



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

SISTEMÁTICA

**Variación morfológica en hojas de *Gutteria amplifolia* Triana & Planch.**

**(Annonaceae) en México**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**MARÍA FERNANDA MARTÍNEZ VELARDE**

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Laura Calvillo Canadell**  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. Estela Sandoval Zapotitla**  
JARDÍN BOTÁNICO, INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM  
**M. en C. Rosa María Fonseca Juárez**  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

**CD. MX. JUNIO, 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.



OFICIO CPCB/497/2019

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

M. en C. Ivonne Ramirez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
Presente


Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Ecología, Manejo Integral de Ecosistemas, Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 28 de enero de 2019, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **MARTÍNEZ VELARDE MARÍA FERNANDA** con número de cuenta **308125458** con la tesis titulada "**Variación morfológica en hojas de *Gutteria amplifolia* Triana & Planch. (Annonaceae) en México**", realizada bajo la dirección de la **DRA. LAURA CALVILLO CANADELL**:

Presidente: DRA. MERCEDES ISOLDA LUNA VEGA  
Vocal: DR. ULISES YUNUÉN ROSAS LÓPEZ  
Secretario: DRA. ESTELA SANDOVAL ZAPOTITLA  
Suplente: DRA. MARCIA MARÍA RAMÍREZ SÁNCHEZ  
Suplente: DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO

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

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 24 de abril de 2019.

  
**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**  
**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgarme la beca núm. 457249 para realizar mi posgrado en Ciencias Biológicas.

A mi comité tutorial, conformado por la Dra. Laura Calvillo Canadell, asesora principal de este proyecto; a la Dra. Estela Sandoval Zapotitla y a la M. en C. Rosa María Fonseca Juárez, quienes me apoyaron y enriquecieron con su conocimiento y experiencia en las diferentes áreas que desempeñan.

## AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Este proyecto es el resultado de años de trabajo que decidí emprender para continuar mi formación como futura investigadora. Durante todo el proceso, desde el primer momento siempre conté con el apoyo por parte de un sin número de personas colaborando para que todo esto saliera a flote. Las siguientes líneas son un intento de agradecimiento para cada una de ellas, esperando poder mencionarlas a todas.

En primer lugar, agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, mi *alma mater*, que pese a todas las circunstancias por las que ha atravesado, siempre ha ofrecido educación de calidad. Es un honor pertenecer a sus filas. Paralelamente, doy gracias al pueblo mexicano que a través de su esfuerzo y lucha, la Universidad sigue de pie, se mantiene y puede sembrar la idea de formar un mundo mejor. Mi trabajo se debe a ustedes.

Agradezco sobre manera a mi comité tutorial por el invaluable apoyo durante toda la maestría:

A la Dra. Laura Calvillo Canadell por dirigir mi tesis, muchas gracias por aceptarme con mis ideas, apoyarlas, encaminarlas, corregirlas y defenderlas. Por compartir su sabiduría, su cariño y su vocación por la ciencia conmigo; la respeto y admiro mucho. Es una líder fuerte, sensible y aguerrida.

A la M. en C. Rosa María Fonseca, quien fuera mi asesora de licenciatura años atrás. Gracias por continuar apoyándome y compartir el inmenso conocimiento y pasión por las plantas que en principios de mi carrera fueron inspiración para que me dedicara a ello. A usted le debo mi gusto por la botánica.

A la Dra. Estela Sandoval Zapotitla, por aceptar acompañarme y guiarme en este proyecto, por su paciencia, su amabilidad y sus ideas que aportaron frescura y claridad al tema. Personalmente le agradezco el haberme escuchado cuando más estresada me encontraba y valoro que considere importante la salud mental de los alumnos.

Gracias a las tres, son mujeres y científicas admirables e invaluable. Fue un honor trabajar bajo su tutela.

Quiero agradecer de manera muy especial a mi comité sinodal:

Dra. Isolda Luna Vega, Dr. Ulises Rosas, Dra. Estela Sandoval, Dra. Marcia Ramírez y Dra. Teresa Terrazas; quienes accedieron de forma amable a revisar mi tesis, lo tomaron muy en serio y que gracias a ello, sin duda alguna, este escrito salió demasiado beneficiado. Gracias a cada uno, ahora me siento más satisfecha de los resultados. Espero haber alcanzado sus expectativas.

Agradezco al Instituto de Biología por permitirme trabajar cómodamente en sus instalaciones. Especialmente quiero agradecer al Herbario Nacional MEXU y a todos sus técnicos académicos de éste (Laura Calvillo Canadell, Ma. del Rosario García Peña, Verónica Juárez Jaimes, Martha Olvera García, Gilda Ortiz Calderón, Angélica Ramírez Roa, Alberto Reyes García y Rafael Torres Colín) por facilitarme el acceso a la colección para consultar los ejemplares utilizados en mi tesis. Particularmente al M. en C. Alberto Reyes, encargado de la sala *Bletia*, sitio donde se resguardan los ejemplares de *Guatteria amplifolia*.

A la Biol. Susana Guzmán Gómez por apoyarme con la toma de fotografías en el laboratorio de microscopía y fotografía de la biodiversidad (II) del Instituto de Biología de la UNAM.

Al Instituto de Ecología en Pátzcuaro, Michoacán por apoyarme con los ejemplares depositados en su herbario (IEB), necesarios para este trabajo, en especial a su curador, el doctor Emmanuel Pérez Cáliz por su ayuda con la consulta del material. Al Herbario de la Facultad de Ciencias por permitirme acceder a su colección.

A Rocío González Acosta, secretaria del Posgrado en el Instituto de Biología por su eficiente y amable atención durante todo el proceso administrativo de la maestría.

De manera muy especial quiero agradecer el apoyo de la Dra. Marcia Ramírez quien desde antes de ser mi sinodal, revisó y aportó su conocimiento sobre morfometría geométrica. Sin su ayuda, amabilidad y paciencia, este trabajo no hubiera mejorado mucho.

Si bien este trabajo es un ejemplo de la colaboración académica, también es necesario mencionar a todas las personas que aportaron algo más a este trabajo de maestría. Gracias a la familia Velarde Viveros, mi familia, por demostrarme su cariño incondicional, a pesar de no siempre encajar en sus perspectivas. Gracias Carmen, Laura, Gregorio, Yolanda, Eva, Virginia y Baltazar. Gracias a Margarita, mi madre y Héctor, mi hermano, por permitir incluirme en sus vidas de nuevo, por ello he crecido un poco más.

Existen personas que no nos unen ningún lazo más que el cariño cultivado a través de años de amistad. Hay un grupo de personas, que me ha brindado su apoyo incondicional y que les guardo un amor, respeto y admiración total. Quiero agradecer a Manuel Edday Farfán Beltrán por haber sido un admirable y amado compañero, ser mi mano derecha durante tantos años, brindarme todo el apoyo de prácticamente cualquier tipo, asesorarme con la parte estadística y hacerme la maestría más feliz; tú y tu familia son un gran tesoro para mí. A María Fernanda de Alba Navarro, por su cariño, confianza, paciencia y compañía; gracias por ayudarme con la traducción del resumen al inglés. A Magda Paola Argueta Guzmán, la más joven de todas mis amistades, una chica llena de alegría y fuerza, pieza clave para impulsarme a comenzar con una etapa nueva de mi vida: la independencia; para ti toda mi admiración y amor. Gracias por llevarme a Pátzcuaro sin más paga que mi compañía. A Francisco Sánchez Beristain, mi profesor, mentor y gran amigo; Gracias por confiar en mí, brindarme tu mano en la academia y darme cariño incondicional; para ti mi respeto, total admiración y apoyo incondicional. Quisiera mencionar también, al Dr. Zenón Cano Santana, quien sin pensarlo y sin serlo de manera formal, fungió como un mentor más, ayudándome a ser mejor académica con cada charla improvisada. Profesor, es una de mis inspiraciones académicas y personales más grandes. Finalmente, Gracias a Alex por llegar en el momento justo.

Los días de trabajo en el herbario implican un gran esfuerzo y sin la compañía adecuada durante el proceso, la motivación no hubiera sido la misma; por ello, agradezco a Diego Villar Morales y Berenice Mendoza Espinosa por compartir su tiempo en el cubículo, por ustedes y la doctora Lau, me daba gusto llegar a trabajar. Aprender de ustedes y a su lado fue mucho más disfrutable y enriquecedor.

Finalmente, es necesario mencionar al menos desde mi experiencia, que el trabajo intelectual, por más capacidad que se tenga, no se desarrolla plenamente si la inteligencia emocional y psicológica en general no está bien. La maestría es un proceso magnífico, pero no por ello deja de ser difícil y en ocasiones crudo. Es bueno saber sobrellevarlo y conocer de ello para estar sanos. Le agradezco de la manera más especial posible a la psicóloga Marjorie Lozano, mi terapeuta por acompañarme en este proceso y por siempre tratarme de manera profesional, cariñosa y comprensiva. Debido a tu trabajo, me siento una persona más asertiva con mi vida.

Me temo que no son todos los nombres que merecen estar aquí, pero en estas líneas agradezco a todas y cada una de las personas que colaboraron con cada granito de arena, desde su trinchera, para que mi tesis saliera adelante. En verdad, Gracias.

# Contenido

Resumen.....	10
Abstract .....	11
Introducción .....	12
Importancia de la hoja y sus caracteres morfológicos como fuente de información taxonómica, ecológica y evolutiva.....	12
La morfometría geométrica como herramienta en la biología comparada .....	13
La familia Annonaceae y el género <i>Guatteria</i> .....	15
<i>Guatteria amplifolia</i> Triana & Planch. ....	17
Objetivos .....	19
General .....	19
Particulares.....	19
Antecedentes y Justificación .....	20
Hipótesis .....	20
Materiales y Métodos .....	21
Toma de datos .....	21
Mapa de distribución.....	21
Análisis morfométrico.....	22
Descripción y análisis de la arquitectura foliar .....	24
Pruebas estadísticas .....	24
Morfometría de distanciasdistancias.....	24
Morfometría geométrica.....	25
Resultados .....	26
Mapa de distribución.....	26
Análisis morfométrico.....	30
Morfometría de distancias .....	30
Morfometría geométrica.....	32
Arquitectura foliar .....	43



Discusión .....	58
Mapa de distribución.....	58
Morfometría tradicional .....	59
Morfometría geométrica.....	64
Arquitectura foliar .....	66
Conclusiones .....	67
Referencias bibliográficas .....	68
LISTA DE ANEXOS .....	78

## **Glosario de Abreviaturas**

**MEXU:** Herbario Nacional de México, Universidad Nacional Autónoma de México.

**FCME:** Herbario de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

**ENCB:** Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Nacional Politécnico.

**IEB:** Herbario del Instituto de Ecología A.C., Pátzcuaro, Michoacán, México.

**XAL:** Herbario del Instituto de Ecología A.C., Xalapa, Veracruz, México.

**MA:** Herbario del Real Jardín Botánico, Madrid, España.

**K:** Kew Royal Botanical Garden Herbarium, U.K.

**BM:** Natural History Museum, U.K.

**C:** University of Copenhagen, Denmark.

## Resumen

El significado funcional de la variación de la forma entre hojas de diferentes grupos taxonómicos, ha sido objeto de debate durante años, otorgando una gama de enfoques de estudio sobre dicho órgano. La morfometría geométrica es una técnica cuantitativa que permite analizar la forma y su variación, independientemente del tamaño de la estructura, a través de métodos estadísticos multivariados. *Guatteria amplifolia* pertenece a la familia Annonaceae y se distribuye desde el sur de México hasta el sur de Panamá, presentando variación intraespecífica, principalmente en la forma de sus hojas. El objetivo de este trabajo fue analizar la forma laminar y describir la arquitectura foliar de *G. amplifolia* en México, para determinar si guarda relación con alguna variable ambiental. Se tomaron datos de colecta y fotografías digitales de ejemplares de herbarios. Se elaboró un mapa de distribución con el cual se obtuvieron 8 parámetros ambientales. Con fotografías de las hojas se realizó un estudio morfométrico con 6 distancias y una configuración de 3 landmarks y 58 semilandmarks; los primeros fueron analizados en Past V.3.0. y el segundo se procesó en diferentes paquetes de la serie IMP8 para morfometría geométrica. Para saber si existe una relación entre las distancias medidas y las variables ambientales, se hizo una prueba de Kruskal-Wallis para muestras no paramétricas. Se realizó un Análisis de Componentes Principales con los datos de morfometría geométrica para explorar patrones de variación en la forma de la lámina y un Análisis de Variables Canónicas para conocer si la forma difería entre categorías de cada variable ambiental. Se aplicó un análisis de correlación para determinar si el tamaño y la forma laminar eran independientes. Se hizo una MANOVA y se calculó el índice de Jackknife para saber el porcentaje de asignación correcta de las hojas a cada grupo. Se generaron gradillas de deformación para el espacio del PCA y del CVA. Se aclararon hojas de ejemplares de herbario para describir su arquitectura foliar. Como resultados generales, el PCA para las variables de tamaño muestra que los dos primeros componentes principales explican más del 80% de la variación. La prueba de Kruskal-Wallis mostró que el ángulo del ápice y la base presentan diferencias significativas en todas las variables ambientales analizadas. Las variables ambientales relacionadas con disponibilidad de agua presentan un índice de significancia mayor respecto al resto. Los dos primeros componentes del PCA con los datos de morfometría geométrica explican el 72.9% de la variación laminar, las gradillas de deformación muestran que las zonas con mayor variación morfológica son el ápice y la base. Los CVA mostraron agrupaciones para todas las variables ambientales, pero la MANOVA no fue significativamente diferente para el tipo de vegetación. Las gradillas de deformación del CVA también señalan que el ápice y la base son las zonas de mayor variación morfológica. Respecto a la arquitectura foliar, los caracteres más consistentes fueron la venación secundaria broquidódroma, la formación de areolas por venas de quinto orden y las últimas venas marginales formando arcos; mientras que aquellos que presentan mayor variación son las venas intersecundarias y las venas con órdenes de venación mayores al tercero. Como conclusión, las hojas de *G. amplifolia* guardan una correlación entre la forma, tamaño, la arquitectura foliar y las variables ambientales relacionadas con la disposición de agua. El tamaño es menor y la forma del ápice y la base tiende a ser más recta bajo condiciones con menos humedad, poca precipitación, temperaturas cercanas a sus límites de distribución y suelos con mayor filtración. El tamaño aumenta y el ápice es más acuminado en ambientes con mayor disposición de agua. Aunque no se correlacionó con alguna variable ambiental, se observó que las últimas venas libres fueron las más variables dentro de la especie, difiriendo en el orden de venación y el tipo de ramificación. Se propone que pese a la variación en las características analizadas, *Guatteria amplifolia* se trata de una misma especie que presenta plasticidad fenotípica asociada a las condiciones hídricas del lugar y de su capacidad para responder a las diferencias en el ambiente que se encuentra, reflejándose en el tamaño, forma y arquitectura foliar.

## Abstract

The functional significance of leaf shape variation between different taxonomic groups has been a subject of debate for years, resulting in a wide array of study approaches regarding this organ. Geometric morphometrics is a quantitative technique that enables the analysis of the shape and variation of leaves, regardless of the size of the structure, through multivariate statistical methods. *Guatteria amplifolia* belongs to the Annonaceae family and it is distributed in the area comprised between the South of Mexico and the South of Panama. It presents intraspecific variation, particularly in terms of leaf shape. The purpose of this study was to analyze the leaf shape and to describe the foliar architecture of *G. amplifolia* in Mexico, in order to identify possible associations with environmental variables. Collection data and digital photographs were taken from herbaria. A distribution map was made and used for the obtention of 8 environmental parameters. A morphometric study with 6 distances and a configuration of 3 landmarks and 58 semilandmarks was done using photographs of the leaves; the distances were analyzed with the Past V.3.0. software and the configuration was processed in different packages of the series IMP8 for geometric morphometrics. In order to identify a possible relation between the measured distances and the environmental variables, a Kruskal-Wallis test for nonparametric samples was used. A Principal Component Analysis with the geometric morphometrics data was done so as to explore the variation patterns in leaf shape, and a Canonical Variate Analysis was used to identify if leaf shape differed between the categories of each environmental variable. A correlation analysis was applied to determine if the size and the shape of the leaves were independent from one another. A MANOVA test was done and the Jackknife index was calculated to know the percentage of the correct assignation of leaves to each group. Thin plate splines were generated for the PCA and the CVA space. Leaves from herbaria specimens were cleared in order to describe their foliar architecture. As general results, the PCA for size variables shows that the first two principal components explain over 80% of the variation. The Kruskal-Wallis test showed that the apex and base angles present significant differences in all of the analyzed environmental variables. The environmental variables that are related to the availability of water present a higher significance index than the rest. The first two PCA components with the geometric morphometrics data explain 72.9% of the leaf variation; the thin plate splines show that the areas with the greatest morphological variation are the apex and the base. The CVA showed groupings for all of the environmental variables, but the MANOVA test wasn't significantly different for vegetation type. The thin plate splines of the CVA also indicate that the apex and the base are the areas with the greatest morphological variation. Regarding foliar architecture, the most consistent characters are brochidodromous secondary venation, the formation of areolas by the fifth order veins and the last marginal veins forming arches; while the characters that present the greatest variation are the intersecondary veins and the veins with venation orders higher than the third. In conclusion, the leaves of *G. amplifolia* display a correlation between the shape, size, foliar architecture and environmental variables associated with water availability. The size is smaller and the apex and base shapes tend to be straighter under conditions of less humidity, little precipitation, temperatures near their distribution limits and soils with better filtration. The size increases and the apex is more acuminate in environments with greater water availability. Even though it wasn't correlated with any environmental variables, it was observed that the last free veins were the most variable within the species, differing in the order of venation and the type of ramification. It is suggested that despite the variation in the analyzed characteristics, *Guatteria amplifolia* is a single species that presents phenotypic plasticity associated with the hydric conditions of the place and with its capacity to respond to the differences in the environment it inhabits, which is reflected in the size, shape and architecture of its leaves.

## Introducción

### ***Importancia de la hoja y sus caracteres morfológicos como fuente de información taxonómica, ecológica y evolutiva***

Las hojas son estructuras vegetativas con crecimiento determinado que surgen del primordio lateral del tallo de una planta. Generalmente se componen de un pecíolo, una lámina bifacial, una estípula y pueden estar acompañadas de una yema meristemática; y a su vez, la diversidad de formas de sus diferentes partes, así como la presencia o ausencia de alguna de éstas, puede ser útil para la identificación de algunas familias (Ellis *et al.*, 2009).

Hickey (1973) propuso que la arquitectura foliar se refiere a la posición y forma de aquellos elementos que se expresan en términos de la estructura foliar, es decir, los patrones de venación, la configuración del margen, la forma de la hoja, la posición de glándulas, etcétera. De esta manera, es factible considerar a la arquitectura foliar como un aspecto de la morfología a nivel espacial, sin necesidad de considerar histología, función, origen u homología (Hickey y Wolfe, 1975).

El estudio de la morfología foliar, particularmente aplicado a la sistemática, ha sido menos utilizado por la botánica moderna. Los trabajos sobre sistemática de plantas donde se han incluido caracteres foliares son limitados, bajo el argumento de que, entre otras cosas, la hoja es un órgano cuya plasticidad fenotípica se ve fuertemente influenciada por las condiciones ambientales y los procesos selectivos, por lo que resulta muy complicado describir dichas características (Bailey y Sinnott, 1916; Hickey y Wolfe, 1975).

El significado funcional de la variación de la forma entre hojas de diferentes grupos taxonómicos ha sido objeto de debate durante años, generando toda una gama de enfoques de estudio (Nicotra, 2010; Nicotra *et al.*, 2011). Trabajos principalmente paleobotánicos demuestran que los patrones morfológicos de las hojas son determinantes tanto para la identificación de plantas como para conocer sus relaciones ambientales (Bailey y Sinnott, 1916; Hickey, 1973; Dilcher, 1974; Hickey y Wolfe, 1975; Wang *et al.*, 2001; Martínez-Cabrera *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2016).

Luckow (2002) realizó un estudio en plantas pertenecientes al grupo *Dichrostachys*, el cual en un principio consistía de 4 géneros pertenecientes a la familia Fabaceae, subfamilia Mimosoideae. En este trabajo encontraron diversas características, entre ellas, de la arquitectura foliar, principalmente patrones de venación de los foliolos con valor taxonómico que permiten delimitar géneros y especies. También describe características anatómicas, como la distribución de los estomas en la lámina, que no tienen señal taxonómica y concluye que se puede deber a la influencia de las condiciones ambientales. De igual forma, algunos estudios realizados en

Anacardiaceae donde se hace la descripción de la arquitectura foliar revelan diferentes patrones en la arquitectura foliar que permiten agrupar especies (Martínez-Millán y Cevallos-Ferriz, 2005).

En términos ecológicos y evolutivos, existen teorías que explican la gran plasticidad fenotípica y específicamente de la forma de las hojas. Entre ellas, destacan adaptaciones termorreguladoras y restricciones hidráulicas en ambientes áridos; patrones de expansión laminar en especies caducifolias; restricciones mecánicas; adaptaciones que evitan la herbivoría y adaptaciones para optimizar la captación de luz (Nicotra *et al.*, 2011). Dichas ideas sugieren que existen caracteres de la lámina como el tamaño, la forma y el margen que se ven influenciados, entre otras cosas, por condiciones ambientales relacionadas con las adaptaciones anteriormente mencionadas o bien, por su historia evolutiva (Nicotra *et al.*, 2011; Schmerler *et al.*, 2012; Rojas, 2014).

La arquitectura foliar es capaz de ofrecer información muy valiosa y de diferente tipo. Por ejemplo, los patrones de venación han sido utilizados para la identificación taxonómica y para determinar relaciones filogenéticas (Hikey y Taylor, 1991; Boyce *et al.*, 2009; Green *et al.*, 2014; De Luna, 2015). De manera paralela, la cuantificación de venas es particularmente importante para trabajos ecofisiológicos o de morfología funcional (Sack y Scoffoni, 2013). Un estudio realizado en plantas de *Laurus nobilis* (Lauraceae), concluyó que existe una relación directamente proporcional entre la densidad de venas, el orden de las últimas venas libres y la eficiencia de absorción y transporte de agua a través de la hoja (Zwieniecki *et al.*, 2002; Nicotra *et al.*, 2011). No obstante, los caracteres morfológicos y anatómicos de la hoja no han sido empleados para el entendimiento de la evolución, así como la delimitación taxonómica de *Guatteria amplifolia*.

### ***La morfometría geométrica como herramienta en la biología comparada***

Durante los comienzos de la morfometría como una técnica cuantitativa y no meramente descriptiva, el análisis matemático de la forma se basaba en la comparación estadística de las dimensiones lineales (largo, ancho, profundidad, altura, etcétera). La forma se consideraba una cualidad de la estructura, que, si bien podía ser descrita, no podía ser directamente medida (Zelditch *et al.*, 2004; Toro *et al.*, 2010).

La morfometría geométrica ha sobresalido como una técnica que resuelve preguntas que implican una variable morfológica sin que ésta considere necesariamente el tamaño de la estructura. Gracias al desarrollo de diversas herramientas que permiten su aplicación (como por ejemplo el software de las familias TPS, IMP o MorphoJ), los resultados que se obtienen de ella son más precisos y la interpretación de la forma es más directa que los análisis morfométricos basados

únicamente en distancias. Como consecuencia, la cuantificación de la forma adquirió mayor complejidad, donde además de comparar parámetros, también se intentaba encontrar relaciones entre éstos, que permitieran explicar las diferencias observadas a través de análisis estadísticos multivariados (Marcus, 1990; Rohlf y Marcus, 1993; Toro *et al.*, 2010; Jaramillo, 2011).

La morfometría geométrica es una técnica cuantitativa que permite analizar la posición relativa de un conjunto de puntos o coordenadas (configuración) usadas para aproximar y cuantificar la forma y tamaño de los objetos (Jaramillo, 2011; Viscosi y Cardini, 2011). Es una herramienta que analiza por separado la variación de la conformación y el tamaño siempre que no exista efecto de la alometría. De existir tal influencia, es capaz de medirla para asociar dicha conformación con sus factores causales (Slice, 2007; Reyment, 2010; Toro *et al.*, 2010).

De manera general, la morfometría geométrica comprende tres pasos principales para el análisis de la estructura: 1) la obtención de datos, a través de la captura de las coordenadas en dos o tres dimensiones de hitos o landmarks, es decir, puntos correspondientes entre los objetos de la muestra a analizar que aproximan la forma del objeto en un plano cartesiano; 2) la transformación de esos datos en variables de forma que eliminan la información ajena a la misma y, 3) los análisis estadísticos exploratorios y confirmatorios de la covariación de la forma con factores causales (Kendall, 1981; Bookstein, 1996; Rohlf, 1999; Zelditch *et al.*, 2004; Slice, 2007; Toro *et al.*, 2010).

Los landmarks son coordenadas que se extraen a partir de imágenes digitales de la estructura bajo estudio y al conjunto de éstas se le conoce como configuración (Zelditch *et al.*, 2004). En principio, cada configuración tiene tantos datos como landmarks son colocados, sin embargo para que la forma sea considerada como una sola entidad en los análisis estadísticos (y no para analizar cada uno de los landmarks por separado), para cada configuración se calcula la distancia mínima promedio de todos los landmarks colocados, respecto a la zona centro de ésta, conocido como tamaño centroide (Centroide size) (*Ibid*).

En la última década, la morfometría geométrica ha sobresalido como una técnica numérica y analítica exitosa que resuelve preguntas que implican una variable morfológica sin que ésta considere necesariamente el tamaño de la estructura. Gracias al desarrollo de diversas herramientas que permiten su aplicación (como por ejemplo el software de las familias TPS, IMP o MorphoJ), los resultados que se obtienen de ella son más precisos y la interpretación de la forma es más directa que los análisis morfométricos basados únicamente en distancias.

Dentro del campo de la biología comparada, la forma de los organismos juega un papel importante en su estudio. Una gran variedad de procesos biológicos produce diferencias en la forma

entre especies, poblaciones o dentro de un mismo individuo, tales como enfermedades, contaminación ambiental, su desarrollo ontogenético, adaptaciones locales, o bien, debido a la evolución y diversificación (Jaramillo, 2011). Los métodos morfométricos proveen una serie de técnicas analíticas muy poderosas para cuantificar la variación morfológica y examinar posteriormente, los probables componentes genéticos y ambientales de los rasgos examinados (*Ibid*).

Entre las principales aplicaciones de la morfometría geométrica en la biología comparada, se encuentran la detección y descripción cuantitativa de la variación morfológica de los taxones, el origen y naturaleza de la variabilidad morfológica, factores que alteran los patrones de la variación morfológica, tratamientos taxonómicos y determinación de poblaciones con estatus taxonómico dudoso, detección de patrones evolutivos, así como estudios filogenéticos y ecológicos (Reyes-Hernández *et al.*, 2005; Jaramillo, 2011).

### ***La familia Annonaceae y el género Guatteria***

La familia Annonaceae es un grupo de plantas leñosas, principalmente árboles, arbustos y rara vez lianas; presenta hojas dísticas, alternas, simples y sin estípulas. Las inflorescencias pueden ser cimosas o bien presentar flores solitarias. Las flores son generalmente bisexuales e hipóginas; el perianto es triseriado, con las partes libres o connatas en la base; los estambres son numerosos, usualmente arreglados en espiral, libres o rara vez connatos basalmente; las anteras son longitudinalmente dehiscentes. El gineceo es apocárpico y se compone de numerosos carpelos con placentación variable; presentan numerosos óvulos por carpelo, anátropos o campilótropos, bitégmicos o rara vez tritégmicos. El fruto es un agregado de bayas o monocarpas secas e indehiscentes o bien, puede ser un sincarpo en el cual las bayas se fusionan al receptáculo. Las semillas tienen un endospermo ruminado, oleáceo y a veces amiláceo. El número cromosómico es  $n = 7$  (Maas *et al.*, 2015), aunque otros autores han propuesto que varía entre 7, 8 y 9 (Cronquist, 1981; Simpson, 2010).

Annonaceae es una familia pantropical generalmente localizada en regiones tropicales y templadas (Cronquist, 1981; Mols y Kleber, 2003), en localidades situadas por abajo de los 2300 m s.n.m. Tiene 108 a 130 géneros y 2300 a 2400 especies. Actualmente se considera que está constituida por las subfamilias Anaxogoreoideae, Annonoideae, Ambavioideae y Malmeoideae (Chatrou *et al.*, 2012), aunque otros autores no reconocen a Malmeoideae porque no es un grupo natural, ya que presenta muchas politomías en las filogenias y su posición en los árboles es inestable (Saunders, 2012).



