



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ANATOMÍA Y ARQUITECTURA FOLIAR DEL
GÉNERO *TILIA* EN MÉXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

CLAUDIA MARYSOL RAMÍREZ DÍAZ



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. TERESA M. TERRAZAS SALGADO
2016**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno

Ramírez

Díaz

Claudia Marysol

56131357

Universidad Nacional Autónoma de

México

Facultad de Ciencias

Biología

30608290-2

2. Datos del tutor

Doctora

Teresa Margarita

Terrazas

Salgado

3. Datos del sinodal 1

Doctora

Aurora

Zlotnik

Espinosa

4. Datos del sinodal 2

Doctora

Eva

Aguirre

Hernández

5. Datos del sinodal 3

Maestra en Ciencias

Rosa María

Fonseca

Juárez

6. Datos del sinodal 4

Doctor

Daniel

Sánchez

Carbajal

7. Datos del trabajo escrito.

Anatomía y arquitectura foliar del género *Tilia* en México

51 páginas

2016

Agradecimientos

A mis padres, Claudia y Gustavo, por su amor infinito, apoyo y esfuerzo. Por darme la familia que tengo. Formarme como persona íntegra, con valores y metas, los amo.

A mis hermanos, Fabiola y Gustavo, porque al ser tan diferentes se volvieron mi complemento y equilibrio. Día a día me enseñan que se puede ser fuerte sin dejar de ser noble, por ser mis compañeros y cómplices incondicionales.

A todos mis amigos. A los de la Facultad (Laura, Fer, Luz, Andrei, Pilar y Mariana) cada uno con una visión diferente pero con el mismo gusto por la Biología; por cada uno de los buenos y malos momentos que pasamos juntos.

A Teo por su fabulosa amistad, consejos, apoyo y cuidados, por todos los momentos que hemos compartido, y ayuda para que esto fuera posible.

Especialmente a Einar, por su cariño y confianza, por estar conmigo incondicionalmente, creer en mí e impulsarme a enfrentar las cosas sin miedo.

A mi familia y a los que se volvieron parte de ella, a mis compañeros y maestros, por estar presentes de una u otra manera.

A mi asesora la Dra. Teresa Terrazas por abrirme las puertas de su laboratorio, compartirme parte de sus conocimientos, pero sobre todo por su infinita paciencia.

A la Dra. Eva Aguirre Hernández por las muestras para realizar este trabajo. A la Bióloga Dalia Grego Valencia por su asesoría en el laboratorio de Botánica Estructural. A los curadores de los herbarios MEXU y FCME por su asesoría. Y al resto de los sinodales por sus valiosos comentarios.

A la Universidad Nacional Autónoma de México que me permitió ser parte de ella, volviéndose la mejor experiencia de mi vida; enseñarme a que nada me debe ser ajeno y a solidarizarme con mis semejantes. Por ser tan grande, multicultural y un espacio donde todas las ideas caben.

Por mi raza hablará el espíritu.

Índice

Resumen.....	1
Introducción	2
Antecedentes	3
Género <i>Tilia</i>	3
Variación.....	10
Objetivo general.....	12
Objetivos particulares.....	12
Hipótesis	12
Método	13
Resultados	17
Arquitectura foliar.....	17
Anatomía foliar.....	19
Análisis estadístico	19
Discusión	31
Conclusiones	37
Literatura citada	38
Apéndice A. Ejemplares de herbario revisados.	46
Apéndice B. Caracteres de la arquitectura foliar de <i>Tilia</i> en México	51

Resumen

El género *Tilia* se agrupa en la subfamilia Tiloideae de la familia Malvaceae. Se distribuye principalmente en las zonas templadas de Asia y Europa, con pocas especies en Norteamérica y México. El número de especies distribuidas en México es controversial, y se han propuesto 1 o 15 especies con base en algunos caracteres morfológicos de la hoja. Por lo tanto, este trabajo buscó apoyar o refutar estas propuestas mediante la descripción de la arquitectura y anatomía foliar. Se revisaron 270 ejemplares de herbario del género *Tilia*, en donde se cuantificó el largo y ancho de la lámina foliar y de algunos ejemplares se removieron hojas. De las hojas recolectadas en campo y las removidas en herbario se realizaron transparencias y cortes transversales y paradermales de la lámina foliar. Los caracteres obtenidos fueron largo y ancho de la lámina, número de tricomas por milímetro cuadrado, total de areolas, tipo de vénulas, grosor de mesofilo, grosor de parénquima en empalizada y grosor de la cutícula, los cuales se analizaron a través de análisis de varianza y regresión simple. Los resultados mostraron que la anatomía y arquitectura foliar son similares a los descritos para otros miembros de Malvaceae. Particularmente la arquitectura foliar dentro de *Tilia* no permite reconocer especies como en otros grupos taxonómicos. Además el largo de la lámina foliar ($P < 0.0001$) y el ancho de la lámina foliar ($P < 0.0001$) se pueden predecir con la latitud, siendo las láminas foliares de *Tilia* en México más largas y anchas conforme más al sur se distribuyen. La densidad de tricomas disminuye con relación a la latitud, pero se diferencian dos grupos con respecto a la longitud: con poca o nula pubescencia a longitudes $> 99^\circ$ y con más de 15 tricomas/mm² en longitudes $< 98^\circ$. Sin embargo, estos puntos de recolecta no corresponden a las especies glabras propuestas por Bush. Ni la abundancia de tricomas ni los otros caracteres evaluados en la anatomía y arquitectura foliar aquí evaluados son suficientes para apoyar la existencia de más de una especie de *Tilia* en México.

Introducción

Estudiar la arquitectura foliar resulta muy útil, porque diferentes taxa de dicotiledóneas tienen patrones consistentes que son reconocidos en diferentes niveles taxonómicos, desde las subclases hasta las especies (Hickey, 1979). El patrón de venación ha sido especialmente importante para ayudar a la identificación de algunos grupos a diferentes niveles jerárquicos de la clasificación (Hickey, 1979; Hettterscheid y Hennipman, 1984; Martínez-Millán y Cevallos, 2005; Martínez-Cabrera et al., 2007; Andrés-Hernández y Terrazas, 2009; Cervantes et al., 2009; Pacheco-Trejo et al., 2009; Tejero-Diez et al., 2010; Andrés-Hernández et al., 2012). Por ejemplo, en el género *Quercus* se ha encontrado variación discreta en el patrón de venación, que ha resultado útil para la distinción de algunas especies (Romero, 2000; Martínez-Cabrera et al., 2003).

La anatomía sistemática ha proporcionado evidencias para apoyar o refutar la ubicación de los individuos en su respectiva especie (Chalk, 1983; Stuessy, 1990; Dickison, 2000). Por ejemplo, la anatomía foliar ha permitido apoyar la separación de especies con caracteres micro-morfológicos o anatómico foliares (Andrés-Hernández y Terrazas, 2006; Downing et al., 2008; Lu et al., 2008; Araujo et al., 2010). Por ello en este trabajo se evalúan aspectos de la arquitectura y anatomía foliar de *Tilia* con la finalidad de encontrar caracteres que apoyen la delimitación de especies en México.

Antecedentes

Género *Tilia*

El género *Tilia*, con aproximadamente 45 especies, es uno de los géneros incluidos en la subfamilia Tilioideae, perteneciente a la familia Malvaceae (Judd et al., 2007). El género *Tilia* se conforma por árboles caducifolios, pubescentes con tricomas simples o estrellados, glabrescentes; estípulas deciduas, hojas alternas, largamente pecioladas, láminas ovadas, oblongo-lanceoladas o elípticas, ápice acuminado, base cordada, obtusa, truncada o cuneada, con frecuencia oblicua, margen aserrado o dentado-mucronado, 5-nervadas, papiráceas, glabras o pubescentes; inflorescencias terminales o axilares, en forma de cimas pedunculadas, dispuestas sobre una bráctea foliácea, oblonga o espatulada, reticulada, membranácea, pedúnculo adnado a la bráctea; flores hermafroditas, sépalos 5, libres, ligeramente cuculados en el botón, lanceolados a ovados, ápice acuminado, estrellado-pubescentes; pétalos 5, libres, glabros, blancos o amarillos; estambres numerosos, arreglados en grupos sobre el receptáculo, filamentos unidos en grupos en la base, separados cerca del ápice, cada rama lleva una antera dorsifija, estaminodios 5, petaloides, adnados a los estambres; gineceo 5-carpelar, 5-locular, pubescencia de pelos simples y estrellados, óvulos 2 por lóculo, placentación axilar, estigma 5-lobado; fruto en forma de nuez, indehiscente, 1-locular, globoso, densamente estrellado-pubescente; semillas 1 o 2, obovoides, de color negro.

El género se distribuye principalmente en las zonas templadas de Europa (5 spp.) y Asia (30 spp.), con pocas especies en Norteamérica y México. En México, el género *Tilia* se distribuye en el bosque mesófilo de montaña, en los estados de: Chihuahua, Coahuila, Durango, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz (Hardin, 1990).

A nivel mundial la importancia de las especies de este género se encuentra en los usos maderables para construcción, fabricación de muebles y papel (Pérez-Cálix, 2009). En México su importancia radica en el uso para artesanías e instrumentos musicales (Muñoz-Flores et al., 2011), pero principalmente en los usos medicinales que se le han dado a lo largo del territorio mexicano para combatir trastornos del sistema nervioso central como la ansiedad, cólicos menstruales, fiebre y tos (Aguirre-Hernández, 2009). Estas propiedades medicinales están asociadas a la presencia de principios activos como los flavonoides y compuestos volátiles (Toker et al., 2001). Aguirre-Hernández et al. (2010) encontraron diferencias en la presencia y concentración de flavonoides presentes en tilias colectadas en tres estados de la República Mexicana, sugiriendo la posible utilidad de los flavonoides como quimio-marcadores dentro del género y posiblemente entre especies.

El número de especies que se encuentran en México es controversial (Cuadro 1). Se han propuesto diferentes clasificaciones, considerando las características como la forma del ápice y tamaño de la hoja, así como la variación de la pubescencia. Por ejemplo, Bush (1929) reporta 15 especies para México:

Tilia ambigua Sargent, *T. arsenei* Bush, *T. coahuiliana* Bush, *T. floridana* Small, *T. houghii* Rose, *T. longipes* Bush, *T. mexicana* Schltld., *T. nelsoni* Bush, *T. occidentalis* Rose, *T. patzcuaroana* Bush, *T. pertomentosa* Bush, *T. pringlei* Rose, *T. roseana* Bush, *T. rotunda* Bush y *T. sargentiana* Bush.

Cuadro 1: Especies del género *Tilia* reconocidas para la República Mexicana según diferentes autores.

Bush	Jones	Hardin	Tropicos
<i>T. ambigua</i>	<i>Tilia mexicana</i>	<i>T. americana</i> var. <i>mexicana</i>	<i>T. americana</i> var. <i>mexicana</i>
<i>T. arsenei</i>			
<i>T. coahuilana</i>			
<i>T. floridana</i>			
<i>T. houghii</i>			
<i>T. longipes</i>			
<i>T. mexicana</i>			
<i>T. nelsoni</i>			
<i>T. occidentalis</i>			
<i>T. patzcuaroana</i>			
<i>T. pertomentosa</i>			
<i>T. pringlei</i>			
<i>T. roseana</i>			
<i>T. rotunda</i>			
<i>T. sargentiana</i>			

Bush (1929) describe algunos rasgos foliares que utiliza para proponer a las especies. Por ejemplo, para *Tilia mexicana* señala que son hojas glabras antes de la madurez, sin mechones axilares, en su mayoría de menos de 10 cm de largo, con 3 o 4 pares nervios laterales y localidad tipo en Chiconquiaco, Veracruz. Para *Tilia floridana* indica que las hojas también son glabras antes de la madurez con mechones axilares presentes, en su mayoría hojas de más de 10 cm de largo, con 5 a 7 pares de nervios laterales y se distribuye en los estados de Chihuahua, Coahuila y Nuevo León. *Tilia ambigua* tiene hojas pubescentes o estrellado-pubescentes en la superficie abaxial, hojas pequeñas en su mayoría menos de 8 cm de largo, ovadas, obovadas u oblanceoladas, ápice largo-acuminado, margen agudamente serrado apiculado, pecíolos de 2-3 cm de largo y con localidad tipo en Orizaba, Veracruz. Para *T. arsenei*, señala que las hojas son densamente grisáceas (tricomas) en la cara abaxial; de 14 cm o más, ovadas-redondas y subcordadas en la base y con localidad tipo en Morelia, Michoacán.

