



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Anatomía comparada foliar y de ramilla de
tres especies del género *Quercus* L.
(Fagaceae) presentes en México

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

JACQUELINE VIANNEY SORIANO BENÍTEZ



DIRECTOR DE TESIS:
DRA. SUSANA VALENCIA AVALOS
CIUDAD DE MÉXICO, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

HOJA DE DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno

Soriano
Benítez
Jacqueline Vianney
55 1517 1774
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
304198348

2. Datos del tutor

Dra.
Susana
Valencia
Avalos

3. Datos del sinodal 1

Dra.
Patricia
Guevara
Fefer

4. Datos del sinodal 2

M. en C.
Ramiro
Cruz
Durán

5. Datos del sinodal 3

Biol.
Rosalinda
Medina
Lemos

6. Datos del sinodal 4

M. en C.
Ana Belén
Adame
González

7. Datos del trabajo escrito

Anatomía comparada foliar y de ramilla de tres especies del género *Quercus* L.
(Fagaceae) presentes en México
110 p.
2019.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

La presente tesis fue financiada por el Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME), como parte del proyecto:

CLAVE PE210517

“La semilla: un recorrido desde su origen hasta su consumo”.

Gracias a la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por conceder formarme en sus instalaciones, así como al Herbario (FCME) y al Taller de Biología de Plantas I y II, pertenecientes a dicha entidad académica, por permitirme trabajar en ellos.

***A mi madre, Gloria,
la estrella más hermosa y resplandeciente del firmamento.***

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora, la Dra. Susana Valencia Avalos, por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto. Gracias por tener fe en mí, por proporcionarme su estima, apoyo, paciencia, comprensión, confianza, consejos y enseñanzas que marcaron mi vida académica. Atesoro todos los momentos amenos y memorables que he pasado a su lado.

A la Dra. Patricia Guevara Fefer por otorgarme su apoyo, consejos y confianza.

A los profesores del Herbario de la Facultad de Ciencias (FCME): Dra. Martha Martínez Gordillo, M. en C. Ramiro Cruz Durán y al Dr. Jaime Jiménez Ramírez, por brindarme sus conocimientos en el amplio campo de la botánica.

A la M. en B. María Eugenia Muñiz Díaz de León, por el apoyo, orientación y facilitamiento del material e instalaciones del Taller de Biología de Plantas I y II, perteneciente a la Facultad de Ciencias.

A mi comité revisor: Dra. Susana Valencia Avalos, Dra. Patricia Guevara Fefer, M. en C. Ramiro Cruz Durán, Biol. Rosalinda Medina Lemos y a la M. en C. Ana Belén Adame González, por tomarse el tiempo de revisar y corregir el escrito.

Al Dr. Victor W. Steinmann por su amistad, apoyo y acogimiento durante mi estadía en Pátzcuaro, Michoacán.

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A mi madre, Gloria, quién ahora es una hermosa estrella que brilla y me mira desde el firmamento. Mi amor y agradecimientos hacia ella, siempre serán eternos. Ojalá se encuentre orgullosa de lo que he avanzado y superado.

A mi padre, Víctor, que gracias a su amor, apoyo, confianza, enseñanzas, consejos y ejemplo, forjaron a la mujer en la que me he convertido.

A Vianney, que día a día vive y lucha con todas sus fuerzas contra la depresión y ansiedad.

A Emmanuel Martínez, el amor de mi vida. No me alcanzan las palabras para expresar lo que siento por él. Estoy sumamente agradecida por su amor, confianza, comprensión y apoyo incondicional en todos estos años. Ni con mi vida podré pagar todo lo que él ha hecho por mí.

A Ginger, mi tesoro, mi pequeña ángel peluda que llena mi mente de tranquilidad y mi corazón de alegría.

Gracias a todos mis amigos, que más que amigos, son mi familia. Dedico mi gratitud a Cynthia García, Rebeca López, Ana Belén Adame, Felipe Eslava, César Castillo, Luis Alberto Flores, David García, Iván Romero, Diego Anzo, Nadia Castro, Emmanuel Cantú, Yared Garcés, Rubí Bustamante, Jorge Rojas, Luis Alberto Herreras, Aldo Domínguez, Emmanuel Gómez, Miguel Arriaga, Isaac Navarro, Xironell Viguera, Magdalena Romero, Víctor Cruz, Vicente Méndez, Isabel Rodríguez, Mónica Castro, Iván Santander, Tania Fonseca, Sara Albarrán, Irazú Sánchez, Erika Pérez, Ernesto De la Rosa y Jesús Ortiz. Si es que olvidé escribir algún nombre, ofrezco mis sinceras disculpas.

ÍNDICE

RESUMEN	1
I INTRODUCCIÓN	2
1. Familia Fagaceae	2
2. Género <i>Quercus</i>	3
2.1 Características taxonómicas del género <i>Quercus</i>	4
2.2 Clasificación del género <i>Quercus</i>	5
2.3 Diferencias diagnósticas entre las secciones del género <i>Quercus</i>	9
2.4 Centros de diversidad para el género <i>Quercus</i>	11
2.5 El género <i>Quercus</i> en México	11
2.6 Importancia ecológica y comercial del género <i>Quercus</i>	13
3. Problemática taxonómica del género <i>Quercus</i>	15
4. Importancia de las hojas y la anatomía vegetal	17
4.1 Los encinos y sus hojas	17
4.2 Importancia de la anatomía vegetal	18
II ANTECEDENTES	20
1. Teóricos (histología - anatomía)	20
1.1 La célula vegetal	20
1.2 Tejidos vegetales	22
1.3 La hoja	26
1.4 Microtecnia vegetal	28
2. Taxonómicos	33
2.1 Descripción de las especies.....	33
3. Estudios previos	40

3.1	Caracteres macromorfológicos foliares	40
3.2	Caracteres micromorfológicos foliares	43
3.3	Caracteres microanatómicos foliares	47
III	JUSTIFICACIÓN	51
IV	OBJETIVOS	51
V	MATERIALES Y MÉTODOS	52
1.	Colecta de muestras	52
2.	Procesamiento de material	52
2.1	Preparaciones de secciones transversales	52
2.2	Cortes a mano alzada de ramilla de <i>Q. rugosa</i>	58
2.3	Diafanización de láminas de <i>Q. rugosa</i>	59
2.4	Microfotografías	60
VI	RESULTADOS	61
1.	Anatomía foliar y de ramilla de <i>Q. affinis</i> (Sección <i>Lobatae</i> = Encino rojo)	62
1.1	Anatomía de la lámina.....	62
1.2	Anatomía de las nervaduras	64
1.3	Anatomía de la ramilla.....	66
2.	Anatomía foliar y de ramilla de <i>Q. laeta</i> (Sección <i>Quercus</i> = Encino blanco) .	68
2.1	Anatomía de la lámina.....	68
2.2	Anatomía de las nervaduras	70
2.3	Anatomía del pecíolo.....	73
2.4	Anatomía de la ramilla.....	75
3.	Anatomía foliar y de ramilla de <i>Q. rugosa</i> (Sección <i>Quercus</i> = Encino blanco)	77
3.1	Anatomía de la lámina.....	77

3.2 Anatomía de las nervaduras	79
3.3 Anatomía del pecíolo.....	82
3.4 Anatomía de la ramilla.....	84
3.5 Diafanización foliar	86
4. Similitudes y diferencias entre las tres especies	87
VII DISCUSIÓN	92
VIII CONCLUSIONES	101
IX LITERATURA CITADA.....	103

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificaciones propuestas para el género <i>Quercus</i>	8
Figura 2. Clasificación de las secciones y caracteres diagnósticos	9
Figura 3. <i>Quercus affinis</i> , <i>Quercus laeta</i> y <i>Quercus rugosa</i>	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características diagnósticas entre encinos blancos y rojos	10
Tabla 2. Híbridos formalmente registrados para México	16
Tabla 3. Localidades de colecta	53
Tabla 4. Fijación a aclaramiento para <i>Q. affinis</i> y <i>Q. laeta</i>	54
Tabla 5. Fijación a aclaramiento (con GAA) para <i>Q. affinis</i> y <i>Q. laeta</i>	55
Tabla 6. Fijación a aclaramiento para <i>Q. rugosa</i>	56
Tabla 7. Tiempos y pasos para desparafinar y teñir.....	58
Tabla 8. Diafanizado de lámina de <i>Q. rugosa</i>	59
Tabla 9. Similitudes encontradas en las tres especies.....	87

Tabla 10. Diferencias encontradas en las tres especies 89

Tabla 11. Medidas de las tres especies tomadas en corte transversal 91

ÍNDICE DE LÁMINAS

Lámina 1. Cortes transversales de hoja de *Q. affinis*..... 63

Lámina 2. Cortes transversales de nervaduras de *Q. affinis*..... 65

Lámina 3. Cortes transversales de ramilla de *Q. affinis* 67

Lámina 4. Cortes transversales de hoja de *Q. laeta*..... 69

Lámina 5. Cortes transversales de nervaduras de *Q. laeta* 72

Lámina 6. Cortes transversales de pecíolo de *Q. laeta*..... 74

Lámina 7. Cortes transversales de ramilla de *Q. laeta*..... 76

Lámina 8. Cortes transversales de hoja de *Q. rugosa* 78

Lámina 9. Cortes transversales de nervaduras de *Q. rugosa* 81

Lámina 10. Cortes transversales de pecíolo de *Q. rugosa*..... 83

Lámina 11. Cortes transversales de ramilla de *Q. rugosa*..... 85

Lámina 12. Diafanizado de hojas de *Q. rugosa*..... 86

RESUMEN

Los trabajos anatómicos del género *Quercus* L. (Fagaceae) son escasos, por ello el presente trabajo contribuye al conocimiento morfo-anatómico, corroborando su utilidad en el reconocimiento de especies mexicanas del género *Quercus* (*Q. affinis* Scheidw., *Q. laeta* Liemb., y *Q. rugosa* Née). Para ello se tomaron muestras de lámina, pecíolo y ramilla de plantas colectadas en Hidalgo y la Ciudad de México, las cuales fueron procesadas mediante el empleo de una técnica histológica (fijación en FAA, deshidratación por alcohol etílico en tiempos de 24 a 48 horas, inclusión en paraplast, corte en micrótomo de rotación, tinción de contraste en safranina "O" - verde rápido FCF metilcelosolve, técnicas de ablandamiento y cortes a mano alzada) con la finalidad de obtener preparaciones permanentes y semipermanentes. Se observó que las láminas de las tres especies son bifaciales y dorsiventrales al estar compuestas por epidermis uniestratificada en ambas caras de la hoja, cutículas lisas y visiblemente más gruesas en el envés, estomas presentes en la cara abaxial (hojas hipoestomáticas) y mesófilo heterogéneo compuesto por parénquima en empalizada y parénquima esponjoso, con haces vasculares dispuestos en anillos semicirculares y semicontinuos. El pecíolo se caracteriza por la presencia de hipodermis y de haces vasculares acomodados en anillos semicirculares y semicontinuos. Las ramillas resaltan por poseer epidermis con lenticelas, peridermis, felodermis y haces vasculares arreglados en un anillo circular y continuo. Las diferencias diagnósticas entre las tres especies son el grosor de la cutícula adaxial, la forma y tamaño de las células epidérmicas adaxiales y del parénquima en empalizada, el número de estratos del parénquima en empalizada, la variación visible en el tamaño de los espacios presentes entre las células del parénquima esponjoso, así como de las cámaras estomáticas, la forma del contorno de la lámina, la presencia de tricomas, qué tan lobulados o marcados son los anillos o bloques de haces vasculares en la vena media, pecíolo y ramilla, al igual que la cantidad visible de esclereidas, cristales poligonales y drusas de oxalato de calcio e impregnación de material ergástico de tipo no cristalino.

I INTRODUCCIÓN

1. Familia Fagaceae

La familia Fagaceae es uno de los componentes esenciales en los ecosistemas templados, comprende entre 600 y 1000 especies (Deng *et al.*, 2008; Valencia-A. *et al.*, 2017) clasificadas en diez géneros distribuidos en el Hemisferio Norte: *Castanea* L., *Castanopsis* (D. Don) Spach., *Chrysolepis* Hjelmq., *Colombobalanus* Nixon & Crepet, *Fagus* L., *Formanodendron* Nixon & Crepet, *Lithocarpus* Blume, *Notholithocarpus* P. S. Manos, C. H. Cannon & S.H. Oh, *Quercus* L. y *Triglobalanus* Forman (Valencia-A. *et al.*, 2017). El centro de diversidad de la familia se ubica en Asia (Arizaga *et al.*, 2009). En América se encuentran los géneros endémicos *Castanea*, *Chrysolepis*, *Colombobalanus*, *Fagus*, *Notholithocarpus* y *Quercus*, este último con mayor distribución geográfica (Morales, 2017).

Los integrantes de la familia se caracterizan por ser individuos leñosos, arbóreos o arbustivos, monoicos, perennifolios o caducifolios, con yemas generalmente deciduas, hojas simples, alternas, pecioladas, enteras, dentadas, serradas y lobadas, con venación pinnada. Las inflorescencias son amentos masculinos y flores femeninas solitarias o en grupos de 3 a 9 integrando espigas o racimos cortos. Las flores masculinas presentan de 3 a 6 tépalos y de 6 a 12 estambres con anteras ditecas de dehiscencia longitudinal, las flores femeninas muestran un cáliz con 4 a 6 lóbulos que pueden estar fusionados o libres, corola ausente, ovario ínfero tricarpelar con placentación axial y dos óvulos por lóculo (uno solo de los óvulos es fecundado, los demás son abortivos). Los frutos son nueces o bellotas, con semillas carentes de endospermo (Santacruz & Espejel, 2004; Valencia-A. *et al.*, 2017). Los individuos de esta familia presentan anemofilia (polinización por viento) como síndrome de polinización.

La familia Fagaceae juega un papel ecológico sumamente importante (Manos & Stanford, 2001). Los géneros *Fagus* (hayas) y *Quercus* (encinos),

ambos presentes en México, son elementos fuertemente relevantes y distintivos en los bosques mesófilos de montaña, ya que juegan un papel indispensable y fundamental en los procesos ecosistémicos al albergar especies de plantas epífitas, animales, hongos y bacterias, de diversidad alta (Valencia-A. & Gual, 2014), además brindan servicios dentro del ecosistema al ser alimento de una gran cantidad de organismos, al intervenir en la recarga del manto freático (retención y balance del agua en los bosques), y en la formación y mejoramiento del suelo, por lo que son considerados especies clave o *keystone* (Valencia-A. & Gual, 2014; Valencia-A., 2018; Zavala-Chávez, 1998). En México, el género *Fagus* es representado por una sola especie, *Fagus grandiflora* var. *mexicana* (Martínez) Little, la cual presenta una distribución limitada a las regiones montañosas templadas y húmedas del noreste del país (Valencia-A. & Gual, 2014; Valencia-A *et al.*, 2017).

2. Género *Quercus*

El género *Quercus* L. es el más grande de la familia Fagaceae, ya que representa aproximadamente la mitad de las especies dentro de la familia (Manos & Stanford, 2001). Sin embargo, en la actualidad no existe un número concreto de especies, ya que generalmente varía dependiendo el autor (Shahbaz *et al.*, 2015).

Linneo en 1753, enlistó 14 especies para Europa y Norteamérica, Loudon entre 1838-1839, reconoció 150 especies de encinos y Ørsted en 1871, registró la presencia de 184 especies, conteniendo encinos asiáticos. Trelease (1924) incluyó en su clasificación 371 especies, comprendiendo a los encinos americanos. Nixon (1993) sugiere la existencia de 300 especies en el Hemisferio Norte, posteriormente en 1997 brinda un estimado de 400 especies. Manos *et al.* (1998) consideran la presencia de 500 especies, mientras que Hubert *et al.* (2014) mencionan un rango de entre 300 a 600 especies. Actualmente, Valencia-A. *et al.* (2017) estiman la existencia de 400 hasta 531 especies, mientras que Hipp *et al.* (2018) proponen alrededor de 435 especies.

2.1 Características taxonómicas del género *Quercus*

Los encinos se caracterizan por poseer tallos leñosos compuestos de madera blanquecina o rojiza muy dura y resistente. Muestran ramillas cilíndricas o surcadas, con corteza de diferente coloración (rojiza o clara) y presencia de lenticelas e indumento, por ello pueden ser glabras, glabrescentes, glabradas o tomentosas (Valencia-A., 2018). Las yemas son escamosas con forma globosa a cónica. Las estípulas no siempre son conspicuas.

Las hojas de los encinos son pecioladas, con venación pinnada, morfología variada, filotaxia alterna, haz con distintas tonalidades de verde lustroso u opaco, textura generalmente coriácea, rugosa o lisa y glabra o tomentosa, con tricomas principalmente de tipo fasciculado, sésiles, fasciculados estipitados o fasciculados contortos, glandulares y estrellados adpresos o multirradiados (Valencia-A. & Delgado, 2003; Valencia-A., 2018); envés tomentoso, con epidermis lisa, bullada (ampulosa) o papilosa y presencia o no de ceras.

Al poseer plantas monoicas, el género *Quercus* muestra flores imperfectas masculinas (agrupadas en amentos) y femeninas. Las flores masculinas son sésiles o pediceladas, asociadas o no a bractéolas, presentan un perianto con tépalos fusionados o libres, lóbulos con ápices obtusos a redondeados y margen ciliado, pubescentes, con 5 a 12 estambres exertos, con anteras ditecas de dehiscencia longitudinal y polen tricolpado y verrugado. Por su parte, las flores femeninas lucen un aspecto globoso, éstas son subsésiles o pedunculadas, exhiben 3 a 6 estigmas que sobresalen de la flor, ovario ínfero, tricarpelar, con dos óvulos en cada carpelo y presencia de estaminodios. De los seis óvulos, únicamente uno es fecundado, los restantes (óvulos abortivos) migran hacia el ápice, la base o se quedan intermedios, esto depende de la sección (Borgardt & Nixon, 2003). En cuanto a su floración, ocurre entre enero y mayo, principalmente en la temporada de primavera (Ducouso *et al.*, 1993). Sin embargo, en este grupo polinizado por viento, generalmente hay sincronía en la floración ya que presenta altas tasas de hibridación y convergencias en la morfología floral (Ducouso *et al.*, 1993; Valencia-A., 2018).

Los frutos son resultado de la fecundación cruzada (entre individuos de la misma especie), autogamia o hibridación. Las bellotas son nueces cubiertas en su base de unión con la rama por una estructura leñosa y de forma cóncava, conocida como cúpula o copa (Arizaga *et al.*, 2009), la cual posee una forma ovoide, obcónica, turbinada, pateliforme o hemisférica (Valencia-A., 2018). Habitualmente contienen una sola semilla carente de endospermo, con dos cotiledones fusionados o no y de diferente color en algunas especies. Las semillas pueden madurar en uno o dos años.

Los individuos del género *Quercus* tienen un desarrollo lento y son considerados organismos de vida larga, ya que pueden vivir de 150 a 400 años, dependiendo de la especie (Valencia-A., 2018). En este género, los individuos pueden ser perennifolios a subperennifolios (cuyo follaje se cambia o sustituye paulatinamente, sin que la planta se quede sin follaje) o caducifolios (perdiendo la totalidad de las hojas en la estación de sequía).

2.2 Clasificación del género *Quercus*

Desde la descripción taxonómica del género realizada por Linneo en 1753, quien describió las especies *Q. alba*, *Q. aesculus* (*Q. petraea* (Matt.) Liebl.), *Q. robur* y *Q. prinus* (encinos blancos, sección *Quercus*); *Q. rubra*, *Q. nigra*, y *Q. phellos* (encinos rojos, sección *Lobatae*); *Q. cerris*, *Q. aegilops* (*Q. macrolepis* Kotschy) y *Q. suber* (sección *Cerris*); *Q. ilex*, *Q. coccifera*, *Q. gramuntia* (*Q. ilex*) y *Q. smilax* (sección *Ilex*) (Denk *et al.*, 2017), los encinos han tenido problemas de clasificación, por esta razón, diversos autores han propuesto numerosas clasificaciones (Hubert *et al.*, 2014), tomando en cuenta caracteres foliares, florales, del fruto y moleculares.

Loudon entre 1838-1839, separó 150 especies del género en 10 secciones (*Albae*, *Prinus*, *Virentes*, *Nigrae*, *Phellos*, *Rubrae*, *Lanatae*, *Cerris*, *Robur* e *Ilex*).

Ørsted en 1871, integró en su clasificación a los encinos asiáticos

originalmente asociados a *Cyclobalanus*, por ello reconoció la existencia del género *Cyclobalanopsis* dentro de la subtribu Quercinae. En total Ørsted registró cinco subgéneros (*Cerris*, *Heterobalanus*, *Lepidobalanus*, *Macrobalanus* y *Erythrobalanus*) distribuidos en 16 secciones.

Trelease (1924) dividió al género en tres subgéneros: *Leucobalanus* (encinos blancos), *Erythrobalanus* (encinos rojos) y *Protobalanus* (encinos intermedios).

Camus entre 1936-1954, clasificó al género *Quercus* en dos subgéneros, *Euquercus* o encinos verdaderos (*Quercus sensu stricto*) y *Cyclobalanopsis* (encinos existentes en el Sur de Asia). A su vez, el subgénero *Euquercus* se encontró integrado por seis secciones (*Cerris*, *Lepidobalanus*, *Mesobalanus*, *Macrobalanus*, *Erythrobalanus* y *Protobalanus*).

Muller (1942) reconoció jerarquías infragenéricas con los subgéneros americanos: *Lepidobalanus*, *Erythrobalanus* y *Protobalanus*. Cada uno incluyó distintas secciones.

Menitsky en 1984, estableció un sistema basado en la morfología que ayudó a identificar correctamente a los grupos naturales de robles euroasiáticos. Su clasificación comprende tres subgéneros, *Cyclobalanopsis* (8 secciones), *Quercus* (sección *Cerris* y *Quercus*) y *Heterobalanus* (sección *Heterobalanus* e *Ilex*).

Nixon (1993) gracias a un análisis cladístico con base en datos moleculares del DNACp (cloroplasto) y morfológicos, reconoció dos subgéneros, *Cyclobalanopsis*, y *Quercus*. El subgénero *Quercus*, comprendió tres secciones: *Lobatae* (encinos rojos), *Protobalanus* (encinos dorados o intermedios) y *Quercus* (encinos blancos). Dentro de esta última sección se incluyeron las subsecciones *Cerris* e *Ilex*.

Manos *et al.* (1998) por medio del estudio del DNACp y el DNAnC (nuclear), con ayuda del marcador ITS (*Internal Transcribe Spacer*) y datos de RFLP

(*Restriction Fragment Length Polymorphism*), dividieron al subgénero *Quercus* en cuatro secciones: *Lobatae* (presente en América), *Quercus* (presente en América y Eurasia), *Protobalanus* (localizado en América) y *Cerris* (exclusivo de Eurasia).

Hubert *et al.* (2014) mediante un análisis filogenético de genes nucleares, empleando los marcadores ITS y CRC (*CRABS CLAW gene*), establecieron que el género *Quercus* se divide en dos subgéneros, *Cyclobalanopsis* (encinos del Este asiático) y *Quercus*, este último compuesto por cinco secciones: *Protobalanus* (encinos dorados o intermedios), *Lobatae* (encinos rojos), *Quercus* (encinos blancos), *Cerris* e *Illex* (encinos euroasiáticos). En el mismo trabajo muestran que los encinos rojos son el grupo hermano de los encinos dorados y blancos.

Denk *et al.* (2017) al conjuntar los datos obtenidos en las clasificaciones anteriores con datos de investigaciones realizadas con genes nucleares y secuencias consenso de ITS y CRC, reconocieron la existencia de dos subgéneros (dos grupos de encinos monofiléticos) conformados por ocho linajes filogenéticos o secciones, los cuales coinciden con los grupos morfológicos propuestos por Trelease (1924) y Menitsky en 1984. Los subgéneros propuestos son *Cerris* (secciones *Cyclobalanopsis*, *Cerris* e *Illex*) y *Quercus* (secciones *Quercus*, *Virentes*, *Ponticae*, *Protobalanus* y *Lobatae*).

A continuación, se muestra un diagrama (Figura 1) que resume las clasificaciones propuestas desde Loudon en 1838, hasta Denk *et al.* (2017).

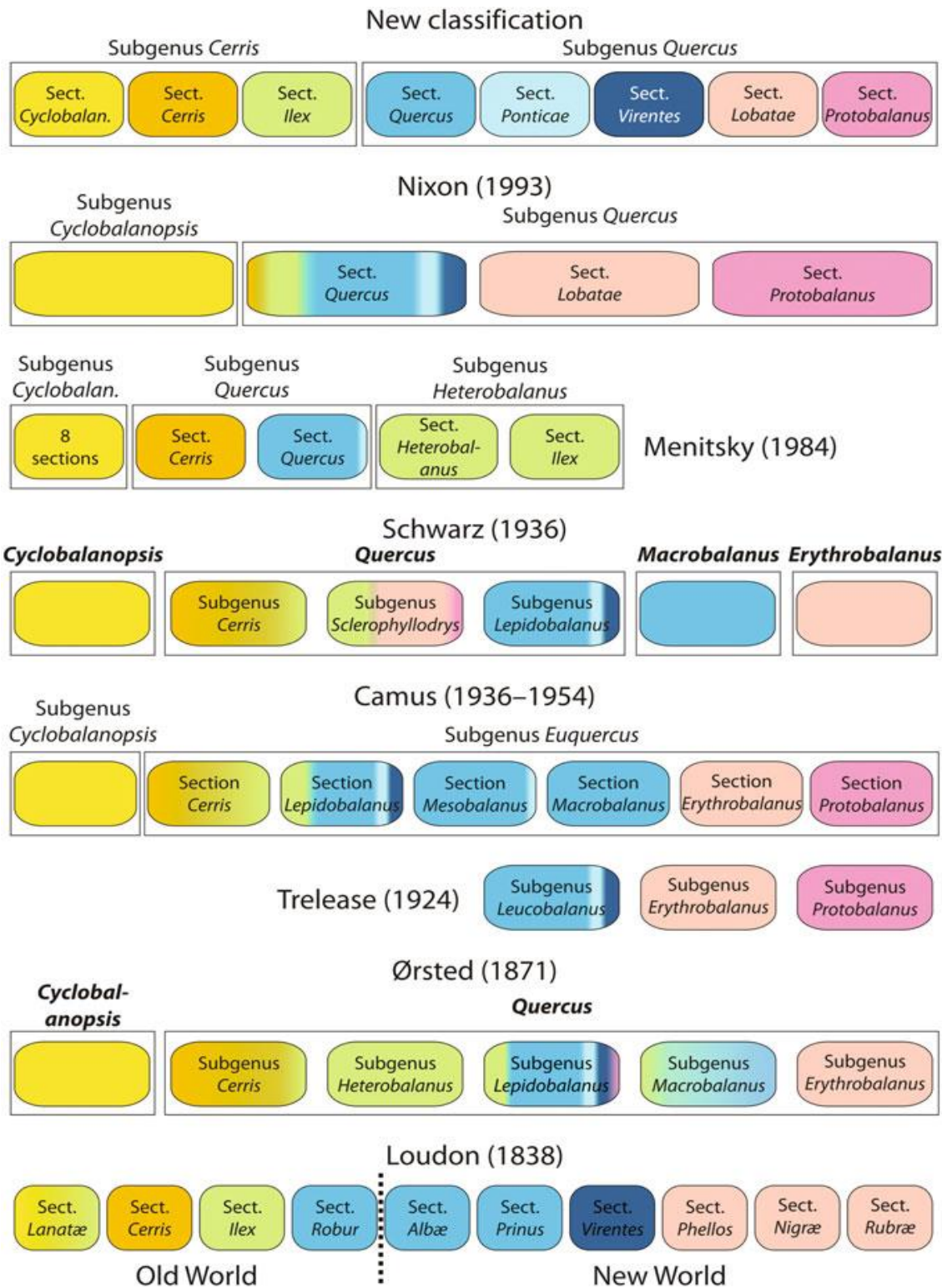


Figura 1. Clasificaciones propuestas para el género *Quercus* (tomado de Denk et al., 2017).

2.3 Diferencias diagnósticas entre las secciones del género *Quercus*

Entre las principales diferencias de las secciones propuestas por Denk *et al.* (2017) para los encinos de todo el mundo, se encuentran la presencia de un perianto que flanquea a las flores pistiladas, el número de estambres, la capa basal de los granos de polen, los estilos alargados o no, la presencia o ausencia de tomento en el endocarpo, la ubicación de los óvulos abortivos, los cotiledones libres o fusionados, el tubo cotiledonario, las escamas de la cúpula y la presencia o no de aristas en el margen de las hojas (Figura 2).

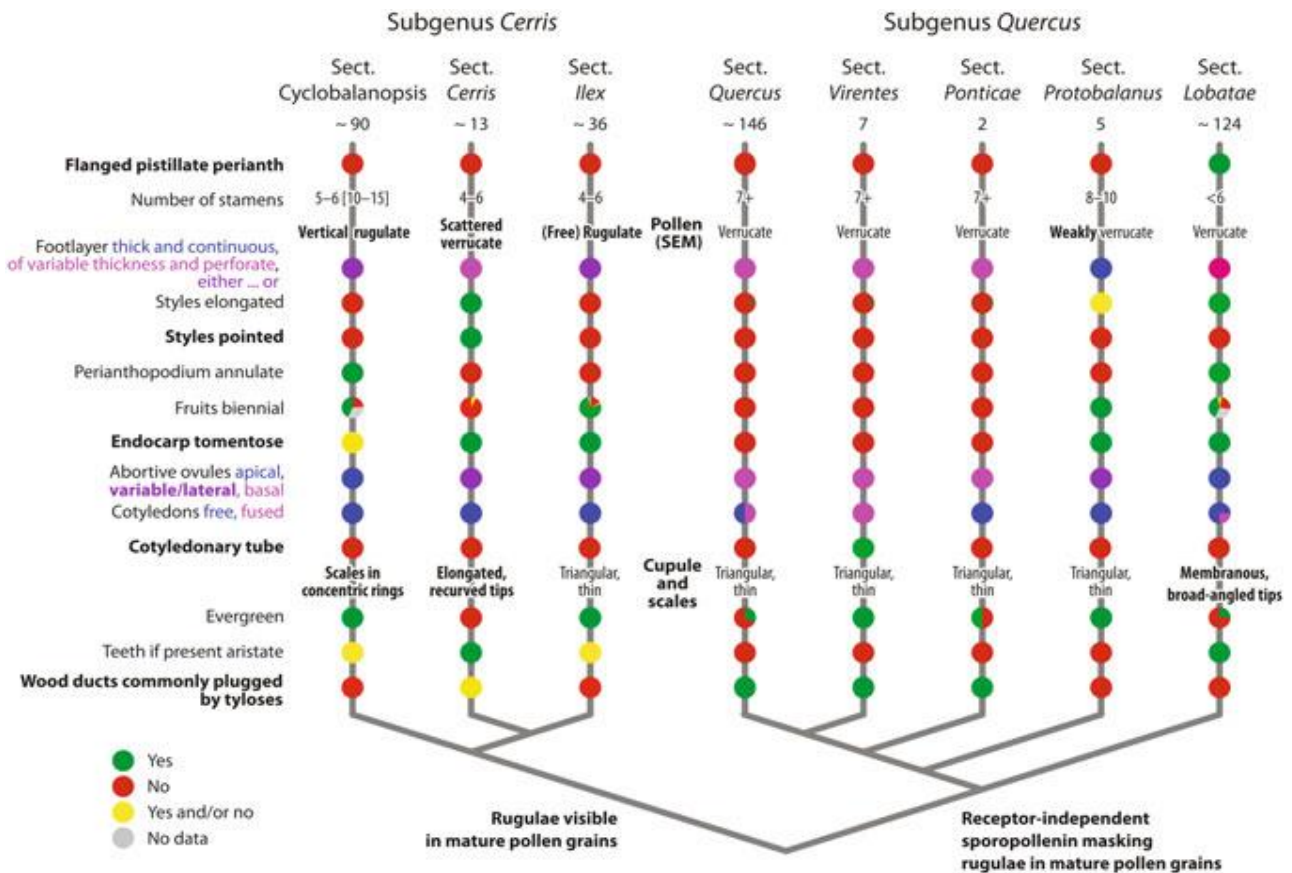


Figura 2. Clasificación de las secciones de encinos y caracteres diagnósticos por linaje (tomada de Denk *et al.*, 2017).