Se estima que el grupo corona de Annonaceae apareció y comenzó a diversificarse de 90.4 a 89 Ma. (Stevens, 2001; Su y Saunders, 2009). Los mismos autores proponen que los clados más grandes diversificaron hace 55.2 a 26.9 Ma. No obstante, aunque diversos autores determinan diferentes fechas de aparición y diversificación, todos concluyen que se trató de un lapso de tiempo corto y que se dio principalmente durante el Cretácico Superior (Doyle *et al.*, 2004; Scharaschkin y Doyle, 2005; Su y Saunders, 2009; Friis *et al.*, 2011; Pirie y Doyle, 2012; Massoni *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2017; Wheeler *et al.*, 2017; Ortíz-Rodríguez *et al.*, 2018). El fósil más antiguo registrado para la familia, consta de restos de semillas y polen, que datan del Maastrichtiano de Nigeria y Colombia (~72 Ma.), lo que indica que el origen de la familia puede ser Gondwánico (Srivastava y Mehrotra, 2013).

*Guatteria* Ruiz & Pav. es el género más diverso de la familia Annonaceae con 117 especies (Maas *et al.*, 2015), integrado exclusivamente por árboles distribuidos en el Neotrópico, desde el centro de México hasta Sudamérica (Erkens *et al.*, 2007a; Maas *et al.*, 2015). Son árboles con tallos glabrescentes; presentan hojas con láminas lanceoladas a elípticas, generalmente membranáceas con una vena media impresa, rara vez prominente en el haz, base redondeada a cuneada y ápice agudo a acuminado; los pecíolos son cortos a medianamente alargados; tienen flores solitarias o en pares y axilares, los pedicelos presentan una articulación supra-basal, pubescentes, con dos a varias brácteas pequeñas naciendo por debajo de la articulación; presenta 3 sépalos valvados, libres o connatos en la base; 6 pétalos, dispuestos en dos verticilos, subiguales, imbricados, generalmente carnosos, blancos, beige, amarillos, verdes, pardos o anaranjados; los estambres son numerosos, no septados, con el conectivo prolongado en el ápice, discoide; los carpelos igualmente son numerosos, libres, cada uno con 1 óvulo basal, los frutos se caracterizan por tener numerosos monocarpes, estipitados, ovoides, indehiscentes y carnosos, conteniendo sólo una semilla.

De acuerdo con análisis filogenéticos usando caracteres reproductivos, la posición de *Guatteria* es incierta, porque muchos de los estados de carácter que presenta son homoplásicos o autapomórficos (Bygrave, 2000). De igual manera, los primeros análisis moleculares que se realizaron, resultaron de poca ayuda debido a que la posición de *Guatteria*, respecto a los clados hermanos no es estable (Bygrave, 2000; Richardson *et al.*, 2004; Erkens *et al.*, 2007b; Couvreur *et al.*, 2008; Erkens *et al.*, 2009). Dicha inestabilidad en la filogenia fue explicada con la historia biogeográfica del género (Erkens *et al.*, 2007a). De acuerdo con Erkens *et al.* (2009) el clado de *Guatteria* surgió entre 49.2 a 51.3 Ma., mientras que el grupo corona del género está datado desde hace 11.4 a 17.8 Ma. De acuerdo con los análisis bayesianos que realizan dichos autores en su trabajo, las edades son congruentes con un escenario donde *Guatteria* es de origen africano, seguido

de una primera dispersión a través del puente Noratlántico, a principios del Eoceno Medio y posteriormente llegó hasta el Norte y Centro de América durante el Mioceno. Lo anterior explica que *Guatteria* pertenezca a la subfamilia Annonoideae, grupo donde se encuentran géneros que se distribuyen en África y sur de Asia, a pesar de ser un género Neotropical (Richardson *et al.*, 2004; Couvreur *et al.*, 2008; Couvreur *et al.*, 2011).

***Guatteria amplifolia* Triana & Planch.**

Es una especie de árboles o arbustos que llegan a medir hasta 12 metros de alto y hasta 30 centímetros de diámetro. Tiene ramas pubescentes cuando son jóvenes, con tricomas adpresos, que se van perdiendo conforme la planta crece. Las hojas tienen pecíolos de 4 a 13 mm de largo; la lámina es estrechamente ovada a estrechamente obovada, a veces ovada o elíptica, puede medir de 14 a 40 cm de largo y de 4 a 15 cm de ancho; su textura es cartácea, color verde opaco y gris parduzca en el envés; generalmente son glabras en el haz y cubiertas con tricomas en el envés; la base de la lámina puede ser obtusa a aguda y el ápice acuminado (el acumen puede medir de 5 a 30 mm de largo); la vena primaria está impresa en el haz, llega a tener de 12 a 20 pares de venas secundarias, impresas o planas en el haz. Tiene flores solitarias o pareadas, éstas axilares o creciendo sobre las ramas sin hojas, los pedicelos miden de 10 a 15 mm de largo, a menudo son pubescentes, presentan una articulación suprabasal (2 a 3 mm de la base); pueden tener de 5 a 7 brácteas deciduas que miden de 1 a 1.5 mm de largo, la bráctea basal es ampliamente elíptica. Los sépalos son libres o ligeramente connatos en la base, ampliamente triangular-ovados que pueden medir hasta 12 mm de largo y 4 a 10 mm de ancho. Los pétalos son amarillo pálido en la anthesis, oblongo-ovados a oblongo obovados, pueden medir de 10 a 25 mm de largo y de 5 a 15 mm de ancho, la cara abaxial es densamente pubescente. Los estambres son numerosos y miden de 1 a 2 mm de largo con el escudo del conectivo papiloso. Los frutos tienen de 50 a 75 monocarpas de color rojo oscuro cuando están maduros; son elipsoidales y miden de 7 a 10 mm de largo y de 3 a 6 mm de ancho; los estípites son largos y delgados.

*Guatteria amplifolia* se distribuye desde el sur de México, Guatemala, Belice, Honduras, Nicaragua, Costa Rica y hasta el sur de Panamá (Maas *et al.*, 2015), principalmente en tipos de vegetación equivalentes al bosque tropical perennifolio, entre 0 y 1100 (-1850) m s.n.m. Como la gran mayoría de las especies de su género, *G. amplifolia* presenta dispersión de semillas por aves o mamíferos (Maas *et al.*, 2015) y un alto índice de germinación, que le han permitido ser un elemento dominante en las comunidades dentro de la bosque tropical caducifolio y bosque tropical perennifolio (Erkens *et al.*, 2007b).

La posición filogenética de *G. amplifolia* ha sido explicada con datos moleculares, mientras que su rápida diversificación, así como su distribución por un evento geológico posiblemente relacionado con el cierre del istmo de Panamá. *G. amplifolia* se resuelve como una de las especies más tempranamente divergentes, inmediatamente después del cierre del istmo, durante finales del Plioceno (Erkens *et al.*, 2007b).

*Guatteria amplifolia* es considerada parte de un grupo de tres especies denominado “complejo *Guatteria amplifolia*” (Erkens *et al.*, 2007c) debido a que poseen características muy similares entre ellas. Se han realizado análisis moleculares con el objetivo de aclarar la relación entre ellas; sin embargo, los resultados no mostraron una separación definida de los tres taxones por lo que los autores concluyeron que se trata de la misma especie (*ibid*).

Por otra parte, se ha observado que dentro de la especie *G. amplifolia*, existe una variación morfológica importante en estructuras vegetativas como las hojas y es posible detectarla a través de ejemplares de herbario. Erkens y colaboradores (2007a) han observado diferencias en la morfología de las hojas, entre los ejemplares de países de Centroamérica y proponen que se puede explicar por las diferencias ambientales en las que se encuentra. Posteriormente Martínez-Velarde (2015) observó que las diferencias más marcadas en los ejemplares de México se encuentran en las hojas, con las poblaciones del lado del Pacífico más parecidas entre sí, que con las poblaciones de la vertiente del Atlántico y éstas a su vez con las del Centro y Sudamérica.



**Figura 1.** Distribución geográfica de *Guatteria amplifolia* (Maas *et al.*, 2015).

En los ejemplares de Panamá, *G. amplifolia* se caracteriza por tener las hojas y los pecíolos más grandes dentro de la especie, con la venación secundaria distintivamente impresa sobre el haz. A menudo la base de la hoja es obtusa a cordada con el margen basal revoluto (Maas *et al.*, 2015).

Los ejemplares de Costa Rica, Nicaragua y el resto de América Central, presentan hojas y pecíolos más pequeños y las venas secundarias son menos impresas e incluso llegan a ser planas sobre el haz. La base de las hojas es aguda, aunque también suelen ser obtusas. Maas y colaboradores (2015) consideran toda la variación anteriormente mencionada como parte de la misma especie.

Debido a que no existe una fuente de información que explique la variación foliar para este complejo, el presente trabajo tiene por objetivo realizar un estudio de las características morfológicas de las hojas de *G. amplifolia sensu* Maas *et al.* (2015) en México; con el fin de conocer los patrones de dicha variabilidad, saber si existen caracteres con valor taxonómico y averiguar si existe relación de algunos caracteres foliares asociados con la distribución geográfica de la especie.

## **Objetivos**

### ***General***

Analizar la forma laminar y describir la arquitectura foliar de *G. amplifolia* Triana & Planch. a lo largo de un gradiente geográfico-espacial, para conocer su variación intraespecífica en México.

### ***Particulares***

- Conocer la distribución geográfica y altitudinal de *G. amplifolia* en México.
- Analizar la variabilidad de las hojas en términos de sus medidas lineales y evaluar la existencia de diferencias atribuibles a condiciones ambientales.
- Emplear técnicas de morfometría geométrica para analizar la variación morfológica laminar en hojas de *G. amplifolia* en México.
- Dar a conocer los patrones en la configuración de los caracteres de la arquitectura foliar.
- Identificar caracteres con potencial valor taxonómico en las hojas de *G. amplifolia*.
- Determinar si el patrón de variación foliar guarda una correlación con la distribución geográfica y altitudinal de *G. amplifolia* en México.

## **Antecedentes y Justificación**

Debido a que los propios especialistas admiten la necesidad de estudiar al complejo desde una perspectiva morfológica y molecular (Erkens *et al.*, 2007c; Maas *et al.*, 2015) el presente trabajo es una aportación al conocimiento de *G. amplifolia*, a través del análisis morfológico de la hoja con el fin de explicar los posibles patrones en la variabilidad de la especie y conocer el comportamiento de los mismos a lo largo de su distribución geográfica.

Las observaciones realizadas en material de herbario de *G. amplifolia* en primera instancia sugieren que existe variabilidad en las características morfológicas de las hojas. Esto es más evidente cuando se comparan ejemplares de diferentes sitios, por ejemplo, entre estados de la República Mexicana o entre países. Dicho acercamiento permitirá obtener datos que, si se analizan metódicamente, generarán conocimiento sobre la biología de la especie, específicamente enfocado a su variabilidad fenotípica.

Debido a lo anterior y a la importancia de obtener nuevas fuentes de caracteres a través de estudios morfológicos, se intenta conocer cómo los caracteres morfológicos foliares pueden ayudar a agrupar individuos como parte de la misma especie y cómo dichos caracteres responden a diversos factores ambientales, específicamente latitudinales y altitudinales en *G. amplifolia*.

Asimismo, se buscó responder lo siguiente: ¿Son la forma de la lámina y arquitectura foliar caracteres robustos con valor taxonómico o son variables? De presentar variabilidad ¿ésta se encuentra correlacionada con la distribución geográfica, la altitud o algún aspecto ambiental como el clima en general, temperatura, humedad, tipo de suelo o precipitación?

## **Hipótesis**

Si alguno de los caracteres foliares se encuentra correlacionado con la distribución geográfica y/o altitudinal, entonces la variación será significativa a lo largo de la distribución y existirá un patrón en la variación de la forma y arquitectura foliar.

De acuerdo a los reportes de Maas y colaboradores (2015), *Guatteria amplifolia* sólo se distribuye en regiones con bosques tropicales perennifolios y bosques tropicales subcaducifolios, entre 0 y hasta 1850 m s.n.m., por lo tanto, se espera que dicha especie se encuentre sólo en aquellos sitios donde haya bosques tropicales perennifolios, bosques tropicales subcaducifolios, o bien, que estén presentes dentro del intervalo altitudinal mencionado anteriormente.

Se espera que haya diferencias significativas en todas las medidas lineales de la hoja, influenciadas principalmente por la temperatura media anual, la precipitación media anual y la altitud registrada en los diferentes sitios en las que el material fue colectado.

Por otro lado, se espera que existan diferencias significativas en la forma de las hojas asociadas a alguna de las variables ambientales.

Finalmente, se espera que los caracteres más variables de la arquitectura foliar sean principalmente los órdenes de venación mayores, ya que éstos se ven influenciados por las condiciones ambientales.

## **Materiales y Métodos**

### ***Toma de datos***

Se revisaron 251 ejemplares de *Guatteria amplifolia* de los herbarios MEXU, FCME, ENCB, IEB, XAL, MA, K, BM y C; a partir de los cuales, se obtuvieron datos de colecta, muestras de hojas y fotografías de las hojas completas.

### ***Mapa de distribución***

A partir de las etiquetas, se extrajeron los datos de las localidades de colecta, tipo de vegetación, y coordenadas para realizar la matriz de localidades georreferenciadas. Para conocer las coordenadas de los ejemplares que no contaran con ellas, se realizó la búsqueda de la localidad registrada en Mapa Digital de México versión web. El mapa de distribución en México se elaboró con el programa Mapa Digital de México versión 6.1.0. para escritorio (INEGI, 2015).

Para determinar las categorías de las todas las variables ambientales a las que pertenece cada ejemplar georreferenciado (Tabla 1), se utilizaron las capas geográficas del Portal de Geoinformación del Sistema Nacional de Información sobre la Biodiversidad (<http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/>). Cada capa se corrió en Mapa Digital de México versión de escritorio y sobreponiendo la capa de los puntos correspondientes a la distribución de los ejemplares, se asignaron a una categoría para cada variable en la que éstos se ubicaban. Se utilizaron categorías para todas las variables ambientales porque las capas geográficas de CONABIO ofrecen ese formato de datos; por lo que sólo se puede obtener un intervalo y no un dato puntual. El número de categorías de altitud fue calculado con la fórmula de la regla de Sturges (Linás y Solano, 2006).

**Tabla 1.** Variables ambientales empleadas en todos los análisis estadísticos de las hojas de *Guatteria amplifolia*.

<b>Variable ambiental/geográfica</b>
Climas (García, 1998)
Tipo de suelo (INIFAP & CONABIO, 1995)
Divisiones florísticas (Provincias biogeográficas de Rzedowski, 1978)
Precipitación media anual (Vidal-Zepeda, 1990)
Humedad (García, 1990)
Temperatura media anual (Curvo-Robayo <i>et al.</i> , 2014)
Tipo de vegetación (Rzedowski, 1990)
Provincias biogeográficas (CONABIO, 1997)
Altitud

### **Análisis morfométrico**

De los 251 ejemplares herborizados revisados, se seleccionaron aquellos que presentaron el mayor número de hojas, fijando como criterio de inclusión que éstas estuvieran completas y extendidas para no perder información. Se tomaron 329 fotografías de hojas de 200 ejemplares (los 51 ejemplares restantes no contaban con alguno de los criterios anteriormente mencionados) con una cámara semireflex marca Sony Cyber-shot DSC-HX300 350 ppp de resolución. Con la ayuda de un trípode, fue posible estandarizar la distancia de captura de la imagen, así como la inclinación de la imagen, logrando que la lente se mantuviera paralela al ejemplar de herbario. De esta manera se evitó la máxima aberración, misma que pudiera generar la pérdida de información de la hoja. También se cuidó que cada fotografía contara con una referencia de escala (Figura 2A). Para el caso de los ejemplares que presentaron más de una hoja con los criterios de inclusión mencionados anteriormente, se tomaron tantas fotografías como hojas con tales características, por tal motivo es que se tienen más fotografías que ejemplares fotografiados.

El estudio morfométrico se dividió en dos etapas: el análisis de morfometría de distancias, que consiste en comparar estadísticamente sólo las variables lineales correspondientes a las dimensiones de la hoja; y el análisis de morfometría geométrica, que abarca únicamente la comparación estadística de la forma, eliminando toda la información ajena a ésta.

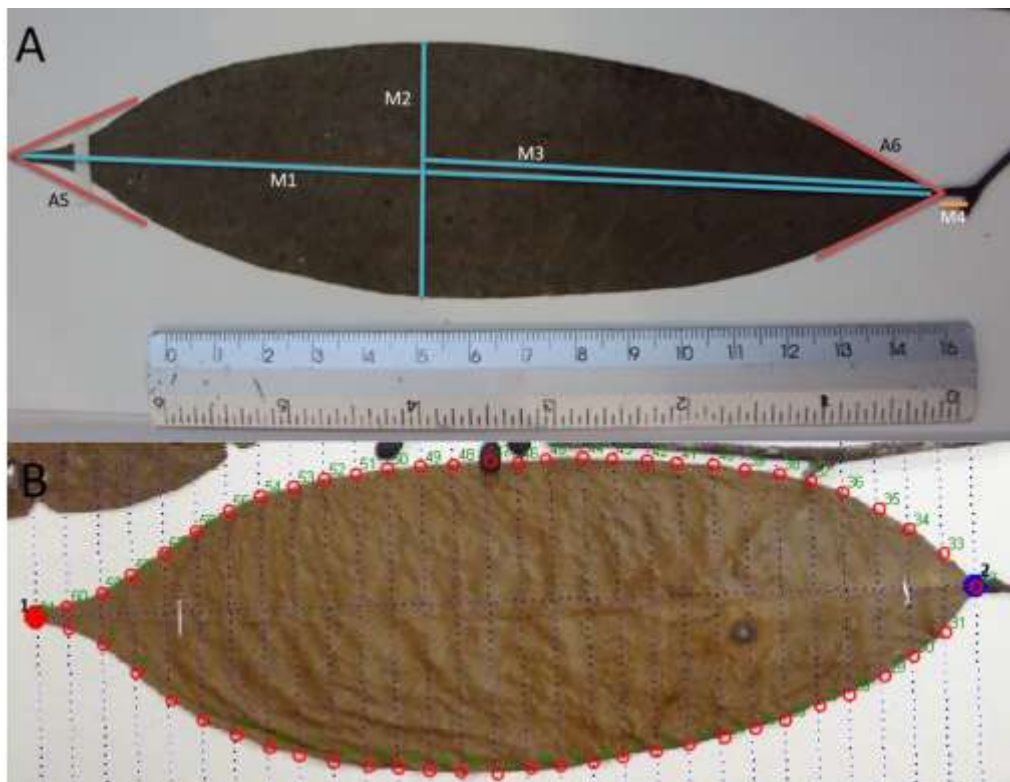
Las medidas para el análisis morfométrico tradicional se muestran en la tabla 2 y fueron tomadas mediante el software tpsDig Versión 2.26 (Rohlf, 2016).

**Tabla 2.** Caracteres empleados para en el análisis morfométrico de *Guatteria amplifolia*.

<b>Parte de la hoja</b>	<b>Código de variable</b>	<b>Variables numéricas continuas</b>
<i>Ápice de la lámina</i>	A5	Ángulo
<i>Lámina</i>	M1	Largo

	M2 M3	Ancho (región más ancha) Distancia de la base a la región más ancha
Base de la lámina	A6	Ángulo
Pecíolo	M4	Largo

Para el análisis de morfometría geométrica cada fotografía fue editada a través del programa MakeFan 8, de la familia IMP (Sheets, 2006), para colocar un peine de 30 líneas que posteriormente se utilizó como referencia para posicionar los semilandmarks (Fig. 2B). Dichas imágenes se compilaron en un archivo .TPS con el programa tpsUtil versión 1.70 (Rohlf, 2016) para proceder a la digitalización de la configuración de puntos a través del software tpsDig2.32. En cada imagen se colocaron 2 landmarks (PAR-1: ápice laminar y PAR-2: base laminar) y 59 semilandmarks, que corresponden a la intersección de cada línea del peine con el margen de la hoja, abarcando así todo el contorno laminar de manera representativa. Los landmarks se colocaron en sitios homólogos en cada una de las hojas (PAR 1-2) y la configuración de puntos utilizada para aproximar la forma de las hojas constó de 61 landmarks y semilandmarks.



**Figura 2.** Variables morfométricas tomadas de las hojas de *Guatteria amplifolia*. **A)** Distancias; M1, Longitud de la lámina; M2, región más ancha de la lámina; M3, distancia de la base a la región más ancha; M4, longitud del pecíolo; A5, ángulo del ápice; A6, ángulo de la base. **B)** Configuración de landmarks y semilandmarks PAR-1: Ápice laminar y PAR-2: Base laminar; puntos 3 al 61 son los semilandmarks



### ***Descripción y análisis de la arquitectura foliar***

Para la observación de la arquitectura foliar se tomaron muestras de hojas disponibles en sobres de ejemplares depositados en las colecciones MEXU y FCME, procurando representar el mayor número de sitios de colecta posible (Anexo 4). Se sometieron a tratamiento de aclarado – tinción de tejidos con hidróxido de sodio, hipoclorito de sodio/tren de deshidratación con alcoholes/safranina “O” para eliminar los pigmentos y facilitar la observación de patrones de venación (Anexo 2). Las muestras procesadas se observaron al microscopio estereoscópico y se fotografiaron para realizar observaciones más finas, así como para realizar mediciones de ángulos y disposición de venas.

Las fotografías del presente trabajo fueron tomadas de dos formas: las imágenes generales de las láminas se obtuvieron con una cámara semireflex Sony Cyber-shot DSC-HX300; las fotografías de los acercamientos para observar el patrón de venación fueron tomadas con un microscopio estereoscópico marca Zeiss, en el laboratorio de microscopía y fotografía de la biodiversidad (II) del Instituto de Biología de la UNAM, a cargo de la Bióloga Susana Guzmán Gómez.

Los caracteres morfológicos foliares observados fueron seleccionados y descritos con base en la terminología de Ellis *et al.* (2009). Se elaboró una matriz con los caracteres observados y a partir de éstos se construyó la descripción foliar (Anexo 1).

### ***Pruebas estadísticas***

#### **Morfometría de distancias**

Para conocer de qué manera se distribuye la muestra analizada de *Guatteria amplifolia* de acuerdo con las medidas lineales (Tabla 2) se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA por sus siglas en inglés) el cual se representa a través de una gráfica biplot que muestra tanto a los puntos, que representan a las hojas como a las variables y su aportación relativa en la variación. Los datos fueron estandarizados mediante el uso del logaritmo base 10, debido a las diferentes unidades empleadas en este análisis.

Para conocer si las variables lineales (dependientes) responden diferencialmente a las variables ambientales (independientes), se realizaron pruebas de Kruskal-Wallis, debido a que no se contó con el mismo número de réplicas para cada categoría de las diferentes variables. El análisis de Kruskal-Wallis es una prueba para datos no paramétricos que permite contrastar más de dos varianzas que puedan o no ser iguales. Este análisis utiliza las medianas de las diferentes muestras,

por lo que es adecuado para este estudio ya que no necesita establecer supuestos como normalidad, tamaño de la muestra y homocedasticidad, sobre las poblaciones originales, además de que permite trabajar con datos ordinales. Por ello, es una alternativa considerable a la aplicación de una ANOVA. Los análisis estadísticos se corrieron en el software Past Versión 3.0.

### **Morfometría geométrica**

De las 329 fotografías tomadas, se eliminaron aquellas que no tuvieran información sobre alguna de las variables ambientales y a partir de la matriz de 318 configuraciones con 61 puntos (2 landmarks y 59 semilandmarks), se realizó un análisis generalizado de Procrustes, que elimina la información ajena a la forma, es decir, la variación dada por diferencias en escala, posición y orientación de las hojas al tomar las fotografías; esto se hizo en el software CoordGen8 de la familia IMP. Los 59 semilandmarks utilizados para describir la forma del contorno de las hojas, se procesaron con el software SemiLand. Con este paso se ajustan para que dichos puntos varíen en una sola dirección y para que los programas posteriores distingan entre landmarks y semilandmarks. Como resultado de la superposición y el alineamiento de semimarcas, se obtuvo la matriz con las variables de forma llamadas partial warps= PWs y el tamaño centroide (centroide size= CS) que es un estimador del tamaño total de los ejemplares analizados; con estas variables se realizaron los estadísticos abajo mencionados, así como las gradillas de deformación en cada morfoespacio para mostrar de manera gráfica las regiones con mayor cambio de forma en la hoja. Cabe destacar que los PWs son valores transformados, provenientes de la superposición Procrustes, que otorgan una base ortogonal de la forma. Es una forma de generar variables numéricas susceptibles de ser utilizadas en las pruebas estadísticas (Rohlf *et al.*, 1996).

Para averiguar si el tamaño laminar está relacionado con la forma, se realizó un análisis de regresión en el programa Regress8Win (IMP; Sheets, 2006), utilizando el tamaño centroide como variable independiente. Posteriormente se realizó un análisis de componentes principales (PCA) en PCAGen8 (IMP; Sheets, 2006) para conocer el ordenamiento de los datos de la forma laminar de toda la muestra (De Luna, 2015). A través del mismo software, se obtuvieron las gradillas de deformación en el espacio de los dos primeros componentes principales para observar las regiones de la hoja con mayor variación.

Para evaluar las diferencias de la forma entre las diferentes categorías de cada variable ambiental, se realizó un análisis de variables canónicas (CVA) en CVAGen8 (IMP; Sheets, 2006). El CVA es un método de ordenamiento que consiste en encontrar los ejes (combinación de variables, en este caso se refiere al conjunto de partial warps) que permiten discriminar entre dos o más grupos asignados a priori. Cada grupo o categoría es considerado como una sola entidad, con

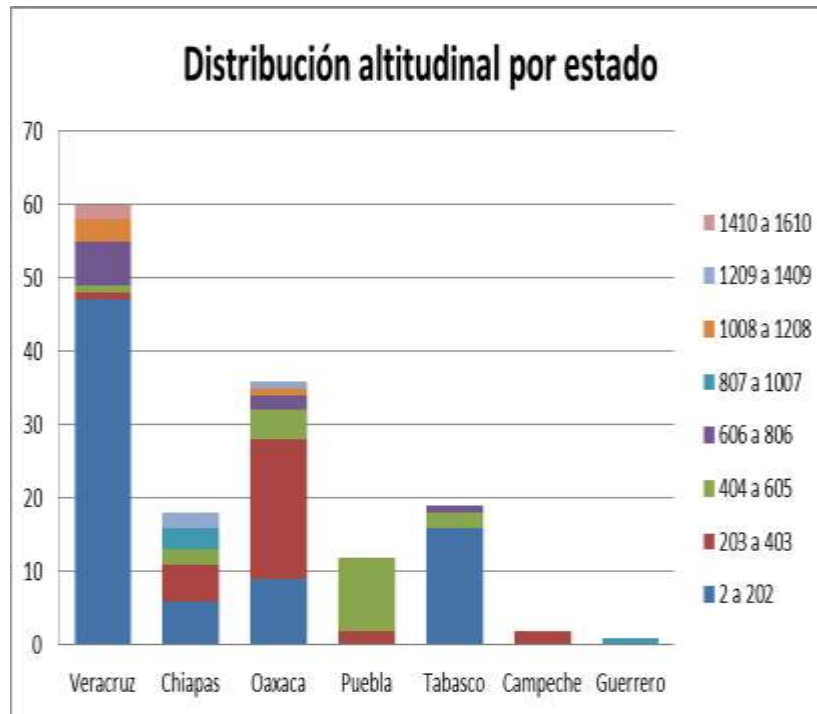
una media y una varianza, que posteriormente serán comparados por un Análisis Multivariante de la Varianza (MANOVA), que permite determinar si los grupos puestos a prueba difieren significativamente entre sí (nivel de significancia  $\alpha=0.05$ ). Finalmente se calculó el índice de Jackknife, un procedimiento de validación de grupos *a posteriori* a través de un porcentaje de asignación. Se obtuvieron las gradillas de deformación en el espacio formado por los dos primeros ejes canónicos.

## **Resultados**

### ***Mapa de distribución***

*Guatteria amplifolia* se distribuye en siete estados al sur de la República Mexicana: Campeche, Chiapas, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Tabasco y Veracruz (Figura 5). Aunque se ha reportado en un rango de altitud entre los 2 a 1600 m s.n.m. (Figura 6), la mayoría de los ejemplares analizados se recolectaron en altitudes que van de 2 a 200 m s.n.m. (Figura 3). Se encuentran principalmente en bosque tropical perennifolio y en menor medida en bosque tropical subcaducifolio (Figura 4).

