiosperms. *AoB PLANTS* 5: plt046; doi:10.1093/aobpla/plt046
- Ziemińska, K., Westoby, M. y I. J. Wright. 2015. Broad Anatomical Variation within a Narrow Wood Density Range—A Study of Twig Wood across 69 Australian Angiosperms. *PLoS ONE* 10:e0124892. doi:10.1371/journal.pone.0124892.
- Zimmermann, M.H. 1983. *Xylem structure and the ascent of sap*. Springer, Berlin. 146 pp.

Anexo 1. Variables climáticas de los sitios de muestreo obtenidos mediante Worldclime.

Variable climática	Cálculo
<b>Temperatura promedio anual (TPA)</b>	(Promedio de las temperaturas mensuales) 10
Temperatura promedio del trimestre más cálido (TPTMC)	(Promedio de las temperaturas mensuales) 10
Temperatura promedio del trimestre más frío (TPTMF)	(Promedio de las temperaturas mensuales) 10
Temperatura promedio del trimestre más húmedo (TPTMH)	(Promedio de las temperaturas mensuales) 10
Temperatura promedio del trimestre más seco (TPTMS)	(Promedio de las temperaturas mensuales) 10
Promedio de la variación diaria de temperatura (PVDT)	Promedio de (temperatura máxima – temperatura mínima) mensuales
Variación anual de la temperatura (VAT)	Temperatura máxima del mes más cálido – Temperatura mínima del mes más frío
Isotermalidad (I)	$\left( \frac{\text{Promedio de la variación diaria de temperatura}}{\text{Variación anual de la temperatura}} \right) 100$
<b>Temperatura máxima del mes más cálido (TMMMC)</b>	Promedio de las temperaturas máximas * 10
Temperatura mínima del mes más frío (TMMMF)	Promedio de las temperaturas mínimas * 10
Estacionalidad de la temperatura (ET)	Desviación estándar * 100
<b>Precipitación anual (PA)</b>	
Precipitación del mes más húmedo (PMMH)	
Precipitación del mes más seco (PMMS)	
<b>Estacionalidad de la precipitación (coeficiente de variación) (EP)</b>	$\left( \frac{\text{Promedio}}{\text{Desviación estándar}} \right) 100$
Precipitación del trimestre más húmedo (PTMH)	
Precipitación del trimestre más seco (PTMS)	
Precipitación del trimestre más cálido (PTMC)	
Precipitación del trimestre más frío (PTMF)	

Anexo 2. Datos de precipitación y temperatura en los 15 sitios de muestreo en los que se colectaron las nueve especies.

Especie	Localidad	Coordenadas		TPA	TPTMC	TPTMF	TPTMH
		Latitud	Longitud				
<i>B. arborea</i>	Chamela, Jalisco	19° 49' 81''	105° 04' 44''	26.2	28	23.9	18.6
<i>B. attenuata</i>	Tepic, Nayarit	21° 51' 95''	104° 97' 16''	20.6	23.1	17.6	25.1
<i>B. grandifolia</i>	Agua Milpa, Nayarit	21° 45' 28''	104° 53' 19''	25	27.4	21.7	23.9
<i>B. grandifolia</i>	Colima, Colima	19° 07' 94''	103° 77' 31''	25.1	26.7	23.1	24.1
<i>B. grandifolia</i>	Chamela, Jalisco	19° 36' 17''	104° 92' 82''	26.1	27.9	23.9	23
<i>B. grandifolia</i>	Zacatépec, Morelos	18° 71' 89''	99° 18' 60''	24.2	26.7	21.4	25.2
<i>B. instabilis</i>	Chamela, Jalisco	19°49' 81''	105° 04' 44''	26.2	28	23.9	28.5
<i>B. krusei</i>	Río Papagayo, Guerrero	17° 07' 99''	99° 55' 00''	28.4	29.5	27.4	25.8
<i>B. laurihuertae</i>	Tehuantepec, Oaxaca	16° 32' 66''	95° 30' 14''	27.3	28.7	25.4	25.4
<i>B. longipes</i>	Xalitla, Guerrero	18° 00' 33''	99° 54' 40''	26.3	28.7	24.1	28.4
<i>B. ovalifolia</i>	Río Papagayo, Guerrero	17° 13' 00''	99° 56' 00''	28.4	29.6	27.3	24.4
<i>B. simaruba</i>	Agua Caliente, Jalisco	19° 35' 12''	104° 89' 32''	26.4	28.2	24.2	25.2
<i>B. simaruba</i>	Cozumel, Quintana Roo	20° 55' 24''	86° 91' 35''	26.1	27.7	23.8	28.4
<i>B. simaruba</i>	Tierra Colorada, Guerrero	17° 05' 93''	99° 49' 94''	28.3	29.4	27.2	25.6
<i>B. simaruba</i>	Los Tuxtlas, Veracruz	18° 58' 53''	95° 07' 42''	24.7	26.7	22	26.2

Anexo 2. Continuación

Especie	Localidad	TPTMS	PVDT	VAT	I	TMMMC	TMMMF	TE	PA
<i>B. arborea</i>	Chamela, Jalisco	25.2	12.8	17.6	72	33.6	16.0	16.32	790
<i>B. attenuata</i>	Tepic, Nayarit	18.6	14.0	21.1	66	30.3	9.2	22.62	1244
<i>B. grandifolia</i>	Agua Milpa, Nayarit	25.1	14.8	22.7	65	35.8	13.1	23.15	305
<i>B. grandifolia</i>	Colima, Colima	23.9	13.5	18.9	71	33.8	14.9	14.12	193
<i>B. grandifolia</i>	Chamela, Jalisco	24.1	12.4	17.0	72	33.2	16.2	16.00	226
<i>B. grandifolia</i>	Zacatépec, Morelos	23	17.1	25.0	68	36.6	11.6	20.23	840
<i>B. instabilis</i>	Chamela, Jalisco	25.2	12.8	17.6	72	33.6	16.0	16.32	790
<i>B. krusei</i>	Río Papagayo, Guerrero	28.5	13.9	17.9	77	37.3	19.4	8.23	1354
<i>B. laurihuertae</i>	Tehuantepec, Oaxaca	25.8	11.3	16.0	70	35.1	19.1	13.61	812
<i>B. longipes</i>	Xalitla, Guerrero	25.4	15.1	22.6	66	37.6	15	17.48	816
<i>B. ovalifolia</i>	Río Papagayo, Guerrero	28.4	14.0	18.3	76	37.5	19.2	8.97	1387
<i>B. simaruba</i>	Agua Caliente, Jalisco	24.4	12.3	16.8	73	33.4	16.6	16.19	785
<i>B. simaruba</i>	Cozumel, Quintana Roo	25.2	9.2	13.8	66	32.7	18.9	15.82	1361
<i>B. simaruba</i>	Tierra Colorada, Guerrero	28.4	14.1	18.1	77	37.3	19.2	8.49	1367
<i>B. simaruba</i>	Los Tuxtlas, Veracruz	25.6	8.9	15.1	58	32.4	17.3	19.38	3484

Anexo 2. Continuación

Especie	Localidad	PMMH	PMMS	EP	PTMH	PTMS	PTMC	PTMF
<i>B. arborea</i>	Chamela, Jalisco	215	1	110	546	12	403	29
<i>B. attenuata</i>	Tepic, Nayarit	327	3	116	882	12	814	64
<i>B. grandifolia</i>	Agua Milpa, Nayarit	5	5	116	782	21	485	52
<i>B. grandifolia</i>	Colima, Colima	2	2	106	557	11	300	46
<i>B. grandifolia</i>	Chamela, Jalisco	5	1	110	569	13	420	31
<i>B. grandifolia</i>	Zacatépec, Morelos	183	2	102	509	16	255	24
<i>B. instabilis</i>	Chamela, Jalisco	215	1	110	546	12	403	29
<i>B. krusei</i>	Río Papagayo, Guerrero	340	1	111	839	6	321	52
<i>B. laurihuertae</i>	Tehuantepec, Oaxaca	208	2	115	504	6	235	7
<i>B. longipes</i>	Xalitla, Guerrero	176	1	102	489	15	230	24
<i>B. ovalifolia</i>	Río Papagayo, Guerrero	342	0	110	854	5	331	17
<i>B. simaruba</i>	Agua Caliente, Jalisco	216	1	109	536	13	396	30
<i>B. simaruba</i>	Cozumel, Quintana Roo	219	32	52	563	135	409	235
<i>B. simaruba</i>	Tierra Colorada, Guerrero	350	1	111	863	5	306	48
<i>B. simaruba</i>	Los Tuxtlas, Veracruz	595	60	64	1584	220	959	540

Las abreviaciones igual que en el anexo 1. Los valores de precipitación en mm y los de temperatura en °C.

Anexo 3. Estadística descriptiva de las 13 variables anatómicas desglosadas por especie y los valores de señal filogenética de cada carácter anatómico. Las variables sombreadas tienen señal filogenética.

		R (%)	RCA ( $\mu\text{m}^2$ )	APA ( $\mu\text{m}^2$ )	APWT ( $\mu\text{m}$ )	V (%)	VD (#v/mm <sup>2</sup> )	VA ( $\mu\text{m}^2$ )	VL ( $\mu\text{m}$ )	VWT ( $\mu\text{m}$ )	F (%)	FA ( $\mu\text{m}^2$ )	FL ( $\mu\text{m}$ )	FWT ( $\mu\text{m}$ )
	$\lambda$	6.61e <sup>-5</sup>	6.61e <sup>-5</sup>	6.61e <sup>-5</sup>	6.61e <sup>-5</sup>	0.636	0.999	6.61e <sup>-5</sup>	0.999	6.61e <sup>-5</sup>	0.746	6.61e <sup>-5</sup>	6.61e <sup>-5</sup>	6.61e <sup>-5</sup>
	K	0.492	0.826	0.578	0.763	0.898	1.1149	0.753	1.069	0.694	0.992	0.651	0.816	0.714
	p	0.865	0.339	0.75	0.381	0.178	0.05	0.393	0.072	0.458	0.16	0.562	0.305	0.475
<b>Especie</b>	n = 175													
<b>Sitio</b>														
<b>B. arborea</b> <b>Chamela, Jal.</b>	M	11.5	414.6	131.6	0.82	20	71.7	2852.5	411.7	1.7	68.5	373.6	631.7	1.7
	D. E.	3.3	174.5	68	0.45	9.6	18.5	1069	83	0.46	9.6	259	112	0.5
	Mín-Máx	3-24	80-951	19-469	0.13-2.4	0-46	40-115	855-5945	181-590	0.8-3.2	39-86	78.5-3019	355-875	0.81-3.2
<b>B. attenuata</b> <b>Tepic,</b> <b>Nayarit</b>	M	9	404.5	149.3	0.9	26.3	62.7	4275.6	369.1	1.8	64.7	377	544	1.7
	D. E.	4.4	211.5	76.4	0.4	15	14.7	1819.5	0.45	0.45	15.1	311.3	106.2	0.5
	Mín-Máx	0-40	25-1700	24.5-448	0.27-2.4	0-75	36-110	415.5-9852	0.81-3.2	0.81-3.2	18-100	113.1-4071	229-804	0.81-3.2
<b>B. grandifolia</b> <b>Agua Milpa,</b> <b>Nayarit</b>	M	10.2	445	145.6	0.83	28	80.4	3913.3	430.3	1.6	61.7	294.4	657	1.6
	D. E.	3.4	239.4	157	0.38	9.7	15.2	1339.2	87.7	0.54	9.6	235.1	123.6	0.53
	Mín-Máx	3-23	16-1160	8.8-1386	0.13-2.4	0-53	51.3-155.1	1134-9677	221-646	0.81-3.2	35-91	113.1-3019.1	165-914	0.81-4
<b>Chamela,</b> <b>Jalisco</b>	M	9.1	385.6	118.5	0.88	24.1	87.1	2948.1	381	1.8	67	505.7	590.2	1.8
	D. E.	3.3	148.8	51.4	0.44	9.2	18.6	1018.2	89.6	0.5	9.3	523.6	144.4	0.5
	Mín-Máx	2-20	30-936	26-322	0.19-2.4	3-45	10-127.2	572.6-6793	173-591	0.81-3.2	43-88	78.5-2642	268-1048	0.81-4
<b>Colima,</b> <b>Colima</b>	M	9.7	402.7	124.2	0.83	28	66.6	4453	381	1.8	62.4	304.2	587.3	1.8
	D. E.	3.9	193	53	0.4	13.8	16.8	1660	85.4	0.48	14.3	131.6	89.1	0.56
	Mín-Máx	0-25	108-1144	32-337.3	0.19-2.4	0-68	37-116.5	1075-9503	189-623	0.81-3.2	25-95	78.5-908	331-820	0.81-4
<b>Zacatépec,</b> <b>Morelos</b>	M	9.7	337	122	0.8	28.2	82.7	3775	342	1.8	62.1	284.8	563	1.6
	D. E.	3.6	158	83.6	0.4	11.5	21	1504.7	71.4	0.5	12	122	96.5	0.5
	Mín-Máx	0-20	46-784	27-926	0.27-2.4	2-67	38-126.6	1075-7854	150-528	0.8-3.2	23-91	50.3-804	268-788	1.6-2.8
<b>B. instabilis</b> <b>Chamela,</b> <b>Jalisco</b>	M	13.8	414	149	0.7	32.5	91	3010	379	1.9	53.7	399	564	1.5
	D. E.	3.5	164	74	0.4	13	19	1289	90	0.5	12.3	607	126	0.6
	Mín-Máx	6-23	99-880	25-594	0.2-2.8	0-73	42-130.4	616-7238	221-686	0.81-3.2	14-87	113-8171	79-898	1.2-2.4
<b>B. krusei</b> <b>Río</b> <b>Papagayo,</b> <b>Guerrero</b>	M	9	421	160	0.86	23.7	69.6	3568	408	1.8	67	394	602	1.7
	D. E.	3.4	200	75	0.48	10	12	1269	88	0.53	10	205.6	101	0.48
	Mín-Máx	2-26	103-1232	29-501	0.19-3.2	0-50	42-102.5	660-8494	181-623	0.8-3.2	40-90	78.5-1257	378-985	0.81-3.2
<b>B. laurihuertae</b> <b>Tehuantepec,</b> <b>Oaxaca</b>	M	11	537	191	0.83	23	87	2617	406	1.97	66	379	607.5	1.77
	D. E.	3.8	264	86	0.43	9	15	1059	84.7	0.59	10	148.6	110.6	0.59
	Mín-Máx	3-24	63-1558	2-495	0.27-2.4	0-53	52-125	707-6648	110-623	0.81-4	28-93	113-908	197-859	0.81-4.5
<b>B. longipes</b> <b>Xalitla,</b> <b>Guerrero</b>	M	11	443	139	0.79	27.5	105.4	3067	322	1.9	61.3	353.3	486.4	1.8
	D. E.	4.2	158	60.2	0.46	12.6	22.8	1120	59.6	0.6	13	131	92.2	0.67
	Mín-Máx	2-26	88-950	44-368.5	0.19-3.78	0-66	58-164	1134-6221	165-559	0.81-4	21-89	154-804	315-749	0.1-4
<b>B. ovalifolia</b> <b>Río</b>	M	10.2	427.6	156.6	0.83	23.5	56.2	4292	421.7	1.99	66.2	401.8	612.9	1.8
	D. E.	3.8	232.8	76.8	0.42	9.98	11.6	1447	75.3	0.59	10.93	207.1	99.9	0.53

<b>Papagayo, Guerrero</b>	Mín-Máx	2-22	97-1690	7.4-544.3	0.3-2.03	0-67	33.5-82.9	1075-10207	236-638	0.81-4	24-88	78.5-1134.1	331-835	0.81-3.2
<b>B. simaruba Agua Caliente, Jalisco</b>	M	11.6	384.4	145.1	0.92	28.06	81.8	3702.8	354.9	2.06	60.3	342.8	538.6	1.7
	D. E.	3.7	192.1	59.2	0.46	12.5	15.7	1589	69.6	0.6	12.9	183.3	105.5	0.54
	Mín-Máx	3-23	98-1255	41.7-322	0.3-3.24	1-78	41-127.2	491-8494.8	189-670	0.81-4.05	11-87	78.5-1661.9	229-867	0.81-3.2
<b>Cozumel, Quintana Roo</b>	M	11.22	472.5	194.4	0.89	22.3	56.6	4267.5	390.8	1.86	66.4	426.2	596.6	1.6
	D. E.	3.9	249.3	111.6	0.45	9.7	13.9	1680	76.2	0.59	9.1	159.5	101.3	0.59
	Mín-Máx	3-22	42-1400	41.7-783.8	0.3-2.4	0-47	33.5-91.1	572.6-8495	236-607	0.81-4	44-88	113.1-907.9	355-906	0.41-4
<b>Tierra Colorada, Guerrero</b>	M	10.5	378.2	155.9	0.81	20.6	62.89	3759.8	367.88	1.8	68.9	347.6	581.4	1.7
	D. E.	4.2	161.9	76.8	0.41	11.1	17.1	1383.1	77.7	0.65	12.3	183.8	128.5	0.55
	Mín-Máx	0-24	114-1342	38.6-386.3	0.27-2.4	0-55	37-129.7	1075-7389	189-567	0.81-4	29-96	50.3-1256.6	292-969	0.81-3.2
<b>Los Tuxtlas, Veracruz</b>	M	11.2	384	150	0.89	33.2	77.8	3256.8	362	2	55.6	316.7	562.6	1.7
	D. E.	3.8	14.6	66.7	0.42	11.4	45.1	1379.8	83.2	0.57	11.9	168.5	98.2	0.43
	Mín-Máx	2-23	144-936	36.7-418.5	0.19-2.8	9-67	36.1-619	660.5-7088	173-599	0.81-4	22-79	122.7-1963.5	355-922	0-3.2

Abreviaciones. n = Número de datos, M= Media, D. E. = Desviación estándar, Mín = Valor mínimo, Máx = Valor máximo. Las abreviaturas de las variables anatómicas igual que en el apéndice 1 del capítulo II.

Anexo 4a. Comparaciones múltiples de la proporción de tejido asignado a radios, fibras y vasos en el xilema secundario del clado *simaruba* de *Bursera*.

Especies	p
<i>B. instabilis</i> - <i>B. attenuata</i>	0.0002548
<i>B. instabilis</i> - <i>B. grandifolia</i> (Chamela, Jal.)	0.0004527
<i>B. instabilis</i> - <i>B. grandifolia</i> (Colima, Col.)	0.0047561
<i>B. instabilis</i> - <i>B. grandifolia</i> (Agua Milpa, Nay.)	0.0217526
<i>B. instabilis</i> - <i>B. grandifolia</i> (Zacatépec, Mor.)	0.0037765
<i>B. krusei</i> - <i>B. instabilis</i>	0.0004423
<i>B. ovalifolia</i> - <i>B. instabilis</i>	0.0271212

Sólo se muestran las comparaciones múltiples significativas.

Anexo 4b. Comparaciones múltiples de la proporción de tejido asignado a fibras en el xilema secundario del clado *simaruba* de *Bursera*.

Especies	p
<i>B. instabilis</i> - <i>B. arborea</i>	0.0004131
<i>B. simaruba</i> (Los Tuxtlas, Ver.)- <i>B. arborea</i>	0.0040215
<i>B. instabilis</i> - <i>B. attenuata</i>	0.0344301
<i>B. instabilis</i> - <i>B. grandifolia</i> (Chamela, Jal.)	0.0036151
<i>B. simaruba</i> (Los Tuxtlas, Ver.)- <i>B. grandifolia</i> (Chamela, Jal.)	0.0272941
<i>B. krusei</i> - <i>B. instabilis</i>	0.0023945
<i>B. laurihuertae</i> - <i>B. instabilis</i>	0.0071172
<i>B. ovalifolia</i> - <i>B. instabilis</i>	0.0068484
<i>B. simaruba</i> (Cozumel, Q. Roo)- <i>B. instabilis</i>	0.0054074
<i>B. simaruba</i> (Tierra Colorada, Guer.)- <i>B. instabilis</i>	0.0002749
<i>B. simaruba</i> (Los Tuxtlas, Ver.)- <i>B. krusei</i>	0.0191196
<i>B. simaruba</i> (Los Tuxtlas, Ver.)- <i>B. laurihuertae</i>	0.0485026
<i>B. simaruba</i> (Los Tuxtlas, Ver.)- <i>B. ovalifolia</i>	0.0469617
<i>B. simaruba</i> (Los Tuxtlas, Ver.)- <i>B. simaruba</i> (Cozumel, Q. Roo)	0.0384791
<i>B. simaruba</i> (Los Tuxtlas, Ver.)- <i>B. simaruba</i> (Tierra Colorada, Guer.)	0.0027810

Sólo se muestran las comparaciones múltiples significativas.

Anexo 4c. Comparaciones múltiples de la proporción de tejido asignado a los elementos de los vasos en el xilema secundario del clado *simaruba* de *Bursera*.

