



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE BIOLOGÍA**

**SISTEMÁTICA**

**Anatomía sistemática del género *Nahuatlea*, Asteraceae**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**Lourdes Berenice Sandoval García**

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Teresa Margarita Terrazas Salgado**  
Instituto de Biología, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. María del Rosario Lucía Redonda Martínez**  
Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío  
**Dr. José Luis Villaseñor Ríos**  
Instituto de Biología, UNAM

**Ciudad Universitaria, CD. MX.**

**Diciembre, 2022**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE BIOLOGÍA**

**SISTEMÁTICA**

**Anatomía sistemática del género *Nahuatlea*, Asteraceae**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**Lourdes Berenice Sandoval García**

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Teresa Margarita Terrazas Salgado**  
Instituto de Biología, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. María del Rosario Lucía Redonda Martínez**  
Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío  
**Dr. José Luis Villaseñor Ríos**  
Instituto de Biología, UNAM

**COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE BIOLOGÍA**

**OFICIO CPCB/1040/2022**

**ASUNTO: Oficio de Jurado**

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

Me permito informar a usted que el Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **19 de septiembre de 2022** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **SISTEMÁTICA** de la estudiante **SANDOVAL GARCÍA LOURDES BERENICE** con número de cuenta **415037923** con la tesis titulada “**Anatomía sistemática del género *Nahuatlea*, *Asteraceae*”**, realizada bajo la dirección de la **DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO** quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. MARÍA HILDA FLORES OLVERA  
Vocal: DRA. SUSANA VALENCIA ÁVALOS  
Vocal: DR. OSWALDO TÉLLEZ VALDÉS  
Vocal: DRA. SILVIA AGUILAR RODRÍGUEZ  
Secretario: DR. JOSÉ LUIS VILLASEÑOR RÍOS

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

**ATENTAMENTE**  
**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 14 de noviembre de 2022

**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**



## **Agradecimientos institucionales**

Al posgrado en Ciencias biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme continuar con mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, CVU: 1084738), por el apoyo económico recibido durante la realización de mis estudios.

A los miembros del comité Tutor:

Dra. Teresa Terrazas Salgado, Dra. Ma. Del Rosario Redonda Martínez y Dr. José Luis Villaseñor Ríos, agradezco infinitamente su disposición para formar parte del comité, así como cada uno de sus valiosos y acertados comentarios, consejos y críticas que enriquecieron este trabajo.

## **Agradecimientos a título personal**

A la Dra. Teresa Terrazas, a quien le tengo un gran cariño y admiración; por todo su apoyo, y paciencia, que me ha dedicado, gracias por cada pregunta realizada y por cada duda resuelta, pero sobre todo por transmitirme sus amplios conocimientos del mundo anatómico.

A la Dra. Rosario Redonda, por ser mi guía en el mundo de las compuestas.

Al Dr. José Luis Villaseñor, por su gran apoyo, comentarios, revisiones y charlas tan emotivas que impulsan a continuar.

A los miembros del jurado, por su tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y sus comentarios valiosos para mejorar el trabajo.

A todos mis compañeros del cubículo A-105, que tuve la fortuna de conocer desde mi último semestre, gracias por hacerme los días tan divertidos con sus pláticas, experiencias y buenos consejos, después de una pandemia tan complicada: Diana, Marco, Agustín, Dani, Marysol, Alice y Rosa.

A verónica Rodríguez Sánchez, por escucharme y levantarme los ánimos, siempre tuviste palabras de aliento que me motivaron a continuar.

Especialmente le agradezco a Luis Morales, por ser mi compañero en esta aventura. Gracias por tu optimismo, consejos, paciencia, por estar siempre ahí escuchándome, animándome en las buenas y las malas. Por compartirme tu pasión por la botánica, tus enseñanzas en el campo y la dedicación y empeño con el que haces tu trabajo. Te agradezco infinitamente los momentos y el tiempo que seguimos compartiendo.

*Agradezco y dedico este trabajo a mi familia.*

*Gracias a mis padres por todo lo que me han enseñado,*

*su interminable paciencia, valiosos consejos,*

*todo su apoyo y el amor incondicional*

*que me brindan en todo momento.*

## ÍNDICE

Resumen .....	1
Abstract.....	3
I. Introducción .....	5
2. Objetivos.....	10
3. Antecedentes.....	11
4. Materiales y método .....	15
5. Resultados.....	25
6. Discusión .....	50
7. Conclusiones.....	61
8. Referencias bibliográficas .....	62
Apéndice I.....	76
Apéndice II.....	80
Apéndice III.....	88

## Resumen

*Nahuatlea* es un género de la tribu Gochnatieae, conformado por seis especies, de las cuales cinco, son endémicas de México, con distribución en zonas áridas y semiáridas de México y el sur de los E.U.A. Sin embargo, con evidencia molecular, en la clasificación más reciente, se le ha considerado como grupo parafilético. Por lo que este trabajo se desarrolló sustentado la hipótesis, de que existen caracteres morfo-anatómicos que apoyan la circunscripción de *Nahuatlea* respecto a sus grupos hermanos. El objetivo central de este estudio fue analizar los caracteres morfo-anatómicos de *Nahuatlea* y sus grupos hermanos e incluirlos junto con evidencia molecular para evaluar sus relaciones filogenéticas. Para ello se revisaron ejemplares de herbario correspondientes a los géneros *Nahuatlea*, *Tehuasca* y *Anastraphia*, con los cuales se realizaron análisis morfométricos por medio de diferentes métodos multivariados, para identificar los caracteres que apoyen el reconocimiento de *Nahuatlea*. También se realizaron colectas de hojas y tallos de las diferentes especies, las cuales se analizaron mediante técnicas convencionales de microtecnia para obtener y describir los caracteres cualitativos y cuantitativos, y por último se aplicaron análisis filogenéticos combinados de Máxima parsimonia e Inferencia bayesiana. Los caracteres morfológicos que apoyaron la delimitación de especies fueron, el largo de las hojas, alto y ancho del involucre, longitud de la serie interna de filarios, largo de la corola y el vilano, el tipo de inflorescencia, forma del involucre y la presencia de glándulas en la corola. Así mismo los caracteres con valor taxonómico en la madera fueron el tipo de porosidad, arreglo de los vasos, la apertura de las punteaduras intervasculares, el porcentaje de la pared de las fibras, y el número de series en los radios; los vasos con patrón diagonal son exclusivos de *N. hypoleuca*. En la hoja, los caracteres con valor taxonómico son, los patrones de venación, la presencia de

extensiones de vaina e hipodermis; las vénulas ramificadas e hipodermis de un estrato son caracteres exclusivos de *N. purpusii*. En el análisis filogenético combinado, se recuperó a *Nahuatlea* como grupo monofilético, sustentada por sinapomorfias morfo-anatómicas, como la ausencia de glándulas en la corola, el porcentaje de la pared de las fibras y los radios bi o tri seriados, destacando que los análisis combinados mejoran la resolución de los clados y produce una filogenia mejor sustentada. En conclusión, se demostró la existencia de caracteres morfo-anatómicos que apoyan la circunscripción de *Nahuatlea* y lo diferencian de sus grupos hermanos *Tehuasca* y *Anastraphia*.

## Abstract

*Nahuatlea* is a genus of the Gochnatieae tribe, made up of six species, of which five are endemic to Mexico, with distribution in arid and semi-arid zones of Mexico and the southern United States. However, with molecular evidence, in the most recent classification, it has been considered as a paraphyletic group. Therefore, this work was developed based on the hypothesis that there are morpho-anatomical characters that support the *Nahuatlea* district with respect to its sister groups. The central objective of this study was to analyze the morpho-anatomical characters of *Nahuatlea* and its sister groups and include them together with molecular evidence to evaluate their phylogenetic relationships. For this, herbarium specimens corresponding to the *Nahuatlea*, *Tehuasca* and *Anastraphia* genera were reviewed, with which morphometric analyzes were carried out using different multivariate methods, to identify the characters that reinforced the recognition of *Nahuatlea*. Collections of leaves and stems of the different species were also made, which were analyzed using conventional microtechnical techniques to obtain and describe the qualitative and quantitative characters, and finally combined phylogenetic analyzes of Maximum Parsimony and Bayesian Inference were applied. The morphological characters that supported the delimitation of species were the length of the leaves, height and width of the involucre, length of the internal series of filaria, length of the corolla and pappus, the type of inflorescence, shape of the involucre and the presence of glands in the corolla. Likewise, the characters with taxonomic value in the wood were the type of porosity, arrangement of the vessels, the opening of the intervessel pits, the percentage of the fiber wall, and the number of series in the rays; vessels with a diagonal pattern are unique to *N. hypoleuca*. In the leaf, the characters with taxonomic value are the venation patterns, the presence of sheath extensions and

hypodermis; the branching venules and hypodermis of one layer are characters exclusive to *N. purpusii*. In the combined phylogenetic analysis, *Nahuatlea* was recovered as a monophyletic group, supported by morpho-anatomical synapomorphies, such as the absence of glands in the corolla, the percentage of the fiber wall and the bi- or tri-serial rays, highlighting that the analyzes combined they improve the resolution of the clades and produce a better supported phylogeny. In conclusion, the existence of morpho-anatomical characters that support the circumscription of *Nahuatlea* and differentiate it from its sister groups *Tehuasca* and *Anastraphia* was demonstrated.

## I. Introducción

Asteraceae es una familia megadiversa que comprende el 10% de las angiospermas a nivel mundial con aproximadamente 25 mil especies (Mandel et al., 2019). Es la familia de plantas más grande de México con 417 géneros, 3113 especies y más del 60% son endémicas (Villaseñor, 2018). La familia se reconoce como un grupo monofilético debido a varias sinapomorfias que incluye flores dispuestas en una inflorescencia llamada “capitulum”, la modificación del cáliz sobre un vilano y los estambres singenésicos en los que el polen queda expuesto por el estilo bífido (Bremer, 1994; Funk et al., 2009).

Esta familia se conforma por 13 subfamilias y 45 tribus (Mandel et al., 2019). La tribu Gochnatieae (Gochnatioideae), es un grupo monofilético y hermano de aproximadamente el 95% de todas las especies de la familia (Funk et al., 2014). Se caracteriza por presentar anteras apiculadas, ramas del estilo cortas, redondas y lisas y un vilano de 25 a 80 cerdas en una a tres series (Freire et al., 2002). En la clasificación más reciente de la tribu se incluyen diez géneros y 95 especies (Gostel et al., 2022). En México la tribu está representada por dos géneros nativos, *Nahuatlea* y *Tehuasca* y siete especies (Funk et al., 2017; Panero, 2019).

Funk et al. (2017) circunscribieron al género *Nahuatlea* V.A. Funk (Gochnatieae, Asteraceae) como grupo monofilético con siete especies, conformado por árboles y arbustos monoicos, caracterizados por tener hojas corto-pecioladas o sésiles con márgenes enteros, inflorescencias corimbosas o en glomérulos, cabezuelas sésiles o con pedúnculos cortos, tomentosos, corolas actinomorfas profundamente 5-lobuladas y vilano de cerdas, uni o biseriado, con distribución en zonas áridas y semiáridas de México y el sur de los E.U.A. (Figura 1). Sin embargo, en los esfuerzos por establecer clasificaciones genéricas en la subfamilia, Panero (2019) usó evidencia molecular, morfología de las corolas y diversidad

de tricomas, en un estudio filogenético mediante el cual identificó a *Nahuatlea* como grupo parafilético y segregó a *Tehuasca magna* (= *Nahuatlea magna* (M.C. Johnst. ex Cabrera) V.A. Funk) como género monoespecífico, clasificándolo como el grupo hermano de *Nahuatlea*, y *Anastraphia*, por lo que actualmente se reconocen seis especies de *Nahuatlea* (Figura 2). *Nahuatlea* es un género reconocido recientemente, pero cuya delimitación genérica sigue siendo controversial.

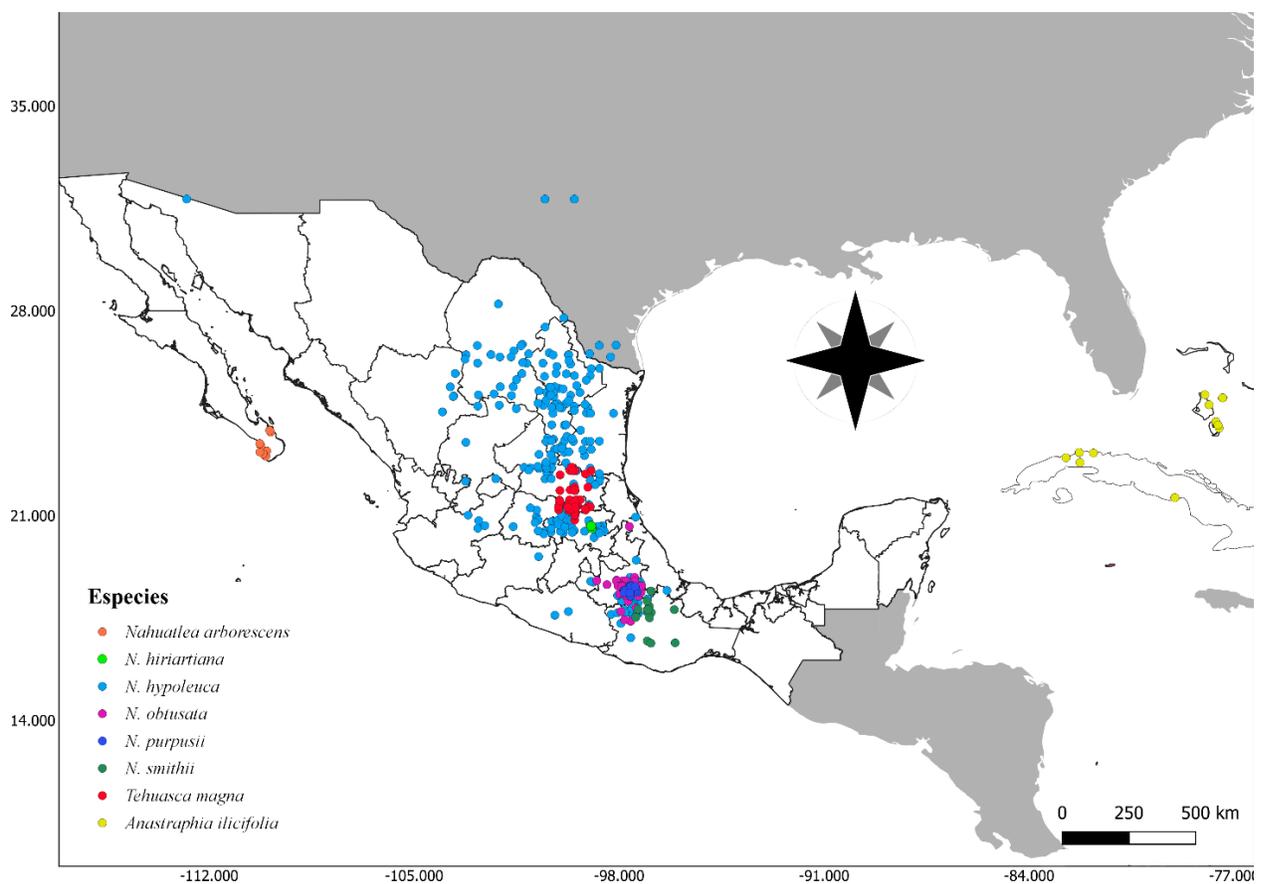


Figura 1. Distribución geográfica de las especies de los géneros *Anastraphia*, *Nahuatlea* y *Tehuasca*.



Figura 2. Especies de los géneros *Anastraphia*, *Nahuatlea* y *Tehuasca*. A. *Nahuatlea arborescens*; B. *N. hiriartiana*; C. *N. hypoleuca*; D. *N. obtusata*; E. *N. purpusii*; F. *N. smithii*; G. *Tehuasca magna*; H. *Anastraphia ilicifolia*.

Los métodos multivariados son una herramienta de gran utilidad en la sistemática pues algunos permiten analizar una gran cantidad de variables y encontrar relaciones entre las unidades taxonómicas operacionales (OTU por sus siglas en inglés; McGarigal et al., 2000). Existen estudios que han utilizado estos métodos basados en caracteres morfológicos para el reconocimiento de especies en diversas familias de plantas (Arroyo- Cosultchi et al.,

2010; Kaplan y Marhold, 2012; Sánchez et al., 2013; Finot et al., 2018; Trigas et al., 2018; Martínez-Quezada et al., 2019) y de manera específica en Asteraceae (Chmielewski et al., 1990; Leonard et al., 2005; Owen et al., 2006; Posiedlik et al., 2016; Semple et al., 2019; Villarreal-Quintanilla et al., 2020).

Por otro lado, se ha documentado que las evidencias anatómicas pueden apoyar o refutar la circunscripción de géneros y especies con caracteres foliares (Sandoval-Zapotitla y Terrazas, 2001; Sandoval-Zapotitla et al., 2003; Andrés-Hernández y Terrazas, 2006; Andrés-Hernández et al., 2014; Solano et al., 2017; Redonda-Martínez, 2018; da Silva-Luz et al., 2019; Rivera et al., 2019) y de la madera (Terrazas y Wendt, 1995; Aguilar-Rodríguez y Terrazas, 2001; Aguilar-Rodríguez y Barajas-Morales, 2005; Terrazas et al., 2005; Martínez-Cabrera et al., 2015; Montaña-Arias et al., 2016; Ramírez-Martínez et al., 2017; De la Rosa-Tilapa et al., 2018; León-H. y Gámez-A., 2018; Ruíz-Valencia et al., 2021). Así mismo, la arquitectura foliar es un elemento que ha demostrado su utilidad principalmente con fines taxonómicos (Ravindranath e Inamdar, 1985; Todzia y Keating, 1991; Martínez-Cabrera et al., 2007; Cervantes et al., 2009; Pacheco-Trejo et al., 2009; Tejero-Díez et al., 2010; Rojas-Leal et al., 2014, 2018; Rivera et al., 2019; Rabie y Elbadry, 2020; Mar-Jiménez y Vargas-Simón, 2021).

Los análisis filogenéticos han demostrado su importancia para robustecer las clasificaciones taxonómicas, evidenciando que se requiere analizar diversas disciplinas que contribuyan a resolver relaciones filogenéticas y los patrones de evolución en los grupos biológicos con circunscripción controversial (Nixon y Carpenter, 1996; Nixon y Ochoterena, 2000; Dayrat, 2005; Yu et al., 2016; Martínez-Domínguez, 2018; Sánchez et al., 2019). La inclusión de múltiples caracteres para realizar un análisis filogenético combinado (de

evidencia total o análisis simultáneo), aumenta la resolución de los clados, produce una filogenia mejor sustentada y permite una mejor explicación de los datos (Nixon y Carpenter, 1996; Gravendeel y De Vogel, 2002; De Sousa et al., 2007; Sandoval-Zapotitla et al., 2010; Gutiérrez et al., 2017; Martínez-Domínguez, 2018; Sánchez et al., 2019).

Los trabajos que han abordado al género *Nahuatlea* se han centrado en dilucidar su posición filogenética, principalmente con evidencia molecular, dejando de lado los caracteres morfológicos y anatómicos que podrían ser útiles en la delimitación infragenérica e infraespecífica. Por lo que, a la fecha, se carecen de estudios donde se incluyan caracteres morfo-anatómicos, que apoyen el reconocimiento de las especies de *Nahuatlea* y de sus grupos hermanos, se propone estudiar estos caracteres e incluirlos junto con la evidencia molecular para evaluar sus relaciones filogenéticas.

## 2. Objetivos

### Objetivo general

Identificar los caracteres morfo-anatómicos que apoyan la circunscripción y sus relaciones filogenéticas de las especies de *Nahuatlea* y *Tehuasca*.

### Objetivos particulares

- Identificar los caracteres morfométricos que permitan apoyar el reconocimiento de las especies de *Nahuatlea* y *Tehuasca* mediante el uso de métodos multivariados.
- Describir la arquitectura y anatomía foliar, así como la anatomía de madera en *Nahuatlea* y sus grupos hermanos *Tehuasca* y *Anastrophia* con la intención de evaluar y registrar evidencias con posible valor sistemático.
- Inferir las relaciones filogenéticas de *Nahuatlea*, mediante la integración de la evidencia morfo-anatómica y molecular para identificar los caracteres que apoyan la circunscripción de las especies de *Nahuatlea* y *Tehuasca*.

### 3. Antecedentes

#### Historia taxonómica

Lagasca (1811) reconoció un grupo de géneros de Compuestas con flores bilabiadas denominadas Chaenanthophorae, a los que más tarde Cassini (1819) describió como tribu Mutisieae que consistían en plantas herbáceas generalmente tomentosas, con hojas alternas y sésiles; corolas de disco amarillas, rara vez púrpuras o blancas, las radiadas amarillas, naranjas o moradas.

El género *Gochnatia*, fue clasificado en la tribu Mutisieae y descrito por primera vez en 1820 por Humboldt, Bonpland y Kunth en *Species Plantarum*. Este género fue dedicado a Frédéric Charles Gochnat de Strassburg, botánico francés que escribió sobre las Cichoriaceae en 1808; así mismo, describieron e ilustraron a *Gochnatia vernonioides* como la única especie recolectada en Perú. Posteriormente, Lessing (1832) propuso tres subgéneros de *Gochnatia*: *Gochnatia*, el cual incluía arbustos con capítulos solitarios, con distribución en América del Sur; *Hedraiophyllum* donde agrupó dos especies herbáceas de Brasil y *Leucomeris*, en el que clasificó arbustos de Nepal con capítulos paucifloros, fasciculados. En *Genera Plantarum* (1873) Bentham y Hooker propusieron segregar de *Gochnatia* a los subgéneros *Anastraphia* (4 especies), *Gochnatia* (10 especies) y *Leucomeris* (1 especie).

Más adelante se describieron y clasificaron diversos taxones en el género, en 1950 se contaba con 45 especies distribuidas de la siguiente forma: 10 de los Andes tropicales, seis chilenas, 23 del sudeste de Brasil, Paraguay, Uruguay y noreste de Argentina y seis especies mexicanas y del sur de Estados Unidos de América, siendo estas últimas: *Gochnatia hypoleuca* (DC.) A. Gray (1884), *Gochnatia smithii* B.L. Rob & Greenm (1896), *Gochnatia*

*arborescens* Brandege (1903), *Gochnatia purpusii* Brandege (1906), *Gochnatia obtusata* S.F. Blake (1924) y *Gochnatia magna* M.C. Johnst. ex Cabrera (1971).

A mediados del siglo XX, Jervis (1954) analizó minuciosamente los caracteres morfológicos de *Gochnatia* y propuso cinco subgéneros 1) *Anastraphioides* Jervis, 2) *Gochnatia* Less., 3) *Hedraiophyllum* Less., 4) *Moquinia* (Dc.) Jervis. y 5) *Pentaphorus* (Don) Less., con un total de 71 especies (25 del Caribe, cinco mexicanas, 20 sudamericanas monoclinas, 19 sudamericanas diclinas y dos asiáticas).

Con base en caracteres morfológicos y de distribución geográfica, Cabrera (1971) realizó la primera revisión taxonómica de *Gochnatia* e identificó seis grupos: *Discoseris*, *Gochnatia*, *Hedraiophyllum*, *Leucomeris*, *Pentaphorus* y *Moquiniastrium*. Estos se distinguen por presentar corolas isomorfas, actinomorfas, profundamente pentasectadas; anteras con apéndices apiculados; estilos bífidios, redondeados en el ápice; vilano de numerosas cerdas ásperas, dispuestas en una o más series. Sin embargo, recalcó que el grupo *Hedraiophyllum* era una sección poco natural porque sus especies eran muy diferentes entre sí morfológicamente, y geográficamente se distribuían en áreas heterogéneas. Este grupo estaba conformado por siete especies, cinco con distribución en México y el sur de E.U.A. (*Gochnatia arborescens*, *G. hypoleuca*, *G. magna*, *G. purpusii* y *G. smithii*) y dos en Brasil (*Gochnatia cordata* y *G. palosanto*).

Así mismo, Cabrera (1977) realizó la primera circunscripción integral, definiendo a la tribu Mutisieae por sus corolas bilabiadas, anteras caudadas y su peculiar forma del estilo. Propuso cuatro subtribus con base en caracteres de las cabezuelas, formas de la corola y ramas del estilo (Barnadesiinae, Gochnatiinae, Mutisiinae y Nassauviinae) e indicó que muchos géneros alojados en las primeras tres subtribus presentaban heterogeneidad

morfológica, por lo que era difícil delimitar a Mutisieae con precisión; por lo tanto, la consideró como un grupo polifilético. La subtribu Gochnatiinae incluyó los géneros: *Cnicothamnus* Griseb, *Cyclolepsis* Gill ex D. Don, *Gochnatia* Kunth y *Richterago* Kuntze (incluyendo *Actinoseris* (Endl.) Cabrera).

El segundo tratamiento para *Gochnatia* fue realizado por Freire et al. (2002), quienes circunscribieron ocho subgéneros: *Anastraphioides*, *Discoseris*, *Glomerata* (incluyó tres especies mexicanas, agrupadas en *Hedraiophyllum sensu* Cabrera: *G. arborescens*, *G. magna* y *G. purpusii*), *Gochnatia*, *Hedraiophyllum*, *Leucomeris* (con dos especies mexicanas, ubicadas en *Hedraiphyllum sensu* Cabrera: *G. hypoleuca* y *G. smithii*), *Pentaphorus* y *Rotundifolia*. Estos grupos se reconocieron por tener apéndices agudos en las anteras y ramas del estilo con una superficie dorsal papilosa.

Más tarde, Panero y Funk (2002) realizaron estudios moleculares para establecer las relaciones filogenéticas de los miembros que conformaban la tribu Mutisieae *s.l.*, lo cual ocasionó cambios drásticos dentro de la familia Asteraceae. Se propusieron nuevos grupos para las subfamilias y tribus de Asteraceae, entre ellos Gochnatioideae y Gochnatieae. En este conjunto, se incluyó a los grupos que anteriormente conformaban la subtribu Gochnatiinae.