Jones (1968) consideró a todas las tilias registradas para México como una sola especie, *Tilia mexicana* Schtdl., tomando como referencia el tipo de pubescencia y su abundancia el envés de las hojas. La pubescencia consiste generalmente de tricomas estrellados de cuatro u ocho rayos, o algunos que son unicelulares, o, a veces de ambos tipos. Los tricomas unicelulares están restringidos a las venas, mientras que los tricomas estrellados pueden ocupar toda la superficie epidérmica. Las hojas jóvenes y las de los brotes basales tienen la pubescencia siempre asociada a las venas. En la etapa joven, la superficie adaxial es más o menos pubescente, pero en casi todas las especies se convierte en

glabra poco tiempo después de haber desplegado. La pubescencia de las hojas del brote suele ser diferente a la de las hojas de las ramas con flores (Jones, 1968).

La última clasificación realizada para las tilias fue propuesta por Hardin (1990), quien reúne las especies de México y Estados Unidos en una sola especie con cuatro variedades *Tilia americana* L. [*T. americana* L. var. *americana*, *T. americana* var. *caroliniana* (Mill.) Castigl., *T. americana* var. *heterophylla* (Vent.) Loudon y *T. americana* var. *mexicana* (Schltdl.) Hardin]. Reconociendo para México únicamente a *Tilia americana* var. *mexicana* (Figura 1). Esta última clasificación se basó exclusivamente en la morfología de los tricomas, diferenciando cuatro tipos básicos de tricomas:

1. Glandular bulboso: pequeño, de 30 a 110 μm de largo, multicelular, tricoma uniseriado con la punta hinchada, ya sea corto o alargado. Los más largos generalmente presentes a lo largo de las venas principales. Estos tricomas están presentes en ambas superficies de todas las hojas de todos los taxa.
2. Acicular: unicelular liso, más o menos liso y cónico en un punto. Dos formas según el largo de su base, a) acicular corto: 300-400 μm de largo, a menudo dispersos en ambas superficies y siempre asociadas a venas medias o pequeñas; b) acicular largo: 0.5-1.3 mm de largo, se encuentran en la superficie abaxial a lo largo de la vena media y venas secundarias más grandes. Ambas formas se encuentran en todos los taxa.

3. Estrellado: multicelular, con los rayos más o menos paralelos a la lámina y cada rayo con 150-350 μm de largo. Presentes en ambas caras, con mayor frecuencia en la abaxial.
4. Fasciculado: multiseriado, 2-6 rayos retenidos en posición más o menos erecta y cada rayo con 200-500 μm de largo, presentes en las axilas de las venas, dispersos en venas grandes a pequeñas a lo largo de toda la lámina en ambas superficies, con mayor frecuencia en la cara abaxial. Además, estipitados de las bases fusionadas de los rayos y con frecuencia tienen collar basal.

A la fecha no hay ningún estudio que evalúe otras características de la hoja de *Tilia* en México para apoyar una u otra propuesta.

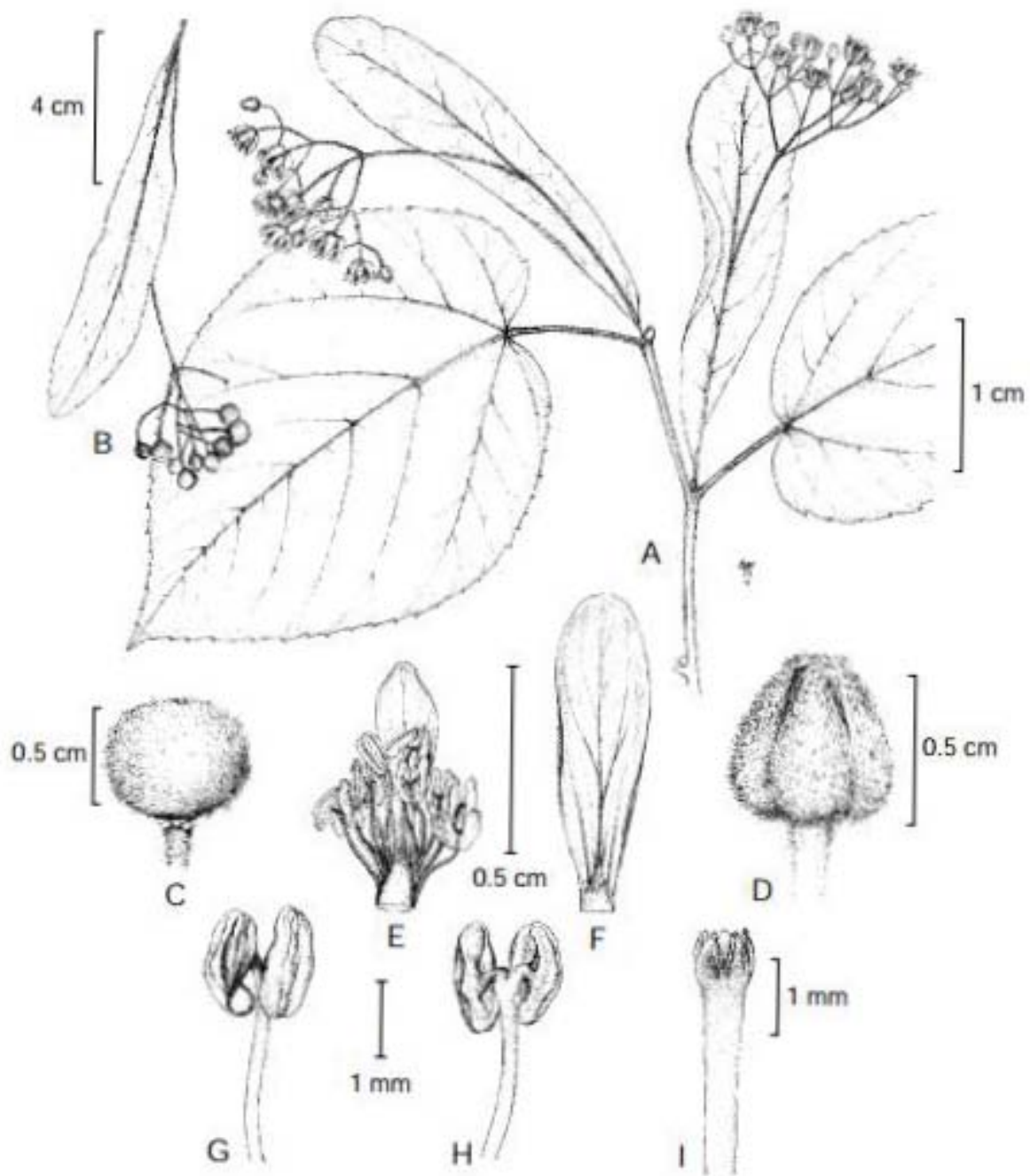


Figura 1: *Tilia americana* var. *mexicana* (Schltdl.) Hardin. A) Rama con inflorescencias; B) Bráctea con inflorescencia; C) Fruto; D) Botón; E) Estambres y estaminodio; F) Pétalo; G) Antera en vista ventral; H) Antera en viste dorsal; I) Región apical del estilo y estigmas. Ilustrado por Karin Douhit y reproducido de la fig. 18 de Flora Novo-Galiciana 3:88. 2001.

Hickey (1979) describe la venación de *Tilia mandshurica* como: vena primaria actinodroma basal con ocho venas basales. Venas agrofíticas compuestas presentes. Marco principal secundario semicraspedódromo, secundarias menores craspedódromas, secundarias mayores con ángulo uniforme y excurrentes aumentando su espacio gradualmente. Intersecundarias ausentes. Tejido intercostal terciario recurrente opuesto con curso convexo, ángulo obtuso a la vena media, concéntrico basalmente con las terciarias. Epimedial terciario opuesto recurrente con curso admedial agudo y curso exmedial paralelo al intercostal terciario. Exterior terciario de curso variable. Vena cuaternaria recurrente alternada. Vena de quinto orden formando retículo regular. Areolas bien desarrolladas, pero las vénulas no son visibles.

Los trabajos de anatomía sistemática realizados para el orden Malvales lo definen como un grupo monofilético que comparte cavidades de mucílago en el mesofilo, un indumento de tricomas estrellados (Judd y Manchester, 1997) y estomas que suelen ser anomocíticos y que se presentan en la superficie abaxial de la hoja (Metcalf y Chalk, 1950).

Variación

La caracterización de la distribución geográfica de la variación fenotípica en poblaciones naturales de plantas es fundamental al momento de realizar hipótesis sobre posibles patrones de variación genética, significado adaptativo de los caracteres específicos y las respuestas de plasticidad a gradientes ambientales

(Bruschi et al., 2003; Warren et al., 2005; Hedrick, 2006; Uribe-Salas et al., 2008). En el género *Quercus* se han demostrado correlaciones significativas entre la variación en los caracteres foliares y los factores ambientales específicos (Sisó et al., 2001; Cardillo y Bernal, 2006; Uribe-Salas et al., 2008). Tales correlaciones ayudan a entender cuáles son los factores ambientales que influyen en la fisiología y morfología de la planta. En general, se considera que la correlación entre la variación de los caracteres morfológicos y la variación ambiental es resultado de la plasticidad fenotípica o de la diferenciación genética adaptativa entre y dentro de la población vegetal (Balaguer et al., 2001; Bruschi et al., 2003; Hovenden y Vander Schoor, 2006).

Objetivo general

- Describir y comparar la arquitectura y la anatomía foliar de individuos recolectados en las diferentes poblaciones del área de distribución del género *Tilia* en la República Mexicana.

Objetivos particulares

- Evaluar la arquitectura foliar de *Tilia* en la República Mexicana.
- Evaluar la anatomía foliar de *Tilia* en la República Mexicana.
- Evaluar si los rasgos encontrados apoyan la delimitación de las especies *sensu* Bush.

Hipótesis

Si los caracteres estudiados presentarán una distribución continua, las poblaciones se encuentran en el mismo taxón; por el contrario, si se presentan distribuciones discontinuas, las poblaciones corresponderán a las diferentes especies propuestas por Bush.

Método

Gabinete. Se visitaron los herbarios nacionales MEXU y FCME, en cada uno de ellos se revisó el material del género *Tilia* recolectado únicamente en México (Apéndice A). De los 270 ejemplares resguardados en MEXU y FCME, se tomaron medidas del ancho y largo de la lámina foliar, de al menos una hoja madura por ejemplar. De ejemplares seleccionados que representaban la mayor variación morfológica, se removieron hojas o un trozo de ellas, siendo necesario que presentaran el margen y vena media, así como una región intercostal completa. Las hojas removidas se hidrataron con NaOH 5% durante 20 minutos, después se hizo un enjuague con agua corriente y se almacenaron en FAA (Ruzin, 1999).

Recolectas de campo. Se visitaron los estados de Guerrero, Hidalgo, Michoacán, Puebla, Tamaulipas y Veracruz. En cada sitio además de recolectar hojas y corteza para el proyecto “Estudio químico, anatómico y morfológico de *Tilia americana* var. *mexicana* Hardin recolectado en diferentes estados de la República Mexicana”, se recolectaron 2 o 3 hojas maduras de individuos adultos y se almacenaron en FAA por 24 horas y después se lavaron y cambiaron a GAA (Ruzin, 1999).