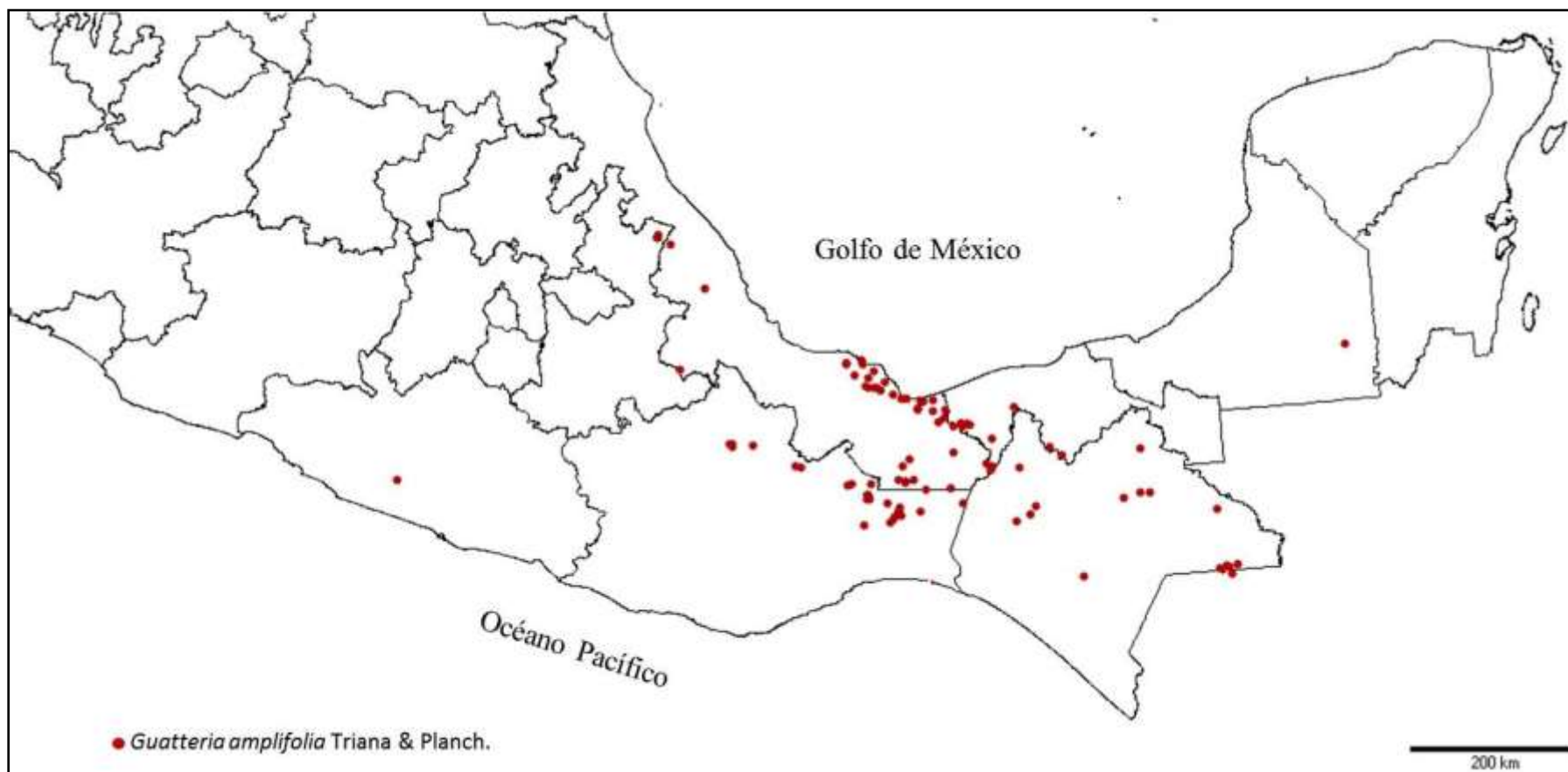
Respecto a las variables ambientales, *G. amplifolia* se encontró en 12 tipos de climas, 12 tipos de suelos, 3 divisiones florísticas, 6 categorías de precipitación media anual, 4 categorías de humedad, 6 categorías de temperatura media anual y 7 provincias biogeográficas (ANEXO 4). Cada una de esas variables fue codificada en una base de datos a partir de las cuales se realizaron los diferentes análisis.



**Figura 3.** Distribución altitudinal de *Guatteria amplifolia* en México (el eje *x* corresponde a cada estado y el eje *y* a la frecuencia de ejemplares encontrados por cada clase altitudinal). Los colores corresponden a las diferentes categorías altitudinales, medidas en metros sobre el nivel del mar.



**Figura 4.** Tipos de vegetación que habita *Guatteria amplifolia*. Las abreviaturas corresponden a: Acahual; BTP: Bosque tropical perennifolio; BTSubcaducifolio: Bosque tropical subcaducifolio; BTC: Bosque tropical caducifolio; Galería: Bosque de Galería; B. *Quercus*: Bosque de *Quercus*; B. Coníferas: Bosque de coníferas; B. Mesófilo: Bosque mesófilo de montaña. Las barras de colores corresponden a los intervalos altitudinales en metros sobre el nivel del mar. Los diferentes colores corresponden a cada categoría altitudinal medida en metros sobre el nivel del mar.



**Figura 5.** Mapa de distribución geográfica de *Guatteria amplifolia* en México.

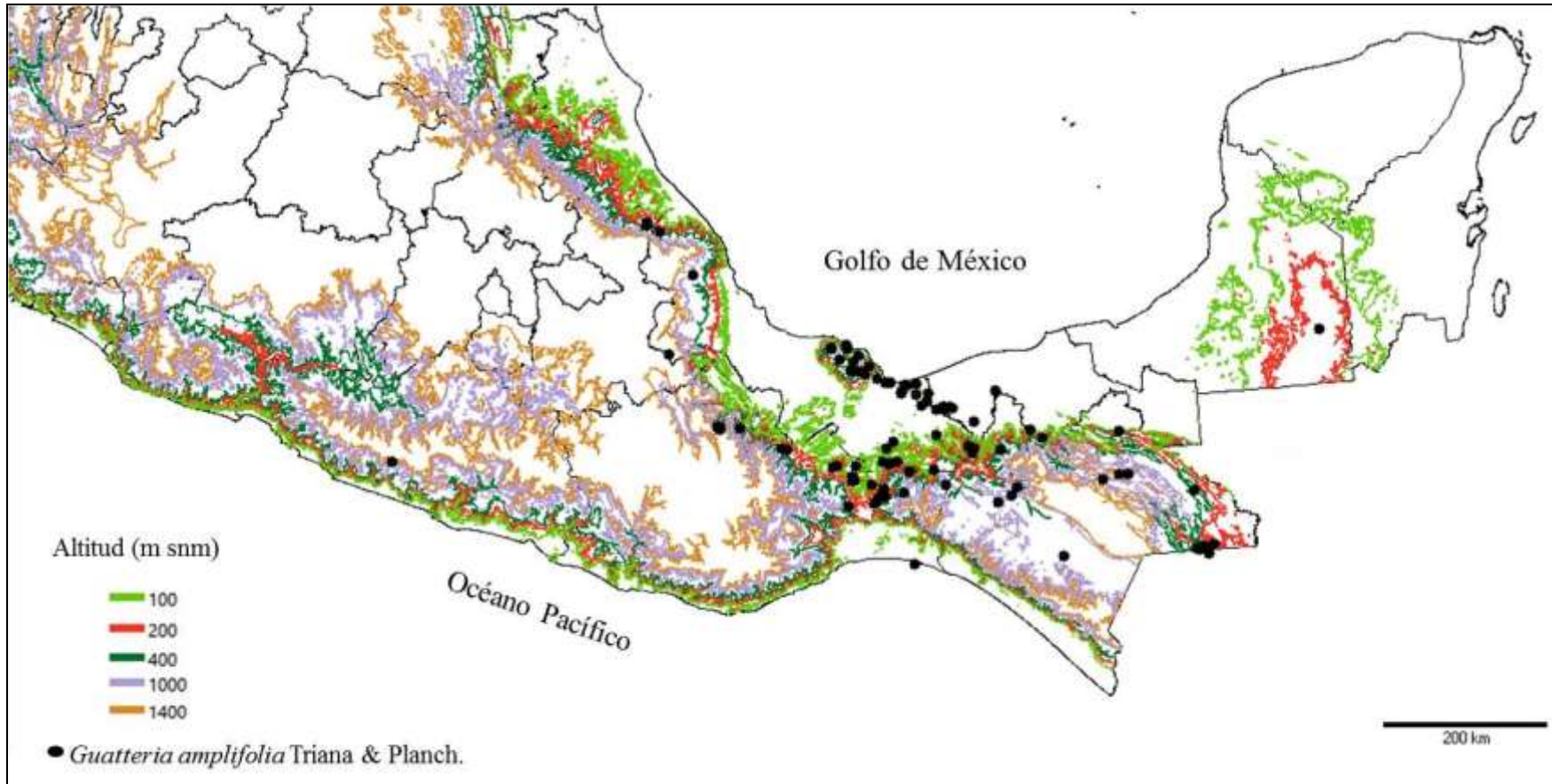


Figura 6. Mapa de distribución altitudinal de *Guatteria amplifolia* en México.

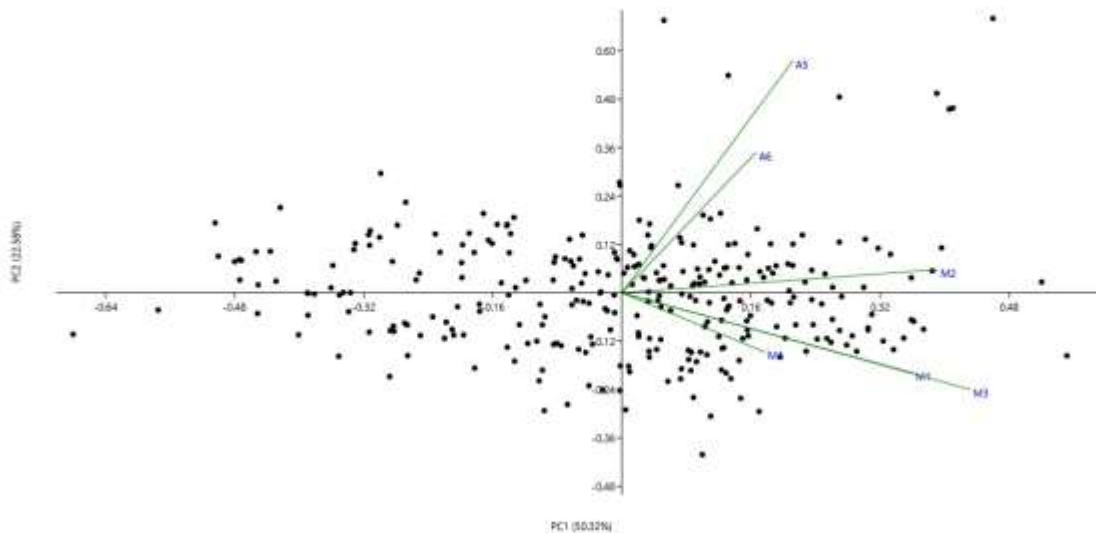
El estado mejor representado es Veracruz con 66 ejemplares, mientras que Guerrero sólo presenta una colecta. Puebla y Campeche constituyen nuevos registros para la distribución de la especie.

### ***Análisis morfométrico***

#### *Morfometría de distancias*

Los primeros dos componentes del PCA explican el 72.9% de la varianza acumulada en los datos, (Figura 7). De acuerdo con el mapa biplot, las tres medidas que más aportan a la variación de la muestra son los ángulos del ápice, el ancho y la distancia de la parte más ancha a la base (A5 M2 y M3 respectivamente, en la figura 7). En general, la muestra se distribuye homogéneamente en los cuatro cuadrantes del PCA.

Los análisis de Kruskal-Wallis mostraron diferencias significativas en las distancias medidas para todas las variables ambientales (10 tipos de climas, 12 tipos de suelos, 3 divisiones florísticas, 6 categorías de precipitación media anual, 4 categorías de humedad, 6 intervalos de temperatura media anual y 7 provincias biogeográficas) (ANEXOS 3 y 5). Excepto por la longitud del pecíolo que no difirió significativamente entre provincias biogeográficas y rangos de humedad; y el ángulo del ápice para los rangos de humedad y tipos de suelo.



**Figura 7.** Análisis de Componentes principales en un mapa biplot. El tamaño de las líneas verdes indica la importancia relativa de cada medida respecto al mapa, mientras que el ángulo representa la contribución de esa variable para formación de cada eje. Los primeros dos componentes explican el 72.9% de la varianza dada.

Respecto al ángulo del ápice, las hojas que se encuentran en el clima templado húmedo con lluvias todo el año son significativamente más abiertos que en aquellas que se encuentran en sitios semicálidos húmedos. El ángulo de la base de las láminas de las hojas de climas semicálidos húmedos es significativamente más cerrado de aquellas en climas cálidos húmedos con lluvias todo el año.

La longitud, ancho y distancia de la base a la zona más ancha mostraron diferencias significativas entre hojas de ambientes subhúmedos (w1) y el resto de las categorías; donde la primera tiene dimensiones más pequeñas respecto al resto. El ángulo de la base de las hojas de ambientes subhúmedos (w2) son significativamente más abiertos respecto al de los ambientes húmedos (f y m).

La longitud, ancho y la distancia de la base a la zona más ancha, son estadísticamente diferentes entre el intervalo de temperatura media que va de 22 a 24°C respecto a los intervalos de 14 a 16°C y de 20 a 22°C, las cuales son más grandes respecto a la primera. El ángulo del ápice es significativamente diferente entre las hojas del rango que va de 20 a 22°C con las de 14 a 16°C y 24 a 26°C, ya que en la primera categoría los ángulos son más cerrados respecto a las otras dos. El ángulo de la base es diferente entre las hojas que va de 24 a 26°C y el conjunto que va de 18 a 24°C, donde la primera categoría presenta ángulos más abiertos que las otras dos.

Para el tipo de vegetación, el análisis arrojó diferencias significativas en términos de la longitud, ancho, distancia de la base a la zona más ancha y longitud del pecíolo, donde las hojas del bosque tropical subcaducifolio son significativamente más pequeñas que las localizadas en bosque tropical perennifolio, bosque de galería, bosque de *Quercus* y bosque mesófilo de montaña. Cabe mencionar que estos últimos cuatro tipos de vegetación no son estadísticamente diferentes entre sí.

Con excepción del ángulo de la base, en el análisis de la división florística, el resto de las medidas fueron significativamente diferentes entre las hojas de la región Mesoamericana de montaña tanto con la región Caribeña como con la región Xerofítica, donde la primera categoría presenta hojas más grandes respecto a las otras dos. Paralelamente a la variable anterior, las provincias biogeográficas arrojaron que, el largo, ancho y la distancia de la base a la zona más ancha presentan diferencias significativas entre las hojas de la Península de Yucatán y el resto de categorías; donde las primeras son más pequeñas en comparación con las demás. El ángulo de la base de las hojas recolectadas en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán fue significativamente más cerrado respecto al de la Costa del Golfo de México y de la Costa Pacífica. Al mismo tiempo, las de la Costa del Golfo de México son estadísticamente diferentes de la Costa Pacífica. El patrón que es



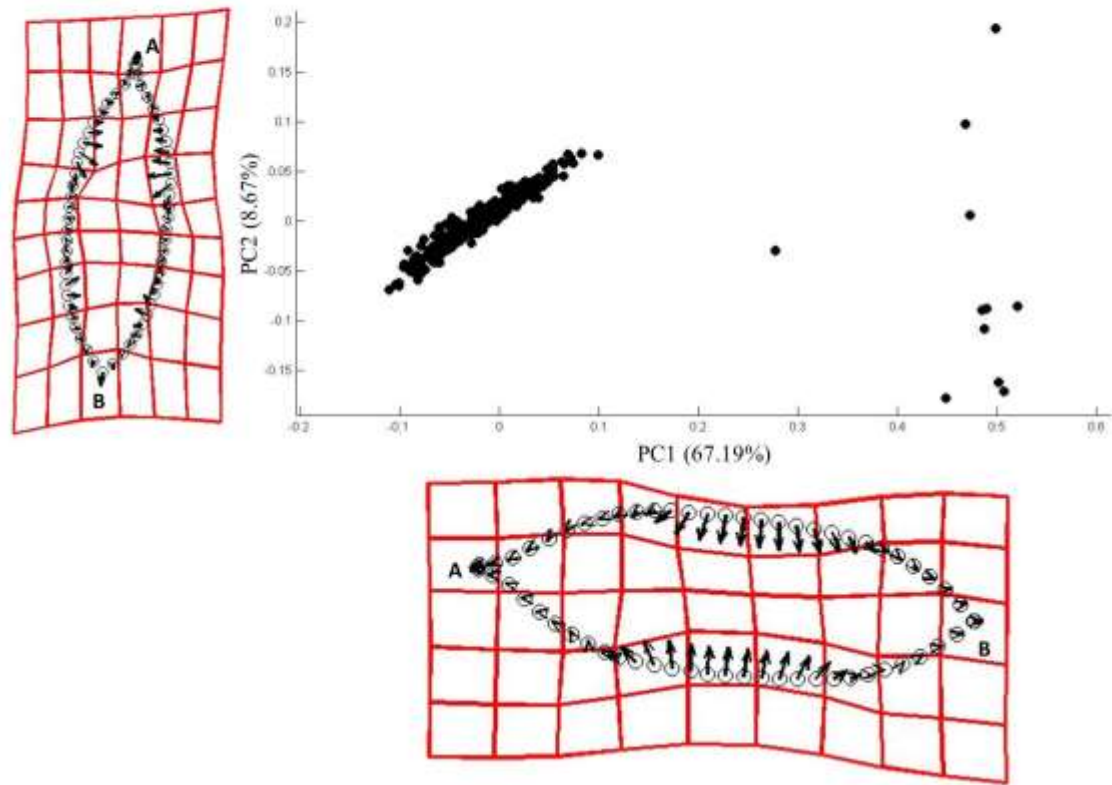
posible distinguir, separa a las hojas entre las dos zonas con dirección este a oeste del territorio, así como a una pequeña región central. La distancia de la base a la zona más ancha también es diferente entre hojas de la región Costa del Golfo de México, que son más pequeñas, en comparación con aquellas de las Serranías meridionales.

En términos de la longitud y la distancia de la base a la zona más ancha, las hojas en suelos con rendzinas son estadísticamente más pequeñas respecto a todos los tipos de suelo excepto los andosoles, vertisoles y regosoles. La longitud del pecíolo de las hojas pertenecientes a la categoría de andosoles es estadísticamente más pequeña respecto al de los acrisoles. El ángulo de la base presentó diferencias significativas entre las hojas presentes en los gleysoles respecto a las acrisoles y cambisoles.

#### *Morfometría geométrica*

El análisis de regresión no fue significativo ( $p=0.70$ ;  $F$  de Goodall= $0.053$ ), por lo que no se encontró un efecto importante de la alometría en la forma de la lámina foliar y es factible analizar tanto el tamaño como la forma de manera independiente. Los dos primeros componentes del PCA explicaron el 73.86% de la variación morfológica dentro de la muestra analizada (PC1= 67.19%; PC2= 8.67%). En la gráfica se observan dos agrupaciones completamente separadas sin embargo, ninguna de las variables explica la separación de dichos grupos. Las gradillas de deformación del segundo componente principal, muestra que la mayor variación está principalmente en el ápice de la lámina (Figura 8).

## Análisis de Componentes Principales



**Figura 8.** Análisis de Componentes Principales de la lámina de *Guatteria amplifolia*. Además, se muestran las tendencias de deformación para cada componente principal. Las gradillas de deformación presentan dos letras: A= ápice y B= base.

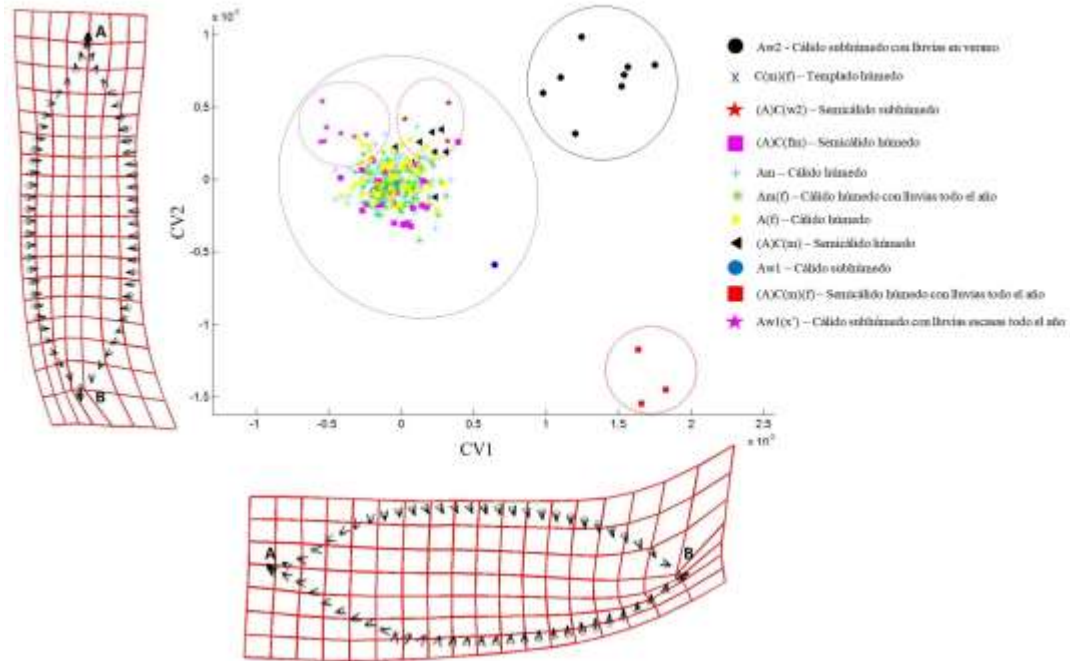
El CVA mostró al menos dos grupos diferentes para todas las variables ambientales. En la tabla 3 se muestran los valores obtenidos del análisis MANOVA para las variables canónicas de cada CVA. Esto proporciona una idea del número de grupos *a priori* en los que la forma es significativamente diferente, ya que el número de variables canónicas significativas más uno, da como resultado el número total de grupos reconocidos por el análisis (Tabla 3). De las nueve variables tratadas, todas arrojaron diferencias significativas en al menos una variable canónica; sin embargo, en los índices de Jackknife, sólo siete variables (división florística, tipo de suelo, humedad, precipitación, temperatura media anual, provincia biogeográfica y altitud) mostraron un porcentaje mayor al 20% de configuraciones correcta y significativamente agrupadas *a priori*. No se elaboraron reclasificaciones de las hojas ya que uno de los objetivos fue analizar cómo es que la forma laminar se comportaba a lo largo de un gradiente geográfico y ambiental. Al observar el arreglo espacial de cada CVA, fue posible determinar si las categorías de cada variable se separaban o bien, de qué manera se aglomeraron, determinando así, el comportamiento de la plasticidad fenotípica de la hoja.

**Tabla 3.** Valores de CVA y MANOVA para cada variable ambiental analizada.

Variable ambiental (número de grupos)	Variables Canónicas significativas	Lambda MANOVA	$\chi^2$	Grados de Libertad	P
<b>Clima (6)</b>	CV1	0.0004	1956.3438	1180	>0.00
	CV 2	0.0021	1550.4887	1053	>0.00
	CV3	0.0068	1250.3134	928	>0.00
	CV4	0.0202	977.6319	805	>0.00
	CV5	0.0437	784.2043	684	0.004
<b>División florística (2)</b>	CV1	0.2068	401.0833	236	>0.00
<b>Tipo de suelo (6)</b>	CV1	0.0053	1314.6502	826	>0.00
	CV2	0.0214	964.5674	702	>0.00
	CV3	0.0485	759.4511	580	>0.00
	CV4	0.1045	566.9819	460	>0.00
	CV5	0.2046	398.2552	342	0.01
<b>Humedad (3)</b>	CV1	0.1137	545.7449	354	>0.00
	CV2	0.3176	287.8815	234	0.009
<b>Precipitación media anual (2)</b>	CV1	0.0913	606.6853	472	>0.00
<b>Provincia Biogeográfica (3)</b>	CV1	0.0148	1063.8721	708	>0.00
	CV2	0.0479	767.0751	585	>0.00
<b>Tipo de Vegetación (2)</b>	CV1	0.0087	1113.4400	944	>0.00
<b>Temperatura media anual (2)</b>	CV1	0.0694	666.8145	590	0.015
<b>Altitud (3)</b>	CV1	0.0323	873.3576	708	>0.00
	CV2	0.0712	672.6188	585	0.006

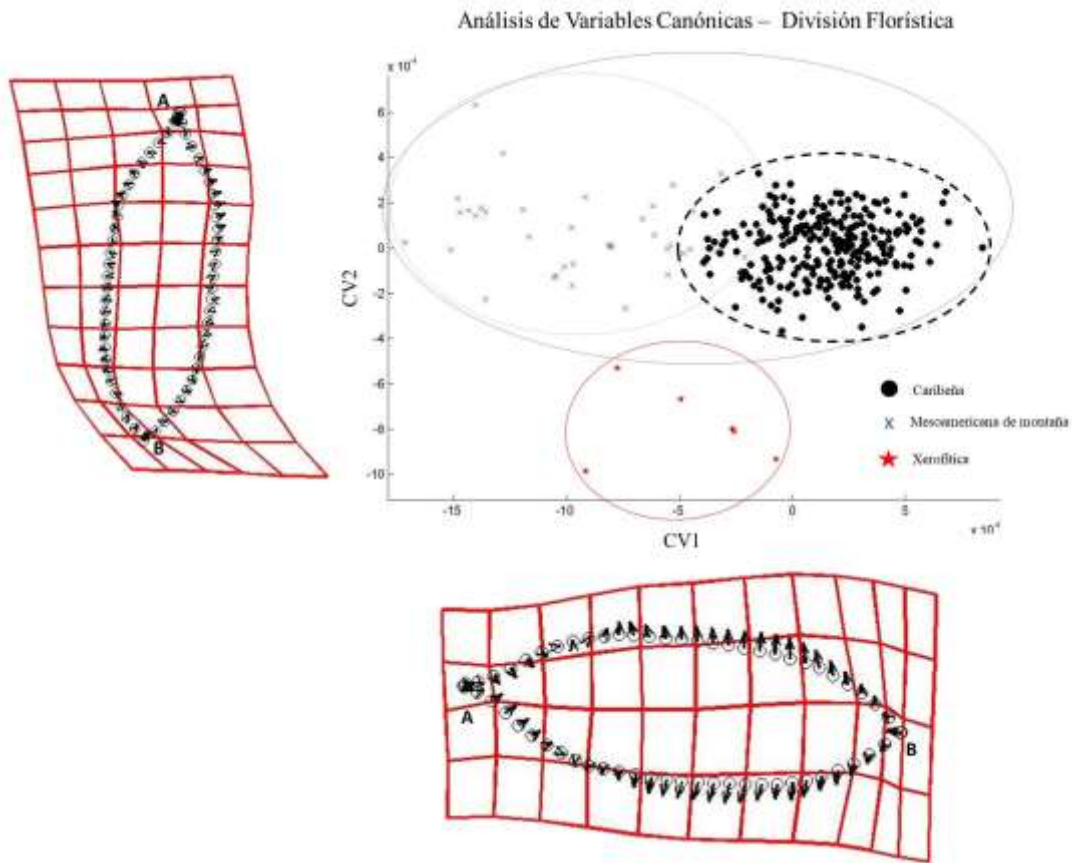
En el espacio definido por los ejes canónicos 1 y 2 para la variable clima, se distinguen tres grupos, el clima cálido subhúmedo con lluvias en verano, semicálido húmedo con lluvias todo el año y un grupo con el resto de las categorías (Figura 9). La prueba de asignación de grupos con remuestreo por Jackknife, mostró que el 19.8% de las agrupaciones correctas y significativas. Al ser un porcentaje bajo, implica que no existe una completa discriminación con los grupos establecidos *a priori*. Tal dato explica que la gran mayoría de las configuraciones se encuentren traslapadas en una misma nube (encerrado en círculo negro).

Análisis de Variables Canónicas – Clima



**Figura 9.** CVA del clima. Se muestran las gradillas de deformación de la lámina en las que se observa cómo varía respecto a las variables canónicas 1 y 2.