González-Medrano et al. (2004) describieron *Gochnatia hiriartiana* especie endémica de Hidalgo, México, la cual fue clasificada en el subgénero *Glomerata* basada en la clave de Freire et al. (2002). Dicha especie se suma a otras tres especies mexicanas reconocidas del subgénero (*G. arborescens*, *G. magna* y *G. purpusii*).

Posteriormente, Funk et al. (2014) realizaron análisis morfológicos y moleculares a los miembros de la tribu Gochnatieae, para tratar de comprender las relaciones filogenéticas dentro del grupo. En este estudio se identificaron ocho clados bien definidos, que previamente habían sido reconocidos en algún nivel taxonómico, con excepción de las Gochnatias mexicanas: 1) *Anastraphia* D. Don, 2) *Cnicothamnus* Griseb, 3) *Cyclolepsis* Gilles ex D. Don, 4) *Gochnatia* Kunth, 5) *Gochnatia* mexicanas, 6) *Moquiniastrum* (Cabrera) G. Sancho, 7) *Penthaphorus* D. Don, 8) *Richterago* Kuntze.

Años después, Funk et al. (2017) denominaron el clado de *Gochnatia* mexicanas como *Nahuatlea* V.A. Funk, nombre genérico dedicado a los pueblos indígenas del centro oriental de México que hablan la lengua náhuatl. Este grupo, considerado monofilético incluyó siete especies: *N. arborescens* (Brandege) V.A. Funk, *N. hiriartiana* (Medrano, Villaseñor & Medina) V.A. Funk, *N. hypoleuca* (DC.) V.A. Funk, *N. magna* (M.C. Johnst. ex Cabrera) V.A. Funk, *N. obtusata* (S.F. Blake) V.A. Funk, *N. purpusii* (Brandege) V.A. Funk y *N. smithii* (B.L. Rob & Greenm) V.A. Funk. Recientemente, Panero (2019) mediante un análisis filogenético molecular, recuperó a *Nahuatlea* como un grupo parafilético y clasificó a *Tehuasca magna* (anteriormente *Nahuatlea magna* (M.C. Johnst ex Cabrera) V.A. Funk) como género monoespecífico, constituyendo el grupo hermano de *Anastraphia* y *Nahuatlea*.

## 4. Materiales y método

### Material biológico

Se seleccionaron ejemplares correspondientes a los géneros *Anastraphia*, *Nahuatlea* y *Tehuasca*. Para comparación se seleccionó a *Cnicothamnus lorentzii* como grupo externo. Se revisaron los ejemplares depositados en el Herbario Nacional de México (MEXU) del Instituto de Biología de la UNAM y en el caso particular de *N. hiriartiana* en el herbario FEZA de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la UNAM (Cuadro 1). Además, se realizaron salidas a campo al Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Puebla y Oaxaca) y a la Barranca de Metztitlán (Hidalgo) durante los meses de febrero a junio de 2021, para recolectar muestras de tallo y hoja de *Nahuatlea hiriartiana*, *N. hypoleuca*, *N. obtusata*, *N. purpusii* y *N. smithii*. En el caso de *Anastraphia ilicifolia*, *Cnicothamnus lorentzii*, *N. arborescens* y *Tehuasca magna*, fueron removidos de los ejemplares del MEXU de 2-3 hojas, y el tallo de una rama de *A. ilicifolia* (Cuadro 1).

Cuadro 1. Ejemplares utilizados en el presente estudio. \*Muestra de rama.

Nombre de las especies	Colector, número de recolecta. Ejemplares utilizados para morfometría (Mo), hoja (H) y madera (M)
<i>Anastraphia ilicifolia</i> D. Don	F. Rugel 271 (H y M*)
<i>Cnicothamnus lorentzii</i> Griseb	José L. Panero & Edwar E. Schilling 1934 (H)
<i>Nahuatlea arborescens</i> (Brandege) V.A. Funk	H.S. Gentry 4434 (Mo); P. Palafox 2 (Mo); J.L. León 8044 (Mo); H.S. Gentry 11828 (Mo); I.L. Wiggins 17740 (Mo); P. Tenorio 12804 (Mo); Carter & Chisaki 3609 (Mo y H)
<i>N. hiriartiana</i> (Medrano, Villaseñor & Medina) V.A. Funk	E. Solano 5620 (Mo); F. González 17920 (H); L. Sandoval 1 (H y M); L. Sandoval 4 (H)
<i>N. hypoleuca</i> (DC.) V.A. Funk	J. Henrickson 13658 (Mo); A. García 8093 (Mo); M.A. Carranza 1917 (Mo); J. Henrickson 19291 (Mo); E. Bridges 13124 (Mo); Hernández 91 (Mo); P. Tenorio 2239 (Mo); E. Carranza 486 (Mo); E. Güizar 5559 (Mo); DIAAPROY s.n. (Mo); F. González 8441 (Mo); J. Martínez 562 (Mo); E. Ventura 6525 (Mo); O. Rubio 32 (Mo); S. Gonzáles et al. 7014 (H); L. Sandoval 2 (H y M)

---

<i>N. obtusata</i> (S.F. Blake) V.A. Funk	Contreras 576 (Mo); R. Medina 362(Mo); D. Nava 42 (Mo); F. González 12370 (Mo); P. Tenorio 7079(Mo); P. Tenorio 12196 (Mo); R. Medina 362(Mo); D. Nava 42 (Mo); P. Tenorio 12196(Mo); F. González 12439 (Mo); L. Hernández 892 (Mo); R. Redonda 1159 (H); L. Sandoval 6 (H y M)
<i>N. purpusii</i> (Brandege) V.A. Funk	C.A. Purpus 1164 (Mo); L. Camaño 116 (Mo); F. González 12751 (Mo); E. Güizar 4633 (Mo); P. Tenorio 18514 (Mo); P. Tenorio 7459 (Mo); P. Tenorio 18511 (Mo); J.L. Villaseñor 916 (Mo); P. Tenorio 17221 (Mo); F. González 957 (Mo); R. Redonda 1160 (H); L. Sandoval 5 (H y M)
<i>N. smithii</i> (B.L. Rob & Greenm) V.A. Funk.	C. Conzatti 4136 (Mo); A. Ortega 121 (Mo); L.U. Guzmán 2021 (Mo); J. L. Villaseñor 1247 (Mo); E.M. Martínez 33416 (Mo); E.W. Nelson 2546 (Mo); C.A. Cruz 517 (Mo); O. Téllez 16041 (Mo); O. Téllez 16081 (Mo); O. Téllez 16745 (Mo); J.L. Villaseñor 1131 (Mo); R. Redonda 1163 (H); L. Sandoval 3 (H y M)
<i>Tehuasca magna</i> (M.C. (Johnst. ex Cabrera) Panero	E. Carranza 2290 (Mo y H); E. Carranza 3001(Mo); E. Argüelles 888 (Mo); E. Ventura 7511 (Mo); J. Rzedowski 41487 (Mo); V. Huerta 1400 (Mo); A. Cronquist 11277 (Mo); M. Johnston 5124 (Mo); F. González 12185 (Mo); J.R. Magaña s.n. (Mo); R. Fernández 3666 (Mo); U. Guzmán 2322 (Mo); E. González 13 (Mo); I. Trejo 2372 (Mo); S. Zamudio 9596 (Mo); M. Johnston 4418 (Mo)

---

En campo se seleccionaron 2-3 individuos adultos y sanos al azar, dependiendo de su disponibilidad y se extrajeron de cada uno de tres a cinco hojas. Las cuales se fijaron en alcohol al 70% y almacenaron en glicerina-alcohol etílico-agua (GAA 1:1:1). Para analizar la madera de cada individuo de hábito arbustivo, se cortó del tronco o rama principal, muestras de 2 cm de altura a una distancia de 5 cm del suelo, y en el caso de los árboles a una distancia de 1.30 m, estas fueron fijadas en alcohol al 70% y posteriormente almacenadas en GAA (Peterson et al., 1989).

## 4.1. Análisis morfométricos

### Análisis morfológico

Para cada individuo se midieron y evaluaron 13 caracteres cuantitativos y 16 cualitativos (Cuadro 2), los cuales se seleccionaron a partir de los caracteres diagnósticos asignados al grupo y utilizados en las claves taxonómicas (Cabrera, 1977; Freire, et al., 2002; Funk et al., 2017; Redonda-Martínez, 2019).

Cuadro 2. Caracteres cuantitativos y cualitativos codificados para el análisis multivariado de las especies de *Nahuatlea* y *Tehuasca*.

<b>Caracteres cuantitativos</b>	<b>Abreviatura</b>
Largo de la hoja (mm)	la_hoja
Ancho de la hoja (mm)	an_hoja
Alto del involucro (mm)	Alt_inv
Diámetro del involucro (mm)	Anch_inv
Número de series de filarios	Ser_fil
Longitud de la serie externa de filarios (mm)	la_fil_ex
Longitud de la serie interna de filarios (mm)	la_fil_int
Número de flores	flores
Largo de la corola (mm)	la_cor
Largo de la antera (mm)	la_ant
Largo del estilo (mm)	la_est
Largo de la cipsela (mm)	la_cip
Largo del vilano (mm)	la_vil
<b>Caracteres cualitativos</b>	
Tipo de inflorescencia. (0) Tirso; (1) Glomérulos	Inf
Tipo de margen foliar. (0) Entero; (1) Dentado	Margen
Forma de la hoja. (0) Elíptica-Lanceolada; (1) Elíptica; (2) Ovada-Elíptica; (3) Ovada; (4) oblonga; (5) Ovada-Obovada	Fo_hoja
Ángulo del ápice foliar. (0) Agudo; (1) Obtuso	ang_ap
Ángulo de la base foliar. (0) Agudo; (1) Obtuso	ang_base
Forma del ápice foliar. (0) Mucronada; (1) Obtusa; (2) Aguda	ap_hoja
Forma de la base foliar. (0) Cuneada; (1) Redondeada; (2) Obtusa	Ba_hoja

Forma del involucro. (0) Turbinado; (1) Campanulado	Fo_inv
Indumento de los filarios. (0) Glabros; (1) Tomentosos; (2) Lanosos	Ind_fila
Glándulas de los filarios. (0) Ausentes; (1) Presentes	Gla_fila
Glándulas de la corola. (0) Ausentes; (1) Presentes	Gla_cor
<b>Caracteres cualitativos de arquitectura foliar</b>	
Venación primaria. (0) Pinnada; (1) Acródroma suprabasal	Ven_1
Venación última marginal. (0) Arcos; (1) Incompleta	Ven_marg
Ramificación de las vénulas. (0) No ramificada; (1) Ramificada	Vénulas
Patrón de areolación. (0) Moderado; (1) Bien desarrollado	Areo

## Análisis estadísticos

Para cumplir con los requisitos de los análisis multivariados, los caracteres cuantitativos continuos fueron transformados con el logaritmo natural y los discretos mediante la raíz cuadrada (Tabachnick y Fidell, 2007). Todos los análisis estadísticos se realizaron en el software R v.4.1.3 (R Core Team, 2022).

Con los valores transformados se realizó un análisis de componentes principales (PCA). Como primer paso, se calculó la asignación de valores faltantes con la paquetería *missMDA* (Josse y Hudson, 2013), por medio de la media y desviación estándar; en seguida se computó el PCA con la paquetería *FactomineR* (Lê et al. 2008) y la función *PCA*. Los gráficos se elaboraron utilizando las paqueterías *factoextra* (Kassambara y Mundt, 2020) y *ggplot2* (Wickham, 2016).

También se realizó un análisis discriminante lineal (LDA por sus siglas en inglés), el cual es un método de clasificación que utiliza el teorema de Bayes para estimar la probabilidad de que una observación, dado un determinado valor de predictores, pertenezca a una de las clases de las variables cuantitativas (Li et al., 2006). Este análisis se llevó a cabo con la paquetería *MASS* (Venables y Ripley, 2002) utilizando las funciones *lda* y *predict* para

calcular las funciones discriminantes y las probabilidades de pertenencia de cada individuo. A los caracteres con mayor peso se les aplicó un Análisis de Varianza de un factor (ANOVA) con la paquetería *stats* y la función *aov* y se compararon las medias entre grupos (especies) mediante una prueba HSD de Tukey con la misma paquetería y la función *TukeyHSD* (R Core Team, 2022). Los diagramas se graficaron con las paqueterías *ggplot2*, *multcomView* (Spencer et al., 2019) y *forcats* (Wickham, 2021).

Con los caracteres cuantitativos y cualitativos se realizó un análisis de agrupación aglomerativa que utilizó la ordenación del PCA. Con la función *HCPC* del paquete *factoextra* se generó una matriz de distancias Euclidianas y la agrupación jerárquica aglomerativa se elaboró utilizando la varianza mínima de Ward; posteriormente con la paquetería *NbClust* y la función *NbClust* (Charrad et al., 2014) se determinó el número de grupos a partir de la regla de mayoría de 24 índices de agrupación. Los gráficos se desarrollaron con *factoextra*.

## **4.2. Análisis anatómicos**

### **Anatomía de madera**

Se realizaron cortes transversales, tangenciales y radiales de 20  $\mu\text{m}$  de grosor con un micrótopo de deslizamiento. A la mitad de los cortes de cada plano se les agregó cloro al 50% hasta aclarar los tejidos; posteriormente se enjuagaron con agua corriente, la otra mitad se mantuvo con alcohol al 50%. Todos los cortes se deshidrataron en series de alcoholes crecientes (50%-70%-96%) para teñirse posteriormente con doble tinción de safranina-verde rápido (Ruzin, 1999), enjuagando con alcohol absoluto y aclarando con xilol para finalmente montarse con resina sintética. Para cuantificar la longitud de fibras y elementos de vaso se

prepararon disociados de cada muestra, cortando astillas de 1 cm de largo cercanas al cambium vascular y colocándolas en solución Jeffrey (Johansen, 1940) dentro de la estufa (50°C) durante 3-4 días. Por último, se realizaron preparaciones temporales.

Se realizaron 25 mediciones de cada carácter por individuo de cada especie (Cuadro 3), excepto para la longitud de las fibras donde fueron 50. Los caracteres cuantitativos se obtuvieron con un analizador de imágenes Image Pro-Plus v. 7.1 (Media Cybernetics Inc.,) adaptado a un microscopio óptico (BX-51 Olympus Corporation, Tokio, Japón). Las descripciones de la madera se realizaron de acuerdo con la Asociación Internacional de Anatomistas de Madera (IAWA Committee, 1989).

Cuadro 3. Caracteres cuantitativos analizados en muestras de la madera y hoja de *Nahuatlea* y géneros cercanos.

---

<b>No. De carácter</b>	
<b>Caracteres de madera</b>	
1	Número de vasos por mm <sup>2</sup>
2	Diámetro de vaso (µm)
3	Grosor de la pared del vaso (µm)
4	Longitud de los elementos de vaso (µm)
5	Ancho de la apertura de la punteadura (µm)
6	Longitud de la fibra (µm)
7	Diámetro total de la fibra (µm)
8	Grosor de la pared de la fibra (µm)
9	Porcentaje de la pared de las fibras (%)
10	Número de radios por mm
11	Altura de radios uniseriados (µm)
12	Altura de radios multiseriados (µm)
13	Ancho de radios multiseriados (µm)
<b>Caracteres cuantitativos de la hoja</b>	
14	Cutícula (µm)
15	Grosor de la pared periclinal adaxial (µm)
16	Largo de la célula epidérmica adaxial (µm)

---

---

17	Grosor de la pared periclinal abaxial ( $\mu\text{m}$ )
18	Ancho del mesofilo ( $\mu\text{m}$ )
19	Ancho del parénquima en empalizada ( $\mu\text{m}$ )
20	Porcentaje del mesofilo (%)

---

### **Arquitectura foliar**

Las hojas se colocaron en hidróxido de sodio al 20% durante 24 h y se lavaron con agua corriente, después se sumergieron en cloro al 50%; posteriormente, se enjuagaron y deshidrataron en soluciones seriadas de etanol (50-96%) durante 24 h en cada concentración y al finalizar en solución aclaradora (Martínez-Cabrera et al., 2007) durante tres días; enseguida se enjuagaron en alcohol al 96% durante 24 h. Las muestras fueron teñidas con safranina y se enjuagaron con alcohol al 96% y 100% hasta obtener el contraste adecuado en las venas, además se aclararon con xilol y montaron con resina sintética. En el caso de las hojas de herbario, estas fueron previamente hidratadas con agua durante 15 minutos antes de iniciar el procedimiento. Las descripciones se realizaron conforme a Ellis et al. (2009).

### **Anatomía foliar**

Se seccionaron y deshidrataron segmentos de las regiones de la parte media de la lámina, colocándolas en concentraciones crecientes de ter-butanol (10-100%) por medio de un procesador automático de tejidos (Leica TP1020, Wetzlar, Alemania) durante 24 h en cada concentración. Posteriormente los tejidos se incluyeron en Paraplast (Leica) y se realizaron cortes con un micrótopo rotatorio (Leica RM2125, Wetzlar, Alemania), en secciones transversales y paradermales de 10-14  $\mu\text{m}$  de espesor. Las secciones se tiñeron con safranina-verde rápido (Johansen, 1940) y se montaron con resina sintética. Las

descripciones siguen la propuesta de Rivera et al. (2017, 2019) y los caracteres cualitativos y cuantitativos se listan en el Cuadro 3.

### **Análisis estadísticos**

Los caracteres cuantitativos de la madera y hoja se analizaron con un Modelo Linear Mixto Generalizado (GLMM) el cual permite evaluar diferencias entre grupos sin el supuesto de normalidad multivariante. Los datos cuantitativos de la madera de *A. ilicifolia* no fueron incluido en los análisis estadísticos porque representan madera juvenil. Los análisis estadísticos se realizaron en el software R v.4.1.3 (R Core Team, 2022). Como primer paso, se construyó el modelo a través de la paquetería *lme4* (Bates et al., 2015) y la función *lmer*, seleccionando a las especies como variables fijas y los individuos como aleatorias; en seguida para saber si el análisis es significativo se utilizó la librería *Car* (Fox y Weisberg, 2019) y la función *anova*, por último, para hacer la comparación por pares se empleó la paquetería *multcomp* (Hothorn et al., 2008) y *lsmeans* (Lenth, 2016) con las funciones *glht*, y *lsm*.

## **4.3 Análisis sistemáticos**

### **Caracteres morfo-anatómicos.**

Se utilizaron caracteres morfométricos y anatómicos que apoyaron la diferenciación de las especies de *Nahuatlea* y *Tehuasca*.

### **Codificación de caracteres morfo-anatómicos**

Se analizaron y codificaron 25 caracteres morfo-anatómicos (Cuadro 4), de los cuales once fueron morfológicos, nueve corresponden a anatomía foliar y cinco a características

anatómicas de la madera. La codificación incluyó tanto caracteres binarios como multiestado. Los caracteres cuantitativos se codificaron de acuerdo con los resultados de los análisis estadísticos realizados en los análisis morfométricos.

Cuadro 4. Caracteres morfo-anatómicos cualitativos y cuantitativos y sus estados de carácter.

No. De carácter	Carácter	Estados de carácter
0	Tipo de inflorescencia	(0) Solitarias; (1) Glomérulos; (2) Tirso
1	Tipo de margen foliar	(0) Dentado; (1) Entero
2	Largo de la hoja (cm)	(0) 2.5 cm; (1) 2.5-5 cm; (2) > 5 cm
3	Forma del involucre	(0) Campanulado; (1) Turbinado
4	Alto del involucre (cm)	(0) 1 cm; (1) 1.1-2.9 cm; (2) > 3 cm
5	Ancho del involucre (cm)	(0) 1 cm; (1) 1-2 cm; (2) >2 cm
6	Longitud de la serie interna de los filarios (cm)	(0) 0.79 cm; (1) 0.8-2 cm; (2) > 2 cm
7	Presencia de glándulas de los filarios	(0) Ausentes; (1) Presentes
8	Largo del vilano (cm)	(0) < 5 cm; (1) 0.5-0.8 cm; (2) > 0.8 cm
9	Largo de la corola (cm)	(0) 0.8 cm; (1) > 0.81 cm
10	Presencia de glándulas de las corolas	(0) Ausentes; (1) Presentes
11	Venación primaria	(0) Pinnada; (1) Acródroma
12	Venación secundaria	(0) Broquidódroma; (1) Craspedódroma
13	Desarrollo de areolación	(0) Moderada; (1) Bien desarrollada
14	Ramificación de las vénulas	(0) No ramificadas; (1) Ramificadas
15	Venación última marginal	(0) Incompleta; (1) Arcos; (2) Ausente
16	Presencia de hipodermis	(0) Ausente; (1) Presente
17	Tipo de parénquima en esponjoso	(0) Laxo; (1) Compacto
18	Presencia de criptas estomáticas	(0) Ausentes; (1) Presentes
19	Presencia de extensiones de la vaina	(0) Ausentes; (1) Presentes
20	Tipo de porosidad	(0) Difusa; (1) Semianular
21	Disposición de los vasos	(0) Radial; (1) Diagonal
22	Apertura de punteaduras intervasculares	(0) Circular; (1) Lenticular
23	Porcentaje de la pared de fibras (%)	(0) 70 %; (1) 70-80 %; (2) > 80 %
24	Número de series en los radios	(0) Uniseriado; (1) Multiseriado

### Caracteres moleculares

Los datos moleculares se obtuvieron a partir de las secuencias previamente publicadas por Panero (2019), disponibles en la base de datos de Gen-Bank (Apéndice 1). Los marcadores moleculares utilizados fueron dos regiones del ADN ribosómico, el espaciador transcrito interno (ITS) y el espaciador transcrito externo (ETS). La matriz de cada marcador se descargó en formato FASTA y se realizó el alineamiento de secuencias múltiples en la

plataforma de MAFFT (Kato et al., 2019). Por último, las secuencias alineadas se concatenaron en una sola matriz en el programa Mesquite V 3.79 (Maddison y Maddison, 2021).

### **Análisis filogenético**

Para los análisis filogenéticos se construyó previamente una matriz combinando caracteres morfo-anatómicos y moleculares. Los análisis filogenéticos se realizaron utilizando los métodos de Máxima Parsimonia (MP) e Inferencia Bayesiana (BI). El análisis MP se realizó en TNT v.1.5 (Goloboff et al., 2008), usando una búsqueda heurística con 1,000 repeticiones de adición aleatoria, e intercambio de ramas TBR. Los análisis Bootstrap y Jackknife al 36% de corte, se realizaron con 1,000 repeticiones (Felsenstein, 2003). Se calculó el índice de consistencia (CI) y retención (RI) a través del script de TNT. Los caracteres fueron mapeados y visualizados en Winclada (Nixon, 2002). Para los análisis bayesianos se realizaron las particiones ETS, ITS y los datos morfo-anatómicos como una sola matriz, a los caracteres moleculares se les asignó previamente un modelo diferente de evolución de nucleótidos a través del software PAUP 4.0a160 (Swofford, 2002), utilizando el criterio de información de Akaike (Akaike, 1974). El modelo seleccionado para ITS fue, GTR+I, y para ETS, HKY+I. El análisis se realizó en Mr. Bayes v 3.2.7 (Ronquist et al., 2012) empleando dos corridas independientes con cuatro cadenas de Markov durante 10 millones de generaciones, muestreando los árboles cada 1,000 generaciones. La convergencia de las cadenas se examinó en Tracer v1.7.1 (Rambaut et al., 2018) descartando el 25% de los árboles muestreados. Los árboles restantes se resumieron en un árbol consenso con la regla de mayoría. El árbol se visualizó y editó en fig Tree v.1.4.4 (Rambaut, 2018).

## 5. Resultados

### 5.1 Análisis morfométricos

Se analizaron 82 especímenes de *Nahuatlea* y *Tehuasca*. El número de individuos por especie varió en función del material recolectado en campo y del disponible en los herbarios consultados.

#### Análisis de Componentes Principales (PCA)

El PCA mostró que los primeros tres componentes explican 77.5% de la varianza total. En el primer componente principal los caracteres que tienen una mayor contribución fueron el alto del involucro, la longitud de la corola, el vilano y la serie interna de los filarios; en el segundo componente fueron el número de series de filarios, la serie externa de los filarios y el número de flores. En el tercer componente solamente resultó importante el largo de la hoja (Cuadro 5). La dispersión de los individuos en las primeras dos dimensiones se muestra en la Figura 3.

Cuadro 5. Contribución de las variables en los primeros tres componentes principales.