En México se encuentran las secciones: *Quercus*, *Lobatae*, *Virentes* y *Protobalanus*, de las cuales las más abundantes son las dos primeras, por lo que se enfatizan las diferencias entre ellos.

Una de las principales diferencias entre los encinos rojos (*Lobatae*) y los encinos blancos (*Quercus*) es el color de la madera, puesto que ésta muestra una coloración rojiza en *Lobatae* y blanquecina en *Quercus*. La coloración de la madera es determinada por la cantidad de taninos que presenta el tejido parenquimático y conductor, los encinos rojos poseen una mayor cantidad de taninos a comparación de los encinos blancos (Pérez *et al.*, 2015). El margen de las hojas, también es un carácter que ayuda a diferenciar entre ambas secciones, los encinos rojos generalmente poseen margen entero o dentado con aristas, en comparación con los encinos blancos que habitualmente muestran un margen entero, lobado, crenado o dentado con mucrones.

Otras diferencias se aprecian en las flores femeninas y en las bellotas. Las flores femeninas de los encinos blancos muestran un perianto y estigma reducidos a comparación de las flores femeninas de los encinos rojos (Valencia-A., 2018). Por su parte, las bellotas que pertenecen a los encinos blancos exhiben un endocarpo glabro, óvulos abortivos en posición basal, cúpulas glabras y escamas con engrosamiento en la parte apical, mientras que en los encinos rojos el endocarpo es tomentoso, los óvulos abortivos se disponen en el ápice, las cúpulas son pubescentes y sus escamas son delgadas con un engrosamiento en la parte basal (Valencia-A., 2018). En la Tabla 1 se exhiben algunas características diagnósticas que ayudan a diferenciar ambas secciones.

Sección	Características diagnósticas
<i>Quercus</i> (encinos blancos)	Base del perianto femenino adnado al ovario; estilos cortos y anchos; pared interna del endocarpo glabra; escamas de la cúpula quilladas (engrosamiento); dientes de las hojas (si los presentan) mucronados; óvulos abortivos basales.
<i>Lobatae</i> (encinos rojos)	Base del perianto femenino libre; estilos por lo general alargados, lineares; pared interna del endocarpo pubescente; escamas de la cúpula no quilladas (engrosamiento); dientes de las hojas (si los presentan) por lo general aristados; óvulos abortivos en posición apical.

Tabla 1. Características diagnósticas entre encinos blancos y rojos (tomado de Romero *et al.*, 2002).

2.4 Centros de diversidad para el género *Quercus*

Se reconocen dos centros de diversidad para el género *Quercus*, el primero se localiza en México (con alrededor de 161 especies) particularmente en las regiones montañosas, donde forman parte importante de los bosques templados (Valencia-A., 2004), y el segundo en los bosques montanos del sureste de Asia (con aproximadamente 125 especies). Cabe mencionar que Villaseñor en 2016, citó 174 especies para México (Valencia-A. *et al.*, 2017). Actualmente no hay especies emparentadas en diferentes continentes o áreas distintas. Las filogenias realizadas hasta el momento muestran que las especies de un área determinada son más cercanas que las de áreas diferentes (Hubber *et al.*, 2014; Hipp *et al.*, 2018).

2.5 El género *Quercus* en México

En México, considerando el nivel altitudinal y tipo de clima, el género *Quercus* muestra una distribución variada. Sin embargo, existen especies de encino de amplia distribución, ya que llegan a cruzar las fronteras de Estados Unidos y Centroamérica, por esta razón, Norteamérica incluyendo México, contienen el 65% de las especies de encinos registradas actualmente (Hipp *et al.*, 2018).

Los estados que registran un mayor número de especies de *Quercus* son Chihuahua, Durango, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí y Veracruz (Pérez *et al.*, 2006). Por otra parte, los estados con menor diversidad para el género son Campeche, Tabasco y Yucatán, con una sola especie registrada (*Q. oleoides* Schltld. et Cham.), mientras que en Quintana Roo no se ha encontrado ninguna especie de encino (Valencia-A., 2004).

Las especies con amplia distribución en el país son *Q. calophylla* Schltld. & Cham., *Q. castanea* Née, *Q. crassifolia* Humb. et Bonpl., *Q. laeta* Liebm., *Q. microphylla* Née, *Q. obtusata* Humb. et Bonpl. y *Q. rugosa* Née, siendo esta última la que presenta mayor distribución en el territorio nacional. En el territorio mexicano se han registrado 109 especies endémicas, esto equivale al 67.7% del

total de especies del género en México (Valencia-A., 2004).

La distribución podría atribuirse a la fisiografía, la disponibilidad de hábitats adecuados para ser ocupados y la alta variabilidad del género (Valencia-A. 2004). Sin embargo, la distribución actual, se está viendo afectada por el cambio climático y el deterioro ambiental (Zavala-Chávez, 1998).

Sabás *et al.* (2015) mencionan que los encinos ocupan hábitats en regiones montañosas, sierras y serranías aisladas, siendo elementos relevantes en bosques tropicales perennifolios, bosques tropicales caducifolios, bosques templados de coníferas y latifoliadas, bosques mesófilos de montaña, matorrales xerófilos, pastizales, humedales, vegetación de galería y áreas agrícolas, con climas semicálidos, cálidos subhúmedos, secos, semifríos, así como templados.

Altitudinalmente, en la República Mexicana, los encinos se localizan desde el nivel del mar hasta los 3,500 msnm (Valencia-A., 2004). Con base en Pérez-M. & Valencia-A., 2017, Denvir & Westwood, 2016, Gallagher, 2018, Kenny & Jerome, 2017, y Valencia-A., 2004, las cuatro secciones presentes en México, se distribuyen en las siguientes altitudes:

- Sección *Quercus*: 0 a 3,500 msnm. (principalmente entre 150 a 2,000 msnm.).
- Sección *Lobatae*: 150 hasta 3,100 msnm.
- Sección *Protobalanus*: 200 a 2,800 msnm.
- Sección *Virentes*: 330 hasta 1,400 msnm.

2.6 Importancia ecológica y comercial del género *Quercus*

Ecológicamente, los encinos brindan numerosos servicios ambientales, como son la producción de O₂, captación de CO₂, reducción de la erosión del suelo, formación y mejoramiento del suelo, filtración de agua al subsuelo (recarga del manto freático) y regulación de la temperatura atmosférica (Arizaga *et al.*, 2009; Valencia-A. & Gual, 2014; Valencia-A., 2018). Además albergan plantas epífitas y son importantes hospederos de numerosas especies animales, como insectos formadores de agallas (Boecklen & Spellenberg, 1990), al igual que de hongos ectomicorrízicos, gracias a la relación mutualista que desarrollan ambos grupos (Boecklen & Spellenberg, 1990; Manos & Stanford, 2001). La bellota de los encinos, al poseer una gran cantidad de lípidos, es de suma importancia alimenticia para diversos mamíferos, aves e insectos. Dichos animales, a su vez, se desempeñan como vectores que permiten la dispersión de las bellotas.

El género *Quercus*, junto con el género *Pinus* L., forman parte de la vegetación arbórea de áreas con climas templados, semihúmedos y cálidos subhúmedos, llegando a ser elementos dominantes del bosque tropical perennifolio, bosque tropical caducifolio y bosque mesófilo de montaña (Rodríguez & Romero, 2007; Valencia-A. & Gual, 2014), aunque también se presentan en zonas semiáridas como el matorral xerófilo, asumiendo una forma de vida arbustiva (Romero *et al.*, 2002). Los bosques de encino ocupan aproximadamente una quinta parte del territorio mexicano (Olivera *et al.*, 2011).

En el ámbito económico, dada su abundancia y distribución, los encinos constituyen el segundo grupo de importancia (después de los pinos) entre las especies maderables de climas templados en México (Arámbula *et al.*, 2010). Las especies del género *Quercus*, como recurso forestal maderable, son explotadas para la obtención de maderas preciosas y de alta durabilidad, para la fabricación de papel, añejamiento de tequila y mezcal, o bien, son importantes localmente en muchas comunidades, ya que algunas especies se utilizan para la obtención de combustible (leña y carbón). De igual forma, los encinos poseen usos no leñosos, al ser ocupados en el curtido de pieles, como sustrato de trufas, en cuestiones

médicas (para dolencias dentales, como antidiarreico y astringente, auxiliar para vértigo y epilepsia, entre otros usos), materia prima para construcción y elaboración de herramientas, como alimento para ganado (especialmente porcino), preparación de bebidas similares al café y licor, condimento en guisos, edulcorante (ligamaza) y como plantas de ornato (Arizaga *et al.*, 2009; Luna-José *et al.*, 2003; Rodríguez & Romero, 2007; Valencia-A., 2018; Zúñiga *et al.*, 2009).

La relevancia económica de los encinos, lamentablemente ha llevado a la tala inmoderada, alterando negativamente el ecosistema. El mal manejo de la tala de encinos, ya sea por sobrexplotación o por desconocimiento taxonómico y tecnológico, altera el equilibrio del ecosistema, propicia la destrucción de grandes áreas forestales, así como el cambio de uso de suelo, ocasionando desperdicios económicos al desaprovechar especies con valor forestal (Arámbula *et al.*, 2010). Entre las causas principales del desperdicio de encinos dado por la tala preferencial, están la falta de una selección de especies y su posible empleo de acuerdo con sus características anatómicas, así como la aplicación de técnicas inadecuadas en los procesos de aprovechamiento acordes con las propiedades tecnológicas de la madera (Pérez *et al.*, 2006). Para cuestiones agrícolas, los encinares son desmontados, sin embargo, estos suelos no son aptos para la agricultura permanente, provocando erosión masiva del suelo.

En muchos sitios la tala preferencial es de especies del género *Pinus* (con el que pueden compartir hábitat), a pesar de ello, los encinos pueden resultar un “estorbo” para la extracción del pino y consecuentemente son talados y desperdiciados en el campo. A nivel nacional, la madera de estos árboles ocupa el segundo lugar en aprovechamiento, los usos a los que se destina son: celulosa (54%), escuadría (30%), leña (7%) y carbón (6%) (Álvarez-Zúñiga *et al.*, 2010; Luna-José *et al.*, 2003).

3. Problemática taxonómica del género *Quercus*

Quercus es un género complejo taxonómicamente, ya que debido a la gran plasticidad fenotípica de las especies, es difícil delimitarlas (Aranda *et al.*, 2004). El polimorfismo (fenómeno que consiste en la variación de la forma del tronco, hojas, flores, frutos y aspecto en general de cada especie) (Arizaga *et al.*, 2009) en los encinos, brinda la posibilidad de encontrar hojas con morfología diferente en un mismo individuo. La variación de las hojas se puede atribuir a las diferencias de edad y a la posición espacial que tengan dentro de la planta (periférica o interior de la copa) (Aranda *et al.*, 2004). En México existen varias especies de encinos que debido a la variación morfológica presentan problemas de delimitación (Martínez *et al.*, 2003). Algunas de estas especies son *Q. affinis* Scheidw., *Q. laurina* Bonpl., *Q. laeta* Liemb., *Q. rugosa* Née, *Q. obtusata* Bonpl., *Q. mexicana* Bonpl., *Q. crassipes* Bonpl., *Q. repanda* Bonpl. y *Q. frutex* Trel.

Este género está considerado como un grupo con alta tasa de hibridación, desarrollando en ocasiones introgresión genética (Zavala-Chávez, 1998), por dicha razón su variación morfológica intraespecífica resulta en problemas taxonómicos (Manos *et al.*, 1998). La hibridación es un fenómeno natural que ocurre frecuentemente en plantas y animales, este proceso genera nuevas combinaciones genéticas por la introducción de genes semicompatibles dentro de un genotipo, sobre el cual, la interacción del entorno y la variación genética, pueden aislar un nuevo taxón de los tipos parentales, por ello los híbridos se definen como especies, subespecies, variantes o razas según el grado de divergencia (Tovar-Sánchez & Oyama, 2004).

La morfología de la hoja en particular, es útil para demostrar la hibridación, ya que se ha reportado que la variación de los patrones morfológicos pueden ser consistentes con la hibridación en varias especies (González *et al.*, 2004). Por ejemplo, para México se han reportado cuatro casos de híbridos a los que se les ha dado nombre específico (Tabla 2).

Especie 1	Especie 2	Híbrido
<i>Q. crassifolia</i> Benth.	<i>Q. crassipes</i> Bonpl.	<i>Quercus</i> × <i>dysophylla</i> Benth
<i>Q. depressipes</i> Trel.	<i>Q. rugosa</i> Née	<i>Q.</i> × <i>basaseachisensis</i> C.H.Müll.
<i>Q. clivicola</i> Trel.	<i>Q. glaucoides</i> M.Martens et Galeotti	<i>Q.</i> × <i>pastorensis</i> C.H.Müll.
<i>Q. gambelli</i> Nutt	<i>Q. arizonica</i> Sarg.	<i>Q.</i> × <i>undulata</i> Torr.

Tabla 2. Híbridos formalmente registrados para México (tomado de Valencia-A., 2004).

La delimitación complicada y la falta de un adecuado conocimiento taxonómico generan particularmente, la descripción de más especies de las que en realidad existen, tanto por errores de identificación, como por cambios taxonómicos o nomenclaturales (Valencia-A. & Gual, 2014). Lo anterior propicia el aumento del número de sinonimias, dificultando el reconocimiento de las especies y complicando su taxonomía. Para lograr delimitarlas, se han analizado caracteres fundamentados en la arquitectura foliar, morfología de estructuras reproductivas, fisiología y factores genéticos. Las especies *Q. acutifolia* Neé, *Q. conspersa* Benth., *Q. sartorii* Liemb. y *Q. xalapensis* Bonpl., tuvieron problemas de delimitación, sin embargo, gracias a estudios macromorfológicos y micromorfológicos, se han logrado diferenciar. Por ello, los caracteres foliares son de suma importancia al momento de realizar trabajos taxonómicos y filogenéticos. De igual manera, la arquitectura foliar de los encinos ha demostrado ser una herramienta importante en el reconocimiento taxonómico de hojas fósiles y en la caracterización de algunas especies actuales (Martínez *et al.*, 2003).

Al ser México un centro de diversidad para el género, es relevante analizar e investigar la biología de este grupo (desde el ámbito taxonómico hasta el ecológico), puesto que solamente así se logrará la conservación del género y la restauración de comunidades afectadas, ya que son plantas pioneras, regeneradoras y formadoras de suelo, constituyen encinares o bosques mixtos en compañía de otras angiospermas y coníferas, que brindan micro hábitats y fuentes de alimento (Valencia-A. & Gual, 2014; Valencia-A., 2018; Zavala-Chávez, 1998).

4. Importancia de las hojas y la anatomía vegetal

Los caracteres foliares son una herramienta esencial dentro de la taxonomía vegetal. Sin embargo, la mayoría de las clasificaciones emplean caracteres florales. A pesar de ello, la hoja es un órgano que ostenta una infinidad de datos con valor taxonómico (Elías, 2013).

4.1 Los encinos y sus hojas

Los caracteres de las hojas maduras, ramillas, yemas desarrolladas y frutos, proveen información suficiente para la identificación de las especies del género *Quercus*. Sin embargo, estas características aún no se conocen con precisión en varias especies y la información documentada no siempre permite distinguir entre los taxa similares de este complicado género (Sabás *et al.*, 2017). Aunque las diferentes especies híbridas de encinos se han distinguido en función de la morfología de la bellota y en marcadores genéticos y bioquímicos, el método más utilizado ha sido y continúa siendo el estudio de la morfología de la hoja (Del Río *et al.*, 2014). Por lo anterior, en el género *Quercus*, la hoja es el órgano principal por el que muchas especies son reconocidas. La descripción detallada de sus caracteres es de gran ayuda en trabajos taxonómicos, al permitir discernir tendencias filogenéticas y conocer los efectos del ambiente en la morfología de las hojas (Jones, 1986).

Los patrones de variación morfológica en poblaciones naturales son producto del flujo de genes, selección natural, plasticidad fenotípica, deriva genética y causas históricas (Zúñiga *et al.*, 2009). Las características morfológicas de las hojas, al ser sumamente sensibles, están sujetas a la genética, a factores ecológicos, ciclos fenológicos, ritmos de crecimiento, polinización anemógama y entrecruzamiento, por ello se requiere el máximo cuidado al momento de recoger muestras para estudios taxonómicos.

Dentro de los factores ecológicos o abióticos se consideran la altitud, latitud, temperatura, precipitación y luz. Los caracteres foliares de *Quercus* con mayor

variación (intra e interpoblacional) ante cambios ambientales son el tamaño del pecíolo y la longitud y ancho de la lámina foliar, puesto que las hojas grandes y los pecíolos largos mantienen las hojas separadas entre sí, favoreciendo la captación de luz (Martínez *et al.*, 2015).

Por otro lado, la organización interna de la hoja, tiene un impacto importante en el intercambio de gases, especialmente en la fotosíntesis, por ello, la estructura interna también es relevante desde el aspecto de la producción de biomasa, puesto que el tamaño del área interna fotosintéticamente activa aumenta con la disminución del tamaño de las células fotosintéticas del mesófilo, esto significa que la organización interna posee un impacto en el intercambio de gas, especialmente durante la fotosíntesis (Nikolic *et al.*, 2005).

4.2 Importancia de la anatomía vegetal

La anatomía vegetal se encarga del estudio de la estructura interna de los órganos, en comparación con la morfología que únicamente analiza la forma externa (FontQuer, 2001). En el campo de la botánica posee aplicaciones en áreas como la taxonomía, paleobotánica, filogenia, fisiología y ecología.

En la anatomía vegetal, los caracteres foliares son sumamente relevantes, éstos pueden ser externos e internos y considerados como cuantitativos y cualitativos. Dentro de los caracteres externos se encuentra el tipo de venación, configuración marginal, forma de la hoja, posición y tipo de tricomas, así como de estomas y tipos de ceras (Rodríguez & Romero, 2007). Generalmente, los caracteres externos enfocados en la venación, permiten separar secciones y especies. Entre los caracteres internos se encuentran el sistema de tejidos (dérmico, vascular y fundamental), componentes protoplasmáticos y componentes no protoplasmáticos (material ergástico), siempre tomando en cuenta el grosor, tamaño, forma, número de estratos/bandas y distribución. La anatomía foliar enfocada al tipo de estomas y tricomas, así como su distribución, la estructura de las paredes celulares y la forma de las células epidérmicas, el número de capas o

estratos del parénquima en el mesófilo, el tipo y distribución del material ergástico dentro del mesófilo, el número de elementos traqueales de los haces vasculares, la constitución de la vaina y la forma del sistema vascular en el pecíolo, han permitido el reconocimiento de familias, tribus, géneros y especies (Elías, 2013).

Para hacer estudios anatómicos prácticos, es necesario unificar el mayor número posible de variables (Del Río *et al.*, 2014) y considerar cuidadosamente la influencia potencial de factores como la edad de la planta, hábitat y ambiente (Talip *et al.*, 2017). En el caso de *Quercus*, las muestras deben tomarse en la misma época del año, considerando factores como la disposición de las hojas en el árbol (siempre es recomendable coleccionar hojas maduras de la periferia; las hojas maduras se caracterizan por su tamaño definido, apariencia no completamente pelosa y consistencia coriácea o papilosa al tacto) (Valencia-A., 2018), la ubicación geográfica del árbol en sí, teniendo cuidado de evitar el muestreo de plantas en áreas fronterizas de los bosques. En ambos casos, el objetivo es evitar cualquier posible diferencia entre las llamadas hojas de Sol y sombra (Del Río *et al.*, 2014), ya que se ha encontrado que las hojas que se desarrollan expuestas al Sol presentan una menor área foliar, un mayor grosor y son más lobadas que aquellas que crecen bajo la sombra (Álvarez, 2006).

II ANTECEDENTES

1. Teóricos (histología - anatomía)

1.1 La célula vegetal

La célula vegetal es una unidad estructural y fisiológica, conformada por protoplasto, pared celular, y material protoplasmático y no protoplasmático, característica de seres vivos como algas, plantas, hongos y algunos procariontes (Curtis *et al.*, 2008; FontQuer, 2001; Raven *et al.*, 1992; Sandoval-Z., 2005). El protoplasto está integrado por todos los componentes de la célula (Raven *et al.*, 1992; Sandoval, 2005).

La pared celular es una capa rígida o flexible compuesta de microfibrillas de celulosa cristalizada que recubre a la membrana plasmática de las células vegetales, su función es restringir la distensión del protoplasto y dar soporte mecánico a los órganos vegetales (Espinosa, 2014). Las paredes celulares se clasifican en primarias cuando se componen de celulosa y secundarias al encontrarse formadas por celulosa, hemicelulosa, pectinas, ligninas, cutina, suberina, taninos, carbonato de calcio y sílice. La pared secundaria es la encargada de proporcionar rigidez e impermeabilidad, y se ubica entre la pared primaria y la membrana celular. En medio de ambas paredes se halla una lámina media, esta estructura es una capa de origen péctico, que posee la función de mantener unidas las paredes primarias adyacentes (Curtis *et al.*, 2008; Raven *et al.*, 1992; Valencia-A. *et al.*, 2012).

Cuando la célula vegetal ya no posee ningún tipo de material celular, ésta llega a esclerosarse, por lo que únicamente se observan las paredes celulares rodeando una cavidad llamada lumen.

La comunicación intercelular se mantiene gracias a estructuras conocidas como plasmodesmos (conductos citoplasmáticos localizados en áreas con

adelgazamiento llamados campos primarios de las punteaduras en la pared primaria) y puntuaciones o punteaduras (poros o cavidades con una membrana de cierre, presentes en la pared primaria y la lámina media, la pared secundaria se torna inconspicua) (Espinosa, 2014). Los plasmodesmos llevan a cabo un transporte tipo simplástico ya que atraviesan las paredes celulares contiguas al conectar los protoplastos; por otro lado, los compartimientos externos que rodean al simplasto, forman un conducto denominado apoplasto, el cual realiza movimientos de sustancias por medio del transporte tipo apoplástico (Espinosa, 2014).

Dentro de los componentes protoplasmáticos, se encuentra al citoplasma, en él se incluyen todos los demás elementos del protoplasma como son organelos, sustancias de reserva y otros compuestos orgánicos (Esau, 1985). El citoplasma se ve delimitado por la membrana plasmática o plasmalema. Las membranas son envolturas lipídicas delgadas y selectivamente permeables, segregadas en las células vegetales por el protoplasto (Curtis *et al.*, 2008; Raven *et al.*, 1992; Sandoval, 2005).

Uno de los organelos más notables en las células vegetales son los plastidios o plastos. Estos organelos están conformados por una doble membrana, y ejercen varios papeles en el metabolismo celular, siendo vectores de herencia materna (FontQuer, 2001). Pueden estar asociados a la fotosíntesis (cloroplastos) y al almacenamiento de sustancias de reserva (leucoplastos) y carotenoides (cromoplastos). Los cloroplastos son indispensables en todas las plantas, se localizan abundantemente en el mesófilo de las hojas y poseen forma discoidal, llegando a redondear o aplanar. Por otro lado, los cromoplastos presentan una forma alargada a esferoidal y exhiben una coloración amarilla, naranja o rojiza. Los leucoplastos conservan una forma variada, generalmente se especializan, llegando a ser organelos que almacenan almidón (amiloplastos), lípidos (elaioplastos u oleoplastos) y proteínas (aleuoplastos) (Espinosa, 2014).

El material no protoplasmático es todo aquél que a grosso modo se le puede

denominar “no vivo”, este material se localiza en vacuolas. Las vacuolas son organelos o cavidades celulares de forma y tamaño variable, delimitadas por una membrana elástica y semipermeable conocida como tonoplasto, la cual incluye un contenido acuoso en donde se encuentra el material ergástico (Sandoval, 2005). El material ergástico a su vez, es el material resultante de la actividad metabólica de las plantas (Raven *et al.*, 1992), ya sean sustancias de reserva como almidón, celulosa, carbohidratos de diferentes tipos, cuerpos proteicos, cuerpos lipídicos, taninos, cristales de carbonato de calcio (cistolitos), oxalato de calcio (arena cristalina, cristales aciculares como polígonos y rafidios, cristales esféricos, drusas y cristales en roseta o estrellados) y sílice (cuerpos opalinos).

1.2 Tejidos vegetales

Las plantas vasculares desde una perspectiva morfológica, se dividen en raíz, tallo y hojas, mientras que los tejidos están organizados en un sistema conformado por el sistema básico o fundamental, sistema vascular y sistema dérmico (Raven *et al.*, 1992). Un tejido se define como un grupo o agregado de células estructuralmente similares, relacionadas en íntima unión (conectadas a través de plasmodesmos), que desempeñan una función conjunta y específica (Raven *et al.*, 1992; Sandoval, 2005; Valencia –A. *et al.*, 2012).

El sistema de tejidos se empieza a diferenciar desde el desarrollo del embrión en la semilla (Curtis *et al.*, 2008; Raven *et al.*, 1992). Los tejidos del cuerpo primario se derivan de algún tejido meristemático apical, ya sea protodermis (sistema epidérmico), procambium (sistema vascular) o meristemo fundamental (sistema fundamental). Por su parte, el tejido vascular puede dividirse en primario y secundario, este último se origina a partir del crecimiento del cambium vascular, formando en ocasiones una peridermis, la cual a su vez se deriva en felógeno (Esau, 1985).

En las angiospermas, la epidermis (sistema dérmico) es la capa más externa del cuerpo vegetal primario. Éste es un tejido complejo originado de la

protodermis, generalmente uniestratificado y formado por células aplanadas, rectangulares a poligonales, o de forma variada como los tricomas. Se encarga de proteger a la planta del daño mecánico e interviene en la transpiración de la misma, almacena agua y promueve la regeneración. De igual manera, es el tejido productor de la cutícula, la cual es una delgada capa de ceras y cutina, que cubre la superficie exterior de las células epidérmicas, tiene una función de aislamiento al igual que las ceras epicutelares (Curtis *et al.*, 2008; Sandoval, 2005; Terrazas *et al.*, 2014). Los estomas son aberturas, poros o espacios intercelulares, constituidos por un ostiolo rodeado de células guarda, que regulan el intercambio gaseoso. Generalmente poseen una distribución al azar, no obstante, con base a la posición de los estomas con respecto al nivel del resto de las células epidérmicas, los estomas ocupan una posición por encima (hojas mesófitas) o por debajo al hundirse en la epidermis (hojas xerófitas) (Terrazas *et al.*, 2014). Los tricomas son apéndices de las células epidérmicas presentes en cualquier parte del cuerpo vegetal, su función es proteger contra la radiación, evaporación y depredación, así como la atracción de presas y polinizadores (Espinosa, 2014).

La hipodermis es un tejido protector que aparece por debajo de la epidermis de las partes aéreas de algunas plantas, ésta se origina a partir del meristemo fundamental y se puede componer de esclerénquima (Terrazas *et al.*, 2014).

Cuando hay presencia de crecimiento secundario, la epidermis se sustituye por peridermis, el cual es un tejido protector secundario compuesto por felema (corcho/súber), felógeno (cambium de súber) y felodermis (Curtis *et al.*, 2008). El felógeno constituye una capa celular generalmente uniestratificada, al dividirse periclinalmente, origina felema hacia el exterior y felodermis hacia el interior del órgano (Espinosa, 2014). Cuando se genera una peridermis en los tallos de plantas leñosas, ésta tiene la función de proteger, al igual que intervenir en el intercambio gaseoso y regular hídricamente mediante la formación de lenticelas (Esau, 1985; Raven *et al.*, 1992)

Los tejidos fundamentales en las hojas se denominan parénquima,

colénquima y esclerénquima (sistema fundamental). El parénquima es un tejido que ocupa la mayor parte del cuerpo primario de la planta. Es originado a partir del meristemo fundamental, muestra típicamente poca especialización y distinción, sin embargo, aparece en los tres sistemas de tejidos (Curtis *et al.*, 2008; FontQuer, 2001). Las células parenquimáticas son isodiamétricas con paredes primarias frecuentemente delgadas (rara vez secundaria), protoplasma nucleado, que varían en tamaño y forma, generalmente organizadas en masas continuas (Raven *et al.*, 1992). Es un tejido encargado de diversas actividades fisiológicas como la fotosíntesis, almacenamiento, transporte y cicatrización en las plantas (debido a su capacidad de división), da origen a estructuras adventicias y puede tener un comportamiento secretor o excretor. El parénquima se clasifica de acuerdo a su función en parénquima de síntesis (clorénquima, parénquima secretor y parénquima meristemático), parénquima estructural (parénquima de relleno/acompañante y aerénquima), parénquima de frontera (epidermis y endodermis), parénquima de transporte (células de transferencia en tejidos vasculares y elementos cribosos) y parénquima de almacenamiento (almacén de almidón, proteínas, lípidos y agua). El parénquima en empalizada es una porción del mesófilo en las hojas, generalmente está localizado por debajo de la epidermis adaxial, mientras que el esponjoso o lagunar (puesto que posee células isodiamétricas o lobuladas, con espacios intercelulares para el intercambio gaseoso y la formación de cámaras estomáticas) se encuentra hacia la epidermis abaxial (Espinosa, 2014).

El colénquima es un tejido de soporte y plasticidad de órganos con crecimiento primario, usualmente se ubica bajo la epidermis. El tejido es originado a partir del meristemo fundamental, consta de células alargadas, con pared celular engrosada desigualmente. En el cuerpo vegetal se puede encontrar en forma de cilindros o fascículos en el córtex de tallos, pecíolos y nervaduras de hojas (Raven *et al.*, 1992). De acuerdo al patrón de engrosamiento de la pared celular de las células del colénquima, éste se clasifica en angular (depósitos de celulosa en los ángulos donde convergen las paredes celulares), laminar (depósito más grueso en

paredes tangenciales), lagunar (depósito alrededor de los espacios intercelulares) y anular (depósito uniforme alrededor de toda la pared) (Espinosa, 2014).