Especies	p
<i>B. instabilis</i> - <i>B. arborea</i>	0.0035577
<i>B. simaruba</i> (Cozumel, Q. Roo)- <i>B. instabilis</i>	0.0485166
<i>B. simaruba</i> (Tierra Colorada, Guer.)- <i>B. instabilis</i>	0.0073416
<i>B. simaruba</i> (Los Tuxtlas, Ver.)- <i>B. laurihuertae</i>	0.0334120
<i>B. simaruba</i> (Los Tuxtlas, Ver.)- <i>B. simaruba</i> (Cozumel, Q. Roo)	0.0242111
<i>B. simaruba</i> (Los Tuxtlas, Ver.)- <i>B. simaruba</i> (Tierra Colorada, Guer.)	0.0032482

Sólo se muestran las comparaciones múltiples significativas.

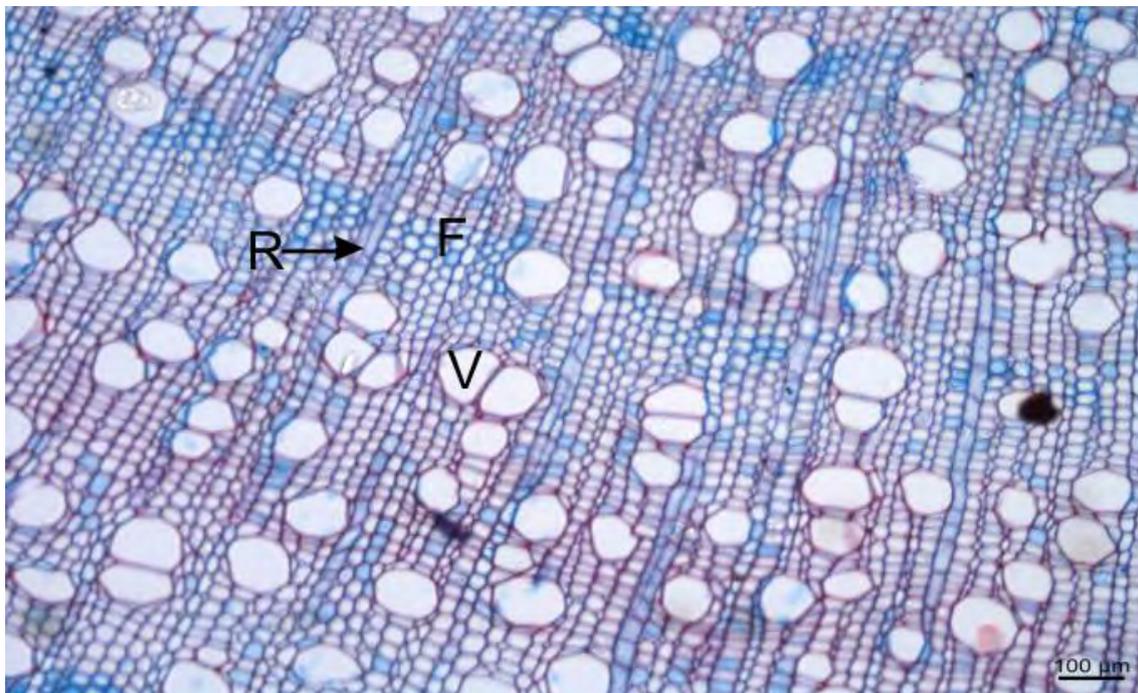


Foto 1. Corte transversal de *Bursera instabilis* donde se pueden observar los elementos de los vasos (V), las fibras (F) y los radios (R).

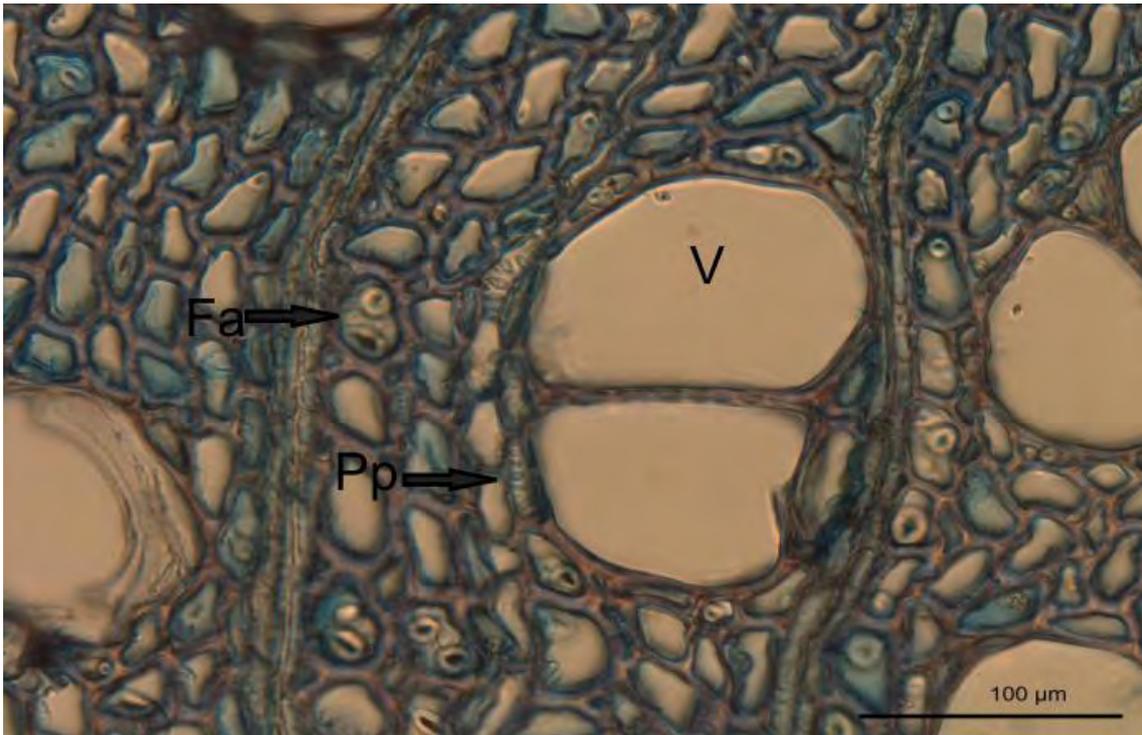


Foto 2. Corte transversal de *Bursera ovalifolia* donde se pueden observar los elementos de los vasos (V), las fibras con almidón (Fa) y el parénquima paratraqueal (Pp).

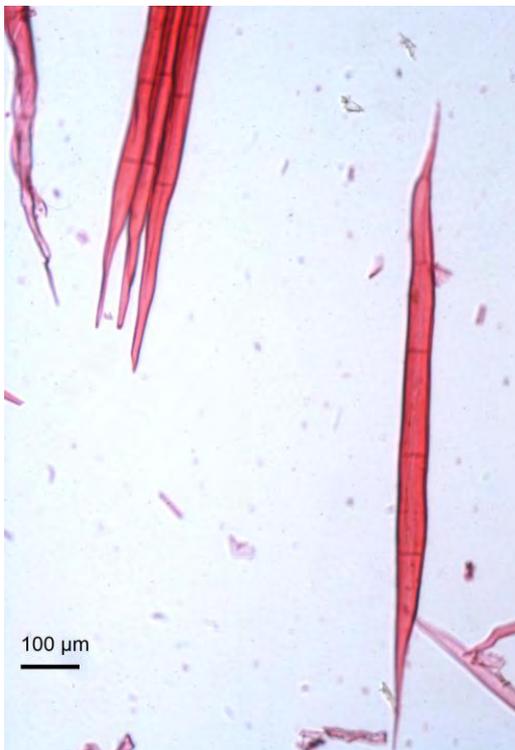


Foto 3. Macerado con fibra septada de *Bursera ovalifolia*.

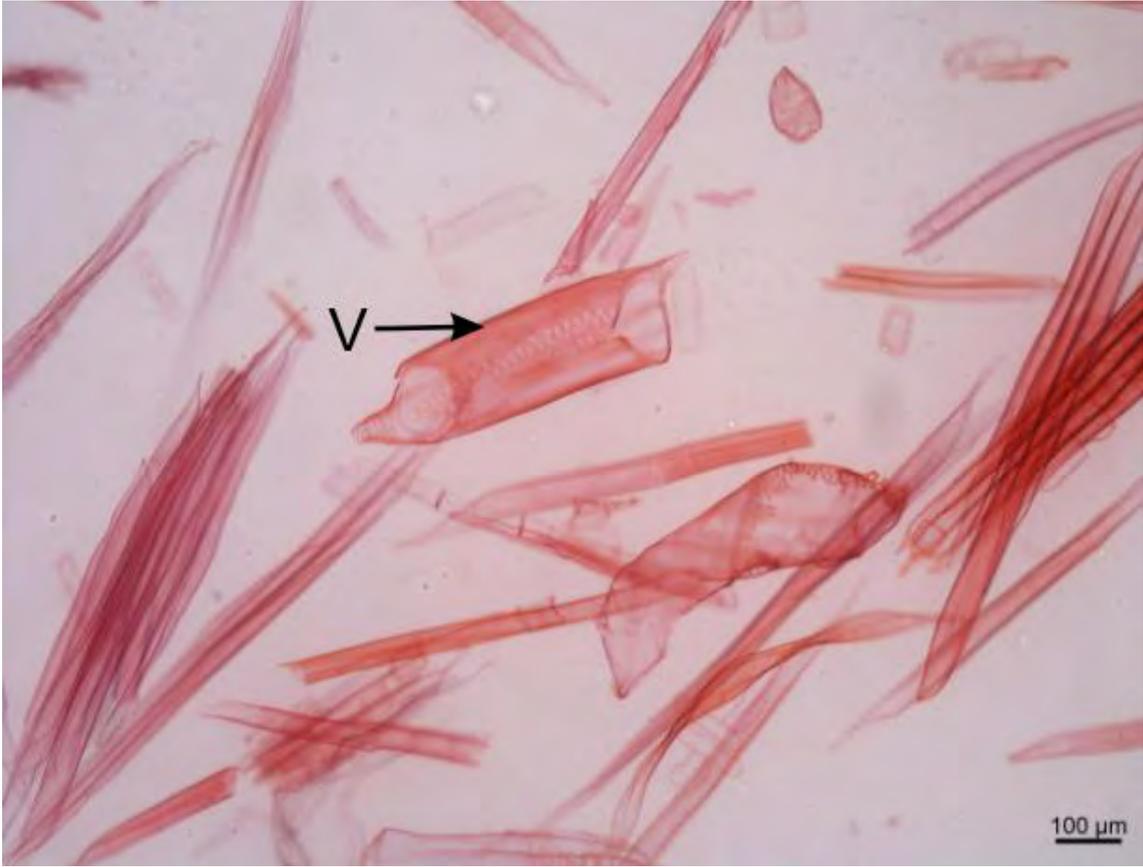


Foto 4. Macerado con elemento de vaso de *Bursera simaruba*.

## CAPÍTULO III

**Modularidad biológica en el xilema secundario del clado *simaruba*.**

# Evolution & Development

Volume 19, Number 3 | May/June 2017



WILEY

Foto portada: Mark Olson.

# Testing the hypothesis that biological modularity is shaped by adaptation: Xylem in the *Bursera simaruba* clade of tropical trees

Claudia Gabriela Montes-Cartas<sup>1</sup> | Pablo Padilla<sup>2</sup> | Julieta A. Rosell<sup>3</sup> |  
César A. Domínguez<sup>4</sup> | Juan Fornoni<sup>4</sup> | Mark E. Olson<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, 3er Circuito de CU s/n, Ciudad de México, Mexico

<sup>2</sup>Departamento de Matemáticas y Mecánica, Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y Sistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, CU, México, D. F., Ciudad de México, Mexico

<sup>3</sup>Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, Mexico

<sup>4</sup>Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, CU, Ciudad de México, Mexico

## Correspondence

Mark E. Olson, Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Tercer Circuito de Ciudad Universitaria s/n, México, D. F., 04510 Mexico.  
Email: molson@ib.unam.mx

## Funding information

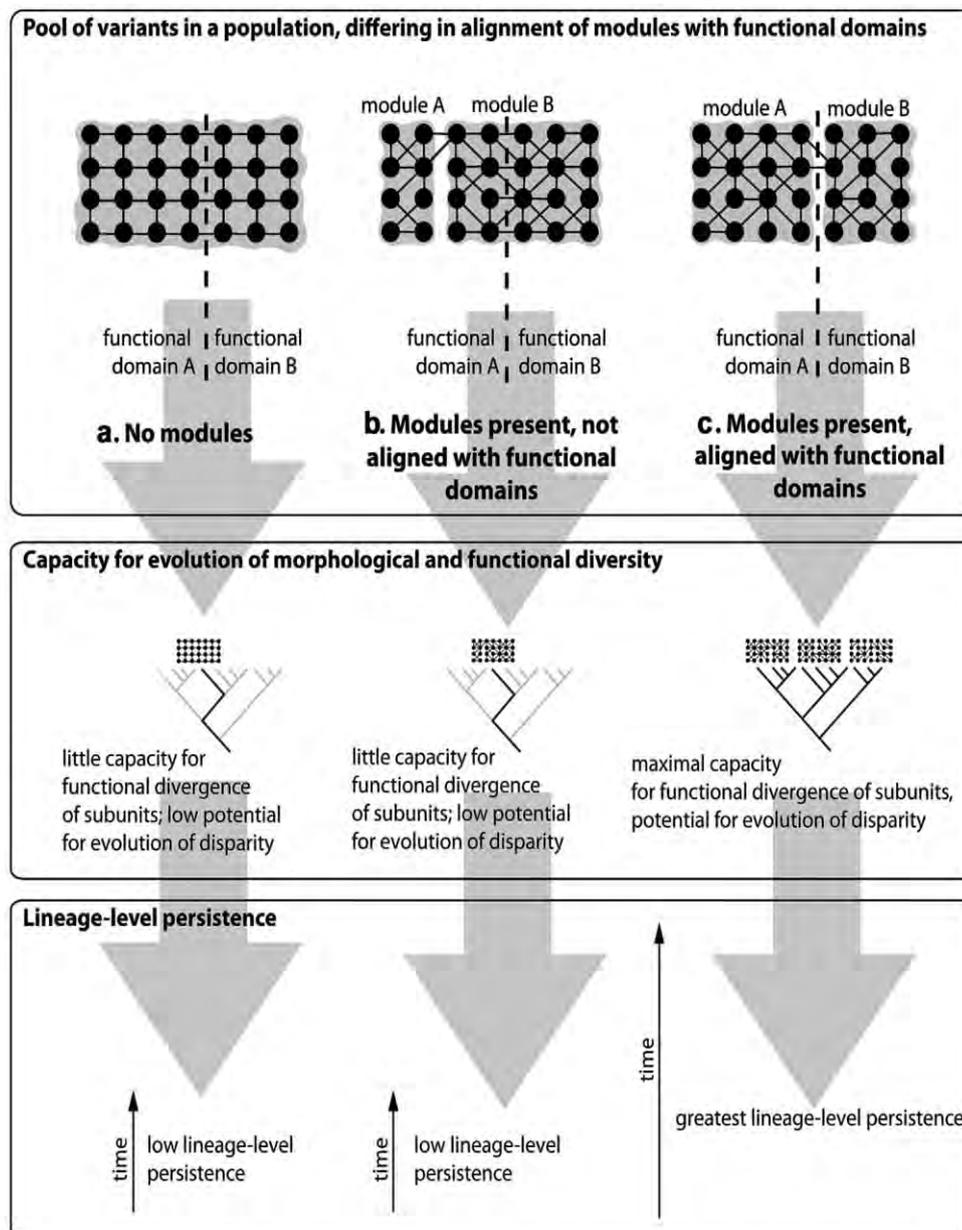
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Grant number: 132404

The study of modularity allows recognition of suites of character covariation that potentially diagnose units of evolutionary change. One prominent perspective predicts that natural selection should forge developmental units that maximize mutual functional independence. We examined the module-function relation using secondary xylem (wood) in a clade of tropical trees as a study system. Traditionally, the three main cell types in wood (vessels, fibers, and parenchyma) have respectively been associated with three functions (conduction, mechanical support, and storage). We collected samples from nine species of the *simaruba* clade of *Bursera* at fifteen sites and measured thirteen anatomical variables that have traditionally been regarded as reflecting the distinct functions of these cell types. If there are indeed (semi) independently evolving modules associated with functions, and cell types really are associated with these functions, then we should observe greater association between traits within cell types than between traits from different cell types. To map these associations, we calculated correlation coefficients among anatomical variables and identified modules using cluster and factor analysis. Our results were only partially congruent with expectations, with associations between characters of different cell types common. These results suggest causes of covariation, some involving selected function as predicted, but also highlighting the tradeoffs and shared developmental pathways limiting the evolutionary independence of some cell types in the secondary xylem. The evolution of diversity across the *simaruba* clade appears to have required only limited independence between parts.

## 1 | INTRODUCTION

One of the most debated traditions in evolutionary biology is to regard isolated parts of organisms as adaptations (Lewontin, 1978). To the extent that these “parts” are arbitrarily delimited, conclusions regarding their adaptive status seem suspect. Part-speak in biology is often criticized because rather than being a collection of parts, each individual

organism functions as a coordinated whole. Yet even though organisms must function as integrated wholes, there is clearly enough developmental independence between parts so as to lead to the evolution of vast morphological diversity even between closely related species (Eble, 2005). The middle finger of the aye-aye is an example. As serially repeated structures, the fingers of the primate hand could plausibly be expected to share developmental machinery, limiting their



**FIGURE 1** Evolution of modularity by natural selection. (a) Individuals with high connectivity across all parts and little capacity for modification of isolated parts. The possibility of natural selection to shape form–function relation is limited and offspring have little independent variation between parts. Lineage persistence in time low. (b) Heterogeneous connections between parts and modular structure not aligned with functional subunits gives little capacity for functional independence. Lineage persistence in time low. (c) Individuals with heterogeneous connections between parts and modular structure aligned with functional subunits gives high capacity for functional independence. Modular structure with maximal evolvability, potential for greater persistence than a and b, and greater probability to give rise to morphologically disparate species

mutual developmental independence (Kivell, Schmitt, & Wunderlich, 2010; Pellis & Pellis, 2012; Soligo, 2005; Wagner, 2014). However, the middle finger of the aye–aye is extremely different from neighboring digits. Such examples abound (see the Figure 1 of Frankino, Emlen, & Shingleton [2009] who show a series of mammal skulls, graphically illustrating the relative independence of the maxilla and orbit), showing that organisms are integrated, but some

developmental independence between body sectors clearly exists.

Relative independence of character subsets is known as modularity, and the character subsets that are more strongly linked among one another than to other subsets are known as modules (Bolker, 2000; Breuker, Debat, & Klingenberg, 2006; Eble, 2005). Modularity allows parts to vary to an extent independently of one another in ontogeny, allowing

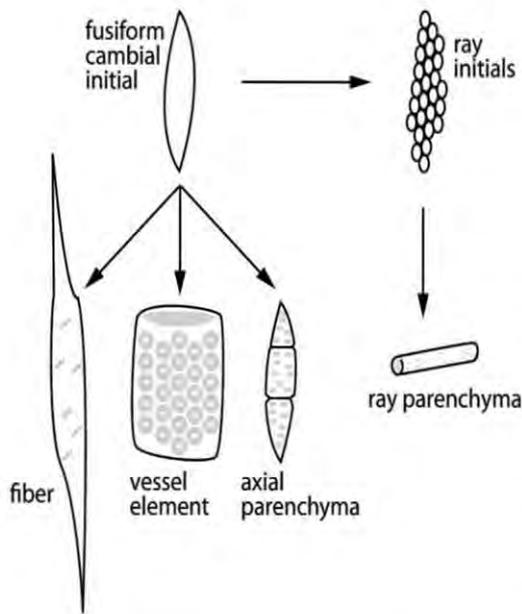
evolutionary change within modules without catastrophically altering function or structure of other modules (Breuker et al., 2006; Espinosa-Soto & Wagner, 2010; Wagner, 1996). As a result, modular organization is a key notion in thinking regarding morphological diversity, phenotypic evolution, and evolvability (Kirschner & Gerhart, 1998; Klingenberg, 2008; Schlosser & Wagner, 2004; Wagner, 1996; West-Eberhard, 2003; Wagner & Altenberg, 1996; Wagner & Mezey, 2004). By offering hope that organisms can be parsed into non-arbitrarily delimited subsets, the study of modularity may help to solve the problem of “arbitrary atomization” of organisms in studies of adaptation (Lewontin, 1978; Wagner, 2001; Wagner, Pavlicev, & Cheverud, 2007). Because of the importance of modularity in many crucial biological issues, it is important to understand how modularity arises evolutionarily.