	<b>Componente 1</b>	<b>Componente 2</b>	<b>Componente 3</b>
Largo de la hoja	5.50	0.1562	<b>40.762</b>
Ancho de la hoja	7.18	0.6751	31.41
Alto del involucro	<b>11.87</b>	0.0318	0.31
Diámetro del involucro	9.53	1.080	0.66
Número de series filarios	3.12	<b>41.70</b>	0.0009
Longitud de filarios de la serie externa	5.83	19.41	1.485
Longitud de filarios de la serie interna	<b>10.86</b>	0.2237	0.143
Número de flores	8.22	16.77	0.401
Largo de la corola	<b>10.39</b>	4.36	2.74
Largo de la antera	7.95	0.0000177	5.391
Largo del estilo	6.55	4.073	0.036
Largo de la cipsela	2.90	0.0633	11.079
Largo del vilano	<b>10.03</b>	5.439	5.551

## Análisis de Componentes Principales

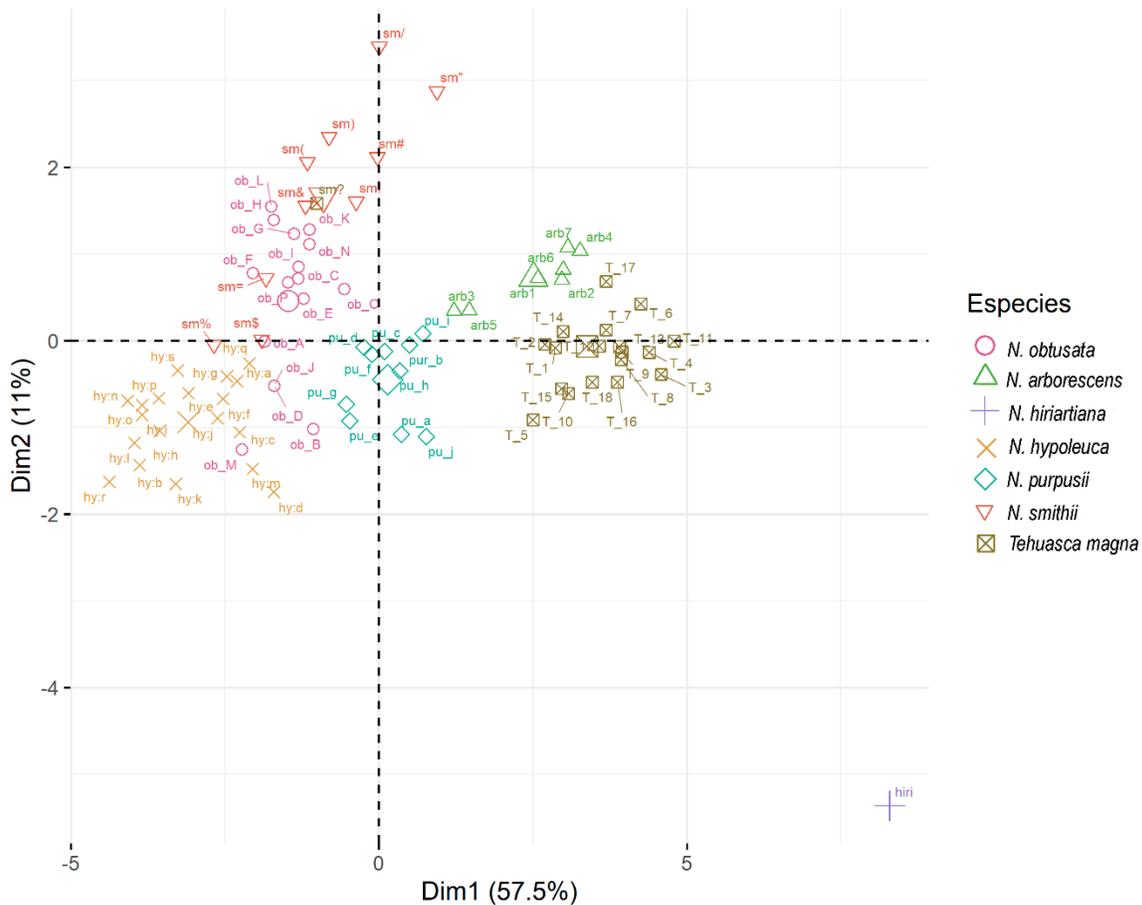


Figura 3. Representación bidimensional de los individuos de las especies de *Nahuatlea* y *Tehuasca* en los dos primeros componentes del análisis de componentes principales.

## Análisis Discriminante Linear (LDA)

El LDA mostró que las primeras tres funciones discriminantes lineares explican 90.01% de la variación total, 55.9%, 19.87% y 15.14% de la variación respectivamente. Los caracteres que presentaron un mayor peso en la primera función discriminante fueron la longitud de la hoja, la cipsela y del vilano; en la segunda función el largo de la corola y en la tercera función el alto del involucre y largo de la antera (Cuadro 6). En la Figura 4 se observan seis grupos que corresponden a las especies, mientras que las elipses a las probabilidades (95%) que tienen los individuos de pertenecer a cada grupo. La clasificación

obtenida mostró que todos los grupos se clasificaron en un 100% en sus respectivas especies, excepto en *Tehuasca magna*, donde la clasificación fue del 93.7%. *Nahuatlea hiriartiana* al registrar un solo ejemplar disponible, no fue posible clasificarla en el análisis (Cuadro 7).

Cuadro 6. Contribución de los caracteres analizados a las funciones lineares discriminantes.

	<b>LD1</b>	<b>LD2</b>	<b>LD3</b>
Largo de la hoja	-2.022	<b>5.218</b>	0.493
Ancho de la hoja	1.806	0.616	-0.024
Alto del involucre	0.234	-1.731	-2.515
Diámetro del involucre	0.790	1.480	-1.060
Número de series de filarios	-1.510	1.222	-1.881
Longitud de filarios de la serie externa	-0.182	0.746	0.028
Longitud de filarios de la serie interna	-0.128	-1.506	-1.935
Número de flores	-1.914	-0.661	1.255
Largo de la corola	0.340	2.165	-1.484
Largo de la antera	-0.291	0.762	<b>2.536</b>
Largo del estilo	-0.510	0.257	0.491
Largo de la cipsela	-2.078	0.879	-1.262
Largo del vilano	<b>-4.329</b>	-5.654	-5.549

Cuadro 7. Clasificación del análisis discriminante lineal. Individuos/porcentajes.

	<i>Nahuatlea arborescens</i>	<i>N. hiriartiana</i>	<i>N. hypoleuca</i>	<i>N. obtusata</i>	<i>N. purpusii</i>	<i>N. smithii</i>	<i>Tehuasca magna</i>	Porcentaje Total
<i>N. arborescens</i>	4/100	0	0	0	0	0	0	100
<i>N. hiriartiana</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>N. hypoleuca</i>	0	0	15/100	0	0	0	0	100
<i>N. obtusata</i>	0	0	0	14/100	0	0	0	100
<i>N. purpusii</i>	0	0	0	0	9/100	0	0	100
<i>N. smithii</i>	0	0	0	0	0	8/100	0	100
<i>Tehuasca magna</i>	0	0	0	0	0	1/6.25	15/93.75	93.75

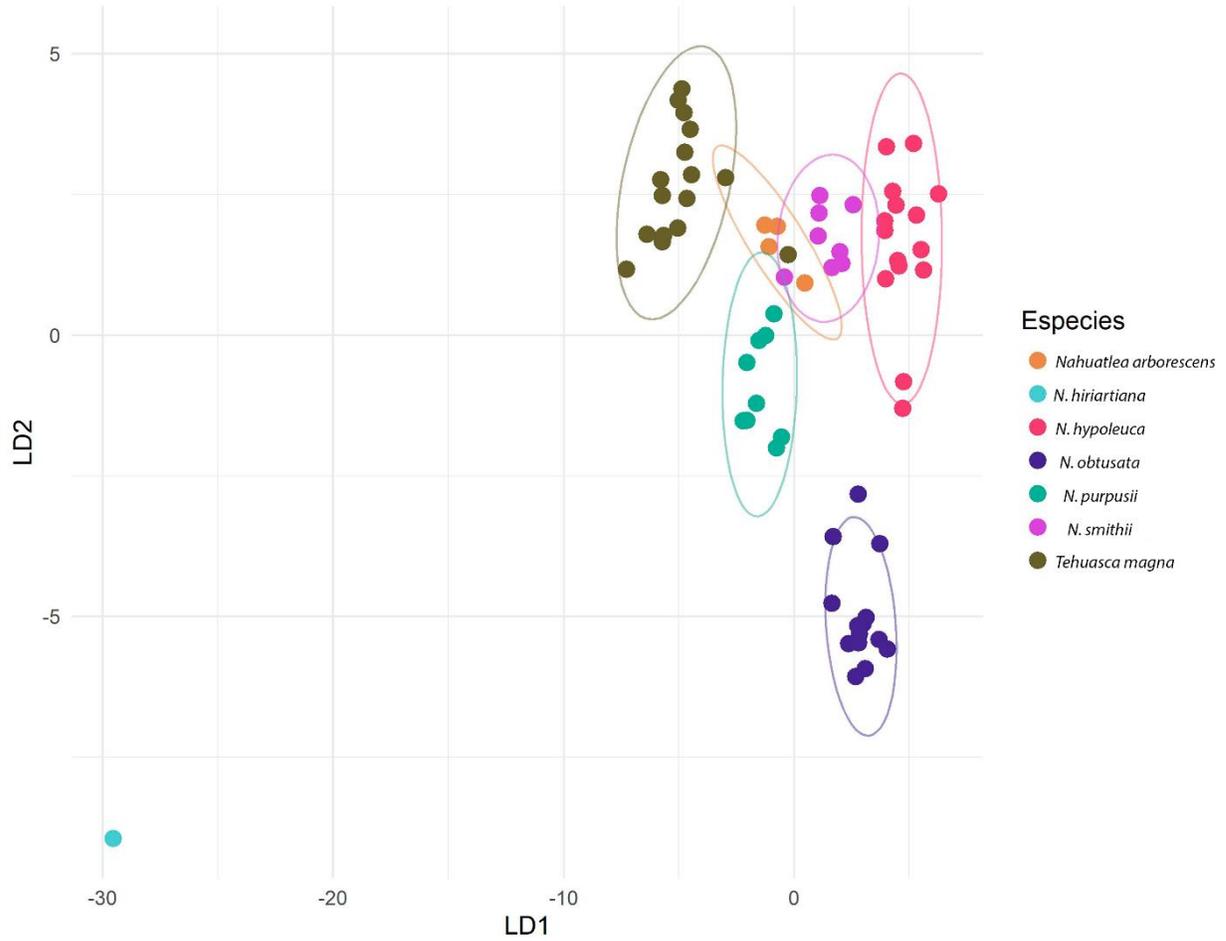


Figura 4. Distribución de los individuos a lo largo de los dos ejes obtenidos a partir del análisis linear discriminante.

En las variables utilizadas en el LDA y PCA se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en al menos dos especies (Figura 5).

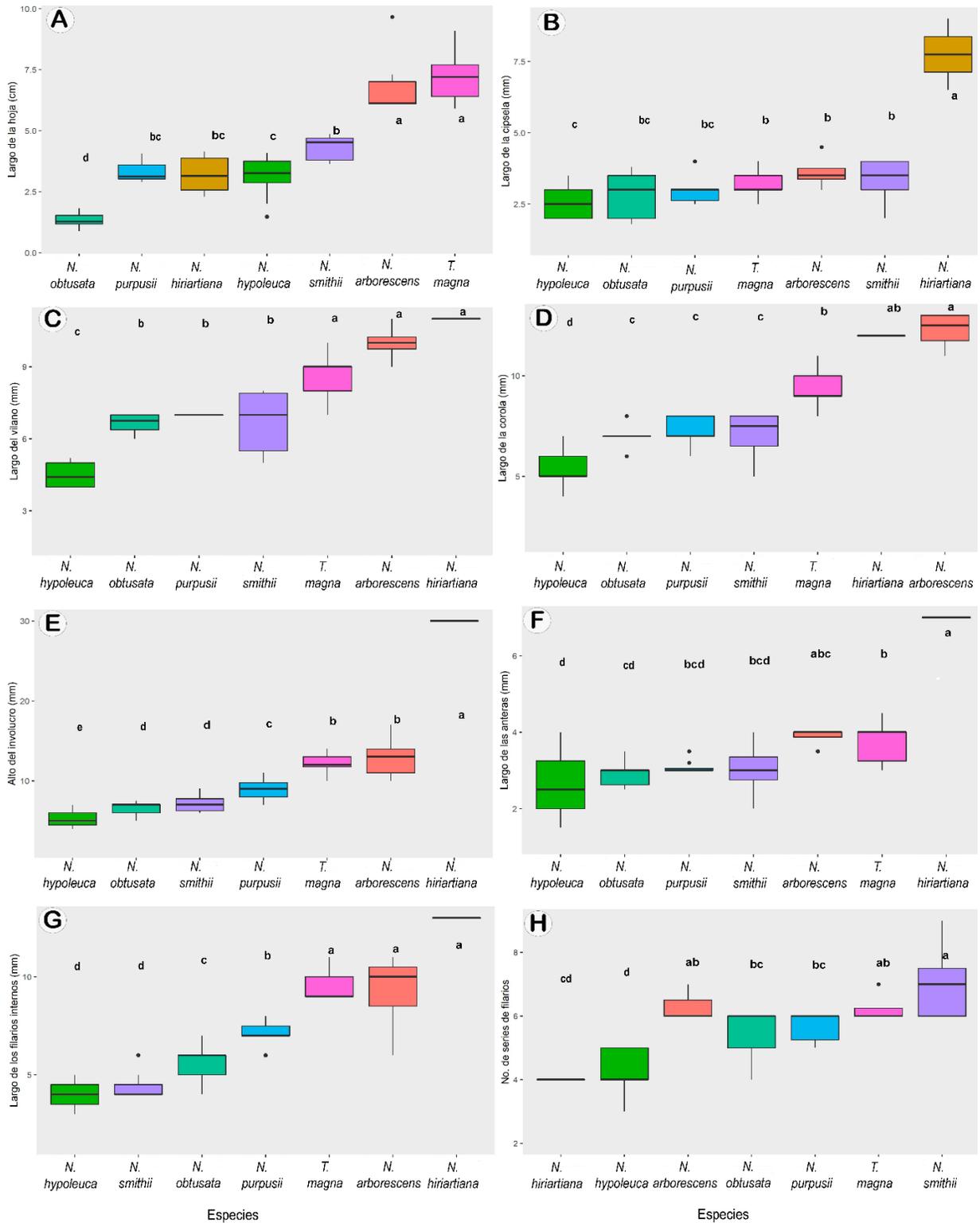


Figura 5. Valores de la media y desviación estándar para los caracteres más relevantes en el LDA y PCA. A. Largo de la hoja; B. Largo de la cipsela; C. Largo del vilano; D. Largo de la corola; E. Alto del involucre; F. Largo de las anteras; G. Largo de los filarios internos; H. Número de series de filarios. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey,  $p = 0.05$ ). Línea negra (mediana).

## Análisis de agrupamiento

Como se aprecia en la Figura 6, el análisis de agrupamiento recuperó dos grupos y todos los individuos se clasificaron adecuadamente dentro de la especie a la que corresponden. El primer grupo (I) está conformado por *N. obtusata*, *N. hypoleuca*, *N. smithii* y *N. purpusii*, caracterizados por presentar los valores más bajos en largo y ancho de la hoja, el alto y diámetro del involucre, longitud de filarios internos, largo de la corola y el vilano, el involucre turbinado y la ausencia de glándulas en los ápices de las corolas (Cuadro 8). Este grupo a su vez se subdividió en dos, el primero conformado por *N. obtusata* y *N. hypoleuca* que comparten inflorescencias tirsoideas. El segundo incluye a *N. purpusii* y *N. smithii*, que presentan el patrón de areolación bien desarrollado. En el segundo grupo (II) están *N. hiriartiana*, *N. arborescens* y *T. magna*, en las cuales, las hojas, involucre, filarios internos, corolas y vilanos son 2-3 veces mayores que el grupo I (Cuadro 8).

Cuadro 8. Similitudes y disimilitudes entre las especies de *Nahuatlea* y *Tehuasca*.

Carácter/ especie	<i>Nahuatlea arborescens</i>	<i>N. hiriartiana</i>	<i>N. hypoleuca</i>	<i>N. obtusata</i>	<i>N. purpusii</i>	<i>N. smithii</i>	<i>Tehuasca magna</i>
Tipo de inflorescencia	Glomérulos	Glomérulos	Tirsoideas	Tirsoideas	Glomérulos	Glomérulos	Glomérulos
Forma de la hoja	Ovada	Elíptica	Elíptico- lanceoladas	Elíptico- ovadas	Elíptico- lanceoladas	Elíptico- lanceoladas	Ovada
Ápice foliar	Mucronado	Agudo	Mucronado	Obtuso	Agudo	Agudo	Mucronado
Base foliar	Obtusa	Cuneada	Cuneada	Redondeada	Cuneada	Cuneada	Redondeada
Largo de la hoja	6.57±1.57	3.20	3.20±0.7	1.32±0.27	3.31±0.4	4.26±0.5	7.21±0.95
Ancho de la hoja	3.5±0.99	1.6	1.22±0.23	0.73±0.18	1.14±0.2	1.41±0.45	3.91±0.24
Venación 1	Acródroma	Acródroma	Pinnada	Pinnada	Pinnada	Pinnada	Pinnada
Areolación	Moderada	Moderada	Moderada	Moderada	Bien desarrollada	Moderada	Moderada
Ramificación de vénulas	No ramificadas	No ramificadas	No ramificadas	No ramificadas	Ramificadas	No ramificadas	No ramificadas
Venación última marginal	Arcos	Incompleta	Arcos	Incompleta	Incompleta	Arcos	Incompleta
Forma del involucre	Turbinado	Campanulado	Turbinado	Turbinado	Turbinado	Turbinado	Campanulado

Alto del involucro	1.28±0.24	3	0.51±0.08	0.64±0.08	0.89±0.11	0.74±0.15	1.21±0.11
Diámetro del involucro	0.52±0.11	1.8	0.26±0.04	0.31±0.07	0.51±0.09	0.2±0.04	1.07±0.17
Número de series de los filarios	6-7	4	4-5	5-6	5-6	6-9	6-7
Longitud de la serie externa de los filarios	0.20±0.01	1.1	0.15±0.03	0.16±0.04	0.22±0.04	0.13±0.04	0.28±0.05
Longitud de la serie interna de los filarios	0.92±0.17	1.3	0.39±0.068	0.55±0.08	0.7±0.06	0.44±0.06	0.94±0.1
Número de flores	6-11	300	4-6	4-6	16-20	5-7	28-53
Glándulas de la corola	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Presentes
Largo de la corola	1.22±0.09	1.2	0.52±0.07	0.7±0.03	0.7±0.06	0.7±0.11	0.91±0.09
Largo de la antera	0.38±0.025	0.8	0.26±0.07	0.29±0.03	0.29±0.03	0.30±0.05	0.37±0.05
Largo del estilo	0.39±0.05	0.65	0.33±0.07	0.54±0.12	0.34±0.07	0.48±0.15	0.83±0.13
Largo de la cipsela	0.36±0.06	0.6	0.25±0.05	0.28±0.07	0.29±0.04	0.33±0.06	0.32±0.05
Largo del vilano	0.92±0.19	1.1	0.44±0.04	0.66±0.04	0.7±0.01	0.67±0.12	0.84±0.08

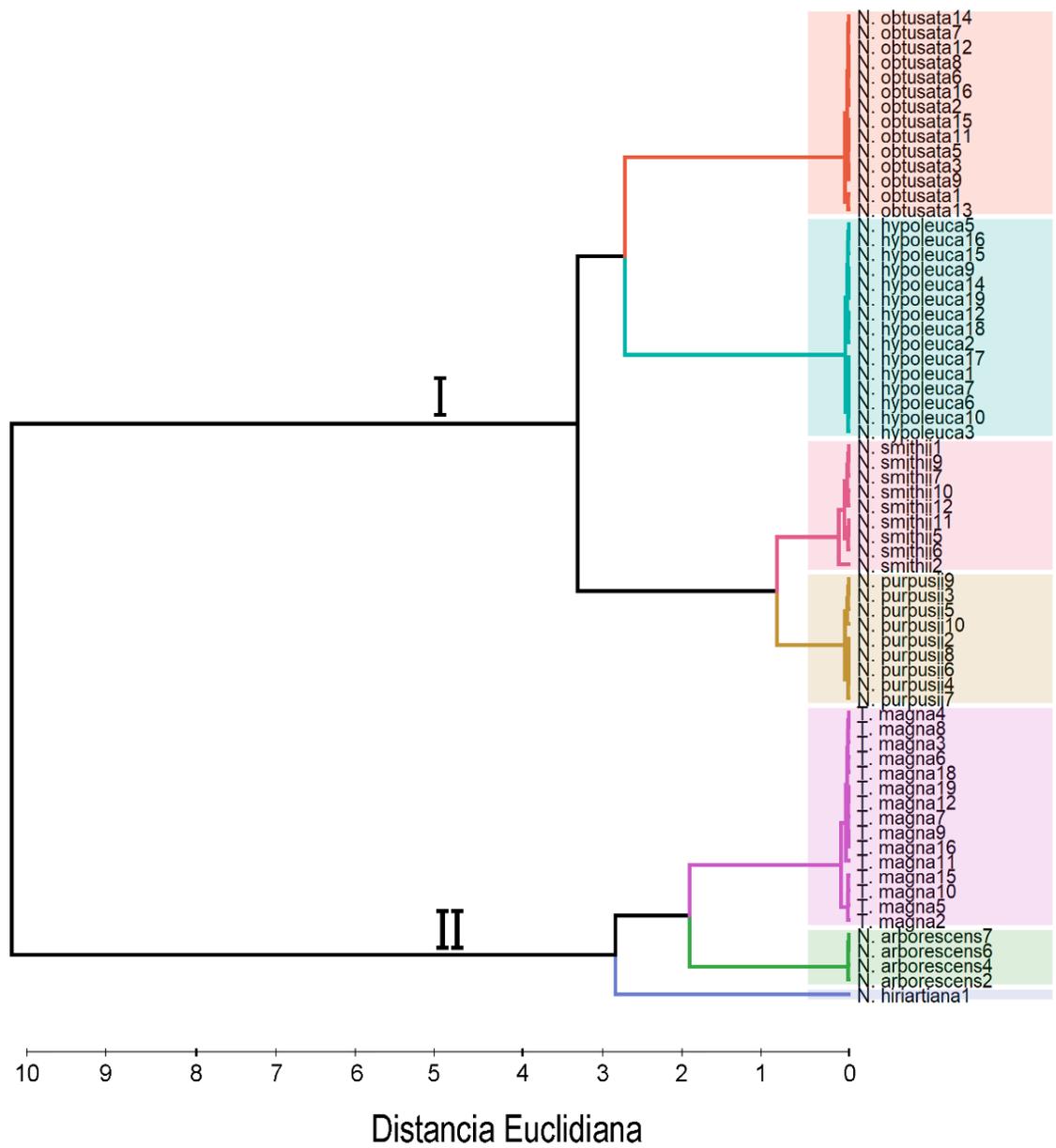


Figura 6. Fenograma que muestra el agrupamiento de los individuos de las especies de *Nahuatlea* y *Tehuasca*, analizado a través de la distancia Euclidiana y la varianza mínima de Ward.

## 5.2 Análisis anatómicos

Las descripciones de la madera y la hoja se presentan a nivel de especie en el apéndice I y II.

### **Anatomía de madera**

#### **Anillos de crecimiento**

Las especies de *Anastraphia*, *Nahuatlea* y *Tehuasca* descritas en este trabajo presentan marcas de crecimiento conspicuas, delimitadas por diámetro radial más reducido; en *Nahuatlea hiriartiana* (Figura 7A), *N. hypoleuca* (Figura 7B), *N. purpusii* (Figura 7D) se presenta parénquima marginal y el diámetro más amplio en los vasos de la madera temprana de *N. obtusata* y *N. purpusii*.

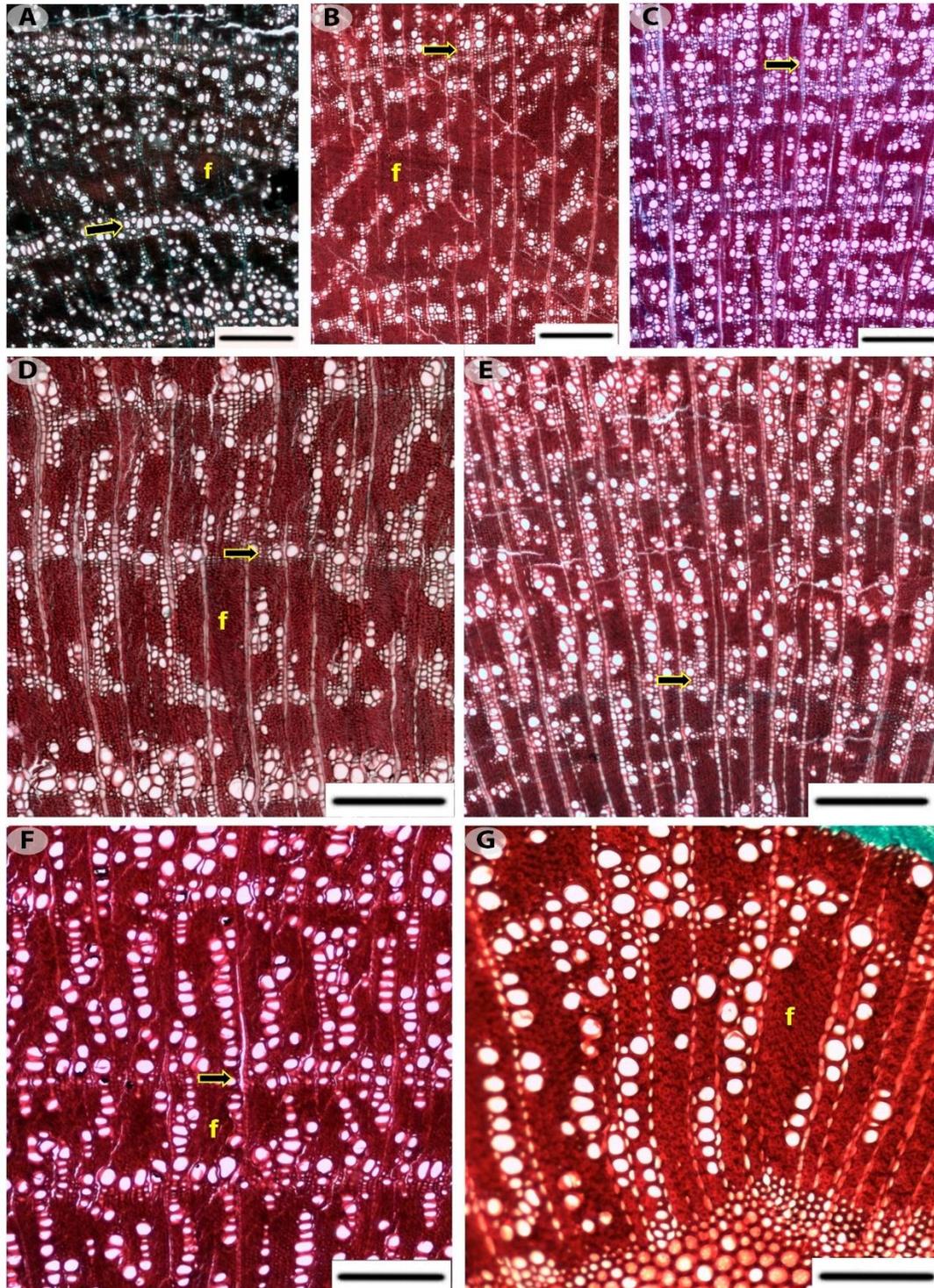


Figura 7. Vista transversal de la madera en las especies de *Anastraphia*, *Nahuatlea* y *Tehuasca* mostrando el tipo de porosidad. A. *Nahuatlea hiriartiana*, semianular; B. *N. hypoleuca*, difusa; C. *N. obtusata*, semianular; D. *N. purpusii*, semianular; E. *N. smithii*, difusa; F. *Tehuasca magna*, difusa; G. *Anastraphia ilicifolia*, difusa. Escala= 300  $\mu$ m. F = fibras, flechas= marcas de crecimiento.