Por su parte, el esclerénquima es un tejido conformado por células isodiamétricas, estrelladas o alargadas, de pared celular secundaria lignificada, carentes de protoplasto (por lo que exhiben un lumen muy vistoso), muertas en la madurez y presentes en órganos con desarrollo completo (FontQuer, 2001; Raven *et al.*, 1992; Valencia-A. *et al.*, 2012). Este tejido proporciona soporte o rigidez, resiliencia y protección mecánica, se puede situar en cualquier parte del cuerpo de la planta (ya sea en masas continuas, grupos reducidos o en manera solitaria) (Raven *et al.*, 1992). Las esclereidas son clasificadas por su forma en braquiesclereidas o células pétreas (isodiamétricas), macroesclereidas (columnares), astroesclereidas (ramificadas), osteoesclereidas (forma de hueso) y tricoesclereidas (alargadas) (Espinosa, 2014).

El xilema y el floema forman un sistema continuo de tejido vascular que se extiende en todo el cuerpo vegetativo (Raven *et al.*, 1992). El xilema es un tejido estructural muy complejo, está compuesto por diferentes tipos celulares (elementos conductores, de sostén y células parenquimáticas) (Valencia-A. *et al.*, 2012), y se encarga de la conducción de agua y sales minerales en sentido ascendente (Sandoval, 2005; Espinosa, 2014). Los principales componentes celulares en angiospermas son las traqueidas, los elementos de vaso y fibras, todos ellos carentes de protoplasto. Por cuestiones de estadios de desarrollo, diámetro y ornamentación de los elementos conductores, el xilema se divide en primario (protoxilema y metaxilema proveniente del procámbium) y secundario (desarrollado a partir del cambium vascular).

El floema es un tejido complejo integrado por elementos cribosos, células parenquimáticas, fibras y esclereidas, cuya función es transportar fotosintatos o compuestos orgánicos resultantes de la fotosíntesis en sentido descendente, por lo que es el principal tejido conductor de nutrientes de plantas vasculares (Curtis, 2008; Raven *et al.*, 1992; Espinosa, 2014). Al igual que el xilema, el floema puede

clasificarse en primario y secundario. Cuando el floema es secundario, contiene parénquima en disposición radial (Esau, 1985). De acuerdo a la distribución del floema con respecto al xilema, los haces vasculares se denominan colaterales (floema-xilema con o sin cambium vascular), bicolaterales (floema-xilema-floema con y sin cambium vascular), concéntricos anficribales (xilema rodeado de floema) y concéntricos anfigasales (floema rodeado de xilema) (Terrazas *et al.*, 2014).

El cambium vascular es un tejido meristemático derivado del procambium y que se localiza entre el xilema y el floema. Está conformado por células fusiformes (células alargadas, prismáticas y aplanadas) (Espinosa, 2014).

Los órganos vegetativos se distinguen por la distribución de los tejidos vasculares y fundamentales, en la hoja, el sistema vascular se compone de nervaduras entrelazadas e incluidas en el tejido fundamental, este último diferenciado en parénquima empalizada y parénquima esponjoso (mesófilo). En el caso del tallo, éste se compone de epidermis, córtex (tejido fundamental) y médula, el tejido vascular primario forma un anillo de haces, mientras que en la raíz, los haces vasculares forman un macizo sólido y el córtex desaparece comúnmente cuando hay crecimiento secundario (Esau, 1985).

1.3 La hoja

Las hojas se definen como órganos generalmente laminares de plantas vasculares, cuyas funciones esenciales son llevar a cabo la fotosíntesis, almacenar agua y asegurar el intercambio gaseoso; se originan en sucesión en el meristemo apical del tallo, por lo que se disponen de forma lateral, poseen crecimiento determinado y simetría dorsiventral (Curtis *et al.*, 2008; Terrazas *et al.*, 2014). A parte de la fotosíntesis, las hojas también realizan funciones de protección (espinas, escamas y estípulas), soporte (zarcillos) y almacenamiento (cotiledones). Estructuralmente, constan de lámina y pecíolo, aunque éste último puede estar ausente. Con base en el sistema de tejidos, las hojas se encuentran integradas por epidermis (células simples rectangulares a poligonales, estomas,

células guarda, tricomas, escamas, papilas y excrecencias), mesófilo heterogéneo (parénquima en empalizada y esponjoso) u homogéneo (células redondeadas en una o varias capas compactas en la cara adaxial) y por un sistema de haces vasculares (estructuras de conducción integradas por tejidos especializados para la conducción de agua y fotosintatos) (Curtis *et al.*, 2008; Sandoval, 2005). Dicho sistema conforma venas medias (primarias) y venas de diferentes órdenes. Las nervaduras dentro de la lámina, pueden estar cercadas por una capa de células parenquimáticas, colenquimáticas o esclerosadas especializadas denominadas células de la vaina. La vaina y sus extensiones participan en la conducción de agua y solutos (Terrazas *et al.*, 2014).

Filogenéticamente, las hojas se clasifican en megáfilas y micrófilas (Terrazas *et al.*, 2014). Las megáfilas tienen laguna foliar (región donde hay una interrupción del tejido vascular del tallo, debido a la desviación del mismo para vascularizar una hoja), mientras que las micrófilas simplemente carecen de ella.

En una hoja se pueden distinguir dos caras o epidermis, la cara adaxial o haz y la cara abaxial o envés. Cuando la hoja presenta ambas caras se denomina bifacial y dorsiventral (con parénquima en empalizada en una cara y parénquima esponjoso en la otra). Las hojas equifaciales poseen parénquima en empalizada en ambas caras, y si el parénquima en empalizada se localiza alrededor de circunferencia de la hoja, es conocida como hoja céntrica o cilíndrica. También, las hojas son clasificadas de acuerdo a la presencia de los estomas en epistomáticas (estomas en la cara adaxial), anfiestomáticas (estomas en ambas caras) e hipoestomáticas (estomas en la cara abaxial).

El pecíolo es comparable a los tejidos primarios del tallo (Esau, 1985), por lo que ambos presentan una estructura similar. Dada la complejidad del sistema vascular presente en los pecíolos, éste proporciona una gama de caracteres que pueden ser de diagnóstico considerable (Talip *et al.*, 2017), ya que el número y distribución de los haces vasculares en el pecíolo son una fuente de caracteres en la sistemática de diferentes grupos (Terrazas *et al.*, 2014). Hare (1942) afirmó que

los caracteres anatómicos del pecíolo son diagnósticos y de valor para fines de clasificación. Metcalfe & Chalk (1979) sugirieron que la porción media del pecíolo, es la porción más confiable, ya que una sola sección se puede tomar con fines comparativos.

Anatómicamente, los pecíolos están integrados por una epidermis continua con la del tallo, colénquima y esclerénquima como tejidos de sostén, haces vasculares colaterales, bicolaterales o concéntricos, distribuidos a manera continua (formando un anillo) o discontinua (dispersa).

1.4 Microtecnia vegetal

El estudio anatómico inicia con la colecta del material biológico, éste debe ser seleccionado escrupulosamente eligiendo partes sin daños estructurales y totalmente desarrolladas. Una vez encontrado el material, es necesario recolectarlo con sumo cuidado para no deteriorar los tejidos y depositarlo inmediatamente en un fijador para preservar. Es preferible seccionar la muestra en pequeñas fracciones antes de someterlos a fijación.

La fijación de tejidos vegetales se define como la preservación selectiva de la organización morfológica y del contenido químico para su posterior observación microscópica (Sandoval, 2005). Un buen fijador es aquel que puede penetrar los tejidos sin alterarlos u originando el mínimo cambio posible en la composición química y la estructura celular (López *et al.*, 2005), al realizar una coagulación o gelificación rápida de los componentes intracelulares, facilitando así su posterior observación. De igual manera, un fijador endurece los tejidos para que sean manipulables y permite la retención de la pigmentación al momento de teñir. Uno de los fijadores más comunes y mayormente usados en estudios anatómicos y morfológicos es el FAA (formaldehído-ácido acético-alcohol), ya que tiene una acción endurecedora y permite que el material sea conservado en él por un gran período; el formaldehído y el alcohol contraen los tejidos mientras que el ácido acético los dilata (López *et al.*, 2005; Sandoval, 2005).

Una vez que el material biológico recolectado pasó por el tiempo mínimo de fijado (desde 12 horas hasta una semana, dependiendo de su dureza), las muestras deben ser lavadas y deshidratadas. En este proceso los tejidos son sometidos a una serie de soluciones de concentración gradual y ascendente, preparando así a la muestra para su posterior inclusión, por ello el propósito de la deshidratación es remover el agua contenida en los tejidos reemplazándola por un solvente orgánico, el cual pueda disolverse en el medio de inclusión (López *et al.*, 2005). El agente deshidratante más común es el alcohol etílico ya sea comercial (96%) o absoluto (100%-anhidro), mezclado con agua destilada para conseguir alcoholes graduales del 30, 50, 70, 85 y 96%. Los cambios bruscos de concentración pueden propiciar contracción del protoplasma y por ende la distorsión de los tejidos (López *et al.*, 2005; Sandoval, 2005). El tiempo dentro de cada solución depende generalmente de la naturaleza del material, ya que para órganos con bastante tejido suave, se pueden tomar tiempos menores de 30 minutos, mientras que en muestras con tejido duro (leñoso u coriáceo) se deben tomar intervalos de 12 horas o más (Sandoval, 2005). Cuando las muestras han llegado al alcohol anhidro, es menester aclarar las muestras ya que el alcohol etílico es un agente deshidratante insoluble en parafina o paraplast (material de inclusión). El xileno o xilol, cloroformo, tolueno y benceno sirven como agentes aclarantes. El proceso de aclarado es similar al de deshidratación, ya que se puede emplear alcohol absoluto-agente aclarante en proporciones 1:2, 1:1 y 2:1, en intervalos que van de unos cuantos minutos hasta más de tres horas.

La inclusión o infiltración es una operación en la cual se penetra un material solidificable a un tejido con el propósito de darle firmeza, facilitando la obtención de cortes. El material mayormente utilizado para incluir es la parafina histológica blanda (punto de fusión 35°C), semidura (punto de fusión 50-65°C) y dura (punto de fusión mayor a 70°C), ya que da soporte a los tejidos y no reacciona químicamente (López *et al.*, 2005; Sandoval, 2005). Otro agente de infiltración comúnmente usado es el paraplast (punto de fusión 56°C). Éste es un componente de la parafina histológica purificada con polímeros plásticos que

penetran fácilmente al interior de los tejidos dándoles soporte y adhesión; permite cortes de hasta 5 μm (Sandoval, 2005). El proceso de infiltración se realiza dentro de una estufa con temperatura promedio de 60°C, generalmente haciendo cambios graduales en las muestras ya aclaradas, con una solución elaborada de agente aclarante-parafina/paraplast en proporciones 1:2, 1:1 y 2:1, con intervalos mínimos de 24 horas en cada mezcla, para que la parafina/paraplast reemplace poco a poco al agente aclarante mientras éste se evapora (López *et al.*, 2005). Cuando ya se ha llegado a la conclusión de este proceso, las muestras son incluidas definitivamente en un bloque de parafina/paraplast líquida (libre de burbujas) hasta que ésta se solidifique y repose para su póstumo moldeado. Los cubos de cartulina o de metal son empleados como recipientes. Una vez que el bloque haya solidificado, éste es retirado del recipiente para ser moldeado dependiendo de la orientación de las muestras.

La Microtomía es una técnica que permite cortar secciones de tejidos que admitan el paso de la luz y así observar detalles estructurales para su identificación y estudio por medio del microscopio, siendo el grosor más recomendado para el microscopio óptico secciones de 1 a 30 μm (Sandoval, 2005). Cuando el material es moderadamente firme y no está incluido, se pueden realizar cortes con navaja a mano libre o alzada, de esta manera se consigue un panorama general de la estructura a analizar y permite estimar el tiempo de deshidratación que requiere la muestra. Sin embargo, cuando las muestras sí se encuentran incluidas, es necesario el uso del micrótopo, este aparato ayuda a producir secciones delgadas (en micras) y en serie. Existen varios tipos de micrótopo, por ejemplo de rotación, congelación, ultramicrótopo, deslizamiento y crióstato. El micrótopo de rotación es el más recomendado para personas que inician en el mundo de la Microtomía y para muestras incluidas en parafina o paraplast con dureza media (López *et al.*, 2005; Sandoval, 2005). Al obtenerse los cortes en serie, es indispensable depositarlos sobre un baño de flotación con agua a temperatura promedio de 40-50°C y grenetina como agente adhesivo, hasta que se extiendan completamente y pueden ser recogidos y orientados sobre el

portaobjetos. Las muestras en el portaobjetos deben marcarse en serie y dejarse secar por un tiempo mínimo de 24 horas. Posteriormente, los portaobjetos con las muestras deben ser desparafinados en canastillas dentro de la estufa y sometidos (por un período de 15 a 20 minutos) a xilol, xilol-etanol 1:1 y alcoholes graduales para poder ser teñidos.

En la Microtecnia vegetal existen varios tipos de tinción, ya que la mayoría de los tejidos poseen índices de refracción muy similares, haciendo difícil su diferenciación óptica (López *et al.*, 2005). Por ello, la finalidad de la tinción histológica es brindar color a componentes celulares transparentes o carentes de color natural. Los colorantes empleados en laboratorio son de origen natural (vegetal o animal) y artificial (extraídos del carbón mineral), y pueden ser ácidos como el verde rápido, o básicos como la safranina. Ciertas veces es necesario el empleo de mordentes o sustancias facilitadoras de la reacción de coloración, un ejemplo de mordente es el metilcelosolve y los sulfatos dobles (López *et al.*, 2005; Sandoval, 2005). El empleo de mezclas como en el caso de la safranina “O” y el verde rápido FCF con metilcelosolve, permiten una coloración de contraste, puesto que la safranina “O” tiñe en tonos rojizos la cutina, paredes lignificadas, nucléolos, cromatina, taninos, suberina y quitina, mientras que el verde rápido FCF proporciona una coloración verde, azul o violeta a las paredes celulósicas y el citoplasma (López *et al.*, 2005; Sandoval, 2005).

Para finalizar, las muestras ya teñidas deben ser debidamente montadas con ayuda de soluciones viscosas como la resina sintética, limpiadas (eliminando excesos de colorante y resina) y etiquetadas.

Existen diversas técnicas de iluminación en microscopía, como son campo claro, campo oscuro, contraste de fase, contraste diferencial de interferencia, luz polarizada y fluorescencia. Cada una posee distinta utilidad, ya que dependen de la estructura, células o tejidos a observar, el tipo de tinción (si es que la muestra se encuentra teñida) y las tonalidades resultantes, así como el contraste de las muestras. La técnica de iluminación en campo claro, es recomendable cuando se

observan estructuras teñidas (Sandoval, 2005).

Otros métodos que ayudan en el análisis de los tejidos vegetales son la diafanización, aislamiento de la epidermis, maceración y ablandamiento de tejidos. La diafanización consiste en hacer transparentes los tejidos (a excepción del tejido conductor) por medio del empleo de algún agente aclarante como el hidróxido de sodio (NaOH), provocando la eliminación de pigmentos, para observar la organización tridimensional de los órganos (Sandoval, 2005). El aislamiento de la epidermis, es una técnica que permite observar la composición del mesófilo y analizar detalladamente la epidermis con su respectiva cutícula, para ello es necesario el desprendimiento de la misma por medio de pinzas de punta fina y tratamientos químicos (hidrólisis por NaOH, Cl o H₂SO₄). Por su parte, la maceración o disociación de tejidos ayuda a examinar elementos del sistema vascular como fibras, elementos de vaso y componentes de los haces vasculares. El ablandamiento de tejidos es una técnica indispensable cuando se estudian tejidos duros, ya que éstos sin previo tratamiento, son difíciles de procesar. El ablandamiento se obtiene mediante hidratación de los tejidos (agua caliente o hirviendo con glicerina), empleo de GAA (OH 96% + glicerina + agua 1:1:1) y soluciones de etilendiamina y ácido acético glacial.

2. Taxonómicos

2.1 Descripción de las especies

Sección *Lobatae*.

***Quercus affinis* Scheidw.** Descripción con base en Romero *et al.*, 2014, y Valencia-A. *et al.*, 2017:

Árboles de (3)6 a 18(25) m de alto, caducifolios, **tronco** de 30 a 150 cm de diámetro, corteza oscura; **ramillas** de 1 a 2.5 mm de diámetro, teretes, en ocasiones sulcadas, castaño-oscuros a grisáceas, glabrescentes, con tricomas fasciculados de estípites cortos, lenticelas inconspicuas; **yemas** cónicas, de 2 a 4 (5.5) mm de largo, castaño oscuro, escamas ovadas a ligeramente triangulares, glabras, ámbar, margen ciliado. **Hojas** con **estípulas** linear-oblongadas, de ca. 5 mm de largo, pubescentes en el ápice, deciduas; **pecíolos** de 5 a 20 mm de largo, glabros a glabrescentes, con tricomas fasciculados, a veces ennegrecidos en la base; **láminas** coriáceas, elípticas, lanceoladas o elíptico-lanceoladas, de 3 a 11(13) × 1 a 3(4.5) cm, 3.1 a 3.5 veces más largas que anchas, base atenuada o cuneada, rara vez redondeada, margen plano o ligeramente revuelto, ciliado, con 1 a 4(5) dientes aristados distribuidos en la mitad distal de la hoja, ápice agudo a acuminado, aristado, venación secundaria mixta broquidódroma a semicraspedódroma, nervaduras secundarias 5 a 9(12) en cada lado de la vena media, ascendentes, rectas o ligeramente curvadas, planas, a veces inconspicuas, las venas centrales ramificándose y anastomosándose en el tercio distal, así como las que terminan en un diente que continua hacia la arista, haz verde, lustroso, glabro o puberulento, con escasos tricomas estrellados hacia la base de la vena media, venas primarias, secundarias y terciarias planas ligeramente prominentes, envés ligeramente más pálido que el haz, glabro o con tricomas fasciculados estipitados en las axilas de las venas secundarias, vena media y venas secundarias ligeramente prominentes, epidermis plana. **Inflorescencias** en

amentos masculinos de 13 a 19 mm de largo, con 7 flores; perianto de 2.8 a 3.5 mm de diámetro, densamente pubescente, estambres 4, filamentos de ca. 1.8 mm de largo, anteras de 0.9 a 1.2 mm de largo; inflorescencias femeninas de 2 a 8 mm de largo, con 1 o 2 flores, pubescentes. **Frutos** de maduración bianual, 1 a 3, pedúnculos de 3 a 15 mm de largo, cúpulas hemisféricas, de (7)10 a 15 mm de largo × 5 a 10 mm de diámetro, margen erecto, escamas lisas, adpresas, ápice agudo, delgadas o con base engrosada; bellota ovoide a cilíndrico-ovoide, en ocasiones globosa, de 8 a 13(18) mm de largo × 10-12 mm de diámetro, glabra, con 1/2 a 1/3 de su longitud total incluida en la cúpula.

Distribución y hábitat: Elemento abundante en bosques templados de coníferas y latifoliadas, bosques mesófilos de montaña, penetrando en matorrales y pastizales. Presente en altitudes de 1,250-2,500 msnm., con clima semicálido, seco y templado. Especie endémica de México, se distribuye en los estados de Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Puebla, Oaxaca y Veracruz.

Fenología: Florece en marzo y fructifica de julio a septiembre.

Nombres comunes y usos: Encino, encino escobillo, encino chino, encino de hoja delgada, encino laurelillo, encino manzanillo, shishihuilón, tizmol. Su madera se usa para la construcción de casas, cercas, postes de corrales, horcones, vigas, mangos de herramientas, leña y carbón.

Sección *Quercus*.

***Quercus laeta* Liebm.** Descripción con base en Romero *et al.*, 2002, Romero *et al.*, 2014, y Valencia-A. *et al.*, 2017:

Árboles de 3 a 15(25) m de alto, caducifolios, **tronco** de 25 a 40 cm de diámetro, corteza grisácea; **ramillas** de 1 a 2(4) mm de diámetro, ligeramente sulcadas, rojizas, glabrescentes, con tricomas fasciculados y simples, alargados, con el tiempo ennegrecidos, lenticelas inconspicuas; **yemas** ovoides, de 2 a 4(5) mm de largo, castaño, escamas ovadas, glabras o tomentosas, margen ciliado. **Hojas** con **estípulas** linear-lanceoladas, de (2.2)4 a 5.4(7) mm de largo, pubescentes, caducifolias aunque en ocasiones persisten en las yemas apicales, **pecíolos** de (2)5 a 8.7(10) mm de largo, ensanchándose en la base, pubescentes, con tricomas simples adpresos, sésiles; **láminas** coriáceas, elípticas u obovadas, de (3)5.5 a 12(15) × (1)2 a 5.5(8.5) cm, 2.1 a 2.8 veces más largas que anchas, base subcordada a redondeada, margen crenado o dentado, engrosado, revoluto, cartilaginoso, con 1 a 7 crenas o dientes terminados en un mucrón engrosado y curvo, de textura coriácea, los dientes o crenas distribuidos en la mitad o el cuarto distal de la hoja, ápice obtuso-convexo, venación secundaria craspedódroma, nervaduras secundarias 7 a 12 en cada lado de la vena media, curvas o casi rectas, ramificadas y anastomosadas cerca del margen o prolongándose hacia los dientes, si estos se encuentran presentes, haz verde oscuro, glabro o glabrado, con tricomas estrellados distribuidos hacia la vena media y el margen, vena media y secundarias impresas, envés más pálido que el haz, pubescente, con tricomas fasciculados sésiles o de estípites cortos, de hasta 9 rayos, crispados y en ocasiones ligeramente contorsionados, localizados cerca de la vena media y las venas secundarias, además de tricomas glandulares escasos o en ocasiones ausentes, de color ámbar, sobre la venación primaria y secundaria, epidermis blanca-papilosa. **Inflorescencias** masculinas de 4 a 6 cm de largo, con flores numerosas; perianto de 2.5 a 3 mm de diámetro, pubescente, estambres 6 a 8, filamentos de

ca. 1 mm de largo, anteras de ca. 1.3 mm de largo; inflorescencias femeninas de 1 a 3 cm de largo, con 1 a 3 flores, pubescentes. **Frutos** de maduración anual, solitarios o en grupos de 3, pedúnculos de 1 a 2.5(4) cm de largo, cúpulas hemisféricas, de 10 a 20 mm de largo x 8 a 15 mm de diámetro, margen erecto, escamas basales ligeramente tuberculadas, más anchas que las superiores, ápice agudo u obtuso, base engrosada, pubescentes, principalmente en la base, bellota ovoide, de 6 a 15(20) mm de largo x 6 a 15 mm de diámetro, glabra, con 1/2 a 1/3 de su longitud total incluida en la cúpula.

Distribución y hábitat: Elemento de los bosques templados de coníferas y latifoliadas, bosques tropicales caducifolios, bosques tropicales perennifolios, penetrando en matorrales, pastizales y humedales. Habita altitudes de 2,350-2,750 msnm., con clima semicálido, seco y templado. Especie presente en Aguascalientes, Ciudad de México, Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, San Luis Potosí, Sinaloa y Zacatecas.

Fenología: Florece en febrero y fructifica de julio a diciembre.

Nombres comunes y usos: Encino colorado, charari, encino blanco, palo chino. Su madera resulta difícil de trabajar, aunque se usa para la elaboración de algunas herramientas, no obstante, no se considera buena para construir muebles. También se utiliza como leña, carbón y en la elaboración de horcones, cercas y como material celulósico.

Sección *Quercus*.

***Quercus rugosa* Née.** Descripción con base en Romero *et al.*, 2002, Romero *et al.*, 2014, y Valencia-A. *et al.*, 2017:

Árboles de 6 a 15(25) m de alto, semi-caducifolios, **tronco** de hasta 1 m o más de diámetro; corteza gris, escamosa, **ramillas** de 1.5 a 4 mm de diámetro, ligeramente sulcadas, grises o castañas, glabras o glabrescentes, con tricomas fasciculados sésiles, marrones a café-rojizos, ennegreciéndose con el tiempo, lenticelas conspicuas u ocultas por el indumento; **yemas** ovoides, de 1.2 a 3.6(6) mm de largo, pardo-rojizas, escamas ampliamente ovadas, glabras o glabrescentes, ámbar, margen ciliado. **Hojas** con **estípulas** lineares a largamente lanceoladas, de 2.5 a 6(9) mm de largo, glabrescentes o estrigosas, deciduas; **pecíolos** de (4.5)5 a 10.5(13) mm de largo, glabrescentes, con tricomas sésiles, fasciculados con los rayos crispados; **láminas** coriáceas, muy rugosas, elípticas, elíptico-obovadas u obovadas, de (4)11 a 15 cm x (2.5)7 a 9(15) cm, 1.4 a 2 veces más largas que anchas, base subcordada o cordada, margen ligeramente revoluto, en ocasiones ligeramente engrosado, cartilaginoso, con 3 a 12 crenas o sierras en cada lado, terminados en un mucrón de 2 a 3 mm de largo, de textura muy coriácea, ápice obtuso a redondeado, en ocasiones retuso, venación secundaria craspedódroma, nervaduras secundarias 7 a 16 en cada lado de la vena media, rectas o ligeramente curvadas, ascendentes, ramificadas y anastomosadas cerca del margen o prolongándose directamente hacia el diente y hasta el mucrón, haz glauco o verde oscuro, algo brillante, glabro o glabrescente, con tricomas sésiles escasamente fasciculados a lo largo del nervio central, además de tricomas glandulares, principalmente en la base de la nervadura primaria, vena media y secundarias impresas, las más finas elevadas formando un retículo pálido, envés opaco, glauco, frecuentemente cóncavo, pubescente a glabrescente, con tricomas fasciculados sésiles o de estípites cortos, dispersos, con los rayos crispados, entremezclados con tricomas glandulares, ámbar o rojizos,

epidermis bullada y papilosa. **Inflorescencias** masculinas en amentos de 1.2 a 2(5) cm de largo, con 20 a 26 flores; perianto de ca. 2 mm de diámetro, pubescente, estambres 10, filamentos de 2 a 3 mm de largo, anteras de 0.5 a 1 mm de largo; inflorescencias femeninas de 1.2 a 1.3 cm de largo, con muchas flores, pubescentes. **Frutos** de maduración anual, solitarios o en grupos de 2 a 5(8), pedúnculos de (0.8)1.5 a 5(8) cm de largo, cúpulas hemisféricas, de 5 a 12 mm de largo x 10 a 14 mm de diámetro, escamas triangulares, ápice agudo, liso y adpreso, base engrosada, pubescentes, bellota ovoide o angostamente elíptica, de 13 a 28 mm de largo x 8 a 11 mm de diámetro, glabra, con 1/4 a 1/3 de su longitud total incluida en la cúpula.

Distribución y hábitat: Elemento frecuente en bosques templados de coníferas y latifoliadas, bosque mesófilo de montaña, penetrando en matorrales, pastizales y humedales. Presente en altitudes de 1,700-3,500 msnm., con clima subhúmedo, semifrío y templado. Esta especie se localiza desde el sureste de Estados Unidos hasta Guatemala. En México se encuentra en los estados de Aguascalientes, Chiapas, Coahuila, Colima, Chihuahua, Ciudad de México, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Sonora, Sinaloa, Tlaxcala Veracruz y Zacatecas.

Fenología: Florece en agosto y fructifica de septiembre a noviembre.

Nombres comunes y usos: Roble, doga, encino, encino roble, encino quebracho, encino hojarasco, encino negro, encino cuero, encino blanco, encino asta, encino avellano, encino miel, encino blanco liso, encino quiebra hacha. La corteza se utiliza en el tratamiento de la disentería, dolor de muelas, hemorragias y fortalecimiento de los dientes; usada junto con las hojas sirve para preparar infusiones empleadas para el tratamiento contra el dolor muscular y la tos. Se sabe también que las bellotas sirven para elaborar sustitutos de café o pueden consumirse tostadas; también se usan como forraje. La madera se utiliza para la obtención de papel y como leña.

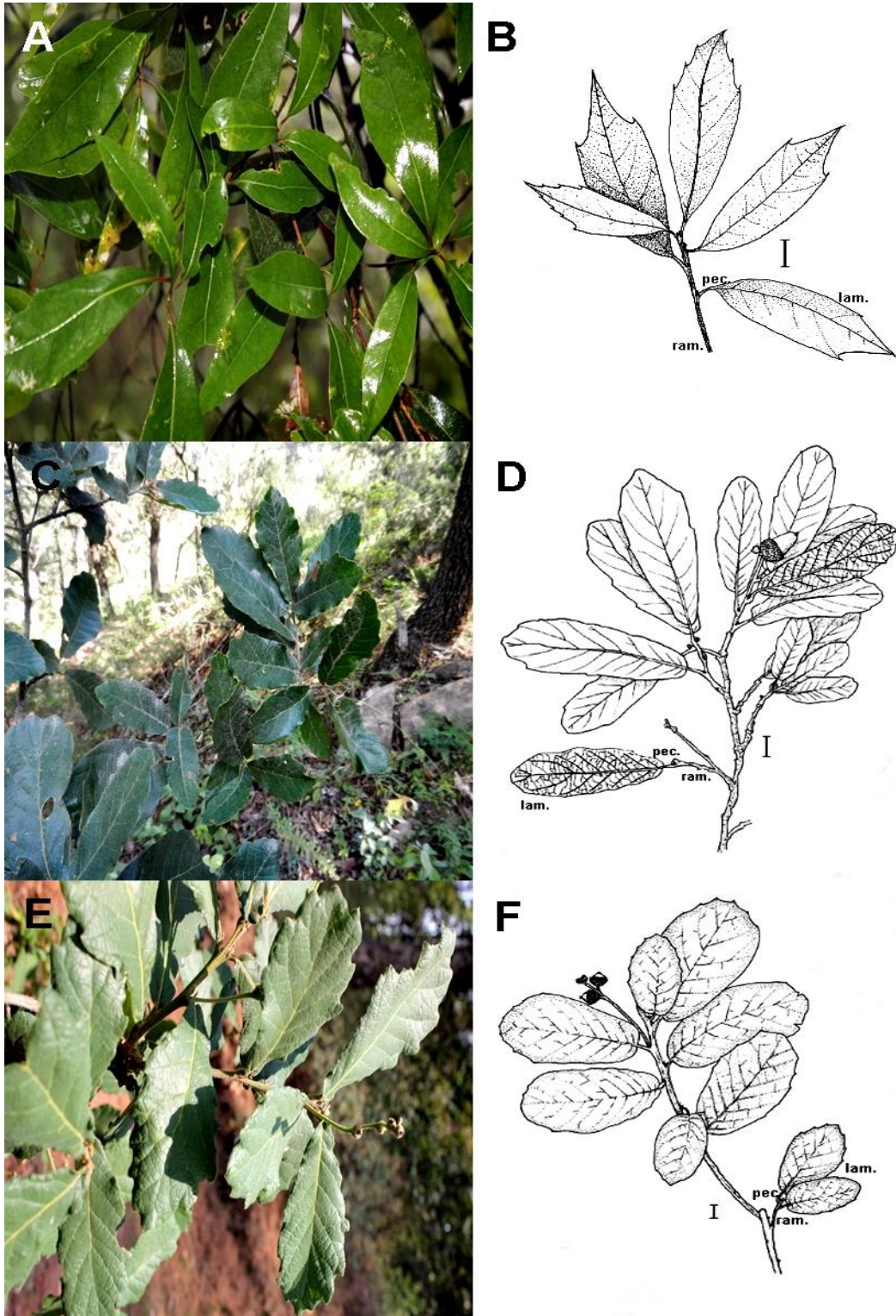


Figura 3. Fotografías de ejemplares en campo e ilustraciones (tomadas de Valencia-A. *et. al.*, 2017) de A-B: *Quercus affinis*, C-D: *Quercus laeta* y E-F: *Quercus rugosa*. Lam.: lámina, pec.: peciolo, ram.: ramilla.