The most prominent view regarding the evolution of modularity is that modules correspond to functional units whose boundaries are shaped by natural selection (Breuker et al., 2006; Müller, 2007; Wagner, 1996). The hypothesis regarding the shaping of modularity by natural selection is as follows. Individuals within a population vary heritably with respect to developmental connections between parts. Some combinations of connections confer greater or lesser degrees of evolutionary independence between these parts (Figure 1, Kemp, 2007; West-Eberhard, 2003). Individuals with high degrees of connectivity across all parts will have little ontogenetic independence between parts (Figure 1a). The ability of selection to hone the form-function relation on relatively isolated organismal subsets in lineages of such individuals would be limited. Some individuals might have highly heterogeneous connections between parts, with some sectors of the phenotype being highly connected and others less so (Figure 1b,c). Variants could arise in which low developmental connectivity coincides with the boundaries of functional units (Breuker et al., 2006; Kemp, 2007). Such variants would have maximal capacities for developmental and therefore evolutionary independence between parts. These would be likely to found lineages with maximal evolvability and, presumably, would come to predominate over less flexible competitors via greater persistence (lineage-level “survivorship”) and perhaps the potential for generating morphologically disparate additional species (lineage-level “fecundity”) (Figure 1c). From this point of view, the module boundaries observed in current populations are variants favored by selection, leading to the prediction that functions should coincide with module boundaries.

Here, we test the hypothesis that function should predict module boundaries (Wagner, 1996). We use a comparative approach focusing on the wood (=secondary xylem) of the species of a small clade of morphologically and ecologically diverse tropical trees. Wood is an ideal system in which to study developmental evolution because it has relatively few

parts with relatively few functions, meaning that they can be studied comprehensively. Woody plant stems perform three main functions. Wood is made up of three main cell types, and for over a century each has been regarded as corresponding with one of the three functions (Baas, 1986; Bailey & Tupper, 1918; Carlquist, 1975; Carlquist, 2001; Cutler, Botha, & Stevenson, 2007; Esau, 1977; Mauseth, 1988; Rudall, 2007). The most abundant cell types are fibers, long, slender cells with thick walls and relatively little internal space or lumen. With their thick walls and abundant areas of overlap, these cells are thought to be the “skeletal elements” or support cells of most trees (Bailey & Tupper, 1918). Vessel elements are cylindrical cells that are dead at maturity and occur in strands running lengthwise in stems. Vessel elements lack endwalls, so these strands form long tubes connecting roots to leaves. Vessels form the water conduits of most flowering plants. Because they are largely made up of empty space filled with sap, they are thought to contribute little to mechanical support of stems. Being dead, they also contribute little to the storage of photosynthetic products. This storage is instead traditionally regarded as taking place in parenchyma cells (Morris et al., 2016). Parenchyma is made up of living cuboidal or rectangular cells, usually with relatively thin walls and communicated with one another via wide pits in the cell walls. These thin walls and wide pits make parenchyma cells likely contribute much less to resisting bending in stems than fibers do (though like any viable biological structure, they do offer some mechanical resistance, e.g., Burgert & Eckstein, 2001). The thin walls mean that abundant lumen space is available for storage, and parenchyma cells are often replete with starch grains (Baas, 1986; Carlquist, 2001; Esau, 1977). The xylem thus offers a system with a long tradition of assigning part-function relation with which to test hypotheses regarding the relationship between morphological modularity and function.

The xylem also offers a useful system for studying the evolution of modularity because its ontogenetic pathways are well understood. Wood is produced in concentric layers of cells by a meristem called the vascular cambium, a continually embryonic layer of cells just below the bark. In the cambium, spindle shaped cells called fusiform cambial initials proliferate such that meristem circumference keeps pace with the increase in girth of the stem. Occasionally, fusiform cambial initials differentiate into ray initials by division into many small cells (Figure 2). These embryonic initial cells, fusiform, and ray, give rise to all of the mature cells of the wood. The ray initials produce ray parenchyma, which usually have their long axes oriented radially in the stem, lying like spokes from the inside of the stem to the outside. The fusiform initials give rise to the other cells, vessel elements, axial parenchyma cells, and fibers (Figure 2). Because they are produced from the same initial cells, vessel elements, axial parenchyma cells, and fibers start life at the same size (Baas, 1986; Carlquist, 2001; Mauseth, 1988).



**FIGURE 2** Ontogenetic pathways from the vascular cambium to mature secondary xylem (wood) cells. Fusiform cambial initials follow two routes to produce wood. In one route, fusiform cambial initials differentiate into ray initials by division into many small cells. The ray initials produce ray parenchyma, whose long axes are oriented radially in the stem. In the other route, fusiform initials give rise to vessel elements, axial parenchyma cells, and fibers oriented axially with respect to the stem. They are produced from the same initial cells, so vessel elements, axial parenchyma cells, and fibers start life at the same size. Fibers elongate as they mature, and axial parenchyma usually divides into short strands, whereas vessel elements tend to remain the same length as the fusiform initials that gave rise to them

Knowledge of potential developmental associations is essential for exploring the potential role of selection favoring functional independence in the evolution of modularity.

To explore the module-function relation we chose a group of species from the *simaruba* clade of the genus *Bursera* (Rosell et al., 2010; Rzedowski, Medina, & Calderón, 2005). This clade consists of 14 species and spans a range in size from trees 3 to over 30 m tall, including one species with lianescent branches and another an epiphyte (Rosell et al., 2010). These species span a very wide array of environments, from rainforests receiving over three meters of rain to dry forests receiving less than one. Using a clade as a study system ensures that all of the species began with the same ancestral condition. Any differences observed between species are therefore the result of recent divergence rather than simply inheriting these differences from distant, disparate ancestors. Moreover, using a clade that is ecologically diverse maximizes the chance of finding functionally divergent modules.

If selection favors modular configurations in such a way that autonomy of function is maximal (Breuker et al., 2006;

Wagner, 1996), then secondary xylem should have three modules. Here, we test for the presence of modularity through morphological covariation sets from a comparative point of view. This approach invokes the notion that character independence detected at an interspecific level can only be produced by a degree of developmental independence (Eble, 2005). This necessary relationship between interspecific and developmental diversity means that a comparative approach is the only sure way of detecting developmental independence sufficient for the evolution of diversity (Frankino et al., 2009; Olson, 2012). We measured anatomical variables that should reflect different stem functions. For example, fiber wall thickness is often found to be positively associated with stem resistance to bending, whereas wider vessels conduct water more efficiently. Morphological features that affect a given function could be expected to be associated mainly with one another. Specifically, we would expect a conductivity module made up of vessel anatomical characters. A mechanical support module would be expected to be made up of fiber anatomical characters. Finally, a storage module would be made up of parenchyma cell characters. We use our results to highlight how the study of morphological covariation sets in a comparative context sheds light on the causes of character association. We conclude with comments on challenges inherent in the study of modularity.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 | Plant material, anatomical techniques, and variables measured

One way of estimating modularity is provided by morphological covariation sets (Eble, 2005). The first step in identifying these sets involves measuring morphological variables thought to reflect important developmental and functional aspects. Many methods are available to explore the patterns of covariation between these variables, but all share similar ideas. A lack of covariation between two variables suggests that they are free to vary evolutionarily with respect to one another, that is, belong to different modules, whereas those that are closely associated could belong to the same module. We obtained anatomical data from the secondary xylem (“wood” *sensu stricto*, as distinguished from the primary xylem produced by the apical meristem in young shoots) of terminal branches. We collected a branch segment of approximately 1.5 cm in diameter from seven adult trees per species (nine species). We selected species so as to include diversity of life forms and environment. We used standard anatomical techniques to prepare sections and macerations for light microscopy (Olson & Carlquist, 2001). We measured anatomical variables that should reflect the three functions of storage, conduction, and mechanical

**TABLE 1** Descriptive statistics of anatomical variables

Anatomical variable	Function	Abbrev.	Min.	Max.	Mean	Stand. Dev.	Var.
Ray % area	Storage	R	6.9	15.8	10.6	2.1	4.3
Ray cell lumen area ( $\mu\text{m}^2$ )	Storage	RCA	142	751.3	416.7	109.44	11,978
Axial parenchyma lumen area ( $\mu\text{m}^2$ )	Storage	APA	70.6	298.6	149	40	1,573
Axial parenchyma wall thickness ( $\mu\text{m}$ )	Storage	APWT	0.42	1.5	0.84	0.29	0.08
Vessel % area	Conduction	V	13.6	44.4	25.9	6.3	40
Vessel density (#vessels/ $\text{mm}^2$ )	Conduction	VD	39	132.2	75.9	18.7	350.6
Vessel lumen area ( $\mu\text{m}^2$ )	Conduction	VA	1763.2	6051.8	3583.9	874.9	765,557
Vessel element length ( $\mu\text{m}$ )	Conduction	VL	278.6	477.2	381.8	47	2,207
Vessel wall thickness ( $\mu\text{m}$ )	Conduction	VWT	1.4	2.7	1.9	0.2	0.06
Fiber % area	Mechanical support	F	43.1	76.9	63.5	6.8	46.7
Fiber lumen area ( $\mu\text{m}^2$ )	Mechanical support	FA	187	1619	366.6	159.1	25,302
Fiber length ( $\mu\text{m}$ )	Mechanical support	FL	371.6	732.5	581.7	73.7	5,439
Fiber wall thickness ( $\mu\text{m}$ )	Mechanical support	FWT	1.34	2.4	1.7	0.2	0.04

Abbrev., abbreviation; Min., minimum; Max., maximum; Stand. Dev., standard deviation; Var., variance.

support in the secondary xylem (Carlquist, 2001). Anatomical data were measured from the outermost wood. The variables measured are summarized in Table 1 and their putative functions in appendix 1. We calculated sample mean values based on 25 observations per variable for each branch (Carlquist & Hoekman, 1985). We  $\log_{10}$  transformed data to normalize them (Sokal & Rohlf, 2012) and we analyzed data with R v. 3.2.1 (R Development Core Team, 2015).

## 2.2 | Covariation between anatomical variables

To identify the covariation patterns among anatomical characters we calculated correlation coefficients between variables (Eble, 2005; Goswami & Polly, 2010; Klingenberg, 2008). Significant character correlation is expected to be stronger or more numerous inside modules than with other modules (Mitteroecker & Bookstein, 2007), presumably due to functional and developmental relations (Eble, 2005; Hearn, 2013; Klingenberg, 2008; Martínez-Cabrera, Jones, Espino, & Schenk, 2009; Wagner, 1996). We tested for phylogenetic signal in the residuals of regression of anatomical variables on one another (Revell, 2012; Swenson, 2014) using the phylogeny of Rosell et al. (2010), pruning the tree to the nine species from which we collected data, and the phytools package in R (Freckleton, 2009; Revell, 2012). Some tests did show evidence of phylogenetic signal ( $k > 1$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 63$ , e.g., in R-VA, VWT-APWT residuals). We incorporated phylogeny in the calculation of correlation coefficients (Swenson, 2014) and generated a phylogenetic correlation coefficient matrix. Both correlation matrices, with and with out phylogenetic signal, were very similar, so we tested whether they were

significantly different from one another using the test of Jennrich (1970). The matrices were not statistically different from one another ( $X^2 = -32358.76$ ,  $p = 1$ ,  $n = 13$ ), so we proceeded with non-phylogenetically corrected analyses. In our analyses we identified correlations between paired variables as a first approximation to detect associations between anatomical variables by function (conduction, mechanical support, and storage).

## 2.3 | Cluster and factor analysis

Another approach we used to identify modules involved multivariate methods. Multivariate analysis organizes data in groups of variables correlated among one another and less correlated with other groups, exactly the concern of modularity studies (Goswami & Polly, 2010). Multivariate analyses often start with correlation matrices, in this case built from Pearson correlation coefficients (Goswami & Polly, 2010; Klingenberg, 2003a; Magwene, 2001; Manly, 2005; Tabachnick & Fidell, 2007). We used cluster and factor analysis to delimit morphological covariation sets. These multivariate methods were selected because they identify groups of covarying variables and are commonly used in modularity studies (Goswami & Polly, 2010; Mitteroecker & Bookstein, 2007).

First, we used cluster analysis, an approach that groups variables based on their similarity. We performed a hierarchical cluster analysis using Euclidean distance and the nearest neighbor method to form groups (Everitt, Landau, Leese, & Stahl, 2011; Kaufman & Rousseeuw, 2005). Groups represent morphological covariation subsets and we interpreted these morphological covariation subsets as modules (Eble, 2005).

In addition, we also used factor analysis to identify morphological covariation sets. The goal of factor analysis is to identify groups of correlated variables. Factors represent morphological covariation sets defined by the highest loading variables (García Jiménez, Gil Flores, & Rodríguez Gómez, 2000; Kline, 1994). We performed a factor analysis using principal components and varimax rotation to identify morphological modules. We interpreted covariation of variables with the highest loadings as modules.

### 3 | RESULTS

#### 3.1 | Plant material, anatomical techniques, and variables measured

We obtained 34,125 anatomical data from 105 terminal branches from 105 adult trees. Descriptive statistics of anatomical variables are given in Table 1.

#### 3.2 | Covariation of anatomical variables

We tested the prediction that covariation patterns in the secondary xylem should reflect the three main functions of stems. We expected to find three clusters of covariation, for example, with variables relating to conduction covarying more closely with one another than with support or storage variables. However, the patterns of association between anatomical variables revealed a covariation network involving characters traditionally assigned to different functions (Figure 3). For instance, vessel element and fiber length, traditionally regarded as affecting conduction and mechanical support respectively, were significantly correlated with one another ( $r=0.76$ ,  $p<0.001$ ,  $n=105$ ). Our data thus highlighted correlations both within as well as across functions.

#### 3.3 | Cluster and factor analysis

##### 3.3.1 | Cluster analysis

Cluster analysis identified three morphological covariation sets (Table 2). One was made up of vessel (conduction) and fiber (mechanical support) wall thickness. Another was made up of vessel (conduction) and fiber (mechanical support) length. The third was made up of vessel lumen area (conduction), vessel density (conduction), percent area of the xylem occupied by rays (storage), fiber lumen area (mechanical support), axial parenchyma cell lumen area (storage), axial parenchyma wall thickness (storage), and ray cell lumen area (storage). These results suggested morphological modules made up of anatomical characters that perform different functions.

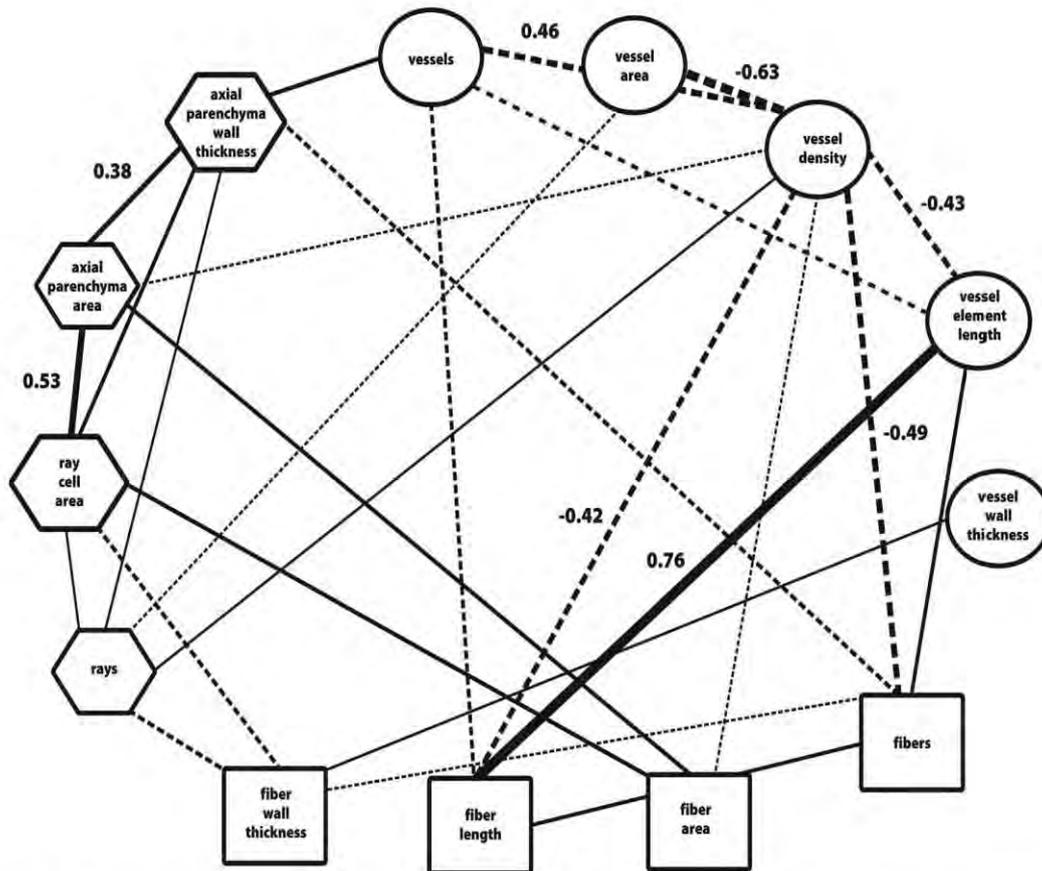
#### 3.4 | Factor analysis

The first four factors explained 66% of the variance of the data (Table 3). These four factors were sufficient for explaining the correlation structure between anatomical variables because they had eigenvalues greater than 1 (Kaiser, 1960, Table 3). The first factor was determined by fiber lumen area (support), axial parenchyma wall thickness (storage), axial parenchyma lumen area (storage), and ray cell lumen area (storage). The second factor was made up of vessel element (conduction) and fiber (storage) length. The third factor was made up of percent area of the xylem occupied by rays (storage), vessel density (conduction), and vessel lumen area (conduction). The fourth factor was made up of fiber wall thickness (support) and vessel wall thickness (conduction, Table 4). Factors were made up of variables with different putative functions. As with results of the other techniques we employed, covariation of anatomical variables and cluster analysis, factor analysis showed covariation of attributes between as well as within functions across the *simaruba* clade.

### 4 | DISCUSSION

#### 4.1 | The module-function relation

One of the most common explanations for the origin of modular covariation patterns in organisms is that modules represent functional units (Armbruster, Di Stilio, Tuxill, Flores, & Velásquez Runk, 1999; Breuker et al., 2006; Cheverud, 1996; Cheverud, Hartman, Richtsmeier, & Atchley, 1991; Eble, 2005; Hearn, 2013; Klingenberg, 2008, 2010; Mezey, Cheverud, & Wagner, 2000; Wagner, 1996; Wagner et al., 2007). In addition to function, our results highlight the diversity of factors that underlie covariation between cell attributes in *simaruba* clade secondary xylem. The patterns of covariation we recovered (Figure 3) show numerous connections between anatomical variables performing different functions (Hearn, 2013). Although exact results differed to an extent between methods, cross-function trait associations were recovered across all the methods we used. Modules were made up of conduction and mechanical support characters, of conduction, mechanical support, and storage characters, of mechanical support and storage characters, or of storage and conduction characters (Tables 2 and 4). For example, vessel element and fiber length were strongly correlated in all of the methods (Figure 3; Tables 2 and 4). Modules were found made up of cells representing the three putative functions of storage, mechanical support, and conduction (Table 2 group 3) or two putative functions of mechanical support and storage (Table 4 factor 1). These patterns of trait covariation raise the question of why traits covary.



**FIGURE 3** Anatomical character correlations across the 9 *simaruba* clade of *Bursera* species studied. Significant correlations are shown. Solid lines indicate positive correlations and dashed lines negative ones. Thicker lines indicate higher correlations. Vessel (ellipses), fiber (rectangles), and parenchyma (hexagons) anatomical characters. Anatomical variables and their functions are given in Table 1

#### 4.2 | Covariation causes

The patterns of covariation recovered likely reflect several different causes, perhaps the most important of which are shared cell developmental pathways (Figure 2). The association between vessel element length and fiber length was one of the strongest correlations we documented (Figure 3 and Table 2 group 2 and Table 4 factor 2). Vessels are traditionally regarded as serving a conductive function whereas fibers a mechanical support one, so it would not have been surprising to find them falling in separate modules rather than covarying strongly. Because they are traditionally regarded as performing largely independent functions, if function drives modularity then selection would favor developmental independence between them. No functional relationship

between fiber and vessel element length has ever been suggested in the literature, so there are no known adaptive reasons to expect their lengths to be correlated. However, vessels and fibers differentiate from the same mother cells, known as fusiform cambial initials. Cambial cells are found beneath the innermost layer of the bark. These continually embryonic cells produce vessels, fibers, and parenchyma to the inside of the trunk. In any given growing season, a single cambial cell can produce dozens or hundreds of fibers and several to dozens of vessel elements. Because both cell types originate from the same individual embryonic cells, they begin life at exactly the same size. This shared origin imposes the same minimum length for both cell types, with fibers elongating markedly as they mature whereas vessel elements do not (Baas, 1986; Carlquist, 2001; cf., Losos, 2011;

**TABLE 2** Cluster analysis of anatomical variables

Group	Anatomical variables	Function
1	VWT, FWT	Conduction (VWT) and mechanical support (FWT)
2	VL, FL	Conduction (VL) and mechanical support (FL)
3	R, RCA, APWT, APA, VA, VD, FA	Storage (R, RCA, APWT, APA), conduction (VA, VD), and mechanical support (FA)

**TABLE 3** Percentage of variance explained in factor analysis

Factor	1	2	3	4
Eigenvalues	2.543	2.175	1.375	1.161
Sum of squares loadings	2.23	1.93	1.75	1.34
Proportion variance	0.20	0.18	0.16	0.12
Cumulative variance	0.20	0.38	0.54	0.66
Proportion explained	0.31	0.27	0.24	0.18
Cumulative proportion	0.31	0.57	0.82	1.00

Mauseth, 1988; Olson, 2012). This lack of independence could potentially limit selection or facilitate it. Selection favoring, say, shorter vessel elements, often thought to provide greater safety against propagation of embolisms throughout a vessel, would likely be opposed by that favoring the greater mechanical support offered by longer fibers. If a positive correlation in their length were adaptive, for example, if longer fibers are favored in larger plants for their mechanical support, and longer vessel elements as well for their efficient conduction, then this shared developmental pathway would bias developmental outcomes in ways that are likely to be of high fitness. In this way, shared developmental pathways can bias evolution in ways that are potentially orthogonal as well as parallel to vectors of selection.