Laboratorio. Las hojas o fracciones de éstas se transparentaron de la siguiente forma: las hojas removidas de herbario como las recolectadas en campo se lavaron con agua y en cada una de ellas cuando eran enteras se cortó un trozo que presentara vena media, venas secundarias y margen de la hoja. Se aclararon con NaOH 20% a 60° C al menos por tres días. Después se les aplicó una

solución de NaClO 50% durante 5 minutos y se hicieron tres lavados con agua corriente de 30 minutos. Se inició la deshidratación con una serie de alcoholes (50%, 70%, 96%) durante 24 horas cada uno. Pasada la deshidratación se dejaron en solución aclaradora (Martínez-Cabrera et al., 2007) durante 20 días. Una vez que se eliminó la solución aclaradora con alcohol 96%, las hojas se tiñeron con safranina durante 1 hora, se lavaron con alcohol 100% hasta que se logró un contraste adecuado entre el fondo y la nervadura. Se hizo un cambio con xilol y se montaron con resina sintética.

Inclusión en parafina. Todas las muestras se colocaron en canastillas y se ablandaron con etilendiamina durante 4 horas, pasado el tiempo se enjuagaron con agua y se metieron al procesador automático de tejidos Leica TR1020. Se incluyeron en parafina y se cortaron con micrótopo de rotación Leica RM2125RT a 12 μ m. Los cortes se montaron con la técnica del adhesivo de Haupt. Para desparafinar se hicieron 3 cambios de xilol durante 8 minutos cada uno, seguido de una serie de etanol (50%, 70%, 96%) durante 5 minutos cada uno. La tinción se hizo con safranina-verde rápido (Ruzin, 1999) dejando los cortes en safranina durante 2 horas en una estufa a 60 °C, posteriormente enjuagando con una serie de agua, alcohol 96% y alcohol 100%. El verde rápido se aplicó durante 15 segundos, inmediatamente después se lavaron con etanol 96%, un cambio de etanol 100% y dos cambios de xilol. Se montaron con resina sintética.

Análisis de caracteres. Con la información obtenida de las etiquetas de los ejemplares y las medidas tomadas (largo y ancho de la lámina foliar) se construyó una base de datos que incluye: folio del ejemplar, nombre de la especie con el que

fue identificado, nombre del colector, número de colecta, lugar de colecta, municipio, estado, altitud, coordenadas, largo y ancho de la o las hojas. En caso de que la etiqueta no presentara las coordenadas de la colecta, la localidad se georeferenció con ayuda del “Archivo Histórico de Localidades Geoestadísticas”, el “Sistema de Consulta de Nombres Geográficos” del INEGI y Google Earth. Con QGIS 2.8.3 Wien se generó un mapa de los sitios de colecta. Los datos se analizaron en SAS para obtener una regresión entre el tamaño de la hoja y las coordenadas geográficas y la altitud.

Con un microscopio óptico Olympus BX51 y un analizador Image Pro Plus versión 6.01 se cuantificó en transparencias de hoja el total de areolas en un aumento 10x tomando 5 campos diferentes, se contó cuantas de ellas tenían vénulas libres separándola en simples o ramificadas. También se contabilizó el número de tricomas por milímetro cuadrado. De los cortes transversales de hoja, se midió el grosor del mesofilo, grosor de parénquima en empalizada, así como de cutícula abaxial y adaxial, con 5 campos diferentes en cada muestra. Los datos se reunieron en una base de datos que también incluía las coordenadas de colecta de las muestras. Se realizaron análisis de varianza del modelo general lineal con la finalidad de detectar diferencias entre los nombres asignados a los ejemplares de herbario (*T. americana* var. *mexicana*, *T. americana* var. *caroliniana*, *T. caroliniana* Mill., *T. floridana* Small, *T. houghii*, *T. longipes*, *T. macrophylla* H. Steud., *T. mexicana*, *T. neglecta* Spach, *T. occidentalis* Rose) también se realizaron análisis de varianza agrupando los ejemplares de herbario por estado con la finalidad de predecir si la variación de los atributos foliares está influenciada

por la ubicación geográfica donde se colectaron los ejemplares de herbario. Se practicaron análisis de regresión lineal con la latitud y la longitud con los siete caracteres evaluados con la finalidad de conocer si se puede predecir la variación con estos atributos y entender si la variación es continua, presentándose solo las que resultaron más significativas. Todos los análisis se realizaron en el paquete estadístico SAS versión 8.3.

Se describió la anatomía foliar según Metcalfe y Chalk (1983) y la arquitectura foliar según Hickey (1974).

Resultados

Arquitectura foliar

La hoja de las tilias en la República Mexicana es peciolada con organización simple. Lámina entera asimétrica, de 3.9 a 25.6 cm de largo y de 3.4 a 26 cm de ancho, con ápice acuminado y base cordada con ángulo reflexo, cuneada u obtusa. Margen serrado con ángulo agudo, con 1 a 3 dientes por centímetro, diente con flanco distal cóncavo y flanco proximal flexo o convexo. Textura lisa en la cara adaxial y textura lisa o pubescente en cara abaxial, la abundancia de tricomas variable de 5-25/mm², predominantemente de tricomas estrellados en la lámina, domacios presentes del tipo mechón de tricomas simples (Wilkinson, 1979). Venación actinódroma basal con 2 a 4 pares de venas. La vena primaria tiene un recorrido recto ramificado, terminando en el ápice del diente. Las venas secundarias excurrentes con un ángulo de divergencia angosto, grosor relativo moderado y recorrido recto. Las venas terciarias percurrentes sinuosas con ángulo agudo respecto a la vena primaria, el curso de las venas terciarias exteriores variable. Las venas cuaternarias alternadas recurrentes. Las venas agrofíticas compuestas presentes. Las venas de quinto orden formando un reticulado irregular. Las areolas bien desarrolladas comúnmente 12/mm², pero varían de 4 a 25/mm², las vénulas simples (>66%) y ramificadas una vez en menor abundancia (15-60%). La venación marginal cerrada, serpenteada (Figura 2).

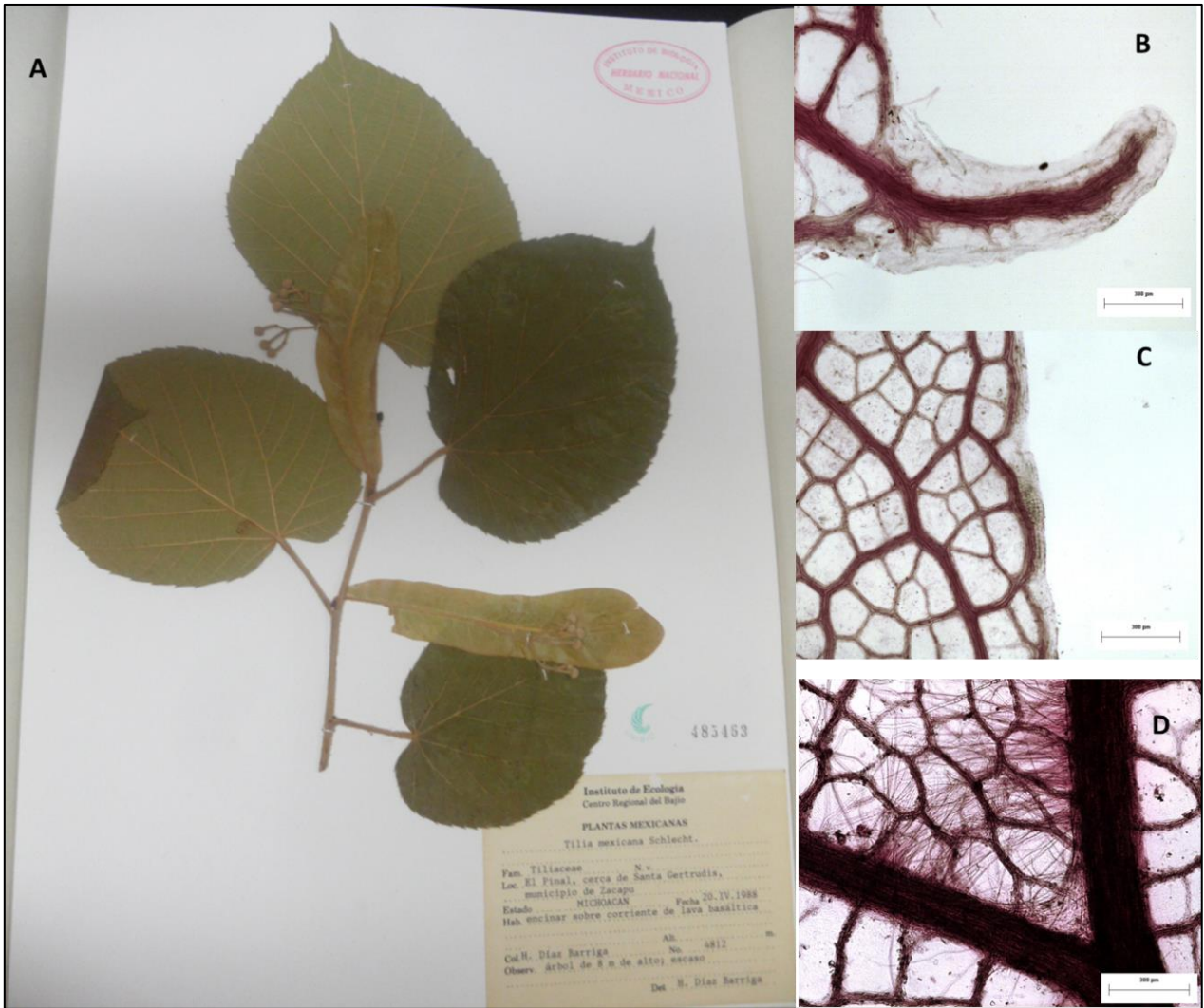


Figura 2: Arquitectura foliar de *Tilia* en México. A) *T. mexicana*. Michoacán, H. Díaz Barriga 4812. MEXU. B) Diente con flanco distal cóncavo, flanco proximal convexo y vena primaria. C) Venación marginal serpenteada. D) Domacio tipo mechón de tricomas.

Anatomía foliar

En superficie, las células epidérmicas son poligonales con las paredes anticlinales rectas y a nivel, mientras que las periclinales son planas y con microrelieve estriado en algunas células de la superficie abaxial, las estrías se ubican en las células asociadas a los estomas (Figura 3E). En corte transversal, en la superficie abaxial y adaxial se presenta cutícula lisa o a veces estriada en la cara abaxial que varía en grosor entre ambas superficies (0.76 a 1.92 μm en abaxial y 1.07 a 2.60 μm en la adaxial); la epidermis es simple, de células generalmente cuadradas; los estomas se ubican a nivel de las otras células epidérmicas. El mesofilo es dorsiventral (Figuras 3A-3D) en un tamaño muy variable (39.19 a 166.47 μm) visto en corte transversal; el parénquima es empalizada en la cara adaxial de la hoja, formado por uno o dos estratos de células, de tamaño variable (15.38 a 68.44 μm); el parénquima esponjoso se ubica en la cara abaxial con dos o tres estratos celulares de forma variable, del tipo laxo y amplio (20.84-98.03 μm , visto en corte transversal). Los haces vasculares son colaterales con vaina. La vaina asociada a los haces se observó con células de parénquima o esclerénquima, con extensiones hacia ambas superficies. Las inclusiones minerales son del tipo drusa en parénquima esponjoso y del tipo prismático en la vaina del haz vascular.