3. Estudios previos

3.1 Caracteres macromorfológicos foliares

Actualmente se han llevado a cabo diversos estudios enfocados en la arquitectura foliar, a pesar de ello, han sido muy pocos los realizados en la familia Fagaceae. Por ejemplo, uno de los trabajos pioneros el mundo de los encinos, fue el realizado por Valencia y Delgado en 1995, al utilizar la arquitectura foliar como una herramienta taxonómica para distinguir individuos de *Quercus affinis* Scheidw y *Q. laurina* Bonpl.

Martínez *et al.* (2003) dieron cuenta de los patrones de venación y el tipo de dientes presentes en *Q. sartorii* Liebm. y *Q. xalapensis* Bonpl., encontraron que ambas especies poseen hojas lanceoladas, elípticas u ovadas, margen dentado, dientes aristados, base aguda, obtusa o cordada y ápice agudo o acuminado; venación semicraspedódroma, venas secundarias gruesas que constituyen ángulos de divergencia de 45° a 80°, las venas de cuarto y quinto orden forman areolas, de tipo ortogonal, la vena principal posee cristales poligonales de oxalato de calcio en toda la superficie, mientras que las venas de segundo, tercer y cuarto orden únicamente las exhiben en los lados. El tamaño de las hojas así como la cantidad de estomas no arrojaron diferencias significativas en las dos especies. Por lo anterior, los autores concluyen que la arquitectura foliar de ambas especies es similar.

Álvarez (2006) realizó un trabajo morfológico foliar sobre la especie *Q. crassifolia* Bonpl., presente en el Parque Nacional El Chico, en el estado de Hidalgo. Los resultados demostraron que existen diferencias significativas entre poblaciones e individuos, a nivel de localidades y estratos del dosel, mostrando diferenciación y una probable adaptación a escala local, lo que indica que la especie tiene una gran plasticidad fenotípica dada la influencia de los factores abióticos.

Rodríguez & Romero (2007) por medio del análisis de diez especies de

Quercus presentes en México, lograron cuantificar caracteres foliares externos y tomar de ellos aquellos que son representativos de cada especie. Por ejemplo, *Q. frutex* Trel. se distinguió de las demás especies por sus nervaduras secundarias que divergen de la primaria en un ángulo agudo moderado (45° - 65°) y en ocasiones de más de 65° . Además, establecieron el tipo de estoma, destacando en las diez especies aquellos de tipo anomocítico (principalmente) y ciclocítico.

En el caso de *Q. laeta* Liebm., Zúñiga *et al.* (2009) analizaron estadísticamente diversos caracteres foliares como longitud y ancho de hoja y pecíolo, número total de lóbulos, mucrones y venas, distancias entre suturas apicales y basales y diámetro de la nervadura principal. En los resultados, el ancho máximo de la hoja, la longitud de la hoja, el diámetro de la nervadura principal en la parte basal, el diámetro de las nervaduras, la distancia entre suturas apicales y la distancia entre lóbulos basales, permitieron discriminar entre sí las poblaciones en las localidades de estudio, logrando establecer su distribución. Además mencionan que sí hay una íntima relación entre los atributos foliares y los factores ambientales.

Martínez *et al.* (2011) en un estudio de morfometría geométrica, analizaron individuos de *Q. sartorii* y *Q. xalapensis* de diferentes poblaciones. Los resultados demostraron que el diámetro de la bellota, el diámetro de la nuez y de la cúpula, fueron los caracteres que contribuyeron a la delimitación de *Q. sartorii* y *Q. xalapensis*. De igual manera, concluyeron que existe mayor similitud entre individuos de diferentes poblaciones que entre los individuos de una misma población, este comportamiento sugiere que la variación morfológica no responde a un gradiente altitudinal ni a uno latitudinal.

Posteriormente, Martínez *et al.* (2015) realizaron un estudio que evaluó la variación morfológica de *Q. germana* Schldl. & Cham., con relación a la diferenciación foliar-fragmentación y las condiciones ambientales de una población presente en la Sierra Madre Oriental perteneciente a la región de Veracruz. Para ello tomaron en cuenta diversas variables morfológicas como el largo y ancho de

la lámina, tamaño del pecíolo, ángulo de inserción de la primera nervadura y número de mucrones. De igual manera, llevaron a cabo un análisis ambiental en los transectos de colecta. Los análisis demostraron que el tamaño de la hoja, el número de mucrones y el tamaño del pecíolo, separan y caracterizan a los individuos de la población de estudio. Con base en estos resultados, los autores concluyeron que la fragmentación puede afectar la morfología foliar sin relacionarse con las condiciones ambientales.

De Luna (2015) con la finalidad de explorar y analizar caracteres foliares que permitieran reconocer a las especies *Q. magnoliifolia* Liebm. y *Q. resinosa* Née, analizó datos de la morfometría geométrica, la arquitectura foliar y de los tricomas a nivel micromorfológico. Encontró que sí existen variaciones en caracteres como tamaño, forma e indumentos del pecíolo. En cuanto a los tricomas, las dos especies presentaron el tipo estrellado, por lo que es posible observar diferencias en la morfometría geométrica.

Sabás *et al.* (2017) estudiaron la macromorfología y micromorfología de *Q. cordifolia* Trel., *Q. deliquescens* C. H. Mull., *Q. intricata* Trel., *Q. microphylla* Née, *Q. mohriana* Buckley y *Q. striatula* Trel., seis especies arbustivas de encinos mexicanos. Los caracteres analizados a través de uso del microscopio estereoscópico y microscopio electrónico de barrido (MEB) fueron ramillas, yemas, láminas, tricomas y frutos. Como resultado obtuvieron que las seis especies son diferentes entre sí, puesto que todos los caracteres macromorfológicos considerados fueron relevantes en el reconocimiento e identificación, sin embargo, los tricomas no aportaron diferencias significativas.

3.2 Caracteres micromorfológicos foliares

Para el análisis de las características de la superficie de la hoja, durante años se ha empleado la Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Gracias a ésta técnica, se han logrado visualizar tricomas, estomas y ceras epicuticulares. Una de las estructuras que han ayudado a reconocer especies en numerosos grupos de angiospermas son los tricomas, ya sea debido a su presencia o ausencia, o a la presencia de diferentes tipos (Del Río *et al.*, 2014). La clasificación y la terminología de los tricomas utilizados en los estudios de MEB, generalmente está fundamentada en la nomenclatura de Jones (1986). Los caracteres de los tricomas foliares en el género *Quercus* han revelado ser determinantes taxonómicamente debido a su variación intraespecífica e interespecífica, por lo que son una de las estructuras más utilizadas en la identificación de especies del género (Sabás *et al.*, 2017).

La morfología de los estomas y el estudio de las ceras epicutelares mediante el uso de MEB, también se han empleado para diferenciar especies. Para el género *Quercus*, los estudios se han centralizado en la variabilidad de los estomas, con énfasis particular en el poro, la delimitación por las células guarda y el depósito de ceras epicuticulares alrededor del borde del poro (Del Río *et al.*, 2014).

Thomson & Mohlenbrock en 1979, aseguraron que los tricomas glandulares en este género no presentan gran variación, por lo que su utilidad taxonómica es limitada. Sin embargo, Hardin en 1979, aseveró que los tricomas no glandulares son de suma importancia taxonómica, ya que ayudan a delimitar especies, incluyendo algunos híbridos.

Jones (1986) en parte de un trabajo paleobotánico, recopiló los tipos de tricomas de la familia Fagaceae reportados hasta el momento de su publicación. Registró que el género *Quercus* posee tricomas unicelulares (solitarios, en forma de papilas, estrellados, fasciculados estipitados y multirradiados), intermedios (rosetas) y glandulares (simples uniseriados, capitados y ramificados uniseriados).

Además, aseguró que los encinos presentan una vasta variación foliar con características marcadas que en ocasiones se interrumpen por su capacidad de hibridación.

De igual manera, Spellenberg en 1992, empleó tricomas foliares para distinguir a *Quercus macvaughii* Spellenb. como una especie nueva y diferente de *Q. crassifolia* Bonpl. Posteriormente, Spellenberg en 1995, analizó la morfología y el indumento de las hojas de *Q. basaseachicensis* C. H. Müll., reconociendo así la naturaleza híbrida de la especie. Consecutivamente, Spellenberg & Baccon en 1996, presentaron la taxonomía de la subsección Racemiflorae de encinos rojos, principalmente con base en características de las inflorescencias y de la pubescencia foliar. Por último, Spellenberg en 1998, gracias al estudio de caracteres morfológicos foliares y de tricomas, propone que *Quercus lesueri* C. H. Müll. es una especie híbrida originada a partir de *Q. gambelii* Nutt. y *Q. arizonica* Sarg.

Manos en 1993, se basó en el estudio de tricomas para reconocer cinco especies de la sección *Protobalanus*, proponiendo una hipótesis de variación geográfica e hibridación entre pares de especies de este grupo.

Llamas *et al.* en 1995, por medio de la caracterización de tricomas, identificaron ocho especies de encinos en la Península Ibérica y con base en estos caracteres definieron una clave para la identificación de las mismas.

Valencia & Delgado (2003) revisaron la distribución cualitativa de tricomas en 25 especies de encinos presentes en México y pertenecientes a la sección *Lobatae*, mediante el empleo de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Como resultados obtuvieron que la distribución de los tricomas en la cara abaxial puede ser pelosa, glabra, glabrescente y axilo-pelosa, siendo estas últimas los tipos de distribución más común. Por otro lado, observaron que los tipos de tricomas en el envés son glandulares vermiformes (de tipo uniseriado) y no glandulares (de tipo fasciculado sésil, estrellado, fasciculado estipitado y multirradiado). *Q. laurina* Bonpl. fue la única especie que presentó tricomas glandulares y no glandulares

(fasciculado estipitado y multirradiado). Es importante mencionar que *Q. affinis* Scheidw. se caracterizó por mostrar una distribución axilo-pelosa y tricomas no glandulares de tipo fasciculados estipitados. Vázquez en 2006, en un trabajo semejante, analizó 30 especies de la misma sección.

El análisis de la variación morfológica foliar ha contribuido considerablemente en la taxonomía de diversas angiospermas, por dicha razón los caracteres foliares externos también pueden ser analizados desde una perspectiva fisiológica y cuantitativa.

Ashton & Berlyn (1994) demostraron la asociación entre las adaptaciones anatómicas y la eficiencia de los procesos fisiológicos en tres especies del género *Quercus* que ocupan topografía forestal distinta en el mismo bosque. Los autores sometieron plántulas de *Q. coccinea* Munchh., *Q. rubra* L. y *Q. velutina* Lam. a diferente cantidad y calidad de luz, tomando en consideración la asimilación neta de CO₂ y la conductividad estomática, así como características morfo-anatómicas de la cutícula, epidermis y mesófilo. Los resultados demostraron que las tres especies tienen tasas óptimas de asimilación neta de CO₂ en diferentes calidades e intensidades espectrales de luz; la conductividad estomática aumentó en aquellas que estuvieron sometidas a una mayor cantidad de luz, presentando *Q. velutina*, mayor plasticidad fisiológica. Anatómicamente, *Q. coccinea* mostró diferencias significativas en cuanto a la cantidad de estomas (mayor) y en el grosor de la epidermis inferior (más gruesa en ejemplares expuestos a una mayor cantidad y calidad de luz). Por lo anterior los autores concluyeron que sí hay una correlación entre ciertas adaptaciones anatómicas y la fisiología, por ejemplo, *Q. velutina* es más tolerante a las sequías que *Q. rubra*, mientras que *Q. coccinea* es más heterogénea.

Lester & Horner (2008) describieron el macro-patrón de los cristales de oxalato de calcio presentes en diversas especies de la familia Fagaceae y Nothofagaceae; en cuanto al género *Quercus*, observaron que hay cristales en forma de prismas o polígonos en el sistema vascular, drusas numerosas en el

mesófilo de la hoja, así como en las células empalizadas del mesófilo. Sólo algunas especies exhiben rafidios embebidos en el mesófilo en empalizada y esponjoso. Cabe mencionar que la taxonomía de los cristales de oxalato de calcio es vasta, ya que es un tipo de material ergástico presente en aproximadamente el 75% de las angiospermas. Al identificarse por su gran variedad de formas en las hojas, ayudan a separar a nivel de familia, género y especie.

Dentro de los estudios micromorfológicos más recientes, se puede citar el trabajo de Scareli *et al.* (2013), que mediante el uso de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), lograron analizar el haz y el envés de las hojas de 27 especies de encinos blancos y rojos, varias de ellas con problemas de delimitación taxonómica. En sus resultados obtuvieron una variación en las ceras epicutelares, tricomas y en la posición del estoma con respecto a la superficie de la hoja. Los tricomas en las especies de *Quercus* analizadas fueron glandulares (simples y bulbosos) y no glandulares (solitarios, estrellados, multirradiados y fasciculados); por otro lado, las ceras epicutelares se encontraron en forma de películas, cortezas, gránulos, plaquetas y rosetas. En *Q. affinis* los autores hallaron que la superficie abaxial está cubierta por cera en forma de película delgada o en gránulos, los estomas se hallan cubiertos por dicha cera y los tricomas pueden ser simples y fasciculados. En la superficie adaxial, observaron tricomas simples y multirradiados, cubiertos en su mayoría por una película de cera.

3.3 Caracteres microanatómicos foliares

En la actualidad, hay pocos trabajos que analicen la estructura microanatómica de hojas del género *Quercus*. A pesar de ello, dichos trabajos han arrojado importantes datos para este grupo taxonómico. Es importante mencionar que para la familia Fagaceae sí hay trabajos a nivel microanatómico.

Cutler (1964) realizó un estudio anatómico con muestras de madera, tallo y hoja de *Trigonobalanus verticillata* Forman y *T. doichangensis* (A. Camus) Forman, ya que este género es cercano a *Quercus*. Reportó que las hojas de ambas especies son bifaciales, dorsiventrales e hipoestomáticas (con estomas anomocíticos), con epidermis uniestratificada compuesta por células isodiamétricas a ligeramente cuadrangulares, más grandes en la cara adaxial, cutícula delgada y más gruesa en el haz, tricomas variables, presencia de hipodermis, mesófilo heterogéneo con dos estratos de parénquima en empalizada, parénquima esponjoso compuesto por células lobuladas, esclerenquima y colénquima dispuestos en varias bandas comúnmente asociadas al sistema vascular, haces vasculares integrados por anillos o cilindros de floema y xilema, pecíolo formado por un anillo vascular central o marginal curvado, presencia de drusas en el parénquima de la lámina y pecíolo, así como células epidérmicas con taninos y esclereidas en áreas cercanas a las nervaduras. El autor menciona que dichas características son similares a estudios microanatómicos elaborados en los géneros *Lithocarpus*, *Fagus*, *Castanea* y *Nothofagus*.

Nikolic *et al.*, (2005) llevaron a cabo un trabajo anatómico-ecológico, mediante la distinción de 17 genotipos (fundamentados en la variabilidad de la estructura foliar) en hojas de *Q. robur* L., presentes en los bosques de Serbia y Montenegro. Los autores observaron que las hojas son dorsiventrales, con epidermis de una capa en ambas caras (uniestratificada), cutícula relativamente gruesa en la cara adaxial, presencia de tricomas no glandulares solitarios en la superficie adaxial y tricomas glandulares solitarios y no glandulares uniseriados en la superficie abaxial. El mesófilo es heterogéneo al estar diferenciado en empalizada y esponjoso, el parénquima en empalizada posee células alargadas dispuestas en una a tres estratos, debajo de la epidermis abaxial, el parénquima

esponjoso se compone de dos a cuatro capas de células. La vena media o haz vascular principal es semicircular con forma cónica (joroba) y pequeña en la cara adaxial, mientras que en la superficie abaxial es redonda y prominente, la vena posee colénquima arreglado subepidermicamente junto con bandas de parénquima, el haz vascular tiene un anillo de xilema continuo a semicontinuo, el cual está rodeado de floema. Algunas bandas de fibras de esclerénquima se producen a lo largo del córtex. El grosor de la hoja varió entre genotipos, así como el espesor de la epidermis, mesófilos y venas medias, por ello, los autores consideraron que los resultados presentados sugieren que las variaciones intraespecíficas estimadas fueron leves, pero estadísticamente significativas.

Del Río *et al.*, (2014) realizaron un estudio anatómico por medio de técnicas histológicas en seis especies de encinos presentes en la Península Ibérica. Los resultados mostraron que las especies poseen un tipo de hoja hipostomática, con cutícula no ornamentada pero con presencia de ceras epicutelares en forma de placas membranosas y epidermis uniseriada (en un solo estrato) con células cuboidales, rectangulares y escamosas, además observaron que los estomas son anomocíticos. Los tricomas encontrados fueron glandulares y no glandulares. El mesófilo de la lámina se diferencia en empalizada (uni y biestratificado) y esponjoso, por lo que son hojas dorsiventrales con mesófilo heterogéneo. Registran la presencia de cristales de oxalato de calcio, particularmente drusas localizadas en el parénquima esponjoso.

Shahbaz *et al.*, (2015) en un estudio sobre características anatómicas en hojas de encinos presentes en Iraq (*Q. aegilops* Scop., *Q. libani* Olivier, *Q. infectoria* Olivier y *Q. macranthera* Fisch. & C.A. Mey. ex Hohen.), lograron observar que las hojas poseen una epidermis uniestratificada en ambas caras, cutícula más gruesa en la cara adaxial, mesófilo heterogéneo diferenciado en parénquima en empalizada y esponjoso, parénquima en empalizada biestratificado (a excepción de *Q. macranthera* y *Q. infectoria* ya que presentan un solo estrato) y con gran cantidad de cloroplastos, parénquima esponjoso conformado por tres a cinco capas, estomas localizados en la cara abaxial y nervaduras secundarias

contenidas en el mesófilo rodeadas de células de la vaina y colénquima. Por otro lado, las nervaduras principales se distinguen por presentar forma semicircular a elíptica, en la cara adaxial forman “jorobas” o protuberancias, mientras que en la cara abaxial toman una forma circular, la cutícula y epidermis asociada a la nervadura son visiblemente más gruesas en la cara adaxial, la nervadura se encuentra encerrada por una pared de colénquima y de dos a tres estratos o bandas de esclerénquima con presencia de tejido vascular secundario en el área medular. El pecíolo tiene una estructura similar al haz vascular principal, sin embargo, posee forma circular a semicircular, con dos pequeñas “alas” o protuberancias a los laterales. Hay cristales de oxalato de calcio (drusas y prismas o polígonos) en el colénquima, parénquima, elementos del vaso, mesófilo y nervadura principal.

Con la finalidad de conocer la anatomía foliar y de las ramillas de dos especies de encinos presentes en México, *Q. frutex* Trel. y *Q. crassipes* Bonpl., Pérez-G. (2017) realizó cortes histológicos, en los cuales observó que ambas especies poseen hojas bifaciales, dorsiventrales e hipoestomáticas, mesófilo heterogéneo integrado por parénquima biestratificado y parénquima esponjoso con cuatro a seis estratos, y con espacios amplios y cámaras estomáticas reducidas, además de ramillas con un haz vascular actinomorfo y un anillo de haces vasculares continuos y marcados o curvados. Sin embargo, las diferencias fueron vastas, la forma de los haces vasculares en la nervadura principal de lámina y pecíolo es diferente en ambas especies, en *Q. crassipes* se observaron invaginaciones del parénquima hacia el floema y xilema, mientras que en *Q. frutex* sólo se observan invaginaciones del floema. La especie *Q. crassipes* posee tricomas en la cara abaxial, mientras que *Q. frutex* exhibe tricomas en ambas caras. En cuanto a las inclusiones celulares en la lámina, *Q. crassipes* presenta cristales poligonales y drusas de oxalato de calcio, en el caso de *Q. frutex*, la especie no registró ninguna inclusión. El pecíolo de *Q. crassipes* presentó una mayor cantidad de inclusiones celulares y taninos a comparación de *Q. frutex*, aunque esta última posee una mayor cantidad de tricomas en el pecíolo.

Li *et al.* (2018) tras descubrir la especie *Q. pseudosetulosa* Q.S. Li & T.Y. Tu, sp. nov. (perteneciente a la sección *Ilex*) presente en China, realizaron un estudio fundamentado en la taxonomía, macromorfología, micromorfología y microanatomía foliar. Anatómicamente, observaron que esta especie presenta hojas bifaciales, dorsiventrales e hipoestomáticas, con estomas anomocíticos y ciclocíticos, epidermis compuesta por células cuadrangulares a poligonales, sin tricomas en ambas superficies, aunque les fue frecuente encontrar las bases de los mismos en áreas cercanas a las venas, cutícula lisa, mesófilo heterogéneo con parénquima en empalizada integrado por células oblongas a isodiamétricas arregladas en dos estratos que ocupa de $\frac{1}{2}$ a $\frac{2}{3}$ del volumen de la hojas, colénquima localizado en la superficie adaxial y pecíolos de 1.0-2.5 cm de longitud.

III JUSTIFICACIÓN

Debido a que las hojas son uno de los órganos más utilizados en el reconocimiento y taxonomía de especies del género *Quercus*, y a la escasez de estudios sobre microanatomía foliar para este grupo taxonómico, importante evolutiva y ecológicamente dentro de la flora arbórea mexicana, este trabajo pretende conocer y describir la anatomía foliar y de ramilla de tres especies del género *Quercus*, dos pertenecientes a la sección *Quercus* (*Q. laeta* y *Q. rugosa*) y una a la sección *Lobatae* (*Q. affinis*), ya que presentan problemas de identificación al confundirse con otras especies del género (*Q. affinis* – *Q. laurina*, *Q. laeta* – *Q. rugosa*), para así contribuir al conocimiento anatómico de las especies.

IV OBJETIVOS

General

Contribuir al conocimiento morfo-anatómico de las especies mexicanas del género *Quercus* y evaluar su utilidad en el reconocimiento de especies del género.

Particulares

Conocer la anatomía foliar y de las ramillas de la última estación de *Q. affinis*, *Q. laeta* y *Q. rugosa*.

Evaluar la utilidad de los caracteres anatómicos foliares y de las ramillas en la taxonomía del género *Quercus*.

Señalar puntos importantes a ajustar en la técnica histológica para el procesamiento de hojas del género *Quercus*, rumbo al establecimiento de una metodología óptima para el procesamiento de muestras histológicas en el género.

V MATERIALES Y MÉTODOS

1. Colecta de muestras

Las especies *Q. affinis* y *Q. laeta* fueron recolectadas en el estado de Hidalgo, el material de estudio proviene de cuatro localidades diferentes para cada especie. Las recolectas de *Q. rugosa* (clave QR1 y QR2) se realizaron en dos puntos diferentes de la Reserva del Pedregal de San Ángel (REPSA). Al momento de recolectar, se seleccionaron muestras con hojas maduras, pecíolos, yemas foliares y ramillas. Las muestras fueron seccionadas y colocadas en FAA (formaldehído, alcohol y ácido acético), anotando los respectivos datos de colecta. Asimismo se recolectó un ejemplar de respaldo de cada muestra, mismo que fue etiquetado y depositado en el herbario de la Facultad de Ciencias (FCME), UNAM.

La Tabla 3 muestra los datos de los sitios de colecta. El material recolectado fue determinado en el campo por la Dra. Susana Valencia Avalos (especialista del grupo taxonómico).

2. Procesamiento de material

2.1 Preparaciones de secciones transversales

Deshidratación y aclaramiento de Q. affinis y Q. laeta: Las muestras fijadas fueron lavadas con agua corriente. Posteriormente se deshidrataron mediante el uso de alcoholes etílicos graduales al 30%, 50%, 70%, 85% y 96% por un periodo de 24 horas en cada alcohol. El último cambio a alcohol absoluto o anhidro (alcohol 100%) se realizó en un solo cambio de cuatro horas. Al finalizar el proceso de deshidratación, las muestras fueron puestas en una mezcla de slide brite-etanol 1:1 durante cuatro horas. Consecutivamente, las muestras se sometieron a

cambios de slide brite-paraplast 2:1 por 24 horas, 1:1 por 72 horas y 1:2 por 24 horas. Esto se realizó dentro de una estufa a temperatura de 50°-60°C aproximadamente. Para terminar el proceso, las muestras pasaron a paraplast, manteniéndose en ella durante dos semanas (tiempo mínimo). El slide brite se usó en sustitución del xilol, al ser menos tóxico (Tabla 4).

Especie	Clave	Localidad
<i>Quercus affinis</i>	Loc. 1-A	Tianguistengo. 7 km al norte de Tianguistengo, A. Monroy C. y S. Valencia A. 117 (FCME). 13-jun-2013 20° 44' 20" lat. / 98° 38' 39" long.
	Loc. 2-A	Tlanchinol. 1 km de la desviación a Huayapa. A. Monroy C y S. Valencia A. 129 (FCME). 14-jun-2013. 21° 0' 12 lat". / 98° 39' 3" long.
	Loc. 3-A	Zacuatlipán de los Ángeles. 2 km al S de Tlahuelompa, en el camino a Tizapán, A. Monroy C y S. Valencia108 (FCME). 13-jun-2013 20° 38' 56" lat. / 98° 35' 22" long.
	Loc. 4-A	Zacuatlipán de los Ángeles. 2 km al N de Jalapa, A. Monroy C. y S. Valencia A. 113 (FCME). 13-jun-2013. 20° 40' 8" lat. / 98° 3' 34" long.
<i>Quercus laeta</i>	Loc. 1-L	-----
	Loc. 2-L	2 km al norte de Juárez, A. Monroy C. y S. Valencia A. 165 (FCME). 15-jun-2013. 20° 47' 27" lat. / 98° 49' 5" long.
	Loc. 3-L	Omitlán de Juárez. Sta Elena, al N de Omitlán, A. Monroy C y S. Valencia A. 149 (FCME). 15-jun-2013. 20° 9' 31" lat. / 98° 39' 45" long.
	Loc. 4-L	Eloxochitlán. Gilo, 4 km de Eloxochitlán. A. Monroy C. y S. Valencia A. 130 (FCME). 15-jun-2013 20° 43' 19" lat. / 98° 50' 2" long.
<i>Quercus rugosa</i>	Loc. QR1	Coyoacán. Reserva del Pedregal de San Ángel (REPSA), Ciudad Universitaria, J. V. Soriano B. (FCME). 13-feb-2017. 19°18'21" – 19°20'11" lat. / 99°10'15" – 99°12'4" long.
	Loc. QR2	Coyoacán. Reserva del Pedregal de San Ángel (REPSA), Ciudad Universitaria, J. V. Soriano B. (FCME). 13-feb-2017. 19°18'21" – 19°20'11" lat. / 99°10'15" – 99°12'4" long.

Tabla 3. Localidades de colecta.

Técnica histológica	Sustancia	Tiempo
<i>Fijación</i>	FAA	3 años
<i>Deshidratación</i>	Alcohol 30%	24 hrs.
	Alcohol 50%	24 hrs.
	Alcohol 70%	120 hrs.
	Alcohol 85%	24 hrs.
	Alcohol 96%	24 hrs.
	Alcohol 100%	4 hrs.
<i>Aclaramiento</i>	Slide Brite-Etanol (1:1)	24 hrs.
	Slide Brite-Paraplast (2:1)	24 hrs.
	Slide Brite-Paraplast (1:1)	72hrs.
	Slide Brite-Paraplast (1:2)	24 hrs.
	Paraplast	2 semanas

Tabla 4. Tiempos y pasos de la técnica histológica para hojas de *Q. affinis* y *Q. laeta* (fijación a aclaramiento).

Para la obtención del pecíolo de dichas especies, las muestras fueron colocadas en GAA (glicerina, alcohol y agua 1:1:1) para ablandar el tejido, después de haberse preservado en FAA desde su colecta. Se siguió el protocolo de deshidratación y aclaramiento para *Q. affinis* y *Q. laeta*, sin embargo, la deshidratación en cada alcohol se realizó en un período de 48 horas, a excepción del alcohol anhidro, manteniéndose 24 horas en éste. Es relevante mencionar que las muestras procesadas se mantuvieron cuatro semanas en paraplast antes de su inclusión (Tabla 5).

Técnica histológica	Sustancia	Tiempo
<i>Fijación</i>	FAA	3 años
<i>Ablandamiento</i>	GAA	60 días
<i>Deshidratación</i>	Alcohol 30%	48 hrs.
	Alcohol 50%	48 hrs.
	Alcohol 70%	144 hrs.
	Alcohol 85%	48 hrs.
	Alcohol 96%	48 hrs.
	Alcohol 100%	24 hrs.
<i>Aclaramiento</i>	Slide Brite-Etanol (1:1)	4 hrs.
	Slide Brite-Paraplast (2:1)	24 hrs.
	Slide Brite-Paraplast (1:1)	24hrs.
	Slide Brite-Paraplast (1:2)	24 hrs.
	Paraplast	4 semanas

Tabla 5. Tiempos y pasos de la técnica histológica para pecíolo de *Q. affinis* y *Q. laeta* (fijación a aclaramiento).

Ablandamiento, deshidratación y aclaramiento para Q. rugosa: Esta especie presenta hojas más coriáceas que *Q. affinis* y *Q. laeta*, por lo que anterior al deshidratado, fue menester el empleo de agua con glicerina para ablandar la hoja. Para ello, las muestras fueron colocadas en un período de dos horas en dicha solución en ebullición. Posteriormente, se siguió con el protocolo tomando tiempos de deshidratación de 48 horas, exceptuando el alcohol al 96% y 100% (Tabla 6).

Técnica histológica	Sustancia	Tiempo
<i>Fijación</i>	FAA	4 meses
<i>Ablandamiento</i>	Agua-Glicerina (en ebullición)	2 hrs.
<i>Deshidratación</i>	Alcohol 30%	48 hrs.
	Alcohol 50%	48 hrs.
	Alcohol 70%	48 hrs.
	Alcohol 85%	48 hrs.
	Alcohol 96%	36 hrs.
	Alcohol 100%	9 hrs.
<i>Aclaramiento</i>	Slide Brite-Etanol (1:1)	6 hrs.
	Slide Brite-Paraplast (2:1)	24 hrs.
	Slide Brite-Paraplast (1:1)	24hrs.
	Slide Brite-Paraplast (1:2)	24 hrs.
	Paraplast	4 semanas

Tabla 6. Tiempos y pasos de la técnica histológica para *Q. rugosa* (fijación a aclaramiento).