Another potential source of character covariation is competition for developmental resources (Rosell, 2010; Stearns, 1992). Because resources are finite, allocation to one character necessarily involves a reduction in the allocation to another (Stearns, 1992). Because a given area can be occupied by many narrow or few wide vessels, but not many wide ones, there is a tradeoff between vessel lumen area

and density across the flowering plants (Rosell & Olson, 2014), and the pattern was also recovered here (Figure 3). Similarly, the negative relation between percent of the xylem occupied by fibers (mechanical support tissue) and vessel density (conduction tissue, Figure 3) could reflect a space tradeoff (Carlquist, 2001; Mauseth, 1988), with investment in conduction occupying stem transectional space that cannot be occupied by fibers. Tradeoffs therefore seem very likely factors that lead to lack of independence between xylem characteristics.

Characters can also covary evolutionarily as parts of functional complexes, in which traits are developmentally independent but selection favors certain combinations (Breuker et al., 2006; Klingenberg, 2003b; Wagner, 1996; Wagner et al., 2007). For instance, jaw characters covary more strongly with one another than with other characters from the skull, an association usually interpreted in terms of selected function (Cheverud, 2004; Klingenberg, 2003b; Perez, de Aguiar, & Guimarães Jr., 2009). In *simaruba* clade secondary xylem, we found some evidence for modularity delimited by function. For example, we found attributes of axial and ray parenchyma, both regarded as serving a storage function, to be significantly positively related to one another (Figure 3). These features included percent area of the xylem occupied by rays, the lumen area of axial and ray parenchyma cells, and axial parenchyma wall thickness. These features diverge from one another ontogenetically very early (Figure 2), so early that there is little developmental reason to expect them to resemble one another in their cell dimensions. That these ontogenetically very distant but functionally similar attributes should correlate significantly is congruent with the traditional expectation that they should

**TABLE 4** Factor analysis with anatomical variables

Factor				
Latent factor	Storage and mechanical support	Conduction and mechanical support	Conduction and storage	Conduction and mechanical support
Anatomical variable	1	2	3	4
R	0.44	0.01	0.60	-0.17
VD	-0.19	-0.43	0.74	0.06
VA	0.15	0.03	-0.86	-0.06
VWT	0.06	-0.11	0.09	0.80
FWT	-0.31	0.04	-0.08	0.70
VL	-0.01	0.91	-0.15	0.01
FL	-0.01	0.94	-0.05	-0.07
FA	0.60	0.17	-0.16	0.34
APA	0.79	-0.03	-0.15	0.02
APWT	0.60	-0.03	0.08	-0.16
RCA	0.74	-0.01	0.00	-0.19

evolve in a coordinated way. The lumen area of axial and ray parenchyma cells also significantly covaried positively with fiber lumen area. Parenchyma is traditionally interpreted as serving as storage in secondary xylem whereas fibers are seen as providing mechanical support. However, fibers in *Bursera* often have starch in them, a storage product, and are water-filled (Durán Guerra, Quintanar Isaías, Villanueva Díaz, Jaramillo-Pérez, & Cerano Parede, 2014). As a result, fibers likely serve both a mechanical and a storage function. Modules made up of all three cell types (group 3, Table 2) strengthen the idea of a lack of independence between these parts.

Our results could be regarded as suggesting that, in general, selection in woody plants does not appear to have acted in such a way as to maximize developmental independence between parts. Alternatively, it could suggest that traditional functional ascriptions are incorrect. Xylem studies recently suggest that cell types can be functionally associated in ways different from the traditional perspective of vessels = conduction, fibers = support, and parenchyma = storage (e.g., Martínez-Cabrera et al., 2009, also Ziemińska, Butler, Gleason, Wright, & Westoby, 2013; Ziemińska, Westoby, & Wright, 2015). In addition to the likelihood that fibers sometimes participate in storage, there is some evidence that fibers also participate in resisting vessel deformation under the negative pressure under which plants conduct water (Hacke & Sperry, 2001; Hacke, Sperry, Pockman, Davis, & McCulloh, 2001; Jacobsen, Ewers, Brandon Pratt, Paddock III, & Stephen, 2005; Sperry & Hacke, 2004). Fibers thus might participate not only in mechanical support of the stem and in storage but in conduction as well. Congruent with this possibility is our observation of the relation between fiber and vessel wall thickness, a trait certainly important in cell mechanical integrity (Figure 3, Table 2 group 1, and Table 4 factor 4). Another example is the relation between axial parenchyma lumen area, axial parenchyma wall thickness, ray cell lumen area, and fiber lumen area, all potentially involved in storage (Figure 3 and Table 4 factor 1). Our results thus do seem to show correlation plausibly favored by selection, and also highlight the intervention of shared developmental pathways and tradeoffs in limiting independent variation. They also highlight the limits of methods available to study modularity.

#### 4.3 | Methodological considerations

The different methods we used to analyze the same dataset led to slightly different module delimitations (Tables 2 and 4), a common result in studies of modularity (Goswami & Polly, 2010). It is not straightforward to decide which modular structure, obtained from different techniques, best represents the biology of the system in question (Adams, Cardini, Monteiro, O'Higgins, & Rohlf, 2011; Clune, Mouret, &

Lipson, 2013; Goswami & Polly, 2010; Lipson, Pollack, & Suh, 2002; Magwene, 2001; Mitteroecker & Bookstein, 2007; Monteiro, Bonato, & dos Reis, 2005). Accordingly, there is no consensus regarding how modules are to be identified (Breuker et al., 2006; Klingenberg, 2008; Olson & Rosell, 2006; Roseman, Kenny-Hunt, & Cheverud, 2009; Wagner & Altenberg, 1996). For instance, different authors have reported different modular skull structures in mammals. Drake and Klingenberg (2010) proposed a two module models, Cheverud (1995) a six module model, and Goswami and Polly (2010) a different six module model (see Table 1 in Goswami & Polly, 2010). This lack of consensus seems likely due to modularity not being an either-or condition (Adams et al., 2011; Clune et al., 2013; Klingenberg, 2008; Klingenberg et al., 2003; Lipson et al., 2002; Monteiro et al., 2005; Wagner et al., 2007). All parts of organisms covary to one degree or another, so total character independence is impossible. However, developmental independence is such that morphological diversity can evolve. The key criterion for identifying modules, then, is delimiting the "parts" with *sufficient* evolutionary independence as to permit diversification. This independence is exactly the sort identified in comparative studies of taxic homology (Patterson, 1982).

#### 4.4 | Final considerations

One explanation of the origin of modularity involves module composition being shaped by function (Breuker et al., 2006; Eble, 2005; Klingenberg, 2008; Wagner, 1996; Wagner et al., 2007), and such selection probably is involved to some degree in most cases of modularity. However, it is not clear how much developmental independence is necessary to allow for the evolution of morphological diversity. Whatever its developmental biases and correlations, the degree of developmental independence between parts in *simaruba* clade xylem has clearly been sufficient for the evolution of the marked morphological and functional diversity observed across the group. It is this observation, in the context of the scenario presented in Figure 1, that is the most important result from our study. We predicted much more developmental independence between functional domains than observed. This result would seem to offer a case in which relatively little developmental independence is nevertheless sufficient for marked functional and morphological divergence. Given that the number and phylogenetic position of extinct species in *Bursera* is unknown, it is difficult to generalize regarding the species-level emergent fitness that variation in modular structure might confer. What can be said is that *Bursera* does span a remarkable array of life forms, including succulent-stemmed dryland shrubs, dry forest trees of all shapes, hemiepiphytes, to giant rainforest emergents, from temperate deserts to some of the wettest tropical forests in the world,

diversity that is uncommon in groups of similar sizes and geographical extents. Our results seem to suggest that, insofar as the xylem is involved in this diversification, a relatively low degree of developmental independence is apparently sufficient to permit the evolution of diversity rivaling any clade of similar size. In this way, covariation between parts in the secondary xylem highlights the variety of factors that likely influence the evolution of organismal modularity and the evolution of morphological diversity.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología grant 132404. C. Gabriela Montes Cartas is a doctoral student in the Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México and received fellowship 239662 from CONACYT. We thank Calixto León and Angélica Cervantes for helping with anatomical techniques, Berenit Mendoza for microscopy facilities, and Leonardo Alvarado and Angélica Cervantes for helpful comments. We appreciate the comments of two anonymous reviewers, as well as the work of the editors.

## REFERENCES

- Adams, D. C., Cardini, A., Monteiro, L. R., O'Higgins, P., & Rohlf, F. J. (2011). Morphometrics and phylogenetics: Principal components of shape from cranial modules are neither appropriate nor effective cladistic characters. *Journal of Human Evolution*, *60*, 240–243.
- Armbruster, W. S., Di Stilio, V. S., Tuxill, J. D., Flores, T. C., & Velásquez Runk, J. L. (1999). Covariance and decoupling of floral and vegetative traits in nine neotropical plants: A re-evaluation of Berg's correlation-pleiades concept. *American Journal of Botany*, *86*, 39–55.
- Baas, P. (1986). Ecological patterns in xylem anatomy. In T. J. Givnish (Ed.), *On the economy of plant form and function* (pp. 327–349). Cambridge: Cambridge University Press.
- Bailey, I. W., & Tupper, W. W. (1918). Size variation in tracheary cells. I. A comparison between the secondary xylems of vascular cryptogams, gymnosperms, and angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *54*, 149–204.
- Bolker, J. A. (2000). Modularity in development and why it matters to evo-devo. *American Zoologist*, *40*, 770–776.
- Breuker, C. J., Debat, V., & Klingenberg, C. P. (2006). Functional evo-devo. *Trends in Ecology & Evolution*, *21*, 488–492.
- Burgert, I., & Eckstein, D. (2001). The tensile strength of isolated wood rays of beech (*Fagus sylvatica* L.) and its significance for the biomechanics of living trees. *Trees*, *15*, 168–170.
- Carlquist, S. (1975). *Ecological strategies of xylem evolution* (p. 259). Berkeley, California: University of California Press.
- Carlquist, S. (1996). Wood anatomy of primitive angiosperms: New perspectives and shynteses. In: D. W. Taylor & L. J. Hickey (Eds.), *Flowering plant origin, evolution, and phyogeny* (pp. 68–90). New York: Chapman and Hall.
- Carlquist, S. (2001). *Comparative wood anatomy: Systematic, ecological, and evolutionary aspects of dicotyledon wood* (2nd ed.) (p. 448). Berlin: Springer-Verlag.
- Carlquist, S., & Hoekman, D. A. (1985). Ecological wood anatomy of the woody southern Californian flora. *IAWA Bulletin*, *6*, 319–347.
- Cheverud, J. M. (1995). Morphological integration in the saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*) cranium. *American Naturalist*, *145*, 63–89.
- Cheverud, J. M. (1996). Developmental integration and the evolution of pleiotropy. *American Zoologist*, *36*, 44–50.
- Cheverud, J. M. (2004). Modular pleiotropic effects of quantitative trait loci on morphological traits. *Modularity in development and evolution* (pp. 132–153). In: G. Schlosser & G. P. Wagner (Eds.), Chicago: The University of Chicago Press.
- Cheverud, J. M., Hartman, S. E., Richtsmeier, J. T., & Atchley, W. R. (1991). A quantitative genetic-analysis of localized morphology in mandibles of inbred mice using finite-element scaling analysis. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology*, *11*, 122–137.
- Clune, J., Mouret, J.-B., & Lipson, H. (2013). The evolutionary origins of modularity. *Proceedings of the Royal Society B*, *280*, 1–9.
- Cutler, D. F., Botha, T., & Stevenson, D. W. (2007). *Plant anatomy. An applied approach* (p. 302). Oxford: Blackwell Publishing.
- Drake, A. G., & Klingenberg, C. P. (2010). Large-scale diversification of skull shape in domestic dogs: Disparity and modularity. *American Naturalist*, *175*, 289–301.
- Durán Guerra, O., Quintanar Isaías, A., Villanueva Díaz, J., Jaramillo-Pérez, A. T., & Cerano Parede, J. (2014). Características anatómicas de la madera de *Bursera lancifolia* (Schltdl.) Engl. con potencial dendrocronológico. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, *5*, 76–89.
- Eble, G. J. (2005). Morphological modularity and macroevolution: conceptual and empirical aspects. In W. Callebaut & D. Rasskin-Gutman (Eds.), *Modularity. Understanding the development and evolution of natural complex systems (Vienna Series in Theoretical Biology)* (pp. 221–238). Cambridge: MIT Press.
- Espinosa-Soto, C., & Wagner, A. (2010). Specialization can drive the evolution of modularity. *PLoS Computational Biology*, *6*(3), e1000719.
- Esau, K. (1977). *Anatomy of seed plants* (2nd ed.) (p. 550). New York: J. Wiley.
- Everitt, B. S., Landau, S., Leese, M., & Stahl, D. (2011). *Cluster analysis* (p. 330). New York: J. Wiley and Sons.
- Frankino, W. A., Emlen, D. J., & Shingleton, A. W. (2009). Experimental approaches to studying the evolution of animal form: The shape of things to come. In T. Garland & M. R. Rose, Jr. (Eds.), *Experimental evolution: Concepts, methods, and applications of selection experiments* (pp. 419–478). California: University of California Press.
- Freckleton, R. P. (2009). The seven deadly sins of comparative analysis. *Journal of Evolutionary Biology*, *22*, 1367–1375.
- García Jiménez, E., Gil Flores, J., & Rodríguez Gómez, G. (2000). *Análisis factorial* (p. 126). Ed. La Muralla. Salamanca, España.
- Goswami, A., & Polly, D. (2010). Methods for studying morphological integration and modularity. In J. Alroy & G. Hunt (Eds.), *Quantitative methods in paleobiology Vol. 16. Paleontological Society Short Course, October 30th, 2010* (pp. 213–243). Cambridge: The Paleontological Society Press.
- Hacke, U. G., & Sperry, J. S. (2001). Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, *4*, 97–115.

- Hacke, U. G., Sperry, J. S., Pockman, W. T., Davis, S. D., & McCulloh, K. A. (2001). Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia*, *126*, 457–461.
- Hearn, D. J. (2013). Dissection of evolutionary networks to assess their role in the evolution of robustness, function, and diversification. *Evolution*, *67*, 2273–2283.
- Jacobsen, A. L., Ewers, F. W., Brandon Pratt, R., Paddock III, W. A., & Stephen, D. D. (2005). Do xylem fibers affect vessel cavitation resistance? *Plant Physiology*, *139*, 546–556.
- Jennrich, R. I. (1970). An asymptotic  $\chi^2$  test for the equality of two correlation matrices. *Journal of the American Statistical Association*, *65*, 904–912.
- Kaiser, H. F. (1960). The application of electronic computers to factor analysis. *Educational and Psychological Measurement*, *20*, 141–151.
- Kaufman, L., & Rousseeuw, P. J. (2005). *Finding groups in data: An introduction to cluster analysis*. New York: Wiley-Intersciences.
- Kemp, T. S. (2007). The concept of correlated progression as the basis of a model for the evolutionary origin of major new taxa. *Proceedings of the Royal Society B*, *274*, 1667–1673.
- Kirschner, M., & Gerhart, J. (1998). Evolvability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*, 8420–8427.
- Kivell, T. L., Schmitt, D., & Wunderlich, R. E. (2010). Hand and foot pressures in the aye-aye (*Daubentonia madagascariensis*) reveal novel biomechanical trade-offs required for walking on gracile digits. *The Journal of Experimental Biology*, *213*, 1549–1557.
- Kline, P. (1994). *An easy guide to factor analysis* (p. 187). New York: Routledge.
- Klingenberg, C. P. (2003a). Quantitative genetics of geometric shape: Heritability and the pitfalls of the univariate approach. *Evolution*, *57*, 191–195.
- Klingenberg, C. P. (2003b). Developmental instability as a research tool: Using patterns of fluctuating asymmetry to infer the developmental origins of morphological integration. In M. Polak (Ed.), *Developmental instability: Causes and consequences* (pp. 427–442). Oxford: Oxford University Press.
- Klingenberg, C. P. (2008). Morphological integration and developmental modularity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *39*, 115–132.
- Klingenberg, C. P. (2010). Evolution and development of shape: Integrating quantitative approaches. *Nature Reviews Genetics*, *11*, 623–635.
- Klingenberg, C. P., Mebus, K., & Auffray, J. C. (2003). Development integration in a complex morphological structure: How distinct are the modules in the mouse mandible? *Evolution and Development*, *5*, 522–531.
- Lewontin, R. C. (1978). Adaptation. *Science American*, *239*, 156–169.
- Lipson, H., Pollack, J. B., & Suh, N. P. (2002). On the origin of modular variation. *Evolution*, *56*, 1549–1556.
- Losos, J. B. (2011). Convergence, adaptation, and constraint. *Evolution*, *65*–67, 1827–1840.
- Magwene, P. M. (2001). New tools for studying integration and modularity. *Evolution*, *55*, 1734–1745.
- Manly, B. F. J. (2005). *Multivariate statistical methods: A primer* (3rd ed.) (p. 214). Boca Raton, Florida: Chapman and Hall.
- Martínez-Cabrera, H. I., Jones, C. S., Espino, S., & Schenck, J. H. (2009). Wood anatomy and wood density in shrubs: Responses to varying aridity along transcontinental transects. *American Journal of Botany*, *96*, 1388–1398.
- Mauseth, J. D. (1988). *Plant anatomy* (p. 560). California: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Mezey, J. G., Cheverud, J. M., & Wagner, G. P. (2000). Is the genotype-phenotype map modular? A statistical approach using mouse quantitative trait loci data. *Genetics*, *156*, 305–311.
- Mitteroecker, P., & Bookstein, F. (2007). The conceptual and statistical relationship between modularity and morphological integration. *Systematic Biology*, *56*, 818–836.
- Monteiro, L. R., Bonato, V., & dos Reis, S. F. (2005). Evolutionary integration and morphological diversification in complex morphological structures: Mandible shape divergence in spiny rats (Rodentia, Echimyidae). *Evolution and Development*, *7*, 429–439.
- Morris, H., Plavcová, L., Cvecko, P., Fichtler, E., Gillingham, M. A., Martínez-Cabrera, H. I., ... Jansen, S. (2016). A global analysis of parenchyma tissue fractions in secondary xylem of seed plants. *New Phytologist*, *209*, 1553–1565.
- Müller, G. B. (2007). Evo-devo: Extending the evolutionary synthesis. *Nature Reviews Genetics*, *8*, 943–949.
- Olson, M. E. (2012). The developmental renaissance in adaptationism. *Trends in Ecology & Evolution*, *27*, 278–287.
- Olson, M. E., & Carlquist, S. (2001). Stem and root anatomical correlations with life form diversity, ecology, and systematics in *Moringa* (Moringaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, *135*(4), 315–348.
- Olson, M. E., & Rosell, J. A. (2006). Using heterochrony to detect modularity in the evolution of stem diversity in the plant family Moringaceae. *Evolution*, *60*, 724–734.
- Patterson, C. (1982). Morphological characters and homology. In K. A. Joysey & A. E. Friday (Eds.), *Problems of phylogenetic reconstruction* (pp. 21–74). London: Academic Press.
- Pellis, S. M., & Pellis, V. C. (2012). Anatomy is important, but need not be destiny: Novel uses of the thumb in aye-ayes compared to other lemurs. *Behavioural Brain Research*, *231*, 378–385.
- Perez, S. I., de Aguiar, M. A. M., & Guimarães Jr., P. R. (2009). Searching for modular structure in complex phenotypes: Inferences from network theory. *Evolutionary Biology*, *36*, 416–422.
- R Development Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing; R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria, v. 3.2.1.
- Revell, L. J. (2012). Phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology & Evolution*, *3*, 217–223.
- Roseman, C. C., Kenny-Hunt, J. P., & Cheverud, J. M. (2009). Phenotypic integration without modularity: Testing hypotheses about the distribution of pleiotropic quantitative trait loci in a continuous space. *Evolutionary Biology*, *36*, 282–291.
- Rosell, J. A. (2010). Diversificación adaptativa en las plantas leñosas: Sostén, almacenamiento y conducción, en tallos del clado simaruba (*Bursera*, Burseraceae). Tesis de Doctorado en el Posgrado en Ciencias Biológicas, Instituto de Biología, UNAM. México, D. F. p. 175.
- Rosell, J. A., Olson, M. E., Weeks, A., De-Nova, J. A., Medina Lemos, R., Pérez Camacho, J., ... Eguiarte, L. E. (2010). Diversification in species complexes: Tests of species origin and delimitation in the *Bursera simaruba* clade of tropical trees (Burseraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *57*, 798–811.