## Vasos

*Nahuatlea hiriartiana* (Figura 7A), *N. obtusata* (Figura 7C) y *N. purpusii* (Figura 7D) presentaron porosidad semianular y *Anastraphia ilicifolia* (Figura 7G), *N. hypoleuca* (Figura 7B), *N. smithii* (Figura 7E) y *Tehuasca magna* (Figura 7F) porosidad difusa. La densidad de los vasos osciló de 18 por mm<sup>2</sup> en *N. hypoleuca* a 33 mm<sup>2</sup> en *N. obtusata* (Cuadro 9). La forma de los vasos fue circular en *A. ilicifolia*, *N. hiriartiana* y *T. magna* (Figura 8A), circular y ovalada en *N. hypoleuca* (Figura 8B), *N. obtusata* y *N. purpusii*; y solamente ovalada en *N. smithii* (Figura 8C). Su disposición fue en hileras radiales, excepto en *N. hypoleuca* donde presentan un patrón diagonal (Figura 7B). Los vasos más angostos se encontraron en *N. obtusata* (27.50 µm) y los más anchos en *Tehuasca magna* (41.6 µm) los vasos con paredes más delgadas corresponden a *N. smithii* (7.04 µm) y las más gruesas a *T. magna* (11.05 µm; Cuadro 9). Los elementos de vaso en todas las especies estudiadas presentaron placas de perforación simple (Figura 8D) y punteaduras intervasculares alternas y circulares; las aperturas de las punteaduras fueron circulares en *A. ilicifolia*, *N. hiriartiana* y *N. obtusata* (Figura 8E) y lenticulares en *N. hypoleuca*, *N. purpusii*, *N. smithii* (Figura 8F) y *T. magna*; el diámetro de la punteadura intervascular varió de 3.63 µm en *T. magna* a 4.20 µm en *N. hypoleuca*. Los elementos de vaso más cortos los presenta *N. purpusii* (214.93 µm) y los más largos *T. magna* (253.91 µm) (Cuadro 9).

## Fibras

En todas las especies se observaron fibras libriformes, con una longitud promedio que fluctuó de 546.73 µm en *N. purpusii* a 663.36 µm en *N. hypoleuca*, siendo en esta última significativamente diferente al resto de las especies estudiadas (Cuadro 9). La relación diámetro de la fibra y grosor de la pared indica que todas las especies estudiadas tienen

paredes de gruesas a muy gruesas (Cuadro 9); además, no hay diferencias significativas en el grosor de la pared de la fibra entre las especies estudiadas, pero sí para el diámetro de la fibra de *Tehuasca magna* con respecto al resto de las especies (Cuadro 9).

Cuadro 9. Caracteres cuantitativos de la madera. Media  $\pm$  desviación estándar de los caracteres anatómicos de la madera para *Nahuatlea* y sus grupos hermanos. V/mm<sup>2</sup> = número de vasos por milímetro cuadrado; Dmv = diámetro de vaso; Pv = Pared de vaso; Lev = longitud de elementos de vaso; Lfi = longitud de fibra; Dtfi = diámetro total de la fibra; Pfi = pared de la fibra; % Pfi = porcentaje de la pared de las fibras. Letras diferentes en los superíndices indican diferencias significativas (Tukey, P < 0.05).

Especie	V/mm <sup>2</sup>	Dmv ( $\mu$ m)	Pv ( $\mu$ m)	Lev ( $\mu$ m)	Lfi ( $\mu$ m)	Dtfi ( $\mu$ m)	Pfi ( $\mu$ m)	% Pafi
<i>N. hiriartiana</i>	30 $\pm$ 4 <sup>b</sup>	28.22 $\pm$ 10.01 <sup>a</sup>	7.27 $\pm$ 1.42 <sup>a</sup>	249.48 $\pm$ 42.81 <sup>b</sup>	590.41 $\pm$ 154.41	13.81 $\pm$ 2.23 <sup>a</sup>	4.84 $\pm$ 1.32 <sup>a</sup>	70 $\pm$ 15 <sup>b</sup>
<i>N. hypoleuca</i>	18 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	30.33 $\pm$ 8.69 <sup>a</sup>	7.85 $\pm$ 2.24 <sup>a</sup>	222.55 $\pm$ 57.00 <sup>a</sup>	663.36 $\pm$ 117.08 <sup>b</sup>	13.77 $\pm$ 2.44 <sup>ab</sup>	4.81 $\pm$ 1.10 <sup>a</sup>	70 $\pm$ 12 <sup>b</sup>
<i>N. obtusata</i>	33 $\pm$ 9 <sup>b</sup>	27.5 $\pm$ 7.18 <sup>a</sup>	7.34 $\pm$ 1.71 <sup>a</sup>	221.89 $\pm$ 34.47 <sup>a</sup>	573.89 $\pm$ 99.13 <sup>a</sup>	13.38 $\pm$ 2.38 <sup>ab</sup>	5.05 $\pm$ 1.33 <sup>a</sup>	75 $\pm$ 12 <sup>b</sup>
<i>N. purpusii</i>	23 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	34.28 $\pm$ 12.43 <sup>a</sup>	7.33 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	214.93 $\pm$ 43.61 <sup>a</sup>	546.73 $\pm$ 114.69 <sup>a</sup>	14.25 $\pm$ 2.48 <sup>b</sup>	5.29 $\pm$ 1.17 <sup>a</sup>	74 $\pm$ 11 <sup>b</sup>
<i>N. smithii</i>	31 $\pm$ 6 <sup>b</sup>	35.92 $\pm$ 14.93 <sup>a</sup>	7.04 $\pm$ 1.30 <sup>a</sup>	225.62 $\pm$ 31.84 <sup>a</sup>	552.96 $\pm$ 110.2 <sup>a</sup>	13.24 $\pm$ 1.85 <sup>ab</sup>	4.96 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>	75 $\pm$ 10 <sup>b</sup>
<i>Tehuasca magna</i>	26 $\pm$ 3 <sup>ab</sup>	41.6 $\pm$ 10.31 <sup>b</sup>	11.05 $\pm$ 1.07 <sup>b</sup>	253.91 $\pm$ 45.26 <sup>a</sup>	568.21 $\pm$ 97.74 <sup>a</sup>	15.04 $\pm$ 2.43 <sup>c</sup>	5.01 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>	67 $\pm$ 10 <sup>a</sup>

### Parénquima axial y radial

Las especies de *Anaestrophia*, *Nahuatlea* y *Tehuasca* presentaron parénquima axial paratraqueal escaso, así como marginal únicamente en *N. obtusata* y *N. purpusii*. En todas las especies se encontraron 2-3 radios por mm. En *Nahuatlea* predominaron los radios bi o triseriados (Figura 8H) mientras que en *Anaestrophia* y *Tehuasca* fueron uniseriados (Figura 8G). Los radios en todas las especies fueron heterocelulares, con células procumbentes y erectas (Figura 8I) o procumbentes y cuadradas (*N. hypoleuca* y *T. magna*) y envolventes solo en *N. purpusii*. Los radios uniseriados más cortos se presentaron en *N. purpusii* (108.32  $\mu$ m) y los más altos en *N. hiriartiana* (172.96  $\mu$ m), mientras que en los biseriados y

triseriados, los más cortos corresponden a *T. magna* (123.79  $\mu\text{m}$ ), los más altos a *N. obtusata* (264.85  $\mu\text{m}$ ), los más angostos a *T. magna* (159.00  $\mu\text{m}$ ) y los más anchos a *N. purpusii* (30.30  $\mu\text{m}$ ) (Cuadro 10). Todas las especies estudiadas presentaron taninos en algunas células, siendo más abundantes en *Tehuasca*.

Cuadro 10. Caracteres cuantitativos del parénquima radial de la madera para *Nahuatlea* y sus grupos hermanos. Media  $\pm$  desviación estándar de los caracteres anatómicos de la madera. R/mm = Número de radios por milímetro; AIRuni = altura de radios uniseriados; AIRmul = altura de radios multiseriados; AnRmulti = ancho de radios multiseriados. Letras diferentes en los superíndices indican diferencias significativas (Tukey,  $P < 0.05$ ).

Espece	R/mm	AIRuni ( $\mu\text{m}$ )	AIRmul ( $\mu\text{m}$ )	AnRmul ( $\mu\text{m}$ )
<i>N. hiriartiana</i>	3 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	172.96 $\pm$ 78.53 <sup>a</sup>	197 $\pm$ 85.49 <sup>a</sup>	28.20 $\pm$ 5.96 <sup>a</sup>
<i>N. hypoleuca</i>	3 $\pm$ 0.78 <sup>a</sup>	130.10 $\pm$ 45.40 <sup>b</sup>	213.0 $\pm$ 87.97 <sup>a</sup>	23.07 $\pm$ 5.72 <sup>ab</sup>
<i>N. obtusata</i>	2 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>	128.92 $\pm$ 62.45 <sup>b</sup>	264.85 $\pm$ 149.4 <sup>b</sup>	23.95 $\pm$ 6.16 <sup>ab</sup>
<i>N. purpusii</i>	2 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	108.52 $\pm$ 38.09 <sup>c</sup>	198.63 $\pm$ 73.88 <sup>a</sup>	30.30 $\pm$ 10.73 <sup>a</sup>
<i>N. smithii</i>	3 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	132.94 $\pm$ 62.23 <sup>b</sup>	197.38 $\pm$ 128.26 <sup>a</sup>	26.77 $\pm$ 8.29 <sup>a</sup>
<i>Tehuasca magna</i>	2 $\pm$ 0.74 <sup>a</sup>	151.39 $\pm$ 59.41 <sup>d</sup>	159 $\pm$ 45.47 <sup>c</sup>	20.62 $\pm$ 4.05 <sup>b</sup>

### Análisis estadísticos

El modelo lineal generalizado (GLMM) indicó que existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en los caracteres evaluados de la madera, excepto en la pared de las fibras y el número de radios por mm. En el diámetro de los vasos, la pared de los vasos y el porcentaje de pared de fibra solo fue significativamente diferente *T. magna*, en la longitud de los elementos de vaso, *N. hiriartiana*, y *N. hypoleuca* en la longitud de fibras, en el resto de los caracteres las diferencias significativas se presentan en más de dos especies diferentes (Cuadros 9, 10).

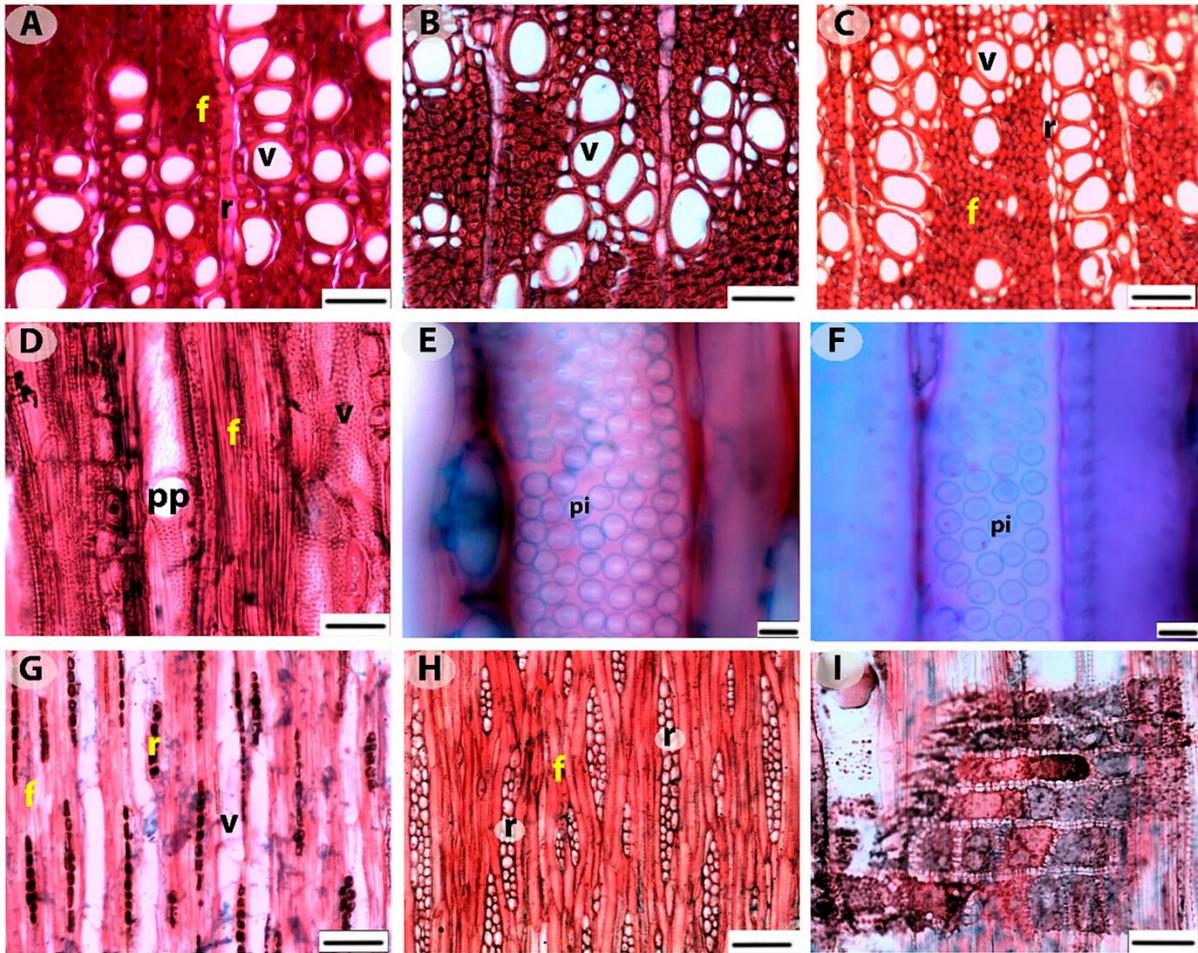


Figura 8. Detalles de la madera en especies de *Nahuatlea*, *Tehuasca* y *Anastraphia*. A. *Tehuasca magna*, vasos circulares, parénquima paratraqueal escaso, TR; B. *Nahuatlea hypoleuca*, vasos circulares y ovalados, parénquima paratraqueal escaso, TR; C. *N. smithii*, vasos ovalados, parénquima paratraqueal escaso, TR; D. *T. magna*, placa de perforación simple, LT; E. *N. obtusata*, punteaduras intervasculares alternas y circulares, con apertura circular, LT; F. *N. smithii*; punteaduras intervasculares alternas y circulares, con apertura lenticular, LT; G. *T. magna*, radios unicelulares con abundantes taninos, LT; H. *N. hypoleuca*. radios bi o triseriados, LT; I., radios con células procumbentes y erectas con presencia de taninos, LR. TR = transversal, LT = longitudinal tangencial, LR = longitudinal radial. Escala=100  $\mu$ m en G, I; 50  $\mu$ m en A-D, I; 5  $\mu$ m en E-F. f = fibra, pi = punteadura intervascular, pp = placa de perforación, r = radio, v = vaso

## Anatomía y arquitectura foliar

## Arquitectura foliar

*Nahuatlea* y *Tehuasca* presentaron margen entero, mientras que en *Anastraphia* fue dentado y en *Cnicothamnus* denticulado. El ápice fue mucronado en *N. arborescens* (Figura 9A), *N. hypoleuca* (Figura 9C) y *T. magna* (Figura 9G); agudo en *N. hiriartiana* (Figura 9B), *N. purpusii* (Figura 9E) y *N. smithii* (Figura 9F); obtuso en *A. ilicifolia* (Figura 9H) y *N. obtusata* (Figura 9D) y acuminado en *C. lorentzii* (Figura 9I). La base cuneada en *N. hiriartiana*, *N. hypoleuca*, *N. purpusii*, *N. smithii* y *C. lorentzii*; redondeada en *N. obtusata* y *A. ilicifolia* y obtusa en *N. arborescens*.

Casi todas las especies estudiadas presentan venación pinnada, excepto *N. arborescens* y *N. hiriartiana* que tienen venación acródroma. La venación secundaria fue broquidódroma en *Nahuatlea* y *Tehuasca*; craspedódroma en *Anastraphia* (Figura 9H); y eucantodódroma en *Cnicothamnus* (Figura 9I). El desarrollo de la areolación fue moderado en la mayoría (Figura 10B), excepto en *N. purpusii*, *N. smithii*, *A. ilicifolia* y *C. lorentzii* donde está bien desarrollado (Figura 10A). Las vénulas no se encuentran ramificadas excepto en *N. purpusii* (Figura 10A). La venación marginal se observó en arcos en *N. arborescens*, *N. hypoleuca* y *N. smithii* (Figura 10D); incompleta en *N. hiriartiana*, *N. obtusata*, *N. purpusii* (Figura 10C) y *T. magna*, estuvo ausente en *A. ilicifolia* y *C. lorentzii* (Figura 10E).

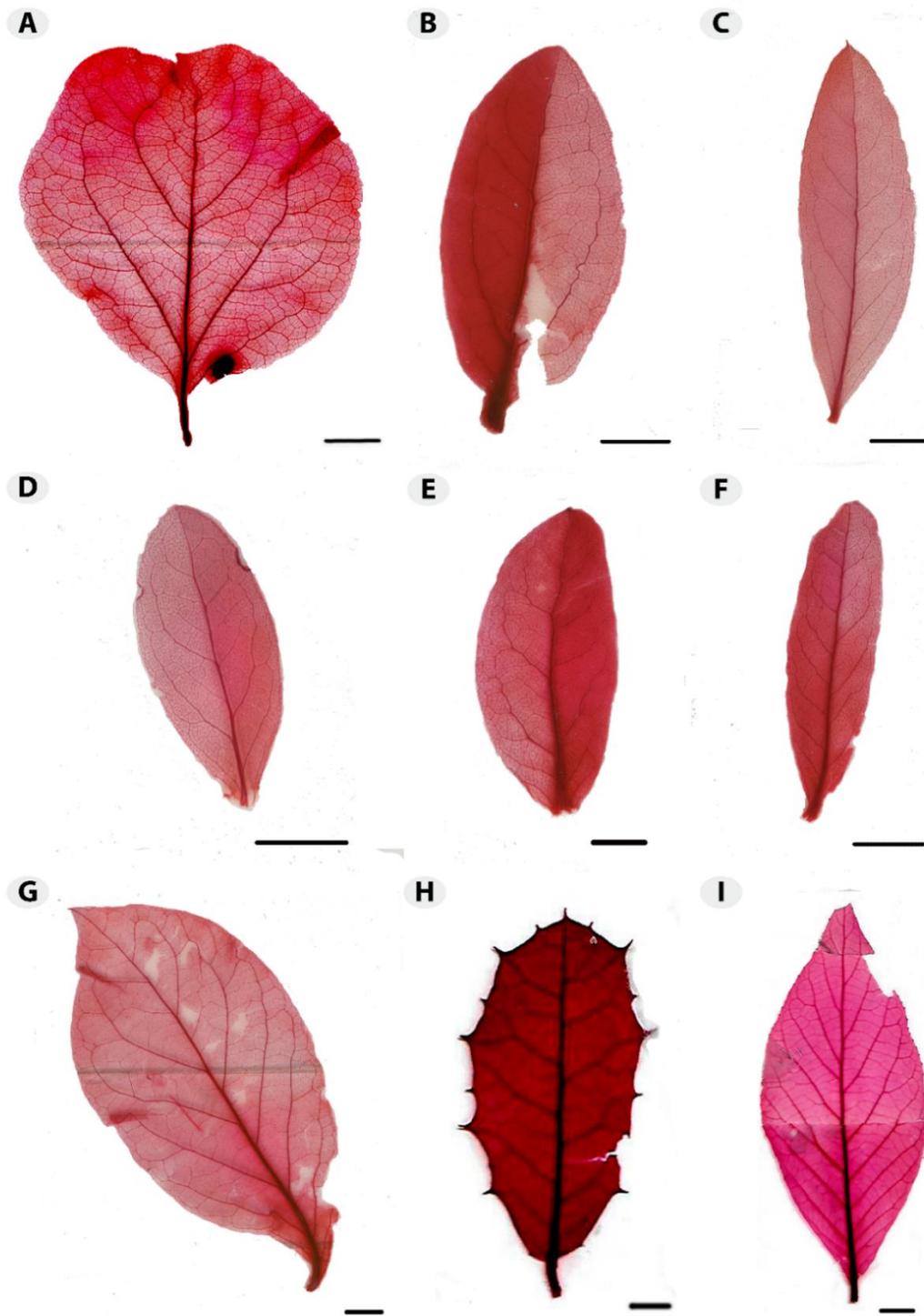


Figura 9. Hojas diafanizadas de *Nahuatlea* y sus grupos hermanos. A. *N. arborescens*; B. *N. hiriartiana*; C. *N. hypoleuca*; D. *N. obtusata*; E. *N. purpusii*; F. *N. smithii*; G. *Tehuasca magna*; H. *Anaethaphia ilicifolia*; I. *Cnicothamnus lorentzii*. Escala=0.5 cm en A-H; 1 cm en I.

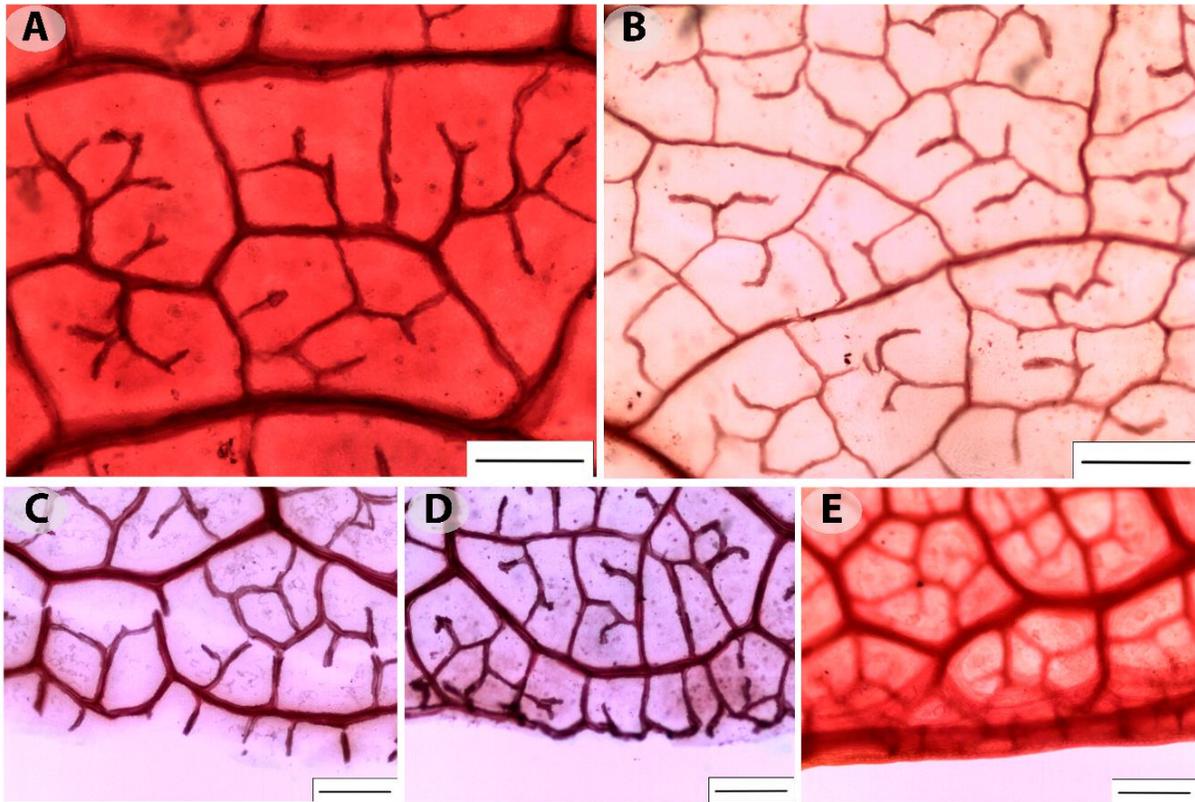


Figura 10. Detalles de areolación y vena marginal de *Nahuatlea* y sus grupos hermanos. A. *Nahuatlea purpusii*, areolación bien desarrollada y vénulas ramificadas; B. *Tehuasca magna*, areolación moderada, vénulas no ramificadas; C. *N. hiriartiana*, venación marginal incompleta; D. *N. smithii*, venación marginal en arcos; E. *Anastraphia ilicifolia*, venación marginal ausente. Escala=300  $\mu$ m.

## Anatomía foliar

### Epidermis

La superficie adaxial es glabra en la mayoría de las especies excepto en *Nahuatlea purpusii* y *Tehuasca magna* presentaron tricomas y glándulas; en contraste, en *Cnicothamnus loretzii* se observaron papilas. En la superficie abaxial la mayoría de las especies presentaron tricomas y glándulas (Figura 11E, D), excepto en *N. arborescens* donde fueron glabras y eglandulares. La forma de las células epidérmicas en la superficie adaxial fue poligonal con paredes anticlinales rectas para la mayoría de las especies (Figura 11B); en *N. arborescens* y

*C. lorentzii* fueron onduladas (Figura 11 A, C). En la superficie abaxial se observaron células poligonales con paredes anticlinales onduladas (Figura 11D), excepto en *A. ilicifolia* donde son rectas. Todas las especies presentaron hojas hipostomáticas y estomas anomocíticos (Figura 11E, F).