En la vena media todas las muestras tienen una epidermis simple con células más pequeñas que en la lámina, algunas hojas presentan tricomas en esta zona, se encontraron diferencias principalmente en la posición y distribución del

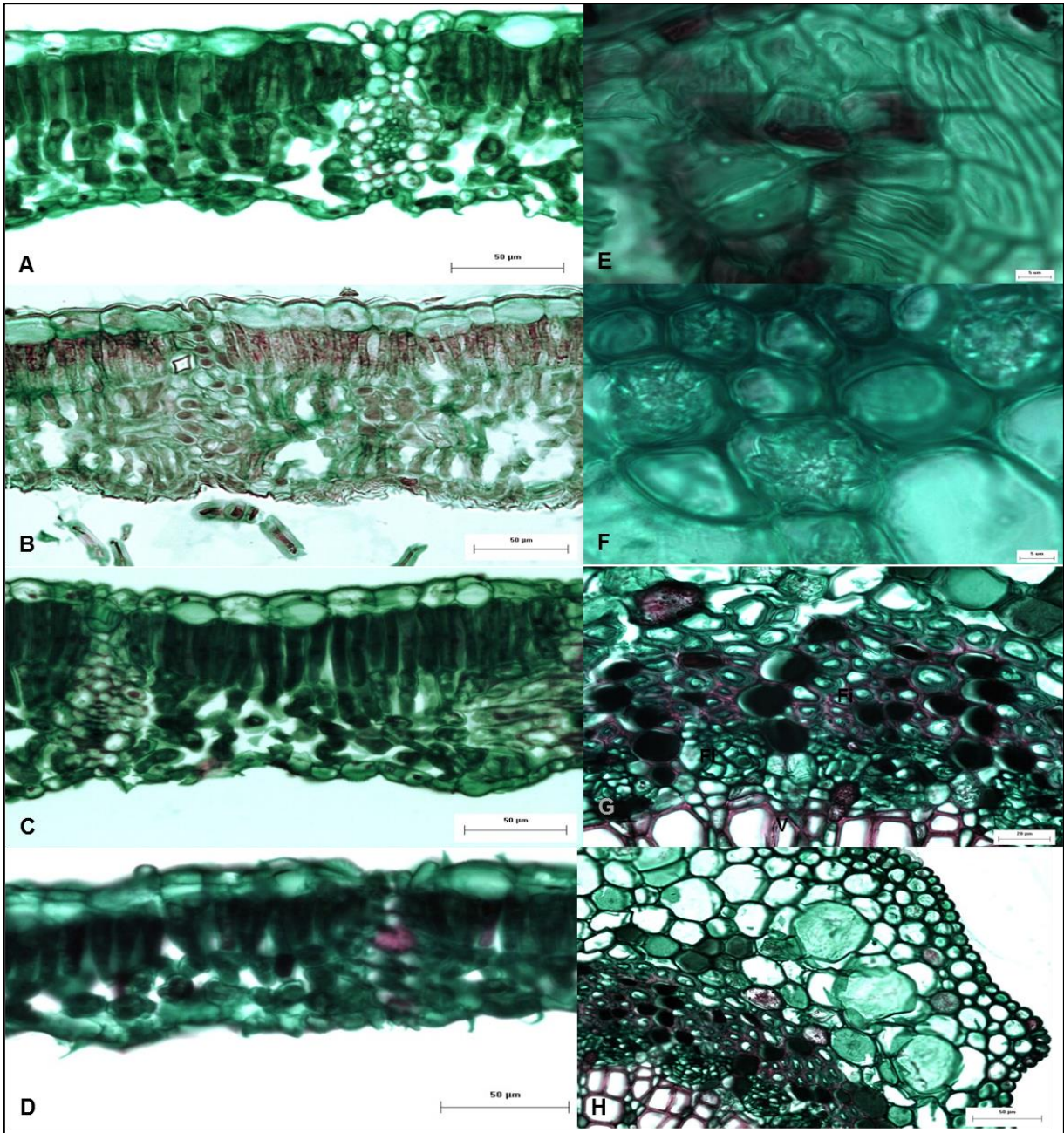


Figura 3: A. Parénquima en empalizada con 1 estrato celular, haces vasculares con vaina, Morelia, Michoacán, *Aguirre-Hernández*. B. Parénquima esponjoso laxo, prisma en células de la vaina, Jalapa, Veracruz, *Aguirre-Hernández*. C. Parénquima en empalizada con 2 estratos celulares, parénquima esponjoso laxo, Morelia, Michoacán, *Aguirre-Hernández*. D. Parénquima esponjoso laxo, Pátzcuaro, Michoacán, *Aguirre-Hernández*. E. Epidermis estriada asociada a estomas, Pátzcuaro, Michoacán, *Aguirre-Hernández*. F. Drusas en parénquima de vena media, Pátzcuaro, Michoacán, *Aguirre-Hernández*. G. Fibras asociadas a floema, Pátzcuaro, Michoacán, *Aguirre-Hernández*. H. Tubos de mucílago en vena media, Pátzcuaro, Michoacán, *Aguirre-Hernández*. Barra es 50 μm en A-D, H; 5 μm en E, F; 20 μm en G. V= vasos de xilema, FI-floema, Fi-fibras,

tejido vascular, así como en el colénquima y los contenidos clasificándose en seis tipos (Figuras 4-7):

Tipo 1: Haz vascular anficribal. Al centro del anillo hay dos haces en diferenciación. Las fibras asociadas al haz vascular presentan la pared engrosada (Figura 4H) un lumen amplio y algunos contenidos oscuros; dos a tres estratos de colénquima anular por debajo de ambas epidermis, dos tubos de mucílago hacia la cara abaxial. Drusas y prismas en el parénquima (Figuras 3F, 4A).

Tipo 2: Haz vascular anficribal. Al centro del anillo se encuentran células de parénquima. Las fibras están asociadas al haz y presentan la pared muy engrosada, un lumen reducido y escasos contenidos oscuros; tres a cuatro estratos de colénquima anular por debajo de ambas epidermis, tubos de mucílago hacia ambas caras, sin contenidos minerales (Figura 4B).

Tipo 3: Haz vascular colateral en forma de arco con el xilema hacia la superficie adaxial y el floema en posición abaxial. Las fibras que están asociadas al haz con lumen amplio y abundantes contenidos oscuros; dos a tres estratos de colénquima anular, 3 a 4 estratos de parénquima, donde se encuentran hasta 5 tubos de mucílago y algunas de células contienen drusas (Figura 5A).

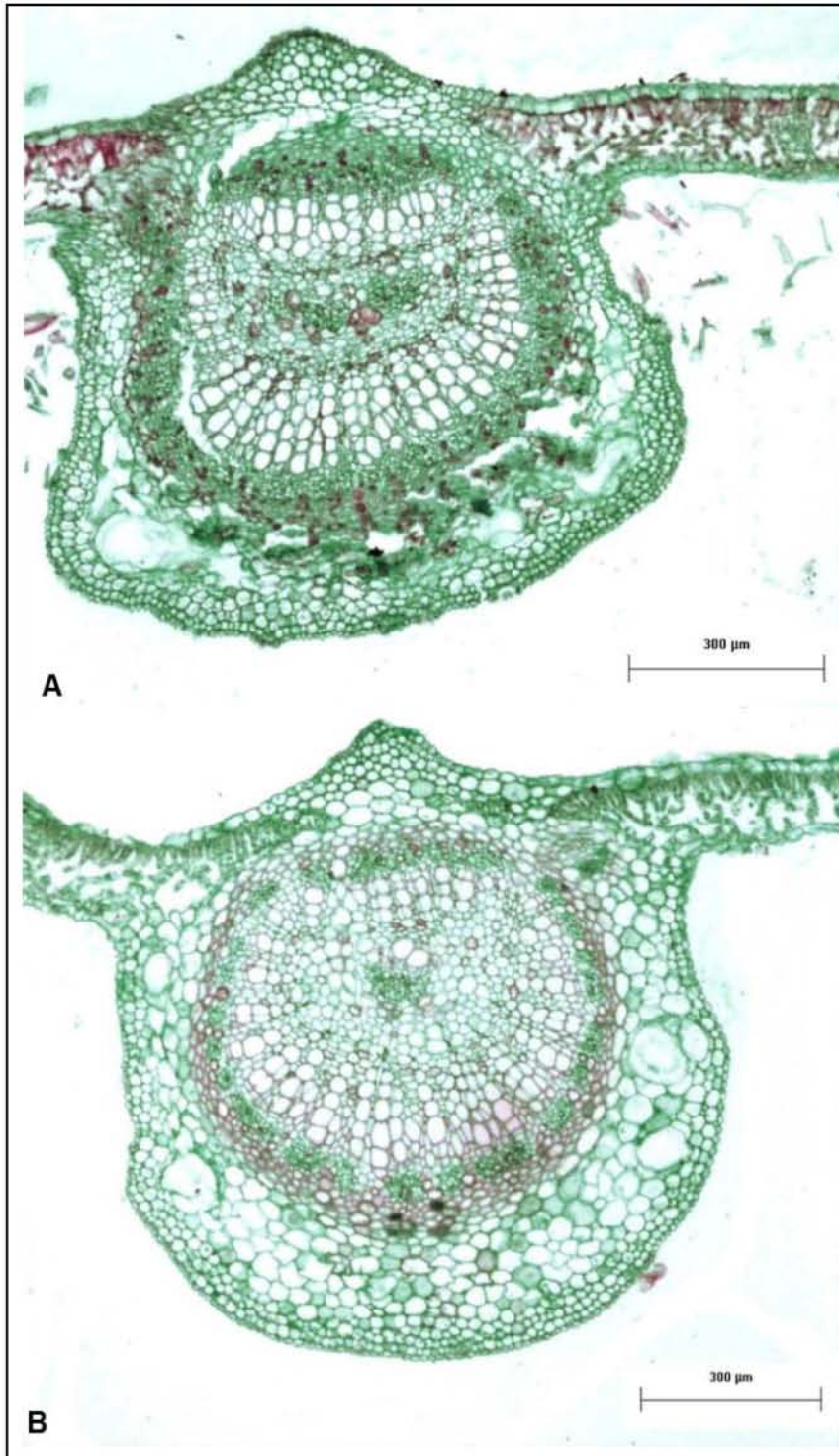


Figura 4: A) Vena media tipo 1, Guerrero, *Aguirre-Hernández*. B) Vena media tipo 2, Puebla, *Aguirre-Hernández*.

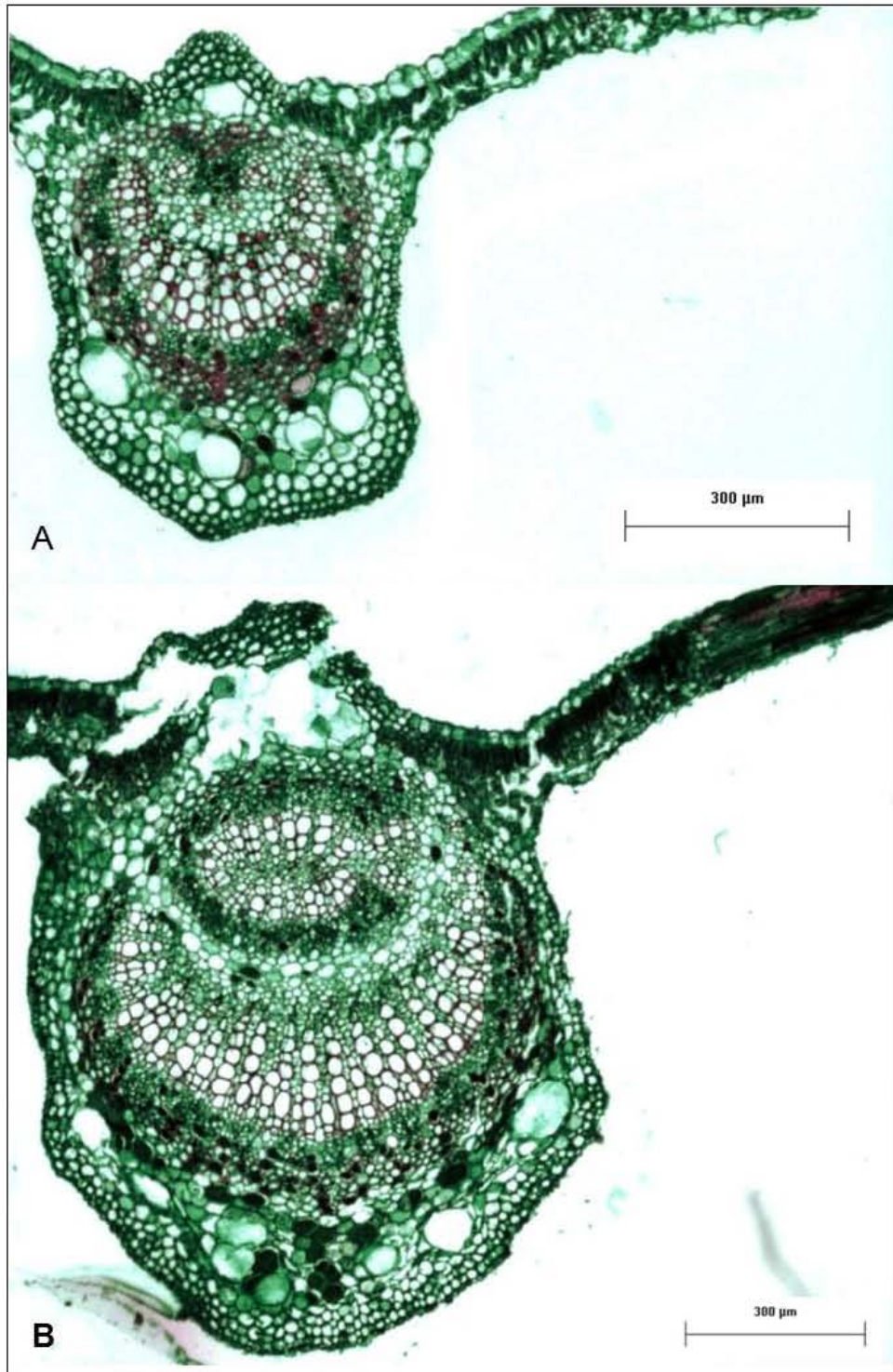


Figura 5: A) Vena media tipo 3, Canindo, Tamaulipas, *Aguirre-Hernández*. B) Vena media tipo 4, Pto. Purificación, Tamaulipas, *Aguirre-Hernández*.