- Rosell, J. A., & Olson, M. E. (2014). Do lianas really have wide vessels? Vessel diameter-stem length scaling in non self-supporting plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, *16*, 288–295.
- Rudall, P. J. (2007). *Anatomy of flowering plants. An introduction to structure and development* (p. 145). Cambridge: Cambridge University Press.
- Rzedowski, J., Medina, R., & Calderón, G. (2005). Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). *Acta Botanica Mexicana*, *70*, 85–111.
- Schlösser, G., & Wagner, G. P. (2004). Introduction: The modularity concept in developmental and evolutionary biology. In G. Schlösser, & G. P. Wagner (Eds.), *Modularity in development and evolution* (pp. 1–11). Chicago: The University of Chicago Press.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (2012). *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research* (p. 937). New York: W. H. Freeman and Company.
- Soligo, C. (2005). Anatomy of the hand and arm in *Daubentonia madagascariensis*: A functional and phylogenetic outlook. *Folia Primatologica; International Journal of Primatology*, *76*, 262–300.
- Sperry, J. S., & Hacke, U. G. (2004). Analysis of circular bordered pit function I. Angiosperm vessels with homogenous pit membranes. *American Journal of Botany*, *91*, 369–385.
- Stearns, S. C. (1992). *The evolution of life histories* (p. 249). New York: Oxford University Press.
- Swenson, N. G. (2014). *Functional and Phylogenetic Ecology in R* (p. 212). New York: Springer.
- Tabachnick, B. G., & Fidell, L. S. (2007). *Using multivariate statistics* (p. 980). UK: Pearson/Allyn and Bacon.
- Wagner, G. P. 1996. Homologues, natural kinds and the evolution of modularity. *American Zoologist*, *36*, 36–43.
- Wagner, G. P. (2001). Characters, units and natural kinds: An introduction. In: G. P. Wagner (Ed.), *The character concept in evolutionary biology* (pp. 1–11). San Diego, California: Academic Press.
- Wagner, G. P. (2014). *Homology, genes, and evolutionary innovation* (p. 478). USA: Princeton University Press.
- Wagner, G. P., & Altenberg, L. (1996). Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution*, *50*, 967–976.
- Wagner, G. P., & Mezey, J. G. (2004). The role of genetic architecture constraints in the origin of variational modularity. In: G. Schlösser, & G. P. Wagner (Eds.), *Modularity in development and evolution* (pp. 338–358). Chicago: The University of Chicago Press.
- Wagner, G. P., Pavlicev, M., & Cheverud, J. M. (2007). The road to modularity. *Nature Reviews Genetics*, *8*, 921–931.
- West-Eberhard, M. J. (2003). *Developmental plasticity and evolution* (p. 794). Oxford: Oxford University Press.
- Ziemińska, K., Butler, D. W., Gleason, S. M., Wright, I. J., & Westoby, M. (2013). Fibre wall and lumen fractions drive wood density variation across 24 Australian angiosperms. *AoB Plants*, *5*, plt046.
- Ziemińska, K., Westoby, M., & Wright, I. J. (2015). Broad anatomical variation within a narrow wood density range—A study of twig wood across 69 Australian angiosperms. *PLoS ONE*, *10*, e0124892.

**How to cite this article:** Montes-Cartas G, Padilla P, Rosell JA, Domínguez CA, Fornoni J, Olson ME. Testing the hypothesis that biological modularity is shaped by adaptation: Xylem in the *Bursera simaruba* clade of tropical trees. *Evolution & Development*. 2017;19:111–123. <https://doi.org/10.1111/ede.12225>

## APPENDIX 1

## Anatomical variables and their putative functions in secondary xylem

Anatomical variable	Definition	Function
Ray % area (R)	The percent of a linear transect perpendicular to the rays occupied by rays in transection, 25 transects per sample.	Water and starch storage <sup>a,b</sup> . A higher ray percentage should be associated with greater storage capacity.
Ray cell lumen area (RCA)	Ray parenchyma cell lumen available for storage as seen in transection. We measured widths and lengths of ray cell lumina as seen in transection to calculate the area. We calculated 25 RCA per sample.	Water and starch storage. Parenchyma cells with greater lumen area should have greater storage capacity.
Axial parenchyma lumen area (APA)	Axial parenchyma cell lumen as seen in transection. We measured widths and lengths of axial parenchyma lumina as seen in transection to calculate the area. We calculated 25 APA per sample.	Water and starch storage <sup>a,b</sup> . Larger areas imply greater storage capacity.
Axial parenchyma wall thickness (APWT)	Thickness of the wall of axial parenchyma cells as seen in transection. We measured wall thickness on the same cells for which we calculated APA.	Water and starch storage <sup>a,b</sup> . Thicker walls presumably reduce space available for storage.
Vessel % area (V)	Percentage of a given area of wood transection that is occupied by vessels. We measured with transects as for rays.	Water and solute conduction <sup>a,b</sup> . A higher vessel percentage could be associated with greater conductive capacity.
Vessel density (VD)	Number of vessels per mm <sup>2</sup> in transection. We measured 25 VD per sample.	Water and solute conduction <sup>a,b</sup> . All else being equal, more vessels per unit transection could be associated with greater conductive capacity.
Vessel lumen area (VA)	Vessel lumen available for water conduction <sup>a,b</sup> as seen in transection. We measured major and minor cell diameters of vessels to calculate vessel lumen area. We measured vessels that intersected with the transects in V. We calculated 25 VA per sample.	Water and solute conduction <sup>a,b</sup> . Wider areas imply greater conductive capacity.
Vessel element length (VL)	Axial tip-to-tip distance of a vessel element as seen in macerations. We measured 25 VL per sample.	Water and solute conduction <sup>a,b</sup> . Vessels made up of longer vessel elements are sometimes suggested to conduct water with less resistance than those made up of short ones <sup>c,d</sup> .
Vessel wall thickness (VWT)	Thickness of the wall of a vessel element as seen in transection. We measured wall thickness in the vessel elements for which we calculated VA.	Water and solute conduction <sup>a,b</sup> . Thicker walls presumably resist vessel wall deformation but reduce lumen space available for conduction.
Fiber % area (F)	Percentage of a given area of wood transection that is occupied by fibers. We measured with transects as for rays.	Mechanical support of the whole plant <sup>a,b</sup> . Large amounts of axial parenchyma, rays, and vessels would presumably exclude fibers in secondary xylem and reduce support capacity <sup>a</sup> .
Fiber lumen area (FA)	Fiber cell lumen area <sup>a,b</sup> as estimated from macerations. We measured widest distance of the same fibers in which we measured FL, and calculated transectional area assuming a circular cross section.	Fibers are regarded as serving in mechanical support of the whole plant <sup>a,b</sup> . Wider fibers in <i>Bursera</i> seem likely to provide less mechanical support than narrow ones because of the lower amount of rigid cell wall per unit transection.
Fiber length (FL)	Axial tip-to-tip distance of a fiber as seen in maceration. We measured 25 FL per sample.	Mechanical support of the plant <sup>a,b</sup> . Longer fibers are often associated with greater stem resistance to bending.
Fiber wall thickness (FWT)	Thickness of the wall of a fiber cell as seen in transection. We measured FWT adjacent to vessels for which we calculated VA.	Mechanical support of the plant <sup>a,b</sup> . Fibers with thicker walls are associated with greater resistance to bending of the stem.

<sup>a</sup>Mauseth (1988).<sup>b</sup>Carlquist (2001).<sup>c</sup>Carlquist (1996).<sup>d</sup>Jacobsen et al. (2005).

## **CAPÍTULO IV**

**Módulos morfológicos en *Bursera grandifolia* y *Bursera simaruba* en distintos ambientes.**

## Módulos morfológicos en *Bursera grandifolia* y *Bursera simaruba* en distintos ambientes.

### Resumen

Una característica de la organización modular es la relativa independencia de los subconjuntos de covariación que permiten realizar ajustes al interior de los módulos sin alterar el funcionamiento del organismo. Los módulos o subconjuntos de covariación están delimitados en gran medida por la función que llevan a cabo, de tal manera que presentan un ajuste entre la forma y la función que maximiza su desempeño y contribuye a la diversidad morfológica por lo que es importante entender sus causas. Nos propusimos explorar la variación y las correlaciones de los caracteres anatómicos del xilema secundario de las ramas terminales de dos especies *Bursera grandifolia* y *B. simaruba* pertenecientes al mismo clado creciendo en distintos sitios. Los resultados mostraron una organización modular de los caracteres anatómicos en ambas especies. Los conjuntos de covariación mostraron similitudes y diferencias entre las especies y con respecto al clado *simaruba* de *Bursera* en términos de las asociaciones de caracteres e intensidad de la interacción, independientemente de la técnica estadística utilizada para su identificación. La persistencia de algunas covariaciones de caracteres está explicada en términos de las rutas de desarrollo compartido, las disyuntivas y la función, que se han mantenido a lo largo de la diferenciación de estas especies. También registramos diferencias en el patrón general de la estructura modular que contribuye a la diversidad morfológica. Algunos caracteres anatómicos mostraron variaciones entre los sitios de muestreo, pero no es clara su relación con las características ambientales de los mismos. Discutimos la estructura modular considerando la flexibilidad de los módulos para ajustarse a distintas presiones de selección y el papel que juegan los patrones de covariación intra e interespecíficos para entender la diversidad morfológica.

### Introducción

Los organismos están estructurados por un conjunto de caracteres organizados en módulos (Bolker, 2000; Eble, 2005; Breuker *et al.*, 2006). La organización modular permite la modificación al interior de los módulos con relativa independencia, confiriéndole al sistema biológico flexibilidad para cambiar sin romper o alterar la estructura general, y por lo tanto sin afectar la funcionalidad del organismo (Wagner, 1996; Breuker *et al.*, 2006; Espinosa-Soto y Wagner, 2010), inclusive en especies cercanamente relacionadas (Eble, 2005). Las modificaciones en la estructura modular generan variaciones en la morfología y contribuyen a explicar la diversidad morfológica (Wagner, 1996; Wagner y Altenberg, 1996; Kirschner y Gerhart, 1998; West-Eberhard, 2003; Schlosser y Wagner, 2004; Wagner y Mezey, 2004; Klingenberg, 2008; Clune *et al.*, 2013).

Si bien la organización modular es importante para entender la diversidad morfológica y ha sido reconocida en diversos grupos de organismos, tanto en plantas (Olson y Rosell, 2006) como en animales (Cheverud, 1995; Marroig y Cheverud, 2005,

2010), también es importante conocer cómo se modifica dicha organización al interior de los subconjuntos de covariación y qué causas pueden ser las responsables de dichas modificaciones. Conocer las variaciones dentro de los subconjuntos de covariación contribuiría a explicar la diversidad morfológica que observamos en los organismos. Una de las explicaciones ampliamente difundidas como responsable de la organización modular es la función. Los módulos pueden modificarse cuando están sometidos a distintas presiones de selección haciendo un ajuste entre la forma y la función (Wagner, 1996; Breuker *et al.*, 2006; Müller, 2007) que contribuye a maximizar su desempeño, por ejemplo bajo diferentes condiciones ambientales (Edwards y Weining, 2011; Pélabon *et al.*, 2011).

Previamente mostramos (capítulo III) que el xilema secundario de las ramas terminales en el clado *simaruba* de *Bursera* tiene una estructura modular y las causas de la covariación están asociadas a la ontogenia (Mauseth, 1988; Carlquist, 2001; Losos, 2011; Olson, 2012), la disponibilidad de recursos (Mauseth, 1988; Stearns, 1992; Carlquist, 2001; Rosell y Olson, 2014) y la función (Wagner, 1996; Klingenberg, 2003b; Breuker *et al.*, 2006; Wagner *et al.*, 2007; Durán-Guerra *et al.*, 2014). El clado tiene un número reducido de especies (Rosell *et al.*, 2010), que se desarrollan bajo distintas condiciones ambientales creciendo en diferentes tipos de vegetación (Rzedowski *et al.*, 2005; Rosell *et al.*, 2010). Las distintas condiciones ambientales implicarían que las especies del grupo están sometidas a diferentes presiones de selección lo que las llevaría a hacer un ajuste entre la forma y la función, maximizando su desempeño (Bock y von Walhlert, 1965; Lewontin, 1978; Gans, 1988). Si las especies están expuestas a distintas presiones ambientales, cabría preguntar si los patrones de covariación intraespecíficos muestran modificaciones asociadas a estas condiciones con respecto al patrón de covariación observado en el clado.

Los patrones de covariación se han explorado en distintos grupos taxonómicos tratando de explicar los procesos subyacentes que mantienen o modifican los patrones de covariación y contribuyen a entender la diversidad morfológica en los diferentes niveles de organización (Berg, 1960; Lande, 1979; Lande y Arnold, 1983; Conner y Vial, 1993; Marroig y Cheverud, 2005, 2010). La selección juega un papel importante al actuar sobre los conjuntos de covariaciones morfológicas (Lande, 1979; Lande y Arnold, 1983) ya que modifica los patrones de covariación morfológica favoreciendo nuevos conjuntos de covariación (Berg, 1960; Begin y Roff, 2003; Marroig y Cheverud, 2005) o modificando el grado de asociación entre los caracteres (Marroig y Cheverud, 2001; Jones *et al.*, 2004), es decir, puede modificar las correlaciones (Conner y Vial, 1993). Un ejemplo de patrón de covariación que se mantiene corresponde a los cráneos de diversos géneros de monos del nuevo mundo. Los distintos géneros conservan el patrón de covariación del cráneo siguiendo la línea de mínima resistencia evolutiva (Schluter, 1996; Marroig y Cheverud, 2005, 2010). Los patrones de covariación también se pueden modificar si la selección favorece la independencia funcional entre caracteres como se ha observado en la reducción de las asociaciones entre los caracteres florales y vegetativos (Berg, 1960, Conner y Vial, 1993).

Dado que una de las características de los sistemas modulares es la modificación de los subconjuntos de covariación, pusimos a prueba la idea que los módulos pueden modificarse bajo diferentes condiciones ambientales al hacer el organismo un ajuste entre la forma y la función. Las condiciones ambientales podrían contribuir a modificar dichos conjuntos de covariación diversificando las características de dichos subconjuntos. Para ello elegimos dos especies que pertenecieran a un clado y que

estuvieran expuestas a distintas presiones de selección. Al formar parte del mismo clado, descienden de un mismo ancestro, y las variaciones que observamos son resultado de modificaciones posteriores. Para poner a prueba la idea de la variación de los conjuntos de covariación utilizamos dos especies correspondientes al clado *simaruba*, *Bursera grandifolia* y *B. simaruba* que tienen una distribución amplia creciendo bajo diferentes tipos de vegetación (Rzedowski *et al.*, 2005; Rosell *et al.*, 2010) lo que nos permitiría explorar las modificaciones en los conjuntos de covariación expuestos a distintas condiciones ambientales (anexo 2 capítulo II). Utilizamos el xilema secundario, por ser un sistema relativamente sencillo de manejar por su reducido número de tipos celulares y funciones claramente identificadas (Baas, 1986; Mauseth, 1988; Carlquist, 2001).

Los conjuntos de covariación en las ramas del clado *Bursera* pueden presentar ajustes o modificaciones de los conjuntos de covariación. La red de covariación de los caracteres anatómicos podría mostrar modificaciones en las conexiones entre los caracteres y la intensidad de la asociación entre los caracteres anatómicos en relación a las condiciones ambientales en las que la especie se desarrolla, es decir, a nivel de los módulos o subconjuntos de covariación habría un ajuste entre éstos y el ambiente relacionados con su función. Por ejemplo, en ambientes con alta disponibilidad de agua esperaríamos encontrar una fuerte relación entre los caracteres de conducción que tendieran a reforzar el sistema de conducción maximizando la conducción de agua/productos fotosintéticos, mientras que el resto de los caracteres podrían no relacionarse o tener una relación débil dentro del módulo. Dada la estructura modular del tallo, los ajustes o modificaciones se podrían realizar de manera independiente del resto de los caracteres, manteniendo la estructura general de los patrones de covariación en el tallo.

Para explorar esta idea nos propusimos identificar los conjuntos de covariación de los caracteres anatómicos del xilema secundario en las ramas terminales de *Bursera grandifolia* y *B. simaruba* que se desarrollan en diferentes sitios, así como la variación de los caracteres anatómicos. Con ello tratamos de explorar la idea de que los módulos pueden modificarse de una especie a otra, aún cuando pertenezcan al mismo clado, ya que están sujetas a diferentes presiones ambientales lo que puede generar un ajuste entre la forma y la función al interior de los módulos.

## **Materiales y métodos.**

### *Material vegetal.*

Las ramas terminales de 28 individuos (siete/sitio) de *Bursera grandifolia* y *B. simaruba* fueron colectadas en cuatro sitios diferentes (anexo 3, capítulo II) lo que nos permitió explorar las características anatómicas de cada especie creciendo en diferentes sitios (anexo 2, capítulo II) bajo distintas condiciones climáticas (anexo 2, capítulo II). Las muestras las procesamos como indicamos en el capítulo I para su observación en microscopio óptico. Una vez obtenidos los datos realizamos los análisis estadísticos utilizando R (R Core Development, 1995).

### *Señal filogenética.*

Los resultados del capítulo II con respecto a la señal filogenética indican que se debe tomar en cuenta el efecto de la filogenia sobre los caracteres morfológicos, ya que los valores de  $K$  y  $\lambda$  fueron altos. Sin embargo, los análisis del capítulo III mostraron que las matrices de correlaciones no fueron significativamente distintas al comparar el efecto de la filogenia. Considerando lo anterior, utilizamos las matrices de correlación sin efecto filogenético al realizar los análisis multivariados en el presente apartado.

### *Análisis de correlaciones.*

Como una primera aproximación para identificar los conjuntos de covariación entre variables anatómicas realizamos un análisis de correlaciones. Esto nos permitió identificar las variables asociadas y el grado o fuerza de la interacción entre ellas. Los análisis de correlaciones los realizamos para los cuatro sitios de manera conjunta en cada especie. Conjuntamos los sitios para su análisis para tratar de abarcar la mayor cantidad de variación con el mayor número de datos posible. Los resultados de los patrones de covariación los presentamos en el apartado de los resultados y estos resultados dan pie a la posibilidad de explorar a futuro los patrones de covariación en cada sitio incrementando el número de datos. Obtuvimos el coeficiente de correlación de Pearson y su nivel de significancia de las 13 variables anatómicas. Los datos fueron transformados cuando fue necesario para cumplir con los criterios de normalidad y homocedasticidad (Sokal y Rolph, 2012).

### *Análisis multivariados.*

Exploramos la presencia de módulos de los caracteres anatómicos a través de análisis multivariados. Los métodos que usamos fueron el análisis de conglomerados y de factores por ser de los más comúnmente empleados para identificar los módulos (Magwene, 2001; Goswami y Polly, 2010; Klingenberg, 2003a; Mitteroecker y Bookstein, 2007). Los análisis multivariados los realizamos para los cuatro sitios de manera conjunta en cada especie. Al igual que en el capítulo II, para el análisis de conglomerados utilizamos el vecino más cercano y la distancia euclidiana y para el análisis de factores, componentes principales y rotación varimax. A través de ellos obtuvimos los conjuntos de covariación que interpretamos como módulos.

### *Variación de los caracteres anatómicos entre los sitios.*

Exploramos la respuesta de los caracteres anatómicos en función de los sitios a través de anovas y pruebas de Kruskal-Wallis (Sokal y Rolph, 2012). En caso de resultar significativa las diferencias en los caracteres anatómicos entre los sitios probamos las diferencias con un análisis de Tukey en el caso de los anovas (Sokal y Rolph, 2012).

## Resultados.

### *Material vegetal.*

Obtuvimos un total de 18, 200 datos correspondientes a las dos especies (anexo 3, capítulo II). A partir de estos datos realizamos los análisis de correlaciones y multivariados que nos permitieron identificar los conjuntos de covariación y cuyos resultados son los siguientes.

### *Análisis de correlaciones.*

*B. grandifolia.* Los resultados de la relación de las variables anatómicas muestran una red de covariación entre los caracteres anatómicos que involucra distintos tipos de tejidos. Los caracteres de almacenamiento y de conducción se relacionan entre ellos y con caracteres de sostén (Fig. 1). Destaca la asociación entre la densidad y el área de los elementos de los vasos ( $r = -0.73$ ,  $p < 0.0001$ ,  $n = 28$ ; Fig. 1) relacionados con la conducción en el xilema secundario de los tallos. Otra interacción importante, por su grado de asociación, se establece entre el porcentaje de radios y el grosor de la pared del parénquima axial ( $r = 0.67$ ,  $p < 0.0001$ ,  $n = 28$ ; Fig. 1) involucrados en la función de almacenamiento.





Otro grupo corresponde al área y el largo de los elementos de los vasos y el área de las fibras. La pared y el largo de las fibras forma otro grupo y finalmente, la pared de los elementos de los vasos representa un cuarto conglomerado.