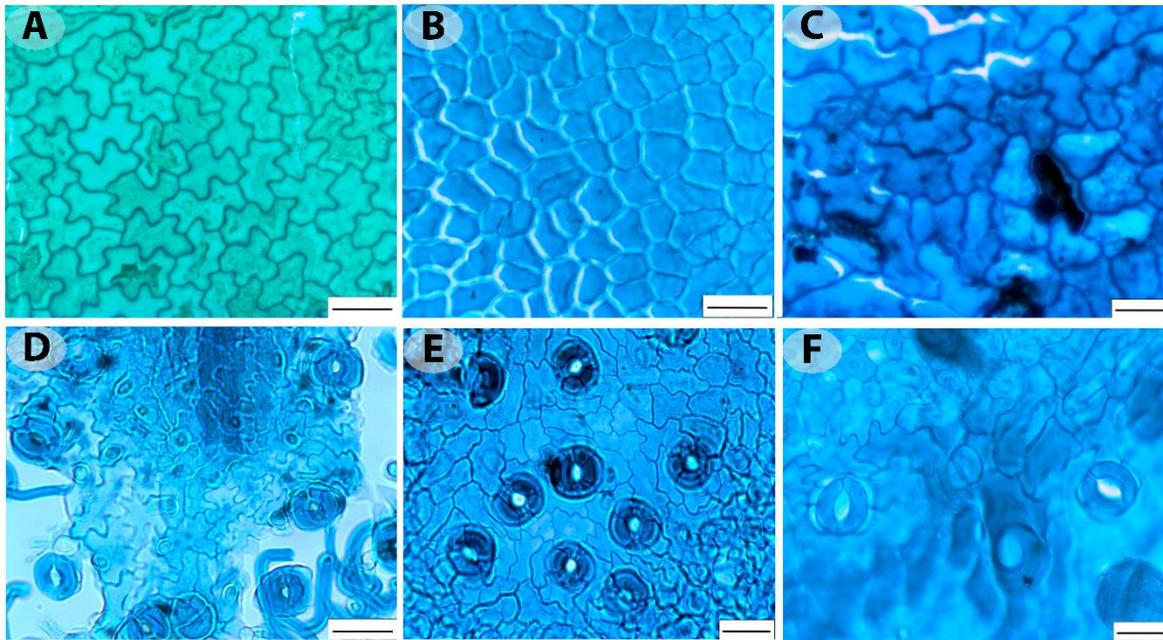


Figura 11. Vista superficial de la epidermis de *Nahuatlea* y sus grupos hermanos. A-C superficie adaxial. A. *Nahuatlea arborescens*, paredes anticlinales onduladas; B. *N. hiriartiana*, paredes anticlinales rectas; C. *Cnicothamnus lorentzii*, paredes anticlinales onduladas; D-F. superficie abaxial y paredes anticlinales onduladas. D. *N. hypoleuca*; E. *N. hiriartiana*; F. *Tehuasca magna*. Escala=50  $\mu\text{m}$  en A-B; 20  $\mu\text{m}$  en C-F.

En sección transversal, el espesor de la cutícula presentó diferencias significativas solo entre *Tehuasca magna* y *Cnicothamnus lorentzii* y las especies de *Nahuatlea*, las dos primeras tuvieron el menor grosor (Cuadro 11). Todas las especies presentaron cutícula lisa y epidermis simple. Las células epidérmicas fueron de forma rectangular en *N. hiriartiana* (Figura 12B) y *N. hypoleuca* (Figura 12C); rectangular hemisférica en *N. arborescens* (Figura 12A); rectangular y cuadrada en *N. purpusii* (Figura 12E); cuadrada angosta en *N. obtusata*

(Figura 12D); cuadrada en *A. ilicifolia* (Figura 12H), *C. lorentzii* (Figura 12I), y *N. smithii* (Figura 12F); rectangular y cuadrada en *T. magna* (Figura 12G). En la superficie abaxial, todas las especies presentaron estomas por encima del nivel con respecto a las células epidérmicas ordinarias. También se observó la presencia de criptas estomáticas únicamente en *Anastraphia* (Figura 11H) Con respecto al tamaño de las células epidérmicas se encontraron diferencias significativas entre algunas especies (Cuadro 10), excepto para el largo de las células epidérmicas abaxiales; *N. hiriartiana* presentó las adaxiales más largas (31.70  $\mu\text{m}$ ) y *A. ilicifolia* las más cortas (15.17  $\mu\text{m}$ ); así mismo en la superficie abaxial las células epidérmicas más largas se encontraron en *N. arborescens* (14.76  $\mu\text{m}$ ) y las más cortas en *C. lorentzii* (8.30  $\mu\text{m}$ ) (Cuadro 11). La pared periclinal adaxial varió de 2.56  $\mu\text{m}$  en *C. lorentzii* a 8.44  $\mu\text{m}$  en *N. smithii* y la abaxial de 1.61  $\mu\text{m}$  en *C. lorentzii* a 3.69  $\mu\text{m}$  en *T. magna*.

Cuadro 11. Caracteres cuantitativos de las hojas de *Nahuatlea* y sus grupos hermanos. Media  $\pm$  desviación estándar de los caracteres anatómicos de la hoja. Letras diferentes en los superíndices, indican diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Especie	Cutícula ( $\mu\text{m}$ )	Grosor pared periclinal adaxial ( $\mu\text{m}$ )	Largo cel. Epi. Adaxial ( $\mu\text{m}$ )	Grosor pared periclinal abaxial ( $\mu\text{m}$ )	Largo cel. Epi. Abaxial ( $\mu\text{m}$ )	Ancho mesofilo ( $\mu\text{m}$ )	Ancho Empalizada ( $\mu\text{m}$ )	pa.	%
<i>N. arborescens</i>	3.39 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>	4.32 $\pm$ 1.81 <sup>b</sup>	25.36 $\pm$ 7.37 <sup>b</sup>	2.44 $\pm$ 0.77 <sup>a</sup>	14.76 $\pm$ 5.85 <sup>a</sup>	76.66 $\pm$ 6.40 <sup>b</sup>	27.53 $\pm$ 6.88 <sup>a</sup>		36
<i>N. hiriartiana</i>	6.56 $\pm$ 1.29 <sup>b</sup>	7.99 $\pm$ 1.27 <sup>c</sup>	31.70 $\pm$ 7.74 <sup>b</sup>	3.61 $\pm$ 0.76 <sup>b</sup>	14.53 $\pm$ 5.31 <sup>a</sup>	147.85 $\pm$ 35.80 <sup>c</sup>	92.16 $\pm$ 21.59 <sup>b</sup>		63
<i>N. hypoleuca</i>	4.04 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	3.24 $\pm$ 0.97 <sup>a</sup>	27.36 $\pm$ 6.92 <sup>b</sup>	1.97 $\pm$ 0.66 <sup>a</sup>	11.87 $\pm$ 4.01 <sup>a</sup>	117.11 $\pm$ 8.44 <sup>a</sup>	71.13 $\pm$ 37.28 <sup>b</sup>		61
<i>N. obtusata</i>	3.30 $\pm$ 0.78 <sup>a</sup>	5.34 $\pm$ 1.12 <sup>a</sup>	22.44 $\pm$ 6.43 <sup>ab</sup>	2.16 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>	10.46 $\pm$ 3.31 <sup>a</sup>	135.16 $\pm$ 14.56 <sup>c</sup>	75.55 $\pm$ 9.48 <sup>b</sup>		56
<i>N. purpusii</i>	5.70 $\pm$ 1.87 <sup>b</sup>	7.81 $\pm$ 1.25 <sup>c</sup>	16.52 $\pm$ 5.47 <sup>a</sup>	1.99 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>	10.72 $\pm$ 3.33 <sup>a</sup>	83.79 $\pm$ 14.95 <sup>b</sup>	55.56 $\pm$ 17.88 <sup>ab</sup>		67
<i>N. smithii</i>	2.40 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>	8.44 $\pm$ 1.61 <sup>c</sup>	20.12 $\pm$ 6.34 <sup>a</sup>	2.64 $\pm$ 1.09 <sup>a</sup>	13.53 $\pm$ 6.12 <sup>a</sup>	68.46 $\pm$ 12.15 <sup>b</sup>	39.17 $\pm$ 5.91 <sup>a</sup>		57
<i>Tehuasca magna</i>	1.66 $\pm$ 0.73 <sup>a</sup>	5.77 $\pm$ 1.36 <sup>d</sup>	17.28 $\pm$ 6.91 <sup>a</sup>	3.69 $\pm$ 1.03 <sup>b</sup>	13.79 $\pm$ 4.50 <sup>a</sup>	57.45 $\pm$ 7.37 <sup>b</sup>	20.54 $\pm$ 2.45 <sup>a</sup>		36
<i>Anastraphia ilicifolia</i>	1.95 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	2.58 $\pm$ 0.81 <sup>a</sup>	15.17 $\pm$ 3.24 <sup>a</sup>	2.10 $\pm$ 1.20 <sup>a</sup>	8.99 $\pm$ 2.69 <sup>a</sup>	110.28 $\pm$ 24.76 <sup>a</sup>	50.95 $\pm$ 6.56 <sup>a</sup>		46
<i>Cnicothamnus lorentzii</i>	2.84 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>	2.56 $\pm$ 0.86 <sup>a</sup>	15.85 $\pm$ 5.08 <sup>a</sup>	1.61 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>	8.30 $\pm$ 2.53 <sup>a</sup>	64.57 $\pm$ 9.23 <sup>b</sup>	37.24 $\pm$ 4.79 <sup>a</sup>		58

## Mesofilo

La hipodermis está ausente excepto en *N. purpusii* (un estrato; Figura 12E) y *A. ilicifolia* (dos estratos; Figura 12H). El mesofilo es dorsiventral en todas las especies. El parénquima en empalizada se conformó por uno a tres estratos celulares, con variación del 36% (*N. arborescens* y *T. magna*) al 63% (*N. hiriartiana*) de espesor total (Cuadro 11). El parénquima esponjoso en *Nahuatlea* es en su mayoría compacto, excepto en *N. arborescens*, *Anastraphia*, *Cnicothamnus* y *Tehuasca* donde es laxo.

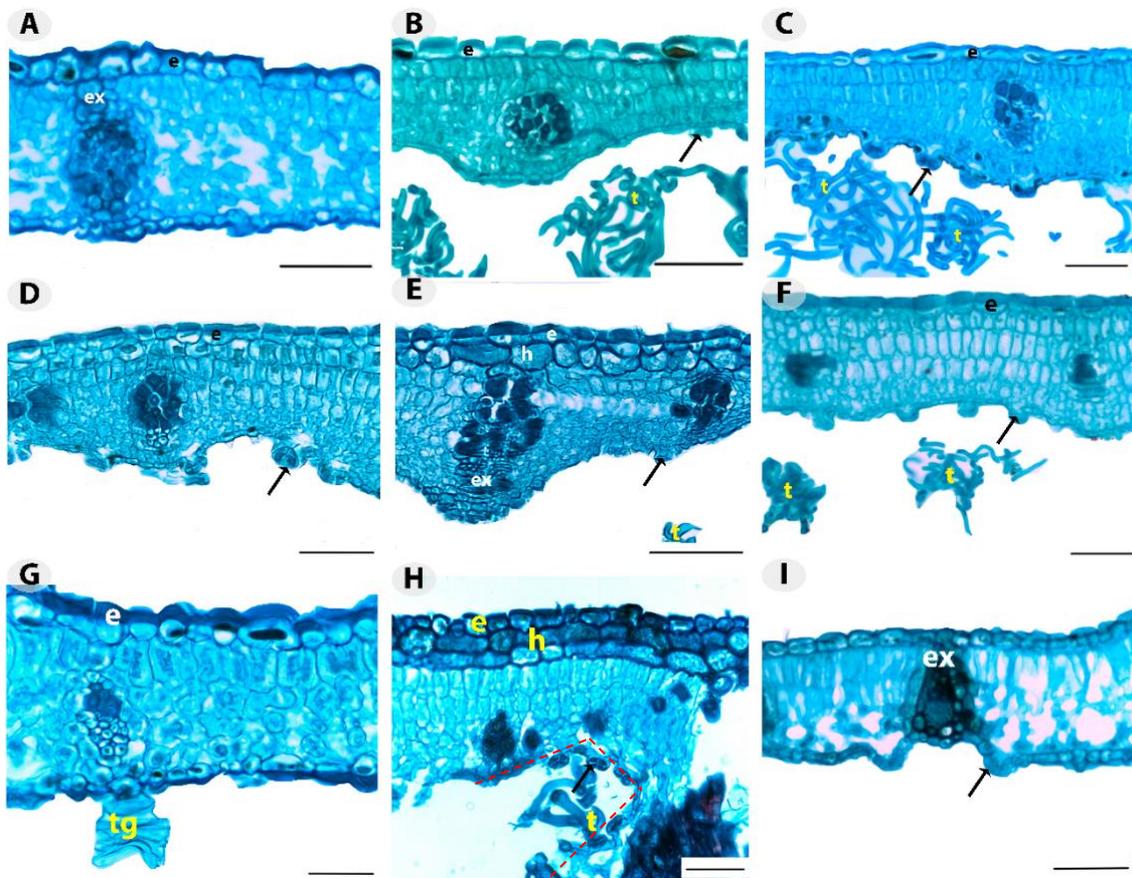


Figura 11. Vista transversal de la lámina de *Nahuatlea* y sus grupos hermanos. A. *N. arborescens*; B. *N. hiriartiana*; C. *N. hypoleuca*; D. *N. obtusata*; E. *N. purpusii*; F. *N. smithii*; G. *Tehuasca magna*; H. *Anastraphia ilicifolia*; I. *Cnicothamnus loretzii*. Escala=50  $\mu$ m A-I. e = epidermis, ex = extensión de la vaina, h = hipodermis, t = tricoma, tg = tricoma glandular, flecha = estomas, línea punteada = cripta estomática.

### **Haces vasculares**

Se observaron haces vasculares colaterales cerrados, rodeados por una vaina parenquimatosa; en algunos hubo células lignificadas asociadas al xilema, o bien, hacia xilema y floema. En *Cnicothamnus lorentzii* (Figura 12I), *Nahuatlea arborescens* (Figura 12A) y *N. purpusii* (Figura 12E) estuvieron presentes las extensiones de la vaina, en el resto de las especies son ausentes.

### **Vena media**

Las cutículas en la vena media fueron iguales a las de la lámina en todas las especies. La epidermis contiene células más pequeñas y con paredes epidérmicas externas más gruesas en la superficie abaxial (*Nahuatlea hiriartiana*, *N. hypoleuca*, *N. purpusii*, *N. smithii*) a diferencia de la lámina. El parénquima empalizada en la superficie adaxial está ausente en *N. arborescens* (Figura 13A) y *T. magna* (Figura 13G), es continuo en *N. hiriartiana* (Figura 13B) y *N. obtusata* (Figura 13D) y discontinuo en el resto de las especies. Se observó colénquima en la superficie abaxial, de un estrato en tres especies de *Nahuatlea*, también en *Anastrophia ilicifolia* (Figura 13C, E, F), dos estratos en *N. hiriartiana* y *C. lorentzii* (Figura 13H), estuvo ausente en *N. arborescens*, *N. obtusata* y *T. magna*. También hubo esclerénquima en los haces vasculares centrales que variaron de dos (*N. smithii*) hasta 12 estratos (*T. magna*), excepto *N. obtusata* donde no se observó. Notoriamente, el esclerénquima rodea completamente el tejido vascular en *N. arborescens*.

### **Análisis estadísticos**

Todos los caracteres evaluados de las hojas presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en al menos dos especies, excepto en el largo de la célula epidérmica abaxial, donde no hay diferencias significativas entre ninguna especie (Cuadro 11).

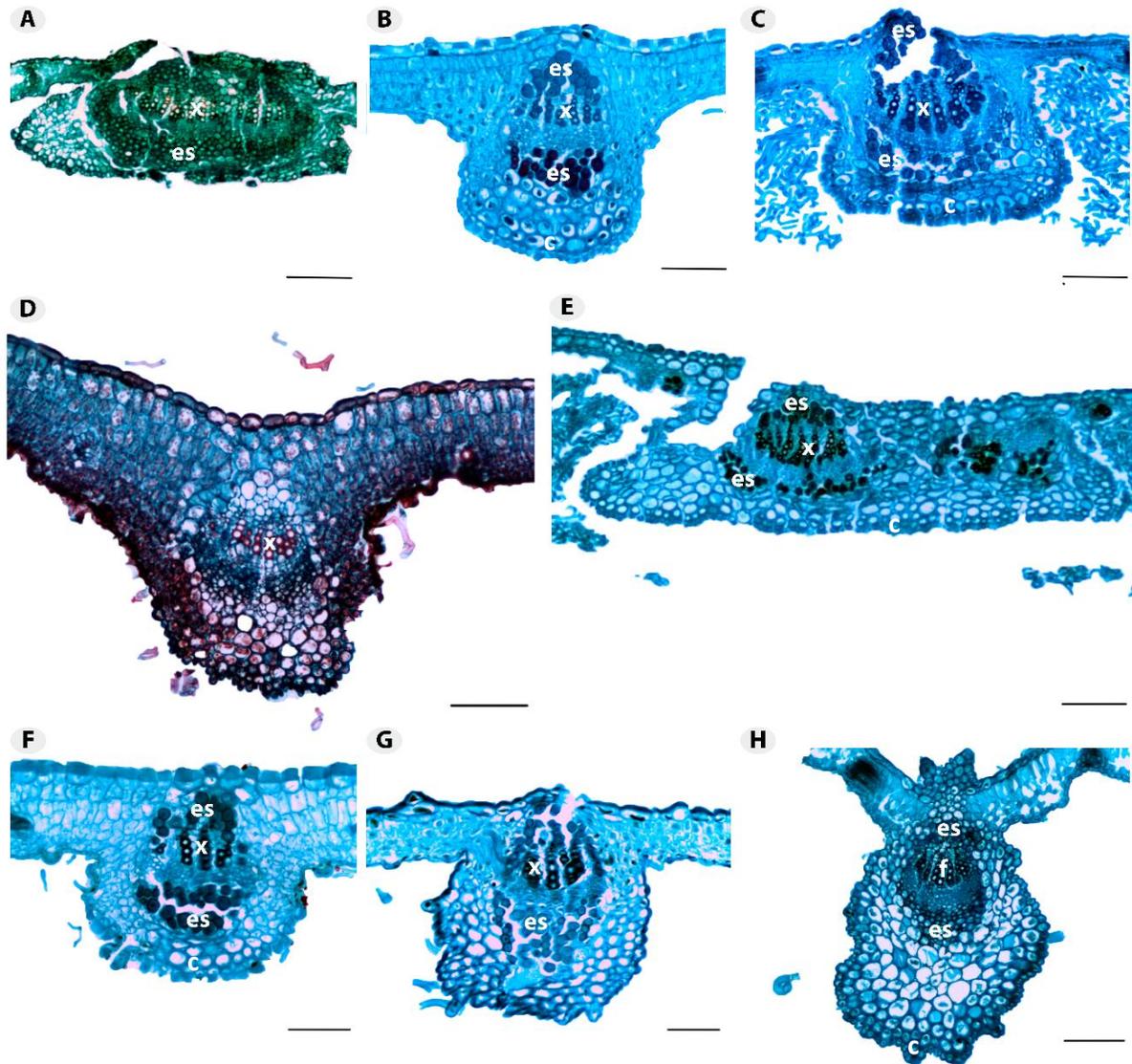


Figura 13. Vista de la vena media de *Nahuatlea* y sus grupos hermanos. A. *N. arborescens*; B. *N. hiriartiana*; C. *N. hypoleuca*; D. *N. obtusata*; E. *N. purpusii*; F. *N. smithii*; G. *Tehuasca magna*; H. *Cnicothamnus loretzii*. Escala= 300  $\mu\text{m}$  en A, E; 100  $\mu\text{m}$  en B-D, F-H. es = esclerenquima, x = xilema, c = colénquima.

### 5.3 Análisis sistemáticos

Los análisis de Máxima Parsimonia permitieron recuperar se retuvo un solo árbol, con una longitud de 218 pasos, índice de consistencia (CI) de 0.821 e índice de retención (RI) de 0.642. *Nahuatlea* se resolvió como un grupo monofilético sustentado por ocho sinapomorfias, seis morfológicas (hojas de 2.5-5 cm (CI = 66, RI = 50); involucreo turbinado (CI = 50, RI = 50); alto del involucreo menor a 1 cm de alto (CI = 40, RI = 25) y menor a 1 cm de ancho (CI = 66, RI = 50); series internas de los filarios menores a 0.79 cm (CI = 50; RI = 33), ausencia de glándulas en las corolas (CI = 100, RI = 100)) y dos anatómicas (entre 70 y 80% del porcentaje de la pared de fibras (CI = 100, RI = 100) y presencia de radios multiseriados (CI = 100, RI = 100)). Este grupo monofilético presenta un soporte Bootstrap y Jackknife con valores de 100/100 (Figura 14), el cual fue apoyado también con el valor máximo de probabilidad posterior en el árbol de inferencia bayesiana (Figura 15). *Anastraphia* y *Tehuasca* se resolvieron como hermanos del clado *Nahuatlea*. *Tehuasca* se sustentó por tres homoplasias (involucreo de 1.1-2.9 cm de alto y 1-2 cm de ancho, y 0.8-2 cm de largo en la serie interna de los filarios) y una autapomorfia (porcentaje menor a 70% en la pared de las fibras de la madera). Dentro de *Nahuatlea* se formaron dos clados, uno conformado por *N. arborescens* y *N. smithii* apoyado por la venación última marginal en arcos como carácter homoplásico y con valores de soporte bajos de 50/57. *Nahuatlea hiriartiana*, *N. hypoleuca*, *N. obtusata* y *N. purpusii* formaron el segundo clado, sustentado por dos caracteres estructurales, el parénquima esponjoso compacto (homoplasia) y la porosidad semianular (sinapomorfia), con valores Bootstrap y Jackknife de 99/99.

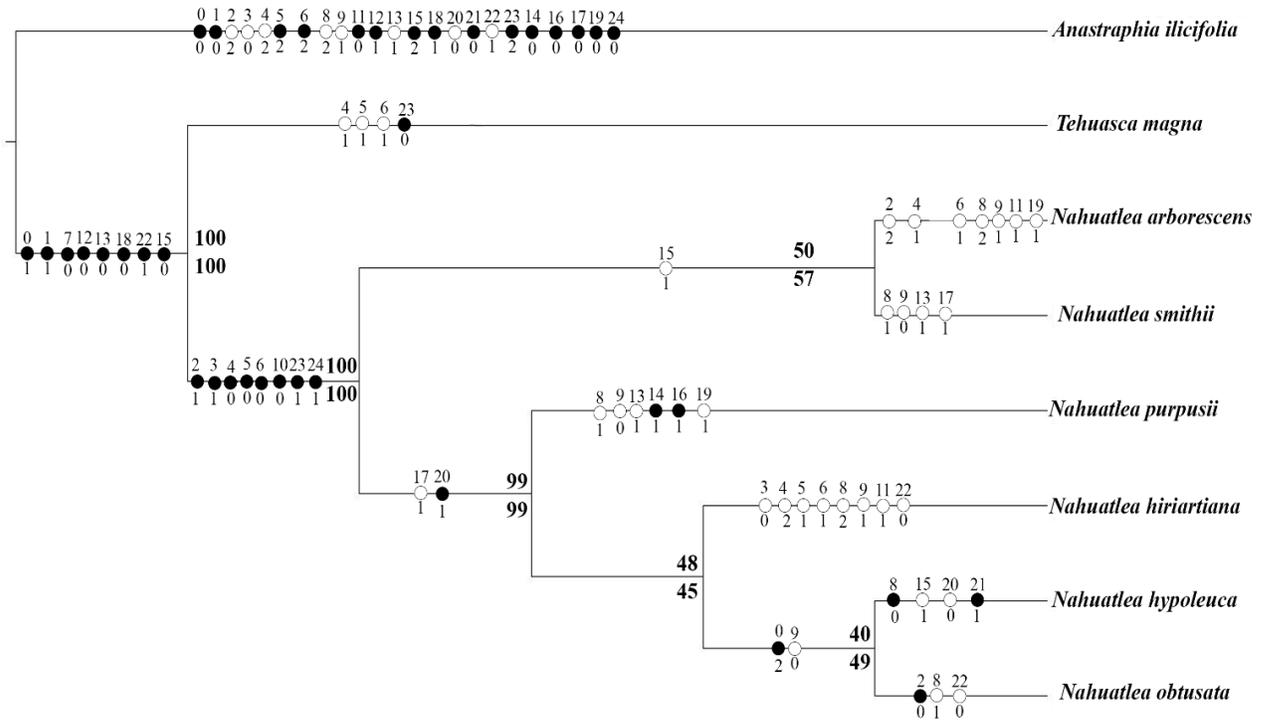


Figura 14. Cladograma más parsimonioso obtenido del análisis de máxima parsimonia. Longitud (L) = 218, índice de Consistencia (IC) = 0.821, índice de retención (IR) = 0.639. Las sinapomorfias se representan con círculos negros y las homoplasias con círculos blancos. Los números arriba/debajo de los círculos indican el carácter/estado como están indicados en el Cuadro 4. Los números encima/debajo de las ramas representan valores de Bootstrap/Jackknife.