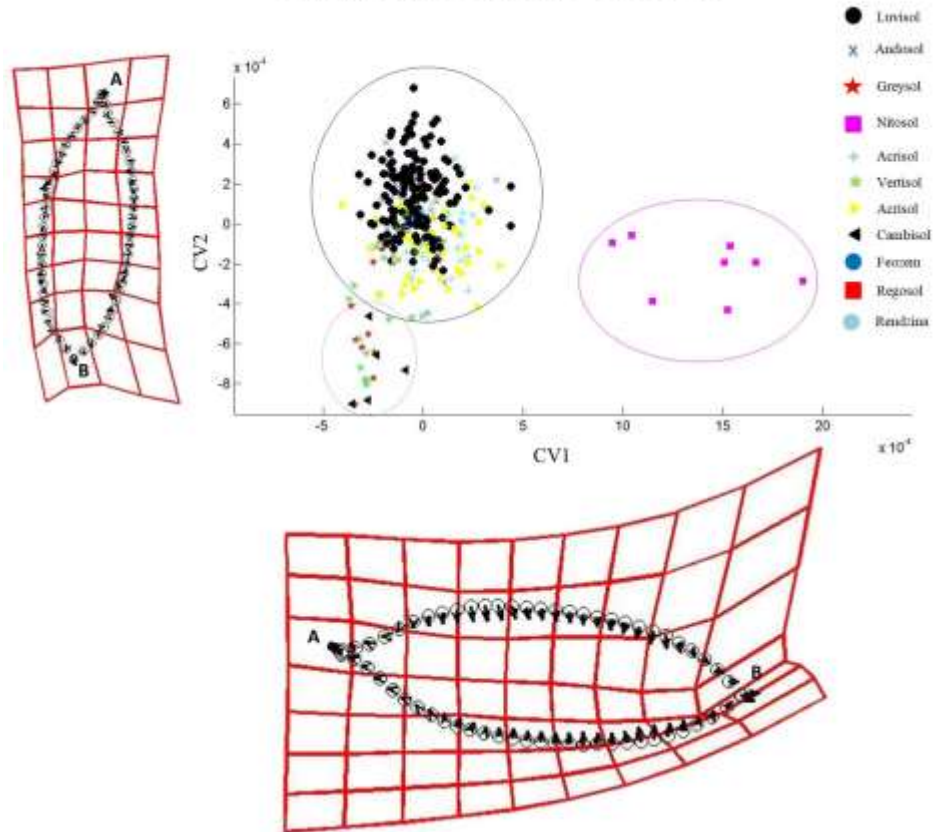
El gráfico de los dos primeros ejes canónicos para el análisis la variable división florística muestra la separación parcial de tres grupos principales, correspondientes a cada una de las categorías analizadas. La prueba de Jackknife indicó que el 63.1% de las asignaciones *a priori* fueron correctas y significativas. Las gradillas de deformación muestran que la variación se concentra en el ápice laminar volviéndose más acuminada para el caso de la variable canónica 2 (Figura 10).



**Figura 10.** CVA de la División Florística. Muestra las gradillas de deformación de la lámina para las variables canónicas 1 y 2.

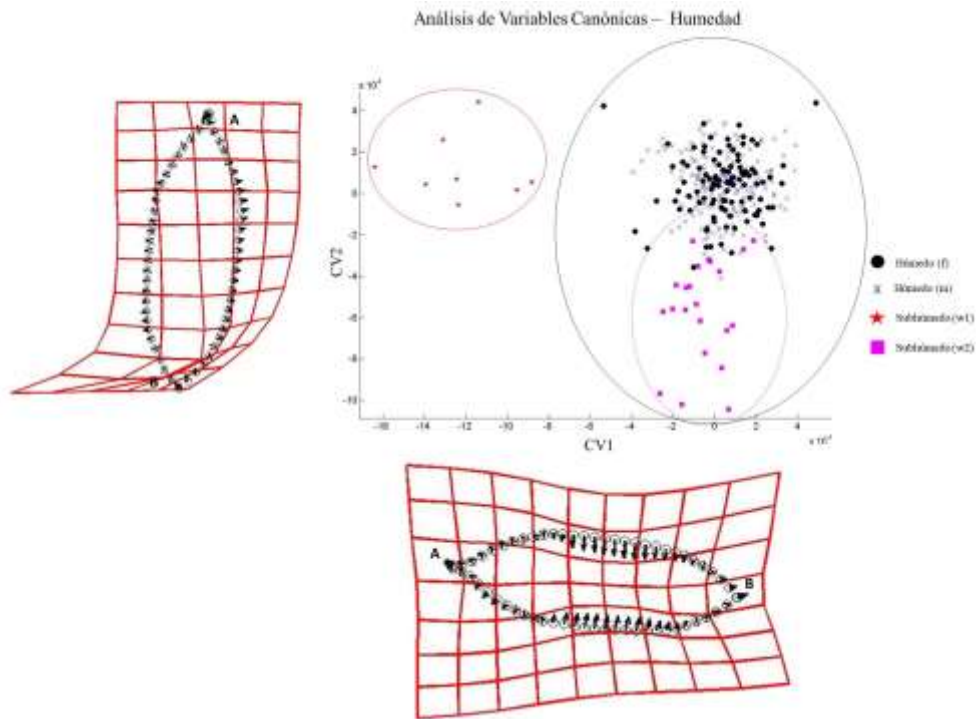
Para el caso del CVA de tipo de suelo, el plano de ordenación definido por los ejes canónicos 1 y 2, muestra tres agrupaciones, de las cuales sólo las hojas del grupo de los nitosoles se separan completamente. Los gleysoles, cambisoles y vertisoles se separan parcialmente del resto de las agrupaciones. El índice de Jackknife indicó que el 27.6% de las asignaciones a priori son correctas y significativas. De acuerdo con las gradillas de deformación, la lámina foliar presenta mayor variación en la base, volviéndose más obtusos, y en menor medida en el ápice volviéndose acuminado (Figura 11).

### Análisis de Variables Canónicas – Tipo de suelo



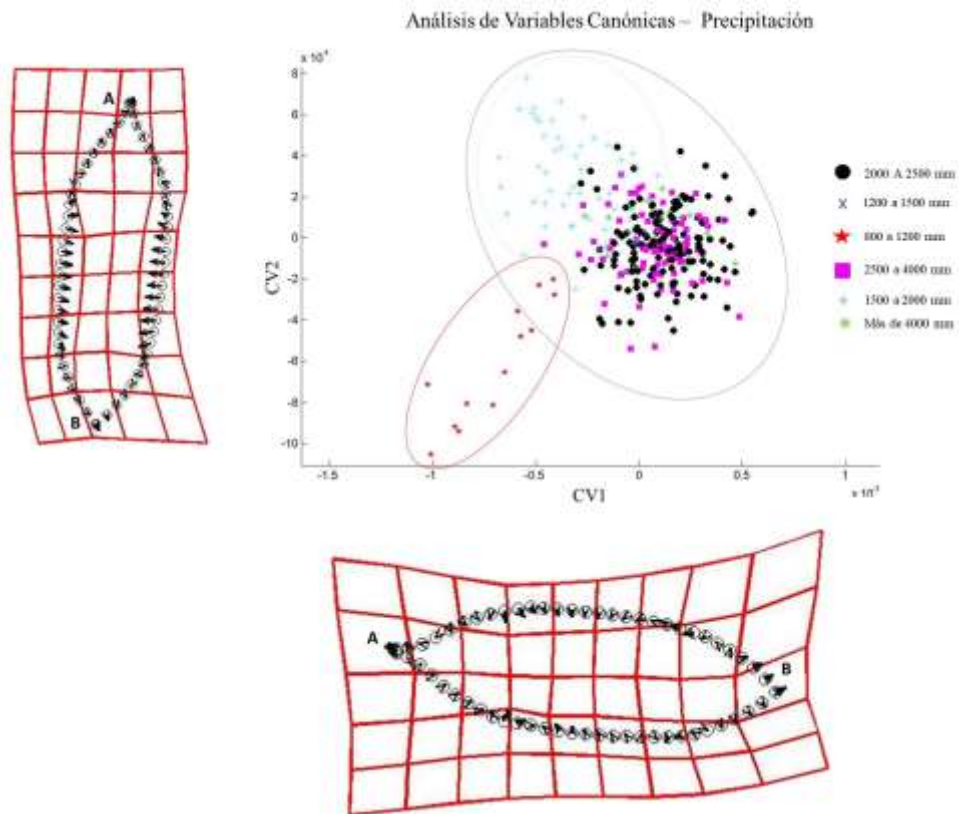
**Figura 11.** CVA del Tipo de Suelo. Se presentan las gradillas de deformación para ambas variables canónicas.

Respecto a la variable de humedad, el plano de ordenación muestra 2 grupos, de los cuales, el perteneciente al tipo subhúmedo (w1) se separa completamente del resto de las categorías. Para el caso de la categoría subhúmedo (w2), aunque no hay una separación completa del resto de la muestra, sí se concentra en una sola región de la gráfica. El análisis de Jackknife arrojó que el 33.6% de las asignaciones fue correcta y significativa. La gradilla de deformación de la variable canónica 1 muestra mayor variación en el ápice y base de la lámina foliar (Figura 12).



**Figura 12.** CVA de Humedad. La gradilla de deformación muestra que la variación de la hoja se concentra en la base de la lámina.

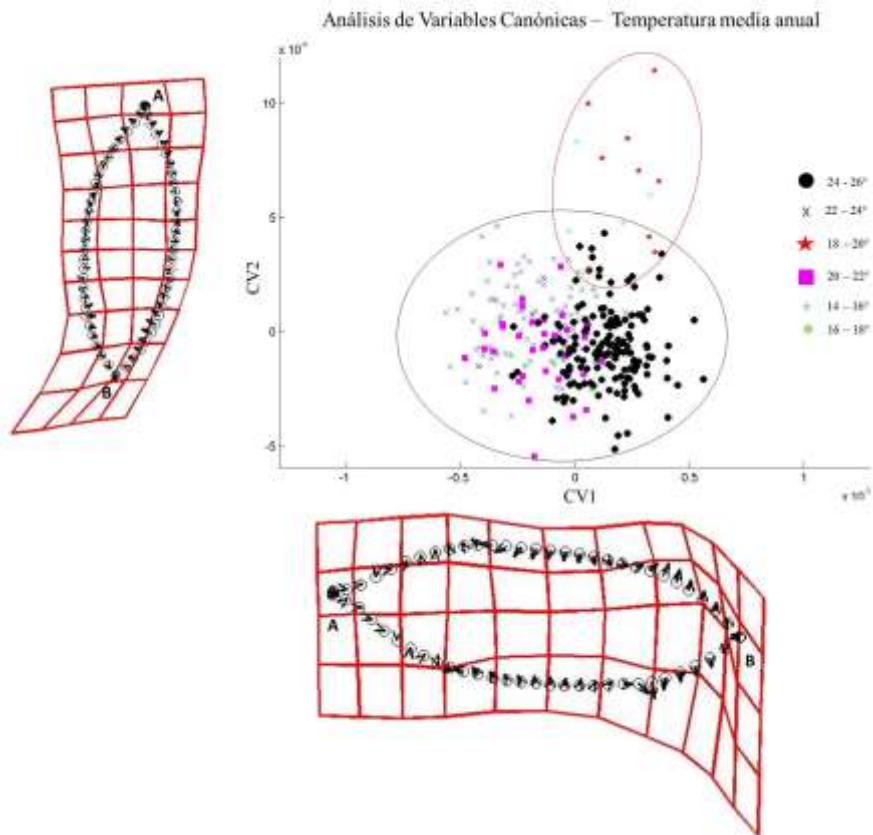
En cuanto a la precipitación, el CVA mostró dos agrupaciones, donde el intervalo de 800 a 1200 mm se separa casi por completo del resto de las categorías. El índice de Jackknife arrojó que el 28.8% de las asignaciones fueron correctas y significativas. De acuerdo con las gradillas de deformación de ambas variables canónicas, el ápice y la base son las zonas más cambiantes de la lámina foliar respecto a la variable canónica 1 (Figura 13).



**Figura 13.** CVA de Precipitación con las gradillas de deformación de la lámina foliar para cada variable canónica.

El análisis de la temperatura media anual mostró la separación parcial de dos agrupaciones de rangos de temperatura diferentes: las de 14 a 16° C junto con las de 18 a 20° C encerradas en el círculo rojo y las categorías que se encuentran dentro del círculo gris (Figura 14). El análisis de Jackknife arrojó que el 25.2% de las hojas agrupadas *a priori* fueron correctas y significativas. De acuerdo con las gradillas de deformación, la lámina presenta mayor variación en la zona de la base y el ápice, donde en general, se vuelven más abiertos y rectos.

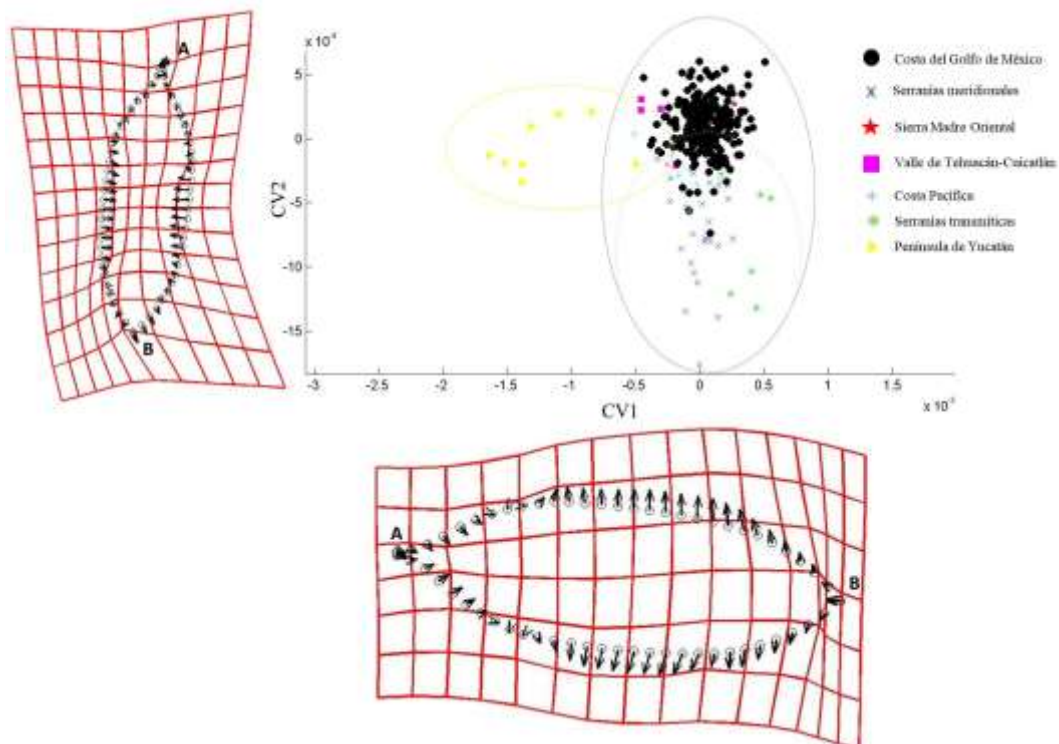




**Figura 14.** CVA de temperatura media anual con las gradillas de deformación de la lámina foliar para cada variable canónica.

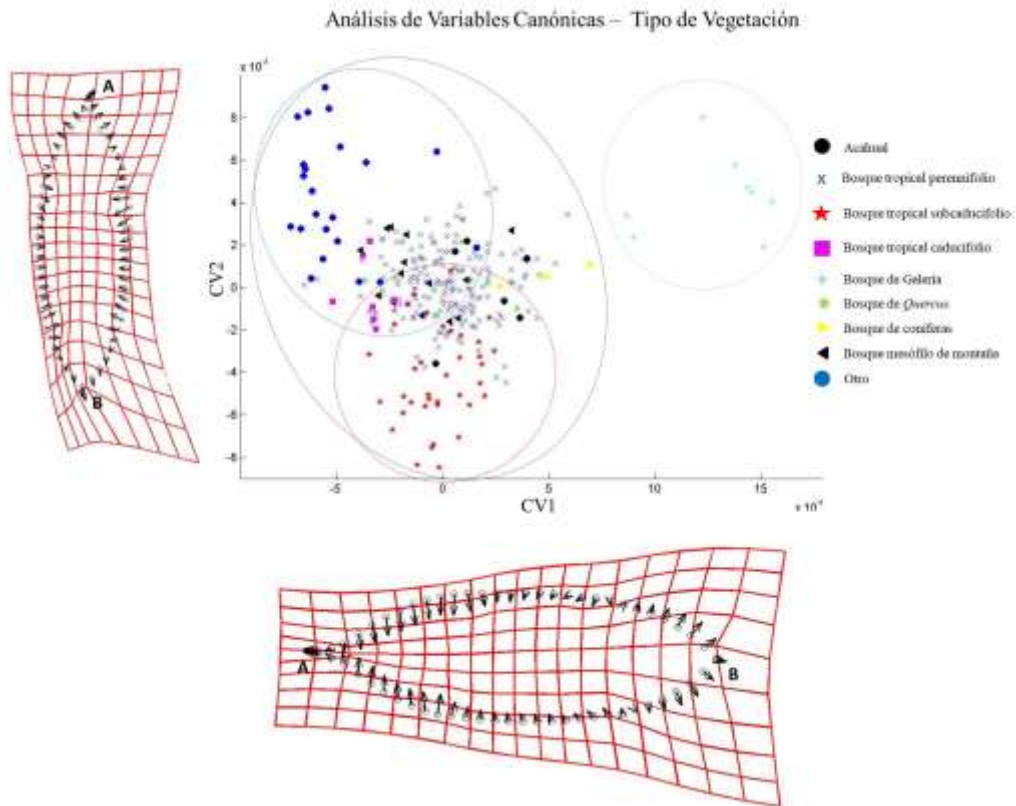
El CVA correspondiente a provincias biogeográficas mostró la separación discreta del grupo de hojas pertenecientes a la región de la Península de Yucatán. El análisis de Jackknife arrojó que de las hojas agrupadas a priori, el 22.3% fueron correctas y significativas. De acuerdo con las gradillas de deformación la mayor variación se encuentra en la región media que se va ensanchando, el ápice que se va haciendo más recto y la base de la lámina que se ensancha y se redondea (Figura 15).

### Análisis de Variables Canónicas – Provincia Biogeográfica



**Figura 15.** CVA de Provincias Biogeográficas con las gradillas que muestran la deformación de la lámina foliar, respecto a las variables canónicas 1 y 2.

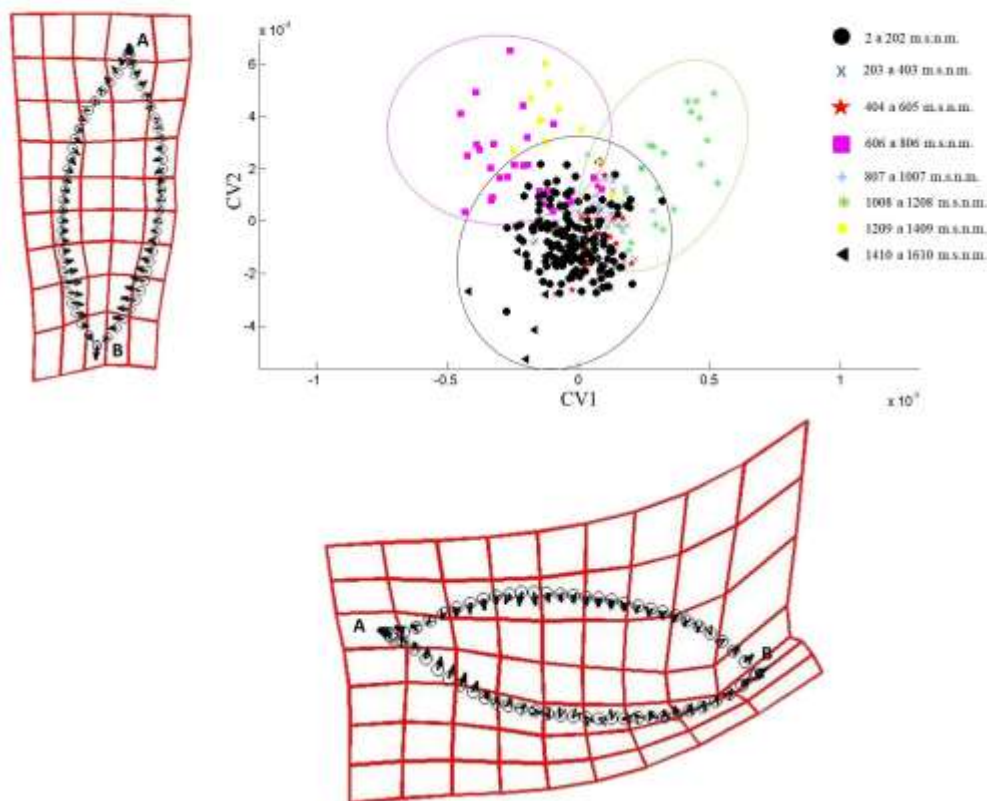
El plano de ordenamiento del CVA para el tipo de vegetación no mostró separaciones completas entre los grupos; sin embargo se observa que algunas categorías se concentran hacia diferentes partes de la nube de datos. Los grupos que mejor se distinguen son el bosque tropical subcaducifolio, el bosque mesófilo con el acahual y aquellas hojas que pertenecen a otro tipo de vegetación no especificado. El índice de Jackknife arrojó que el 13.9% de las asignaciones *a priori* fueron correctas y significativas (Figura 16).



**Figura 16.** CVA de Tipos de vegetación con las gradillas que muestran la deformación de la lámina foliar respecto a las variables canónicas 1 y 2.

Finalmente, para el caso de la altitud, en el CVA se pueden distinguir tres grupos parcialmente separados, de los cuales uno son los intervalos de 606 a 806 m s.n.m. y 1209 a 1409 m s.n.m., el segundo perteneciente al par de intervalos que va de 808 a 1208 m s.n.m. y el tercero al resto de las categorías. El índice de Jackknife arrojó que el 20.7% de las asignaciones son correctas y significativas (Figura 17). Las gradillas de deformación muestran ligeras variaciones en la base de la lámina.

### Análisis de Variables Canónicas – Altitud



**Figura 17.** CVA de Altitud con las gradillas que muestran la deformación de la lámina foliar respecto a las variables canónicas 1 y 2.

### Arquitectura foliar

Las hojas de *Gutteria amplifolia* son simples, con pecíolo pulvinado, acanalado, rugoso o liso; lámina ovada, obovada, elíptica u oblonga (Figura 18m); ápice acuminado con o sin punta de goteo o agudo (Figuras 18b y l-n); base simétrica o asimétrica, cóncava, a veces cuneada (Figuras 18a, d-f, h, i, k-n); glabra o pubescentes a lo largo de la vena media; glándulas a lo largo de la vena media o a veces esparcidas por toda la lámina, margen entero.

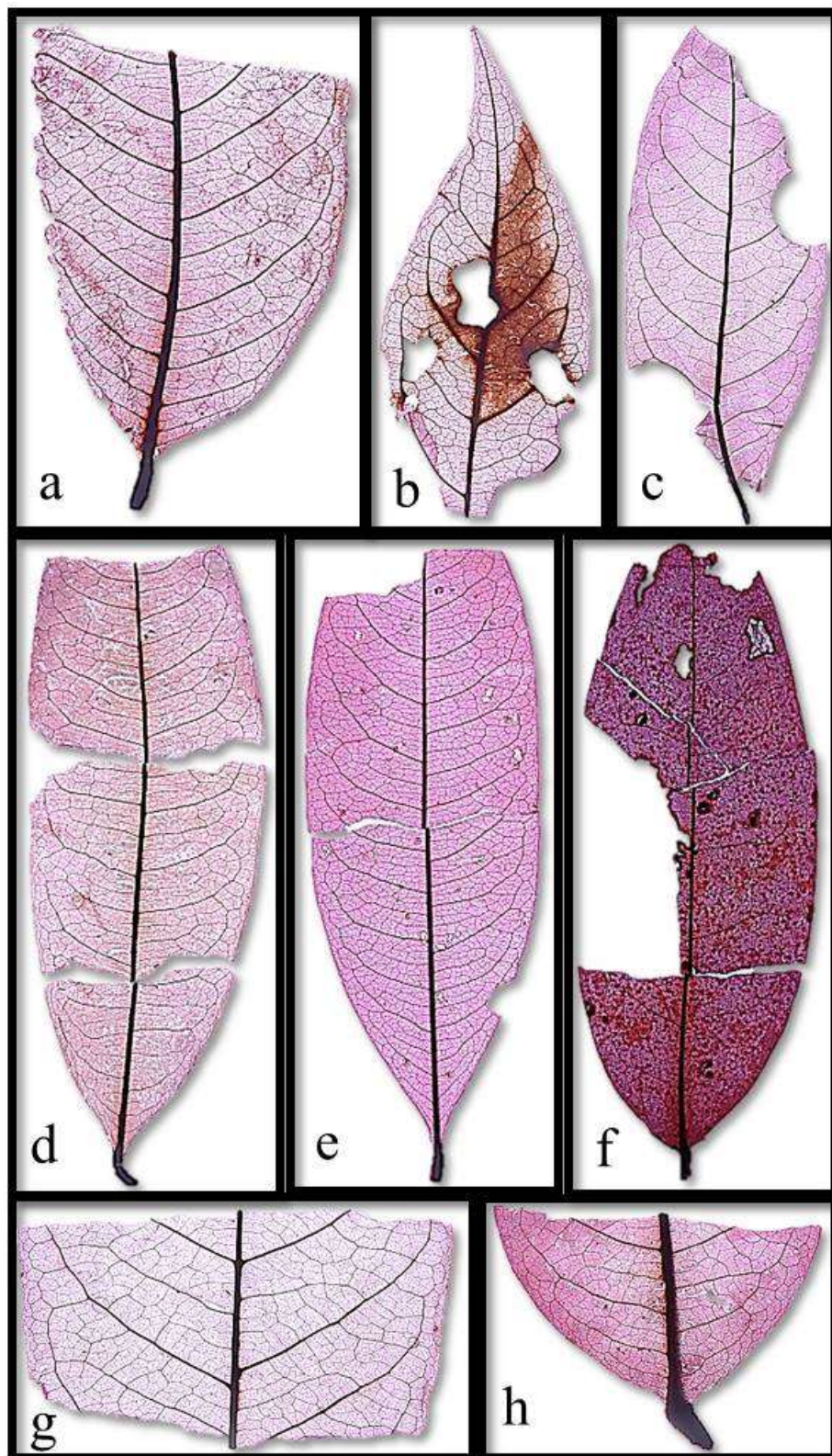
La venación primaria es pinnada, la venación secundaria es principalmente broquidódroma, broquidódroma festonada o eucamptódroma (Figura 18), la inserción de éstas es decurrente o a veces excurrente (en ocasiones pueden encontrarse ambos tipos de inserción en una misma lámina) (Figuras 19 y 20), su espaciamiento es irregular; las venas intersecundarias presentan curso proximal paralelo a las venas secundarias mayores, el curso distal es principalmente perpendicular (a veces paralelo) a las venas secundarias, es posible encontrar desde una hasta 10 venas intersecundarias por lado o bien, estar ausentes; las venas de tercer orden pueden ser percurrentes o

reticuladas; las percurrentes son opuestas o alternas, principalmente con curso sinuoso o recto; las venas terciarias intercostales son reticuladas y pueden llegar a formar un retículo al azar (Figuras 22, 25 y 26); las venas terciarias exteriores forman arcos; las venas de cuarto orden forman un retículo al azar (Figuras 18-20); venas de quinto orden libres o formando areolas moderadamente a bien desarrolladas; últimas venas libres, generalmente formadas por venas de sexto o séptimo orden, ramificándose una sola vez, dicotómicas o dendríticas (Figura 18).

La variabilidad encontrada en las hojas aclaradas radica en los patrones de venación; como es el caso el número de venas intersecundarias, que puede ir desde una por lámina hasta 10 por lado, o bien, estar ausentes. Éstas pueden ser conspicuas y la parte distal, se vuelve perpendicular a la secundaria subyacente. Las venas terciarias intercostales presentan diferentes arreglos; cuando son percurrentes, se observan tanto alternas como opuestas, variando su curso de sinuoso a recto (Figuras 20, 21 y 25). La presencia de areolas pobre o moderadamente desarrolladas es un carácter que varía dentro de la especie y que está dado por las venas de cuarto y quinto orden (Figura 31). Las últimas venas libres están conformadas por las venas de sexto o séptimo orden y llegan a presentar una ramificación, un patrón dicotómico (Figuras 31b-d) o uno dendrítico (Figuras 31a y e). Por otra parte, aunque todas las hojas observadas tienen pecíolos pulvinados, hay ejemplares cuyo engrosamiento comienza antes de terminar la lámina y no a partir de que ésta finalice (Figuras 18d, f y h).