Tabla 1a. Análisis de conglomerados de los caracteres anatómicos de *Bursera grandifolia*.

Grupo	Variable anatómica	Función
1	DV, APA, GPPA, R, ACR	Conducción (DV) y almacenamiento (APA, GPPA, R, ACR)
2	GPV	Conducción (PV)
3	LF, GPF	Sostén (LF, PF)
4	AV, LV, AF	Conducción (AV, LV) y almacenamiento (AF)

Tabla 1b. Análisis de conglomerados de los caracteres anatómicos de *Bursera simaruba*.

Grupo	Variable anatómica	Función
1	LV, LF	Conducción (LV) y almacenamiento (LF)
2	AV, AF, R, APA, GPPA	Conducción (AV), sostén (AF) y almacenamiento (R, APA, GPPA)
3	ACR	Sostén (RCA)
4	DV, PV, PF	Conducción (DV, PV) y almacenamiento (PF)

Abreviaciones: DV, densidad; LV, largo; AV, área y GPV, grosor de la pared de los elementos de los vasos; GPPA, grosor de la pared y APA, área del parénquima axial; R, porcentaje y ACR, área de la célula de los radios; LF, largo; GPF, grosor de la pared y AF área de las fibras.

*Bursera simaruba*. El análisis de conglomerados mostró cuatro grupos de caracteres anatómicos (tabla 1b) integrados de la siguiente forma. En un grupo se ubican los largos de los elementos de los vasos y las fibras. Otro grupo corresponde a caracteres relacionados con el almacenamiento como son el porcentaje de radios, y el grosor de la pared y el área del parénquima axial, de conducción, el área de los elementos de los vasos y de sostén, el área de las fibras. El área de las células de los radios define un grupo y finalmente, la pared de los elementos de los vasos y las fibras junto con la densidad de los vasos integran un cuarto conglomerado.

#### Factores.

*Bursera grandifolia*. El análisis de factores explicó el 70% de la variación de los datos (tabla 2a) en los cuatro principales factores (tabla 2b). El primer factor está determinado por el porcentaje de los radios y el grosor de la pared del parénquima axial. El segundo factor está determinado por las cargas factoriales de la densidad, el largo y el área de los elementos de los vasos. El tercer factor está dado por la pared de los elementos de los vasos y el área de las células de los radios, mientras que el cuarto factor está explicado por la pared y el largo de la fibra.

Tabla 2a. Porcentaje de la varianza explicado en el análisis de factores de los caracteres anatómicos de *Bursera grandifolia*.

Factor	1	2	3	4
Eigenvalores				
Suma de cuadrados de las cargas	2.31	2.21	1.66	1.56
Proporción de la varianza	0.21	0.20	0.15	0.14
Varianza acumulada	0.21	0.41	0.56	<b>0.70</b>
Proporción explicada	0.30	0.29	0.21	0.20
Proporción acumulada	0.30	0.58	0.80	1.00

El valor en negritas corresponde a la variación explicada.

Tabla 2b. Análisis de factores de los caracteres anatómicos de *Bursera grandifolia*.

Factor	1	2	3	4
Factor latente	Almacenamiento	Conducción	Conducción y almacenamiento	Sostén mecánico
Variable anatómica				
R	<b>0.89</b>	0.00	-0.05	-0.10
DV	-0.01	<b>-0.92</b>	0.04	0.00
AV	-0.05	<b>0.80</b>	-0.23	-0.02
GPV	-0.10	-0.13	<b>0.83</b>	-0.04
GPF	-0.30	0.26	0.39	<b>0.72</b>
LV	-0.14	<b>0.70</b>	0.04	-0.02
LF	0.04	-0.07	-0.19	<b>0.81</b>
AF	-0.38	0.16	0.18	-0.48
APA	0.56	-0.03	0.53	-0.32
GPPA	<b>0.78</b>	-0.29	-0.17	0.19
ACR	0.57	0.14	<b>-0.62</b>	0.08

Los valores en negritas corresponden a las mayores cargas factoriales en cada factor. Abreviaciones como en la tabla 1.

*Bursera simaruba*. El análisis de factores explicó el 76% de la variación de los datos (tabla 3a) en los cuatro principales factores (tabla 3b). El primer factor está determinado por la densidad, el área de los elementos de los vasos y el área del parénquima axial. El segundo factor está determinado por las cargas factoriales del largo de los elementos de los vasos y el largo de las fibras. El tercer factor está dado por el porcentaje de los radios, mientras que el cuarto factor está explicado por el área de las células de los radios. Tabla 3b.

Tabla 3a. Porcentaje de la varianza explicado en el análisis de factores de los caracteres anatómicos de *Bursera simaruba*.

<b>Factor</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
Eigenvalores				
Suma de cuadrados de las cargas	3.42	2.15	1.62	1.21
Proporción de la varianza	0.31	0.20	0.15	0.11
Varianza acumulada	0.31	0.51	0.65	<b>0.76</b>
Proporción explicada	0.41	0.26	0.19	0.14
Proporción acumulada	0.41	0.66	0.86	1.00

El valor en negritas corresponde a la variación explicada.

Tabla 3b. Análisis de factores de los caracteres anatómicos de *Bursera simaruba*.

<b>Factor</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
Factor latente	Conducción y almacenamiento	Conducción y almacenamiento	Almacenamiento	Almacenamiento
Variable anatómica				
R	0.00	0.03	<b>0.93</b>	-0.08
DV	<b>-0.81</b>	-0.32	0.10	-0.22
AV	<b>0.79</b>	0.00	-0.23	-0.39
GPV	-0.58	-0.31	-0.27	-0.10
GPF	-0.66	-0.19	-0.31	0.15
LV	0.31	<b>0.85</b>	-0.24	0.05
LF	0.09	<b>0.92</b>	0.12	-0.07
AF	0.66	0.21	0.09	0.06
APA	<b>0.80</b>	-0.44	0.13	-0.03
GPPA	0.45	-0.33	0.63	-0.25
ACR	0.02	-0.03	-0.17	<b>0.95</b>

Los valores en negritas corresponden a las mayores cargas factoriales en cada factor. Abreviaciones como en la tabla 1.

Los análisis multivariados en ambas especies muestran una agrupación de caracteres anatómicos procedentes de distintos tipos celulares del xilema secundario de los tallos, conducción, sostén y almacenamiento (tablas 1, 2). Semejante a los resultados del análisis de correlaciones observamos asociaciones que se mantienen como es el caso del largo de los elementos de los vasos y las fibras en *Bursera simaruba* (Fig. 2), que se recuperan tanto en el análisis de correlaciones (tabla 1b) como en el de factores (tabla 3b). Mientras que asociaciones como la densidad y el área de los elementos de los vasos presente en el análisis de correlaciones (Fig. 1) y de factores (tabla 2b) en *B. grandifolia* se ubican en grupos separados en el análisis de conglomerados (tabla 1a).

*Caracteres anatómicos en función de los sitios.*

*Bursera grandifolia*. De los 13 caracteres anatómicos explorados con respecto a los distintos sitios, observamos que el área y largo de los elementos de los vasos (tabla 4a) y el largo de las fibras fueron significativamente distintos entre los sitios (tabla 4b). Con respecto al área de los elementos de los vasos, el promedio menor se registró en Chamela, Jal. que difirió significativamente de Agua Milpa, Nay. y de Colima, Col. (Fig. 3a) y el mayor promedio se registró en Colima, Col. Tanto Chamela, Jal. como Colima, Col. son sitios con bajas precipitaciones (anexo 2, capítulo II). El área de los elementos de los vasos en Zacatépec, Mor. con una mayor precipitación (anexo 2, capítulo II), no fue significativamente diferente de Agua Milpa, Nay. y de Colima, Col. (Fig. 3a) con la menor precipitación (anexo 2, capítulo II). El largo de los elementos de los vasos fue mayor en Agua Milpa, Nay. y sólo fue significativamente distinto de Zacatépec, Mor. (Fig. 3b), el sitio con mayor precipitación anual (anexo 2, capítulo II). El largo de los elementos de los vasos fue menor en Zacatépec, Mor. que difirió significativamente de Agua Milpa, Nay. (Fig. 3b) y en el largo de la fibra observamos el mayor promedio en Agua Milpa, Nay. y el menor en Zacatépec, Mor. (Fig. 3c).

Tabla 4a. Análisis de varianza de los caracteres anatómicos de *Bursera grandifolia* en función de los sitios.

Variable anatómica	FV	GL	SC	CM	F	P
AV	Sitio	3	8134864	2711621	5.931	**
	Residuales	24	10973565	457232		
LV	Sitio	3	27484	9161	5.197	**
	Residuales	24	42305	1763		

FV, fuente de variación; GL, grados de libertad; SC, suma de cuadrados; CM, cuadrados medios; P, nivel de significancia; P \*\* < 0.01. Abreviaciones de los caracteres anatómicos como en la tabla 1.

Tabla 4b. Análisis de Kruskal-Wallis del largo de la fibra de *Bursera grandifolia* en función de los sitios de muestreo.

X <sup>2</sup>	GL	P
7.8209	3	***

X<sup>2</sup>, Chi-cuadrada; GL, grados de libertad; P, nivel de significancia; P \* < 0.05.

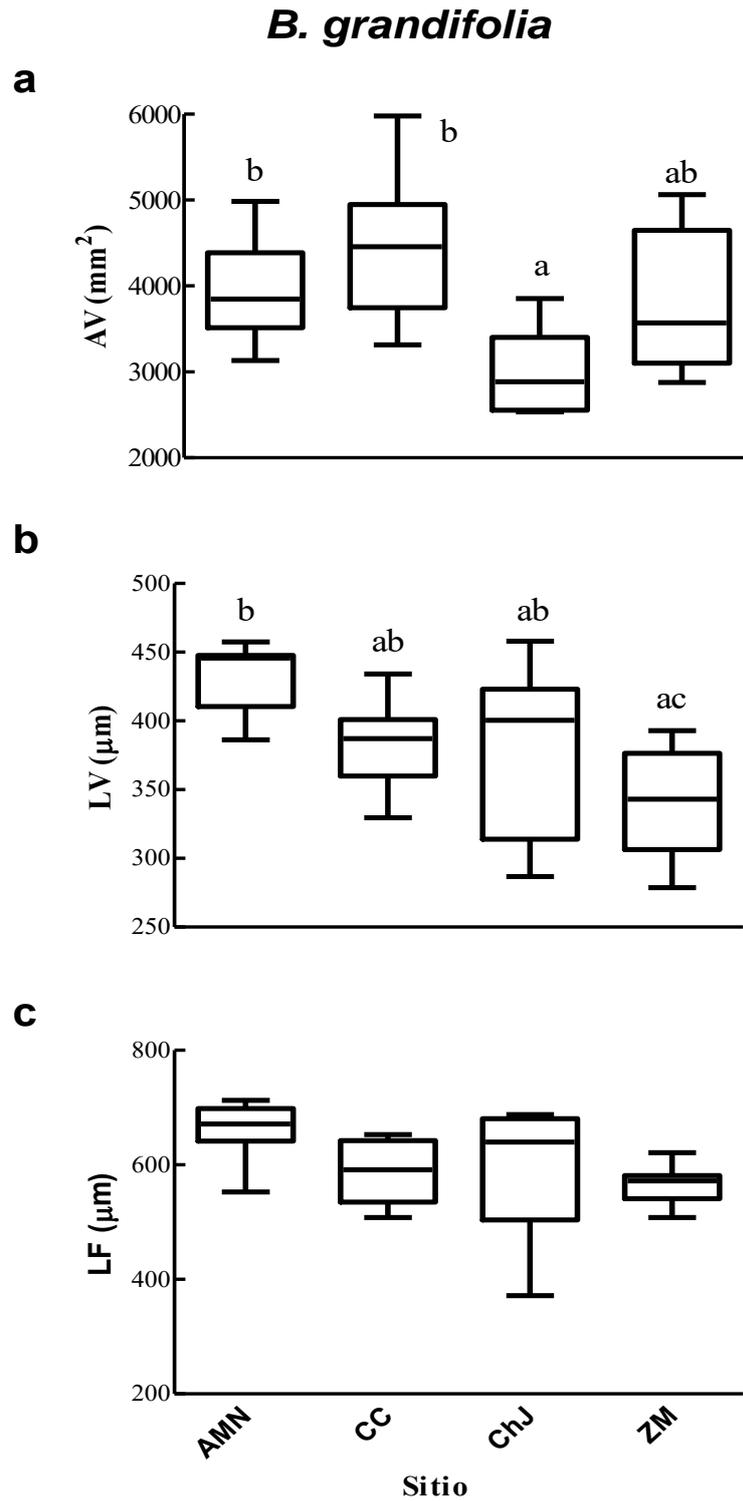


Fig. 3. a) Área y b) largo de los elementos de los vasos y c) largo de las fibras de *B. grandifolia* en diferentes sitios. Abreviaciones: AV y LV, área y largo de los elementos de los vasos respectivamente; LF, largo de las fibras. AMN, Agua Milpa, Nay.; CC, Colima, Col.; Chamela, Jal.; ZM, Zacatépec, Morelos.

*Bursera simaruba*. Las diferencias observadas de los caracteres anatómicos con respecto a los sitios correspondieron al porcentaje de fibras y elementos de los vasos y a la densidad de los elementos de los vasos (tabla 5). El mayor porcentaje de fibras correspondió al individuo colectado en Cozumel, Q. Roo. y el menor porcentaje se ubicó en Los Tuxtlas, Ver., los cuales difirieron significativamente entre ellos, así como el porcentaje de fibras entre Tierra Colorada, Guer. y Agua Caliente, Jal. (Fig. 4a). El porcentaje de vasos fue mayor en Los Tuxtlas, Ver. y el menor en Tierra Colorada, Guer., los cuales difirieron significativamente. El porcentaje de vasos en Cozumel, Q. Roo. difirió significativamente del porcentaje de vasos en los Tuxtlas, Ver. y el de Tierra Colorada, Guer. y de Agua Caliente, Jal. (Fig. 4b). La densidad de los elementos de los vasos fue mayor en Agua Caliente, Jal. y menor en Tierra Colorada, Guer., los cuales difirieron significativamente (Fig. 4c).

Tabla 5. Análisis de varianza de los caracteres anatómicos de *Bursera simaruba* en función de los sitios.

Variable anatómica	FV	GL	SC	CM	F	P
F	Sitio	3	756.1	252.02	10.3	***
	Residuales	24	587.0	24.46		
V	Sitio	3	686.6	228.87	10.97	***
	Residuales	24	500.7	20.86		
DV	Sitio	3	2985	994.9	5.627	**
	Residuales	24	4243	176.8		

FV, fuente de variación; GL, grados de libertad; SC, suma de cuadrados; CM, cuadrados medios; P, nivel de significancia; P \*\* < 0.01, P \*\*\* < 0.001. Abreviaciones de los caracteres anatómicos como en la tabla 1.

## *B. simaruba*

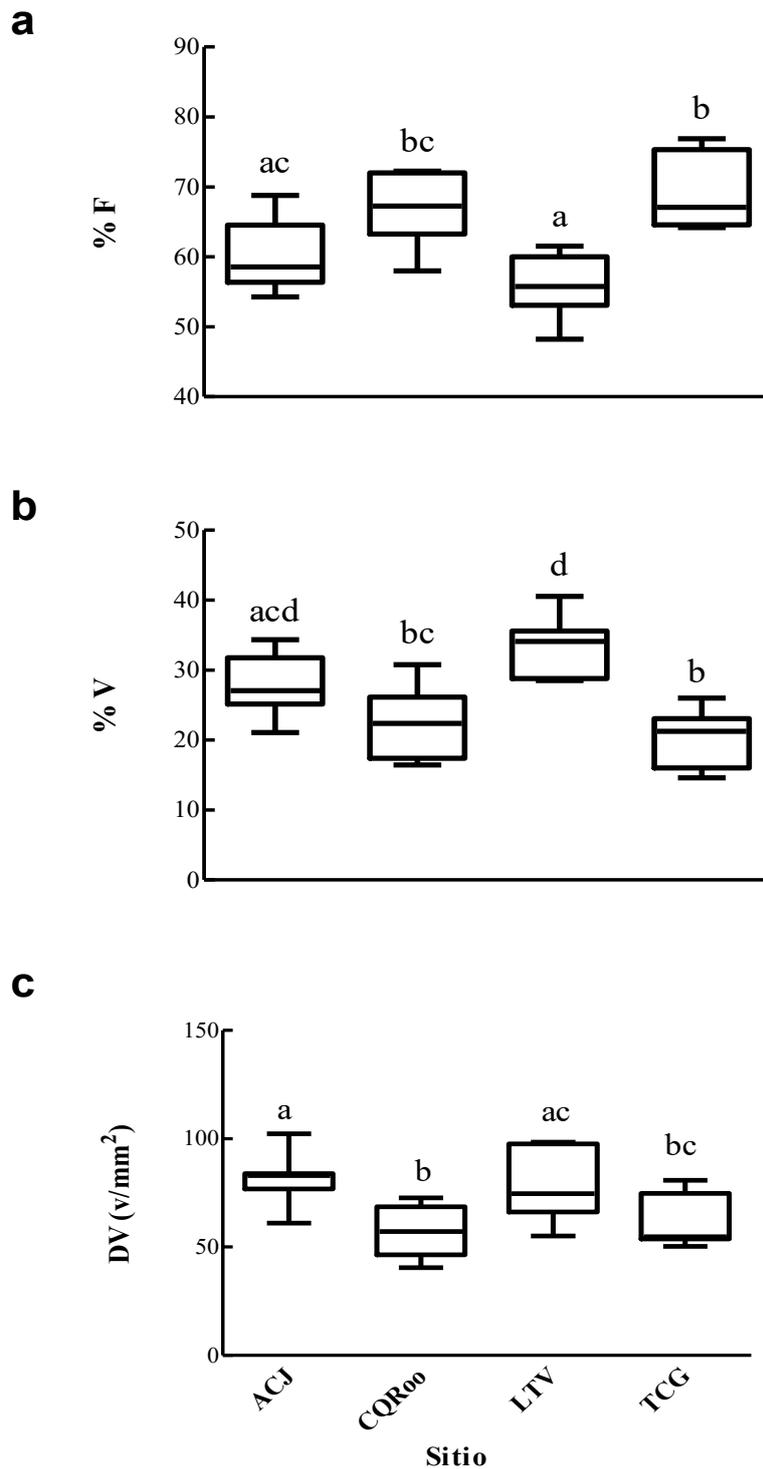


Fig. 4. Porcentaje de tejido de a) las fibras y b) los elementos de los vasos y c) la densidad de los elementos de los vasos de *B. simaruba* en diferentes sitios. Abreviaciones: F y V, porcentajes de fibras y elementos de los vasos respectivamente; DV, densidad de los elementos de los vasos. ACJ, Agua Caliente, Jal.; CQRoo, Cozumel, Q. Roo; LTV, Los Tuxtlas, Ver.; TCG, Tierra Colorada, Guerrero.

Los resultados de las relaciones entre los caracteres anatómicos y las condiciones ambientales no parecen ser del todo claras. De las trece variables anatómicas medidas sólo seis variables mostraron un comportamiento distinto entre los sitios. Estas variables fueron el área y el largo de los elementos de los vasos y de las fibras en *Bursera grandifolia* y el porcentaje de fibras y la densidad y el porcentaje de los elementos de los vasos en *B. simaruba*. Estos caracteres anatómicos mostraron variación entre los sitios y estas variaciones no parecen estar explicadas únicamente en función de las diferencias ambientales exploradas entre los sitios.

## Discusión.

Exploramos el comportamiento de los caracteres anatómicos de dos especies (*Bursera grandifolia* y *B. simaruba*) que crecen en sitios con diferentes condiciones ambientales. Identificamos los conjuntos de covariación de cada especie en estos sitios a través de diferentes métodos y observamos las variaciones en los caracteres anatómicos en los distintos sitios. Los conjuntos de covariación identificados en estas dos especies recuperan características de los módulos identificados en el capítulo III, así como algunas asociaciones entre caracteres. Aún cuando algunos caracteres anatómicos varían entre los sitios no es del todo claro que estas variaciones se deban sólo a causas ambientales. Comparamos estos resultados con la estructura modular del clado y discutimos sus posibles implicaciones en términos de la flexibilidad modular y las implicaciones de la permanencia y modificación de los conjuntos de covariación dentro y entre las especies que ayudan a explicar la variación morfológica.

### *Conjuntos de covariación*

*Análisis de correlaciones.* Las dos especies muestran una red de covariación entre los caracteres anatómicos de distintos tipos celulares que varían en términos de las asociaciones que establecen y la fuerza de la interacción entre los caracteres anatómicos. Básicamente las causas de la covariación son las que identificamos previamente, ontogenia, disponibilidad de recursos y función en el capítulo III. De las asociaciones de caracteres anatómicos destacan la densidad y el área (Fig. 1) en términos de la competencia por el espacio como recurso; las asociaciones entre distintos caracteres del parénquima (Fig. 1), por su función de almacenamiento, la densidad y el grosor de las paredes de los elementos de los vasos (Fig. 2), por su función de conducción y los largos de las fibras y los elementos de los vasos (Fig. 2), por su ruta de desarrollo compartido.