Inclusión: Para ésta, fue necesario llenar pequeños cubos de cartulina (hechos a mano) con paraplast líquido, los cuales sirvieron como moldes. Posteriormente, las muestras fueron colocadas en el fondo del cubo, orientándolas con la ayuda de una aguja de disección, evitando la formación de burbujas, con la finalidad de formar un bloque. Una vez que los bloques se solidificaron completamente, éstos fueron separados del cubo de cartulina para fijarlos o montarlos en una base de madera con ayuda de paraplast fundido. El bloque fue esculpido con una navaja de afeitar, antes de ser fijado en la base.

Microtomía: Para realizar los cortes finos de los bloques ya esculpidos, éstos fueron montados en el portamuestras o portabloques de un micrótopo de rotación, marca Leica modelo RM 2165, para realizar cortes de 8 a 14 μm (dependiendo de la consistencia de la muestra), de manera constante y uniforme. La serie de cortes obtenidos, fueron extendidos en un baño de flotación ya preparado con agua y

gernetina a una temperatura constante de 35°C, colocando las secciones con el lado liso (brillante) con un movimiento de barrido suave en el agua.

Desparafinación y tinción: Prosiguiendo con la metodología, se realizó una tinción de contraste en safranina "O" - verde rápido FCF metilcelosolve. Para ello fue menester la desparafinación de los cortes adheridos al portaobjetos. Éstos se colocaron en una canastilla dentro de una estufa a temperatura de 60°-75°C por un período de cinco horas. Una vez transcurrido el tiempo, la canastilla con las muestras fue sometida a un tren de slide brite 1, slide brite 2, slide brite-etanol, etanol al 100% y etanol al 96% (por un período de 20 minutos en cada solución), para terminar con la tinción en safranina "O". Posteriormente, los cortes se lavaron delicadamente con agua para retirar el colorante, seguido de esto, cada corte adherido al portaobjetos, se deshidrató con una mezcla de etanol 96%-ácido pícrico, se lavó con etanol 96%-amoniacado, nuevamente se deshidrató pero ahora en etanol anhidro (100%). Inmediatamente, se tiñeron o contrastaron con verde rápido FCF. Para finalizar, las muestras se lavaron con aceite de clavo, para sacar el colorante excedente, después en una mezcla de aceite de clavo-xilol-etanol absoluto y al final con xilol. Una vez concluido este proceso, las muestras fueron montadas en resina sintética (Tabla 7).

Técnica histológica	Sustancia	Tiempo
<i>Desparafinación</i>	-----	5 hrs.
	Slide Brite 1	20 min.
	Slide Brite 2	20 min.
	Slide Brite-Etanol	20 min.
	Etanol 100%	20 min.
	Etanol 96%	20 min.
<i>Tinción</i>	Safranina	11 días
	Alcohol 96%-Ácido pícrico	5 segundos
	Alcohol 96%-Amoniaco	5 segundos
	Alcohol 100%	5 segundos
	Verde rápido	3 segundos
	Aceite de clavo	5 segundos
	Aceite de clavo-Xilol-Etanol	5 segundos
	Xilol	10 segundos

Tabla 7. Tiempos y pasos de la técnica histológica (desparafinación y tinción).

2.2 Cortes a mano alzada de ramilla de *Q. rugosa*

Los cortes a mano alzada se llevaron a cabo mediante la colecta de ramillas de la última estación de la especie. Posteriormente, dichas ramillas fueron seccionadas y colocadas en GAA por un período de 30 días para ablandecer la muestra. Observando en un microscopio estereoscópico, se realizaron cortes delgados con ayuda de una navaja de afeitar. En una caja de Petri, las muestras fueron aclaradas con agua y secadas con papel secante para retirar el exceso de humedad. En un portaobjetos se colocó un fragmento de grenetina glicerizada (grenetina, glicerina y agua 1:6:7), el cual fue derretido mediante el empleo de un mechero de alcohol. Cuando la grenetina se tornó líquida, las muestras fueron depositadas sobre la solución. Inmediatamente, fue colocado un cubreobjetos, el cual, una vez que la grenetina solidificara, fue sellado con esmalte transparente de uñas, con la finalidad de obtener cortes semipermanentes.

2.3 Diafanización de láminas de *Q. rugosa*

Para la realización de este apartado, se colectaron hojas maduras de la última estación de *Q. rugosa*. Posteriormente, las hojas fueron sometidas en una solución de sosa cáustica al 20% por un período de 5 horas dentro de una estufa con temperatura de 60°-75°C. Una vez que las hojas se tornaron pardas y transparentes (a excepción del tejido vascular), éstas fueron colocadas en una solución de cloro al 10% con agua (1:1) fuera de la estufa, hasta que tomaron una apariencia blanquecina o traslúcida (lo anterior tomó dos semanas). Una vez aclaradas, las muestras se coloraron en alcohol al 70%. Posteriormente, fueron fragmentadas y enjuagadas con agua corriente en un tamiz. Dentro de un frasco, se sometieron a un tren de deshidratación en alcohol al 85%, 96%, y Slide Brite. Las muestras permanecieron cinco minutos en cada solución. Para teñir, las muestras se colocaron en un portaobjetos, en el cual con ayuda de pinzas y agujas de disección fueron disgregadas. Una vez realizado lo anterior, se tiñeron con verde rápido FCF y se montaron con ayuda de resina sintética (Tabla 8).

Técnica histológica	Sustancia	Tiempo
<i>Aclarado</i>	Sosa caustica al 20%	5 hrs.
	Cloro al 10% con agua (1:1)	6 meses
	Alcohol 70%	6 meses
<i>Disociado o maceración</i>	Alcohol 85%	5 min.
	Alcohol 96%	5 min.
	Slide Brite	5 min.
<i>Tinción</i>	Verde rápido FCF	5 segundos
	Aceite de clavo	5 segundos
	Aceite de clavo-Xilol-Etanol	5 segundos
	Xilol	10 segundos

Tabla 8. Tiempos y pasos para la diafanización de láminas de *Q. rugosa*.

2.4 Microfotografías

Después de concluir las técnicas histológicas vegetales, las laminillas fueron limpiadas y rotuladas con los datos de la especie y clave de la localidad. Las muestras se observaron en un microscopio óptico, por medio de la técnica de iluminación de campo claro, para observar las muestras y así seleccionar aquellas de interés para fotografiar en un fotomicroscopio marca Leica modelo DM 750.

Posteriormente, las fotografías fueron procesadas y medidas mediante los programas PhotoScape, Adobe Photoshop CS5 Portable e Image J.

VI RESULTADOS

En total se procesaron muestras de 10 localidades, cuatro de *Q. affinis*, cuatro para *Q. laeta* y dos de *Q. rugosa*. Para *Q. affinis*, de las cuatro localidades, solamente se obtuvo resultados de las localidades 2-A, 3-A y 4-A, mientras que de *Q. laeta*, las localidades 1-L, 2-L y 4-L fueron las únicas en las que se consiguieron cortes viables. No fue posible realizar colectas posteriores al año 2013 para *Q. affinis* y *Q. laeta*.

En el caso de *Q. affinis*, no se consiguieron cortes de haz vascular primario ni pecíolo, ya que el material colectado no fue debidamente seccionado al momento de recolectar. *Q. rugosa* al ser una especie disponible en la Reserva del Pedregal de San Ángel (REPSA), no presentó problemas de colecta, por ello se adquirió material suficiente, siendo debidamente seccionado.

A continuación, se describe la anatomía foliar y de ramilla de las tres especies, con base en descripciones realizadas en trabajos anteriores, por ejemplo Cutler (1964) y Shahbaz *et. al.* (2015). El orden en cada descripción va desde el tejido más externo al más interno, considerando forma, número de estratos y bandas, así como tamaño. Cabe mencionar que en las descripciones se utiliza el término “impregnación o depósitos de material ergástico no cristalino”, haciendo referencia a la posible presencia de taninos (coloración rojiza) en los tejidos. Aunque existe una gran probabilidad de que sí lo sean, ya que se realizó una tinción de contraste, no se puede aseverar que realmente lo son, puesto que no se llevaron a cabo pruebas histoquímicas.

1. Anatomía foliar y de ramilla de *Q. affinis* (Sección *Lobatae* = Encino rojo)

1.1 Anatomía de la lámina

Lámina de 160-250 μm de longitud en corte transversal. Epidermis de 10-20 μm de espesor, constituida por una sola capa de células isodiamétricas a ligeramente cuadrangulares, con pared levemente engrosada y presencia de material ergástico. Células epidérmicas del haz más grandes que las del envés. Cutícula de 3-10 μm de grosor, lisa; cutícula del envés con ligeras ondulaciones en las células epidérmicas asociadas a haces vasculares, cutícula del haz visiblemente más gruesa que la del envés (Lámina 1-C). La cara abaxial presenta estomas, los cuales están al mismo nivel que el resto de las células epidérmicas, el haz no muestra estomas, es decir son hipoestomáticas (Lámina 1-F).

Hojas bifaciales, dorsiventrales (Lámina 1-A, 1-B). Mesófilo conformado por parénquima en empalizada de 70-100 μm de espesor y esponjoso con 90-120 μm de espesor. Parénquima en empalizada biestratificado, se localiza hacia la cara adaxial de la hoja, sus células miden de 20-50 μm de largo por 5-9 μm de ancho, las células del segundo estrato son más pequeñas. Células con pared delgada, y moderados depósitos de material ergástico (Lámina 1-E, 1-F). El segundo estrato de parénquima en empalizada no es siempre conspicuo (Lámina 1-C). Parénquima esponjoso con múltiples y amplios espacios, constituido por cinco a siete bandas de células voluminosas un tanto irregulares con pared delgada, algunas llegan a presentar impregnación de material ergástico, estas células miden 10-20 μm (Lámina 1-E, 1-F). Hacia el margen de las hojas, en la región del mesófilo, hay una masa de 60-90 μm de espesor formada por células esclerosadas con pared muy gruesa y lumen vistoso (Lámina 1-D).

Cristales de oxalato de calcio en forma de polígonos asociados al sistema vascular (Lámina 1-D, 1-F). Dentro del parénquima esponjoso, en relación con los estomas, se observan cámaras estomáticas amplias (Lámina 1-F).

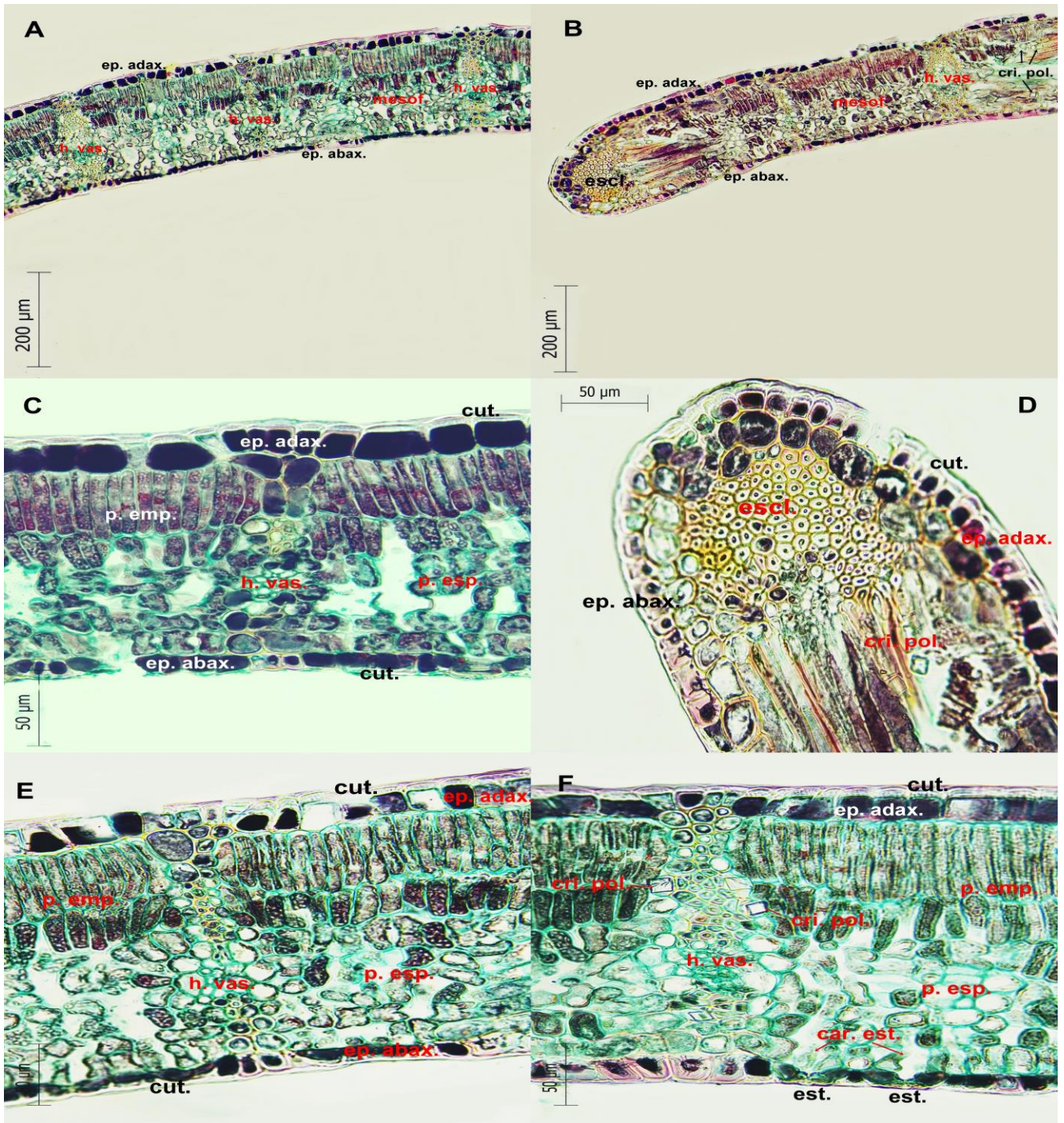


Lámina 1. Cortes transversales de hoja de *Q. affinis* vistas en aumentos de 10-40X (200-50 µm). A-B: vista general de la lámina, C: tejidos de la lámina, D: esclerenquima en el margen de la lámina, E-F: estructura del mesófilo, cristales y estomas de la lámina. Cut.: cutícula, ep. adax.: epidermis adaxial, ep. abax.: epidermis abaxial, mesof.: mesófilo, p. emp.: parénquima en empalizada, p. esp.: parénquima esponjoso, escl.: esclerenquima, h. vas.: haz vascular, cri. pol.: cristal poligonal, est.: estoma, car. est.: cámara estomática.

1.2 Anatomía de las nervaduras

Haces vasculares secundarios de 540-570 μm de largo por 350-380 μm de ancho en corte transversal. Forma semicircular, con una protuberancia en la cara adaxial y un semicírculo muy marcado en la cara abaxial (Lámina 2-A). Hace vasculares dispuestos en dos bloques o anillos semicirculares y semicontinuos separados transversalmente por parénquima de reserva, el bloque superior es más pequeño (Lámina 2-A). Parénquima de reserva compuesto por células isodiamétricas de pared ligeramente engrosada. Hace vasculares rodeados por colénquima de tipo angular dispuesto en tres a ocho bandas (en el haz y envés) y de dos a cuatro bandas de células esclerosadas con pared sumamente engrosada y lumen evidente (Lámina 2-A). Células de la vaina isodiamétricas y de pared delgada, éstas cercan al haz vascular en el área del mesófilo esponjoso. Esporádicamente se observan cristales poligonales y drusas de oxalato de calcio (Lámina 2-A).

Haces vasculares terciarios y de cuarto orden con forma elíptica a ovada en corte transversal (Lámina 2-B, 2-C, 2-D), medidas de 180-210 μm de largo por 80-90 μm de ancho. Hace vasculares compuestos por una extensión de la vaina constituida por dos a cuatro bandas de células isodiamétricas con pared ligeramente engrosada, perpendiculares al mesófilo y unidas a las células epidérmicas (Lámina 2-B, 2-C). Rodeando el haz vascular, hay células isodiamétricas de pared levemente engrosada conformando la vaina (Lámina 2-B, 2-C). En la misma dirección de las células de la extensión, hay de dos a seis bandas de células esclerosadas con pared sumamente gruesa y lumen vistoso. En este tipo de nervaduras son visibles cristales poligonales de oxalato de calcio asociados a las células de la vaina (Lámina 2-B).

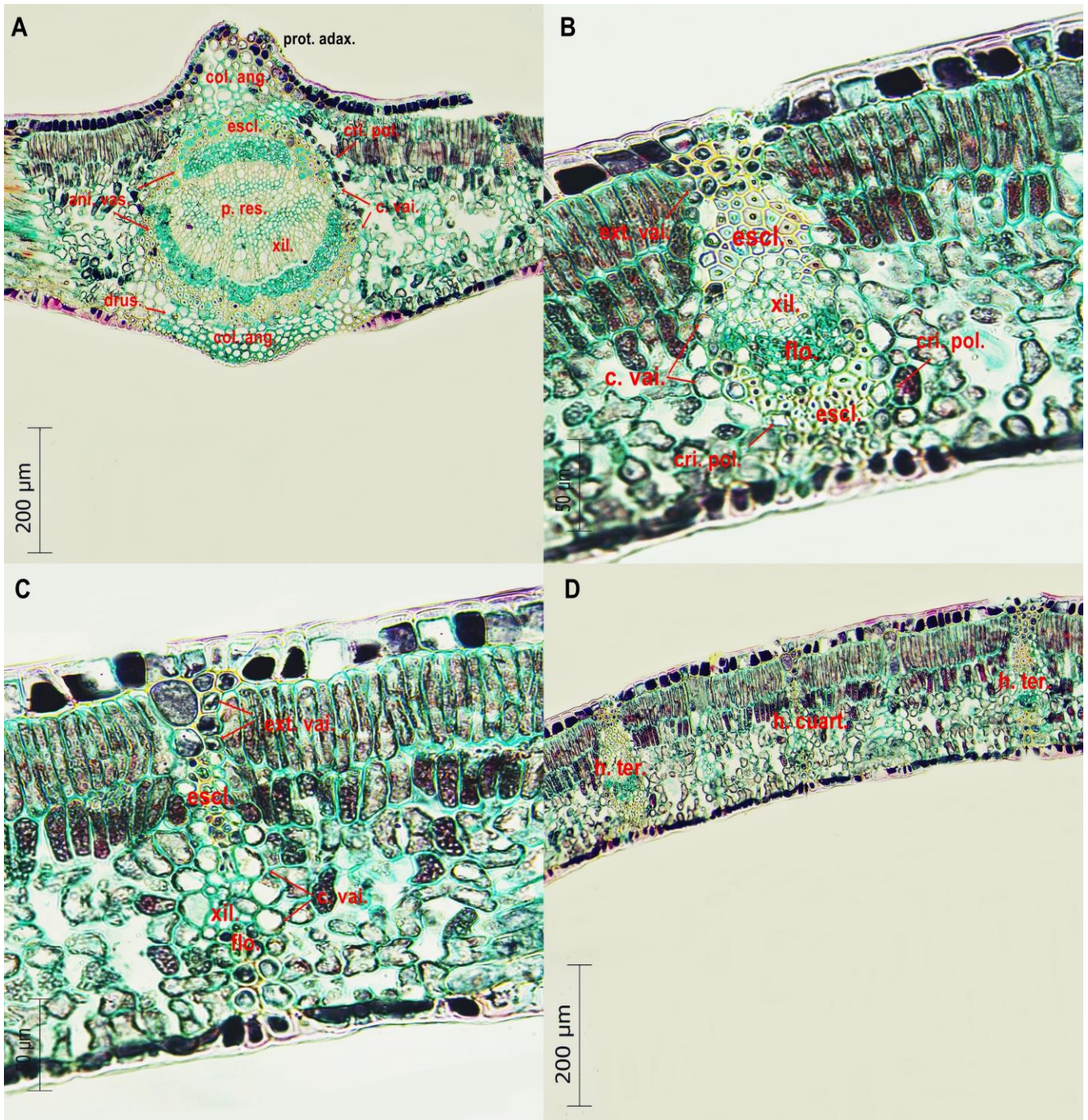


Lámina 2. Cortes transversales de nervaduras de *Q. affinis* vistas en aumentos de 10-40X (200-50 µm). A: haz vascular secundario, B: haz vascular terciario, C: haz vascular de cuarto orden. D: disposición de los haces vasculares terciarios y de cuarto orden en la lámina. Prot. adax.: protuberancia adaxial, p. res.: parénquima de reserva, col. ang.: colénquima angular, escl.: esclerénquima, ani. vas.: anillo vascular, ext. vai.: extensión de la vaina, c. vai.: células de la vaina, xil.: xilema, flo.: floema, cri. pol.: cristal poligonal, h. ter.: haz vascular secundario, h. cuar.: haz vascular de cuarto orden.

1.3 Anatomía de la ramilla

Ramilla semicircular en corte transversal, con 1000-2000 μm de diámetro. Epidermis uniestratificada, integrada por células cuadrangulares de pared levemente engrosada, cutícula delgada (Lámina 3-A, 3-B). Peridermis compuesta de una capa de células ligeramente rectangulares y de mayor tamaño que las células epidérmicas y de una a dos bandas de felodermis, la cual es definida por células pequeñas, rectangulares y planas. A nivel de las células de la peridermis se encuentran lenticelas (Lámina 3-C).

Córtex de la ramilla conformado por parénquima de células isodiamétricas de pared un tanto gruesa, este tejido mide de 170-340 μm de espesor (Lámina 3-B). Dentro del córtex hay de dos a cuatro bandas de esclerénquima que flanquean a los haces vasculares. En el parénquima del córtex se observan algunas esclereidas y gran cantidad de drusas (Lámina 3-D).

Sistema vascular conformado por haces vasculares dispuestos en un anillo concéntrico y continuo (Lámina 3-A, 3-B). Tanto el parénquima cortical como el floema y xilema de los haces vasculares, contienen una gran cantidad de drusas, cristales poligonales de oxalato de calcio y esclereidas (Lámina 3-C). La región interna al sistema vascular está integrada por una médula con configuración actinomorfa, formada por parénquima de células isodiamétricas con pared ligeramente engrosada (Lámina 3-B). Este tejido mide de 300-620 μm de longitud. El área medular presenta cristales poligonales de oxalato de calcio (Lámina 3-C, 3-D).

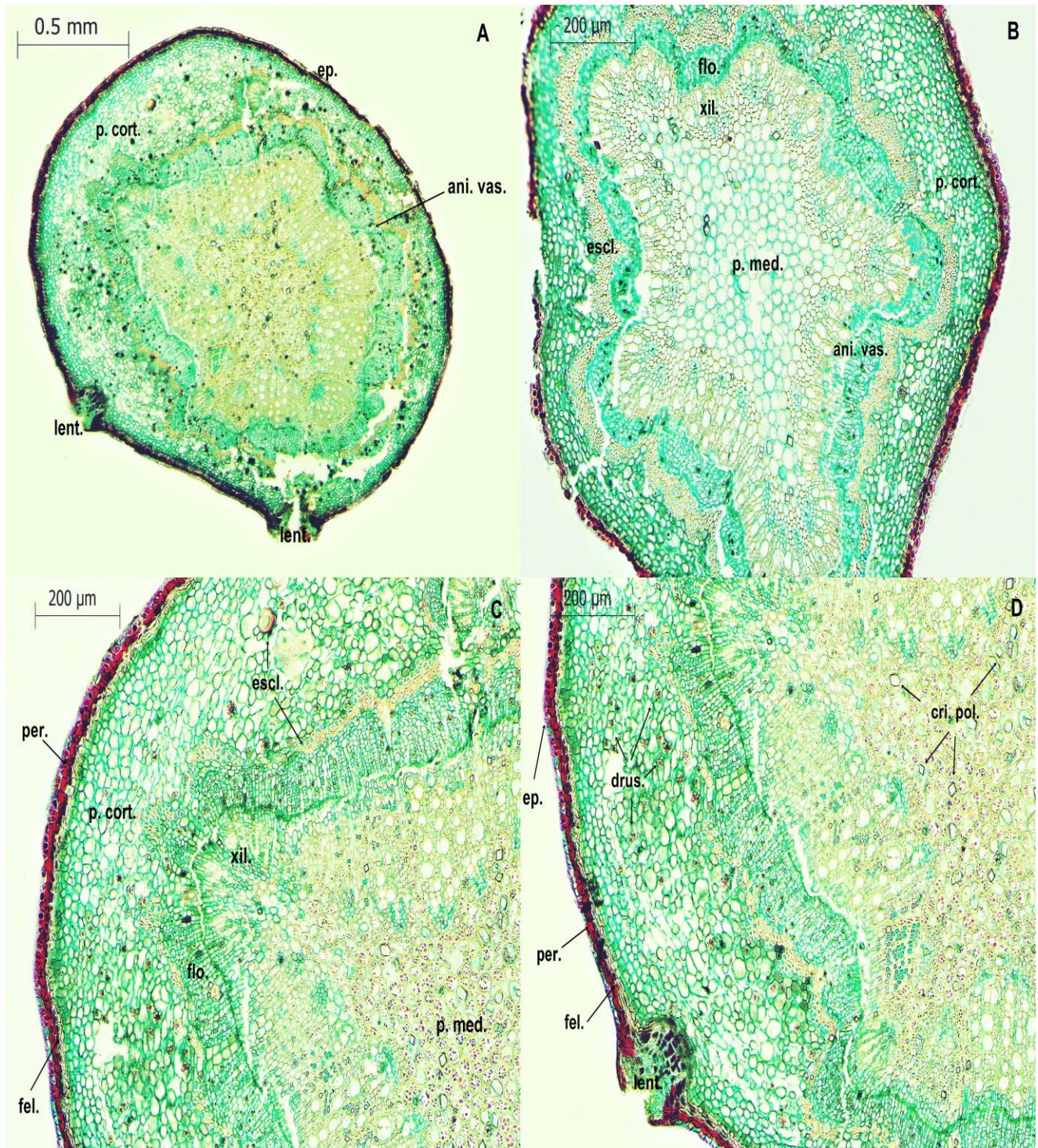


Lámina 3. Cortes transversales de ramilla de *Q. affinis* vistas en aumentos de 5-40X (500-50 µm). A-B: vista general de la ramilla, C: peridermis y anillo vascular, D: lenticela y material ergástico de tipo cristalino. Ani. vas.: anillo vascular, ep.: epidermis, per.: peridermis, fel.: felodermis, p. cort.: parénquima del córtex, p. med.: parénquima medular, escl.: esclerénquima/esclereida, xil.: xilema, flo.: floema, lent.: lenticela, drus.: drusas, cri. pol.: cristal poligonal.

2. Anatomía foliar y de ramilla de *Q. laeta* (Sección *Quercus* = Encino blanco)

2.1 Anatomía de la lámina

Lámina de 240-290 μm de espesor en corte trasversal. Epidermis conformada por un solo estrato de células isodiamétricas a cuadrangulares con 9-19 μm de espesor, con pared delgada y depósitos de material ergástico (Lámina 4-C, 4-D). Células epidérmicas del haz más grandes que las del envés. Cutícula de 4-8 μm , lisa, con ondulaciones ligeramente marcadas en las células epidérmicas que cubren a las nervaduras (Lámina 4-C). Cutícula del haz con un ligero engrosamiento, la del envés es visiblemente más delgada (Lámina 4-C). Hojas hipostomáticas, con estomas en la epidermis del envés y al mismo nivel que el resto de las células epidérmicas (Lámina 4-C).

Hojas bifaciales con mesófilo dorsiventral (Lámina 4-A, 4-B). Parénquima en empalizada con 90-130 μm de espesor y parénquima esponjoso con 93-125 μm de espesor. Parénquima en empalizada biestratificado, localizado únicamente hacia el haz de la hoja. Células alargadas con 23-64 μm de largo por 4-7 μm de ancho (las células del segundo estrato tienen un tamaño menor), pared delgada, provistas de depósitos de material ergástico (Lámina 4-C, 4-D). Parénquima esponjoso irregular debido a la gran cantidad de espacios entre las células del tejido, dichos espacios son un tanto estrechos. Células de 10-27 μm de espesor, pared delgada, con impregnación de material ergástico, dispuestas en tres a seis estratos (Lámina 4-C, 4-D). En el extremo del corte, particularmente hacia el margen de la hoja, se observa una masa de células esclerosadas con pared muy gruesa y lumen vistoso de 22-23 μm de espesor (Lámina 4-B).

Material ergástico cristalino tipo poligonal presente en las células relacionadas al sistema vascular (Lámina 4-C, 4-D). Dentro del parénquima esponjoso, son visibles cámaras estomáticas reducidas (Lámina 4-C).

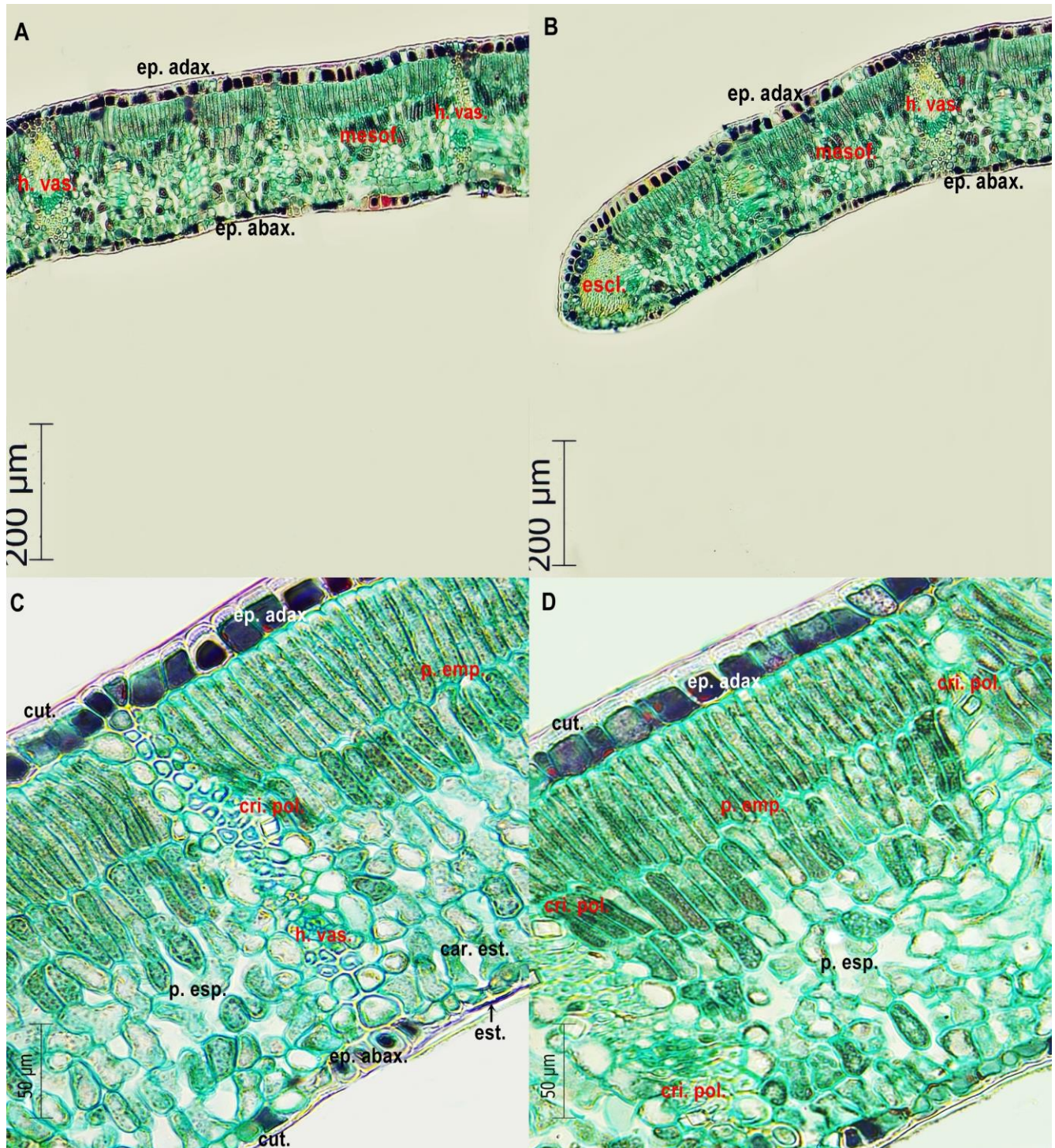


Lámina 4. Cortes transversales de hoja de *Q. laeta* vistas en aumentos de 10-40X (200-50 µm). A: vista general de la lámina, B: vista general del margen de la lámina, C-D: tejidos de la lámina. Ep. adax.: epidermis adaxial, ep. abax.: epidermis abaxial, cut.: cutícula, mesof.: mesófilo, p. emp.: parénquima en empalizada, p. esp.: parénquima esponjoso, escl.: esclerénquima, h. vas.: haz vascular, est.: estoma, car. est.: cámara estomática, cri. pol.: cristal poligonal.