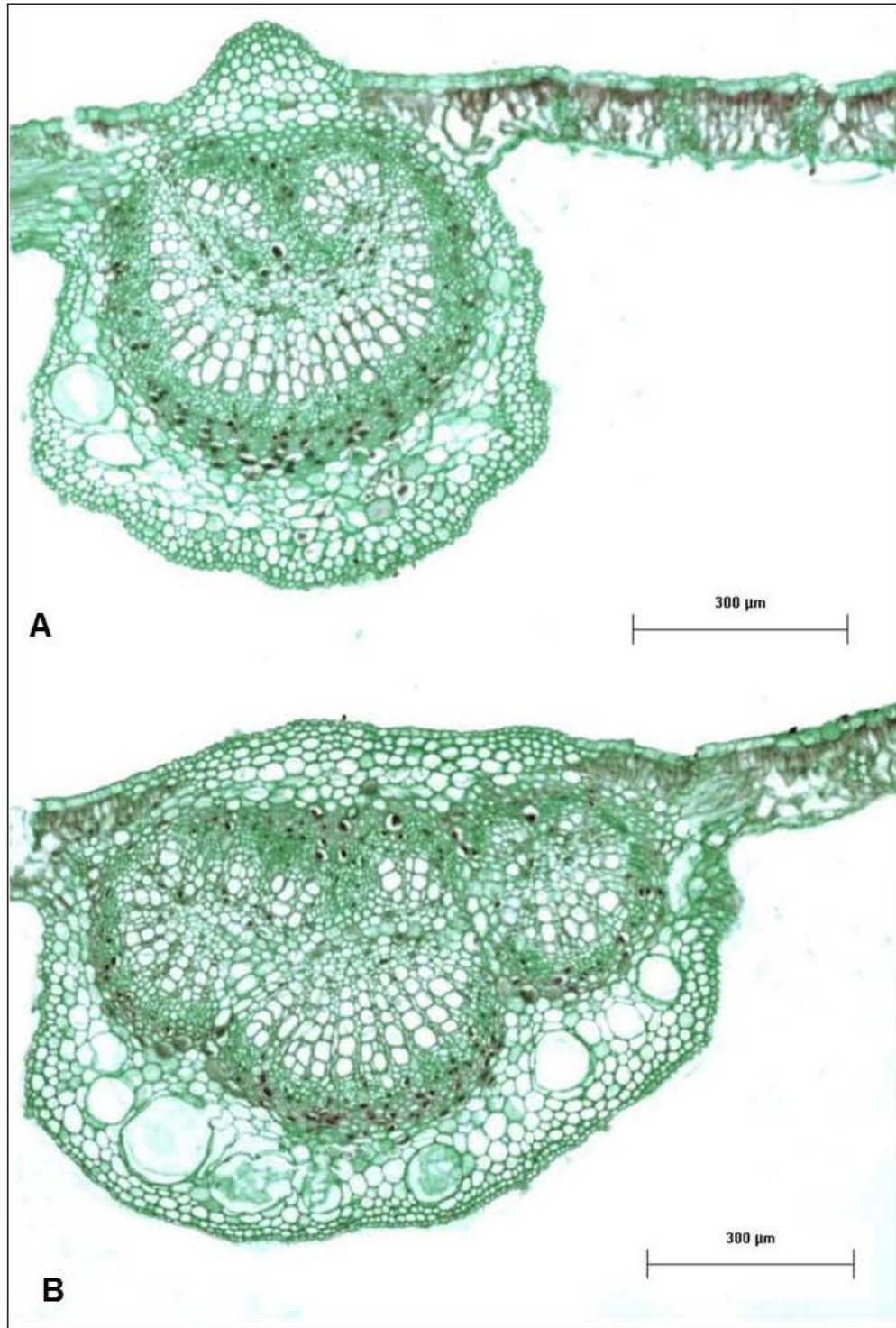


Figura 6: A) Vena media tipo 5, Jalapa, Veracruz, *Aguirre-Hernández*. B) Vena media tipo 6, Pátzcuaro, Michoacán, *Aguirre-Hernández*.

Tipo 4: El tejido vascular formando un anillo de xilema y floema, el cual está separado por células de parénquima que contienen drusas, de un haz de xilema y floema. Las fibras asociadas al haz en la cara abaxial de la hoja, con lumen amplio y contenidos oscuros. Se observaron tres estratos de células de colénquima, así como abundantes tubos de mucílago en la cara abaxial (Figura 5B).

Tipo 5: El tejido vascular está invaginado formando un arco grande y dos pequeños sobre éste con xilema en posición adaxial y el floema en posición abaxial. Las fibras están asociadas al haz en posición abaxial; hasta cinco estratos de colénquima en la cara adaxial y dos en la abaxial, las drusas y los tubos de mucílago se encuentran en cara abaxial (Figura 6A).

Tipo 6: El tejido vascular se arregla en dos a tres arcos de haces, con el xilema en parte interna y floema externo, que se consideran anficribales; las fibras están asociadas a los haces que los rodean completamente, con lumen amplio y contenidos oscuros. Los tubos de mucílago se encuentran en la cara abaxial, donde también se observan drusas abundantes (Figura 6B).

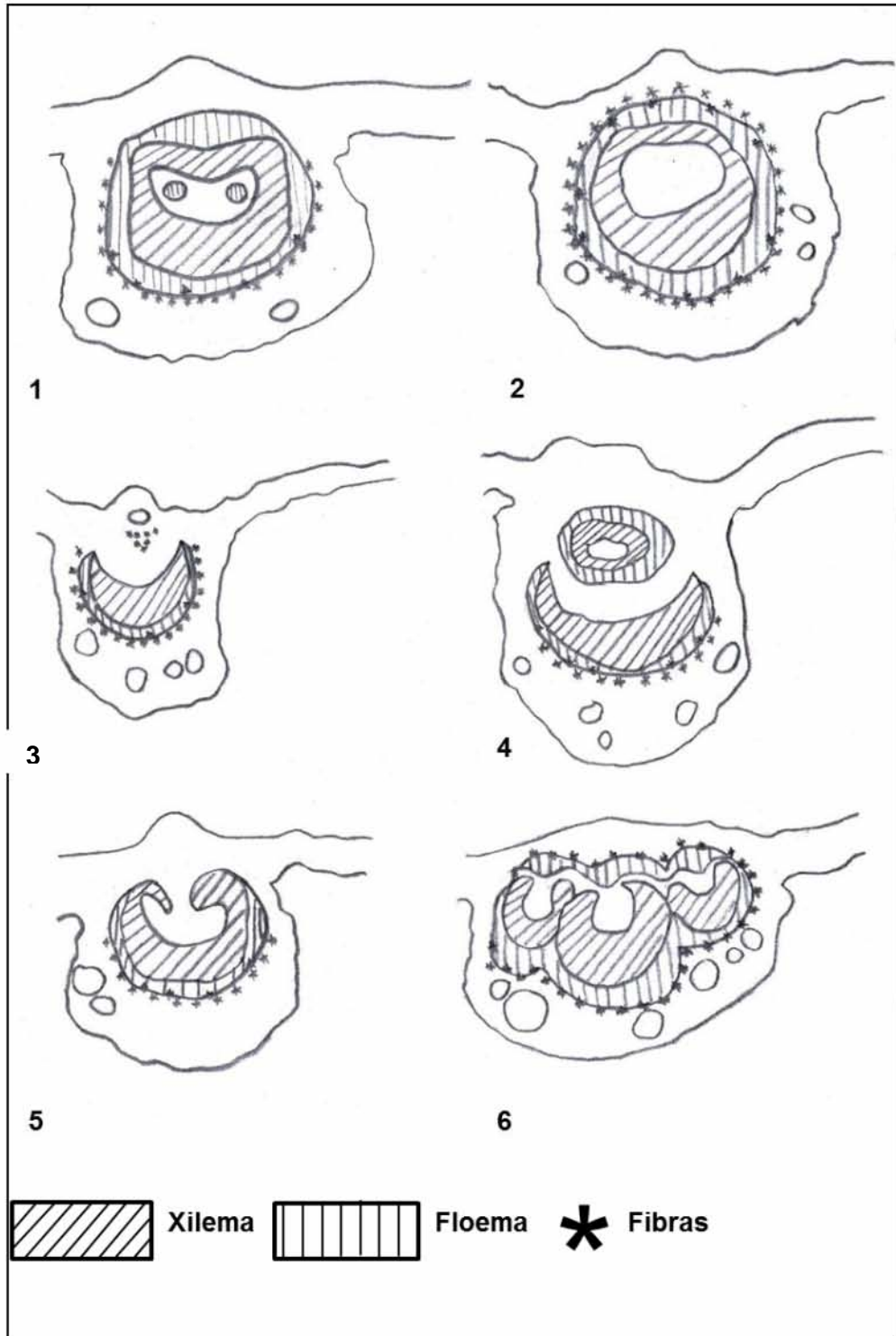


Figura 7: Comparación de los tipos de venas medias encontradas.

Análisis estadístico

Los caracteres se evaluaron a través de análisis de varianza en dos formas de agrupamiento. 1) Bajo el nombre de la etiqueta del herbario y 2) bajo el nombre del estado donde fueron recolectados. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) para ninguno de los caracteres (largo y ancho de la lámina, grosor de la cutícula abaxial y la cutícula adaxial, abundancia de tricomas/mm², grosor de mesofilo, grosor parénquima en empalizada y total de areolas/mm²) analizados.

En los análisis de regresión se encontró una relación negativa y significativa entre el largo ($F=21.98$, $P < 0.0001$) y entre el ancho ($F=16.04$, $P < 0.0001$) de las hojas con la latitud a la que se distribuyen, siendo las hojas más largas y anchas conforme más al sur se distribuyen. La mayor variación se encuentra cerca de los 20° en parte de los estados de Veracruz e Hidalgo, así como las poblaciones que se encuentran en la Faja Volcánica Transmexicana, incluyendo Michoacán. En esta latitud se encuentran hojas que van de los 3 hasta los 23 cm de largo y de 3 a 18 cm para el ancho (Figuras 8, 9). Para la longitud no fueron significativas las regresiones ($P > 0.23$).