La relación entre los largos de las fibras y los elementos de los vasos en *Bursera simaruba* y en *B. grandifolia* creciendo en Colima, Col., Chamela, Jal. y Zacatepec, Mor., como lo mencionamos en el capítulo III, se puede explicar en términos de la ontogenia (Baas, 1986; Losos, 2011; Olson, 2012). Ambos caracteres se desarrollan a partir de las células fusiformes iniciales del cambium por lo que el largo de ambos caracteres está fuertemente ligado por su desarrollo desde el principio, a pesar de la presión de selección que podría propiciar caracteres de fibras más largos favoreciendo el sostén o elementos de vasos más cortos que disminuyan el riesgo de embolismo (Baas,

1986; Mauseth, 1988; Stearns, 1992; Carlquist, 2001). Si en este caso la relación está fuertemente determinada por una ruta de desarrollo común de los caracteres (Stearns, 1992; Klingenberg, 2008), otras causas de asociaciones están vinculadas a la función y la disponibilidad de recursos como en algunos caracteres de los elementos de los vasos.

Con respecto a la densidad de los elementos de los vasos, este carácter anatómico está fuerte y negativamente ligado con el área de los mismos. La relación negativa entre la densidad y el área de los elementos de los vasos es bastante conocida (Rosell y Olson, 2014) y la explicamos como una competencia de espacio en el xilema secundario, en donde una densidad alta de los elementos de los vasos restringe el lumen de los mismos, estableciendo una disyuntiva entre estos caracteres por el espacio (Rosell, 2010; Stearns, 1992) en el xilema secundario. Otras asociaciones de los caracteres de los elementos de los vasos parecen explicarse en términos funcionales favoreciendo la conducción de agua/productos fotosintéticos y disminuyendo el riesgo de cavitación, como la densidad y el grosor de la pared de los elementos de los vasos.

Al incrementarse la densidad de los elementos de los vasos, el grosor de las paredes aumenta probablemente como refuerzo de las paredes. El engrosamiento de las paredes puede contribuir a disminuir la deformación de las mismas pero disminuiría el área de los de los elementos de los vasos limitando la conducción. La reducción en el lumen de los elementos de los vasos y el engrosamiento de sus paredes disminuyen el riesgo de cavitación (Ewers, 1985; Carlquist, 1975, 2001; Hacke *et al.*, 2001; Jacobsen *et al.*, 2005, 2007a, 2007b) y el flujo se podría mantener con el incremento en la densidad. La densidad también estuvo asociada negativamente con el largo de los elementos de los vasos. Al igual que en el caso de la densidad y el grosor de la pared de los elementos de los vasos, pudiera tratarse de reforzar a los elementos de los vasos disminuyendo el largo al incrementarse el número de los mismos en el xilema secundario de los tallos, a costa de incrementar la resistencia al paso de agua/productos fotosintéticos (Carlquist, 1996; Jacobsen *et al.*, 2005). Otra relación probablemente de tipo funcional, la observamos entre el porcentaje de los radios y el grosor de la pared del parénquima axial (Fig. 1), que a su vez está asociado con el área de las células de los radios en *Bursera grandifolia* (Fig. 1) y *B. simaruba* (tabla 1b). Estos caracteres, asociados al almacenamiento (Mauseth, 1988. Carlquist 2001), quizás refuercen de manera conjunta el tejido de almacén, aunque no hay antecedentes de una explicación puntual de la interacción entre estos caracteres anatómicos.

*Análisis multivariados.* Al realizar los análisis multivariados explorando la asociación de conjuntos de caracteres, observamos que las asociaciones detectadas en el análisis de correlación, en general, se recuperan en los análisis de conglomerados y de factores. Asimismo, también identificamos asociaciones entre distintos tipos de caracteres (conducción, sostén y almacenamiento), tanto en el análisis de conglomerados como en el de factores. Los conjuntos de covariación identificados están explicados en función de la ontogenia, la disponibilidad de recursos y la función de los caracteres anatómicos, como mencionamos en el capítulo III. Si bien, hay diferencias entre los conjuntos de covariación identificados a través de distintos métodos, en todos observamos una estructura modular de los caracteres anatómicos del xilema secundario en las ramas terminales de los tallo.

### ***Variación de los caracteres anatómicos en los sitios.***

Además de la estructura modular y las causas de las covariaciones que observamos entre los caracteres anatómicos, nos propusimos investigar si la variación de los caracteres anatómicos de estas dos especies estaba relacionada con los sitios en los que crecen los individuos. Es ampliamente conocido que los caracteres anatómicos asociados a distintas funciones están fuertemente influenciados por el ambiente (Baas, 1986; Mauseth, 1988; Carlquist, 2001; Rosell y Olson, 2004). Nos propusimos indagar si las interacciones que observamos se pueden ver afectadas al estar sujetas a distintas presiones ambientales. Los resultados mostraron que el área, la densidad, el largo y el porcentaje de los elementos de los vasos, el largo y el porcentaje de las fibras fueron distintos en los sitios donde crecen *B. grandifolia* y *B. simaruba* (tablas 4 y 5) en donde las diferencias entre la precipitación son marcadas (anexo 3 capítulo II). Pareciera que las condiciones de precipitación influyen en estos caracteres. Por ejemplo, el área de los vasos es mayor en sitios con una alta precipitación anual como es Los Tuxtlas, Ver., sin embargo, el área de los elementos de los vasos no es menor en los sitios con menor precipitación. Aún cuando puede haber indicios que los caracteres estén relacionados con la precipitación, la relación no es del todo clara por lo que sería necesario explorar más a detalle las variaciones ambientales para relacionarlas con los caracteres anatómicos además de que se podría incrementar el número de muestras por sitio.

### ***Estructura modular en las especies y el clado.***

Los conjuntos de covariación detectados a través de distintas técnicas ponen de manifiesto la estructura modular (Figs. 1 y 2, tablas 2 y 3) en *Bursera grandifolia* y *B. simaruba*, especies pertenecientes al mismo clado. Al comparar los conjuntos de covariación entre estas especies con respecto al clado (Fig. 3 y tablas 2 y 3 del capítulo III), observamos que se ha mantenido una estructura modular y que algunas asociaciones relacionadas con el desarrollo, las disyuntivas y la función se han mantenido durante la especiación y la diversificación morfológica de los tallos (Rosell *et al.*, 2010). Las características similares se han podido mantener por patrones comunes de selección o rutas de desarrollo compartidas (Zeng, 1988; Marroig y Cheverud, 2005; 2010; Bisell y Diggle, 2008), aún cuando varíen las conexiones y la fuerza de la interacción entre ellos (Cheverud, 1984; Clark, 1987; Conner y Vial, 1993) sugiriendo que los procesos que actúan a nivel de especie nos ayudan a explicar las variaciones morfológicas a otros niveles taxonómicos (Cheverud, 2005; 2010).

La persistencia de las interacciones en el clado y las especies sugieren que los caracteres están vinculados a través de las rutas del desarrollo (Cheverud 1996; Wagner 1996) y pueden ser promovidas por selección (Conner y Vial, 1993; Schluter, 1996; Marroig y Cheverud, 2005, 2010). La persistencia de la relación entre los largos de los elementos de los vasos y las fibras, reconocida a nivel del clado y recuperada en *Bursera simaruba* y *B. grandifolia* creciendo en ciertos sitios, es un ejemplo de ello (Olson y Rosell, 2006; capítulo III). Interacciones o covariaciones por desarrollo compartido también se presentan en caracteres florales en otras especies (Conner y Vial, 1993; Kudoh *et al.*, 2001; Kálmán *et al.*, 2004; Mayr y Weber 2006), en lo que parece ser una característica común en ciertos tipos de flores (Berg, 1983; Conner y Vial, 1993; Bissell y Diggle, 2008); así como en animales (Schluter, 1996; Marroig y Cheverud, 2005, 2010). Sin embargo, la relación entre los largos de los elementos de los vasos y las fibras está ausente en *B. grandifolia*. No está claro qué causa el rompimiento o

desacoplamiento entre los caracteres. Se ha reportado que la selección puede favorecer el desacoplamiento de los caracteres optimizando su desempeño en funciones distintas que favorecen la adecuación (Conner y Vial, 1993; Marroig y Cheverud, 2005, 2010).

Además de la ruta de desarrollo compartida para mantener la covariación de los caracteres, las disyuntivas y la función juegan un papel importante (Stearns, 1992; Wagner, 1996) en la integración de los caracteres. Ejemplo de ello son las interacciones entre la densidad y el área y el grosor de las paredes los elementos de los vasos que se coordinan para mantener una conducción eficiente (Jacobsen *et al.*, 2005; Hacke *et al.*, 2001) y en las diversas interacciones entre los caracteres del parénquima (Mauseth, 1988; Carlquist, 2001;), en donde al parecer la selección juega un papel importante en su persistencia, tanto en las especies individuales como a nivel del clado. La estructura modular del xilema secundario en las ramas terminales parece ser bastante constante independientemente de la especie y de los sitios en los que estas especies se desarrollan, sometidas a distintas presiones ambientales.

Así como identificamos características comunes entre los conjuntos de covariación entre las especies y el clado, también pudimos reconocer las variaciones que se han presentado durante la diversificación morfológica en el tallo. Si bien el clado y las especies tienen una estructura modular, en ella observamos diferencias entre las conexiones y las variaciones en el grado o fuerza de la interacción (Fig. 3, capítulo III y Fig. 1, 2, tablas 2 y 3). Aún cuando podemos reconocer un patrón general en los subconjuntos de covariación a partir de un ancestro común, otras características del tallo han podido diversificarse de manera relativamente independiente, contribuyendo a la diversidad morfológica del grupo. A pesar de las diferencias en los conjuntos de covariación, podemos reconocer patrones que se han mantenido desde que se separaron del ancestro común, como ocurre en otros grupos de plantas (Bissell y Diggle, 2008) y animales (Marroig y Cheverud, 2005, 2010).

La persistencia de la estructura modular en las especies está relacionada con su origen. Ambas pertenecen al mismo clado, por lo que descienden del mismo ancestro (Rosell *et al.*, 2010) y comparten la misma estructura en el xilema secundario. La estructura modular podría permanecer por el origen mismo de las especies, y al mismo tiempo, la organización modular permitiría realizar ajustes o cambios que podemos observar en los tipos y fuerzas de algunas conexiones. Las variaciones observadas entre las especies con respecto al grupo sugerirían que estos conjuntos de covariación son relativamente flexibles y sujetos de modificación. Es decir, la estructura modular es flexible y permite hacer modificaciones a nivel de especie e inclusive dentro de la misma especie creciendo en sitios distintos. Los conjuntos de covariación o módulos son unidades de cambio evolutivo (Bolker, 2000; Eble, 2005; Breuker *et al.*, 2006) que permiten realizar ajustes en los organismos sin afectar de manera drástica el resto de los conjuntos de covariación (Wagner, 1996; Breuker *et al.*, 2006; Espinosa-Soto y Wagner, 2010). Al parecer mantener esta estructura en las especies le podría conferir también ventajas a las especies para ajustarse a las condiciones y a las distintas presiones de selección. Los ajustes que se hacen en la estructura modular podrían estar relacionados con las condiciones más locales de crecimiento, como las ambientales. Sin embargo, los caracteres anatómicos no mostraron una clara relación con las condiciones de precipitación y temperatura. Sería necesario continuar explorando las modificaciones en los conjuntos de covariación para tener un panorama más amplio de cómo la estructura modular se puede modificar y ajustar en estas especies.

De manera general podemos mencionar que los resultados de los patrones de covariación sugieren que los patrones que se detectan a nivel interespecífico son el resultado de las mismas causas que están operando a nivel intraespecífico (Marroig y Cheverud, 2005, 2010). Los patrones de covariación morfológica pueden facilitar o restringir el cambio en los conjuntos de variación morfológica (Marroig y Cheverud, 2005; 2010). En el caso de las covariaciones altas que no se modifican hay una fuerte restricción evolutiva sobre ellas (Conner y Vial, 1993). Los patrones de covariación quizás originados por el desarrollo son promovidos por selección natural (Cheverud, 1984; Zeng, 1988) como en el caso de la covariación de los largos de los vasos y las fibras presenten en el clado y *Bursera simaruba*. Esta covariación no estuvo presente en *B. grandifolia* ni en *B. grandifolia* creciendo en Agua Milpa, Nay. lo que podría sugerir que la selección favorece la separación de la covariación probablemente favoreciendo funciones distintas entre los caracteres (Berg, 1960, Conner y Via, 1993; Marroig y Cheverud, 2005), que no están del todo claras en *B. grandifolia*. Por otro lado, la selección también podría alterar los patrones de correlación incrementando la correlación entre caracteres funcionales que llevan a cabo una función (Cheverud, 1984; Clark, 1987; Conner y Vial, 1993) por lo que se favorecen las correlaciones positivas que incrementan la integración funcional como en el caso de los conjuntos de covariación entre caracteres del parénquima, tanto en el clado como en las especies *B. grandifolia* y *B. simaruba*. La selección puede alterar los conjuntos de covariación morfológica y se ha mostrado que los cambios en los conjuntos de covariación siguen las líneas de mínima resistencia evolutiva (máxima variación de los conjuntos de covariación) en la mayoría de los casos (Schluter, 1996; Marroig y Cheverud, 2005; 2010).

### Conclusiones.

Los caracteres anatómicos del xilema secundario de las ramas terminales de *Bursera grandifolia* y *B. simaruba* forman una red de covariación entre caracteres de distinto tipo celular, conducción, sostén y almacenamiento.

Los caracteres anatómicos muestran distintos grados de asociación y las asociaciones varían entre las especies estudiadas.

Algunos caracteres anatómicos del xilema secundario en las ramas terminales mostraron diferencias entre sitios y aunque no es contundente que estas diferencias se deban a las características ambientales exclusivamente, las condiciones de precipitación parecieran tener una mayor influencia.

Las interacciones entre los caracteres se presentan independientemente del tipo de análisis realizado, correlaciones y multivariados, mostrando una fuerte asociación entre caracteres anatómicos de distintos tipos celulares que se mantienen independientemente del tipo de análisis.

*Bursera grandifolia* y *B. simaruba* mostraron una estructura modular con similitudes y diferencias con respecto a la estructura modular del clado, lo que implica una flexibilidad en los conjuntos de covariación de estas especies que pudieran relacionarse con las condiciones locales de crecimiento. Asimismo, los conjuntos de covariación que

se mantienen en los diferentes niveles pueden ser explicados por los mismos procesos, es decir, algunos patrones de covariación a nivel del clado pueden ser explicados con los procesos que ocurren a nivel intraespecífico.

### **Bibliografía.**

- Baas, P. 1986. Ecological patterns in xylem anatomy. En T. J. Givnish (Ed.). On the economy of plant form and function (pp. 327–349). Cambridge: Cambridge University Press.
- Bégin, M. y D. A. Roff. 2003. The constancy of the G matrix through species divergence and the effects of quantitative genetic constraints on phenotypic evolution: a case study in crickets. *Evolution* 57:1107-1120.
- Berg, R. L. 1960. The Ecological Significance of Correlation Pleiades. *Evolution* 14: 171-180.
- Bissell, E. K. y P. K. Diggle. 2008. Floral morphology in *Nicotiana*: Architectural and temporal effects on phenotypic integration. *Int. J. Plant Sci.* 169:225–240.
- Bolker, J. A. 2000. Modularity in development and why it matters to evo-devo. *American Zoologist*, 40:770–776.
- Breuker, C. J., Debat, V. y C. P. Klingenberg. 2006. Functional evo-devo. *Trends in Ecology & Evolution* 21:488–492.
- Bock, W. J. y G. von Wahlert. 1965. Adaptation and the form-function complex. *Evolution* 19:269-299.
- Carlquist, S. 1975. Ecological strategies of xylem evolution (p. 259). Berkeley, California: University of California Press.
- Carlquist, S. 1996. Wood anatomy of primitive angiosperms: New perspectives and syntheses. In: D. W. Taylor & L. J. Hickey (Eds.), *Flowering plant origin, evolution, and phyogeny* (pp. 68–90). New York: Chapman and Hall.
- Carlquist, S. 2001. *Comparative wood anatomy: Systematic, ecological, and evolutionary aspects of dicotyledon wood* (2nd ed.) (p. 448). Berlin: Springer-Verlag.
- Cheverud, J. M. 1954. Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. *J. Theor. Biol.* 110:155-171.
- Cheverud, J. M. 1995. Morphological integration in the saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*) cranium. *American Naturalist* 145:63–89.
- Cheverud, J. M. 1996. Developmental integration and the evolution of pleiotropy. *American Zoologist* 36:44–50.

- Clark, A. G. 1987. Senescence and the genetic-correlation hang-up. *Am. Nat.* 129:932-940.
- Clune, J., Mouret, J. y H. Lipson. 2013. The evolutionary origins of modularity. *Proc. R. Soc. B.* 280: 20122863.
- Conner, J. y S. Vial. 1993. Patterns of phenotypic and genetic correlations among morphological and life-history traits in wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Evolution* 47:704-711.
- Durán-Guerra, O., Quintanar Isaías, A., Villanueva Díaz, J., Jaramillo-Pérez, A. T., y J. Cerano Parede. 2014. Características anatómicas de la madera de *Bursera lancifolia* (Schltdl.) Engl. con potencial dendrocronológico. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 5:76–89.
- Eble, G. J. 2005. Morphological modularity and macroevolution: conceptual and empirical aspects. In W. Caldebut y D. Rasskin-Gutman (Eds.). *Modularity. Understanding the development and evolution of natural complex systems* (Vienna Series in Theoretical Biology) (pp. 221–238). Cambridge: MIT Press.
- Edwards C. E. y C. Weinig. 2011. The quantitative-genetic and QTL architecture of trait integration and modularity in *Brassica rapa* across simulated seasonal settings. *Heredity* 106: 661-677.
- Espinosa-Soto, C. y A. Wagner. 2010. Specialization can drive the evolution of modularity. *PLoS Computational Biology* 6, e1000719.
- Ewers, F.W. 1985. Xylem structure and water conduction in conifer trees, dicot trees, and lianas. *IAWA Bulletin* 6:309–317.
- Gans, C. 1988. Adaptation and the Form-Function Relation. *Amer. Zool.* 28:681-697.
- Goswami, A. y D. Polly. 2010. Methods for studying morphological integration and modularity. In J. Alroy y G. Hunt (Eds.). *Quantitative methods in paleobiology* Vol. 16. Paleontological Society Short Course, October 30th, 2010 (pp. 213–243). Cambridge: The Paleontological Society Press.
- Hacke, U. G., Sperry, J. S., Pockman, W. T., Davis, S. D. y K. A. McCulloh. 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126:457–461.
- Jacobsen, A. L., Ewers, F. W., Brandon Pratt, R., Paddock III, W. A. y D. D. Stephen. 2005. Do xylem fibers affect vessel cavitation resistance? *Plant Physiology* 139: 546–556.
- Jacobsen, A. L., Agenbag, L., Esler, K. J., Brandon-Pratt, R., Ewers, F. W. y S. D. Davis. 2007a. Xylem density, biomechanics and anatomical traits correlate with water stress in 17 evergreen shrub species of the Mediterranean-type climate region of South Africa. *Journal of Ecology* 95:171–183.
- Jacobsen, A. L., Brandon-Pratt, R., Ewers, F. W. y S. D. Davis. 2007b. Cavitation resistance among 26 chaparral species of southern California. *Ecological Monographs*. 77: 99–115.

- Jones, A. G., Arnold, S. J. y R. Burger. 2004. Evolution and stability of the G-matrix on a landscape with a moving optimum. *Evolution* 58:1639-1654.
- Klingenberg, C. P. 2003a. Quantitative genetics of geometric shape: Heritability and the pitfalls of the univariate approach. *Evolution* 57:191–195.
- Klingenberg, C. P. 2003b. Developmental instability as a research tool: Using patterns of fluctuating asymmetry to infer the developmental origins of morphological integration. En M. Polak (Ed.). *Developmental instability: Causes and consequences* (pp. 427–442). Oxford: Oxford University Press.
- Klingenberg, C. P. 2008. Morphological integration and developmental modularity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39:115–132.
- Kirschner, M. y J. Gerhart. 1998. Evolvability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:8420–8427.
- Kálmán, K., Medvegy, A. y E. Mihalik 2004 Pattern of the floral variation in the hybrid zone of two distylous *Primula* species. *Flora* 199:218–227.
- Kudoh H, Sugawara, T ., Wu, S. y J. Murata. 2001 Morph-specific correlations between floral traits in a distylous *Ophiorrhiza napoensis* (Rubiaceae) population in southern China. *J Trop Ecol* 17:719–728.
- Lande, R. 1979. Quantitative genetic analysis of multivariate evolution, applied to brain:body size allometry. *Evolution* 33:402-416.
- Lande, R. y S. J. Arnold. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37:1210-126.
- Lewontin, R. C. 1978. Adaptation. *Scientific American* 239:156–169.
- Losos, J. B. 2011. Convergence, adaptation, and constraint. *Evolution* 65–67:1827–1840.
- Magwene, P. M. 2001. New tools for studying integration and modularity. *Evolution* 55:1734–1745.
- Marroig, G. y J. M. Cheverud. 2001. A Comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny, ecology and ontogeny during cranial evolution of New World monkeys. *Evolution* 55:2576–2600.
- Marroig, G. y J. M. Cheverud. 2005. Size as a line of evolutionary least resistance: diet and adaptive morphological radiation in New World monkeys. *Evolution* 59: 1128-1142.
- Marroig, G. y J. M. Cheverud. 2010. Size as a line of least resistance II: direct selection on size or correlated response due to constraints? *Evolution* 64:1470-1488.
- Mauseth, J. D. 1988. *Plant anatomy California: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.* 560 pp.