2.2 Anatomía de las nervaduras

Haz vascular primario de 850-890 μm de largo por 650-680 μm de ancho en corte transversal. Forma semicircular, llegando a generar una protuberancia en la cara adaxial y un semicírculo muy marcado en la cara abaxial (Lámina 5-A). Haces vasculares dispuestos al centro en tres bloques semicirculares y semicontinuos separados por parénquima de reserva, los bloques superiores son más pequeños. Haces vasculares parcialmente flanqueados por tres a nueve bandas de colénquima angular conformado por células isodiamétricas con impregnación de material ergástico, y de tres a cinco bandas de esclerénquima con células de pared sumamente gruesa y lumen evidente (Lámina 5-A). En el centro del semicírculo hay parénquima de reserva compuesto por células isodiamétricas grandes, con pared ligeramente engrosada e impregnadas de material ergástico.

Haces vasculares secundarios con 540-560 μm de largo por 360-390 μm de ancho en corte transversal. Forma semicircular que llega a conformar una protuberancia muy prominente en la cara adaxial y un semicírculo marcado en la cara abaxial (Lámina 5-B). En la parte media se localizan dos bloques con anillos semicirculares y semicontinuos separados por parénquima de reserva, el bloque superior es más pequeño. Colénquima angular de dos a ocho bandas cercando el haz vascular, a excepción del área que corresponde al mesófilo y de dos a cinco bandas de células esclerosadas con pared muy gruesa y lumen vistoso. El colénquima no presenta depósitos de material ergástico. El haz vascular secundario está rodeado en el área del mesófilo por una vaina formada de células isodiamétricas de pared ligeramente engrosada. En el centro de este tipo de venación hay parénquima de reserva con células isodiamétricas de pared ligeramente engrosada. También se muestran idioblastos con cristales poligonales de oxalato de calcio asociados a la vaina del haz vascular y al esclerénquima (Lámina 5-B).

Haces vasculares terciarios y de cuarto orden con forma ovada a elíptica en corte transversal, miden 190-240 μm de largo por 50-86 μm de ancho (Lámina 5-

C, 5-D). Flanqueando al haz vascular hay células isodiamétricas de pared ligeramente engrosada constituyendo la vaina. Hacia el haz y el envés, hay una acumulación de dos a cinco bandas de esclerénquima conformado por células con pared muy engrosada y lumen evidente. Las células de la extensión de la vaina poseen cristales poligonales de oxalato de calcio (Lamina 5-C).

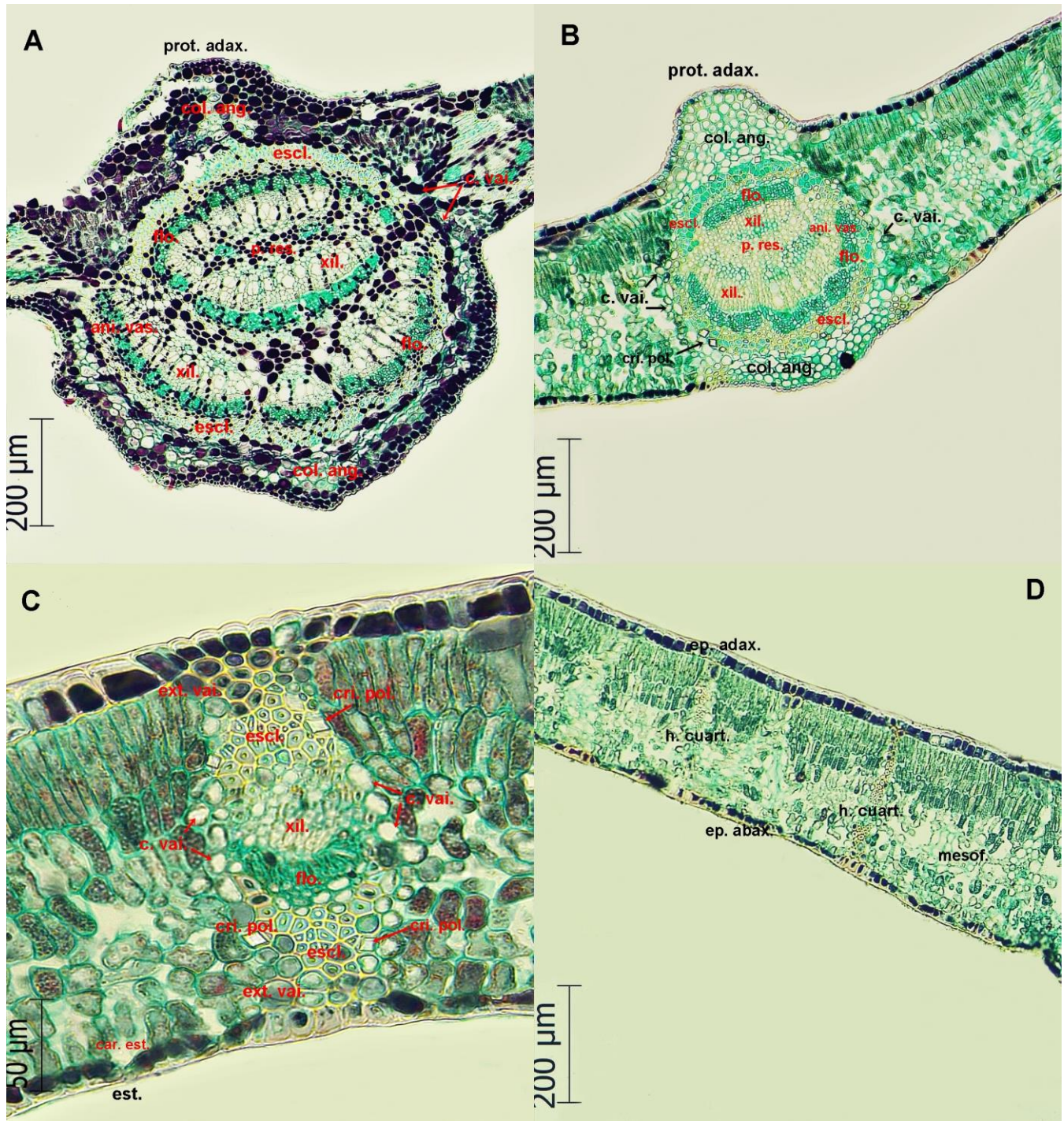


Lámina 5. Cortes transversales de nervaduras de *Q. laeta* vistas en aumentos de 10-40X (200-50 µm). A: haz vascular primario, B: haz vascular secundario, C: haz vascular terciario, D: disposición de los haces vasculares de cuarto orden en la lámina. Prot. adax.: protuberancia adaxial, p. res.: parénquima de reserva, col. ang.: colénquima angular, escl.: esclerénquima, mesof.: mesófilo, ani vas.: anillo vascular, ext. vai.: extensión de la vaina, c. vai.: células de la vaina, xil.: xilema, flo.: floema, cri. pol.: cristal poligonal, h. cuar.: haz vascular de cuarto orden, est.: estoma, car. est.: cámara estomática.

2.3 Anatomía del pecíolo

Pecíolo semicircular a cóncavo en corte transversal, de 1200-3200 μm de largo por 790-2000 μm de ancho, con dos pequeñas protuberancias o teretes a los laterales, formadas por colénquima angular, sólo visibles hacia la base del pecíolo (Lámina 6-A, 6-B). Epidermis conformada por células cuadrangulares a isodiamétricas, con pared delgada y depósitos de material ergástico. Cutícula delgada, lisa, con ligeras ondulaciones (Lámina 6-C). Hipodermis constituida por células ligeramente cuadrangulares a isodiamétricas y pequeñas. Esta capa es hialina (Lámina 6-C, 6-D).

Haces vasculares dispuestos en un anillo semicircular y semicontinuo, rodeado por un córtex constituido de parénquima de células isodiamétricas con pared levemente gruesa e impregnada de material ergástico no cristalino. En estos tejidos se aprecia una gran cantidad de drusas de oxalato de calcio (Lámina 6-B, 6-C, 6-D, 6-F). Haces vasculares flanqueados por dos a cinco bandas de esclerénquima con células de pared sumamente gruesa y lumen vistoso (lámina 6-B). Parénquima de reserva de células isodiamétricas y pared ligeramente engrosada, localizado al centro del anillo vascular (Lámina 6-B, 6-F).

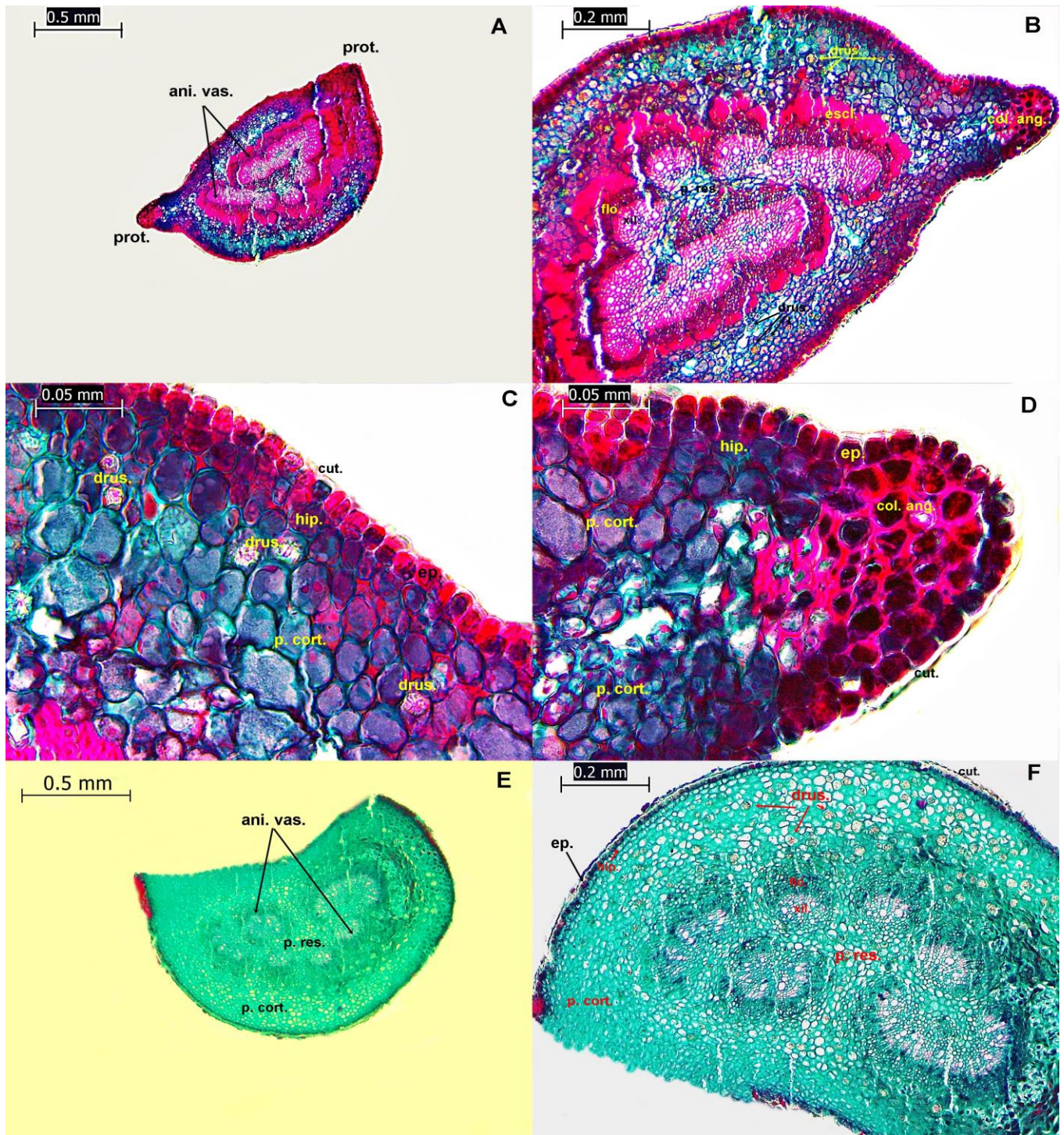


Lámina 6. Cortes transversales de peciolo de *Q. laeta* vistas en aumentos de 5-40X (500-200 μ m). A: vista general del peciolo de la base, B-C- D: tejidos del peciolo de la base, E: vista general del peciolo, F: tejidos del peciolo. Prot.: protuberancia, ani. vas.: anillo vascular, cut.: cutícula, ep.: epidermis, hip.: hipodermis, p. cort.: parénquima cortical, p. res.: parénquima de reserva, col. ang.: colénquima angular, escl.: esclerénquima, xil.: xilema, flo.: floema, drus.: drusas.

2.4 Anatomía de la ramilla

Ramilla semicircular en corte transversal, de 1400-2100 μm de diámetro. Epidermis compuesta por una capa de células isodiamétricas de pared ligeramente gruesa, cutícula delgada (Lámina 7-B). Peridermis caracterizada por un estrato de células cuadrangulares y de mayor tamaño que las células de la epidermis, pared delgada, células impregnadas de material ergástico, felodermis integrada por una a dos bandas de células pequeñas, rectangulares y aplanadas (Lámina 7-B, 7-C). Tanto la epidermis como la peridermis poseen lenticelas.

Córtex integrado, hacia la parte externa, por dos a tres bandas de colénquima angular, al interior de éste se encuentra parénquima cortical de células isodiamétricas de pared ligeramente engrosada, impregnadas de material ergástico no cristalino (Lámina 7-B, 7-C). Este tejido ocupa de 450-550 μm del grosor de la ramilla. Cercando a los haces vasculares hay de dos a seis bandas de esclerénquima con pared muy engrosada y lumen vistoso. Las células del córtex poseen drusas y cristales poligonales de oxalato de calcio (Lámina 7-B, 7-C).

Sistema vascular integrado por haces vasculares dispuestos en un anillo concéntrico y continuo (Lámina 7-A). En medio de los haces vasculares se localiza la médula formada por parénquima constituido por células isodiamétricas, de pared engrosada, con material ergástico no cristalino. Posee forma actinomórfica y ocupa 500-970 μm de longitud (Lámina 7-A, 7-D).

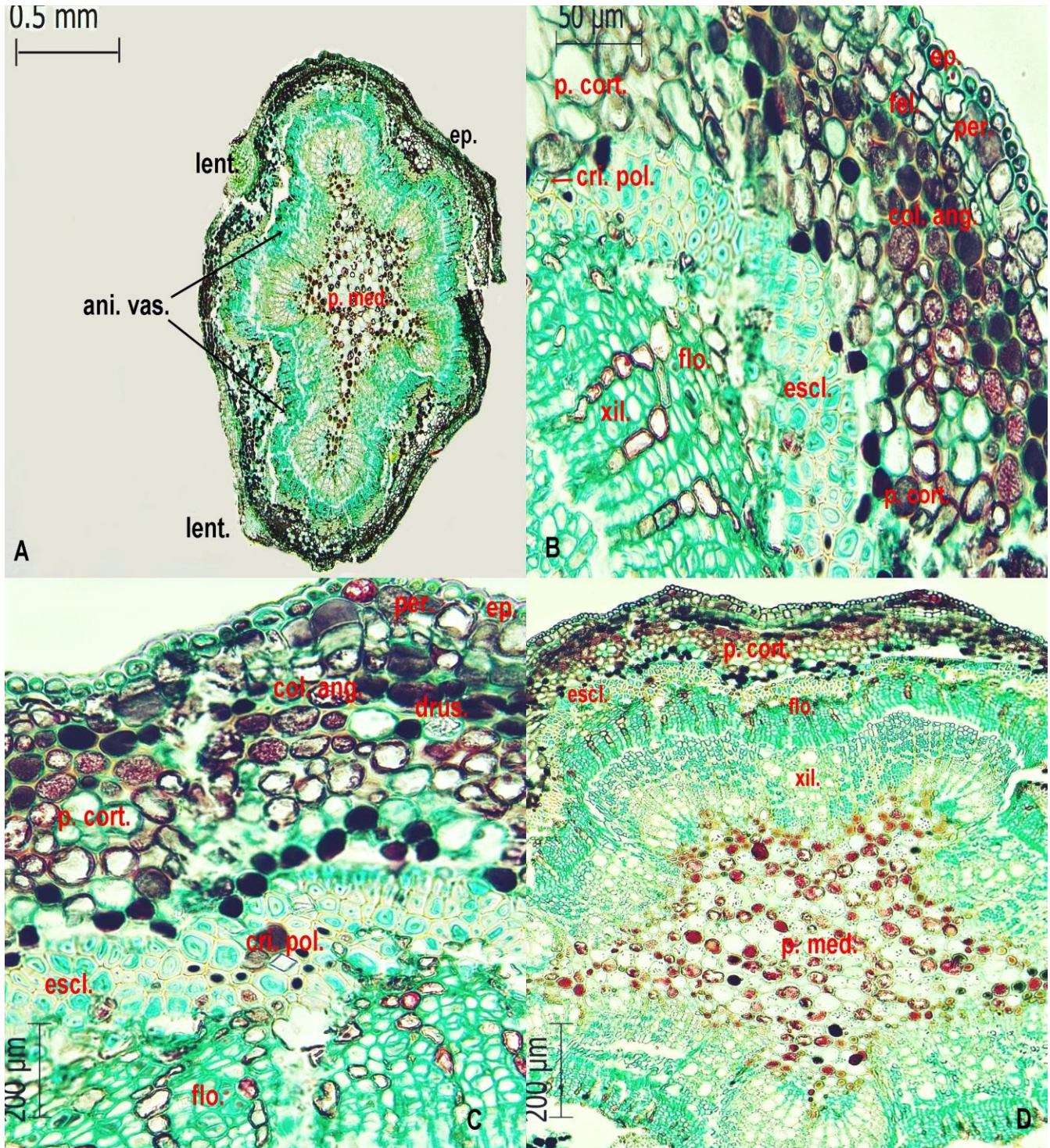


Lámina 7. Cortes transversales de ramilla de *Q. laeta* vistas en aumentos de 5-40X (500-200 μ m). A: vista general de la ramilla, B- C- D: tejidos presentes en la ramilla. Ani. vas.: anillo vascular, ep.: epidermis, per.: peridermis, fel.: felodermis, p. cort.: parénquima del córtex, p. med.: parénquima medular, escl.: esclerenquima, xii.: xilema, flo.: floema, lent.: lenticela, drus.: drusas, cri. pol.: cristal poligonal.

3. Anatomía foliar y de ramilla de *Q. rugosa* (Sección *Quercus* = Encino blanco)

3.1 Anatomía de la lámina

Lámina de 165-380 μm en corte transversal. Epidermis de 6-15 μm de espesor, uniestratificada, compuesta por células cuadrangulares o rectangulares a ligeramente isodiamétricas, pared delgada, gran impregnación de material ergástico de origen no cristalino, presencia de tricomas estrellados en la cara abaxial (Lámina 8-C). Cutícula delgada de 1-6 μm de espesor, lisa, con ligeras ondulaciones, no muestra engrosamientos en las células epidérmicas colindantes a haces vasculares; cutícula de la cara adaxial visiblemente más gruesa que la cutícula de la cara abaxial (Lámina 8-D, 8-E). Cara abaxial lobulada al tener un contorno ondulado, con valles y crestas prominentes (Lámina 8-A). Presencia de estomas al nivel de las células epidérmicas abaxiales, hojas hipoestomáticas (Lámina 8-G, 8-H).

Hojas bifaciales, con mesófilo dorsiventral integrado por parénquima en empalizada hacia la cara adaxial con 88-210 μm de espesor, y parénquima esponjoso hacia la cara abaxial, de 75-160 μm de espesor (Lámina 8-A). Parénquima en empalizada triestratificado, células de 24-70 μm de largo por 4-9 μm de ancho, pared muy delgada y vasta impregnación de material ergástico no cristalino. El estrato más interno del parénquima en empalizada no es siempre conspicuo y las células del estrato intermedio son más pequeñas que aquellas que conforman el que está hacia la superficie (Lámina 8-D, 8-E). Parénquima esponjoso irregular, con cuatro a seis estratos de células isodiamétricas a ligeramente alargadas, con 9-29 μm de longitud, pared delgada y depósitos de material ergástico, espacios sumamente estrechos (Lámina 8-F, 8-G). Presencia de cúmulos de células esclerosadas en áreas colindantes al margen de la hoja, estos miden 40-86 μm de espesor (Lámina 8-B).

Ambos parénquimas presentan drusas, las células parenquimáticas asociadas a las nervaduras muestran esporádicamente cristales de oxalato de calcio (Lámina 8-F, 8-G). En el parénquima esponjoso, se observan cámaras estomáticas reducidas (Lámina 8-H).

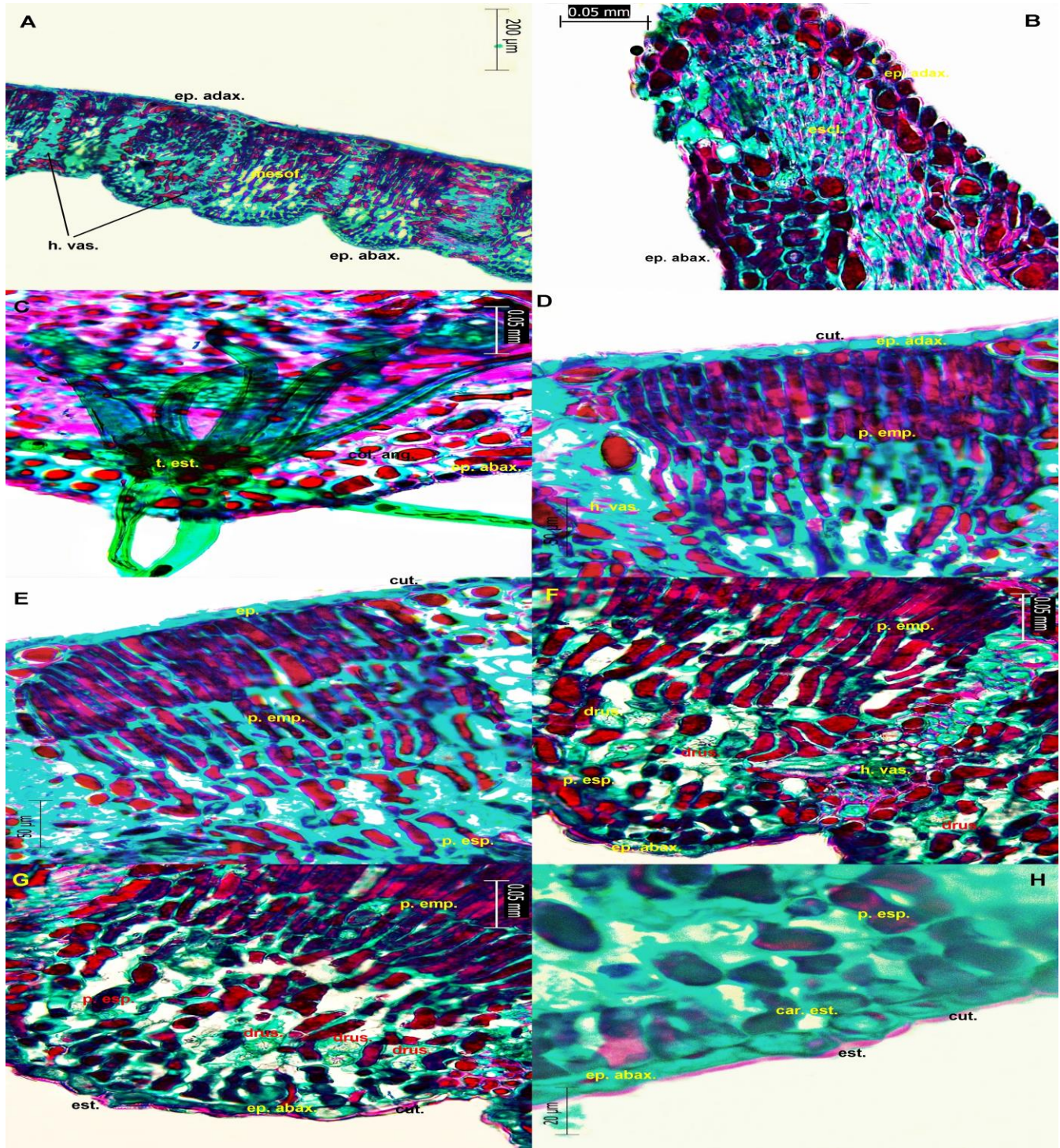


Lámina 8. Cortes transversales de hoja de *Q. rugosa* vistas en aumentos de 10-100X (200-20 μm). A: vista general de la lámina, B: vista general del margen de la lámina, C: tricoma estrellado en el envés de la lámina, D-E: epidermis y parénquima en empalizada, F- G: parénquima esponjoso y epidermis, H: epidermis abaxial, estoma y cámara estomática. Ep. adax.: epidermis adaxial, ep. abax.: epidermis abaxial, cut.: cutícula, mesof.: mesófilo, p. emp.: parénquima en empalizada, p. esp.: parénquima esponjoso, escl.: esclerénquima, h. vas.: haz vascular, est.: estoma, car. est.: cámara estomática, drus.: drusas, t. est.: tricoma estrellado.

3.2 Anatomía de las nervaduras

Haz vascular primario con 1100-1800 μm de largo por 900-1800 μm de ancho, en corte transversal. Forma semicircular, llegando a generar una protuberancia poco prominente en la cara adaxial y un semicírculo muy marcado en la cara abaxial (Lámina 9-A). Haces vasculares dispuestos al centro en tres bloques semicirculares y semicontinuos separados por parénquima de reserva, los bloques superiores son más pequeños. Dichos bloques están cercados por tres a cinco bandas de colénquima angular, constituido por células isodiamétricas con depósitos de material ergástico y de cuatro a seis bandas de esclerénquima con células de pared gruesa y lumen evidente. En el centro del haz vascular se muestra parénquima de reserva integrado por células isodiamétricas, de pared ligeramente engrosada e impregnación de material ergástico no cristalino (Lámina 9-A).

Haces vasculares secundarios de 600-650 μm de largo por 700-900 μm de ancho en corte transversal. Forma semicircular, sin protuberancia en la cara adaxial y un semicírculo marcado en la cara abaxial (Lámina 9-B). Haces vasculares dispuestos en dos bloques o anillos semicirculares y semicontinuos separados transversalmente por parénquima de reserva, el bloque superior es más pequeño. Parénquima de reserva con células isodiamétricas de pared ligeramente engrosada. Haces vasculares parcialmente rodeados por colénquima de tipo angular dispuesto en cuatro a ocho bandas, este tejido llega a presentar

impregnación de material ergástico (Lámina 9-B) y esclerénquima con tres a siete bandas de células con pared engrosada y lumen vistoso. Vaina integrada por células isodiamétricas y de pared delgada, las cuales cercan al haz vascular en el área del parénquima esponjoso. No se observan cristales de oxalato de calcio (Lámina 9-B).

Haces vasculares terciarios y de cuarto orden de 280-530 μm de largo por 113-302 μm de ancho en corte transversal, forma ovada a elíptica (Lámina 9-C, 9-F). Extensión de la vaina con tres a nueve bandas perpendiculares al mesófilo, formadas por células isodiamétricas con pared delgada e impregnadas de material ergástico (Lámina 9-E). Flanqueando al haz vascular, hay células isodiamétricas de pared ligeramente engrosada constituyendo la vaina, éstas se observan impregnadas de material ergástico no cristalino y de cuatro a ocho bandas de células esclerosadas con pared gruesa y lumen evidente (Lámina 9-D). Esporádicamente se observan cristales poligonales de oxalato de calcio asociados a los haces vasculares (Lámina 9-D).