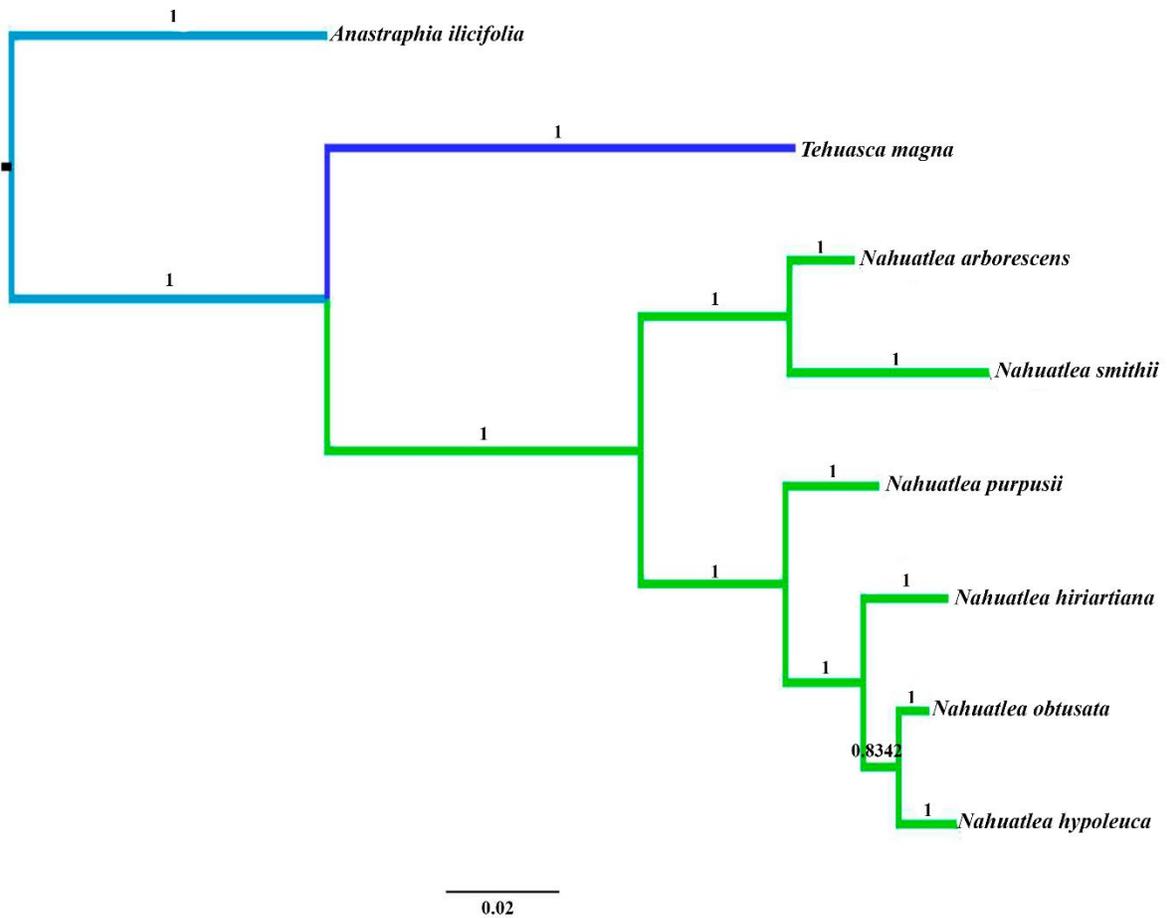


Figura 15. Relaciones filogenéticas de *Nahuatlea* y *Tehuasca* basado en el análisis de inferencia bayesiana con secuencias de ADN ribosómico (ITS+ETS) combinadas con caracteres morfo-anatómicos. Valores arriba de las ramas indican la probabilidad posterior bayesiana (PP).

## 6. Discusión

### 6.1. Análisis morfométricos

Los resultados del PCA y LDA coincidieron en los caracteres más importantes para separar las especies, como el tamaño de hojas, del involucro, de la corola y el vilano. En el LDA el tamaño de las cipselas y las anteras también fueron relevantes; de igual manera en el PCA el número de series de filarios, el tamaño de los filarios externos e internos y el número de flores contribuyeron en la ordenación de las especies. Algunos caracteres como el alto y el ancho del involucro, número de flores y largo de corola se han utilizado para separar a *Tehuasca magna* de *Nahuatlea hiriartiana* y *N. purpusii*; el tamaño de las hojas y las series filarios para diferenciar a *N. obtusata*, *N. smithii* y *N. hypoleuca* (Funk et al., 2017). Por tanto, son los caracteres que permiten reconocer las especies de *Nahuatlea* y *Tehuasca*.

*Nahuatlea hypoleuca* se definió por presentar inflorescencia tirsoideas; hojas elíptico-lanceoladas; venación última marginal en arcos y media del largo del vilano de 4.47 mm. Los individuos de *N. smithii* presentan hojas elíptico-lanceoladas con ápice agudo, venación última marginal en arcos y areolación bien desarrollada. Mientras que *N. purpusii* se caracteriza por la ramificación de las vénulas; areolación bien desarrollada y filarios con indumento lanoso. *Nahuatlea obtusata* se distingue por tener cabezuelas agrupadas en inflorescencias tirsoideas; el largo de la hoja de 1.33 cm en promedio y ápice y base de la hoja obtusos. *Nahuatlea arborescens* se distingue por presentar venación acrodróma; longitud de la serie interna del involucro de 10.5 mm en promedio; largo de la corola de 12.25 mm promedio y media del largo de vilano de 10 mm. *Nahuatlea hiriartiana* se caracteriza por tener involucro de 30 mm de alto; longitud de la serie externa del involucro, largo de los filarios externo de 11 mm; cabezuelas con 300 flores; largo de las anteras de 8.5 mm y largo

de las cipselas de 6.5 mm en promedio. Los individuos de *Tehuasca magna* se distinguen por el largo promedio de la hoja de 7.32 cm; involucre campanulado; diámetro promedio del involucre de 10.86 mm; presencia de glándulas en el ápice de los lóbulos de la corola; largo promedio del estilo de 8.36 mm.

*Nahuatlea hypoleuca* se diferencia de *N. obtusata* por las hojas elíptico-lanceoladas y elíptico-ovadas, ápice mucronado y obtuso, base y cuneada respectivamente, largo del vilano (Blake, 1924; Cabrera, 1971; Funk et al., 2017; Redonda-Martínez, 2019) y la venación última marginal con arcos e incompleta. En los patrones de venación *Nahuatlea purpusii* y *N. smithii* fueron los únicos taxones que presentan areolación bien desarrollada, en los restantes fue moderada o poco desarrollada como sucede en algunas tribus de Asteraceae (Rivera et al., 2019). *Nahuatlea purpusii* fue la única en presentar vénulas bien desarrolladas, y comparte la venación última marginal incompleta con *N. obtusata* y *T. magna*.

De acuerdo con el análisis de similitud los grupos obtenidos corresponden con las secciones propuestas por Freire et al. (2002), donde definieron a la sección *Leucomeris* del complejo *Gochnatia* por presentar de 7-12 series de filarios; en ella incluyeron a *Nahuatlea hypoleuca*, *N. obtusata* y *N. smithii*. Sin embargo, en el presente estudio estas especies se agruparon con *N. purpusii* por presentar de 4-9 series de filarios. Por otra parte, la sección *Glomerata* estaba definida por presentar inflorescencias en glomérulos o pseudocorimbos e incluía a *N. arborescens*, *N. purpusii* y *Tehuasca magna*; no obstante, *N. hiriartiana* y *N. smithii* también presentan cabezuelas agrupadas en glomérulos.

Con base en los análisis multivariados y de similitud no es posible separar a *Tehuasca* de *Nahuatlea*. *Tehuasca magna* presenta similitud morfológica con *N. arborescens* y *N.*

*hiriartiana*; aunque se diferencian por el número de flores, 26-53, 8-11 y 302, respectivamente (Cabrera, 1971; Panero, 2019). *T. magna* y *N. hiriartiana* comparten el involucro campanulado, pero se diferencian porque en *T. magna* el involucro y el vilano tienen menor longitud (Funk et al., 2017). Así mismo, *T. magna* presenta venación pinnada, aspecto que comparte con *N. hypoleuca*, *N. obtusata*, *N. smithii* y *N. purpusii*, en contraste, *N. arborescens* y *N. hiriartiana*, presentan venación acrodróma suprabasal. Además de los caracteres moleculares, Panero (2019) separó *Nahuatlea* y *Tehuasca* por la presencia de glándulas en el ápice de las corolas de este último, pero, dicho carácter no resultó significativo en el análisis de similitud. Con base en los resultados de los análisis morfométricos y de similitud queda la duda de si *Tehuasca* forma parte de *Nahuatlea*; los caracteres utilizados no fueron suficientes para distinguir estos géneros, aunque existe diferenciación de las especies. Por ello es necesario realizar análisis filogenéticos, que incluyan una combinación de los caracteres morfológicos y moleculares, para definir con mayor precisión la posición taxonómica de *Tehuasca*.

## **6.2 Análisis anatómicos**

Se identificaron algunos caracteres anatómicos de la madera y hoja de *Nahuatlea* y sus grupos hermanos, con posible valor taxonómico. En la madera fueron la porosidad, disposición de los vasos, apertura de las punteaduras intervasculares y el número de series en los radios. En la hoja, los patrones de venación, tipo de parénquima esponjoso, la presencia o ausencia de criptas estomáticas, hipodermis y extensiones de la vaina.

El carácter de la madera que diferenció a *Nahuatlea hiriartiana*, *N. obtusata* y *N. purpusii* del resto de las especies fue el tipo de porosidad; *N. hypoleuca* se diferenció de otras *Nahuatleas* por la disposición de los vasos. En las hojas, solamente *N. purpusii* se diferencia de las especies restantes por presentar vénulas ramificadas e hipodermis; las extensiones de la vaina son una característica compartida entre *N. arborescens*, *N. purpusii* y *C. lorentzii*. El único carácter que diferenció a *Nahuatlea* de *Anastraphia* y *Tehuasca* fue el número de series en los radios de la madera.

## **Madera**

Los caracteres anatómicos de la madera que comparten las especies de *Nahuatlea* son vasos circulares y ovalados, placas de perforación simple, punteaduras intervasculares y alternas, fibras libriformes con paredes muy gruesas, parénquima axial paratraqueal escaso, y radios bi o triseriados con células procumbentes, erectas o cuadradas, los cuales concuerdan con los rasgos anatómicos reportados previamente en la familia Asteraceae (Carlquist, 1966; Metcalfe y Chalk, 1983).

El 40% de las especies de *Nahuatlea* presentaron porosidad difusa, al igual que *Tehuasca* y *Anastraphia* la cual fue consistente con lo establecido para la familia (Metcalfe y Chalk, 1983); el resto de las especies presentó porosidad semianular, que no había sido reportada en Asteraceae. Es importante señalar que las especies con porosidad semianular son arbustivas, a diferencia de las que presentan porosidad difusa que son arbóreas, por lo que el hábito y las condiciones de sequía estacional favorecen su presencia (Martínez-Cabrera et al., 2015). Este estado de carácter y su correlación con el hábito arbustivo deberá confirmarse al estudiar la madera de un mayor número de arbustos de Asteraceae. Por otra parte, la distribución de los vasos en hileras radiales predomina en *Nahuatlea*, igual que en

*Anastraphia* y *Tehuasca*, lo cual es un rasgo común para taxones de la familia (Carlquist, 1966; León-H y Gámez-A, 2018). *Nahuatlea hypoleuca* presentó un patrón diagonal, el cual no había sido mencionado en Asteraceae, ya que es un rasgo común en especies con porosidad anular (IAWA Committee, 1989). Las aperturas de las punteaduras intervasculares fueron circulares en 60% de las especies de *Nahuatlea* y en *Anastraphia*, y lenticulares en el resto de las *Nahuatleas*, también en *Tehuasca*; este rasgo tampoco había sido reportado en madera de Asteraceae, por lo que sería importante evaluar su valor taxonómico. *Nahuatlea* presentó radios bi o triseriados, los cuales, se diferenciaron tanto de *Anastraphia* como de *Tehuasca*, donde predominaron los uniseriados. Es importante señalar que la muestra de la madera de *Tehuasca* proviene de un individuo de más de 2 m de alto, en floración, y seguramente, este es el tipo de radios de la madera madura; en cambio en *Anastraphia* se debe confirmar con una muestra de madera del tallo principal, dado que el material aquí analizado proviene de una rama.

Respecto a los caracteres cuantitativos, todas las especies presentaron diámetros de vasos menores a 50  $\mu\text{m}$ , aspecto que concuerda con algunos representantes arbustivos de zonas xeromórficas de Asteraceae (*Pentacalia*) (León-H y Gámez-A, 2018), Fabaceae (*Calliandra*) (Silva et al., 1989; Velázquez, 2018), Rosaceae (*Amelanchier*) (Velázquez, 2018), Rubiaceae (*Bouvardia*, *Randia*) (Martínez-Cabrera et al., 2015; Ramírez-Martínez et al., 2017) y Rutaceae (*Esenbeckia*) (Ramírez-Martínez et al., 2017). La longitud de los elementos de vaso (200-255  $\mu\text{m}$ ) es relativamente corta, en comparación con otros arbustos como *Bouvardia* y *Randia* (Rubiaceae), pero coincide con los valores establecidos para *Pentacalia* (Asteraceae) y *Amelanchier* (Rosaceae). En las paredes de las fibras (4.80-6.00  $\mu\text{m}$ ), los valores obtenidos son consistentes con los reportados en *Randia*, *Bouvardia* (3-5

um) y *Amelanchier* (2-7 um). Los resultados sugieren que los arbustos de zonas xerófilas se distinguen por sus fibras con paredes gruesas.

## Hoja

El presente trabajo documenta por primera vez la arquitectura y anatomía foliar de los géneros aquí estudiados, excepto para *Cnicothamnus* (Ruiz et al., 2014). En los patrones de venación de las hojas, *Nahuatlea* presentó el margen entero, al igual que *Tehuasca*. Los ápices y bases foliares fueron muy variables y el patrón de venación pinnado predominó en *Nahuatlea* (67%), también está en *Anastraphia*, *Cnicothamnus* y *Tehuasca*. *Nahuatlea arborescens* y *N. hiriartiana* compartieron la venación acródroma. *Nahuatlea* y *Tehuasca* tienen en común la venación broquidódroma, rasgo típico en la familia (Hickey y Wolfe, 1975; Rivera et al., 2019); a diferencia de *Anastraphia* y *Cnicothamnus* que presentaron venación craspedódroma y eucaptodódroma. *Anastraphia*, *Cnicothamnus*, *N. purpusii* y *N. smithii*, tuvieron areolas bien desarrolladas en comparación con el resto de las especies, en las cuales fue de moderada o poco desarrollada. Sin embargo, este carácter es muy variable dentro de las diferentes tribus de Asteraceae (Rojas et al., 2014; Rivera et al., 2019; Anaya-Gutiérrez et al., 2022). *Nahuatlea purpusii* fue la única especie con vénulas bien desarrolladas, comparte la venación última marginal incompleta con *N. hiriartiana*, *N. obtusata* y *Tehuasca*, en el resto de las especies de *Nahuatlea* forma arcos, mientras que en *Anastraphia* y *Cnicothamnus* está ausente. La venación última marginal más común encontrada para en Asteraceae está en arcos (*Acourtia*, *Artemisa*, *Barkleyanthus*, *Bellis*, *Galinsoga*, *Pentacalia*, *Pittocaulon*, *Roldana* y *Tagetes*) o es incompleta (*Bidens*, *Eupatorium*, *Helminthotheca*, *Melampodium*, *Verbesina* y *Vernonia*) (Ravindranath e Inamdar, 1985; Rojas-Leal et al., 2018; Rivera et al., 2019; Rabiae y Elbadry, 2020).

Todas las especies estudiadas presentaron hojas hipostomáticas con estomas anomocíticos, cutícula lisa y mesofilo dorsiventral, caracteres reportados previamente en Asteraceae (Metcalf y Chalk, 1979; Rivera et al., 2019). Sin embargo, estas características han reportado variación con respecto a miembros estudiados de la tribu Gochnatieae, como la organización del mesofilo en isobilateral o dorsiventral, así como las hojas anfi o hipoestomáticas (Melo-de-Pinna, 2004; Rossatto y Kolb, 2012).

El 84% de las especies de *Nahuatlea* tuvieron superficie adaxial glabra, y, tricomas y glándulas en la superficie abaxial, al igual que *Anastraphia* y *Cnicothamnus*, en cambio *Tehuasca* presentó tricomas y glándulas en ambas superficies. La presencia de tricomas y glándulas es común en miembros de la tribu Gochnatieae (Rossatto y Kolb, 2012; Ruiz et al., 2014). En *Nahuatlea* predominan las células epidérmicas poligonales con paredes anticlinales rectas en la superficie adaxial, mientras que la abaxial hay células poligonales onduladas. La mayoría de las otras tribus estudiadas, presentan similitud en ambas superficies (Rivera et al., 2019; Anaya-Gutiérrez et al., 2022). Todos los géneros aquí estudiados tienen estomas por encima de las células epidérmicas, rasgo característico en otros miembros de Gochnatieae (Rossatto y Kolb, 2012; Ruiz et al., 2014), pero menos común a nivel de familia (Rivera et al., 2019). En *Nahuatlea* 84% de las especies careció de hipodermis, al igual que *Anastraphia* y *Tehuasca*; en cambio, en *Cnicothamnus* y *N. purpusii* estuvo presente. *Anastraphia* fue el único género con criptas estomáticas, característica que no había sido mencionada para los miembros de la tribu y podría ser de importancia taxonómica, por lo que es necesario estudiar otras especies del género para verificar si pudiera tratarse de una novedad evolutiva. El 84% de las especies de *Nahuatlea* tuvo parénquima esponjoso compacto a diferencia de *Anastraphia*, *Cnicothamnus* y *Tehuasca*, donde fue laxo. Los haces

vasculares rodeados por una vaina parenquimatosa en las especies estudiadas son comunes en taxones de Asteraceae (Carlquist, 1957; Anderson y Creech, 1975; Breitwieser, 1993; Lapp et al., 2013; Lusa et al., 2018; Rivera et al., 2019; Carbone et al., 2021) y específicamente en Gochnatieae (Rossatto y Kolb, 2010, 2012). En los haces colaterales dispuestos a lo largo del mesofilo, cada uno está rodeado de células parenquimáticas y cuando hay extensiones de la vaina, algunas células se encuentran lignificadas como en *Richterago* (Melo-de-Pinna, 2004). La presencia de extensiones de la vaina es rara en *Nahuatlea*, sin embargo, esta característica es común en algunos miembros de Asteraceae (*Aldama*, *Bacharis*, *Dahlia*, *Gochnatia*, *Helminthotheca*, *Melampodium*, *Pseudognaphalium*, *Richterago*, *Sonchus*, *Tagetes*, entre otros) (Breitwieser, 1993; Melo-de-Pinna, 2004; Rossatto y Kolb, 2012, Rivera et al., 2019; Anaya-Gutiérrez et al., 2021).

En cuanto a caracteres cuantitativos, todas las especies presentaron parénquima empalizada bien desarrollado, característica de hojas xeromórficas con valores entre 93-195  $\mu\text{m}$  (Gibson, 1996; Gratani y Varone, 2004; Rivera et al., 2017). También el grosor de las cutículas (1-7  $\mu\text{m}$ ) concuerda con el de otras plantas xerófitas que van de 2-22  $\mu\text{m}$  (Rotondi et al., 2003; Lapp et al., 2013) y las paredes periclinales externas de 5-21  $\mu\text{m}$  (Lapp et al., 2013).

### 6.3 Análisis sistemáticos

Los análisis de Máxima Parsimonia e Inferencia Bayesiana, combinando caracteres morfo-anatómicos y moleculares, proporcionaron evidencias sólidas para apoyar la propuesta de que el género *Nahuatlea* es un grupo monofilético, constituido por seis especies. Igualmente,

los resultados apoyan la hipótesis de diferenciar a *Tehuasca* como género independiente y hermano de *Nahuatlea*, tal como se había propuesto anteriormente utilizando solo caracteres moleculares (Panero, 2019; Gostel et al., 2022).

El análisis aquí presentado dio como resultado una resolución con soporte máximo para *Nahuatlea* y *Tehuasca*. De las ocho sinapomorfias que apoyaron la monofilia de *Nahuatlea* cuatro son caracteres morfológicos, considerados previamente de importancia taxonómica en la diferenciación de especies, como el largo de las hojas, tamaño y forma del involucre (Blake, 1924; Cabrera, 1971; Funk et al., 2017), y ausencia de glándulas en la corola; ellos mismos permiten diferenciar a *Tehuasca magna* de *Nahuatlea* (Panero, 2019). La ausencia de las glándulas en la corola, el porcentaje de la pared de las fibras y el número de series en los radios resultaron ser sinapomorfias para el género. Sin embargo, algunos caracteres se recuperaron como sinapomorfias (transformacionales), pero no se encuentran compartiendo el mismo estado en todos los miembros del género, como el tamaño de las hojas, la forma y tamaño del involucre y la longitud de la serie interna de los filarios. Por ejemplo, considerando el tamaño de las hojas, *Anastraphia*, *Tehuasca* y *Nahuatlea arborescens* presentan las hojas más grandes (> 5 cm), *Nahuatlea* las hojas medianas (2.5-5 cm). Evolutivamente, se puede explicar esto como una transición del largo de las hojas a su reducción a lo largo de la filogenia. Aunque se prefieren las sinapomorfias como evidencia de monofilia, las homoplasias también son importantes porque pueden aportar potencial información sobre el carácter monofilético de muchos de los nodos en un árbol filogenético (Nixon y Ochoterena, 2000; Assis, 2009; Assis y Rieppel, 2011).

*Nahuatlea arborescens* presenta las hojas más grandes del grupo, carácter plesiomórfico que comparte con *Tehuasca* y *Anastraphia*. El alto del involucre y la longitud de la serie

interna de los filarios también se recuperan como caracteres plesiomórficos compartidos con *Tehuasca*. La venación primaria compartida con *N. hiriartiana* y la presencia de extensiones de vaina con *N. purpusii*, al parecer son caracteres que se adquirieron independientemente.

*Nahuatlea smithii* presenta una combinación única de caracteres homoplásicos como el vilano de 0.5-0.8 cm, la corola menor a 0.8 cm y la areolación bien desarrollada, los cuales comparte con *N. purpusii*. La areolación a su vez es un carácter plesiomórfico que también comparten con *Anastrophia*. El parénquima esponjoso compacto, también se comporta como una homoplasia porque lo comparte con el clado que formaron el resto de las especies (*N. purpusii*, *N. hiriartiana*, *N. hypoleuca* y *N. obtusata*). *Nahuatlea purpusii* presentó vénulas ramificadas y presencia de hipodermis como caracteres autapomórficos.

*Nahuatlea hiriartiana* se definió por una combinación de caracteres plesiomórficos (involucro campanulado < 3 cm de alto y de 1-2 cm de ancho, serie interna de los filarios 0.8-2 cm de largo, vilano < 0.8 cm, corola < 0.81 cm) que comparte con *Anastrophia* y *Tehuasca*. Las aperturas lenticulares de las punteaduras intervasculares que comparte *N. hiriartiana* con *N. obtusata* se recuperan como homoplasia.

*Nahuatlea hypoleuca* y *N. obtusata* compartieron inflorescencia tirsoide como sinapomorfia y corolas > 0.8 cm como homoplasia. *Nahuatlea hypoleuca* presenta como caracteres sinapomórficos el vilano más pequeño del grupo y una distribución diagonal en sus vasos, que se combinaron con caracteres homoplásicos, como la venación marginal en arcos y la porosidad difusa. En *N. obtusata* se recuperaron como sinapomorfia las hojas más pequeñas del grupo (< 2.5 cm) y tanto el vilano de 0.5-0.8 cm como las aperturas circulares de las punteaduras intervasculares son caracteres homoplásicos.

En general el género *Nahuatlea* se definió por un conjunto de sinapomorfias y/o una combinación de homoplasias, como ocurre en otros linajes de angiospermas (Hughes et al., 2004; Norup et al., 2006., Martínez-Domínguez, 2018, Sánchez et al., 2019). Como se discute en este trabajo los caracteres morfo-anatómicos proporcionan características informativas, las cuales se recuperan como sinapomorfias, homoplasias o una combinación de ellas, las cuales permiten evaluar de manera más crítica las filogenias moleculares y caracterizar mejor los clados recuperados.

## 7. Conclusiones

Los análisis morfométricos ayudaron a reconocer los caracteres que apoyan la diferenciación de las especies de *Tehuasca* y *Nahuatlea*, caracterizados principalmente por el tamaño de las hojas, del involucre, de los filarios internos, la corola y el vilano. Así mismo, resultaron relevantes los caracteres cualitativos como el tipo de inflorescencia, los patrones de venación, la forma del involucre y la presencia de glándulas en la corola. Sin embargo, los resultados no permitieron diferenciar de manera concluyente a nivel de géneros *Nahuatlea* y *Tehuasca*.

Se describe por primera vez la anatomía de la madera y hoja para las especies de *Anastrophia*, *Nahuatlea* y *Tehuasca*; también se identificaron caracteres con posible valor taxonómico de la madera, entre los que destacan la porosidad, la disposición de los vasos, la apertura de las punteaduras intervasculares y el número de series en los radios. Todos ellos, fueron significativamente diferentes entre las especies evaluadas. Además resultaron relevantes los patrones de venación, el tipo de parénquima esponjoso, presencia o ausencia de hipodermis, de criptas estomáticas y de extensiones de la vaina. A nivel genérico los caracteres que permiten diferenciar a *Nahuatlea* de sus grupos hermanos fueron los radios bi o triseriados de la madera y el porcentaje de la pared de las fibras.

Los resultados obtenidos permiten proponer una hipótesis más sólida de las relaciones filogenéticas, con base en los análisis filogenéticos combinados. La adición de caracteres morfo-anatómicos ayudó a corroborar y apoyar la delimitación de *Nahuatlea* basada en secuencias moleculares. La morfo-anatomía proporciona información útil y práctica para comparar y diagnosticar clados y proponer clasificaciones más robustas.