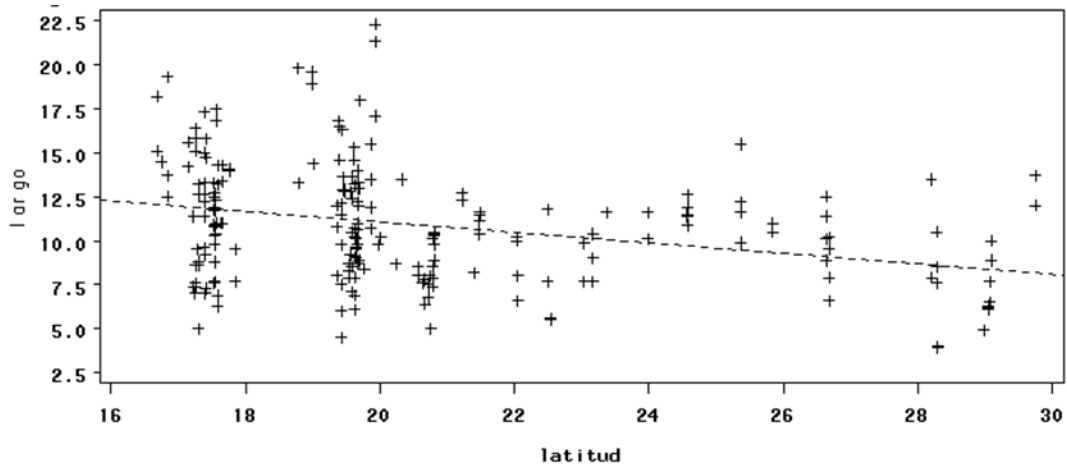


Figura 8: Variación del largo de la hoja según su distribución latitudinal.

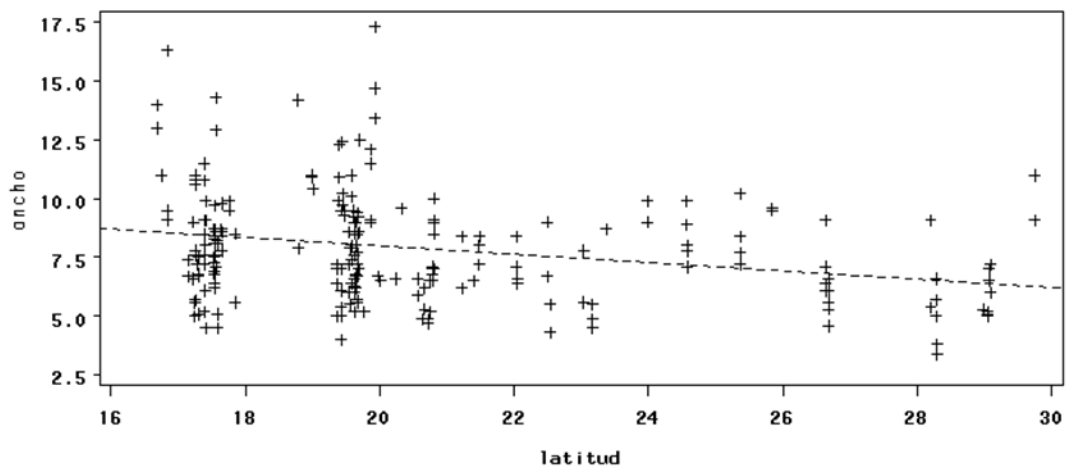


Figura 9: Variación del ancho de la hoja según su distribución latitudinal.

La densidad de tricomas por milímetro cuadrado disminuye con relación a la latitud, a excepción de los 20° donde se ve un aumento (Figura 10A). En cuanto a la relación con la longitud se pueden diferenciar dos grupos: con poca o nula pubescencia (99°-104° de longitud) y con más de 15 tricomas/mm² hacia el este (< 98° de longitud; Figura 10B).

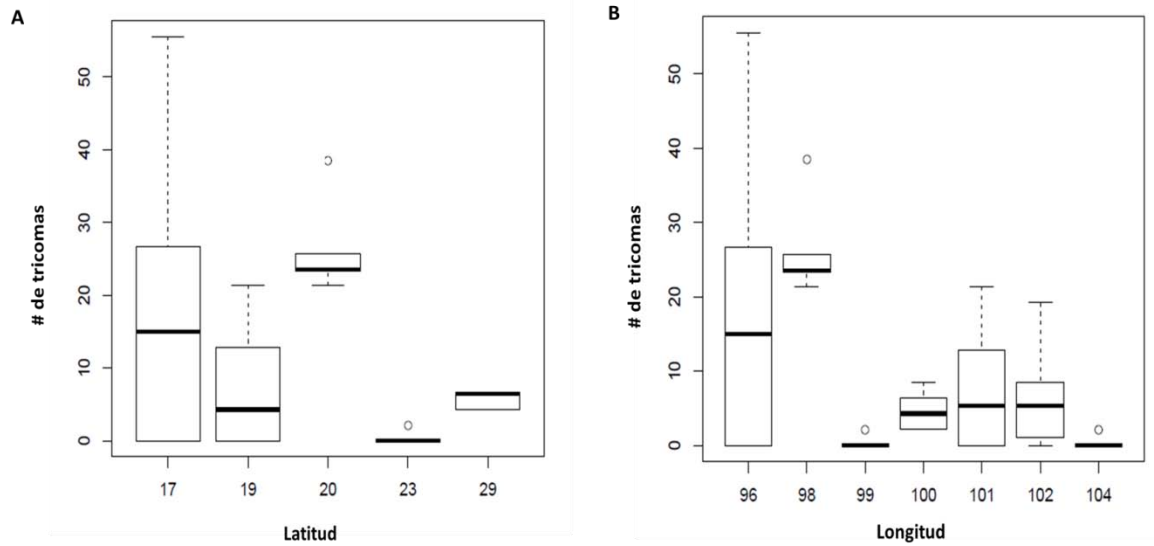


Figura 10: A) variación de densidad de tricomas en relación a la latitud. B) variación de densidad de tricomas en relación a la longitud.

El ancho del mesofilo presenta una relación negativa ($F= 16.26$, $P<0.0001$) con la latitud (Figura 11A), siendo más amplia conforme más al sur se distribuye, teniendo los mayores coeficientes de variación entre los 19° y 20° ; con la longitud no se encontró relación ($P>0.05$). El ancho del parénquima en empalizada aumenta conforme más al norte se distribuye ($F= 75.16$, $P<0.0001$; Figura 11B), excepto a los 29° latitud norte, donde se encuentran los valores más bajos y corresponden al estado de Coahuila.

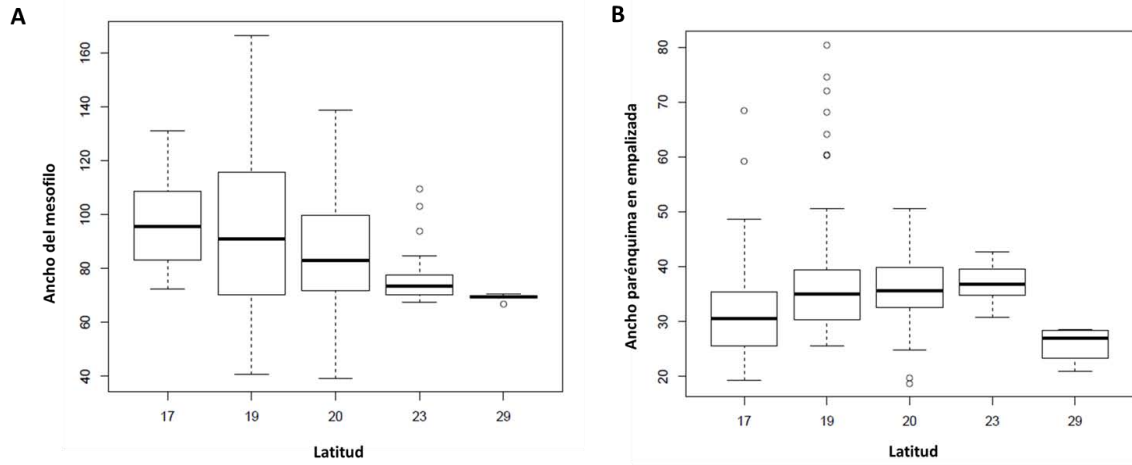


Figura 11: A) Variación del ancho del mesofilo con relación a la latitud. B) Variación del ancho del parénquima en empalizada con relación a la latitud.

Discusión

La comparación de la arquitectura foliar de *Tilia mandshurica* y *Tilia chingiana* distribuidas en Asia realizada por Hickey (1979) y la descrita en este trabajo para las tilias encontradas en México presenta muchas coincidencias. Estas similitudes están principalmente en el ápice acuminado, la base cordada, el patrón de venación actinódroma basal, los dientes de un solo orden con vena principal, las venas secundarias excurrentes, las terciarias percurrentes y las areolas bien desarrolladas. Algunos de estos atributos son comunes en varios géneros de Malvaceae, ya que también fueron descritos para algunas especies de *Mortonioidendron* (Solis-Montero et al., 2013). Una diferencia marcada con las especies de *Mortonioidendron* es que en este género predominan las vénulas 4 o más veces ramificadas, mientras que en *Tilia* son simples o una vez ramificadas. A diferencia de otros estudios donde la arquitectura foliar permite delimitar especies (Martínez-Cabrera et al., 2011; Andrés-Hernández et al., 2012; Solis-Montero et al., 2013), ésta no debe considerarse una herramienta que ayude a la identificación de especies de tilia.

La anatomía descrita en este trabajo presenta similitudes con la descrita por Metcalfe y Chalk (1950) para la familia Tiliaceae (actualmente subfamilia Tilioideae, familia Malvaceae) y la descrita para algunas especies de otros géneros de la familia Malvaceae como *Guazuma*, *Herrania*, *Mortonioidendron*, *Sterculia* y *Theobroma* (Gámez, 2013; Solis-Montero et al., 2013; Barata-García et al., 2014) donde predomina el mesofilo bifacial con uno o dos estratos de empalizada, vaina en los haces casi siempre de células de esclerénquima y

canales de mucílago, así como presencia de drusas. La presencia de prismas aquí observados, solo se habían registrado para *Theobroma* (Barata-Garcia et al., 2014), pero las hojas de *Tilia* difieren de la epidermis *Theobroma* por la presencia de idioblastos mucilaginosos en la epidermis de esta última (Barata-Garcia et al., 2014). La forma de las células epidérmicas poligonales es similar a lo descrito para otros géneros como *Abutilon* y *Sida* (Shaheem et al., 2009a, b). La presencia de estrías en las células asociadas al estoma observadas en *Tilia* ya se han descrito para otras especies de *Tilia* de Norteamérica como *T. heterophylla* (Hardin, 1990). Sin embargo en el material procedente de México parecen ser más escasas y ubicarse solo en la superficie abaxial, por ello sería importante hacer observaciones con el microscopio de electrónico de barrido para hacer una mejor descripción de ellas y evaluar su diversidad en los materiales de México.

Con base en los resultados de este estudio se considera que el tamaño de la lámina no es un carácter de relevancia taxonómica, debido a la amplia variación encontrada (largo 3-23 cm, ancho 3-18 cm), valores que superan los límites indicados por Bush (1929). Además, ni los análisis de varianza por nombre ni por estado revelaron que existen grupos discretos. Se podría pensar que estos resultados se deben a que se midió una muestra heterogénea de hojas procedentes de ejemplares de herbario. Sin embargo, es importante mencionar que solo se consideraron en este estudio los ejemplares con hojas maduras. Por su parte, Bush (1929) separa a *T. mexicana* con distribución en Nuevo León de *T. floridana* con distribución en los estados de Chihuahua, Coahuila y Nuevo León por la combinación tamaño de la lámina y hojas glabras en la madurez. Las pocas

muestras glabras observadas no corresponden a material de estos estados ni tampoco a los tamaños indicados por este autor. Las muestras glabras fueron colectadas en los estados de Hidalgo, Jalisco, Michoacán y Querétaro, estados que pertenecen a la Faja Volcánica Transmexicana y a la Sierra Madre Oriental (Figura 12), región para la cual se encontró la mayor diversidad de tamaños para los materiales depositados de *Tilia* en los herbarios FCME y MEXU, que además autores como Morrone (2005) consideran un centro de mayor variación genética en México.