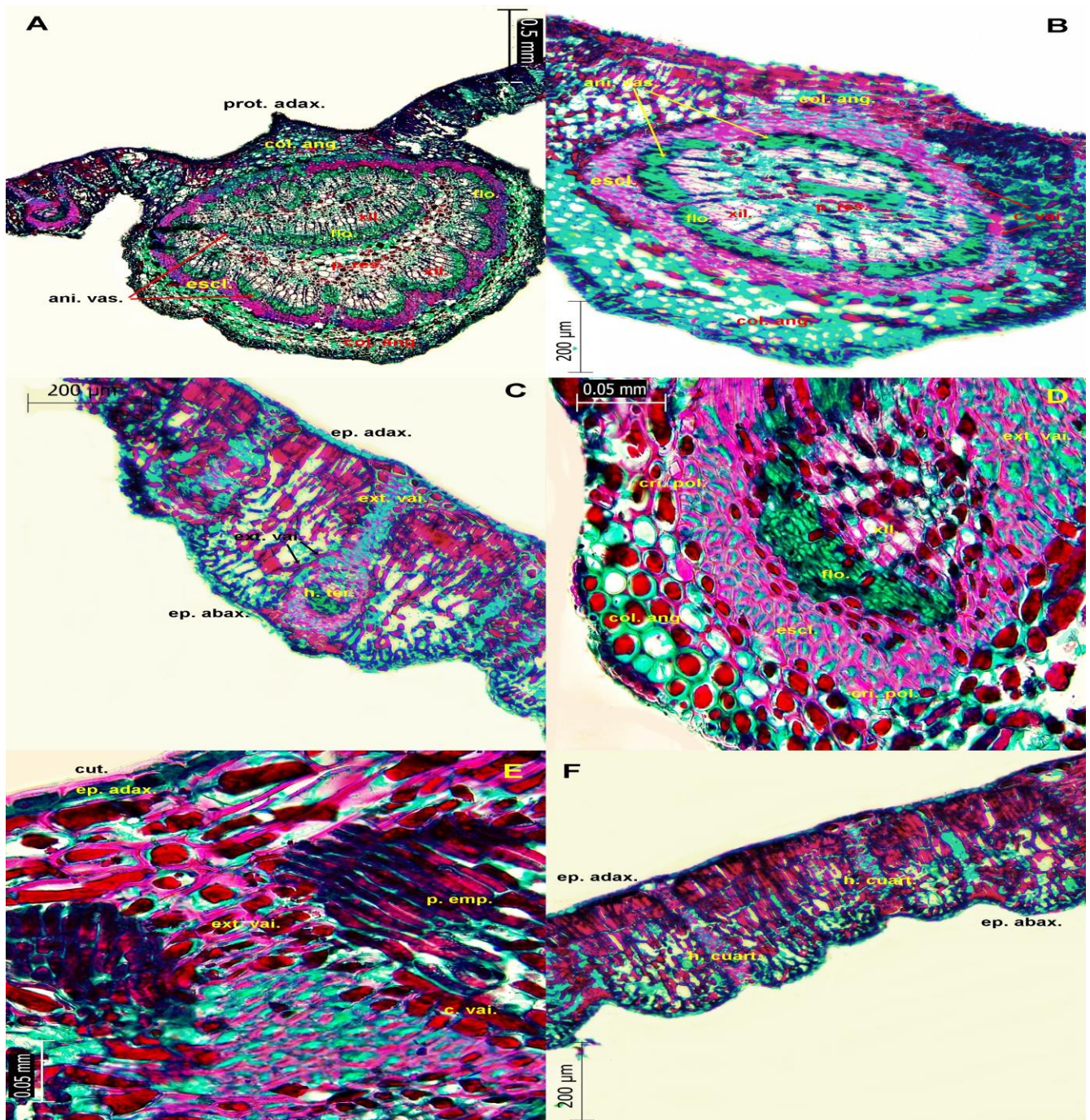


Lámina 9. Cortes transversales de nervaduras de *Q. rugosa* vistas en aumentos de 5-40X (500-50 µm).

A: haz vascular primario, B: haz vascular secundario, C: haz vascular terciario, D-E: tejidos del haz vascular terciario, F: disposición de los haces vasculares de cuarto orden en la lámina. Prot. adax.: protuberancia adaxial, ep. adax.: epidermis adaxial, ep. abax.: epidermis abaxial, cut.: cutícula, p. res.: parénquima de reserva, col. ang.: colénquima angular, escl.: esclerénquima, ani vas.: anillo vascular, h. vas.: haz vascular, ext. vai.: extensión de la vaina, c. vai.: células de la vaina, xil.: xilema, flo.: floema, cri. pol.: cristal poligonal, h. cuar.: haz vascular de cuarto orden.

3.3 Anatomía del pecíolo

Pecíolo semicircular a levemente cóncavo en corte transversal, de 2400-2600 μm de largo por 3000-3200 μm de ancho, con dos protuberancias o teretes poco marcadas o prominentes a los laterales, conformado por colénquima angular, éstos son visibles hacia la base del pecíolo (Lámina 10-A). Epidermis compuesta por células isodiamétricas, con pared delgada sin presencia de depósitos de material ergástico. Cutícula delgada, lisa y con ligeras ondulaciones (Lámina 10-E). Hipodermis integrada por una a dos bandas hialinas de células isodiamétricas a ligeramente cuadrangulares, un tanto aplanadas, de pared delgada y depósitos de material ergástico (ocasionalmente), esta última únicamente presente en los pecíolos de la zona media (Lámina 10-E).

Haces vasculares acomodados en un anillo semicircular y semicontinuo cercado por córtex conformado por células isodiamétricas, de pared ligeramente engrosada y con impregnación de material ergástico (Lámina 10-A, 10-B, 10-C). En este parénquima hay una gran cantidad de drusas y cristales poligonales de oxalato de calcio (Lámina 10-E, 10-F). Al centro del anillo se observa parénquima de reserva, integrado por células isodiamétricas con pared levemente engrosada e impregnadas de material ergástico (Lámina 10-D). Los haces vasculares están flanqueados por cuatro a ocho bandas de esclerénquima, con pared gruesa y lumen evidente (Lámina 10-C, 10-D).

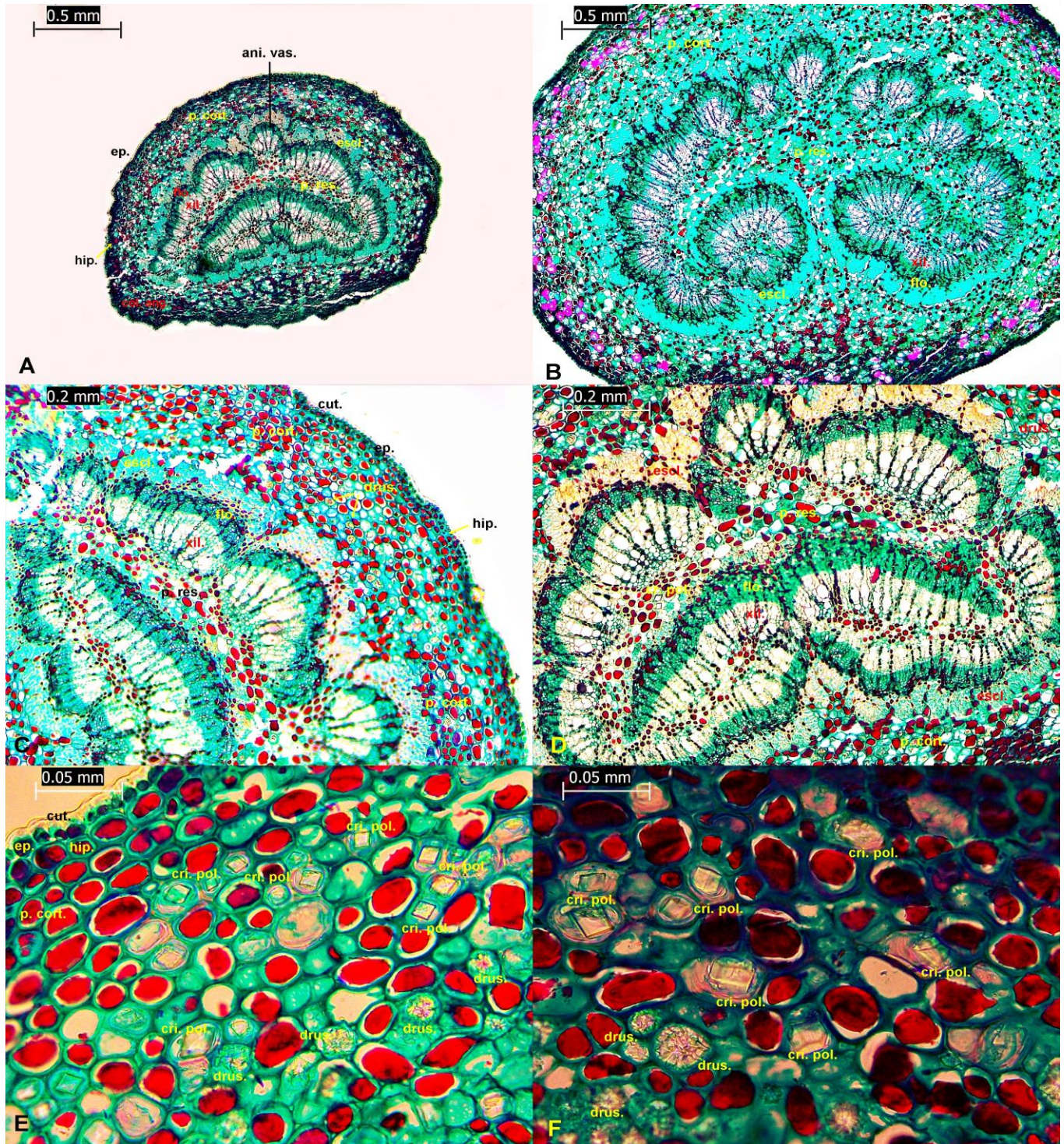


Lámina 10. Cortes transversales de peciolo de *Q. rugosa* vistas en aumentos de 5-40X (500-50 μ m). A: vista general del peciolo de la base, B: vista general del peciolo, C- D: tejidos del peciolo, E-F: material ergástico de tipo cristalino del peciolo. Ani. vas.: anillo vascular, cut.: cutícula, ep.: epidermis, hip.: hipodermis, p. cort.: parénquima cortical, p. res.: parénquima de reserva, col. ang.: colénquima angular, escl.: esclerénquima, xil.: xilema, flo.: floema, drus.: drusas, cri. pol.: cristal poligonal.

3.4 Anatomía de la ramilla

Ramilla semicircular en corte transversal, con 2200-4500 μm de diámetro. Epidermis uniestratificada, integrada por células pequeñas rectangulares a cuadrangulares de pared levemente engrosada (Lámina 11-B, 11-C, 11-D). Peridermis compuesta por una capa de células rectangulares a cuadrangulares y de mayor tamaño a comparación de las células epidérmicas, y de una a dos bandas de felodermis, integrada por células rectangulares a cuadrangulares (Lámina 11-C, 11-D). La epidermis exhibe tricomas fasciculados estipitados (Lámina 11-A, 11-B, 11-C). A nivel de las células de la epidermis y peridermis se observan lenticelas (Lámina 11-D).

Córtex constituido por tres a diez bandas de colénquima angular, y parénquima cortical integrado por células isodiamétricas de pared un tanto gruesa, este tejido mide 190-600 μm de espesor. Esclerénquima en seis a ocho bandas que rodean a los haces vasculares. En el parénquima del córtex no se observa material ergástico cristalino (Lámina 11-D, 11-E, 11-F).

Sistema vascular conformado por haces vasculares dispuestos en un anillo concéntrico y continuo (Lámina 11-A). Médula con configuración actinomórfica, formada por parénquima con células isodiamétricas, de pared ligeramente engrosada. Este tejido mide de 1600-2800 μm de longitud. El parénquima medular no presenta cristales (Lámina 11-F).

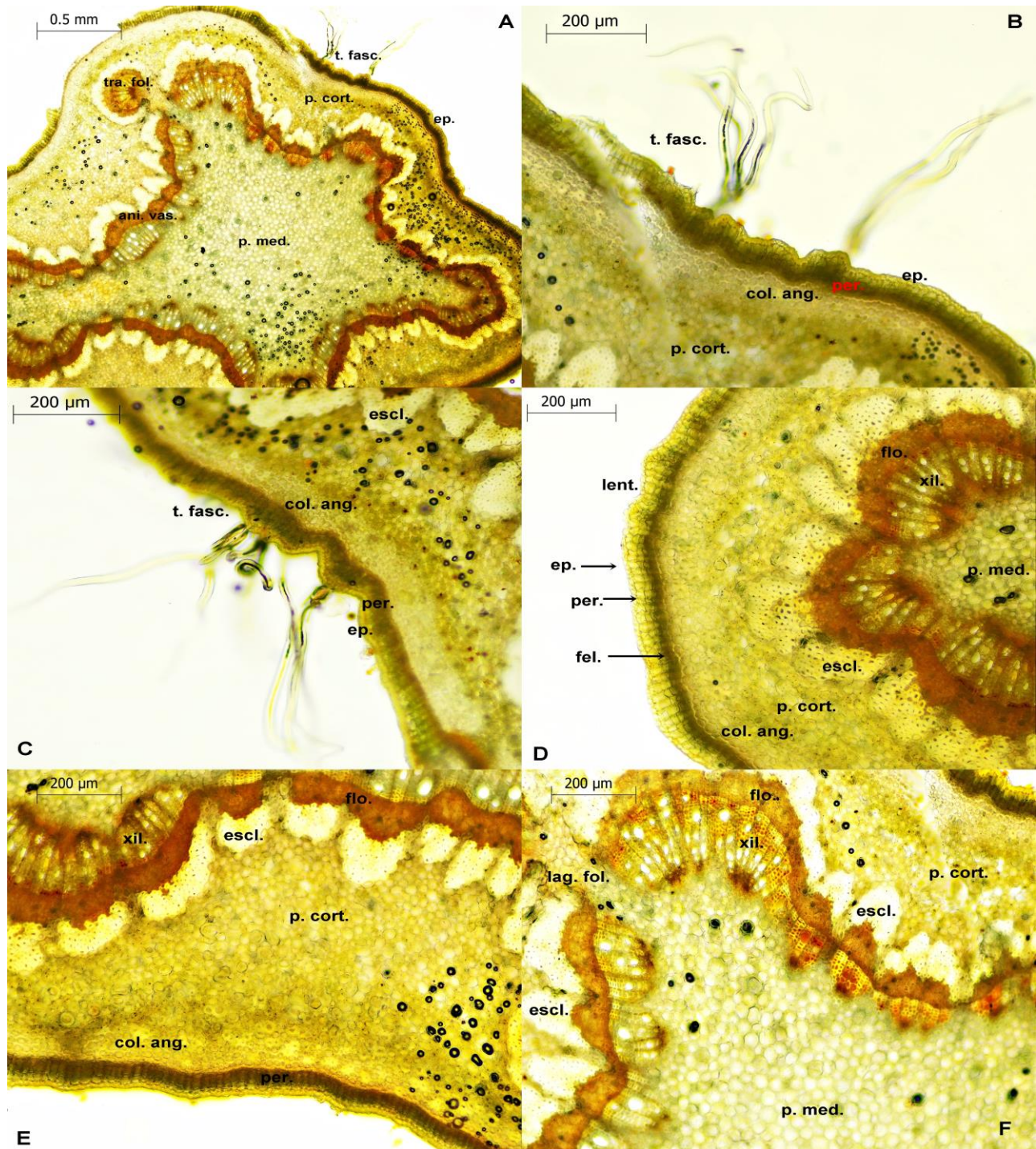


Lámina 11. Cortes transversales a mano alzada de ramilla de *Q. rugosa* vistas en aumentos de 5-40X (500-50 µm). A: vista general de la ramilla, B-C: tejidos epidérmicos, derivados epidérmicos y córtex de la ramilla, D: vista general de los tejidos completos de la ramilla, E-F: anillo vascular y parénquima medular. Ani. vas.: anillo vascular, ep.: epidermis, per.: peridermis, fel.: felodermis, p. cort.: parénquima del córtex, p. med.: parénquima medular, escl.: esclerénquima, xii.: xilema, flo.: floema, lent.: lenticela, tra. fol.: traza foliar, lag. fol.: laguna foliar, t. fasc.: tricomas fasciculados estipitados.

3.5 Diafanización foliar

Organización vascular visible con patrón reticulado pinnado (Lámina 12-B, 12-C). Nervaduras primarias y secundarias con presencia de cristales poligonales de oxalato de calcio con medidas de 34-66 μm de longitud (Lámina 12-D). No son totalmente perceptibles detalles particulares en la cutícula ni epidermis, como son estomas y tricomas.

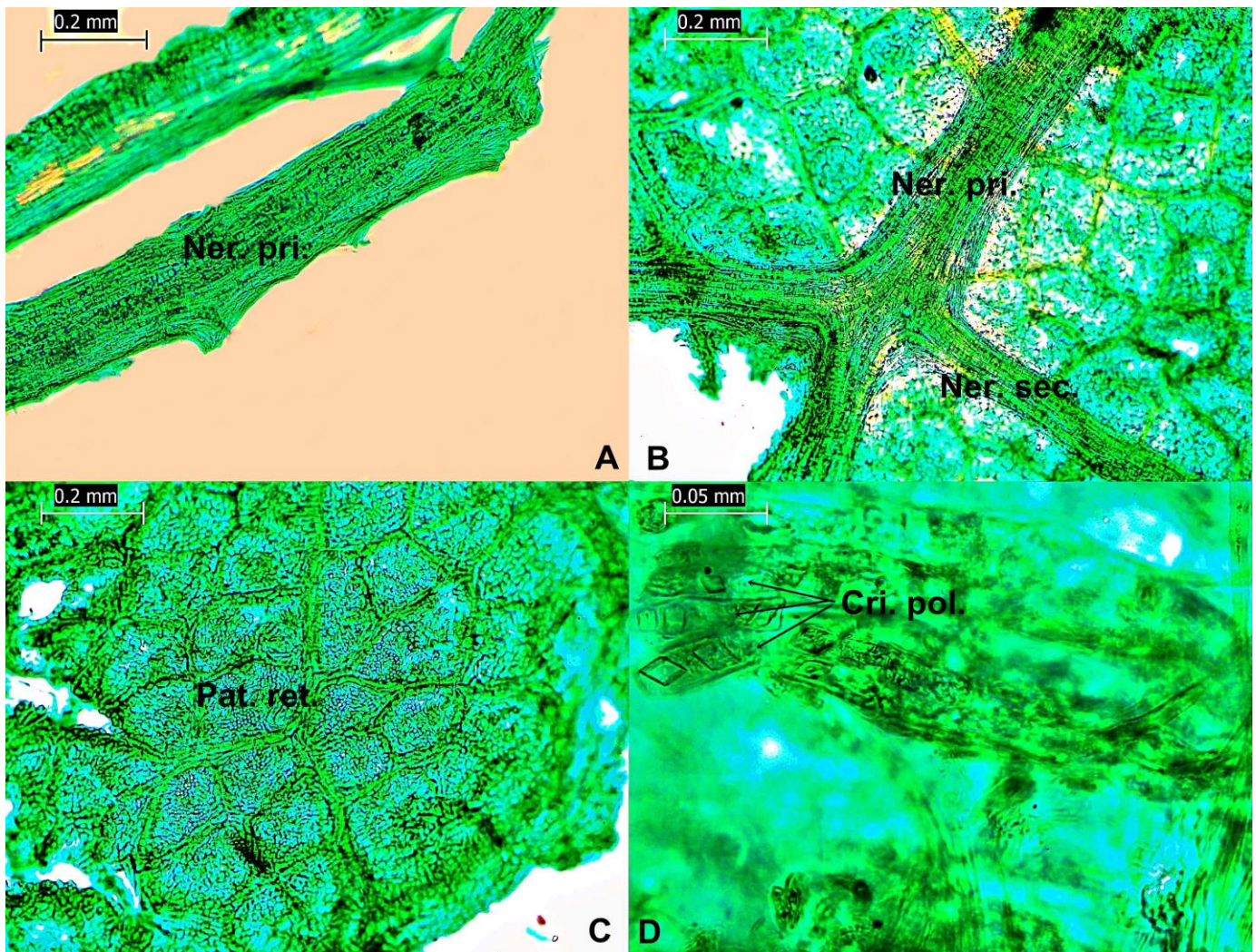


Lámina 12. Maceraciones de hojas diafanizadas de *Q. rugosa* vistas en aumentos de 10-40X (200-50 μm). A: nervadura primaria aislada, B: ramificación de la nervadura secundaria a partir de la nervadura primaria, C: organización vascular con patrón reticulado pinnado, D: cristales poligonales de oxalato de calcio en las nervaduras secundarias. Ner. pri.: nervadura primaria, Ner. sec.: nervadura secundaria, Pat. ret.: patrón reticulado, Cri. pol.: cristal poligonal.

4. Similitudes y diferencias entre las tres especies

Las especies *Q. affinis*, *Q. laeta* y *Q. rugosa*, presentan láminas bifaciales y dorsiventrales compuestas por epidermis uniestratificada en ambas caras de la hoja, cutículas lisas y visiblemente más gruesas en el envés, estomas en la cara abaxial (hojas hipoestomáticas) y mesófilo heterogéneo integrado por parénquima en empalizada y parénquima esponjoso, con haces vasculares dispuestos en anillos semicirculares y semicontinuos. El pecíolo se caracteriza por presentar hipodermis y haces vasculares acomodados en anillos semicirculares y semicontinuos curvados. Las ramillas poseen epidermis con lenticelas, peridermis, felodermis, haces vasculares arreglados en un anillo lobulado circular y continuo, con parénquima medular en forma de estrella. En la Tabla 9 se resumen con base en el sistema de tejidos, las características que son semejantes entre las tres especies.

SIMILITUDES		
		<i>Q. affinis</i>, <i>Q. laeta</i> y <i>Q. rugosa</i>
Sistema dérmico	Cutícula	Lisa y visiblemente más gruesa en la cara adaxial de la hoja.
	Epidermis	Uniestratificada en ambas caras de la hoja. Presencia de lenticelas en ramillas. Depósitos de material ergástico de tipo no cristalino.
	Hipodermis	Uniestratificada, hialina, presente en pecíolos. Células ligeramente cuadrangulares a isodiamétricas.
	Peridermis	Presentes en ramillas. Células ligeramente rectangulares y de

		mayor tamaño que las células epidérmicas. Felodermis uni o biestratificada, compuesta por células pequeñas, rectangulares y planas.
	Estomas	Hoja hipoestomática.
Sistema fundamental	Mesófilo	Hoja dorsiventral y bifacial. Mesófilo heterogéneo.
	Colénquima	Colénquima angular asociado a nervaduras, pecíolos y ramillas.
	Esclerénquima	Asociado al sistema vascular y al margen de la hoja. Células esclerosadas con pared muy gruesa y lumen evidente.
	Inclusiones celulares cristalinas	Drusas y cristales poligonales de oxalato de calcio.
Sistema vascular	Haz vascular (vena media)	Anillos semicirculares y semicontinuos.
	Haz vascular (pecíolo)	Anillo semicircular y semicontinuo.
	Haz vascular (ramilla)	Anillo circular y continuo.

Tabla 9. Similitudes de importancia encontradas en *Q. affinis*, *Q. laeta* y *Q. rugosa* con base en el sistema de tejidos.

Las diferencias diagnósticas entre las tres especies son el grosor de la cutícula adaxial, la forma y tamaño de las células epidérmicas adaxiales y del parénquima en empalizada, el número de estratos del parénquima en empalizada, la variación del tamaño de los espacios entre las células del parénquima esponjoso (incluyendo cámaras estomáticas), la forma del contorno de la lámina, la presencia de tricomas, qué tan lobulados o marcados son los anillos o bloques de haces vasculares en la vena media, pecíolo y ramilla, la cantidad de esclereidas, cristales poligonales y drusas de oxalato de calcio e impregnación de material ergástico de tipo no cristalino. A continuación, se recapitulan y sintetizan las diferencias con base en el la forma de la estructura y el sistema de tejidos (Tabla 10).

DIFERENCIAS				
		<i>Quercus affinis</i> (<i>Lobatae</i>)	<i>Quercus laeta</i> (<i>Quercus</i>)	<i>Quercus rugosa</i> (<i>Quercus</i>)
Sistema dérmico	Cutícula (hoja)	Engrosada.	Ligeramente engrosada.	Delgada.
	Epidermis (hoja)	Células isodiamétricas a ligeramente cuadrangulares, con pared poco engrosada.	Células isodiamétricas a cuadrangulares con pared delgada.	Células cuadrangulares a ligeramente isodiamétricas, con pared muy delgada. Tricomas estrellados adpresos en el envés de la lámina.
	Epidermis (ramilla)	Sin presencia de tricomas.	Sin presencia de tricomas.	Epidermis con tricomas fasciculados estipitados.
	Estomas	Cámara estomática amplia.	Cámara estomática reducida.	Cámara estomática muy reducida.
	Contorno de la epidermis (hoja)	Epidermis abaxial sin lóbulos prominentes.	Epidermis abaxial sin lóbulos prominentes.	Epidermis abaxial con lóbulos prominentes.
Sistema fundamental	Mesófilo	Células del parénquima en empalizada alargadas y anchas, dispuestas en dos estratos (el último estrato no siempre	Células del parénquima en empalizada alargadas y un tanto estrechas, dispuestas en dos estratos.	Células del parénquima en empalizada alargadas y delgadas, dispuestas en tres estratos (el último estrato no siempre

		<p>conspicuo).</p> <p>Parénquima esponjoso con espacios amplios.</p> <p>Pocos depósitos de material ergástico de tipo no cristalino.</p> <p>Cristales poligonales (en su mayoría) y drusas de oxalato de calcio.</p>	<p>Parénquima esponjoso con espacios reducidos.</p> <p>Depósitos regulares de material ergástico de tipo no cristalino.</p> <p>Cristales poligonales (en su mayoría) y drusas de oxalato de calcio.</p>	<p>conspicuo).</p> <p>Parénquima esponjoso con espacios sumamente reducidos.</p> <p>Gran impregnación de material ergástico de tipo no cristalino.</p> <p>Drusas (en su mayoría) y cristales poligonales de oxalato de calcio.</p>
Sistema vascular	Haz vascular (hoja)	Poca impregnación de material ergástico de tipo no cristalino.	Impregnación regular de material ergástico de tipo no cristalino.	Basta impregnación de material ergástico de tipo no cristalino.
	Haz vascular (pecíolo)	-----	<p>Pecíolo semicircular a cóncavo con haces vasculares dispuestos en un anillo semicircular y semicontinuo marcado.</p> <p>Presencia de drusas de oxalato de calcio.</p>	<p>Pecíolo semicircular a ligeramente cóncavo con haces vasculares dispuestos en un anillo semicircular y semicontinuo sumamente marcado.</p> <p>Presencia de cristales poligonales y drusas de oxalato de calcio.</p>
	Haz vascular (ramilla)	<p>Esclerénquima, haces vasculares y parénquima medular con esclereidas, drusas y cristales poligonales de oxalato de calcio.</p> <p>Poca impregnación de material ergástico no cristalino.</p> <p>Anillo de haces vasculares ligeramente lobulado y delgado.</p>	<p>Poca presencia de inclusiones celulares (drusas y cristales poligonales de oxalato de calcio).</p> <p>Gran impregnación de material ergástico no cristalino.</p> <p>Anillo de haces vasculares ligeramente lobulado y delgado.</p>	<p>Sin presencia de inclusiones celulares.</p> <p>Células sin impregnación de material ergástico no cristalino.</p> <p>Anillo de haces vasculares sumamente lobulado y grueso.</p>

Tabla 10. Diferencias encontradas en *Q. affinis*, *Q. laeta* y *Q. rugosa* con base en la forma de la estructura y el sistema de tejidos.

En la Tabla 11, se observan las medidas tomadas para las secciones en corte transversal en láminas, pecíolos y ramillas de las tres especies trabajadas. En todas las mediciones se consideró la medida mínima y máxima. En algunas células, tejidos y estructuras, las medidas fueron obtenidas considerando largo x ancho.

Caracter	<i>Q. affinis</i>	<i>Q. laeta</i>	<i>Q. rugosa</i>
Lámina (grosor)	160-250 μm	240-290 μm	165-380 μm
Epidermis	10-20 μm	9-19 μm	6-15 μm
Cutícula	3-10 μm	4-8 μm	1-6 μm
Parénquima en empalizada	70-100 μm , con células de 20-50 x 5-9 μm	90-130 μm , con células de 23-64 x 4-7 μm	88-120 μm , con células de 24-70 x 4-9 μm
Parénquima esponjoso	90-120 μm , con células de 10-20 μm	93-125 μm , con células de 10-27 μm	75-160 μm , con células de 9-29 μm
Esclerenquima	60-90 μm	22-23 μm	40-66 μm
Haz vascular principal	-----	850-890 x 650-680 μm	1100-1800 x 900-1800 μm
Haz vascular secundario	540-570 x 350-380 μm	540-560 x 360-390 μm	600-650 x 700-900 μm
Haces vasculares terciarios y de cuarto orden	180-210 x 80-90 μm	190-240 x 50-86 μm	280-530 x 113-302 μm
Pecíolo	-----	3000-3200 x 1400-2200 μm	2400-2600 x 3000-3200 μm
Ramilla	1000-2000 μm	1400-2100 μm	2200-4500 μm

Tabla 11. Medidas de *Q. affinis*, *Q. laeta* y *Q. rugosa* tomadas en corte transversal.

VII DISCUSIÓN

Las especies del género *Quercus* son elementos de los bosques tropicales perennifolios, bosques tropicales caducifolios, bosques mesófilos de montaña y bosques templados de coníferas y latifoliadas, presentes en regiones montañosas, ya que son plantas pioneras que participan en numerosos procesos ecosistémicos (producción de O₂, captación de CO₂, reducción en la erosión del suelo, recarga del manto freático y regulación de la temperatura). Además, son hospederos de animales, bacterias, hongos ectomicorrízicos y plantas epífitas. La bellota, el fruto de los encinos, es de importancia alimenticia para diversos mamíferos, aves e insectos, que a su vez, se desempeñan como vectores de dispersión. Por todas las características mencionadas, los encinos son considerados especies clave o *keystone*.

Las características biológicas del grupo, como la plasticidad fenotípica, hibridación, polinización por anemofilia, la dispersión de la semilla y la preferencia de los encinos por ocupar nichos con climas semicálidos, cálidos subhúmedos, secos, semifríos y templados, con altitudes que van de los 0 a 3,500 msnm., han permitido que las especies del género también se encuentran presentes en matorrales xerófilos, humedales, pastizales, en vegetación de galería y áreas agrícolas.

Q. affinis es una especie caducifolia endémica de México, habita en bosques templados de coníferas y latifoliadas y bosques mesófilos de montaña. Ocupa altitudes de 1,250 a 2,500 msnm., en climas semicálidos, secos y templados.

Q. laeta es una especie caducifolia de amplia distribución, ubicada en bosques templados de coníferas y latifoliadas, bosques tropicales caducifolios, bosques tropicales perennifolios, bosques mesófilos de montaña, matorrales xerófilos y humedales. Predomina en altitudes de 2,350 a 2,750 msnm., en climas

semicálidos, secos y templados.

Q. rugosa es la especie con mayor distribución en el territorio nacional. Esta especie subcaducifolia, se encuentra en bosques templados de coníferas y latifoliadas, bosques mesófilos de montaña, matorrales xerófilos, pastizales y humedales. Ocupa altitudes de 1,700 a 3500 msnm., en climas subhúmedos, semifríos y templados.

A pesar de la relevancia del grupo, en la actualidad, éste posee numerosos problemas taxonómicos, ya que es difícil delimitar a las especies, dada su plasticidad fenotípica y el polimorfismo de sus hojas. No obstante, la hoja es el principal órgano por el que muchas especies de encinos son reconocidas, puesto que su descripción detallada ayuda a identificarlos taxonómicamente.

Tras el procesamiento del material recolectado, se consiguieron preparaciones permanentes y semipermanentes, en las cuales se observaron similitudes y diferencias entre las hojas de las tres especies de encinos.

Las láminas de las tres especies se encuentran compuestas por epidermis uniestratificadas en ambas caras, integradas por células isodiamétricas a cuadrangulares, cutícula lisa y con mayor grosor en la cara adaxial, hojas hipoestomáticas, dorsiventrales y bifaciales, con mesófilo heterogéneo al estar constituido por parénquima en empalizada y parénquima esponjoso (Tabla 9). Los haces vasculares presentan colénquima angular y esclerénquima, este último también presente en el margen de la hoja (Láminas 1, 4 y 8).