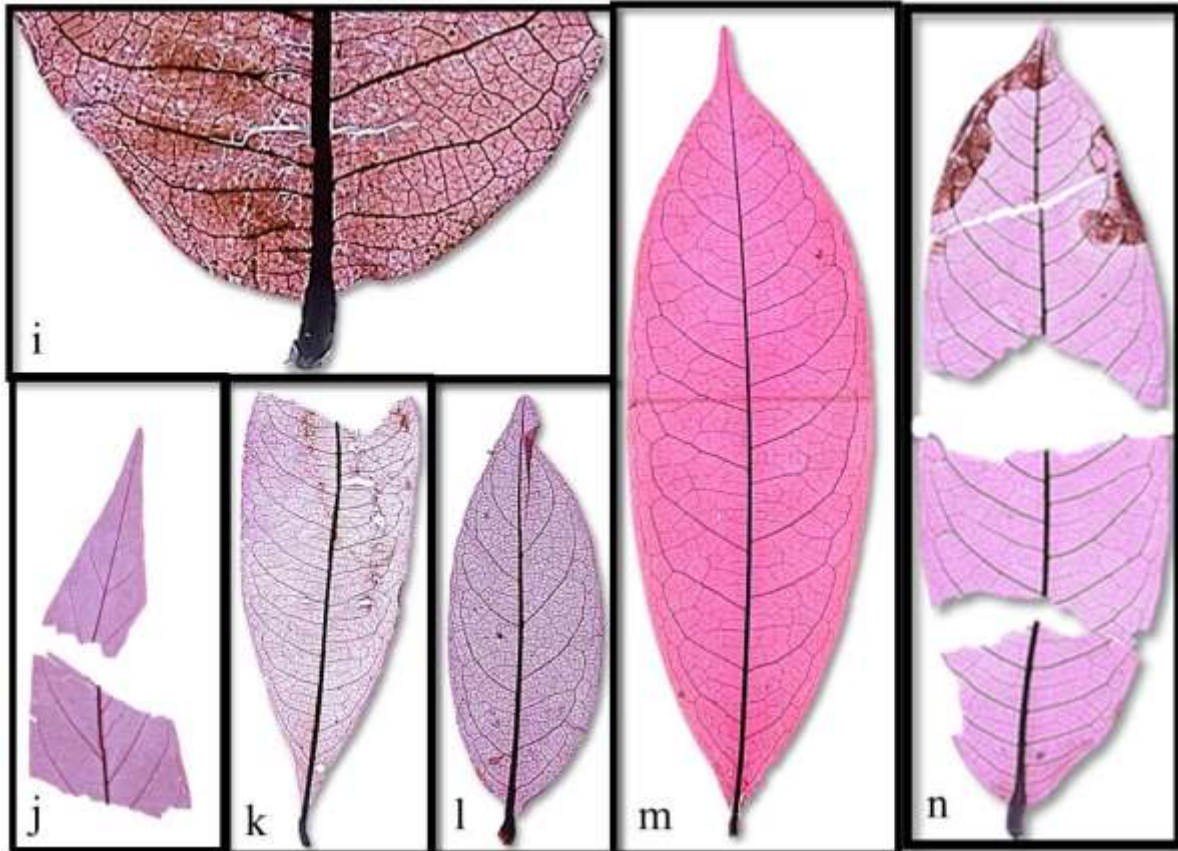
Los caracteres más consistentes en todas las láminas son el tipo de venación pinnada, la venación secundaria broquidódroma y las últimas venas marginales formando arcos (Figura 18).





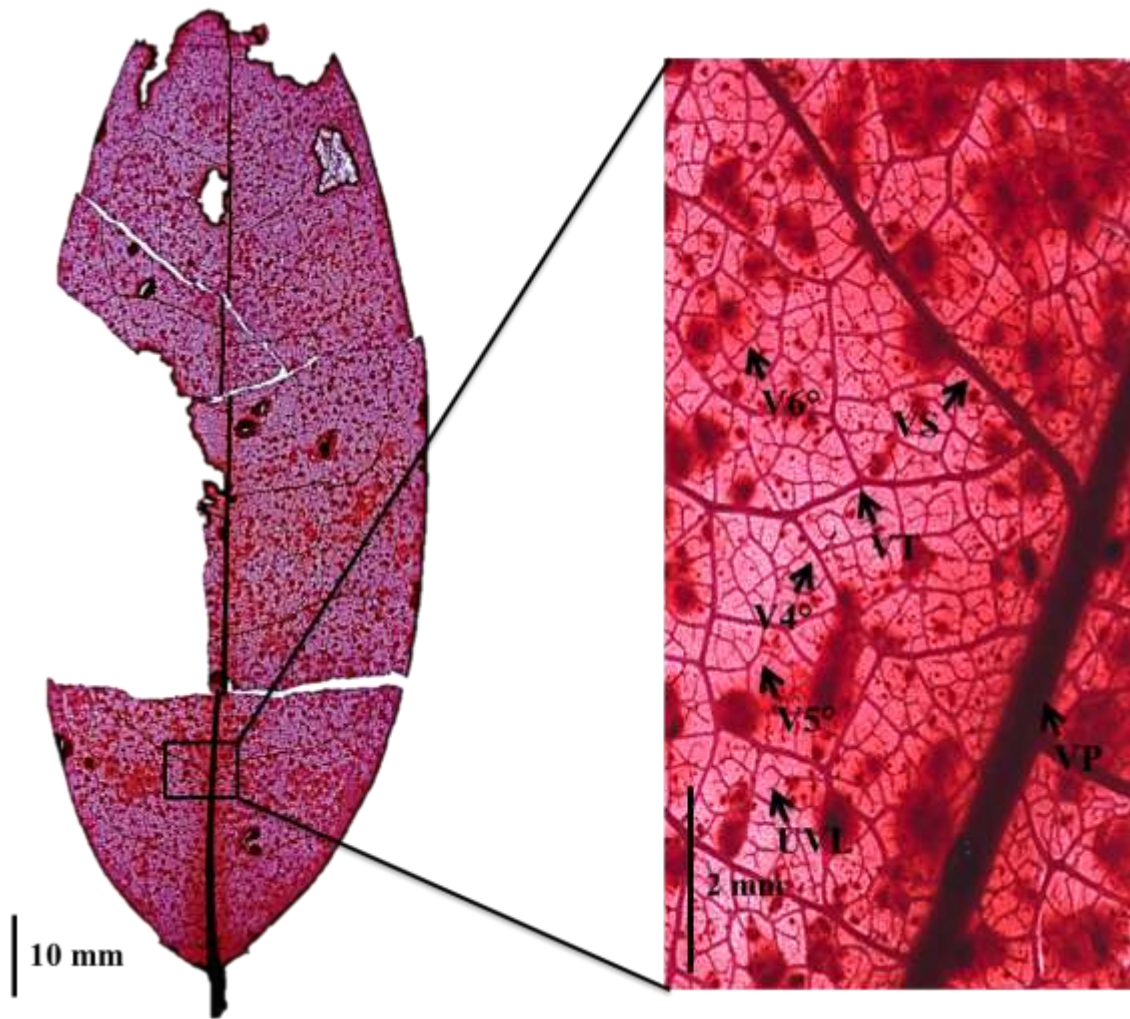
**Figura 18.** Vista general de hojas aclaradas de *Guatteria amplifolia* de diferentes localidades (a: Tabasco; b, c y g: Veracruz; d y h: Oaxaca; e y f: Chiapas). a) Venación secundaria broquidódroma, venas intersecundarias presentes y base convexa y ligeramente decurrente; b) Venación secundaria broquidódroma, venas intersecundarias y ápice acuminado con punta de goteo; c) Venación secundaria broquidódroma festonada y

venas intersecundarias presentes; d) Venación secundaria broquidódroma, venas intersecundarias presentes y base cóncava decurrente; e) Venación secundaria broquidódroma festonada, venas intersecundarias presentes y base decurrente; f) Venación secundaria eucamptódroma, venas intersecundarias ausentes y base convexa; g) Venación secundaria broquidódroma festonada y venas intersecundarias presentes; h) Venación broquidódroma, venas intersecundarias presentes y base convexa ligeramente asimétrica.



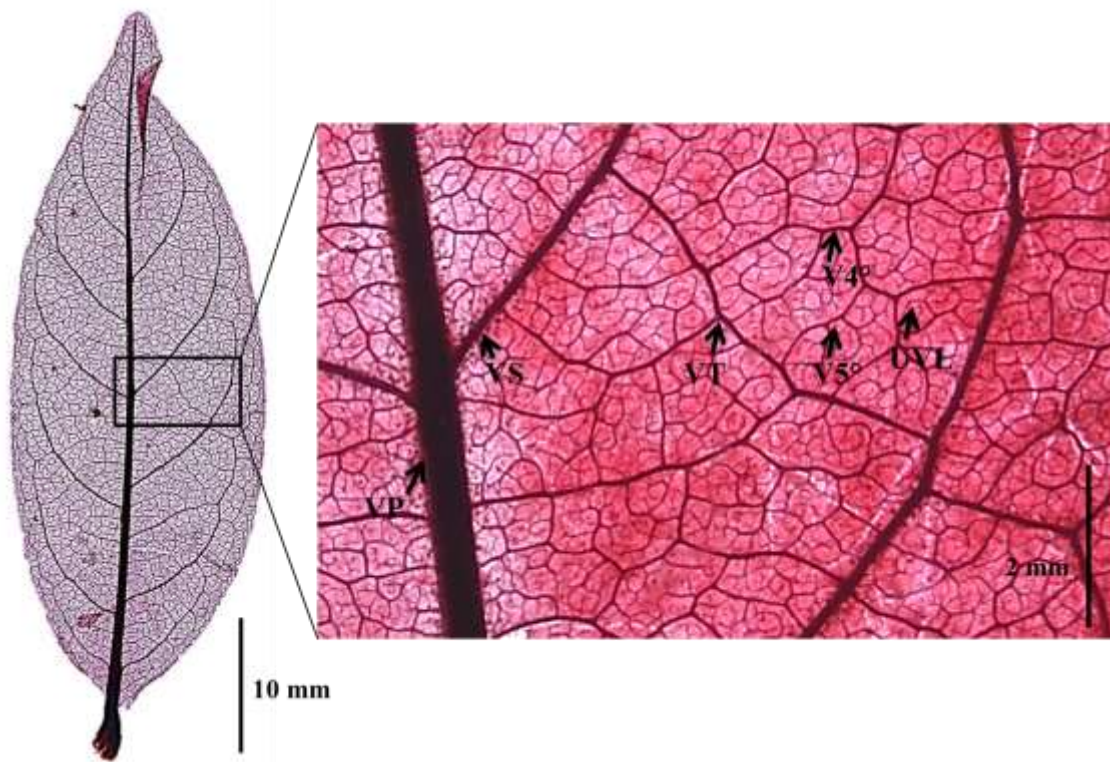
**Figura 18.** Vista general de hojas aclaradas de *Guatteria amplifolia* de diferentes localidades (i y k: Oaxaca; j y l: Chiapas; m: Guerrero y n: Veracruz). i) Venación secundaria broquidódroma festonada, venas intersecundarias presentes y base convexa ligeramente asimétrica; j) Venación secundaria eucamptódroma, venas intersecundarias presentes y ápice recto; k) Venación broquidódroma festonada, venas intersecundarias presentes y base decurrente; l) Venación secundaria broquidódroma, venas intersecundarias presentes, ápice acuminado y base cuneada, ligeramente decurrente; m) Venación secundaria broquidódroma, venas intersecundarias presentes, ápice acuminada con punta de goteo y base cuneada; n) Venación secundaria eucamptódroma, venas intersecundarias presentes, ápice acuminado y base convexa ligeramente asimétrica.



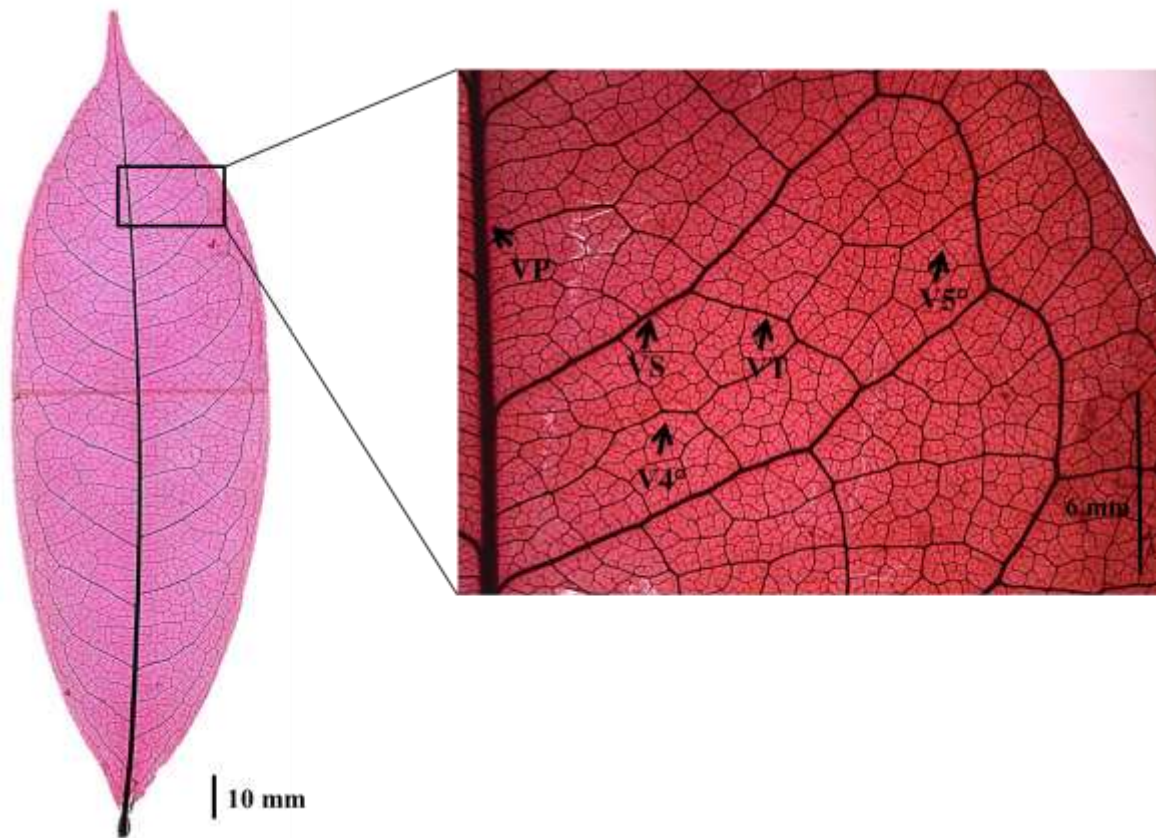


**Figura 19.** Hoja aclarada de Chiapas; vista general y acercamiento (VP: Vena primaria; VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden; V6°: Vena de sexto orden; UVL: Última vena libre). Las areolas están moderadamente desarrolladas por venas de quinto y sexto orden. Las últimas venas libres se encuentran ramificadas dicotómicamente.

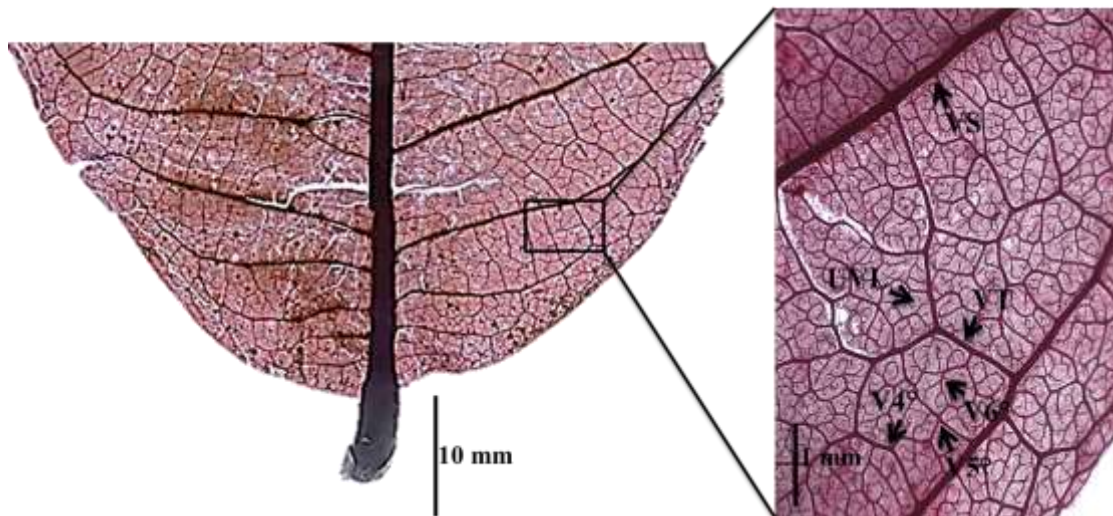




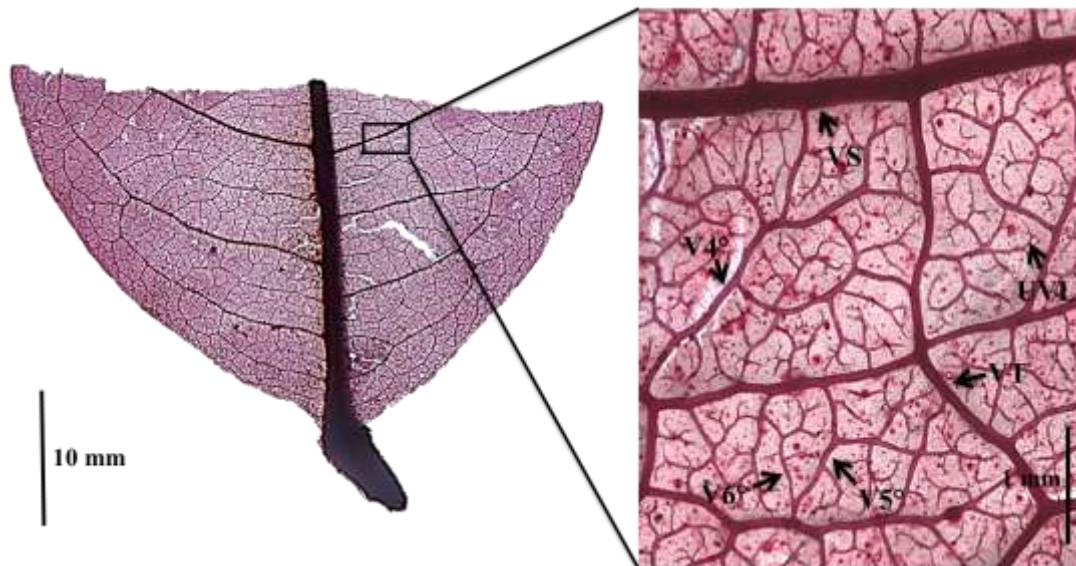
**Figura 20.** Hoja aclarada de Chiapas; vista general y acercamiento (VP: Vena primaria; VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden; UVL: Última vena libre). Las areolas están pobremente desarrolladas por las venas de quinto orden; las últimas venas libres están conformadas por las venas de sexto orden y son dendríticas y dicotómicas.



**Figura 21.** Hoja aclarada de Guerrero; vista general y acercamiento (VP: Vena primaria; VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden). Las areolas pueden estar formadas por las venas de quinto o sexto orden; las últimas venas libres son de séptimo orden y presentan ramificación dicotómica.

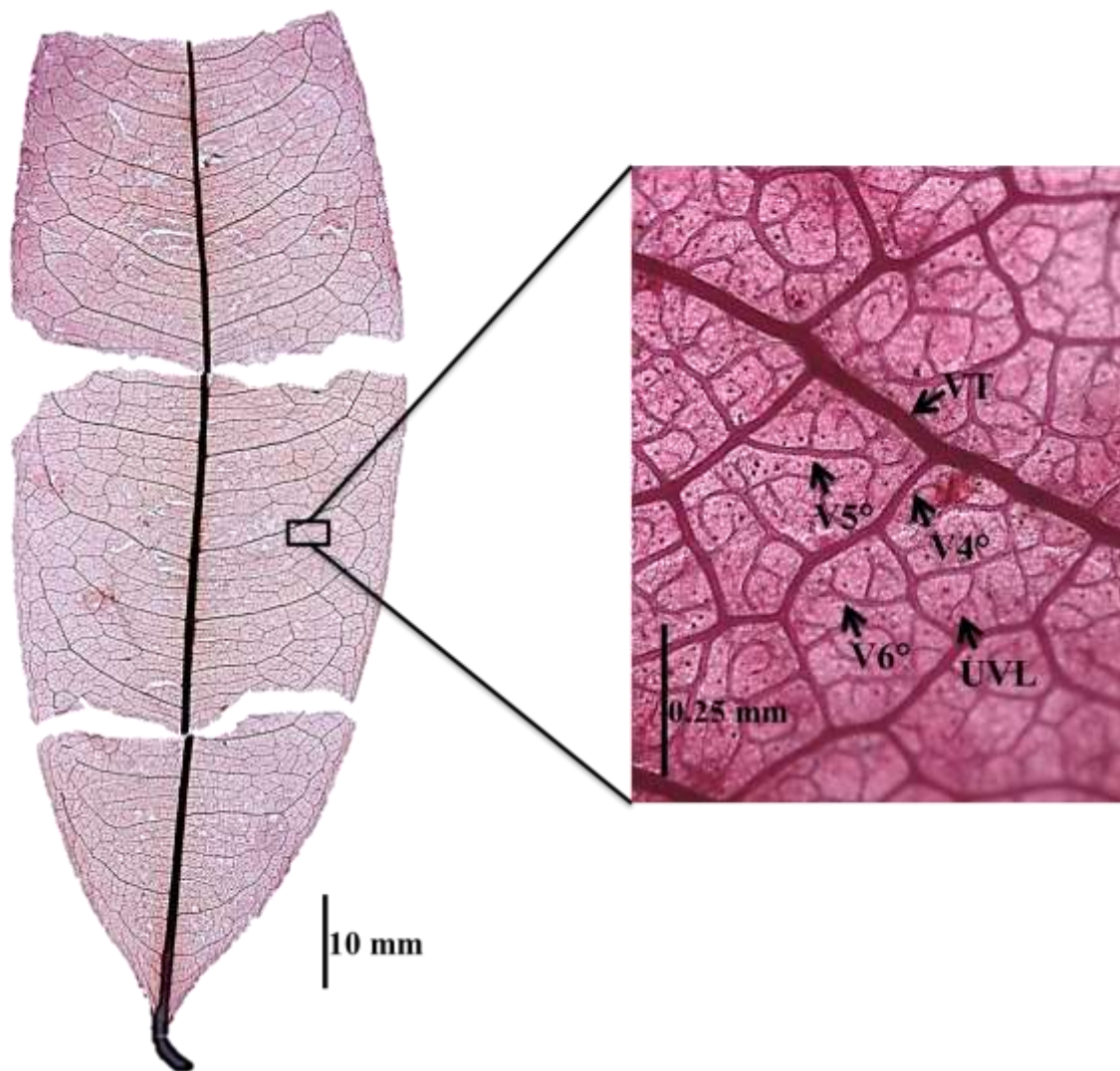


**Figura 22.** Hoja aclarada de Oaxaca; Vista general y acercamiento (VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden; V6°: Vena de sexto orden; UVL: Última vena libre). Las areolas están formadas por las venas de quinto orden y están bien desarrolladas; las últimas venas libres son de sexto orden y presentan ramificación dicotómica.

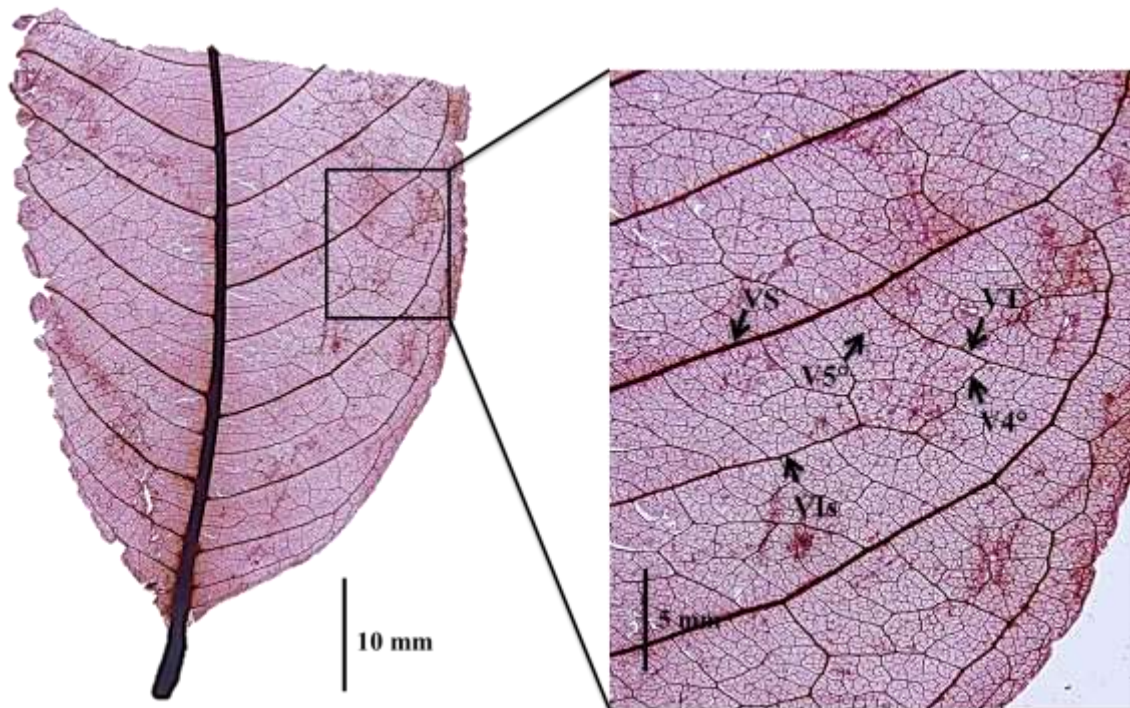


**Figura 23.** Hoja aclarada de Oaxaca; vista general y acercamiento (VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden; V6°: Vena de sexto orden; UVL: Última vena libre). Las areolas están moderadamente desarrolladas y se encuentran formadas por la venación de quinto orden; las últimas venas libres son de séptimo orden y pueden tener una sola ramificación o bien, se dicotomizan.

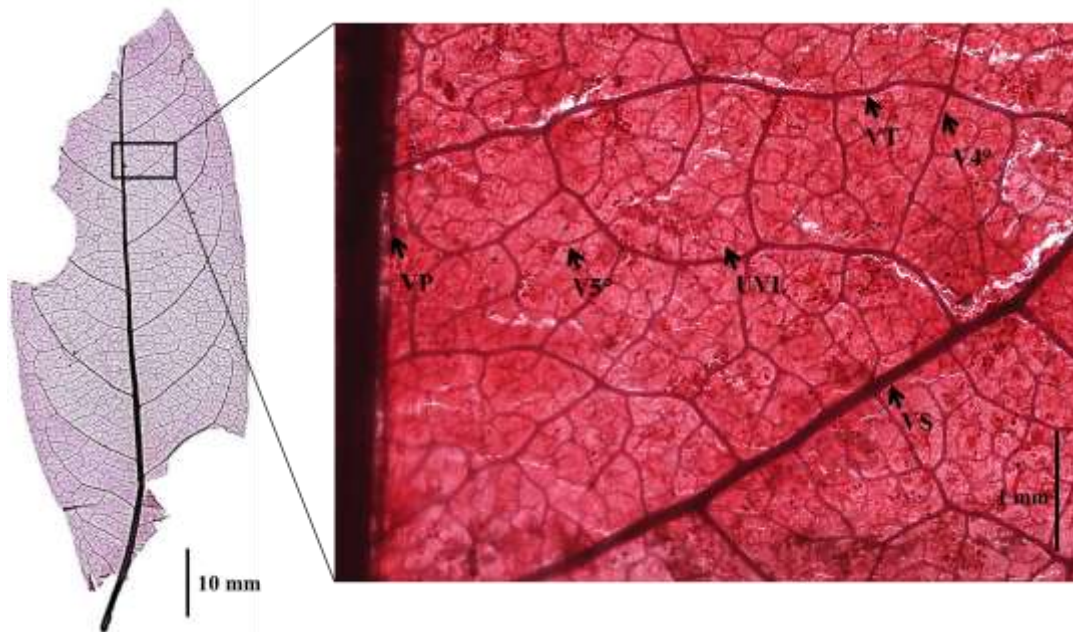




**Figura 24.** Hoja aclarada de Oaxaca; vista general y acercamiento (VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden; V6°: Vena de sexto orden; UVL: Última vena libre). Las areolas son formadas por las venas de quinto orden y están moderadamente desarrolladas; las últimas venas libres son de sexto orden y están dicotomizadas.

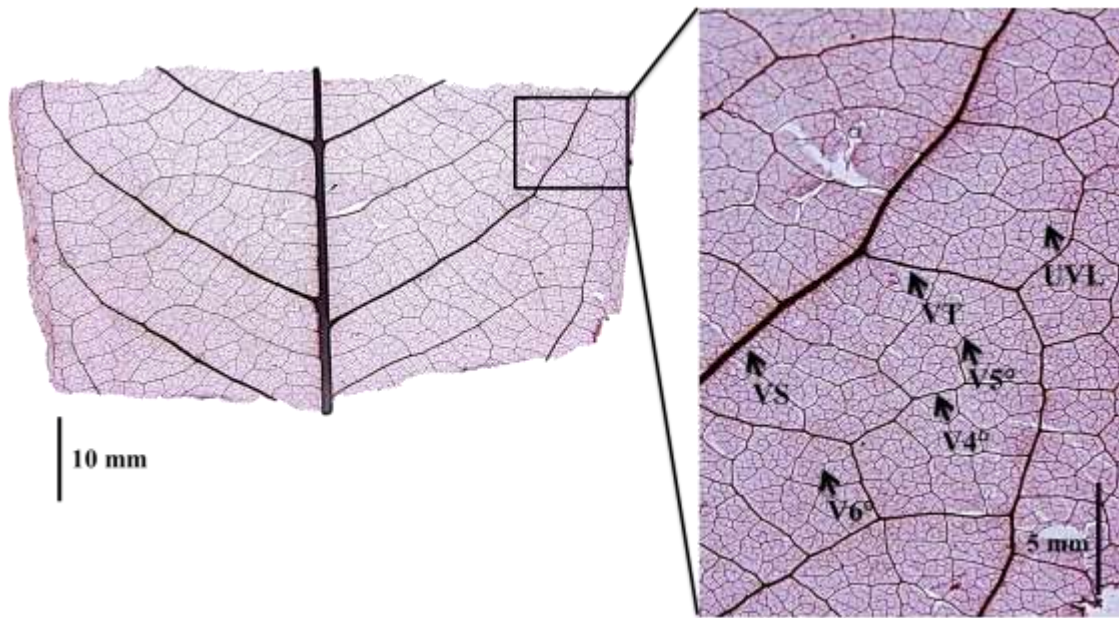


**Figura 25.** Hoja aclarada de Tabasco; vista general y acercamiento (VS: Vena secundaria; VI: Vena intersecundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden). Se observa una vena que alcanza más de la mitad del largo de la vena secundaria adyacente. Las areolas son dadas por la venación de quinto orden y se encuentran moderadamente desarrolladas.