## 8. Referencias bibliográficas

- Aguilar-Rodríguez, S. y Terrazas, T. 2001. Anatomía de la madera de *Buddleja* L. (Buddlejaceae): análisis fenético. *Madera y Bosques* 7: 63-85. DOI: <https://doi.org/10.21829/myb.2001.721312>
- Aguilar-Rodríguez, S. y Barajas-Morales. 2005. Anatomía de la madera de especies arbóreas de un bosque mesófilo de montaña: un enfoque ecológico-evolutivo. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 77: 51-58. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.1712>
- Akaike, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19: 716-723. DOI: <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>
- Anaya-Gutiérrez, E.J., Gutiérrez, J., Serrato-Cruz, M.A. y Vázquez-Sánchez, M. 2022. Leaf anatomy of nine species of *Tagetes* L. (Tageteae: Asteraceae). *Botanical Sciences*, 100: 667-684. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.2985>
- Anderson, L.C. y Creech, J.B. 1975. Comparative leaf anatomy of *Solidago* and related Asteraceae. *American Journal of Botany* 62: 486-493.
- Andrés-Hernández A.R. y Terrazas, T. 2006. Petiole and leaf anatomy of species of the genus *Rhus* s. str. (Anacardiaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 78: 95-106. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.1723>
- Andrés-Hernández A.R., Terrazas, T., Salazar, G. y Ochoterena, H. 2014. Phylogenetic analysis based on structural and combined analyses of *Rhus* s.s. (Anacardiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 176: 452-468. DOI: <https://doi.org/10.1111/boj.12222>
- Arroyo-Cosultchi, G., Terrazas, T., Arias, S. y L. López-Mata. 2010. Delimitación de *Neobuxbaumia mezcalaensis* y *N. multiareolata* (Cactaceae) con base en análisis multivariados. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 86: 53-64. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.2320>
- Assis, L. 2009. Coherence, correspondence, and the renaissance of morphology in phylogenetic systematics. *Cladistics* 25: 528-544. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2009.00261.x>

- Assis, L. y Rieppel, O. 2011. Are monophyly and synapomorphy the same or different? Revisiting the role of morphology in phylogenetics. *Cladistics* 27: 94-102. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2010.00317.x>
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. y Walker S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal Statistical Software* 67: 1-48: DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Blake, S.F. 1924. New American Asteraceae. *Contributions from the United States National Herbarium* 22: 652-777.
- Breitwieser, I. 1993. Comparative leaf anatomy of New Zealand and Tasmanian Inuleae (Compositae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 111: 183-209. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1993.tb01898.x>
- Bremer, K. 1994. Asteraceae: *Cladistics and classification*. Portland: Timber Press. ISBN 0-88192-275-7.
- Cabrera, A.L. 1971. Revisión del género *Gochnatia* (Compositae). *Revista del Museo de La Plata* 12: 1-160.
- Cabrera, A. L. 1977. Mutisieae systematic review. "in": Heywood, V. H., J. B. Harborne, y B. L. Turner. ed. *The biology and chemistry of the Compositae*. Academic Press. London, UK. 2: 1039-1066.
- Carbone, A.V., Fernández, F.E., Hernández, M.P., Martínez, A.S.M. y Arambarri, A.M. 2021. Morpho-anatomical features of the leaves and stems of *Baccharis notoserghila* (Asteraceae) and their relationship with the environment and chemical control. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 56: 423-444. DOI: <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v56.n4.33519>
- Carlquist, S. 1957. Leaf anatomy and ontogeny in *Argyroxiphium* y *Wilkesia* (Compositae). *American Journal of Botany* 44: 695-705.
- Carlquist, S. 1966. Wood Anatomy of Compositae: A summary, with comments on factors controlling wood evolution. *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany* 6: 25-44.

- Cassini, A.H.G. 1817. Suite du sixième mémoire sur la famille des Synanthérées, contenant les caractères des tribus. *Journal de Physique, de Chimie, d'histoire Naturelle et des Arts* 88: 189-204.
- Cervantes, A., Terrazas, T. y H. Hernández. 2009. Foliar architecture and anatomy of *Bernardia* and other genera of Acalyphoideae (Euphorbiaceae). *Brittonia* 61: 375-391. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12228-009-9084-x>
- Charrad, M., Ghazzali, N., Boiteau, V. y A. Niknafs. 2014. NbClust: An R package for Determining the Relevant Number of Clusters in a Data Set. *Journal of Statistical Software* 61: 1-36. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v061.i06>
- Chmielewski, J.G., Chinnappa, C.C. y J.C. Semple. 1990. The genus *Antennaria* (Asteraceae: Inuleae) in western North America: morphometric analysis of *Antennaria alborosea*, *A. corymbosa*, *A. marginata*, *A. microphylla*, *A. parvifolia*, *A. rosea*, and *A. umbrinella*. *Plant Systematics and Evolution* 169: 151-175. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00937673>
- da Silva-Luz, C.L., Pirani, J.R., Mitchell, J.D., Daly, D., Do Valle, C.N., Demarco, D., Pell, S.K. y Plunkett, G.M. 2019. Phylogeny of *Schinus L.* (Anacardiaceae) with a new infrageneric classification and insights into evolution of spinescence and floral traits. *Molecular phylogenetics and Evolution* 133: 302-351. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.10.013>
- Dayrat, B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society* 85: 407-417. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x>
- De la Rosa-Tilapa A., Vázquez-Sánchez M. y Terrazas T. 2018. Stem anatomy of *Turbinicarpus s.l.* (Cactaceae, Cactaceae) and its contribution to systematics. *Plant Biosystems* 153: 600-609. DOI: <https://doi.org/10.1080/11263504.2018.1527791>
- De Sousa, L. de O. F. de, Wendt, T.; Brown, G.K., Tuthill, D.E. y Evans, T.M. 2007. Monophyly and Phylogenetic Relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) Based on Morphology and Chloroplast DNA Sequences. *Systematic Botany* 32: 264-270. DOI: <https://doi.org/10.1600/036364407781179707>

- Ellis, B., Daly, D.C., Hickey, L.J., Mitchell, J.D., Johnson, K.R., Wilf, P. y Wing, S. L. 2009. Manual of leaf architecture. USA: Cornell University Press. pp. 22-100. ISBN: 978-0-8014-7518-4
- Felsenstein, J. 2003. Bootstrap, jackknife, and permutation tests. In. *Inferring Phylogenies*. E.U.A. Pp. 335-362. ISBN: 9780878931774
- Finot, V.L., Soreng, R., Giussani, L.M. y R.G. Muñoz. 2018. A multivariate morphometric delimitation of species boundaries in the South American genus *Nicoraepoa* (Poaceae: Pooideae: Poeae). *Plant Systematics and Evolution* 304: 679-697. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00606-018-1499-y>
- Fox, J. y S. Weisberg. 2019. An R companion to applied regression. SAGE publications. California, USA. 608 pp.
- Freire, S.E., Katinas, L. y G. Sancho. 2002. *Gochnatia* (Asteraceae: Mutisieae) and the *Gochnatia* complex: taxonomic implications from morphology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 89: 525-550. DOI: <https://doi.org/10.2307/3298594>
- Funk, V.A., Anderberg, A.A., Baldwin, B.G., Bayer, R.J., Bonifacino, J.M., Breitwieser, I., Brouillet, L., Carbajal, R., Chan, R., Coutinho, A.X.P., Crawford, D.J., Crisci, J.V., Dillon, M.O, Freire, S.E., Galbany-Casals, M., Garcia-Jacas, N., Gemeinholzer, B., Gruenstaeudl. M., Hansen, H.V., Himmelreich, S., Kadereit, J.W., Källersjö, M., Karaman-Castro, V., Karis, P.O., Katinas, L., Keeley, S.C., Kilian, N., Kimball, R.T, Lowrey, T.K., Lundberg, J., McKenzie, R.J., Tadesse, M., Mort, M.E., Nordenstam, B., Oberprieler, C., Ortiz, S., Pelsner, P.B., Randle, C.P., Robinson, H., Roque, N., Sancho, G., Semple, J.C., Serrano, M., Stuessy, T.F., Susanna, A., Unwin, M., Urbatsch, L., Urtubey, E., Vallès, J., Vogt, R., Wagstaff, S., Ward, J., Watson, L.E., 2009. Compositae metatrees: The next generation. "In": Funk, V.A., Susanna, A., Stuessy, T.F. y Bayer, R.J. eds. *Systematics, evolution, and biogeography of Compositae*. Vienna: 747– 777. ISBN: 978-3-9501754-3-1
- Funk, V.A., Sancho, G., Roque, N., Kelloff, C.L., Ventosa-Rodriguez, I., Diazgranados, M., Bonifacio, J.M. y Chan, R. 2014. A Phylogeny of the Gochnatieae: Understanding a

- critically placed tribe in the Compositae. *Taxon* 63: 859-882. DOI: <http://dx.doi.org/10.12705/634.27>
- Funk, V.A., Sancho, G. y Roque, N. 2017. *Nahuatlea*: a new genus of compositae (Gochnatieae) from North America. *Phytokeys* 91: 105-124: DOI: <https://doi.org/10.3897/phytokeys.91.21340>
- Gibson, A. C. 1996. Structure-function relations of warm desert plants. Springer. Los Angeles, USA. 215 pp.
- Goloboff, P.A., Farris, J.S. y Nixon, K.C. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* 24: 774-786. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2008.00217.x>
- González-Medrano, F., Villaseñor, J.L., Medina, R. 2004. A New species of *Gochnatia* (Asteraceae: Mutisieae) from the desert scrubland of the state of Hidalgo, México. *Novon* 14: 434-436.
- Gostel, M.R., Sancho, G., Roque, N., Donato, M. y Funk, V. 2022. Phylogenomic loci define the generic boundaries of Gochnatieae and improve resolution at the species level in *Moquiniastrum* (Compositae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 175: 107558. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107558>
- Gratani, L. y Varone, L. 2004. Leaf key of *Erica arborea* L., *Erica multiflora* L. and *Rosmarinus officinalis* L. co-occurring in the Mediterranean maquis. *Flora* 199: 58-69. DOI: <https://doi.org/10.1078/0367-2530-00130>
- Gravendeel, B. y De Vogel, F. 2002. Revision of *Coelogyne* section *Moniliformes* (Orchidaceae) based on morphology, plastid and nrITS sequences. *Blumea* 47: 409-463.
- Gutiérrez J., Terrazas, T., Luna-Vega, I. y Salazar, G.A. 2017. Phylogenetic analyses of the *Milla* complex (Brodiaeoideae: Asparagaceae), with an emphasis on *Milla*. *Botanical Journal of the Linnean Society* 185: 445-462. DOI: <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box074>

- Hickey, L. y Wolfe, J.A. 1975. The bases of angiosperm phylogeny-vegetative morphology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 62: 538-589. DOI: <http://dx.doi.org/10.2307/2395267>
- Hughes C.E., Lewis, G.P., Yomona A.D. y Reynel, C. 2004. *Maraniona*. A New Dalbergioid Legume Genus (Leguminosae, Papilionoideae) from Peru. *Systematic Botany* 29: 366-374. DOI: <https://doi.org/10.1600/036364404774195557>
- Hothorn, T., Bretz, F. y Westfall P. 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal* 50: 346-363. DOI: <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>
- IAWA Committee. 1989. IAWA list of microscopic features for hardwood identification. *IAWA Bulletin new series* 10: 219-332.
- Jervis, R.N. 1954. A summary of the genus *Gochnatia* including a revision of the west Indian species which comprise the section *Anastraphioides*. Tesis de Doctorado. University of Michigan, E.U.A. P. 239.
- Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. MacGraw Hill, New York. P 523.
- Josse, J. y F. Husson. 2016. A package for Handling Missing Values in Multivariate Data Analysis. *Journal of Statistical Software* 70: 1-31. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v070.i01>
- Kaplan, Z. y K. Marhold. 2012. Multivariate morphometric analysis of the *Potamogeton compressus* group (Potamogetonaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 170: 112-130. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01270.x>
- Katoh, K., Rozewicki, J. y Yamada, K. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics* 20: 1160-1166. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
- Kassambara, A. y F. Mundt. 2020. factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>
- Kunth, K.S. 1820. *Gochnatia*. *Nova Genera et Species Plantarum* (folio ed.) 4: 15-16.

- Lagasca, M. 1811. Disertación sobre un nuevo orden de plantas de la clase de las compuestas. “in” Lagasca, M. Ed. *Amenidades Naturales de las Españas*. Imprenta de la Muy ilustre Junta, Orihuela, pp. 26-44.
- Lapp, M., Jáuregui, D., Torrecilla, P. y Ruiz-Zapata, T. 2013. Anatomía de la lámina foliar de diez especies de *Pentacalia* Cass. (Senecioneae-Asteraceae), presentes en Venezuela. *Ernstia* 23: 25-46.
- Lê, S., Josse, J. y F. Husson. 2008. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* 25: 1-18. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Lenth, R.V. 2016. Least-Squares Means: The R package lsmeans. *Journal of Statistical Software* 69: 1-33. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v069.i01>
- Lessing, C.F. 1832. *Synopsis generum compositarum earumque dispositionis novae tentamen, monographis multarum Capensium interjectis*. Berlin. Duncker y Humblot.
- León-H, W.J. y Gámez-A, L.E. 2018. Anatomía de la madera de ocho especies de *Pentacalia* (Asteraceae) en Venezuela. *Caldasia* 40: 41-53. DOI: <https://doi.org/10.15446/caldasia.v40n1.65722>
- Leonard, M.R., Cook, R.E. y J.C. Semple. 2005. A multivariate morphometrics study of the Aster genus *Sericocarpus* (Asteraceae: Astereae). *SIDA* 21: 1471-1505.
- Li, T., Zhu, S. y M. Ogihara. 2006. Using discriminant analysis for multi-class classification: an experimental investigation. *Knowledge and Information Systems* 10: 453-472. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10115-006-0013-y>
- Lusa, M.G., Loeuille, B.F.P., Ciccarelli, D. y Appearance-of-Glory, B. 2018. Evolution of stem and leaf structural diversity: A case study in Lychnophorinae (Asteraceae). *The Botanical Review* 84: 203-241. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12229-017-9191-4>
- Maddison, W.P. y Maddison, D.R. 2021. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. V3.70. <http://www.mesquiteproject.org>
- McGarigal, K., Cushman, S. y S. Stafford. 2000. Multivariate statistics for wildlife and ecology research. Springer. New York. 283 p. ISBN: 978-1-4612-1288-1

- Mandel, J.R., Dikow, R.B., Siniscalchi, C.M., Thapa, R., Watson, L.E. y Funk, V.A. 2019. A fully resolved backbone phylogeny reveals numerous dispersals and explosive diversifications throughout the history of Asteraceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116: 14083-14088. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1903871116>
- Mar-Jiménez, R. y Vargas-Simón, G. 2021. Architecture and foliar anatomy of *Chrysophyllum caimito* L. *Bioagro* 34: 51-62. DOI: <https://doi.org/10.51372/bioagro341.5>
- Martínez-Cabrera, D., Terrazas, T. y H. Ochotorena. 2007. Leaf architecture of Hamelieae (Rubiaceae). *Feddes Repertorium* 118: 286-310. DOI: <https://doi.org/10.1002/fedr.200711140>
- Martínez-Cabrera, D., Terrazas, T., Ochoterena, H. y Torres-Montúfar, A. 2015. Madera y corteza de algunas Rubiaceae en México: similitud estructural. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 86: 59-71. DOI: <https://doi.org/10.7550/rmb.48489>
- Martínez-Domínguez, L. 2018. Taxonomía y evolución de *Ceratozamia* (Zamiaceae) en la Sierra Madre Oriental, México: Un enfoque para su conservación. Tesis de Maestría. Centro de investigaciones Tropicales. Veracruz, México.
- Martínez-Quezada, D.M., Sandoval-Zapotitla, E. y S. Arias. 2019. Análisis morfométrico del grupo *Selenicereus vagans* (Cactaceae: Hylocereeae) con base en la anatomía del tallo. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 90: e902924. DOI: <http://dx.doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2924>
- Melo-de-Pinna, G.F.A. 2004. Anatomía foliar de *Richterago Kuntze* (Mutisieae, Asteraceae). *Acta Botanica Brasilica* 18: 591-600. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062004000300017>
- Metcalf, C.R. y Chalk L. 1979. Anatomy of the dicotyledons. Vol. I. Clarendon press. Oxford. London. pp. 190-215.
- Metcalf, C.R. y Chalk, L. 1983. Anatomy of the dicotyledons. Vol. II. Clarendon press. Oxford. London. pp. 782-798.

- Montaño-Arias, S.A., Camargo-Ricalde, S. y Grether, R. 2016. Anatomía de la madera de tres especies de *Mimosa* (Leguminosae-Mimosoideae) distribuidas en México. *Madera y Bosques* 22: 191-202. DOI: <https://doi.org/10.21829/myb.2016.221486>
- Nixon, K.C. y Carpenter, J.M. 1996. On simultaneous analysis. *Cladistics* 12: 221-241. DOI: <https://doi.org/10.1006/clad.1996.0016>
- Nixon, K.C y Ochoterena, H. 2000. Taxonomía tradicional, cladística y construcción de hipótesis filogenéticas. In: Hernández, H.M., García Aldrete, A.N., Álvarez, F. y Ulloa, M. (Comps.). *Enfoques contemporáneos para el estudio de la Biodiversidad*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica. México. pp 15-38.
- Nixon, K.C. 2002. Winclada, versión 1.00. 08. *Ithaca*. New York.
- Norup, M.V., Dransfield, J., Chase, M.W., Barfod, A.S., Fernando, E.S. y Baker, W.J. 2006. Homoplasious character combinations and generic delimitation: a case study from the Indo-Pacific arecoid palms (Arecaceae: Areceae). *American Journal of Botany* 93: 1065-1080. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.93.7.1065>
- Owen, E., Semple, J.C. y B.R. Baum. 2006. A multivariate morphometric analysis of the *Simphyotrichum boreale* – *S. nahanniense*- *S. welshii* complex (Asteraceae: Astereae). *Canadian Journal of Botany* 84: 1282-1297. DOI: <https://doi.org/10.1139/b06-091>
- Pacheco-Trejo, J., Terrazas, T. y H. Ochoterena. 2009. Leaf architecture of the genus *Didymaea* Hook. f. (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 281: 137-149. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00606-009-0195-3>
- Panero, J.L. y Funk, V.A. 2002. Toward a Phylogenetic subfamilial classification fo the Compositae (Asterace). *Proceedings of the Biological Society of Washington* 115: 909-922.
- Panero, J.L. 2019. Generic Relationships in Gochnatioideae (Asteraceae) Including *Tehuasca*, a New Genus from Northeastern Mexico. *Lundellia* 22: 1-10: DOI: <https://doi.org/10.25224/1097-993X-22.1.1>

- Peterson, M.P., Annable, C.R. y Franceshi, V.R. 1989. Comparative leaf anatomy of the annual *Muhlenbergia* (Poaceae). *Nordic Journal of Botany* 8: 575-583. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1989.tb01731.x>
- Podsiedlik, M., Nowinska, R. y L. Bednorz. 2016. A morphometric study on *Senecio eurifolius* (Asteraceae) from Poland and its taxonomic implications. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 85: 3505. DOI: <http://dx.doi.org/10.5586/asbp.3505>
- R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Rabie, G.T. y Elbadry, S.H. 2020. Morphological study of leaf architecture in three taxa of *Bellis* (Asteraceae) in Libya. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences* 11: 6478-6481. ISSN: 0976-7126.
- Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G., Suchard, M.A. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics usin Tracer 1.7. *Systematic Biology* 67: 901-904. DOI: <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Ramírez-Martínez. M., Terrazas, T., Aguilar-Rodríguez, S. y Martínez-Ávalos J.G. 2017. Anatomía de la madera de especies de la selva baja caducifolia de Tamaulipas, México. *Madera y Bosques* 23: 21-41. DOI: <https://doi.org/10.21829/myb.2017.2321126>
- Ravindranath, K. e Inamdar, J.A. 1985. Leaf architectural studies in the Asteraceae-II. *Korean Journal of Botany* 28: 57-67.
- Redonda-Martínez, R. 2018. Taxonomic revision of Subtribe Leiboldiinae (Vernoniae: Asteraceae). *Systematic Botany* 43: 344-363. <https://doi.org/10.1600/036364418X696996>
- Redonda-Martínez, R. 2019. Asteraceae, Tribu Gochnatieae. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán 155: 1-16.
- Rivera, P., Terrazas, A., Rojas-Leal, A. y Villaseñor J.L. 2019. Leaf architecture and anatomy of Asteraceae species in a xerophytic scrub in Mexico City, Mexico. *Acta Botanica Mexicana* 126: e1515. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1515>

- Rivera, P., Terrazas, A., Rojas-Leal, A. y Villaseñor J.L. 2019. Leaf architecture and anatomy of Asteraceae species in a xerophytic scrub in Mexico City, Mexico. *Acta Botanica Mexicana* 126: e1515. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1515>
- Rojas-Leal, A., Terrazas, T. y Villaseñor, J.L. 2014. Desarrollo del patrón de venación en cuatro especies de la tribu Senecioneae (Asteraceae). *Botanical Sciences* 92: 23-36. DOI: <https://dx.doi.org/10.17129/botsci.25>
- Rojas-Leal, A., Terrazas, T. y J.L. Villaseñor. 2018. Foliar architecture of some members of the tribe Senecioneae (Asteraceae) with a key for identification of the Mexican genera. *Phytotaxa* 364: 136-156. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.364.2.2>
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van der Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A. y Huelsenbeck, J.P. 2012. Mr.Bayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Systematic Biology* 61: 539-542. DOI: <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Rotondi, A., Rossi, F., Asunis., C. y Cesaraccio, C. 2003. Leaf xeromorphic adaptations of some plants of a coastal Mediterranean macchia ecosystem. *Journal of Mediterranean Ecology* 4: 25-35.
- Rossatto, D.R. y Kolb, R.M. 2010. *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. *Acta Botanica Brasilica* 24: 605-612. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062010000300002>
- Rossatto, D.R. y Kolb, R.M. 2012. Structural and functional leaf traits of two *Gochnatia* species from distinct growth forms in a sclerophyll forest site in Southeastern Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 26: 849-856. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000400014>
- Ruiz, A.I., Guantay, M.E., Mercado, M.I. y Ponessa, G.I. 2014. *Cnicothamnus lorentzii* (Asteraceae): morfoanatomía y arquitectura foliar. *Lilloa* 51: 226-235.
- Ruiz-Valencia, J.A., Vázquez-Sánchez, M., Burgos-Hernández, M., Gutiérrez, J. y Terrazas, T. 2021. Anatomía de la madera de especies de *Forestiera* (Oleaceae) en México.

- Ruzin, E. S. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford University Press. New York, USA. Pp. 57-60.
- Sánchez, D., Arias, S. y T. Terrazas. 2013. Análisis morfométrico de las especies de *Echinocereus* sección *Triglochidiati* (Cactaceae) en México. *Brittonia* 65: 368-385. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12228-012-9285-6>
- Sánchez, D., Arias, S., Vázquez-Sánchez, M. y Terrazas, T. 2019. Combined phylogenetic analysis in *Echinocereus* (Cactaceae), the use of morphology, and taxonomic implications. *Systematics and Biodiversity* 24: 239-269. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-30746-2\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-30746-2_11)
- Sandoval-Zapotitla E., Terrazas T. 2001. Leaf anatomy of 16 taxa of the *Trichocentrum* clade (Orchidaceae: Oncidiinae). *Lindleyana* 16: 81-93.
- Sandoval-Zapotitla, E., Terrazas, T., Vallejo, A. 2003. Análisis fenético de caracteres anatómico-foliares de *Trichocentrum* y géneros relacionados (Orchidaceae, Oncidiinae). *Lankesteriana* 7: 51-53. DOI: <https://doi.org/10.15517/lank.v3i2.23014>
- Sandoval-Zapotitla, E., García-Cruz, J., Terrazas, T. y Villaseñor, J.L. 2010. Phylogenetic relationships of the subtribe oncidiinae (Orchidaceae) inferred from structural and DNA sequences (matk, ITS): a combined approach. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81: 263-269. DOI: <http://dx.doi.org/10.22201/ib.20078706e.2010.002.252>
- Semple, J., Kornobis, K. y A. Mazzorato. 2019. A multivariate morphometric analysis of *Solidago* subsect. *Humiles* (Asteraceae: Astereae). *Phytoneuron* 24: 1-61
- Silva, A., Blanco, C. y Lindorf, H. 1989. Anatomía de la madera de nueve leguminosas de Venezuela. *Acta Botanica Brasilica* 2: 115-134.
- Solano, E., Terrazas, T., Reyes-Rivera, J. y Serrano-Casas, H. 2017. Anatomía comparativa de raíz, tallo, hoja y base del pedúnculo de *Manfreda* (Asparagaceae: Agavoideae).