En cuanto a las nervaduras, éstas son semicirculares a subglobosas con una protuberancia en la cara adaxial y un semicírculo en la cara abaxial (en nervaduras primarias y secundarias), y ovadas a elípticas (en nervaduras terciarias y de cuarto orden). Los haces vasculares en las nervaduras primarias y secundarias, se hayan acomodados respectivamente en tres y dos anillos o bloques semicirculares y semicontinuos (Láminas 2, 5 y 9).

Los pecíolos se distinguen por poseer forma semicircular a cóncava, con

protuberancias o teretes laterales (Láminas 6 y 10). La hipodermis y los haces vasculares dispuestos en anillos semicirculares y semicontinuos, son características distintivas de esta estructura (Tabla 9).

Por su parte, las ramillas (con formas semicirculares) (Tabla 9), están integradas por epidermis y peridermis con lenticelas, así como haces vasculares en anillos circulares y continuos, y parénquima medular con forma de estrella (configuración actinomórfica) (Láminas 3, 7 y 11).

En las tres especies se encontraron idioblastos con depósitos de material ergástico de tipo no cristalino e inclusiones de material ergástico como drusas y cristales poligonales de oxalato de calcio en el citoplasma de las células (Tabla 9). En los tejidos diafanizados y macerados de *Q. rugosa* se observan cristales poligonales de oxalato de calcio con medidas de 34-66 μm de longitud, asociados a las nervaduras primarias y secundarias (Lámina 12).

Sin embargo, a pesar de las similitudes encontradas, existen características que son diagnósticas para cada una de las especies (Tabla 10), lo anterior indica la existencia de diferencias notorias y comparables entre *Q. affinis*, *Q. laeta* y *Q. rugosa*. Por ello, la anatomía foliar y de ramilla en el género *Quercus*, sí es una herramienta taxonómica.

Q. affinis presenta cutícula y epidermis más gruesa, *Q. rugosa* ostenta la cutícula y epidermis más delgada (Tabla 11). *Q. affinis* muestra células epidérmicas con forma isodiamétrica a ligeramente cuadrangular (Lámina 1), *Q. laeta* y *Q. rugosa* poseen células un tanto más cuadrangulares que isodiamétricas (Láminas 4 y 8). Las células de *Q. rugosa* cuentan con un tamaño menor (Tabla 11).

De igual manera, *Q. affinis* muestra células del parénquima en empalizada más cortas y anchas (Lámina 1). *Q. rugosa* tiene las células más delgadas y estrechas entre las tres especies (Tabla 11). *Q. affinis* y *Q. laeta*, exhiben dos estratos de parénquima en empalizada (Láminas 1 y 4), no obstante, el segundo

estrato en *Q. affinis* a veces llega a ser inconspicuo. *Q. rugosa* posee de dos a tres estratos, el último estrato, suele ser poco conspicuo (Lámina 8).

Los espacios intercelulares en el parénquima esponjoso y las cámaras estomáticas en *Q. affinis* son mucho más amplios que en *Q. laeta* y *Q. rugosa* (Láminas 1, 4 y 8). Los espacios y las cámaras estomáticas en *Q. rugosa*, son sumamente reducidas (Lámina 8).

Q. laeta exhibe láminas con mayor grosor, mientras que *Q. rugosa* posee las láminas más delgadas (Tabla 11).

Q. rugosa mostró tricomas no glandulares solitarios de tipo estrellado adpreso y tricomas no glandulares solitarios fasciculados estipitados (Láminas 8 y 11).

Los pecíolos de *Q. rugosa* son los más gruesos (Tabla 11). Una característica importante de los pecíolos de esta especie, es la presencia de haces vasculares dispuestos en anillos semicirculares y semicontinuos muy pronunciados o marcados, a comparación de *Q. laeta* (Láminas 6 y 10).

Las ramillas de *Q. rugosa* se caracterizan por poseer anillos vasculares sumamente lobulados y anchos, comparándose con *Q. affinis* y *Q. laeta* (Láminas 3, 7 y 11). La ramilla de *Q. affinis* conserva esclereidas en el parénquima del córtex (Lámina 3).

En cuanto al tipo de inclusiones celulares cristalinas de oxalato de calcio, se observó que *Q. affinis* y *Q. laeta* presentan cristales poligonales, mientras que *Q. rugosa* tiene un mayor número de drusas (Tabla 10).

La especie *Q. rugosa* ostenta una mayor cantidad de depósitos de material ergástico no cristalino en las paredes celulares, siendo *Q. affinis* aquella que muestra menor cantidad de dichos depósitos (Tabla 10). Las especies del género *Quercus* se caracterizan por la presencia de taninos, sin embargo, para verificar si realmente los depósitos de material ergástico en el citoplasma celular son taninos

(y de qué tipo), es menester realizar pruebas histoquímicas con vainillina y sulfato férrico (Sandoval, 2005).

La impregnación de material ergástico no cristalino, el grosor de la cutícula y la presencia de tricomas, son importantes a nivel ecológico, puesto que protegen a la planta contra depredadores herbívoros (Sandoval, 2005; Terrazas *et al.*, 2014). Estas particularidades anatómicas en *Q. rugosa*, le brindan ventajas adaptativas, quizás ello influya en la amplia distribución que muestra en México.

Dado a que *Q. laeta* y *Q. rugosa* (encinos blancos) (Láminas 4 a 11) presentan problemas de identificación entre ambas, es importante hacer énfasis en las diferencias. El grosor de la cutícula, la forma de las células epidérmicas, la forma del contorno de la lámina, el número de estratos del parénquima en empalizada, la reducción de los espacios entre las células del parénquima esponjoso y las cámaras estomáticas, la curvatura de los anillos vasculares en pecíolos y ramillas, la cantidad visible de impregnación de material ergástico no cristalino así como la presencia preferente de drusas o cristales poligonales de oxalato de calcio, son las diferencias más evidentes (Tablas 10 y 11).

Las características morfológicas de las hojas del género *Quercus*, se encuentran sujetas a factores genéticos, reproductivos, ecológicos y fenológicos. Este grupo, al tener plasticidad fenotípica, puede adaptarse a factores abióticos en escala local, reflejándose en los atributos foliares (Álvarez, 2006; Zúñiga *et al.*, 2009). La temperatura, precipitación y luz, son los factores abióticos que generalmente marcan la variación foliar. Martínez *et al.* (2011) aseguran que el gradiente altitudinal y latitudinal no son factores que afecten la variación morfológica foliar en los encinos.

La luz es el factor abiótico que genera un mayor impacto en la morfología y anatomía de las hojas del género. Cuando un individuo está mayormente expuesto a la luz solar, la lámina es más lobulada y presenta una menor área foliar; las láminas y los pecíolos se vuelven más grandes y largos, para mantener las hojas separadas entre sí, favoreciendo la captación de luz; la epidermis se torna más

gruesa y el parénquima en empalizada (tejido fotosintéticamente activo) ocupa una mayor área dentro de la hoja, lo que a su vez, propicia que las células fotosintéticas que lo componen, disminuyan de tamaño (Álvarez, 2006; Martínez *et al.*, 2015; Nikolic *et al.*, 2005).

Las adaptaciones anatómicas y la eficiencia de los procesos fisiológicos muestran correlación de acuerdo a la exposición solar, ya que se ha observado un aumento en la cantidad y conductividad de los estomas en la lámina, si esta última se encuentra expuesta a una gran cantidad de luz (Ashton & Berlyn, 1994). Un mayor índice estomático, provoca que el parénquima esponjoso exhiba amplios espacios entre las células, así como cámaras estomáticas grandes, para un mayor intercambio gaseoso (Nikolic *et al.*, 2005). De igual manera, un aumento en la actividad fisiológica, promueve el incremento de material ergástico de tipo cristalino y no cristalino, como los cristales de oxalato de calcio y taninos (Lester & Horner, 2008).

La humedad es un factor abiótico que afecta la posición de los estomas de acuerdo al resto de las células epidérmicas. Cuando los estomas se localizan a nivel o por encima del resto de las células epidérmicas, se dice que es una hoja mesófito, si por el contrario, los estomas se hunden hacia el mesófilo, se habla de una hoja xerófito (Terrazas *et al.*, 2014).

Con base a lo anteriormente citado, *Q. laeta* y *Q. rugosa* son especies que habitan generalmente regiones con gran exposición solar y clima templado, semifrío, semicálido o seco, y que requieren humedad moderada para su desarrollo, ya que poseen láminas con mayor área del parénquima en empalizada, a comparación del parénquima esponjoso (Tabla 11) y estomas localizados al nivel del resto de las células epidérmicas. Respecto al intercambio gaseoso, ambas especies no muestran un incremento en dicha actividad fisiológica, puesto que ostentan parénquima esponjoso con cámaras estomáticas pequeñas y espacios reducidos.

Q. affinis es una especie que también posee características de una planta

expuesta a grandes cantidades de luz, ya que la epidermis es gruesa (Tabla 11). Las hojas mesófitas de la especie, indican que habita regiones expuestas a la luz solar, con clima semicálido y templado, y que necesita humedad moderada para su supervivencia. Los amplios espacios de las cámaras estomáticas, así como del parénquima esponjoso, señalan un incremento en la actividad fisiológica con respecto al intercambio gaseoso.

No obstante, a pesar de lo analizado anteriormente, considero que es menester llevar a cabo estudios específicamente ecológicos relacionados con la anatomía foliar. Si bien, *Q. rugosa* y *Q. affinis* presentan características de una planta que capta amplias cantidades de luz, la epidermis de *Q. rugosa* no es gruesa y el parénquima en empalizada de *Q. affinis* no tiene un área mayor al del parénquima esponjoso, cuando ambas deberían exhibir epidermis gruesas y parénquimas en empalizada con un área superior al del parénquima esponjoso. Estas discordancias pueden deberse a que al momento de recolectar las muestras del presente trabajo, no se consideraron las variables ambientales (temperatura, precipitación y luz), únicamente se tomaron en cuenta factores como la edad de la planta, la disposición de las hojas en el árbol (hojas maduras de la periferia u hojas de la última estación) y su ubicación geográfica, ya que el objetivo general de este estudio fue contribuir al conocimiento morfo-anatómico de especies mexicanas de encinos con problemas de identificación taxonómica y evaluar si la anatomía foliar sirve para aclarar dudas taxonómicas.

En términos de la técnica histológica vegetal, se lograron establecer tiempos idóneos en cuanto a la deshidratación de las muestras (Tablas 4 a 6). Para futuros trabajos, es recomendable y necesario considerar qué tan gruesas, coriáceas y pubescentes son las hojas para establecer tiempos adecuados, ya que de lo contrario, las muestras no se deshidratan ni impregnan con paraplast de manera eficiente, propiciando que al momento de realizar los cortes en el micrótopo, éstos no sean de buena calidad. Por ejemplo, cuando la hoja no es tan dura y algo glabra, es recomendable emplear tiempos de deshidratación de 24 horas. En el caso de poseer hojas más coriáceas y con mayor cantidad de

tricomas, el tiempo de deshidratación puede elevarse de 48-72 horas, y si es necesario se pueden emplear hidratantes como el GAA, agua caliente con glicerina y/o etilendiamina, así como el retiro de tricomas de la epidermis siempre y cuando no se dañe esta última, sin olvidar ajustar los tiempos en el resto de la técnica dentro del protocolo. Cabe recalcar, que es muy importante la correcta colecta de material en campo, así como su debido seccionamiento, en el caso de hojas, en lámina, pecíolo y ramilla.

Para probar qué tan útil es la técnica a mano alzada y la diafanización (Tabla 8) en el procesamiento histológico del género *Quercus*, se decidió realizar ambas técnicas en material colectado de *Q. rugosa*. La técnica a mano alzada fue implementada en las ramillas de la especie (Lámina 11), mientras que la diafanización fue efectuada en láminas (Lámina 12).

La técnica a mano alzada, es sumamente útil en casos donde las muestras son muy difíciles de deshidratar, ya que un corte fino es capaz de mostrar la estructura a analizar por medio de la técnica de iluminación en campo claro en el microscopio óptico, puesto que gracias a los pigmentos naturales de los encinos, la luz pasa perfectamente por la muestra, permitiendo observar detalles estructurales, incluyendo tricomas, ya que en la técnica histológica vegetal convencional, generalmente se pierden. La única desventaja que posee la técnica a mano alzada, es que al no realizar una tinción de contraste, ni cortes ultra finos, no es posible detectar con claridad cualquier tipo de idioblasto.

La diafanización de las láminas es una técnica que puede ayudar a conseguir información valiosa sobre los patrones de venación de las láminas y en la detección del material ergástico de tipo cristalino. De igual manera, los diafanizados foliares pueden ser una herramienta importante si es que se desean hacer estudios sobre índices estomáticos.

Para tener un mayor conocimiento a nivel anatómico y químico sobre los encinos mexicanos, considero que es indispensable llevar a cabo otras metodologías, como es el aislamiento de la epidermis para observarla a detalle,

así como la distribución de las inclusiones cristalinas, al igual que pruebas histoquímicas (a parte del empleo de vainillina y sulfato férrico para detectar taninos) para conocer qué tipo de celulosas, pectinas, ligninas, depósitos de calcio y sílice, polisacáridos, almidones, lípidos, y proteínas forman parte de los tejidos de los encinos.

Con la ayuda de estudios macromorfológicos foliares (morfometría geométrica y arquitectura foliar), micromorfológicos foliares (empleo de microscopia electrónica de barrido o MEB) y microanatómicos foliares (anatomía comparativa vegetal), así como la quimiosistemática, se pueden discernir los problemas de identificación taxonómica en el género *Quercus* y tener un panorama más amplio sobre su ecología, ya que una clara identificación taxonómica y un mayor conocimiento ecológico del grupo, pueden llegar a evitar la tala excesiva o equívoca de encinos en el territorio nacional, favoreciendo su preservación.

VIII CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos, la anatomía foliar y de ramilla de las especies *Q. affinis*, *Q. laeta* y *Q. rugosa*, contribuyen en el reconocimiento entre especies, al discernir entre similitudes y diferencias.

Las diferencias encontradas entre las tres especies son notorias. *Q. affinis* mostró epidermis compuesta de células isodiamétricas a ligeramente cuadrangulares, sin valles y crestas pronunciadas en el contorno de la cara abaxial, cutícula adaxial engrosada, tricomas ausentes, parénquima en empalizada con células anchas arregladas en dos estratos (el último estrato no siempre conspicuo), parénquima esponjoso con espacios amplios (incluyendo las cámaras estomáticas), pocos depósitos de material ergástico no cristalino, cristales poligonales de oxalato de calcio (en su mayoría), ramillas con anillos vasculares ligeramente marcados y con presencia de esclereidas.

En contraste, *Q. laeta* tiene epidermis integrada por células isodiamétricas a cuadrangulares, sin valles ni crestas o lóbulos en el contorno de la cara abaxial, cutícula adaxial ligeramente engrosada, tricomas ausentes, parénquima en empalizada de células alargadas y un tanto estrechas acomodadas en dos estratos, parénquima esponjoso con espacios reducidos (tomando en cuenta las cámaras estomáticas), impregnación regular de material ergástico no cristalino, presencia de cristales poligonales (mayormente), pecíolos y ramillas con anillos vasculares muy marcados.

Por su parte, la especie *Q. rugosa* presentó epidermis con células cuadrangulares a ligeramente isodiamétricas y valles y crestas pronunciadas en el contorno en la cara abaxial, cutícula adaxial muy delgada, tricomas estrellados adpresos en el envés, parénquima en empalizada con células estrechas dispuestas en tres estratos (el último estrato no siempre conspicuo), parénquima esponjoso con espacios sumamente reducidos (considerando las cámaras

estomáticas), gran impregnación de material ergástico de tipo no cristalino, drusas (en su mayoría), pecíolos y ramillas con anillos vasculares sumamente marcados, y ramillas con tricomas fasciculados estipitados.

Por lo anterior los caracteres microanatómicos útiles en la taxonomía del género *Quercus* son el grosor de la cutícula adaxial, la forma y tamaño de las células epidérmicas adaxiales y del parénquima en empalizada, el número de estratos del parénquima en empalizada, la variación en el tamaño de los espacios disponibles entre las células del parénquima esponjoso (incluyendo las cámaras estomáticas), la forma del contorno de la lámina, la presencia de tricomas, qué tan lobulados o marcados son los anillos o bloques de haces vasculares en la vena media, pecíolo y ramilla, la cantidad de esclereidas, cristales poligonales y drusas de oxalato de calcio, e impregnación de material ergástico de tipo no cristalino.

La deshidratación dentro de la técnica histológica vegetal, suele ser un problema al procesar hojas y ramillas de encinos debido a su consistencia coriácea, presencia de derivados epidérmicos y a su composición química. Una mala deshidratación propicia que las muestras no impregnen con paraplast (en este caso) y por ende no se produzcan cortes viables en el micrótopo, por ello es recomendable emplear tiempos de deshidratación de 24 a 48 horas, así como hidratantes (GAA y agua con glicerina en ebullición).

La técnica a mano alzada es sumamente útil en casos donde las muestras son difíciles de deshidratar, ya que proporciona un panorama o vista completa de los tejidos a analizar, no obstante, dicha técnica no es recomendable si se desea llevar a cabo un estudio anatómico más profundo, ya que no permite localizar con facilidad cualquier tipo de idioblasto, debido al grosor del corte y a la carencia de tinciones de contraste. La diafanización de láminas, técnica usualmente empleada en la obtención de índices estomáticos, también es útil para observar patrones de venación y material ergástico de tipo cristalino.

IX LITERATURA CITADA

Álvarez, A. 2006. *Análisis de la estructura morfológico foliar de Quercus crassifolia asociada a diferentes microambientes dentro del parque nacional El Chico, Hidalgo*. Tesis de licenciatura en Biología. México. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo: 76.

Álvarez-Zúñiga, E., A. Sánchez & S. Valencia-A. 2010. Los encinos del Parque Nacional Los Mármoles, Hidalgo, México. *Madera y Bosques*, 16(4): 55-66.

Arámbula, J., B.I Ibarra, R. González, O.D. Muñoz & H. Hernández. 2010. Variación estacional de compuestos fenólicos foliares en *Quercus sideroxylla* en diferentes tipos de suelo. *Madera y Bosques*, 16(3): 49-59.

Aranda, I., A. Aldea, M. Pardos-M., J. Puértolas, M.D. Jiménez & J.A. Pardos. 2004. Efecto de la luz y la sequía sobre la anatomía foliar de plantas de alcornoque (*Quercus suber* L.). *Cuaderno de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 20: 117-121.

Arizaga, S., J. Martínez, M. Salcedo & M.A. Bello. 2009. *Manual de la biodiversidad de encinos michoacanos*. 1^{ra} edición. México: Instituto Nacional de Ecología (INE-Semarnat):147.

Ashton, P.M.S. & G. P. Berlyn. 1994. A Comparison of leaf physiology and anatomy of *Quercus* (Section Erythrobalanus-Fagaceae) species in different light environments. *American Journal of Botany*, 81(5): 589-597.

Boecklen, W. & R. Spellenberg. 1990. Structure of herbivore communities in two oak (*Quercus spp*) hybrid zones. *Oecologia*, 85(1): 92-100.

Borgardt, S. & K. Nixon. 2003. A comparative flower and fruit anatomical study of *Quercus acutissima*, a biennial-fruited oak from *Cerris* group (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 90(11): 1567-1584.

Curtis, H., S. Barnes, A. Schnek & A. Massarini. 2008. *Biología*. 7 edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana: 855.

Cutler, D. F. 1964. Anatomy of vegetative organs of *Trigonobalanus* Forman (Fagaceae). *Kew Bulletin*, 17(3): 401-409.

Deng, M., Z. Zhou, Y. Chen & W. Sun. 2008. Systematic significance of the development and anatomy of flowers and fruit of *Quercus schottkyana* (subgenus *Cyclobalanopsis*: Fagaceae). *International Journal of Plant Science*, 169(9): 1261–1277.

De Luna, O.A. 2015. *Análisis de caracteres morfológicos foliares para la delimitación taxonómica de tres especies del género Quercus sección Quercus*. Tesis de licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México: 100.

Denk, T., G. Grimm, P. Manos, M. Deng & A. Hipp. 2017. *An updated infrageneric classification of the oaks: review of previous taxonomic schemes and synthesis of evolutionary patterns*. In: *Oaks Physiological Ecology. Exploring the Functional Diversity of Genus Quercus L., Tree Physiology*. Springer International Publishing. E. Gil-Pelegrín *et al.* eds.:13-38.

Denvir, A. & M. Westwood. 2016. *Quercus brandegeei*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2016:e.T30726A2795363. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T30726A2795363.en>.

Del Río, S., R. Álvarez, A. Candelas, S. González-Sierra, L. Herrero & A. Penas. 2014. Preliminary study on taxonomic review using histological sections of some Iberian species from the genus *Quercus* L. (Fagaceae). *American Journal of Plant Sciences*, 5: 2773-2784.

Ducousso, A., H. Michaud & R. Lumared. 1993. Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. *Annals of Forest Science*, 50(1): 91-106.

Elías, M. 2013. *Morfología y anatomía de los órganos vegetativos de las Euphorbiaceae de la Reserva del Pedregal de San Ángel: Implicaciones*

taxonómicas y ecológicas. Tesis de Maestría en Ciencias. México, Universidad Nacional Autónoma de México: 94.

Esau, K. 1985. *Anatomía Vegetal*. 3^{ra} edición. España. Ediciones Omega: 779.

Espinosa, S. 2014. *Histología y anatomía vegetal*. In: Valencia-A., S. 2014. *Introducción a las embriofitas*. 1^{ra} edición. México: Las Prensas de Ciencias, UNAM: 37-60.

FontQuer, P. 2001. *Diccionario de botánica*. 2^{da} edición. España: Ediciones Península: 1244.

Gallagher, G. 2018. *Quercus oleoides*. *The IUCN Red List of Threatened Species*. 2018:e.T194209A2304166. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20182.RLTS.T194209A2304166.en>.

González-R., A., D.M. Arias, S. Valencia-A. & K. Oyama. 2004. Morphological and RAPD Analysis of Hybridization between *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two Mexican Red Oaks. *American Journal of Botany*, 91(3): 401-409.

Hare, C.L. 1942. On the taxonomic value of the anatomical structure of the vegetative organs of the dicotyledons: the anatomy of the petiole and its taxonomic value. *Proceedings of the Linnean Society of London*, 155(555): 223–229.

Hipp, A., P. Manos, A. González-R., M. Hahn, M. Kaproth, J. McVay, S. Valencia-A. & J. Cavender-B. 2018. Sympatric parallel diversification of major oak clades in the Americas and the origins of Mexican species diversity. *New Phytologist*: 1-14.

Hubert, F., G. Grimm, E. Joussetin, V. Berry, A. Franc & A. Kremer. 2014. Multiple nuclear genes stabilize the phylogenetic backbone of the genus *Quercus*. *Systematics and Biodiversity*, 12(4): 405-423.

Jones, J. H. 1986. Evolution of the Fagaceae: The Implications of Foliar Features. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 73(2): 228-275.

Kenny, L. & D. Jerome. 2017. *Quercus fusiformis*. *The IUCN Red List of*

ThreatenedSpecies 2017:e.T194130A2302046. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20172.RLTS.T194130A2302046.en>.

Lester, N.R. & H.T Horner. 2008. Crystal macropatterns in leaves of Fagaceae and Nothofagaceae: A comparative study. *Plants Systematics and Evolution*, 271: 239–253.

Li, Q., S. Li, D. Lin, W. Shao & T. Tu. 2018. *Quercus pseudosetulosa*, a new species of *Quercus* sect. *Ilex* (Fagaceae) from Dawanshan Island, Guangdong, China. *Phytotaxa*, 373(4): 272.282.

López, M., G. Murguía & J. Márquez. 2005. *Técnicas para el estudio del desarrollo en Angiospermas*. 2^{da} edición. México: La Prensa de Ciencias: 178.

Luna-José, A., L. Montalvo & B. Rendón. 2003. Los usos no leñosos de los encinos en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 72: 107-117.

Manos, P., J. Doyle & K. Nixon. 1998. Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12(3): 333–349.

Manos, P. & A.M. Stanford. 2001. The historical biogeography of Fagaceae: Tracking the Tertiary history of temperate and subtropical forests of the Northern hemisphere. *International Journal of Plant Sciences*, 162(6): 77-93.

Martínez, D. T. Terrazas & F. Zavala. 2003. Arquitectura foliar y anatomía de la corteza y la madera de *Quercus sartorii* y *Q. xalapensis* (Fagaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 73: 63-72.

Martínez, D., F. Zavala & T. Terrazas. 2011. Estudio morfométrico de *Quercus sartorii* y *Q. xalapensis* (Fagaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82: 551-568.

Martínez, A., G.C. Ortiz, V. Rebolledo, A. Andrade, L.G. Iglesias & P. Octavio. 2015. Efecto de la fragmentación en la morfometría foliar y el ambiente de

Quercus germana Schldl. & Cham. (Fagaceae) en Xalapa, Veracruz. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 21(3): 267-280.

Metcalfe, C.R. & L. Chalk. 1979. *Anatomy of Dicotyledonous*. 2^{da} edición. Oxford Clarendon Press: 456-473.

Morales, S. 2017. *Riqueza y distribución del género Quercus en la Sierra Madre del Sur, México*. Tesis de Maestría en Ciencias. México, Universidad Nacional Autónoma de México: 89.

Muller C.H. 1942. The Central American species of *Quercus*. *Miscellaneous Publication*, 477: 1-216.

Nikolić, N., Lj. Merkulov, S. Pajević & B. Krstić. 2005. Variability of leaf anatomical characteristics in pedunculate oak genotypes (*Quercus robur* L.). *Proceedings of the balkan scientific conference of biology in Plovdiv (Bulgaria) from 19th till 21st of may 2005*: 240–247.

Nixon, K. C. 1993. Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names. *Ann. Sci. For.*, 50(1): 25-34.

Olivera, D., S. Castillo, P. Guadarrama, J. Ramos, J. Álvarez & L. Hernández. 2011. Establecimiento de plántulas de *Quercus rugosa* Née inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares en un bosque templado de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 89: 115-121.

Pérez-G., V. A. 2017. *Análisis anatómico de dos especies mexicanas del género Quercus (Fagaceae): Quercus crassipes y Q. frutex*. Reporte de actividad de apoyo a la investigación a nivel licenciatura. México. Universidad Nacional Autónoma de México: 29.

Pérez-M., E. & S. Valencia-A. 2017. Estudio preliminar del género *Quercus* (Fagaceae) en Tamaulipas, México. *Acta Botánica Mexicana*, 120: 58-111.

Pérez, O. C., J.S. Vélez & R.J. Ceja. 2006. Anatomía de la madera de ocho

especies de *Quercus* (Fagaceae) de Oaxaca, México. *Madera y Bosques*, 12(1): 63-94.

Pérez, O. C., R. Dávalos, R. Limón & P. Quintanar. 2015. Características tecnológicas de la madera de dos especies de *Quercus* de Durango, México. *Madera y Bosques*, 21 (3): 19-46.

Raven, P., R. Evert & S. Eichhorn. 1992. *Biología de plantas*. 5^{ta} edición. España: Editorial Reverté: 728.

Rodríguez, R. I. & S. Romero. 2007. Arquitectura foliar de diez especies de encino (*Quercus*, Fagaceae) de México. *Acta Botánica Mexicana*, 81: 9-34.

Romero, S., Z.E. Rojas & E.M. Aguilar. 2002. El género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 89(4): 551-593.

Romero, S., Z. Rojas & L. Rubio. 2014. *Fagaceae*. In: *Flora del Bajío y Regiones Adyacentes*, México, 184:1-29.

Sabás, J.L., J. Sosa & J.J. Luna. 2015. Diversidad, distribución y caracterización básica del hábitat de los encinos (*Quercus*:Fagaceae) del estado de San Luis Potosí, México. *Botanical Science*, 93(4): 881-897.

Sabás, J.L., M.E. Siqueiros, S. Valencia-A. & E.D. Enríquez. 2017. Reconocimiento taxonómico de seis especies arbustivas de encinos (*Quercus* secc. *Quercus*: Fagaceae). *Polibotánica*, 44: 11-38.

Sandoval, E. 2005. *Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal*. México: Instituto de Biología UNAM: 278.

Santacruz, N. & A. Espejel. 2004. *Los encinos (Quercus) de Tlaxcala, México*. 1^{ra} edición. México. Universidad Autónoma de Tlaxcala: 83.

Scareli, C., M. Sánchez, A. González-R. & K. Oyama. 2013. Foliar micromorphology of mexican oaks (*Quercus*: Fagaceae). *Acta Botánica Mexicana*, 104: 31-52.

Shahbaz, S., S. Abdulrahman & H. Abdulrahman. 2015. Use of leaf anatomy for identification of *Quercus* l. species native to Kurdistan-Iraq. *Journal University of Zakho*, 3(2): 222-232.

Talip, N., D.F. Cutler, A.S. Ahmad Puad, B.S. Ismail, A.R. Ruzi & A.A. Ahmad Juhari. 2017. Diagnostic and systematic significance of petiole anatomy in the identification of *Hopea* species (Dipterocarpaceae). *South African Journal of Botany*, 111: 111-125.

Terrazas, T., M. Vázquez & J. Gutiérrez. 2014. *Organografía y anatomía de plantas vasculares*. In: Valencia-A., S. 2014. *Introducción a las embriofitas*. 1^{ra} edición. México: Las Prensas de Ciencias, UNAM: 74-83.

Tovar-Sánchez, E. & K. Oyama. 2004. Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany*, 91(9): 1352-1363.

Trelease, W. 1924. The American oaks. *Memoirs of the National Academy of Science*, 20: 1-255.

Valencia-A., S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 75: 33-53.

Valencia-A., 2018. *Características morfológicas generales utilizadas en la identificación de especies de encinos*. Taller de identificación de encinos mexicanos. CIIDIR-IPN Oaxaca, México (1-3 de octubre de 2018).

Valencia-A. S. & A. Delgado. 2003. Los tricomas foliares en la caracterización de un grupo de especies del género *Quercus*, sección *Lobatae* (Fagaceae). *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*, 74(1): 5-15.

Valencia-A., S., M. Martínez, R. Cruz, J. Jiménez & E.T. Rodríguez. 2012. *Glosario ilustrado de embriofitas*. 1^{ra} edición. México: Las Prensas de Ciencias, UNAM: 119.

Valencia-A., S. & M. Gual. 2014. La familia Fagaceae en el bosque mesófilo de montaña de México. *Botanical Sciences*, 92(2): 193-204.

Valencia-A. S., G. Flores, J. Jiménez & M. Mora. 2017. Distribution and diversity of Fagaceae in Hidalgo, México. *Botanical Science*, 4: 660-721.

Zavala-Chávez, F. 1998. Observaciones sobre la distribución de encinos en México. *Polibotánica*, 8: 47-64.

Zúñiga, E. A., A. Sánchez & D. Granados. 2009. Análisis de la variación morfológica foliar en *Quercus laeta* Liemb. en el Parque Nacional Los Mármoles, Hidalgo, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 15(2): 87-93.