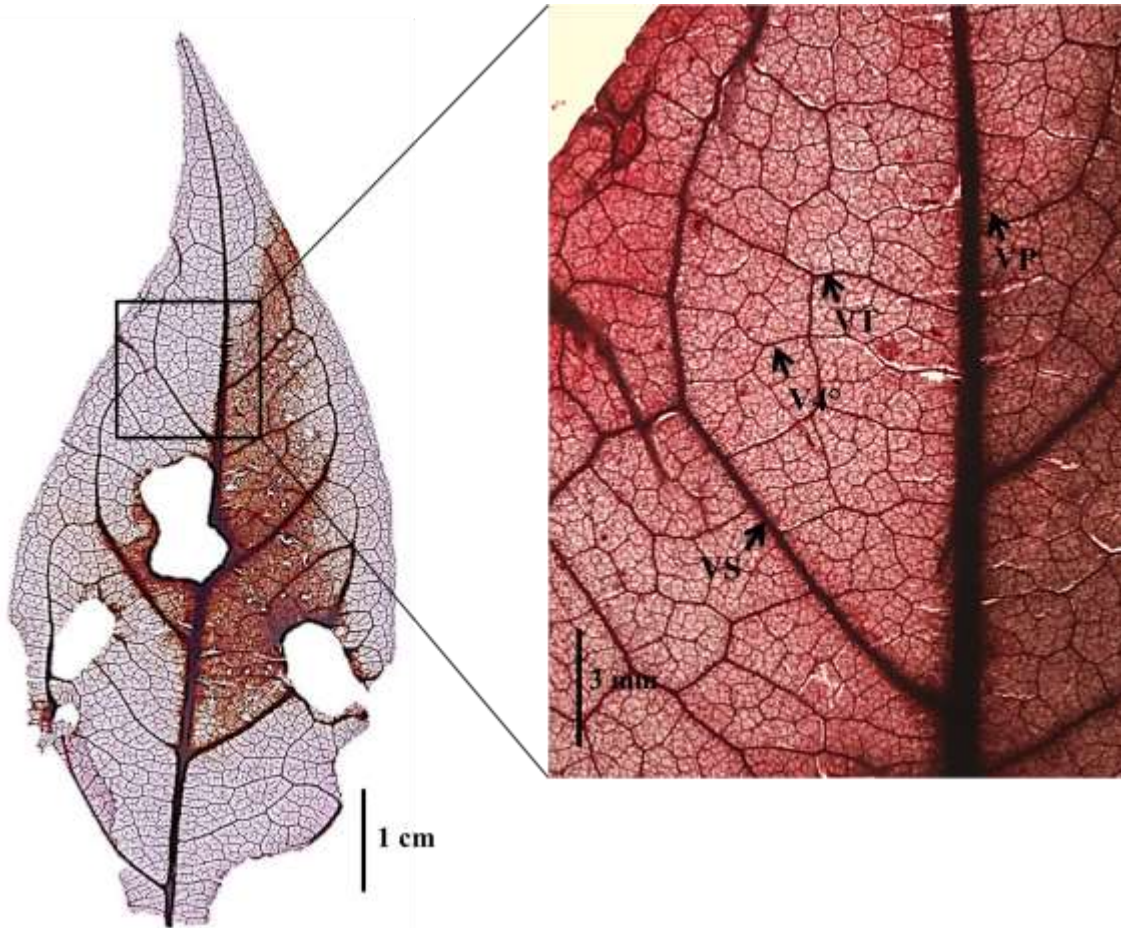


**Figura 26.** Hoja aclarada de Veracruz; vista general y acercamiento (VP: Vena primaria; VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden; UVL: Última vena libre). Se observa una vena de tercer orden intercostal ligeramente sinuosa; las areolas se encuentran formadas por las venas de quinto orden y están moderadamente desarrolladas; las últimas venas libres son de sexto orden y se dicotomizan varias veces.

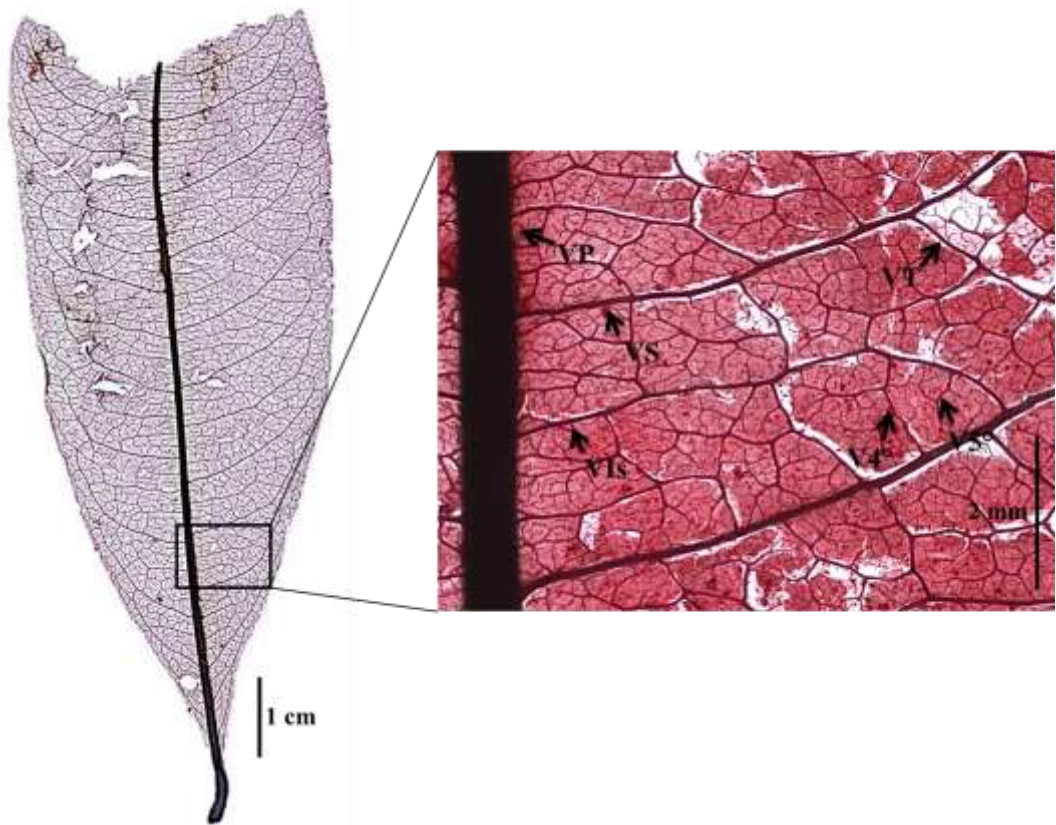




**Figura 27.** Hoja aclarada de Veracruz (VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden; V6°: Vena de sexto orden; UVL: Última vena libre). Las areolas están medianamente desarrolladas y son de sexto orden; las últimas venas libres presentan ramificación dendrítica y dicotómica.

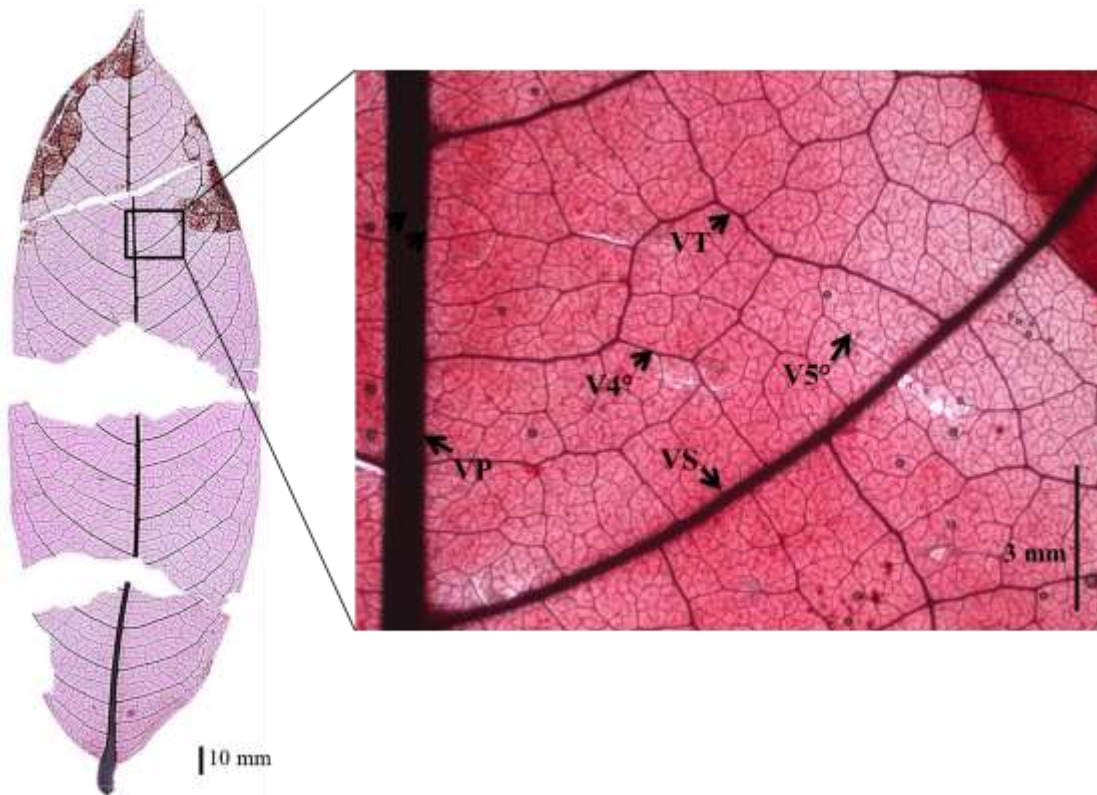


**Figura 28.** Hoja aclarada de Veracruz. (VP: Vena primaria; VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden). Las venas de cuarto orden forman un retículo al azar.

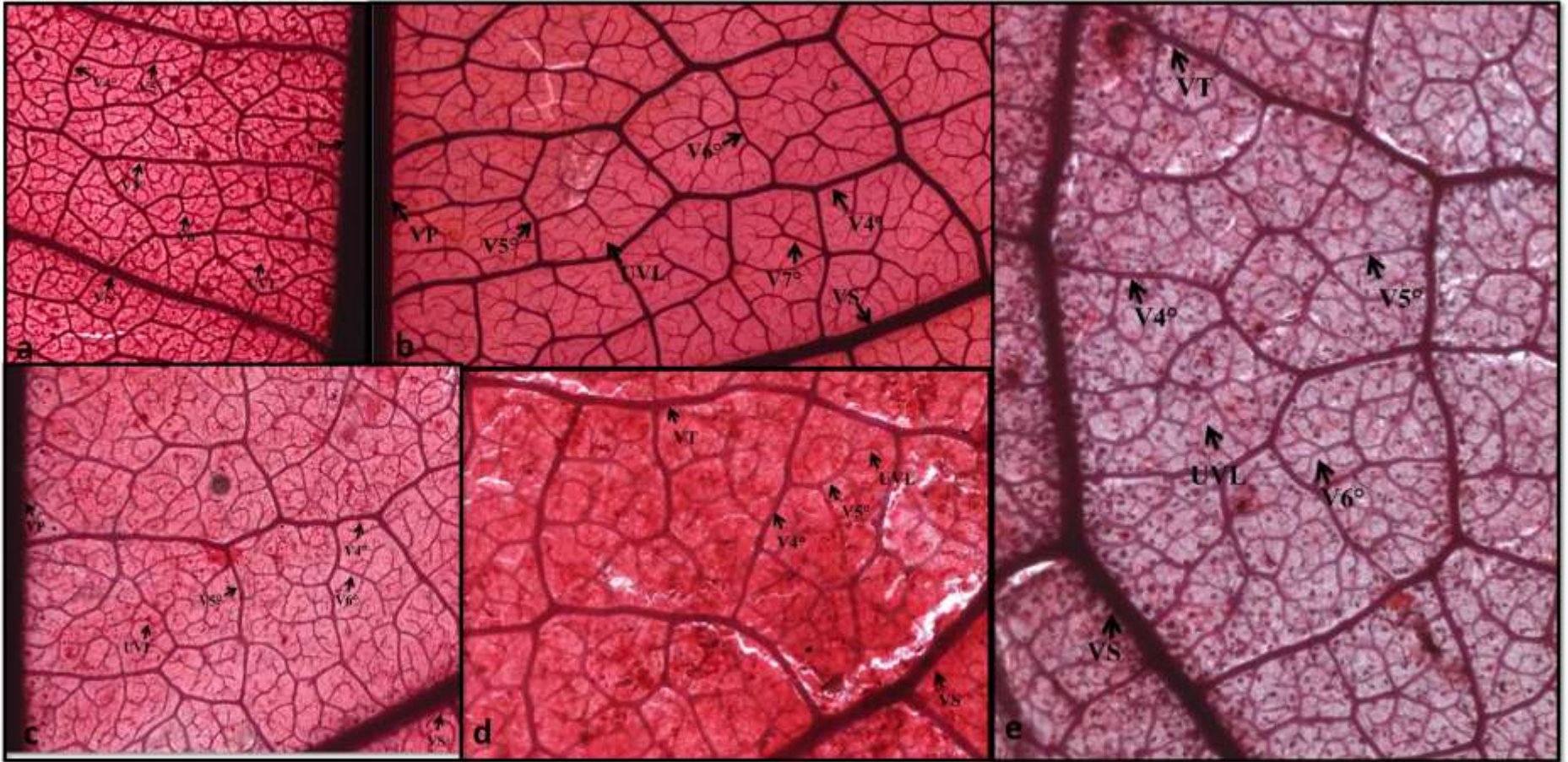


**Figura 29.** Hoja aclarada de Oaxaca. (VP: Vena primaria; VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; VIs: Vena intersecundaria; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden).





**Figura 30.** Hoja aclarada de Veracruz. (VP: Vena primaria; VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden).



**Figura 31.** Acercamientos de algunas de las hojas aclaradas. a) Chiapas; b) Guerrero; c-e) Veracruz. (VP: Vena primaria; VS: Vena secundaria; VT: Vena de tercer orden; V4°: Vena de cuarto orden; V5°: Vena de quinto orden; V6°: Vena de sexto orden; V7°: Vena de séptimo orden; UVL: Últimas venas libres). Se observa la última venación dicotómica en c y d, mientras que en a, b, c y e se observa venación dendrítica.

## Discusión

### *Mapa de distribución*

Maas y colaboradores (2015) mencionaron que *Guatteria amplifolia* se distribuye en tipos de vegetación equivalentes a bosques tropicales perennifolios y bosques tropicales subcaducifolios. De acuerdo con los resultados obtenidos a partir de ejemplares de herbario, además de los tipos de vegetación arriba mencionados, se han encontrado en bosques tropicales caducifolios e incluso en bosques mesófilos de montaña. Aunque la bibliografía no mencione registros de *G. amplifolia* en bosque mesófilo de montaña, para el caso de México es factible encontrarla ahí, porque este tipo de vegetación se encuentra en contacto con algunas regiones de bosque tropical perennifolio, principalmente a lo largo del estado de Veracruz (Figura 31).

De forma paralela, la distribución altitudinal obtenida fue de 2 a 1610 m s.n.m., intervalo que encaja en el propuesto por el mismo autor, que va de 0 a 1850 m s.n.m. El ejemplar localizado a mayor altitud en México corresponde a bosque mesófilo de montaña. El mismo caso se presenta para los ejemplares reportados en bosque de coníferas y aunque *G. amplifolia* no ha sido reportada anteriormente en ese tipo de vegetación, la altitud a la que se registra, sí está dentro del intervalo reportado a nivel global.

Respecto a los tipos de climas, *Guatteria amplifolia* se encuentra dentro de los grupos A y C (cálidos húmedos tropicales y templados, respectivamente), con variaciones en las temporadas de lluvia. Lo anterior, se encuentra relacionado, por un lado, con los intervalos de precipitación media anual, que abarcaron desde los 800 mm a más de 4000 mm y con la temperatura media anual, que va de 14° a 26° C. La mayoría de los ejemplares se localizaron en zonas con climas cálidos húmedos tropicales (grupo A) y en temperaturas que van de 24 a 26°C, ambientes en el que se reporta el género y esta especie en particular (Maas *et al.*, 2015; Erkens *et al.*, 2007b; Erkens *et al.*, 2007c). En menor medida, se encontraron ejemplares de subtipos de climas templados o semicálidos que presentan abundantes lluvias durante el año, coincidiendo también con los reportes de Maas y colaboradores (*Ibid*).

De acuerdo con lo anterior, aunque la especie se puede presentar en varios microclimas, es posible observar que se mantiene únicamente dentro de ambientes tropicales húmedos, tanto en México como en el resto de su distribución geográfica. Los ejemplares mexicanos presentan la distribución más septentrional respecto al resto del área de distribución total dada por Maas y

colaboradores (2015). Lo anterior es uno de los factores por los que la forma de la lámina puede diferir entre individuos de la especie, ya que ejemplares observados de otros países, como por ejemplo Panamá, por lo general presentan láminas foliares más grandes.

Gran parte de las anotaciones vistas en las etiquetas de herbario, respecto al tipo de vegetación, no seguían el sistema de clasificación de Rzedowski (2006), por lo que el proceso de estandarización de datos a través de Mapa Digital de México fue complejo.

De manera paralela, en el presente trabajo se reportan diferentes características ambientales en las que *G. amplifolia* se puede encontrar. Para el caso de las divisiones florísticas dadas por CONABIO (2015), la especie abarca tres divisiones: la Caribeña, La Mesoamericana de Montaña y la Xerofítica Mexicana. La mayor parte de los ejemplares se localizaron en la división Caribeña; esto se puede explicar ya que dicha región sólo se ubica en la zona sur del país e incluye a todos los estados en los que la especie se distribuye dentro del país y además está relacionado con climas tropicales húmedos.

Se encontraron dos nuevos registros de *Guatteria amplifolia* en México, siendo Campeche, y Puebla, localidades diferentes que no se incluyeron en revisiones anteriores debido a la identificación incorrecta de los ejemplares (Maas *et al.*, 2015; Martínez-Velarde, 2015). Aunque se corroboró la identidad taxonómica de los ejemplares de los estados anteriormente mencionados, cabe mencionar que de Campeche sólo se encontraron 2 ejemplares en el herbario MEXU y de Puebla se localizaron 13 ejemplares, pero de localidades muy cercanas entre sí. Lo anterior refleja el sesgo en las colectas botánicas, que llega a limitar la perspectiva real de la distribución de las especies. No obstante, aún con ejemplares escasos para algunas localidades, es posible distinguir una tendencia de la distribución geográfica de *G. amplifolia*. Finalmente, cabe mencionar que los puntos aislados que se observan en el mapa, pueden ser resultado del sesgo de colecta anteriormente mencionado, ya que los colectores tienen preferencias sobre sitios de muestreos, dando así, un efecto de distribución geográfica disyunta.

### ***Morfometría tradicional***

Dada la distribución homogénea de las hojas en la gráfica del PCA, es posible sugerir que aunque existe variación en las características analizadas, se trata de una sola especie con alto grado de plasticidad fenotípica. Hay casos de especies donde el tamaño laminar aporta información al momento de separarla de otros taxones, sin embargo, es necesario integrarlo con otro tipo de caracteres morfológicos entre los que destacan los florales.

La aglomeración de los individuos en una sola nube sugiere que el tamaño general de la hoja, se mantiene relativamente homogéneo dentro de la especie, a lo largo de un gradiente ambiental. Sin embargo, el análisis de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas para todas las variables medidas (ANEXOS 3 y 5). Conjuntando estos dos puntos, es factible sugerir que dentro del intervalo de tamaño laminar que presenta *G. amplifolia* presenta plasticidad fenotípica correlacionada con diferentes variables ambientales. Otro factor a considerar, es la manera en que las variables ambientales fueron obtenidas, ya que las categorías generan que la información pierda resolución al momento de analizar la variabilidad. Para fines de este estudio, trabajar con variables ambientales continuas no fue posible debido a que CONABIO maneja el formato por categorías, por lo que es conveniente buscar dichos datos en otra fuente donde arroje un dato único para cada ejemplar georreferenciado.

En términos de la longitud, ancho y distancia de la base a la zona más ancha, existen diferencias significativas entre las hojas de individuos expuestas a una precipitación de 1200 a 1500 mm, respecto a las que se encuentran en sitios con precipitación mayor a 1500 mm. La tendencia de los tamaños indica que las hojas en la primera categoría son más pequeñas respecto a las que se encuentran en zonas con mayor precipitación. Es un patrón muy claro que se puede asociar con la optimización de la obtención y pérdida de agua (Nicotra *et al.*, 2011; Scoffoni *et al.*, 2011).

La longitud de la lámina fue estadísticamente diferente entre hojas de clima cálido subhúmedo respecto a las de climas templados húmedos (C(m)(f)), semicálido húmedo del grupo C ((A)C(fm)), cálido húmedo (Am) y cálido húmedo con lluvias abundantes todo el año (Am(f)). La primera categoría mostró medidas más pequeñas respecto al resto. Para el ancho de la lámina se formaron varios grupos, donde las hojas de clima templado húmedo (C(m)(f)) son significativamente más grandes que las hojas de climas cálidos y semicálidos húmedos. De forma paralela, el ancho de las hojas del clima semicálido húmedo ((A)C(m)) es significativamente más pequeño que el de las hojas de los climas cálido y semicálido húmedos con lluvias todo el año. Igualmente, se sugiere que la diferencia en tamaño sea una respuesta a la cantidad de agua presente en los sitios (Anexo 6) (Smith y Nobel, 1997; Tsukaya, 2006; Royer *et al.*, 2008).

Los resultados del análisis de la temperatura media anual muestran un patrón en el tamaño de la hoja similar al encontrado con la precipitación media anual, donde las categorías más extremas dentro del intervalo general medido para México en general, presentan tamaños menores respecto a las categorías intermedias. Igualmente, dicho patrón está relacionado con la obtención de una



cantidad mayor o menor de agua. Esto puede interpretarse como una reducción del área foliar que evita la pérdida de agua por evapotranspiración (Nicotra *et al.*, 2011; Scoffoni *et al.*, 2011).

De acuerdo con las cuatro variables ambientales anteriores, las dimensiones de las hojas suelen ser más pequeñas en lugares con climas templados, subhúmedos y con precipitaciones menores a los 1500 mm, en comparación con las hojas de ambientes cálidos o semicálidos, húmedos y con precipitación mayor a 1500 mm, que son más grandes. Por lo tanto, la tendencia observada es que las hojas que se encuentran en un rango medio presentan dimensiones diferentes respecto a las que se encuentran en los límites de temperatura inferiores y superiores. Dichas variables se encuentran relacionadas con la disponibilidad de agua en el ambiente, siendo en el primer conjunto de categorías, sitios con menor disponibilidad en comparación con el segundo. Una tendencia que se ha visto en diferentes especies de plantas, es la de la reducción del tamaño foliar en lugares secos y cálidos, evitando así una mayor pérdida de agua por evapotranspiración (Nicotra *et al.*, 2011).

El tamaño de las hojas varía de acuerdo a diversas condiciones y, por lo general, se ha observado que las plantas con hojas pequeñas suelen encontrarse en sitios fríos (Gates, 1980), muy cálidos (Smith y Nobel, 1977), secos (Fonseca *et al.*, 2000; McDonald *et al.*, 2003), suelos pobres en nutrientes (Fonseca *et al.*, 2000), zonas con tiempos largos de exposición solar (Ackerly *et al.*, 2002) o bien, a la combinación de dos o más de dichos factores. Para el caso de *Guatteria amplifolia*, las hojas más pequeñas pertenecen a individuos que se encuentran en las regiones más frías, secas, bajos niveles de precipitación y suelos con mejor filtración.

Con ello, es posible sugerir que para el caso de *G. amplifolia*, el tamaño de las hojas es diferente entre los individuos de las zonas límite de su intervalo de tolerancia, respecto a las variables ambientales estudiadas. No obstante, es necesario considerar que únicamente se analizaron las hojas de individuos mexicanos y es necesario comparar dicho patrón con el del resto de su distribución geográfica. México forma parte de la zona más norteña en la que se distribuye *G. amplifolia*, comparar los presentes resultados con hojas de individuos de las regiones centrales y sureñas de su distribución puede evidenciar diferencias más notorias en el tamaño.

Lo anterior también hace notar que el tamaño de las hojas cambia de acuerdo a la disposición de agua, ya que a mayor temperatura, menor cantidad de precipitación y rango de humedad, el recurso hídrico se limita y por lo tanto, el tamaño de la lámina foliar tiende a disminuir. (Dolph y Dilcher, 1980; Givnish, 1987; Fonseca *et al.*, 2000; Scoffoni *et al.*, 2011).

Las hojas de *Guatteria amplifolia* del bosque tropical subcaducifolio no son estadísticamente diferentes de las del bosque tropical caducifolio, pero sí significativamente más pequeñas que las del bosque tropical perennifolio. El primero es un tipo de vegetación claramente distinguible, pero intermedio entre el bosque tropical perennifolio y el bosque tropical caducifolio; donde comparte características de la fisonomía con el segundo y de la fenología vegetal con el tercero (Rzedowski, 2006). Dicha fenología abarca tanto los períodos de floración como de caída de hojas, factores determinados principalmente por las épocas de sequía y la disponibilidad de agua. *G. amplifolia*, al ser un árbol perenne (Martínez-Velarde, 2015) en un ambiente donde existen temporadas de secas prolongadas, uno de los posibles mecanismos empleados para combatir la falta de agua es disminuir el tamaño de sus hojas.

El resultado obtenido en el análisis de la División Florística refleja un patrón similar al de las variables relacionadas con la disposición de agua, ya que dichas regiones se caracterizan, entre otras, por tener climas cálidos (Rzedowski, 2006). Lo anterior igualmente explica que no existan diferencias significativas entre la región Caribeña y la Xerofítica. Respecto al ángulo de la base, la región Caribeña presenta diferencias significativas respecto a las otras dos divisiones.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de las provincias biogeográficas, es necesario notar que en la Península de Yucatán sólo se emplearon ejemplares de la única localidad para la que se reporta *Guatteria amplifolia*. Esto contribuyó a que el número de muestra de esa zona fuera reducido, factor que es importante tomar en cuenta para analizar el comportamiento de los resultados. Sin embargo, en la gran mayoría de las medidas tomadas se observa el mismo patrón.

La Península de Yucatán presenta condiciones ambientales y fisiográficas contrastantes con el resto de las regiones analizadas, ya que en la primera no existen orogenias importantes, sino que se caracteriza por una planicie (Rzedowski, 2006; Herbario CICY, 2010). Dichas condiciones geológicas promueven patrones abióticos distintos, como los climas cálidos húmedos y semihúmedos, con una disminución en la humedad del sureste al noroeste, dando origen a bosques tropicales caducifolios, subcaducifolios y perennifolios (Rzedowski, 2006).

Las hojas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán presentaron ángulos de las bases más cerrados respecto al de la Costa del Golfo de México y de la Costa Pacífica. Al mismo tiempo, las de la Costa del Golfo de México fueron diferentes de la Costa Pacífica. El patrón que es posible distinguir, separa a las hojas entre las dos zonas con dirección este a oeste del territorio, así como a

una pequeña región central. Esto representa claramente la influencia de las diferencias ambientales que se desarrollan entre las regiones de los dos complejos montañosos (*ibid*).

Las hojas de la región Costa del Golfo de México son más pequeñas que las de las Serranías. La primera región se caracteriza por tener un clima cálido y húmedo, donde el tipo de vegetación predominante es el bosque tropical perennifolio; mientras que las Serranías meridionales comprende los complejos montañosos del centro y sur de México, siendo ésta una región con altitudes elevadas y con bosques de *Pinus* y *Quercus* como tipo de vegetación predominante (Rzedowski, 2006). Este resultado es contradictorio a los patrones arrojados por la variable de humedad, donde las hojas de lugares húmedos tienden a ser más grandes. Sin embargo, es congruente con el resultado obtenido de analizar la temperatura, donde las hojas de sitios más calientes son más pequeñas. Dado lo anterior, se sugiere que para este caso, la temperatura está más correlacionada con el tamaño de la lámina.