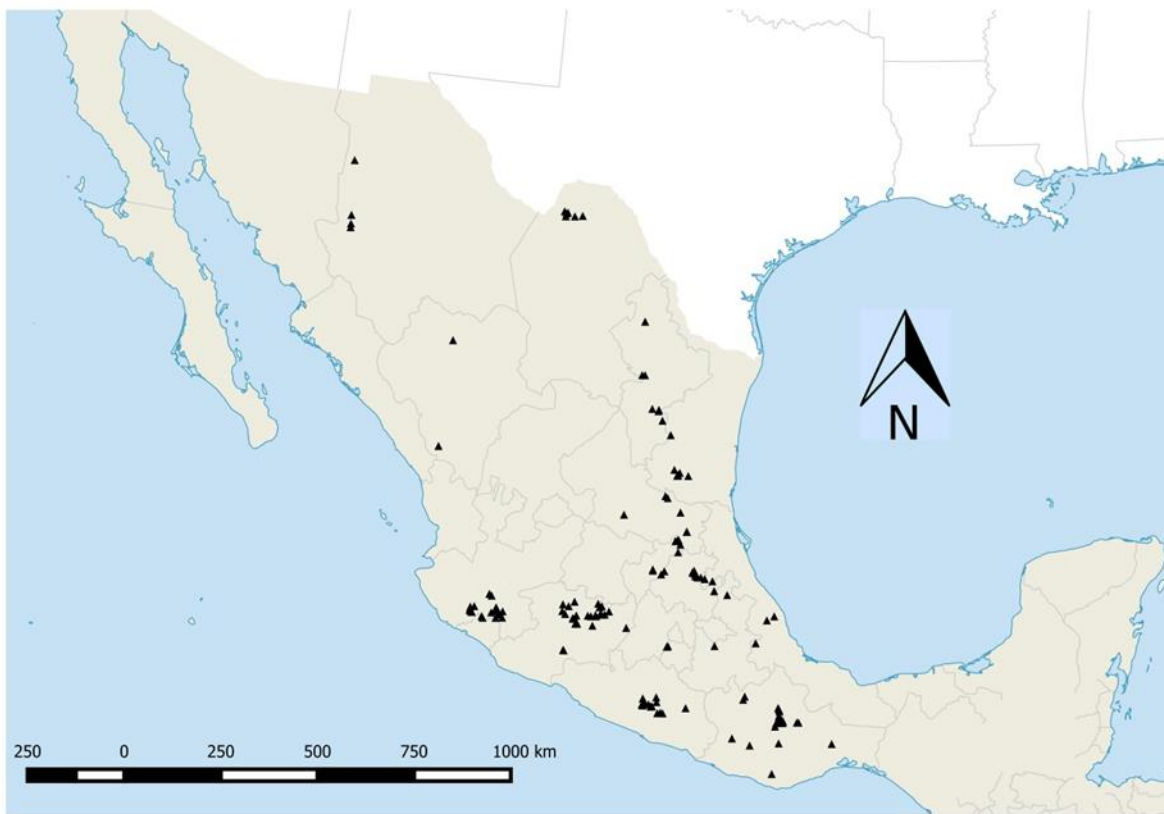


Figura 12: Sitios de colecta de los ejemplares de herbario de *Tilia* en la República Mexicana.

Por otra parte, los domacios se encuentran en todas las muestras analizadas y las observaciones con microscopía de luz indican que corresponden al tipo mechón de tricomas de Wilkinson (1979). Sin embargo, sería importante evaluarlos con microscopía electrónica de barrido y medirlos con el método de English-Loeb et al. (2002) para conocer si existen diferencias entre las diferentes poblaciones de *Tilia* distribuidas en México y de los Estados Unidos de Norte América, ya que para el género *Mortoniodendron* se registraron cuatro tipos de domacios que permiten la separación de especies (Solís-Montero et al., 2009).

Con respecto al número de nervios que generan el patrón de venación actinódroma, Bush (1929) únicamente incluye datos para *T. mexicana* con tres y cuatro pares de nervios y para *T. floridana* con cinco a siete pares de nervios. Los datos de esta investigación indican que el número de nervios no es un carácter suficiente para reconocer estas especies, ya que las muestras analizadas presentan entre dos y cuatro pares de nervios sin importar su distribución. Además, los otros rasgos señalados por Bush (1929) para separar las especies (Cuadro 2) tampoco corresponden a las especies y su distribución.

Cuadro 2: Caracteres utilizados por Bush (1929) y su relevancia taxonómica de acuerdo a los resultados de este trabajo.

Caracter	Importancia taxonómica
Tamaño de la lámina	No taxonómico por amplia variación
Hojas glabras	No taxonómico, pocos ejemplares glabros
Presencia de domacios	No taxonómico, todas con domacio
Número de nervios	No taxonómico, todas con 3 a 4 pares

En otros miembros de Malvaceae la abundancia de tricomas y la presencia de domacios si ha permitido separar entre especies de los géneros *Abutilon*, *Mortonioidendron*, *Sida* y *Theobroma* (Shaheem et al., 2009a, b; Solís-Montero et al., 2009, 2013; Barata-García et al., 2014), no así en el caso de *Tilia* con distribución en la República Mexicana.

La correlación negativa entre la latitud y el tamaño de la lámina indica que variación morfológica es el resultado de diferenciación fenotípica y como respuesta de adaptación ambiental (Uribe-Salas et al., 2008). Podría considerarse la humedad como el factor más influyente en la respuesta morfológica de la hoja, ya que México presenta una gran variedad de climas templados (*Cw*, templado subhúmedo con lluvias en verano; *Cf*, templado húmedo con lluvias todo el año) (García, 2004). El patrón de variación morfológica indica que el tamaño de la hoja es mayor en los sitios del sur, siendo más húmedos, mientras que tamaño de la hoja es gradualmente más pequeño hacia el norte, donde los sitios son más secos; datos similares fueron reportados para *Quercus rugosa* (Uribe-Salas et al., 2008) y *Rhizophora mangle* (Rico-Gray & Palacios-Ríos, 1996).

La variación tan amplia en cuanto al tamaño de la hoja a los 20° puede ser explicada de la misma forma, ya que los sitios de colecta a dicha latitud se ubican en el estado de Hidalgo; el 39% del estado presenta clima seco y semiseco, el 33% templado subhúmedo, el 16% cálido húmedo, 6% cálido subhúmedo y el restante 6% templado húmedo, estos últimos se presentan en la zona de la huasteca (INEGI).

Dado que el tamaño de la lámina foliar puede deberse a una variación de luz y sombra, y por la posición de la hoja en el árbol (Jones, 1968); se sugiere un muestreo a lo largo del gradiente latitudinal y altitudinal en México, siempre tomando hojas que ocupen la misma posición en el árbol, con el propósito de apoyar o refutar los resultados aquí encontrados.

Aunque Metcalfe (1989) señala que la humedad puede influir negativamente en la abundancia de tricomas como en especies del género *Mortoni dendron* (Rendón-Carmona et al., 2006), para el género *Tilia* no se cumple, ya que se encontró que con relación a la longitud, el grupo que se encuentra entre 96° y 98° corresponden a bosques mesófilos de montaña en los estados de Oaxaca y Veracruz, así como los límites de éste último con el estado de Hidalgo, lo que corresponde a bosques con una precipitación media anual > 1000 mm (INEGI). Dichos datos, a pesar de que provienen de herbario reflejan la presencia de tricomas en la hoja sin importar el estadio, porque en los aclarados puede apreciarse la base de los tricomas. A pesar de haber encontrado dos grupos con relación a la abundancia de tricomas (con poca o nula pubescencia y más de 15 tricomas/mm²), la distribución de las especies no corresponde a los nombres asignados por Bush (1929) para especies glabras o con abundantes tricomas. Por lo tanto, la distribución tiene mayor concordancia con la propuesta hecha por Jones (1968), quien considera una sola especie de *Tilia* para todo el territorio mexicano. Esta propuesta la hace considerando que la pubescencia puede ser variable según la edad de la hoja, la temporada del año y la parte del árbol de la cual fue seleccionada. Sin embargo, sería necesario confirmar esta

aseveración con un muestreo de campo y conjuntarlo con otras evidencias como características de la bráctea a la fecha poco evaluada para contribuir a la sistemática de *Tilia* en México.

Conclusiones

Hasta el momento los caracteres evaluados en la hoja no contribuyen en la taxonomía del género *Tilia*. Ninguno de los caracteres evaluados coincide con las descripciones realizadas por Bush, Jones o Hardin; por lo que no es posible reconocer la o las especies de *Tilia* presentes en el territorio mexicano. Es importante realizar un muestreo detallado en campo, considerando como una constante tomar muestras de hojas adultas que ocupen la misma posición en el árbol, con el propósito de confirmar los resultados de este trabajo. Se sugiere evaluar otros órganos como la inflorescencia y la bráctea como una posibilidad para entender la variación del taxón y contribuir a la taxonomía del género *Tilia* en México. Además, el generar información genética, por ejemplo, marcadores de cloroplasto y nucleares, permitirá confirmar si hay o no más de una especie del género en la República Mexicana.

Literatura citada

- Aguirre-Hernández, E. 2009. Composición química y evaluación del efecto ansiolítico y sedante de *Tilia americana* var. *mexicana* (Tiliaceae). Tesis de Doctorado, Colegio de Posgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Aguirre-Hernández, E., González-Trujano Ma. E., Martínez, A. L., Moreno, J., Kite, G., Terrazas, T. & Soto-Hernández, M. 2010. HPLC/MS analysis and anxiolytic-like effect of quercetin and kaempferol flavonoids from *Tilia americana* var. *mexicana*. *Journal of Ethnopharmacology* 127: 91-97.
- Andrés-Hernández, A. R. & Terrazas, T. 2006. Anatomía foliar y del peciolo de especies del género *Rhus* s. str. (Anacardiaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 78: 95-106.
- Andrés-Hernández, A. R. & Terrazas, T. (2009). Leaf architecture of *Rhus* s.str. (Anacardiaceae). *Feddes Repertorium* 120: 293-306.
- Andrés-Hernández, A. R., Espinosa, D., Fraile-Ortega, M. E. & Terrazas, T. 2012. Venation patterns of *Bursera* species Jacq. ex L. (Burseraceae) and systematic significance. *Plant Systematics and Evolution* 298: 1723-1731.
- Araujo- Silva, J., Alves- Azevedo, A., Campos Sila, L. & Strozi, R. M. 2010. Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 16 species of Malpighiaceae found in the Cerrado area (Brazil). *Plant Systematics and Evolution* 286: 117-131.

- Balaguer, L., Martínez-Ferrari, E., Valladares, F., Pérez-Corona, M. E., Baquedano, F. J., Castillo, F. J. & Manriquez, E. 2001. Population divergence in the plasticity of the response of *Quercus coccifera* to the light environment. *Functional Ecology* 15: 124-135.
- Barata-Garcia, T., Del Vilhena-Potiguara, R.C., Sousa-Kikuchi, T.Y., Demarco, D. & Andrade de Aguiar-Díaz, A.C. 2014. Leaf anatomical features of three *Theobroma* species (Malvaceae s.l.) native to the Brazilian Amazon. *Acta Amazonica* 44: 291-300.
- Bruschi, P., Grossoni, P. & Busotti, F. 2003. Within and among-tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt) Liebl. *Natural Populations Trees* 17: 164-172.
- Bush, B. F. 1929. The mexican species of *Tilia*. *American Midland Naturalist* 11: 543-560.
- Cardillo, E. & Bernal, C. J. 2006. Morphological response and growth of cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings at different shade levels. *Forest Ecology and Management* 222: 296-301.
- Cervantes, A., Terrazas, T. & Hernández, H. M. 2009. Foliar architecture and anatomy of *Bernardia* and other genera of Acalyphoideae (Euphorbiaceae). *Brittonia* 61: 375-391.
- Chalk, L. 1983. The effects of ecological conditions on wood anatomy. En C. R. Metcalfe & L. Chalk, *Anatomy of the Dicotyledons*, Vol. 2, pp. 152-156. Claredon Press, Oxford.