- Mayr, E. M. y A. Weber. 2006 Calceolariaceae: floral development and systematic implications. *Am J Bot* 93:327–343.
- Medina, E. 1995. Diversity of life forms in neotropical dry forests. 221-242 pp. En S. H. Bullock, H. A. Mooney y E. Medina (Eds.). *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Mitteroecker, P. y F. Bookstein. 2007. The conceptual and statistical relationship between modularity and morphological integration. *Systematic Biology* 56:818–836.
- Müller, G. B. 2007. Evo-devo: Extending the evolutionary synthesis. *Nature Reviews Genetics* 8:943–949.
- Olson, M. E. 2012. The developmental renaissance in adaptationism. *Trends in Ecology and Evolution* 27: 278–287.
- Olson, M. E., y J. A. Rosell. 2006. Using heterochrony to detect modularity in the evolution of stem diversity in the plant family Moringaceae. *Evolution* 60:724–734.
- Pélabon C., Armbruster, W. S. y T. F. Hansen. 2011. Experimental evidence for the Berg hypothesis: vegetative traits are more sensitive than pollination traits to environmental variation. *Functional Ecology* 25:247-257.
- R Development Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, v. 3.2.1.
- Rosell, J. A. 2010. Diversificación adaptativa en las plantas leñosas: Sostén, almacenamiento y conducción, en tallos del clado simaruba (*Bursera*, Burseraceae). Tesis de Doctorado en el Posgrado en Ciencias Biológicas, Instituto de Biología, UNAM. México, D. F. p. 175.
- Rosell, J. A., Olson, M. E., Weeks, A., De-Nova, J. A., Medina Lemos, R., Pérez Camacho, J. y L. Eguiarte, 2010. Diversification in species complexes: Tests of species origin and delimitation in the *Bursera simaruba* clade of tropical trees (Burseraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57:798–811.
- Rosell, J. A. y M. E. Olson. 2014. Do lianas really have wide vessels? Vessel diameter-stem length scaling in non self-supporting plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 16:288–295.
- Rzedowski, J., Medina, R. y G. Calderón. 2005. Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). *Acta Botanica Mexicana* 70:85–111.
- Schlosser, G. y G. P. Wagner. 2004. Introduction: The modularity concept in developmental and evolutionary biology. En G. Schlosser y G. P. Wagner (Eds.). *Modularity in development and evolution* (pp. 1–11). Chicago: The University of Chicago Press.
- Schluter, D. 1996. Adaptive radiation along genetic lines of least resistance. *Evolution* 50:1766-1774.

- Stearns, S. C. 1992. *The evolution of life histories*. New York: Oxford University Press. 249 pp.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf, 2012. *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*. New York: W. H. Freeman and Company. 937 pp.
- Wagner, G. P. 1996. Homologues, natural kinds and the evolution of modularity. *American Zoologist* 36:36–43.
- Wagner, G. P. y L. Altenberg. 1996. Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* 50:967–976.
- Wagner, G. P. y J. G. Mezey. 2004. The role of genetic architecture constraints in the origin of variational modularity. En: G. Schlosser, y G. P. Wagner (Eds.), *Modularity in development and evolution* (pp. 338–358). Chicago: The University of Chicago Press.
- Wagner, G. P., Pavlicev, M. y J. M Cheverud. 2007. The road to modularity. *Nature Reviews Genetics* 8:921–931.
- West-Eberhard, M. J. 2003. *Developmental plasticity and evolution* (p. 794). Oxford: Oxford University Press.
- Zeng, Z. B. 1988. Long-term correlated response, interpopulation covariation and interspecific allometry. *Evolution* 42:363-374

## **CAPÍTULO V**

### **Discusión general.**

## Discusión general.

El presente trabajo tuvo como tema principal la modularidad biológica. Pusimos a prueba la idea de que los módulos o conjuntos de covariación de caracteres están determinados por la función que llevan a cabo en los sistemas biológicos, la cual es favorecida por la selección (Wagner, 1996; Bolker, 2000; Breuker *et al.*, 2006). Los caracteres están organizados formando redes de covariación que desempeñan una función determinada. Esta organización requiere de una gran integración de los caracteres que responden de manera coordinada y semi-independiente del resto de los conjuntos de covariación y permiten hacer ajustes entre la forma y la función bajo distintas presiones de selección (Armbruster *et al.*, 1999; Bolker, 2000; Breuker *et al.*, 2006; Cheverud, 1996; Cheverud *et al.*, 1991; Eble, 2005; Hearn, 2013; Klingenberg, 2008; 2010; Mezey *et al.*, 2000; Wagner, 1996, 2001, 2007; Wagner *et al.*, 2007), es decir, la selección favorece la integración de los conjuntos de covariación en un ambiente determinado. La estructura modular contribuye a entender la diversidad fenotípica ya que las variaciones de los subconjuntos facilitan la variación morfológica e incrementan las posibilidades de cambio del organismo (Kirschner y Gerhart, 1998; Wagner y Altenberg, 1996; Wagner y Mezey, 2004).

Considerando que los módulos bajo selección están fuertemente determinados por la función, exploramos las variaciones morfológicas de los caracteres anatómicos y los relacionamos con las condiciones ambientales para tratar de entender su funcionamiento, es decir, exploramos la relación forma-función-ambiente. Primeramente determinamos la variación morfológica en el tallo de las especies del clado *simaruba* (capítulo II). La descripción de las variables anatómicas del tallo nos permitió reconocer la variación morfológica (Fig. 1, anexo 3, capítulo II). La variación morfológica de los caracteres anatómicos de la madera siempre ha estado fuertemente relacionada con las condiciones ambientales (Carlquist, 2001) lo que ha permitido hacer propuestas sobre el funcionamiento de los caracteres y su forma. Una vez reconocida la variación morfológica relacionamos estas variables con las condiciones ambientales de temperatura y precipitación. Contrario a lo esperado, las variables mostraron una pobre relación con el ambiente. Únicamente el área de los vasos y el porcentaje de los radios mostraron relación con la precipitación (tablas 1 y 2, capítulo II) y en muchos casos tuvieron una influencia de la filogenia (anexo 3, capítulo II). A diferencia de las variables anatómicas del tallo, variables relacionadas con la conductividad, sostén mecánico y almacenamiento obtenidas a partir de las mismas muestras, están relacionadas claramente con el ambiente (Rosell *et al.*, 2010). El análisis conjunto de estas variables anatómicas y funcionales permitiría tener un panorama más amplio de la variación y del comportamiento de los caracteres del tallo ante las modificaciones en las condiciones ambientales. Identificamos la variación asociada a los caracteres anatómicos aunque esta variación presuntamente adaptativa no estuvo claramente relacionada con el ambiente. Una vez reconocida la variación morfológica procedimos a explorar los conjuntos de covariación de los caracteres anatómicos en el tallo.

Los resultados del capítulo III y IV apoyan parcialmente la idea de modularidad moldeada por selección natural. Las causas de la covariación en el clado *simaruba* y en las especies *B. simaruba* y *B. grandifolia* son explicadas por la función en casos como la covariación entre los distintos caracteres del parénquima (Fig. 3, capítulo III, Fig. 1, capítulo IV). Estos caracteres tienen una ruta de desarrollo diferente pero su integración se ve favorecida por la función que llevan a cabo, que es el almacenamiento (Carlquist, 2001; Durán-Guerra *et al.*, 2014). Otro ejemplo de covariación de caracteres es la

densidad con el grosor de la pared de los elementos de los vasos (Fig. 2, capítulo IV). A diferencia de las células del parénquima, la densidad y el grosor de la pared de los elementos de los vasos descienden del mismo tipo celular. Estos caracteres del tejido de conducción están ligados por el desarrollo y la selección mantiene esta integración favoreciendo la función. Los mecanismos que favorecen la función de conducción han sido mayormente explorados (Ewars, 1985; Hacke y Sperry, 2001; Hacke, *et al.*, 2001; Jacobsen *et al.*, 2005), que los mecanismos del almacenamiento (Carlquist, 2001; Durán-Guerra *et al.*, 2004). Estudios adicionales sobre la red de covariación que efectúa el almacenamiento nos ayudarían a entender su función y la integración de sus caracteres en el tallo.

Los conjuntos de covariación que identificamos en el tallo muestran una serie de relaciones negativas entre ellos. Estas relaciones se conocen como disyuntivas (Stearns, 1992). Las disyuntivas se presentan tanto en el clado (Fig. 3, capítulo III) como en las dos especies (Figs. 1, 2, capítulo IV). Por ejemplo, la relación negativa entre la densidad y el área de los elementos de los vasos (Fig. 3, capítulo II; Figs. 1, 2, capítulo IV), caracteres asociados a la conducción, y la densidad de los elementos de los vasos (conducción) y el porcentaje de fibras (almacenamiento; Fig. 3, capítulo III; Figs. 1, 2, capítulo IV), ambas disyuntivas originadas por una limitación en el espacio del tallo. En este caso la disponibilidad limitada del espacio genera una disyuntiva entre los caracteres, que pueden favorecer una función sobre otra.

Los conjuntos de covariación pueden responder a la función, mientras que en otros casos el desarrollo compartido juega un papel importante. La asociación entre los largos de las fibras y los elementos de los vasos está fuertemente determinada por el desarrollo. Estos tipos celulares inician a partir de las células iniciales del cambium su diferenciación (Baas, 1986; Mauseth, 1988; Carlquist, 2001). Esta relación inicial no es separada por la selección y la observamos en el clado *simaruba* de *Bursera* y se mantiene en *B. simaruba*. Sin embargo, esta relación se rompe en *B. grandifolia* y en *B. grandifolia* creciendo en Agua Milpa, Nay. ¿Por qué una correlación de caracteres determinada por el desarrollo, y con alto grado de asociación ( $r = 0.76$ , Fig. 3, capítulo II;  $r = 0.73$ , Fig. 2, capítulo IV) no está presente en *B. grandifolia* y en *B. grandifolia* creciendo en Agua Milpa, Nay? La selección podría desligar esta asociación para favorecer los cambios en la longitud de las fibras (a favor del sostén) y los elementos de los vasos (a favor de la conducción). Las fibras aumentan su longitud después de separarse de las células iniciales, mientras que los elementos de vaso no. Se postula que en lugares secos la selección favorece elementos de vasos cortos porque ayudan a localizar embolias, mientras en lugares secos es posible que se favorezcan fibras con volúmenes más grandes, que almacenan más (Baas, 1986; Mauseth, 1988; Carlquist, 2001). Sin embargo, sería necesario continuar estudiando estos caracteres para entender su comportamiento. Al parecer aún cuando las covariaciones son fuertes, en determinados casos pueden desligarse los caracteres, haciendo ajustes de manera más local, a nivel de las especies (Schlosser y Wagner, 2004). Esto formaría parte de la flexibilidad de la organización modular que contribuye a explicar la variación morfológica.

La selección favorece determinadas combinaciones de caracteres que maximizan el desempeño de los conjuntos de covariación bajo ciertos ambientes. Sin embargo, los caracteres anatómicos no estuvieron claramente asociados con la temperatura y la precipitación, aunque sí mostraron variación entre sitios (capítulo II y capítulo IV). Hace falta explorar con mayor detalle cuáles son las causas de esta falta de relación de

los caracteres anatómicos con el ambiente para entender la dinámica de modificación de los conjuntos de covariación en las especies del clado *simaruba*.

La idea de modularidad por selección natural es ampliamente reconocida y en el presente trabajo recuperamos esa idea en nuestros resultados. Aunada a la selección, el desarrollo y las disyuntivas juegan un papel igual de importante para entender los conjuntos de covariación que identificamos tanto en el clado *simaruba* como en dos de sus especies. Por ello, un panorama donde los módulos son explicados sólo en base a la selección parecería incompleto en este grupo. Además la falta de asociación entre los caracteres anatómicos y las variables ambientales evaluadas muestra la necesidad de continuar indagando al respecto para entender su comportamiento entre distintos sitios de crecimiento.

Los patrones de covariación e independencia se han explorado a través de diferentes técnicas para identificarlos, aunque no existe un consenso con respecto a la delimitación de los bordes entre los subconjuntos (Breuker *et al.*, 2006; Klingenberg, 2008; Olson y Rosell, 2006; Roseman *et al.*, 2009; Wagner y Altenberg, 1996). Los conjuntos de covariación del clado *simaruba* y las especies *Bursera grandifolia* y *B. simaruba*, que interpretamos como módulos, los reconocimos a través de técnicas estadísticas ampliamente utilizadas para la identificación de los módulos (análisis de correlación y multivariados). Los resultados obtenidos a partir de las distintas técnicas son muy similares ya que todas arrojan una estructura modular y conjuntos de covariación similares. Estos resultados sugieren que la presencia de los módulos y su delimitación no dependen tanto de una técnica de identificación en particular (Magwene, 2001; Ravasz *et al.*, 2002; Mitteoker y Bookstein, 2007; Márquez, 2008; Hallgrímsson *et al.*, 2009; Iván-Perez *et al.*, 2009; Fortunato, 2010; Goswami y Polly, 2010) sino de la propia dinámica del sistema biológico. La organización modular permite que los caracteres que integran al organismo presenten distintos grados de integración lo que posibilita su flexibilidad y oportunidades de cambio, es decir, la modularidad contribuye al proceso de la flexibilidad del desarrollo y facilita la variación adaptativa en las unidades funcionales y del desarrollo, manteniendo su estructura.

Hasta cierto grado, estos módulos son disociados y pueden ser objeto de la selección natural y de transformación evolutiva, es decir, pueden funcionar como módulos evolutivos. Estos módulos evolutivos, que no dependen de una técnica estadística en particular, podrían ser comunes en todo un grupo de especies, como en el clado *simaruba*, y contribuirían a explicar su constancia en la estructura modular y las modificaciones en los conjuntos de covariación.

### **Bibliografía.**

Armbruster, W. S., Di Stilio, V. S., Tuxill, J. D., Flores, T. C., y J. L. Velásquez Runk. 1999. Covariance and decoupling of floral and vegetative traits in nine neotropical plants: A re-evaluation of Berg's correlation-pleiades concept. *American Journal of Botany* 86:39–55.

- Baas, P. 1986. Ecological patterns in xylem anatomy. En T. J. Givnish (Ed.). *On the economy of plant form and function* (pp. 327–349). Cambridge: Cambridge University Press.
- Bolker, J. A. 2000. Modularity in development and why it matters to evo-devo. *American Zoologist* 40:770–776.
- Breuker, C. J., Debat, V. y C. P. Klingenberg. 2006. Functional evo-devo. *Trends in Ecology & Evolution* 21:488–492.
- Carlquist, S. 2001. *Comparative wood anatomy: Systematic, ecological, and evolutionary aspects of dicotyledon wood* (2nd ed.) (p. 448). Berlin: Springer-Verlag.
- Cheverud, J. M. 1996. Developmental integration and the evolution of pleiotropy. *American Zoologist* 36:44–50.
- Cheverud, J. M., Hartman, S. E., Richtsmeier, J. T. y W. Atchley. 1991. A quantitative genetic-analysis of localized morphology in mandibles of inbred mice using finite-element scaling analysis. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 11:122–137.
- Eble, G. J. 2005. Morphological modularity and macroevolution: conceptual and empirical aspects. en W. Callebaut & D. Rasskin-Gutman (Eds.). *Modularity. Understanding the development and evolution of natural complex systems* (Vienna Series in Theoretical Biology) (pp. 221–238). Cambridge: MIT Press.
- Durán-Guerra, O., Quintanar Isaías, A., Villanueva Díaz, J., Jaramillo-Pérez, A. T. y J. Cerano Parede. 2014. Características anatómicas de la madera de *Bursera lancifolia* (Schltdl.) Engl. con potencial dendrocronológico. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 5:76–89.
- Ewers, F.W. 1985. Xylem structure and water conduction in conifer trees, dicot trees, and lianas. *IAWA Bulletin* 6:309–317.
- Fortunato, S. 2010. Community detection in graphs. *Physics Reports* 486:75-174.
- Goswami, A. y P. D. Polly. 2010. Morphological integration and modularity. *The Paleontological Society Papers*. Vol. 16:213- 243.
- Hacke, U. G. y J. S. Sperry. 2001. Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 4:97–115.
- Hacke, U. G., Sperry, J. S., Pockman, W. T., Davis, S. D. y K. A. McCulloh, 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126:457–461.
- Hallgrímsson, R., Jamniczky, H., Young, N. M., Rolian, C., Parsons, T. E., Boughner, J. C. y R. S. Marcucio. 2009. Deciphering the palimpsest: Studying the

- relationship between morphological integration and phenotypic covariation. *Evolutionary Biology* 36:355-376.
- Hearn, D. J. 2013. Dissection of evolutionary networks to assess their role in the evolution of robustness, function, and diversification. *Evolution* 67:2273–2283.
- Iván-Perez, S., de Aguiar, M. A. M., Guimaraes Jr., P. R. y S. F. dos Reis. 2009. Searching for modular structure in complex phenotypes: Inferences from network theory. *Evolutionary Biology* 36:416-422.
- Jacobsen, A. L., Ewers, F. W., Brandon Pratt, R., Paddock III, W. A. y D. D. Stephen. 2005. Do xylem fibers affect vessel cavitation resistance? *Plant Physiology* 139: 546–556.
- Kirschner, M. y J. Gerhart. 1998. Evolvability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:8420–8427.
- Klingenberg, C. P. 2008. Morphological integration and developmental modularity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39:115–132.
- Klingenberg, C. P. 2010. Evolution and development of shape: Integrating quantitative approaches. *Nature Reviews Genetics* 11:623–635.
- Magwene, P. M. 2001. New tools for studying integration and modularity. *Evolution* 55:1734-1745.
- Márquez, E. 2008. A statical framework for testin modularity in multidimensional data. *Evolution* 62-10:2688-2708.
- Mauseth, J. D. 1988. *Plant anatomy*. California: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 560 pp.
- Mezey, J. G., Cheverud, J. M. y G. P. Wagner. 2000. Is the genotypephenotype map modular? A statistical approach using mouse quantitative trait loci data. *Genetics* 156:305–311.
- Mitteroecker, P. y F. Bookstein. 2007. The conceptual and statistical relationship between modularity and morphological integration. *Systematic Biology* 56:818-836.
- Olson, M. E., y J. A. Rosell. 2006. Using heterochrony to detect modularity in the evolution of stem diversity in the plant family Moringaceae. *Evolution* 60:724–734.
- Ravasz, E., Somera, A. L., Mongru, D. A., Oltave, Z. N. y A. L. Barabási. 2002. *Science* 297:1551-1555.
- Rosell, J. A., Olson, M. E., Weeks, A., De-Nova, J. A., Medina Lemos, R., Pérez Camacho, J. y L. E Eguiarte. 2010. Diversification in species complexes: Tests of species origin and delimitation in the *Bursera simaruba* clade of tropical trees (Burseraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57:798–811.

- Roseman, C. C., Kenny-Hunt, J. P. y Cheverud, J. M. 2009. Phenotypic integration without modularity: Testing hypotheses about the distribution of pleiotropic quantitative trait loci in a continuous space. *Evolutionary Biology* 36:282–291.
- Schlosser, G. y Wagner, G. P. 2004. Introduction: The modularity concept in developmental and evolutionary biology. En G. Schlosser y G. P. Wagner (Eds.). *Modularity in development and evolution* (pp. 1–11). Chicago: The University of Chicago Press.
- Stearns, S. C. 1992. *The evolution of life histories* (p. 249). New York: Oxford University Press.
- Wagner, G. P. 1996. Homologues, natural kinds and the evolution of modularity. *American Zoologist* 36:36–43.
- Wagner, G. P. 2001. Characters, units and natural kinds: An introduction. In: G. P. Wagner (Ed.). *The character concept in evolutionary biology* (pp. 1–11). San Diego, California: Academic Press.
- Wagner, G. P. 2007. The developmental genetics of homology. *Nature Reviews Genetics* 8:473–479.
- Wagner, G. P. y L. Altenberg. 1996. Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* 50:967–976.
- Wagner, G. P. y J. G. Mezey. 2004. The role of genetic architecture constraints in the origin of variational modularity. En: G. Schlosser y G. P. Wagner (Eds.). *Modularity in development and evolution* (pp. 338–358). Chicago: The University of Chicago Press.
- Wagner, G. P., Pavlicev, M. y J. M. Cheverud. 2007. The road to modularity. *Nature Reviews Genetics* 8:921–931.