Las hojas en suelos con rendzinas son estadísticamente más pequeñas respecto a todos los tipos de suelo excepto los andosoles, vertisoles y regosoles. Tanto las rendzinas, los andosoles, vertisoles y regosoles son suelos jóvenes, sólo que la primera es de origen sedimentario calcáreo y el resto de origen volcánico. Cada uno presenta diferentes etapas de desarrollo, ya que sus procesos de intemperización y lixiviación dependen de las condiciones geográficas en las que se encuentren. Generalmente, los últimos tres son suelos ácidos, mientras que las rendzinas son más alcalinas, pero todos son poco arcillosos, así como pobres en nutrientes. Debido a lo anterior, se trata de suelos que filtran el agua de manera más eficiente que otros y, por lo tanto no retienen mucha agua en el horizonte B, capa del suelo donde se llegan a encontrar las raíces de las plantas (IUSS Working Group WRB, 2015). Esto, puede ser uno de los factores que contribuya a que la obtención de agua y nutrientes sea más difícil para las plantas de *Guatteria amplifolia* y como consecuencia, se desarrollen hojas más pequeñas en tales sitios.

Es probable que la relación que presenta el tipo de suelo respecto al tamaño y forma laminar, se vea reflejada en la facilidad de captación y filtración del agua, contribuyendo a que las plantas obtengan dicho recurso. Sin embargo, debido a que muchos de los tipos de suelo aquí analizados se distribuyen en diferentes partes del país, también se encuentran expuestos a diferentes condiciones, principalmente atmosféricas, lo que provoca que su desarrollo sea diferente aunque tengan el mismo origen. Finalmente, es factible sugerir que el tipo de suelo influye en la facilidad de obtención de agua por parte de las plantas.



### ***Morfometría geométrica***

El análisis de regresión no fue significativo ( $p > 0.05$ ), lo cual indica que no existe una influencia alométrica en las hojas y por lo tanto, el tamaño no modifica la forma laminar. Sin embargo, tanto el tamaño como la forma pueden estar influenciados por condiciones ambientales similares, como se observó en este trabajo.

El PCA es un primer acercamiento que apoya la gran plasticidad fenotípica foliar de *Guatteria amplifolia*. Cabe mencionar que aunque en el presente trabajo se observa una amplia variación morfológica en la hoja de dicha especie, tal evidencia no es suficiente para considerar el tratamiento de taxones diferentes, ya que para ello, es necesario incluir el análisis de otro tipo de caracteres morfológicos, por ejemplo, los florales. Por otra parte, Erkens y colaboradores (2007c) realizaron un estudio filogenético en el que determinan que *G. amplifolia* es una sola entidad taxonómica.

En general, el análisis morfométrico mostró la existencia de un patrón donde las hojas de regiones más secas y templadas son morfológicamente diferentes de aquellas de sitios más cálidos y húmedos. Las zonas de la lámina foliar que sufren mayor variación son el ápice donde la forma cambia de recta a aguda, y la base, que cambia entre recta, aguda, obtusa o incluso cuneada.

Las variables con mayor porcentaje de individuos correcta y significativamente agrupados *a priori*, de acuerdo con el índice de Jackknife, fueron la división florística (63.1%) y la provincia biogeográfica (22.3%). Para el caso de la primera variable, se observa que la región Mesoamericana de Montaña interactúa con la región Caribeña y la región Xerofítica se separa por completo de éstas. La primera es una zona con distribución discontinua, que abarca las zonas de las sierras mexicanas y que en general tiene climas templados húmedos o subhúmedos. La región Xerofítica tiene ambientes cálidos y subhúmedos o secos, y la región Caribeña presenta características climáticas intermedias con ambientes cálidos y húmedos a subhúmedos, lo que puede explicar el comportamiento morfológico de las hojas de *Guatteria amplifolia*.

Respecto a las provincias biogeográficas, el CVA mostró la separación entre las hojas de la Península de Yucatán y el resto de categorías. Ésta se caracteriza por presentar temperaturas medias anuales entre 25 y 28°C, precipitaciones que no exceden los 2,200 mm y en general, tener ambientes subhúmedos (Rzedowski, 2006; Herbario CICY, 2010) y, dentro del intervalo de la distribución geográfica de *G. amplifolia*, es una de las regiones más extremas. En esta zona las hojas tienden a tener un ápice y una base agudos y rectos. La otra aglomeración de hojas,

comprende al resto de las provincias analizadas, donde no se observa una tendencia marcada, ya que las hojas de la Costa del Golfo de México se encuentran inmersas con las del resto de categorías. El ápice tiende a ser de recto a acuminado y la base de recta a ligeramente cuneada.

Las siguientes variables que presentaron mayor porcentaje en el índice de Jackknife que se encuentran entre el 20% y el 40% fueron la precipitación, temperatura media anual, humedad y tipo de suelo. En general, se separaron hojas de localidades con bajos niveles de precipitación (800 a 1200 mm), temperaturas templadas a medias (14 a 16° y 22 a 24° C), ambientes subhúmedos y con suelos tipo cambisoles y gleysoles. Las zonas de la hoja con mayor deformación fueron el ápice y la base, aunque para el caso de la humedad, se muestra una ligera deformación en la región media, llegándose a estrechar un poco. El ápice tiende a estrecharse en estas categorías, aunque no parece volverse acuminado. La base se estrecha ligeramente sin volverse cuneada.

Numerosos trabajos han analizado indirectamente la forma a través de medidas lineales, en las que concluyen que hay aspectos muy diversos en las características morfológicas y anatómicas que son sensibles al ambiente en el que se encuentra el individuo (Bailey y Sinnott, 1916; Schlichting, 1986; Royer *et al.*, 2005; Tsuyaka, 2006; Royer *et al.*, 2008; Royer *et al.*, 2009; Nicotra *et al.*, 2011; Jiménez-Noriega *et al.*, 2017). No obstante, dichos métodos, al basarse en variables de dimensiones, no consideran la alometría donde el tamaño del organismo puede modificar su configuración morfológica. Lo anterior genera un sesgo importante al momento de analizar la forma en sentido estricto (shape). En el caso de *Guatteria amplifolia*, fue posible determinar que dicho efecto de la alometría no es relevante sobre la variación de la forma de las hojas. Aunado a lo anterior, el término de morfología foliar como la configuración geométrica de la estructura, ha sido poco empleado para estudiarlo en el caso de las plantas y específicamente en las hojas. Estudios sobre el tema, consideran al área foliar o a la cantidad de biomasa por unidad de superficie, como un rasgo directo de la forma (por ejemplo Navarro, 2004; Royer *et al.*, 2009). La morfometría puede ser una herramienta que aporte información complementaria a los estudios de área foliar, ya que, como se ejemplificó en este estudio, con ella es posible observar cómo es que la configuración geométrica de las estructuras varía y a su vez, buscar su correlación con alguna variable independiente de interés.

Así, conjuntando la información obtenida del análisis morfométrico tradicional y del geométrico, en términos de la humedad, las hojas de las zonas subhúmedas son diferentes de las de zonas húmedas. Las hojas de individuos que se encuentran en lugares con menor precipitación son

diferentes de las del resto de categorías. Ambos análisis arrojan que las hojas de temperaturas más bajas, respecto al intervalo que presenta *G. amplifolia*, son distintas a las del resto de categorías.

La aplicación de herramientas de morfometría geométrica abre un panorama alternativo para analizar la forma en términos de su estructura y configuración geométrica sin el ruido que se puede obtener de las dimensiones de las estructuras (Bookstein, 1996; Slice, 2007; Adams *et al.*, 2013).

### ***Arquitectura foliar***

Aunque sólo se aclararon 14 hojas de *Guatteria amplifolia* de diferentes localidades en total, fue posible observar una gran variación en los diferentes niveles de venación. Los órdenes de venación superiores (1° y 2°) son en general homogéneos y corresponden con descripciones anteriores tanto de la especie como del género y la familia (Cronquist, 1981; Stevens, 2001; Maas *et al.*, 2015; Martínez-Velarde, 2015). Por el contrario, las venas de órdenes mayores fueron más variables, principalmente las de 4°, 5° y 6° orden, ya que pueden formar retículos, areolas moderada o pobremente desarrolladas, así como ser últimas venas libres con algún patrón de ramificación. Generalmente, las venas de mayor orden presentan valor taxonómico a nivel de familia y género; mientras que los órdenes mayores, suelen tener valor taxonómico a nivel de especie, subespecie o variedad (Hickey y Wolfe, 1975) o bien, ser más susceptibles a los cambios ambientales, especialmente a la disposición de agua y a la temperatura (Brodribb *et al.*, 2007; Scoffoni *et al.*, 2011). Por ello, es más probable que éstas últimas sean más variables dentro de las especies.

Si bien, el objetivo de esta tesis en principio, es describir la arquitectura foliar de *G. amplifolia* y por ello no se realizó un análisis más fino de la variación de las venas, es necesario comentar que pese a la muestra tan pequeña, fue posible observar patrones en la formación de areolas y en las últimas venas libres. De acuerdo con diversos autores, uno de los mecanismos que las plantas pueden emplear para minimizar la pérdida de agua por evapotranspiración es la producción y ramificación de las venas foliares, incrementando así, la eficiencia de transporte de agua a través del organismo por los haces vasculares y disminuyendo el tejido del mesofilo por el cual, el agua se evapora (Roth-Nebelsick *et al.*, 2001; Brodribb *et al.*, 2007; Nicotra *et al.*, 2011; Scoffoni *et al.*, 2011).

Una característica que se observó paralelamente a este trabajo fue la diferencia en la densidad de las últimas venas libres de las hojas (Figura 30). En el presente estudio no se midió ni se evaluó este carácter, en parte, debido a la muestra tan pequeña de hojas; sin embargo, el principal

aporte de este estudio, en cuanto a la arquitectura foliar radica en describir la variación en las características de la venación foliar. Gracias a ello, ahora es factible proponer un estudio en el que se analice la densidad de venación y determinar si guarda una correlación con algún factor atmosférico o ambiental.

## Conclusiones

*Guatteria amplifolia* se distribuye en el centro y sudeste de México, principalmente en bosques tropicales perennifolios y subcaducifolios. Las hojas de *G. amplifolia* presentaron una gran variabilidad en su forma, tamaño y en los órdenes de venación mayores de su arquitectura foliar a lo largo de su distribución geográfica en México.

El tamaño de las hojas presentó diferencias significativas entre los sitios más templados, subhúmedos y con precipitaciones no mayores a 1500 mm y los sitios cálidos, húmedos y con precipitaciones mayores a 1500 mm, siendo las primeras más pequeñas. La forma del ápice y la base son las regiones de la lámina foliar con mayor susceptibilidad a los cambios ambientales, ya que fueron las zonas que más variaron en el análisis de morfometría geométrica.

La arquitectura foliar de *Guatteria amplifolia* en general es constante y homogénea en cuanto a los órdenes de venación menores, presentando venación pinnada y venas secundarias broquidódromas y a veces eucamptódromas, caracteres que son distintivas de la familia Annonaceae. Los órdenes de venación mayores presentan mayor variación, principalmente en el desarrollo de las areolas y la ramificación de las últimas venas libres, caracteres generalmente susceptibles a los cambios ambientales.

De forma general, las hojas de *Guatteria amplifolia* guardan una correlación entre la forma, tamaño y muy probablemente con la arquitectura foliar y las variables ambientales relacionadas con la disposición de agua. El tamaño es menor y las formas del ápice y la base tienden a ser más rectos bajo condiciones con menos humedad, poca precipitación, temperaturas cercanas a sus límites de distribución y suelos con mayor filtración. El tamaño es mayor y el ápice es más acuminado en ambientes con mayor disposición de agua. Por otra parte, aunque no se correlacionó con alguna variable ambiental, se observó que las últimas venas libres fue uno de los caracteres más variables dentro de la especie, difiriendo en el orden de venación y el tipo de ramificación.

Relacionado con lo anterior, se propone que pese a la variación en las características foliares analizadas, *Guatteria amplifolia* se trata de una misma entidad específica que presenta

plasticidad fenotípica asociada a las condiciones hídricas del lugar y de su capacidad para responder a las diferencias en el ambiente que se encuentra, reflejándose en el tamaño, forma y arquitectura foliar.

Uno de los principales aportes de este trabajo es la prueba y práctica de herramientas alternativas como la morfometría geométrica, que permiten contestar preguntas en las que anteriormente, desde la perspectiva morfológica eran más complejas de interpretar. Si bien, dicha técnica ha sido ampliamente desarrollada en el campo de la zoología, en botánica puede ser ampliamente aplicada, por lo que el empleo en esta tesis resulta valioso para su comparación con trabajos posteriores. Igualmente, los enfoques más comunes que se le ha dado a la morfometría geométrica en biología, radican en análisis filogenéticos como una forma de integrar caracteres morfológicos de manera estadística. Aquí se ofrece una perspectiva ecológica, como una opción diferente de emplearla.

Sin duda, el presente proyecto deja abiertas muchas más preguntas de las que logró contestar, no obstante esto abre camino a estudiar la variación morfológica de *Guatteria amplifolia* desde otras perspectivas. Un ejemplo claro es realizar un estudio morfométrico donde se incluyan individuos del resto de su distribución geográfica mundial, para contrastar la información obtenida aquí y así obtener un panorama más completo de los patrones morfológicos de la hoja. Igualmente, uno de muchos aspectos de la arquitectura foliar que queda pendiente por analizar es la densidad de las últimas venas libres, las cuales pueden aportar más información sobre la relación de la variación de las hojas con su ambiente. Finalmente, otra propuesta es estudiar la genética de poblaciones de la especie con el fin de refutar las conclusiones de este trabajo y tener un panorama más integrado y completo sobre la variabilidad de las hojas.

## **Referencias bibliográficas**

Ackerly D. Knight C.A. Weiss S. Barton K. Starmer K. 2002. Leaf size, specific leaf area and microhabitat distribution of chaparral woody plants: contrasting patterns in species level and community level analyses. *Oecologia*. 130: 449-457.

Adams D. Rohlf F.J. Slice D. 2013. A field comes of age: Geometric Morphometrics in the 21st Century. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*. 24(1): 7-14.

Bailey I.W., Sinnott E.W. 1916. The climatic distribution of certain types of angiosperms leaves. *American Journal of Botany*. 3(1): 24-39.

Bookstein F.L. 1996. Combining the tools of geometric morphometrics. In: Marcus L.F., Corti M., Loy A., Nylander G.J., Slice D. Advances in morphometrics. Plenum Press. New York. USA. Pp. 131-151.

Boyce C.K., Brodribb T.J., Field T.S., Zwieniecki M.A. 2009. Angiosperm leaf vein evolution was physiologically and environmentally transformative. *Proceedings of The Royal Society B* 276: 1771-1776.

Brodribb T.J. Field T.S. Jordan G.J. 2007. Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology*. 144: 1890-1898.

Bygrave P. 2000. Molecular systematics of Annonaceae Juss. PhD Thesis. Botany Department, School of Plant Sciences. The University of Reading. U.K.

Chatrou L.W., Pirie M.D., Erkens R.H.J., Couvreur T.L.P., Neubig K.M., Abbott J.R., Mols J.B., Maas J.W., Saunders R.M., Chase M.W. 2012. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. *Botanical Journal of Linnean Society*. 169: 5-40.

CONABIO. 2015. Divisiones florísticas de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. In: Rzedowski J. 2006. *Vegetación de México*. CONABIO. México.

Couvreur T.L.P., Pirie M.D., Chatrou L.W. *et al.* 2011. Early evolutionary history of the flowering plant family Annonaceae: steady diversification and boreotropical geodispersal. *Journal of Biogeography* 38: 664-680.

Couvreur T.L.P., Richardson J.E., Sosef M.S.M. *et al.* 2008. Evolutions of syncarpy and the other morphological characters in African Annonaceae: a posterior mapping approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47: 302-318.

Cronquist A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York USA. Pp. 53-55.

De Luna O.A. 2015. Análisis de caracteres morfológicos foliares para la delimitación taxonómica de tres especies del género *Quercus* sección *Quercus* (Fagaceae). Facultad de Ciencias. UNAM. Tesis de Licenciatura. 100 pp.

- Dilcher D.L. 1974. Approaches to the identification of angiosperm leaf remains. *The Botanical Review*. 40(1): 1-157.
- Dolph G. Dilcher D. 1980. Variation in leaf size with respect to climate in the tropics of the Western-hemisphere. *Bull Torrey Bot Club*. 107: 154-162.
- Doyle J. Sauquet H. Scharaschkin T. Le Thomas A. 2004. Phylogeny, molecular and fossil dating, and biogeographic history of Annonaceae and Myristicaceae (Magnoliales). *International Journal of Plant Sciences*. 165(4 Suppl.): s55-s67.
- Ellis B., Daly D.C., Hickey L.J., Johnson K.R., Mitchell J.D., Wilf P., Wing S.L. 2009. *Manual of leaf architecture*. New York Botanical Garden Press and Comstock Publishing Associates. Ithaca. New York. 190 pp.
- Erkens H.H.J., Chatrou L.W., Koek-Noorman J., Maas J.W., Maas P.J.M. 2007a. Classification of a large and widespread genus of Neotropical trees, *Guatteria* (Annonaceae) and its three satellite genera *Guatteriella*, *Guatteriopsis* and *Heteropetalum*. *Taxon*. 56(3): 757-774.
- Erkens R.H.J., Chatrou L.W., Maas J.W., Ginkel M.V.-van, Maas P.J.M. 2007c. Taxonomic problems in the Central American *Guatteria amplifolia*-complex (Annonaceae) cannot be elucidated by aflp analyses and sequence markers. *In*: Erkens R.H.J. (ed.) 2007. From morphological nightmare to molecular conundrum. Phylogenetic, evolutionary and taxonomic studies on *Guatteria* (Annonaceae). Pp. 101-115.
- Erkens R.H.J., Chatrou L.W., Maas J.W., Van der Niet T., Savolainen V. 2007b. A rapid diversification of forest trees (*Guatteria*; Annonaceae) following dispersal from Central into South America. *Molecular Phylogenetic and Evolution*. 44: 399-411.
- Erkens R.H.J., Westra L.Y.TH., Maas P.J.M. 2008. Increasing diversity in the species-rich genus *Guatteria* (Annonaceae). *Blumea* 53: 467-514.
- Erkens R.J.H., Maas J.W., Couvreur T.I.P. 2009. From Africa via Europe to South America: migrational route of a species-rich genus of Neotropical lowland rain forest trees (*Guatteria*, Annonaceae). *Journal of Biogeography*. 36: 2338-2352.
- Fonseca C. Overton J. Collins B. Westoby M. 2000. Shifts in trait combinations along rainfall and phosphorus gradients. *Journal of Ecology*. 88: 964-977.

Friis E. Crane P. Pedersen K. 2011. Early flowers and Angiosperm evolution. Cambridge University Press, Cambridge.

García E. 1990. Rangos de humedad. Escala 1:4,000,000. In: Atlas Nacional de México. (1990-1992). Climas. Tomo II. Sección IV. 4.10. Instituto de Geografía. UNAM. México.

García E. CONABIO. 1996. Climas. Escala 1: 1,000,000. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.

Gates D. 1980. Biophysical ecology. Springer-Verlag. New York.

Givnish T. 1987. Comparative studies of leaf form: assessing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constraints. *New Phytologist*. 106: 131-160.

Green W.A., Little S.A., Price C.A., Wing S.L., Smith S.Y., Kotrc B., Doria G. 2014. Reading the leaves: A comparison of leaf rank and automated areole measurement for quantifying aspects of leaf venation. *Applications in Plant Sciences*. 2(8): 1-14.

Guerrero G. 2014. Descripción e identificación a través de la arquitectura foliar de una hoja compuesta y foliolos dispersos del Eoceno de “La Popa”, Nuevo León, México. Facultad de Ciencias. UNAM. Tesis de Licenciatura. 68 pp.

Herbario CICY. 2010. Flora de la Península de Yucatán. <http://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/> Consultada el 8 de noviembre de 2018.

Hickey L.J. 1973. Classification of the architecture of Dicotyledonous leaves. *American Journal of Botany*. 60(1): 17-33.

Hickey L.T., Wolfe J.A. 1975. The bases of Angiosperm Phylogeny: Vegetative Morphology. Missouri Botanical Garden Press. 62(3): 538-589.

Hickey L.T., Taylor D.W. 1991. The leaf architecture of *Ticodendron* and the application of folial characters in discerning its relationships. Missouri Botanical Garden Press 78(1): 105-130.

INEGI. 2015. Mapa Digital de México. V. 6.1.0. México.

INIFAP-CONABIO. 1995. Edafología. Escala 1:250,000, 1:1,000,000. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias y la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.



IUSS Working Group WRB. 2015. Base referencial mundial del recurso suelo 2014. Actualización 2015. Sistema internacional de clasificación de suelos para la nomenclatura de suelos y la creación de leyendas de mapas de suelos. Informes sobre recursos mundiales de suelos 106. FAO. Roma.

Jaramillo N. 2011. Morfometría geométrica: principios teóricos y métodos de empleo. Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Colombia. Pp. 23.

Jiménez-Noriega P. Terrazas T. López-Mata L. Sánchez-González A. Vibrans H. 2017. Anatomical variation of five plant species along an elevation gradient in Mexico City basin within the Trans-Mexican Volcanic Belt, Mexico. *J. Mt. Sci.* 14(11): 2182-2199.

Kendall D.G. 1981. The statistics of shape. In: Barnett V. Interpreting multivariate data. John Wiley & Sons. New York. USA. Pp. 75-80.

Li P. Thomas D. Saunders R. 2017. Historical biogeography and ecological niche modelling of the *Asimina-Disepalum* clade (Annonaceae): Role of ecological differentiation in Neotropical-Asian disjunctions and diversification in Asia. *BMC Evol. Biol.* 17: 188. Doi: 10.1186/s12862-017-1038-4.

Li Y., Awashti N., Nosova N., Yao J.X. 2016. Comparative study of leaf architecture and cuticles of *Nelumbo changchangensis* from the Eocene of Hainan Island, China, and the two extant species of *Nelumbo* (Nelumbonaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society.* 180: 123-137.

Llinás H. Rojas C. 2006. Estadística descriptiva y distribuciones de probabilidad. Ediciones Uninorte. Colombia Pp. 408.

Luckow M. 2002. Anatomical features of the leaves in the *Dichrostachys* group (Leguminosae: Mimosoideae) and their utility for phylogenetic studies. *Systematic Botany.* 27(1): 29-40.

Maas P.J.M., Westra L.Y.T., Arias-Guerrero S., Lobao A.Q., Scharf U., Zamora N.A., Erkens R.H.J. 2015. Confronting a morphological nightmare: revision of the Neotropical genus *Guatteria* (Annonaceae). *Blumea* 60: 1-129.

Marcus L.F. 1990. Traditional morphometrics. In: Rohlf F.J., Bookstein F.L. (Eds.). Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop. Special Publication Number 2. Ann Arbor. University of Michigan Museum of Zoology. Michigan, USA. Pp. 77-122.

- Martínez-Cabrera D., Terrazas T., Ochoterena H. 2007. Leaf architecture of Hamelieae (Rubiaceae). Feddes Repertorium Weinheim. 118: 286-310.
- Martínez-Millán M., Cevallos-Ferriz S.R.S. 2005. Arquitectura foliar de Anacardiaceae. Revista Mexicana de Biodiversidad. 76(2): 137-190.
- Martínez-Velarde M.F. 2015. Revisión taxonómica de Annonaceae Juss. del estado de Guerrero, México. Facultad de Ciencias. UNAM. Tesis de Licenciatura. 118 pp.
- Massoni J. Couvreur T. Sauquet H. 2015. Five major shifts in diversification through the long evolutionary history of Magnoliidae (angiosperms). BMC Evol. Biol. 15: 49. Doi: 10.1186/s12862-015-0320-6.
- McDonald P. Fonseca C. Overton J. Westoby M. 2003. Leaf-size divergence along rainfall and soil-nutrient gradients: is the method of size reduction common among clades?. Functional Ecology. 17: 50-57.
- Mols J.B., Kleber P.J.A. 2003. Studies in the Miliuseae. V. Review of the taxonomic history of a polyphyletic "tribe". Telopea 10(1): 113-124.
- Navarro P. 2004. Variación en la morfología foliar de especies mediterráneas procedentes de sitios con diferente disponibilidad de suelo y agua. Naturzale. 18: 169-193.
- Nicotra A., Leigh A., Boyce K., Jones C., Niklas K., Royer D., Tsukaya H. 2011. The evolution and functional significance of leaf shape in the angiosperms. Functional Plant Biology. 38: 535-552.
- Nicotra A.B. 2010. Leaf size and shape. PrometheusWiki. Disponible en <http://prometheuswiki.publish.csiro.au/tiki-index.php?page=Leaf+size+and+shape> [visitada el 12 de Abril de 2018].
- Ortíz-Rodríguez A. Ornelas J. Ruíz-Sánchez E. 2018. A jungle tale: Molecular phylogeny and divergence time estimates of the *Desmopsis-Stenannona* clade (Annonaceae) in Mesoamerica. Molec. Phyl. Evol. 122: 80-94.
- Pirie M. Doyle J. 2012. Dating clades with fossils and molecules: The case of Annonaceae. Botanical Journal of Linnean Society. 169: 84-116.
- Reyes-Hernández V.J., Vargas J.J., López J., Vaquera H. 2005. Variación morfológica y anatómica en poblaciones mexicanas de Pseudotsuga (Pinaceae). Acta Botanica Mexicana. 70: 47-67.

- Richardson J.E. Chatrou L.W., Mols J.B. *et al.* 2004. Historical biogeography of two cosmopolitan families of flowering plants: Annonaceae and Rhamnaceae. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences* 359: 1495-1508.
- Rohlf F.J. 1996. Morphometric spaces, shape components and the effects of linear transformations. In: Marcus L.F., Corti M., Loy A., Naylor G.J., Slice D. (eds.): *Advances in morphometrics*. Plenum Press. New York. USA. Pp. 117-129.
- Rohlf F.J. 1999. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *J. Classification*. 16: 197-223.
- Rohlf F.J., Marcus L.F. 1993. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*. 8(4): 129-132.
- Rohlf F.J. 2016. tpsDig, digitize landmarks and outlines. V. 2.26. Department of Ecology and Evolution. State University of New York at Stony Brook. Disponible en: <http://life.bio.sunysb.edu/ee/rohlf/software.html>
- Rohlf F.J. 2016. tpsUtil, file utility program. V. 1.70. Department of Ecology and Evolution. State University of New York at Stony Brook. Disponible en: <http://life.bio.sunysb.edu/ee/rohlf/software.html>
- Rojas A. 2014. Análisis de la arquitectura foliar de la tribu Senecioneae (Asteraceae) de México y su significado filogenético. Instituto de Biología. UNAM. Tesis de Doctorado. México. 137 pp.
- Roth-Nebelsick A. Uhl D. Mosbrugger V. Kerp H. 2001. Evolution and function of leaf venation architecture: a review. *Annals of botany*. 87: 553-566.
- Royer D. Wilf P. Janesko D. Kowalski E. Dilcher D. 2005. Correlations of climate and plant ecology to leaf size and shape: potential proxies for the fossil record. *American Journal of Botany*. 92(7): 1141-1151.
- Royer D. McElwain J. Adams J. Wilf. P. 2008. Sensitivity of leaf size and shape to climate within *Acer rubrum* and *Quercus kelloggi*. *New Phytologist*. 179: 808-817.
- Royer D. Meyerson L. Robertson K. Adams J. 2009. Phenotypic plasticity of leaf shape along temperature gradient in *Acer rubrum*. *Plos One*. 4(10): 1-7.

Rzedowski J. 2006. Vegetación de México. 1° Edición Digital. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. pp 505.

Rzedowski J., Reyna-Trujillo T. 1990. División florística. Escala 1: 8,000,000. In: Trópicos Biogeográficos (provincias, matorral xerófilo y cactáceas). Tomo II. Sección IV. Atlas Nacional de México (1990-1992). Instituto de Geología. UNAM. México.

Sack L., Scoffoni C. 2013. Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New Phytologist* 198: 983-1000.

Sandoval E. 2005. Cuadernos 38. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Instituto de Biología. UNAM. México. 278 pp.

Saunders R.M.K. 2012. The diversity and evolution of pollination systems in Annonaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 69: 222-244.

Scharaschkin T. Doyle J. 2005. Character evolution in *Anaxagorea* (Annonaceae). *American Journal of Botany*. 93: 36-54.

Schmerler S.B., Clement W.L., Beaulieu J.M., Chatelet D.S., Sack L., Donoghue M.J., Edwards E.J. 2012. Evolution of leaf form correlates with tropical-temperate transitions in *Viburnum* (Adoxaceae). *Proceedings of The Royal Society B* 279: 3905-3913.

Scoffoni C. Rawls M. McKown A. Cochard H. Sack L. 2011. Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: relationship to leaf size and venation architecture. *Plant Physiology*. 156: 832-843.

Sheets H.D. 2006. Software IMP (Integrated Morphometric Package). Department of Physics. Canisius College, Buffalo. New York. 14260. <http://www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html>. Consultado el 3 de mayo de 2018.