- Revista Mexicana de Biodiversidad* 88: 899-911. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.019>
- Spencer, G., Hans-Peter, P. y L. Selzer. 2019. multcompView: Visualizations of paired comparisons. R package version 0.1-8. <https://CRAN.R-project.org/package=multcompView>
- Swofford, D.L. 2002. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods), Version 4.0 Beta 10. *Sinauer Associates*, Sunderland.
- Tabachnick, B.G., Fidell, L.S. 2007. Using multivariate statistics. Pearson Education. Boston. ISBN: 0-205-45938-2.
- Tejero-Díez, J.D., Aguilar-Rodríguez, S., Terrazas, T. y L. Pacheco. 2010. Arquitectura y anatomía foliar del complejo *Polypodium plesiosorum sensu* Moran (Polypodiaceae). *Revista de Biología Tropical* 58: 955-976. DOI: <https://doi.org/10.15517/rbt.v58i2.5257>
- Terrazas, T. y Wendt, T. 1995. Systematic wood anatomy of the genus *Tapiria* Aublet (Anacardiaceae): a numerical approach. *Brittonia* 47: 109-129. DOI: <https://doi.org/10.2307/2806951>
- Terrazas T., Loza-Cornejo S. y Arreola-Nava H.J. 2005. Anatomía caulinar de las especies del género *Stenocereus* (Cactaceae). *Acta Botanica Venezuelica* 28: 321-336.
- Todzia, C. A. y R. C. Keating. 1991. Leaf architecture of the Chloranthaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 78: 476-496.
- Trigas, P., Kougiomoutzis, K., Ermidou, A. E. Kalpoutzakis. 2018. Multivariate morphometric análisis of *Petrorhagia* subsect. *Saxifragae* (Caryophyllaceae) in Greece, with a new species from SE Peloponnisos: *P. laconica*. *Willdenowia* 48: 137-146. DOI: <https://doi.org/10.3372/wi.48.48110>
- Venables, W.N. y B.D. Ripley. 2002. Modern Applied Statistics with S. Springer, New York. ISBN: 978-1-4419-3008-8

- Velázquez, D. V. 2018. Descripción anatómica de la madera de cuatro arbustos de la Sierra del Tentzo. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. 40 pp.
- Villarreal-Quintanilla, J.A., Estrada-Castillón, A.E. y J.A. Encina-Domínguez. 2020. Dos cambios de rango taxonómico en *Pseudognaphalium*. *Acta Botanica Mexicana* 127. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm127.2020>.
- Villaseñor, J.L. 2018. Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical sciences* 96: 332-358. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.1872>
- Wickham, H. 2016. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag. New York. ISBN: 978-3-319-24277-4
- Wickham, H. 2021. forcats: Tools for Working with Categorical Variables (Factors). R package version 0.5.1. <https://cran.r-project.org/web/packages/forcats/index.html>
- Yu, S.X., Janssens, S.B., Zhu, X.Y., Lidén, M., Gao, T.G. y Wang, W. 2016. Phylogeny of *Impatiens* (Balsaminaceae): integrating molecular and morphological evidence into a new classification. *Cladistics* 32: 179-197. DOI: <https://doi.org/10.1111/cla.12119>

## Apéndice I

### Descripciones anatómicas de la madera en las especies de *Anastrophia*, *Nahuatlea* y *Tehuasca*

#### *Nahuatlea hiriartiana*

Anillos de crecimiento delimitados por fibras con paredes más delgadas, vasos de la madera temprana más grandes y parénquima marginal, porosidad semianular; vasos de forma redondeada, hileras radiales de 6 vasos,  $30 \pm 4$  /mm<sup>2</sup>, diámetro tangencial  $28.22 \pm 10.01$  µm, pared de vaso  $7.27 \pm 1.42$  µm; longitud de elementos de vaso  $249.48 \pm 42.81$  µm; placas de perforación simple, punteaduras intervasculares alternas, circulares, apertura circular, diámetro 4.08 µm; punteaduras radio-vaso iguales a las intervasculares. Fibras libriformes, longitud de  $590.41 \pm 154.41$  µm, diámetro tangencial  $13.81 \pm 2.23$  µm; pared muy gruesa ( $4.84 \pm 1.32$  µm); parénquima axial apotraqueal ausente, paratraqueal escaso; radios heterocelulares,  $3 \pm 0.6$  /mm, 1-3 seriados, predominan los biseriados, altura  $197 \pm 85.49$  µm, ancho  $28.20 \pm 5.96$  µm, células procumbentes y erectas, taninos presentes en algunas células.

#### *Nahuatlea hypoleuca*

Anillos de crecimiento delimitados por parénquima marginal, porosidad difusa; vasos de forma redondeada y ovalada dispuestos en un patrón en diagonal,  $18 \pm 4$  /mm<sup>2</sup>, diámetro tangencial  $30.33 \pm 8.69$  µm, pared de vasos  $7.85 \pm 2.24$  µm; elementos de vaso  $249.48 \pm 42.81$  µm de longitud; placas de perforación simple, punteaduras intervasculares alternas, circulares, diámetro 4.20 µm, con apertura lenticular; punteaduras radio-vaso similares a las intervasculares. Fibras libriformes; de longitud de  $663.36 \pm 117.08$  µm, diámetro tangencial  $13.77 \pm 2.44$  µm, pared muy gruesa ( $4.81 \pm 1.10$  µm); parénquima axial apotraqueal ausente,

paratraqueal escaso. Radios heterocelulares  $3 \pm 0.78$  /mm, 1-3 seriados, predominando 2-3-seriados, de  $213.0 \pm 87.97$   $\mu\text{m}$ , ancho  $23.07 \pm 5.72$   $\mu\text{m}$ , células procumbentes y cuadradas.

### ***Nahuatlea obtusata***

Anillos de crecimiento delimitados por diámetro amplio en la madera temprana y parénquima marginal, porosidad semianular; vasos de forma redondeada y ovalada, en cúmulos o dispuestos en hileras radiales de hasta 7 vasos,  $33 \pm 9$  /mm<sup>2</sup>, diámetro tangencial  $27.5 \pm 7.18$   $\mu\text{m}$ , pared de vasos  $7.34 \pm 1.71$   $\mu\text{m}$ ; longitud de elementos de vaso  $221.89 \pm 34.47$   $\mu\text{m}$ ; placas de perforación simple, punteaduras intervasculares alternas, circulares, apertura circular, diámetro 3.90  $\mu\text{m}$ ; punteaduras radio-vaso similares a las intervasculares. Fibras libriformes de pared muy gruesa ( $5.05 \pm 1.33$   $\mu\text{m}$ ), longitud  $573.89 \pm 99.13$   $\mu\text{m}$ , diámetro tangencial  $13.38 \pm 2.38$   $\mu\text{m}$ ; parénquima axial apotraqueal ausente, paratraqueal escaso. Radios heterocelulares, 1-3 seriados, predominan los biseriados,  $2 \pm 0.54$  /mm, altura  $264.85 \pm 149.4$   $\mu\text{m}$ , ancho  $23.95 \pm 6.16$   $\mu\text{m}$ , células procumbentes y erectas, taninos en cada una de sus células y cristales prismáticos.

### ***Nahuatlea purpusii***

Anillos de crecimiento delimitados por escaso parénquima marginal y aumento ligero de diámetro en los vasos de madera temprana, porosidad semianular; vasos de forma circular y ovalada, en cúmulos, dispuestos en patrones radiales,  $23 \pm 4$  /mm<sup>2</sup>, diámetro tangencial  $34.28 \pm 12.43$   $\mu\text{m}$ , pared de vasos  $7.33 \pm 1.15$   $\mu\text{m}$ ; longitud de elementos de vaso  $214.93 \pm 43.61$   $\mu\text{m}$ ; placas de perforación simple, punteaduras intervasculares alternas, ovaladas con apertura lenticular, diámetro 3.83  $\mu\text{m}$ ; punteaduras radio-vaso similar a las intervasculares; fibras libriformes de pared muy gruesa ( $5.29 \pm 1.17$   $\mu\text{m}$ ), longitud  $546.73 \pm 114.69$   $\mu\text{m}$ , diámetro tangencial  $14.25 \pm 2.48$   $\mu\text{m}$ ; parénquima axial apotraqueal ausente, paratraqueal

escaso; radios heterocelulares con algunas células envolventes, 1-3 seriados, predominan los biseriados,  $2 \pm 0.3/\text{mm}^2$ , altura  $198.63 \pm 73.88 \mu\text{m}$ , ancho  $30.30 \pm 10.73 \mu\text{m}$ , células procumbentes y erectas, presencia de taninos.

### ***Nahuatlea smithii***

Anillos de crecimiento delimitados por fibras de paredes más delgadas en la madera temprana, porosidad difusa; vasos de forma ovalada, hileras radiales de 4 a 8 vasos,  $31 \pm 6 /\text{mm}^2$ , diámetro tangencial  $35.92 \pm 14.93 \mu\text{m}$ , pared de vasos  $7.04 \pm 1.30 \mu\text{m}$ ; elementos de vaso  $225.62 \pm 31.84 \mu\text{m}$  de longitud; placas de perforación simple; punteaduras intervasculares alternas, circulares, apertura lenticular, diámetro  $4.16 \mu\text{m}$ ; punteaduras radio-vaso similares a las intervasculares; fibras libriformes de pared muy gruesa ( $4.96 \pm 0.95 \mu\text{m}$ , longitud  $552.96 \pm 110.28 \mu\text{m}$ , diámetro tangencial  $13.24 \pm 1.85 \mu\text{m}$ ; parénquima axial apotraqueal ausente, paratraqueal escaso; radios heterocelulares  $3 \pm 0.6/\text{mm}$ , 1-3 seriados, predominan los biseriados, altura  $155.19 \mu\text{m}$ , ancho  $26.77 \pm 8.29 \mu\text{m}$ , células procumbentes y erectas, presencia de taninos en algunas células.

### ***Tehuasca magna***

Anillos de crecimiento delimitados por fibras de paredes más delgadas en la madera temprana, porosidad difusa; vasos de forma circular, dispuestos en hileras radiales hasta de 10 vasos,  $26 \pm 3/\text{mm}^2$ , diámetro tangencial  $41.6 \pm 10.31 \mu\text{m}$ , pared de vasos  $11.05 \pm 1.07 \mu\text{m}$ ; longitud de elementos de vaso  $253.91 \pm 45.26 \mu\text{m}$ ; placas de perforación simple; punteaduras intervasculares alternas, circulares, apertura lenticular, diámetro  $3.63 \mu\text{m}$ ; fibras libriformes de pared muy gruesa ( $5.01 \pm 0.95 \mu\text{m}$ ), longitud  $568.21 \pm 97.74 \mu\text{m}$ , diámetro tangencial  $15.04 \pm 2.43 \mu\text{m}$ ; parénquima axial apotraqueal ausente, paratraqueal escaso; radios heterocelulares  $2 \pm 0.74 /\text{mm}$ , uni y bi seriados, en su mayoría uniseriados, alto  $155.95$

$\pm 52.54 \mu\text{m}$ , ancho  $20.62 \pm 4.05 \mu\text{m}$ , células procumbentes y cuadradas con abundantes taninos.

***Anastraphia ilicifolia***

Anillos de crecimiento delimitados por fibras de paredes más delgadas en la madera temprana, porosidad difusa; vasos de forma circular, solitarios o formando hileras radiales de 4-7 vasos; placas de perforación simples, punteaduras intervasculares alternas, circulares a ligeramente ovaladas, apertura circular; punteaduras radio-vaso similares a las intervasculares. Fibras libriformes de paredes muy gruesas; parénquima axial apotraqueal ausente, paratraqueal escaso; radios heterocelulares, 1 y 2 seriados, en su mayoría uniseriados, células procumbentes y erectas, con taninos en algunas células.

## Apéndice II

### Descripciones de arquitectura y anatomía de la hoja en las especies de *Anastraphia*, *Nahuatlea* y *Tehuasca*.

#### *Nahuatlea arborescens*

Hojas alternas cortamente pecioladas, lámina ovada, margen entero, ángulo del ápice y base obtuso, ápice mucronado, base obtusa; venación primaria acrodróma suprabasal, venación secundaria broquidodróma; desarrollo de areolación moderado, con vénulas mayormente no ramificadas; venación última marginal en arcos.

Hojas hipoestomáticas; en vista superficial células poligonales alargadas con anticlinales onduladas en u en ambas superficies; adaxial y abaxial glabras; estomas anomocíticos. En sección transversal, ancho de lámina  $108.97 \pm 11.14 \mu\text{m}$ ; cutícula estriada en ambas superficies, espesor  $3.39 \pm 0.59 \mu\text{m}$ ; epidermis uniseriada con células rectangulares a hemisféricas, pared periclinal externa gruesa, adaxial  $4.32 \pm 1.81 \mu\text{m}$ , abaxial  $2.44 \pm 2.77 \mu\text{m}$ ; estomas al mismo nivel que las células epidérmicas; mesofilo heterogéneo con un estrato de empalizada (36%), parénquima esponjoso laxo; haces vasculares colaterales cerrados, rodeados por una vaina parénquimatosa, extensiones de la vaina presentes con células lignificadas. Vena media contorno plano a ligeramente concavo en adaxial y ligeramente convexo en abaxial, cutícula similar a la lámina, epidermis con células cuadradas; haz vascular central con serie de 14 hileras radiales de xilema, de 3 a 6 vasos, floema de 3 filas de células, esclerenquima rodeando a xilema y floema, hasta de 6 estratos.

#### *Nahuatlea hiriartiana*

Hojas simples, alternas, sésiles o cortamente pecioladas, lámina elíptica, margen entero, ángulo del ápice y base agudo, ápice agudo, base cuneada; venación primaria acrodróma

suprabasal; venación secundaria broquidodróma; desarrollo de areolación moderado con vénulas no ramificadas; venación última marginal incompleta.

Hojas hipoestómaticas; en vista superficial células poligonales con paredes anticlinales rectas y glabra en la superficie adaxial, paredes anticlinales ligeramente onduladas y con abundantes tricomas en la abaxial; estomas anomocíticos. En sección transversal ancho de lámina  $107.91 \pm 16.86 \mu\text{m}$ ; cutícula lisa en ambas superficies, espesor  $5.61 \pm 0.76 \mu\text{m}$ ; epidermis uniseriada con células rectangulares; pared periclinal gruesa, adaxial  $11.41 \pm 2.60 \mu\text{m}$ , abaxial  $4.25 \pm 2.53 \mu\text{m}$ ; estomas por encima del nivel de las células epidérmicas; mesofilo heterogéneo con tres estratos de parénquima en empalizada (64%), parénquima esponjoso compacto; haces vasculares colaterales cerrados, rodeados con vaina parenquimatosa, sin extensiones de la vaina. Vena media con contorno plano o ligeramente proyectado adaxialmente y convexo protuberante abaxialmente, cutícula similar a la lámina, epidermis uniseriada, con células cuadradas, angostas; parénquima en empalizada continuo en la cara adaxial, hacia la cara abaxial dos estratos de colénquima, haz vascular central con una serie de 7 hileras radiales de xilema de 3 a 6 vasos, floema de 6 filas de células, casquetes de esclerénquima de 4 estratos sobre floema y xilema.

### *Nahuatlea hypoleuca*

Hojas simples, alternas, cortamente pecioladas, lámina elíptico-lanceolada, margen entero, ángulo del ápice y base agudo, ápice mucronado y base cuneada; venación primaria pinnada, venación secundaria broquidódroma; desarrollo de areolación moderada con vénulas mayormente no ramificadas; venación última marginal en arcos.

Hojas hipoestómaticas; en vista superficial células poligonales con paredes anticlinales rectas y glabras en superficie adaxial; células poligonales onduladas en u, con

tricomas glandulares en cara abaxial; estomas anomocíticos. En sección transversal, cutícula lisa en ambas superficies, espesor  $5.04 \pm 1.30 \mu\text{m}$ ; epidermis uniseriada con células rectangulares; periclinal externa delgada, adaxial  $3.24 \pm 0.97 \mu\text{m}$ , abaxial  $1.97 \pm 0.66 \mu\text{m}$ ; estomas por encima del nivel de las células epidérmicas; mesofilo heterogéneo con tres estratos de parénquima en empalizada (57%), parénquima en esponjoso compacto; haces vasculares colaterales cerrados con vaina parenquimática, sin extensiones de vaina. Vena media con contorno plano en adaxial y convexo protuberante en abaxial, cutícula similar a la lámina, epidermis uniseriada con células angostas y pared periclinal externa más gruesa que en la lámina en especial en la cara abaxial, sin parénquima en empalizada y un estrato de colénquima en cara abaxial; haz vascular central con serie de 7 hileras radiales de xilema, 5-6 filas de floema, casquetes de esclerénquima de 3 estratos sobre floema y de 3 a 6 sobre xilema.

### ***Nahuatlea obtusata***

Hojas simples, alternas, cortamente pecioladas, lámina elíptico-ovada, margen entero, ángulo del ápice y base obtusos, ápice obtuso y base redondeada; venación primaria pinnada, venación secundaria broquidodróma; desarrollo de areolación moderada con vénulas mayormente no ramificadas; venación última marginal incompleta.

Hojas hipoestómaticas; en vista superficial células poligonales alargadas con paredes anticlinales rectas y glabras en superficie adaxial, en abaxial, paredes anticlinales onduladas, con tricomas glandulares; estomas anomocíticos. En sección transversal cutícula lisa en ambas superficies, espesor  $5.21 \pm 1 \mu\text{m}$ ; epidermis uniseriada con células cuadradas angostas angostas; grosor de pared periclinal externa adaxial  $5.34 \pm 1.12 \mu\text{m}$ , abaxial  $2.16 \pm 0.63 \mu\text{m}$ ; estomas por encima del nivel de las células epidérmicas; mesofilo heterogéneo con dos o tres

estratos de parénquima en empalizada (69%) y dos de esponjoso compacto; haces vasculares colaterales cerrados, rodeados por una vaina parénquimatoso, extensiones de la vaina ausentes. Vena media con contorno ligeramente concavo adaxialmente, redondo y protuberante abaxialmente, cutícula similar a la lámina, epidermis uniseriada con células más pequeñas que en la lámina, paredes periclinales delgadas; parénquima en empalizada continuo y colénquima ausente en la cara abaxial; haz vascular central con serie de 7 hileras radiales de xilema con 5 vasos, floema de 6 hileras de células, esclerénquima ausente.

### *Nahuatlea purpusii*

Hojas simples, alternas, cortamente pecioladas; lámina elíptico-lanceolada, margen entero, ángulo del ápice y base agudos, ápice agudo y base cuneada; venación primaria pinnada, venación secundaria broquidodrómica; areolación bien desarrollada con vénulas ramificadas una o dos veces; venación última marginal en arcos y hacia el ápice incompleta.

Hojas hipoestómaticas; en vista superficial células poligonales isodiamétricas con paredes anticlinales rectas, glabra en superficie adaxial, paredes anticlinales onduladas en u y con tricomas glandulares en abaxial; estomas anomocíticos. En sección transversal, ancho de la lámina  $106.27 \pm 30.33 \mu\text{m}$ ; cutícula lisa en ambas superficies, espesor  $6.62 \pm 1.35 \mu\text{m}$ ; epidermis uniseriada con células cuadradas a rectangulares; grosor de pared periclinal externa adaxial  $8.59 \pm 1.74 \mu\text{m}$ , abaxial  $1.93 \pm 0.54$ ; estomas por encima del nivel de las células epidérmicas; hipodermis de un estrato mesofilo heterogéneo con dos estratos de parénquima en empalizada (67%) y tres de esponjoso compacto, haces vasculares colaterales cerrados, rodeados por una vaina parénquimatoso, extensiones de la vaina presentes con células lignificadas o no. Vena media con contorno aplanado a ligeramente concavo en adaxial, aplanado y protuberante en abaxial; cutícula similar a la lámina, epidermis uniseriada con

células angostas convexas, paredes periclinales gruesas; parénquima en empalizada discontinuo, colénquima de un estrato en la cara abaxial; haz vascular central con serie de 8 hileras radiales de xilema con 6 vasos, 10 filas de células de floema, casquetes de esclerénquima de cuatro estratos sobre floema.

### *Nahuatlea smithii*

Hojas simples, alternas, cortamente pecioladas, lámina elíptico-lanceolada, margen entero, ángulos del ápice y base agudo, ápice agudo y base cuneada; venación primaria pinnada, venación secundaria broquidodroma, areolación bien desarrollada con vénulas mayormente no ramificadas; venación última marginal en arcos.

Hojas hipostómaticas; en vista superficial células poligonales con paredes anticlinales rectas; superficie adaxial glabra, abaxial con tricomas glandulares, estomas anomocíticos. En sección transversal, ancho de la lámina  $101.58 \pm 15.79 \mu\text{m}$ ; cutícula lisa en ambas superficies, espesor  $1.98 \pm 0.61 \mu\text{m}$ ; epidermis uniseriada con células cuadradas; grosor de pared periclinal externa adaxial  $8.81 \pm 2.22 \mu\text{m}$ , abaxial  $3.60 \pm 2.58 \mu\text{m}$ ; estomas por encima del nivel de las células epidérmicas; mesofilo heterogéneo con dos estratos de parénquima en empalizada (57%) y tres de esponjoso compacto, haces vasculares colaterales cerrados ocasionalmente con esclerénquima en el floema, rodeados por una vaina parénquimatosa, extensiones de la vaina ausentes. Vena media con contorno aplanado adaxialmente, redondo, protuberante en abaxial; cutícula similar a la lámina, epidermis uniseriada con células cuadradas, en cara abaxial más estrechas, pared periclinal externa gruesa; parénquima en empalizada discontinuo, uno o dos estratos de colénquima; haz vascular central con serie de 7 hileras radiales de xilema con 6 vasos, 4 hileras de células de floema, caquetes de esclerénquima de tres 2 o 3 estratos sobre floema y xilema.

### ***Tehuasca magna***

Hojas simples, alternas, cortamente pecioladas, lámina ovada, margen entero, ángulos del ápice y base obtuso, ápice mucronado y base redondeada; venación primaria pinnada, venación secundaria broquidodróna; desarrollo de areolación moderada con vénulas mayormente no ramificadas; venación última marginal incompleta.

Hojas hipostómaticas; en vista superficial células tetragonales alargadas con paredes anticlinales onduladas en u; superficie adaxial y abaxial con tricomas y glándulas; estomas anomocíticos. En sección transversal, ancho de la lámina  $128.98 \pm 44.44 \mu\text{m}$ ; cutícula lisa en ambas superficies, espesor  $1.66 \pm 0.731 \mu\text{m}$ ; epidermis uniseriada con células convexas; grosor de pared periclinal externa adaxial  $5.77 \pm 1.36 \mu\text{m}$ , abaxial  $4.03 \pm 1.43 \mu\text{m}$ ; estomas por encima de las células epidérmicas; mesofilo heterogéneo con un estrato de parénquima en empalizada (37%) y tres de esponjoso moderadamente laxo, haces vasculares colaterales cerrados, rodeados por una vaina perénquimatoso, extensiones de la vaina ausentes. Contorno de la vena media concavo adaxialmente, redondo, protuberante abaxialmente; cutícula similar a la lámina, epidermis uniseriada con células convexas estrechas, paredes periclinales externas gruesas; haz vascular central con serie de 6-11 hileras radiales de xilema con 5 vasos, 6 hileras de células de floema, casquetes de esclerénquima de 10-12 capas sobre floema y xilema.

### ***Anastraphia ilicifolia***

Hojas simples, alternas, pecioladas, lámina elíptico-obovada, margen dentado, ángulo del ápice y base obtuso, ápice obtuso, base redondeada; venación primaria pinnada, venación secundaria craspedodróna; areolación bien desarrollada con vénulas mayormente no ramificadas; venación última marginal ausente.

Hojas hipostómaticas; en vista superficial células poligonales alargadas con paredes anticlinales rectas; superficie adaxial glabra y abaxial con tricomas concentrados en criptas; estomas anomocíticos. En sección transversal, cutícula lisa en ambas superficies; epidermis uniseriada con células cuadradas, hipodermis de 2 estratos en la cara adaxial; criptas estomáticas en la cara abaxial, estomas por encima de las células epidérmicas; mesofilo heterogéneo con uno a dos estratos de parénquima en empalizada y tres de esponjoso laxo, haces vasculares colaterales cerrados, rodeados por una vaina parenquimatosa, extensiones de la vaina presentes con células lignificadas. Contorno de la vena media concavo adaxialmente, redondo, protuberante abaxialmente; epidermis uniseriada con células estrechas en abaxial, paredes periclinales externas gruesas; haz vascular central con serie de 16 hileras radiales de xilema con 6 vasos, 4 hileras de células de floema, casquetes de esclerenquima abundante sobre floema y xilema.

### ***Cnicotamnus lorentzii***

Hojas simples, alternas, pecioladas, lámina elíptico-ovado, margen crenulado, ángulo del ápice y base agudo, ápice acuminado, base cuneada; venación primaria pinnada, venación secundaria eucaptodrómica; areolación bien desarrollada con vénulas mayormente no ramificadas; venación última marginal ausente.

Hojas hipostómaticas; en vista superficial células poligonales con paredes anticlinales onduladas; superficie adaxial con papilas, abaxial con tricomas glandulares; estomas anomocíticos. En sección transversal, cutícula estriada en ambas superficies; epidermis uniseriada con células cuadradas; estomas al nivel de las células epidérmicas; mesofilo heterogéneo con un estrato de parénquima en empalizada y dos de esponjoso laxo, haces vasculares colaterales cerrados, rodeados por una vaina parénquimatosa, extensiones de la

vaina presentes con células de parénquima y contenidos oscuros. Vena media con contorno con una proyección adaxialmene con varias glándulas, abaxialmente; redondo, fuertemente protuberante cutícula similar a la lámina, epidermis uniseriada con células convexas estrechas; parénquima en empalizada discontinuo, dos estratos de colénquima abaxialmente; haz vascular central con serie de 8 hileras radiales de xilema con 7 vasos, 10-12 hileras de células de floema, casquetes de esclerénquima de 5-7 capas sobre xilema y floema.

### Apéndice III

**Lista de especímenes de *Anastraphia*, *Nahuatlea* y *Tehuasca* utilizados en este estudio (Panero, 2019). Los números de acceso de los marcadores empleados de GenBank son los siguientes: ETS, ITS.**

*Anastraphia ilicifolia* D. Don, MN457775, 457813. *Nahuatlea arborescens* (Brandege) V.A. Funk, MN457780, MN457816. *Nahuatlea hiriartiana* (Medrano, Villaseñor y Medina) V.A Funk, MN457783, MN457811. *Nahuatlea hypoleuca* (DC.) V.A Funk, MN457782, MN457812. *Nahuatlea obtusata* (S.F. Blake) V.A. Funk, MN457784, MN457817. *Nahuatlea purpusii* (Brandege) V.A. Funk, MN457785, MN457818. *Nahuatlea smithii* (B.L. Rob. & Greenm.) V.A. Funk, MN457781, MN457819. *Tehuasca magna* (M.C. Johnst. ex Cabrera) Panero, MN457777, MN457815.