Simpson M.G. 2010. *Plant Systematics*. Second Ed. Elsevier. China. Pp.192.

Slice D.E. 2007. Geometric Morphometrics. *Ann. R. Anthr.* 36: 261-281.

Smith W. Nobel P. 1977. Temperature and water relations for sun and shade leaves of a desert broadleaf, *Hyptis emoryi*. *Journal of Experimental Botany*. 28: 169-183.

- Srivastava G., Mehrotra R.C. 2013. First fossil record of *Alphonsea* Hk. F. & T. (Annonaceae) from the Late Oligocene Sediments of Assam, India and comments on its phytogeography. PLoS ONE 8(1): e53177. Doi: 10.1371/journal.pone.0053177
- Stevens, P. F. 2001 (onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2012 [consultado en agosto de 2018] <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Su Y.C.F., Saunders R.M.K. 2009. Evolutionary divergence times in the Annonaceae: evidence of late Miocene origin of *Pseuduvaria* in Sundaland with subsequent diversification in New Guinea. Evolutionary Biology 9: 153. Doi: 10.1186/1471-2148-9-153.
- The Angiosperm Phylogeny Group. 2016. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. Botanical Journal of the Linnean Society 181: 1-20.
- Toro M.V., Manriquez S.G., Suazo G.I. 2010. Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. Int. J. Morphol. 28(4): 977-990.
- Tsukaya H.. 2006. Mechanism of Leaf-shape determination. Annu. Rev. Plant. Biol. 57: 477-496.
- Vidal-Zepeda R. 1990. Precipitación media anual. Escala 1:4,000,000. In: Atlas Nacional de México. 1900-1992. Precipitación. Tomo II. Sección IV, 4.6. Instituto de Geografía. UNAM. México.
- Vidal-Zepeda R. 1990. Temperatura media anual. Escala 1:4,000,000. In: Atlas Nacional de México. 1900-1992. Temperatura media. Tomo II. Sección IV 4.4. Instituto de Geografía. UNAM. México.
- Viscosi V., Cardini A. 2011. Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: A simplified protocol for beginners. PLoS ONE. 6(10): 1-20.
- Wang Y.F., Ferguson D.K., Zetter R., Denk T., Garfi G. 2001. Leaf architecture and epidermal characters in *Zelkova*, Ulmaceae. Botanical Journal of Linnean Society. 136: 255-265.
- Wheeler E. Srivastava R. Manchester S. Baas P. 2017. Surprisingly modern: Latest Cretaceous – earliest Paleocene Woods of India. IAWA J. 38: 456-542.

Zelditch M.L., Swiderski D.L., Sheets H.D., Fink W.L. 2004. Geometric morphometric for biologist: a primer. Elsevier Academic Press. San Diego, USA. Pp. 1-20.

Zwieniecki M.A., Melcher P.J., Boyce C.K., Sack L., Holbrook N.M. 2002. Hydraulic architecture of leaf venation in *Laurus nobilis* L. *Plant Cell & Environment*. 25: 1445-1450.

## LISTA DE ANEXOS

**ANEXO 1.** Características de la arquitectura foliar que se analizarán en *Guatteria amplifolia*.

<b>Caracteres de la arquitectura</b>
Características de la terminación del ápice
Glándulas superficiales
Tipo de venación secundaria
Forma de la lámina
Forma del ápice
Forma de la base
Variación del ángulo de las venas mayores con respecto a la vena media
Venas intersecundarias
Tipo de venas terciarias
Curso de últimas venas marginales
Venas cuaternarias
Venas de quinto orden
Tipo de areolas
Terminación de las últimas venas libres

**ANEXO 2.** Técnica de aclarado de hojas, basado en Sandoval (2005) y Guerrero (2014).

La técnica de aclarado consiste en decolorar la hoja y hacer translúcidos los tejidos por medio de la aplicación de un agente decolorante para posteriormente teñir estructuras de nuestro interés y observarlas de una manera mejor. Con esta técnica es posible observar células epidérmicas, estomas, tricomas y patrones de venación.

El procedimiento es:

- Al tratarse de material herborizado, es necesario hervir las hojas de tres a cinco minutos para rehidratar los tejidos.
- Sumergir las hojas en 100 ml de solución NaOH al 20% por un máximo de 20 minutos o hasta que la solución se enfríe.
- Desechar la solución NaOH y agregar cloro al 20%. Dejar el material por 12 horas o hasta que se torne blanquecino.
- Lavar el material repetidas veces en agua corriente hasta que se elimine el exceso de cloro.
- Sumergir el material en alcohol al 50% durante algunas horas.
- Para la tinción del material, se introduce en una solución de safranina por 10 minutos o más, hasta que las hojas se encuentren completamente teñidas.
- Deshidratar gradualmente con etanol 50, 70, 96% y absoluto, de 5 a 10 minutos entre cada cambio.

- Para realizar el montaje, cada hoja se colocará entre dos rectángulos de vidrio, los cuales se sellarán con resina.

**ANEXO 3.** Tablas del análisis de Kruskal-Wallis para todas las variables ambientales.

*Tipo de vegetación*

<b>Variable</b>	<b>K</b>	<b>g.l.</b>	<b>P</b>
<b>Longitud</b>	29.273	9	0.001
<b>Ancho</b>	25.410	9	0.003
<b>Distancia B-A</b>	25.580	9	0.002
<b>Pecíolo</b>	26.076	9	0.002
<b>Ángulo ápice</b>	50.121	9	0.000
<b>Ángulo base</b>	20.015	9	0.018

*División florística*

<b>Variable</b>	<b>K</b>	<b>g.l.</b>	<b>P</b>
<b>Longitud</b>	9.061	2	0.011
<b>Ancho</b>	6.322	2	0.042
<b>Distancia B-A</b>	16.725	2	0.000
<b>Pecíolo</b>	10.129	2	0.006
<b>Ángulo ápice</b>	9.192	2	0.010
<b>Ángulo base</b>	24.099	2	0.000

*Clima*

<b>Variable</b>	<b>K</b>	<b>g.l.</b>	<b>P</b>
<b>Longitud</b>	36.939	9	0.000
<b>Ancho</b>	50.320	9	0.000
<b>Distancia B-A</b>	38.720	9	0.000
<b>Pecíolo</b>	20.272	9	0.016
<b>Ángulo ápice</b>	33.592	9	0.000
<b>Ángulo base</b>	42.005	9	0.018

*Precipitación*

<b>Variable</b>	<b>K</b>	<b>g.l.</b>	<b>P</b>
<b>Longitud</b>	19.183	5	0.002
<b>Ancho</b>	18.499	5	0.002
<b>Distancia B-A</b>	16.262	5	0.006
<b>Pecíolo</b>	16.358	5	0.006
<b>Ángulo ápice</b>	18.638	5	0.002
<b>Ángulo base</b>	14.059	5	0.015

*Humedad*

<b>Variable</b>	<b>K</b>	<b>g.l.</b>	<b>P</b>
<b>Longitud</b>	26.342	5	0.000



<b>Ancho</b>	13.482	5	0.019
<b>Distancia B-A</b>	26.686	5	0.000
<b>Ángulo base</b>	24.846	5	0.000

*Tipos de suelos*

<b>Variable</b>	<b>K</b>	<b>g.l.</b>	<b>P</b>
<b>Longitud</b>	43.002	12	0.000
<b>Ancho</b>	36.870	12	0.000
<b>Distancia B-A</b>	37.497	12	0.000
<b>Pecíolo</b>	34.327	12	0.001
<b>Ángulo ápice</b>	50.121	12	0.000
<b>Ángulo base</b>	33.587	12	0.001

*Temperatura media anual*

<b>Variable</b>	<b>K</b>	<b>g.l.</b>	<b>P</b>
<b>Longitud</b>	19.054	6	0.004
<b>Ancho</b>	30.256	6	0.000
<b>Distancia B-A</b>	13.775	6	0.032
<b>Pecíolo</b>	12.786	6	0.047
<b>Ángulo ápice</b>	25.918	6	0.000
<b>Ángulo base</b>	47.740	6	0.000

*Provincias biogeográficas*

<b>Variable</b>	<b>K</b>	<b>g.l.</b>	<b>P</b>
<b>Longitud</b>	25.848	6	0.000
<b>Ancho</b>	16.907	6	0.010
<b>Distancia B-A</b>	31.845	6	0.000
<b>Ángulo ápice</b>	13.947	6	0.030
<b>Ángulo base</b>	39.076	6	0.000

**ANEXO 4.** Lista de variables ambientales empleadas en los análisis morfométricos. Se desglosan las categorías encontradas para cada una de ellas (INEGI, 2017).

<b>Variable ambiental</b>	<b>Categoría o intervalo</b>
<b>División florística (CONABIO, 2015)</b>	Caribeña
	Mesoamericana de montaña
	Xerofítica
<b>Tipos de suelos (INIFAP-CONABIO, 1995)</b>	Luvisoles
	Andosoles
	Greysoles
	Nitrosiles
	Acrisoles
	Vertisoles
	Cambisoles
	Feozem
Regosoles	

	Rendzina
<b>Precipitación media anual (Vidal-Zepeda, 1990)</b>	800 a 1200 mm 1200 a 1500 mm 1500 a 2000 mm 2000 a 2500 mm 2500 a 4000 mm Más de 4000 mm
<b>Humedad (García, 1990)</b>	f (húmedo) m (húmedo) w1 (subhúmedo) w2 (subhúmedo)
<b>Temperatura media anual (Vidal-Zepeda, 1990)</b>	14 a 16°C (templado) 16 a 18°C (Templado) 18 a 20°C (Semicálido) 20 a 22°C (Semicálido) 22 a 24°C (Cálido) 24 a 26°C (Cálido)
<b>Provincia biogeográfica (Rzedowski &amp; Reyna-Trujillo, 1990)</b>	Costa del Golfo de México Serranías meridionales Sierra Madre Oriental Valle de Tehuacán-Cuicatlán Costa Pacífica Serranías Transmíticas Península de Yucatán
<b>Climas (García &amp; CONABIO, 1996)</b>	Aw2 (Cálido subhúmedo) C(m)(f) (Templado húmedo) (A)C(w2) (Semicálido subhúmedo del grupo C) (A)C(fm) (Semicálido húmedo del grupo C) Am (Cálido húmedo) Am(f) (Cálido húmedo) A(f) (Cálido húmedo) (A)C(m) (Subcálido húmedo del grupo C) Aw1 (Cálido subhúmedo) (A)C(m)(f) (Semicálido subhúmedo del grupo C) Aw1(x') (Cálido subhúmedo)

**ANEXO 5.** Tabla de información de colecta de las hojas aclaradas para este trabajo. Las letras concuerdan con el orden dado en las figuras 16 y 17.

<b>Hoja</b>	<b>Estado</b>	<b>Colector/Folio</b>	<b>No. Colecta</b>	<b>Herbario</b>
<b>A</b>	Tabasco	414640	743	MEXU
<b>B</b>	Veracruz	1282350	121	MEXU
<b>C</b>	Veracruz	1233041	43	MEXU
<b>D</b>	Oaxaca	665224	1336	MEXU
<b>E</b>	Chiapas	1322204	HGD2013	MEXU
<b>F</b>	Chiapas	1391929	604	MEXU
<b>G</b>	Veracruz	1271524	5	MEXU
<b>H</b>	Oaxaca	971722	5736	MEXU
<b>I</b>	Oaxaca	1413846	16799	MEXU
<b>J</b>	Chiapas	1111781	1430	MEXU
<b>K</b>	Oaxaca	246214	886	MEXU
<b>L</b>	Chiapas	590300	25389	MEXU
<b>M</b>	Guerrero	MG/NP	56MG	FCME
<b>N</b>	Veracruz	1364585	28471	MEXU

**ANEXO 6.** Tabla con media y desviación estándar de las medidas de morfometría tradicional para cada variable ambiental. Las letras de colores indican los grupos formados de acuerdo al análisis de Kurskal-Wallis

Variable ambiental	Categoría (mm)	Largo (cm)	Ancho (cm)	Distancia Base-Ancho (cm)	Largo peciolo (cm)	Ángulo ápice (grados)	Ángulo base (grados)
<b>Precipitación</b>	2000 a 2500	16.57±4.12 <sup>C</sup>	5.71±1.66 <sup>C</sup>	8.85±2.71 <sup>C</sup>	0.71±0.17 <sup>BC</sup>	69.95±49.66 <sup>C</sup>	88.89±26.56 <sup>AC</sup>
	1200 a 1500	9.95±0.85 <sup>AC</sup>	3.18±0.25 <sup>AC</sup>	4.17±0.38 <sup>AC</sup>	0.54±0.12 <sup>BC</sup>	43.19±2.81 <sup>AC</sup>	98.25±14.95 <sup>C</sup>
	800 a 1200	15.2±5.87 <sup>C</sup>	5.85±1.71 <sup>C</sup>	8.26±4.03 <sup>C</sup>	0.66±0.11 <sup>BC</sup>	69.92±15.77 <sup>BC</sup>	87.43±10.76 <sup>C</sup>
	2500 a 4000	16.96±4.02 <sup>C</sup>	5.58±1.43 <sup>C</sup>	8.89±2.77 <sup>C</sup>	0.71±0.18 <sup>BC</sup>	59.94±28.02 <sup>C</sup>	81.12±32.08 <sup>BC</sup>
	1500 a 2000	17.8±3.88 <sup>BC</sup>	6.2±1.58 <sup>BC</sup>	9.51±2.14 <sup>BC</sup>	0.74±0.18 <sup>C</sup>	66.14±16.75 <sup>C</sup>	88.27±17.79 <sup>C</sup>
	Más de 4000	19.68±2.72 <sup>BC</sup>	6.55±0.62 <sup>BC</sup>	10.62±2.76 <sup>BC</sup>	0.90±0.20 <sup>AC</sup>	62.79±15.71 <sup>C</sup>	95.02±13.09 <sup>C</sup>
<b>Clima</b>	C(m)(f)	21.55±2.33 <sup>BC</sup>	7.67±0.45 <sup>AE</sup>	12.64±1.34 <sup>BDE</sup>	0.67±0.12 <sup>C</sup>	79.03±19.10 <sup>AC</sup>	81.50±8.23 <sup>E</sup>
	(A)C(w2)	12.84±5.81 <sup>C</sup>	4.26±2.16 <sup>BE</sup>	6.15±3.96 <sup>DE</sup>	0.60±0.15 <sup>C</sup>	48.13±10.13 <sup>C</sup>	90.5±19.72 <sup>E</sup>
	(A)C(fm)	18.39±2.87 <sup>BC</sup>	6.27±0.71 <sup>DE</sup>	9.83±2.51 <sup>BE</sup>	0.82±0.20 <sup>AC</sup>	61.41±12.46 <sup>C</sup>	91.6±19.47 <sup>BE</sup>
	Am	16.93±3.96 <sup>BC</sup>	5.57±1.46 <sup>E</sup>	9.05±2.51 <sup>BE</sup>	0.73±0.17 <sup>C</sup>	59.92±13.94 <sup>C</sup>	84.9±32.1 <sup>BDE</sup>
	Am(f)	17.74±4.04 <sup>BC</sup>	6.41±1.6 <sup>DE</sup>	9.37±2.56 <sup>BE</sup>	0.72±0.19 <sup>C</sup>	81.73±65.86 <sup>C</sup>	97.55±25.65 <sup>BCE</sup>
	A(f)	15.95±4.48 <sup>C</sup>	5.36±1.64 <sup>BE</sup>	8.37±3.04 <sup>DE</sup>	0.66±0.16 <sup>BC</sup>	61.52±30.82 <sup>C</sup>	81.24±19.29 <sup>DE</sup>
	(A)C(m)	16.19±3.13 <sup>C</sup>	4.65±0.66 <sup>BCE</sup>	8.64±1.61 <sup>E</sup>	0.82±0.19 <sup>C</sup>	52.66±6.67 <sup>BC</sup>	60.46±7.64 <sup>AE</sup>
	Aw1	16.07±0.00 <sup>C</sup>	4.8±0.00 <sup>E</sup>	6.96±0.00 <sup>E</sup>	0.72±0.00 <sup>C</sup>	38.5±0.00 <sup>C</sup>	81.96±0.00 <sup>E</sup>
	(A)C(m)(f)	19.35±3.28 <sup>C</sup>	8.58±1.99 <sup>E</sup>	12.71±2.79 <sup>CE</sup>	0.66±0.12 <sup>C</sup>	100.7±0.38 <sup>C</sup>	82.17±7.17 <sup>E</sup>
Aw1(x')	10.67±1.46 <sup>AC</sup>	4.56±0.74 <sup>BE</sup>	5.14±1.14 <sup>AE</sup>	0.65±0.12 <sup>C</sup>	63.41±9.7 <sup>C</sup>	91.67±10.81 <sup>CE</sup>	
<b>Humedad</b>	Húmedo (f)	17.58±3.76 <sup>B</sup>	5.76±1.33 <sup>B</sup>	9.40±2.60 <sup>B</sup>	0.74±0.18 <sup>A</sup>	59.14±12.52 <sup>A</sup>	81.51±29.78 <sup>BC</sup>
	Húmedo (f)	16.72±4.28 <sup>B</sup>	5.85±1.74 <sup>B</sup>	8.92±2.83 <sup>B</sup>	0.71±0.18 <sup>A</sup>	71.27±49.38 <sup>A</sup>	88.29±24.74 <sup>BC</sup>
	Subhúmedo (w1)	10.96±2.09 <sup>A</sup>	4.2±0.88 <sup>A</sup>	5.04±1.88 <sup>A</sup>	0.63±0.12 <sup>A</sup>	55.63±13.27 <sup>A</sup>	92.58±11.67 <sup>C</sup>
	Subhúmedo (w2)	18.57±3.46 <sup>B</sup>	6.0±1.17 <sup>B</sup>	9.63±1.73 <sup>B</sup>	0.72±0.1 <sup>A</sup>	60.43±12.09 <sup>A</sup>	103.31±13.03 <sup>AC</sup>
<b>Temperatura media anual</b>	24-26°C	17.36±4.21 <sup>BC</sup>	6.1±1.51 <sup>BE</sup>	9.08±2.62 <sup>C</sup>	0.7±0.17 <sup>C</sup>	72.02±50.65 <sup>BC</sup>	93.92±21.34 <sup>AC</sup>
	22-24°C	15.6±4.06 <sup>AC</sup>	5.22±1.72 <sup>AE</sup>	8.53±2.94 <sup>AC</sup>	0.73±0.17 <sup>C</sup>	59.88±13.22 <sup>C</sup>	75.78±23.15 <sup>BC</sup>
	18-20°C	18.95±3.22 <sup>C</sup>	5.42±1.2 <sup>E</sup>	10.14±1.82 <sup>C</sup>	0.88±0.16 <sup>AC</sup>	52.84±7.86 <sup>C</sup>	59.16±6.77 <sup>BC</sup>
	20-22°C	17.1±4.25 <sup>C</sup>	5.33±1.26 <sup>CE</sup>	8.94±3.16 <sup>C</sup>	0.77±0.21 <sup>C</sup>	54.2±12.82 <sup>AC</sup>	81.92±21.69 <sup>C</sup>
	14-16°C	21.55±2.33 <sup>BC</sup>	7.67±0.45 <sup>BDE</sup>	12.64±1.34 <sup>BC</sup>	0.67±0.12 <sup>C</sup>	79.03±19.1 <sup>BC</sup>	81.5±8.23 <sup>C</sup>
	16-18°C	16.97±2.27 <sup>C</sup>	5.85±0.82 <sup>E</sup>	8.58±1.71 <sup>C</sup>	0.61±0.06 <sup>BC</sup>	64.03±8.8 <sup>C</sup>	109.47±70.18 <sup>C</sup>

<b>Tipo de vegetación</b>	Acahual	16.68±2.37 <sup>C</sup>	6.09±1.03 <sup>C</sup>	8.41±2.97 <sup>C</sup>	0.60±0.11 <sup>C</sup>	95.51±97.70 <sup>D</sup>	104.82±21.24 <sup>C</sup>
	Bosque tropical perennifolio	17.43±4.49 <sup>BC</sup>	5.87±1.66 <sup>C</sup>	9.13±2.84 <sup>BC</sup>	0.74±0.18 <sup>BC</sup>	59.19±12.69 <sup>BD</sup>	85.33±20.25 <sup>C</sup>
	Bosque tropical subcaducifolio	13.77±3.42 <sup>AC</sup>	5.06±1.42 <sup>BC</sup>	7.51±2.97 <sup>AC</sup>	0.63±0.18 <sup>AC</sup>	61.43±16.25 <sup>BD</sup>	88.35±14.82 <sup>C</sup>
	Bosque tropical caducifolio	15.87±3.06 <sup>C</sup>	5.56±0.96 <sup>C</sup>	8.46±2.38 <sup>C</sup>	0.64±0.09 <sup>C</sup>	62.4±10.42 <sup>D</sup>	106.12±85.72 <sup>C</sup>
	Bosque de galería	14.62±3.74 <sup>C</sup>	4.29±0.96 <sup>BC</sup>	6.81±2.29 <sup>C</sup>	0.59±0.12 <sup>C</sup>	44.27±6.64 <sup>D</sup>	93.42±18.18 <sup>C</sup>
	Bosque de Quercus	18.09±3.27 <sup>BC</sup>	6.35±1.09 <sup>C</sup>	10.54±2.16 <sup>BC</sup>	0.69±0.11 <sup>C</sup>	73.60±14.89 <sup>CD</sup>	90.63±9.94 <sup>C</sup>
	Bosque de coníferas	15.53±4.26 <sup>C</sup>	4.64±1.15 <sup>C</sup>	8.22±1.86 <sup>C</sup>	0.75±0.31 <sup>C</sup>	49.23±4.18 <sup>BD</sup>	68.69±7.9 <sup>C</sup>
	Bosque mesófilo de montaña	16.34±1.68 <sup>C</sup>	5.6±0.96 <sup>C</sup>	8.47±1.22 <sup>C</sup>	0.69±0.12 <sup>C</sup>	58.19±6.86 <sup>BD</sup>	81.89±26.87 <sup>C</sup>
	Otros	17.15±2.67 <sup>C</sup>	5.57±1.01 <sup>C</sup>	9.65±2.01 <sup>BC</sup>	0.77±0.16 <sup>C</sup>	64.16±12.73 <sup>D</sup>	74.2±28.5 <sup>AC</sup>
	NA	18.57±4.02 <sup>C</sup>	6.93±2.0 <sup>AC</sup>	10.21±2.53 <sup>BC</sup>	0.78±0.18 <sup>C</sup>	161.81±114.58 <sup>AD</sup>	108.42±47.85 <sup>BC</sup>
<b>División florística</b>	Caribea	16.66±4.27 <sup>AC</sup>	5.74±1.57 <sup>C</sup>	8.77±2.77 <sup>BC</sup>	0.71±0.18 <sup>AC</sup>	66.14±40.34 <sup>C</sup>	89.26±26.09 <sup>A</sup>
	Mesoamericana de montaña	18.98±2.63 <sup>BC</sup>	6.25±1.68 <sup>AC</sup>	10.92±2.12 <sup>AC</sup>	0.79±0.13 <sup>BC</sup>	68.71±18.88 <sup>BC</sup>	71.52±23.41 <sup>B</sup>
	Xerófitica	16.94±3.8 <sup>C</sup>	4.65±0.75 <sup>BC</sup>	9.04±1.85 <sup>C</sup>	0.86±0.23 <sup>C</sup>	51.21±6.91 <sup>AC</sup>	62.22±8.19 <sup>B</sup>
<b>Provincias biogeográficas</b>	Costa del Golfo de México	16.73±4.22 <sup>BC</sup>	5.76±1.6 <sup>C</sup>	8.82±2.78 <sup>BCE</sup>	0.71±0.18 <sup>A</sup>	66.55±41.94 <sup>A</sup>	88.37±26.76 <sup>BDEG</sup>
	Serranías meridionales	18.87±2.85 <sup>BC</sup>	5.96±1.66 <sup>C</sup>	10.7±2.23 <sup>BDE</sup>	0.81±0.14 <sup>A</sup>	64.91±17.94 <sup>B</sup>	67.4±24.17 <sup>CG</sup>
	Sierra Madre Oriental	18.68±0.51 <sup>C</sup>	6.36±0.29 <sup>C</sup>	10.91±0.63 <sup>BE</sup>	0.74±0.03 <sup>A</sup>	75.88±12.85 <sup>AB</sup>	94.63±12.34 <sup>G</sup>
	Valle de Tehuacán-Cuicatlán	16.94±3.8 <sup>C</sup>	4.65±0.75 <sup>BC</sup>	9.04±1.85 <sup>E</sup>	0.86±0.23 <sup>A</sup>	51.21±6.91 <sup>B</sup>	62.22±8.19 <sup>AG</sup>
	Costa pacífica	18.57±3.46 <sup>BC</sup>	6.0±1.17 <sup>C</sup>	9.63±1.73 <sup>BE</sup>	0.72±0.1 <sup>A</sup>	60.43±12.09 <sup>AC</sup>	103.31±13.03 <sup>BDFG</sup>
	Serranías transmíticas	20.07±2.63 <sup>BC</sup>	8.21±1.54 <sup>AC</sup>	12.5±2.0 <sup>BE</sup>	0.7±0.1 <sup>A</sup>	88.11±21.8 <sup>A</sup>	77.2±9.98 <sup>G</sup>
	Península de Yucatán	10.67±1.46 <sup>AC</sup>	4.56±0.74 <sup>BC</sup>	5.14±1.14 <sup>AE</sup>	0.65±0.12 <sup>A</sup>	63.41±9.7 <sup>A</sup>	91.67±10.81 <sup>G</sup>
<b>Tipo de suelo</b>	Luvisol	18.68±0.51 <sup>BC</sup>	6.36±0.29 <sup>D</sup>	10.91±0.63 <sup>C</sup>	0.74±0.035 <sup>C</sup>	75.88±12.15 <sup>A</sup>	94.63±12.34 <sup>E</sup>
	Andosol	16.03±4.02 <sup>C</sup>	5.41±1.49 <sup>D</sup>	8.47±2.81 <sup>C</sup>	0.67±0.16 <sup>AC</sup>	70.76±56.12 <sup>A</sup>	85.55±33.15 <sup>E</sup>
	Gleysol	18.86±3.93 <sup>BC</sup>	5.91±1.67 <sup>D</sup>	10.54±2.44 <sup>BC</sup>	0.78±0.21 <sup>C</sup>	62.8±19.07 <sup>A</sup>	70.25±12.64 <sup>BCE</sup>

Nitosol	17.53±5.2 <sup>BC</sup>	6.71±1.85 <sup>AD</sup>	9.37±3.03 <sup>C</sup>	0.79±0.26 <sup>C</sup>	61.73±7.97 <sup>A</sup>	99.22±14.53 <sup>AE</sup>
Acrisol	17.34±3.75 <sup>BC</sup>	6.0±1.56 <sup>D</sup>	9.07±2.53 <sup>BC</sup>	0.68±0.14 <sup>C</sup>	61.93±14.65 <sup>A</sup>	92.78±15.83 <sup>DE</sup>
Vertisol	16.97±4.91 <sup>C</sup>	6.24±1.8 <sup>D</sup>	8.62±2.51 <sup>C</sup>	0.76±0.17 <sup>C</sup>	68.98±18.9 <sup>A</sup>	87.66±14.52 <sup>E</sup>
Acrisol	19.19±2.93 <sup>BC</sup>	6.40±0.69 <sup>BD</sup>	10.42±2.72 <sup>BC</sup>	0.86±0.20 <sup>BC</sup>	62.25±14.43 <sup>A</sup>	93.58±14.27 <sup>E</sup>
Cambisol	17.59±2.99 <sup>BC</sup>	5.33±1.35 <sup>D</sup>	9.51±2.23 <sup>BC</sup>	0.8±0.15 <sup>C</sup>	58.92±15.42 <sup>A</sup>	74.88±31.64 <sup>BE</sup>
Feozem	17.87±4.27 <sup>BC</sup>	6.23±1.91 <sup>D</sup>	9.53±2.60 <sup>BC</sup>	0.75±0.15 <sup>C</sup>	61.81±16.42 <sup>A</sup>	87.3±21.3 <sup>E</sup>
Regosol	14.71±2.52 <sup>C</sup>	4.77±0.55 <sup>D</sup>	8.23±1.91 <sup>C</sup>	0.55±0.12 <sup>C</sup>	58.99±13.63 <sup>A</sup>	86.03±5.47 <sup>E</sup>
NA	23.32±1.31 <sup>BC</sup>	6.88±0.11 <sup>D</sup>	12.58±2.09 <sup>BC</sup>	0.78±0.04 <sup>C</sup>	54.15±1.54 <sup>A</sup>	92.52±6.14 <sup>E</sup>
Rendzina	10.67±1.46 <sup>AC</sup>	4.56±0.74 <sup>C</sup>	5.14±1.14 <sup>AC</sup>	0.65±0.12 <sup>C</sup>	63.41±9.7 <sup>A</sup>	91.67±10.81 <sup>E</sup>