- Dickison, W. C. 2000. Integrative Plant Anatomy. Academic Press, San Diego.
- Downing, T. L., Ladiges, P. Y. & Duretto, M. F. 2008. Trichome morphology provides phylogenetically informative characters for *Tremandra*, *Platytheca* and *Tetratheca* (former Tremandraceae). *Plant Systematics and Evolution* 271: 199-221.
- Fuller, D. Q. & Hickey, L. J. 2005. Systematics and leaf architecture of the Gunneraceae. *The Botanical Review* 71: 295-353.
- Gómez A., L. E. 2013. Estudio ecoanatómico de cuatro especies arbóreas de Malvaceae en la estación experimental Caparo, estado de Barinas (Venezuela). *Pittieria* 37: 41-51.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Serie Libros, 6. Instituto de Geografía, UNAM.
- Hardin, J. 1990. Variation patterns and recognition of varieties of *Tilia americana* s.l. *Systematic Botany* 15: 33-48.
- Hedrick, P. W. 2006. Genetic polymorphism in the heterogeneous environments: The age of genomics. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 37: 63-93.
- Hettterscheid, W. L. A. & Hennipman, E. P. 1984. Venation patterns, soral characteristics and shape of the fronds of the microsorioid Polypodiaceae. *Botanische Jahrbucher* 105: 11-47.

- Hickey, L. J. 1974. Clasificación de la arquitectura foliar en dicotiledóneas. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 16: 1-26.
- Hickey, L. J. 1979. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves. En C. R. Metcalfe, & L. Chalk, Anatomy of the Dicotyledons. Vol. 1, pp. 25-39. Clarendon Press, Oxford.
- Hovenden, M. J. & Vander Schoor, J. K. 2006. The response of leaf morphology to irradiance depends on altitude of origin in *Nothofagus cunninghamii*. New Phytologist 169: 291-297.
- Jones, G. N. 1968. Taxonomy of American species of Lindens (*Tilia*). Urbans: Illinois Biological Monographs 39.
- Judd, W. S. & Manchester, S. R. 1997. Circumscription of Malvaceae (Malvales) as determined by a preliminary cladistic analysis of morphological, anatomical, palynological and chemical characters. Brittonia 49: 384-405.
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F. & Donoghue, M. J. 2007. Plant Systematics: A Phylogenetic Approach (3 ed.). Sinauer Associates, Sunderland.
- Lu, H. F., Jiang, B., Shen, Z. G., Shen, J. B., Peng, Q. F. & Cheng, C. G. 2008. Comparative leaf anatomy, FTIR discrimination and biogeographical analysis of *Camellia* section *Tuberculata* (Theaceae) with a discussion of its taxonomic treatments. Plant Systematic and Evolution 274: 223-235.

- Martínez-Cabrera, D., Terrazas, T. & Ochoterena, H. 2007. Leaf architecture of Hameliaceae (Rubiaceae). Feddes Repertorium 118: 286-310.
- Martínez-Cabrera, D., Terrazas, T. & Zavala, F. 2003. Arquitectura foliar y anatomía de la corteza y madera de *Quercus sartorii* y *Q. xalapensis* (Fagaceae). Boletín de Sociedad Botánica de México 73: 63-72.
- Martínez-Millán, M. & Cevallos-Ferriz, S. R. S. 2005. Arquitectura foliar de Anacardiaceae. Revista Mexicana de Biodiversidad 76: 137–190.
- Metcalf, C. R., & Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: Leaves, stems and wood in relation to taxonomy with notes on economics uses (Vol. I). Clarendon Press, Oxford.
- Metcalf, C. R., & Chalk, L. 1983. Anatomy of Dicotyledons, 2 ed., Vol. II. Clarendon Press, Oxford.
- Morrone, J. J. 2005. Hacia una síntesis biogeográfica de México. Revista Mexicana de Biodiversidad 76: 207-252.
- Muñoz-Flores, H. J., Orozco-Gutiérrez, G., García-Magaña, J. J., Coria-Ávalos, V. M., Salgado-Garciglia, R. & Santiago-Santiago, M. 2011. Épocas de colecta y tratamientos para enraizamiento de estacas de Cirimo *Tilia mexicana* Schlect. (Tiliaceae). Revista Mexicana de Ciencias Forestales 2: 13-23.
- Pacheco-Trejo, J., Terrazas, T. y Ochoterena, H. 2009. Leaf architecture of the genus *Didymaea* Hook. F. (Rubiaceae). Plant Systematics and Evolution 281: 137-149.

- Pérez-Cálix, E. 2009. Tiliaceae. Flora del Bajío y regiones adyacentes 160. Instituto de Ecología, Patzcuaro, Michoacán.
- Rendón-Carmona, N., Ishiki-Ishihara, M., Terrazas, T. & Nieto-López, M. G. 2006. Indumento y tricomas en la caracterización de un grupo de nueve especies del género *Motoniodendron* (Tiliaceae). Revista Mexicana de Biodiversidad 77: 169-176.
- Rico-Gray, V. & Palacios-Rios, M. 1996. Leaf area variation in *Rhizophora mangle* L. (Rizophoraceae) along a latitudinal gradient in Mexico. Global Ecology and Biogeography 5: 30-35.
- Romero, R. S. 2000. Estudio taxonómico de la serie Acutifoliae (*Quercus*, Fagaceae). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Ruzin, S. E. 1999. Plant Microtechnique and Microscopy. Oxford University Press, Nueva York.
- Shaheen, N., Khan, M. A., Yasmin, G., Hayat, M. Q. Ahmad, M., Zafar, M. & Jabeen, A. 2009a. Implication of foliar epidermal features in the taxonomy *Abutilon* Mill. (Malvaceae). Journal of Medicinal Plants Research 3: 1002-1008.
- Shaheen, N., Khan, M. A., Yasmin, G., Ahmad, M., Mahmood, T., Hayat, M. Q. & Zafar, M. 2009b. Foliar epidermal anatomy and its systematic implication

- within the genus *Sida* L (Malvaceae). *African Journal of Biotechnology* 8: 5328-5336.
- Sisó, S., Camarena, J. J. & Gil-Pelegrin, E. 2001. Relationships between hydraulic resistance and leaf morphology in broad leaf *Quercus* species a new interpretation of leaf lobation. *Trees* 15: 341-345.
- Solis-Montero, L., Terrazas, T. & Ishiki-Ishihara, M. 2013. Leaf architecture and anatomy of eleven species of *Mortonioidendron* (Malvaceae s.l.). *Plant Systematics and Evolution* 299: 553-566.
- Solis-Montero, L., Rendón-Carmona, N., Terrazas, T. & Ishiki, M. 2009. Los domacios de *Mortonioidendron* (Malvaceae s.l.). *Brittonia* 61: 71-84.
- Stuessy, T. F. 1990. *Plant Taxonomy: The Systematic Evaluation of Comparative Data*. Columbia University Press, Nueva York.
- Tejero-Diez, D., Aguilar-Rodríguez S., Terrazas, T. & Pacheco, L. 2010. Arquitectura y anatomía foliar del complejo *Polypodium plesiosorum sensu Moran* (Polypodiaceae). *Revista de Biología Tropical* 58: 955-976.
- Todzia, C. A. & Keating, R. C. 1991. Leaf architecture of the Chloranthaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 78: 476-496.
- Toker, G., Asian, M., Teşilada, E., Memişoğlu, M. & Ito, S. 2001. Comparative evaluation of the flavonoid content in officinal *Tiliae flos* and Turkish lime species for quality assesment. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analisis* 26: 111-121.

- Uribe-Salas, D. C., Sáenz-Romero, A., González- Rodríguez, O. & Téllez-Valdéz, O. 2008. Foliar morphological variation in the white oak *Quercus rugosa* Née (Fagaceae) along a latitudinal gradient in Mexico: potential implications for management conservation. *Forest Ecology and Management* 256: 2121-2126.
- Wilkinson, H. P. 1979. The plant surface (mainly leaf) Part IV: Domacio. En C. R. Metcalfe & L. Chalk (Eds.), *Anatomy of the Dicotyledons* (2 ed., pp. 97-165). Clarendon Press, Oxford.

Apéndice A. Ejemplares de herbario revisados

Tilia sp.: Chihuahua De Ocampo *Tenorio 1937* (MEXU); Jalisco. Autlán *Loera 33* (FCME); Tapalpa *Diggs 3802* (MEXU); Oaxaca. Ixtlán de Juárez *Miranda 8393* (MEXU); Tuxtepec *Greenwood 1* (MEXU); Tamaulipas. Gómez Farías *Sharp 701* (MEXU).

Tilia americana: Coahuila. Boquillas *Henrickson 11624* (MEXU); De Bustamante *Villareal 9165* (MEXU); Galeana *Ferguson 1267* (MEXU);

Tilia americana var. caroliniana: Coahuila. *Villareal 9108* (MEXU); Lorea *2018* (FCME); Nuevo León. Santiago *Villareal 9027* (MEXU).

Tilia americana var. mexicana: Chihuahua. Madera *Van Devende 1* (MEXU); Guerrero. Chichihualco *Núñez 8313* (MEXU); Chilpancingo *Gual 383* (MEXU); *Gual 412* (MEXU); *Kruse 1* (MEXU); Eduardo Neri *Gual 117* (MEXU); Leonardo Bravo *Gual 222* (MEXU); *Gual 3488* (MEXU); Mochitlán *Gual 859* (MEXU); *Gual 1130* (MEXU); Omiltemi *Gual 660* (MEXU); Tlapa de Comonfort *Lorea 2018* (MEXU); *Lorea 2018-a* (MEXU); Michoacán. Aguililla *Mc. Vaugh 22705* (MEXU); Erongarícuaro *Molina 89* (MEXU); Morelia *Sánchez 584* (MEXU); Oaxaca. Calpulalpam de Méndez *Juárez 2096* (MEXU); Coicoyán *Ávila 629* (MEXU); Villa de Morelos *Rivera 2593* (MEXU); Querétaro. *Díaz 6590* (MEXU); Son. *Kruse 1* (MEXU); *Soto 8313* (MEXU); *Ledesma 618* (MEXU); *Manríquez 5500* (MEXU).

Tilia caroliniana: Chihuahua. De Ocampo *Nessom 5099* (MEXU).

Tilia floridana: Chihuahua. De Ocampo *Corral 3880* (MEXU); *LeSeur 649* (MEXU); *Pinkava 13291* (MEXU); Madera *Bravo 853* (MEXU); *Bravo 853-a* (MEXU); *Rodríguez 28.1* (MEXU); Coahuila. Sierra de Maderas de Carmen *Wendt 445* (MEXU); Guerrero. Chichihualco *Rzedowski 18514* (MEXU); Hidalgo. Eloxochitlán *Luna 1868* (MEXU); Tenango de Doria *Alcántara 1807* (MEXU); Zacualtipán *Sharp 46212* (MEXU); *Rzedowski 10532* (MEXU); *Sharp 45378* (MEXU); *Rodríguez 28* (MEXU). Nuevo León. Iturbide *Dorr 2589* (MEXU); Santiago *Moreno 893* (MEXU). San Luis Potosí. Xilitla *Rzedowski 10514* (MEXU); Tamaulipas. Llera *González 10402* (MEXU).

Tilia houghi: Durango. Indé *Gentry 10529* (MEXU); Guerrero. Chichihualco *Rzedowski 16414* (MEXU); Hidalgo. Eloxochitlán *Álcántara 2965* (MEXU); Tenango de Doria *Alcántara 1807* (MEXU); Jalisco. Venustiano Carranza *Martínez 506* (MEXU); s. n. Estado de México. Temascaltepec; Michoacán. Chilchota *Domingo 1* (MEXU); Nuevo León. *Estrada 1087* (MEXU); Tamaulipas. Gómez Farías *Hernández 3132* (MEXU); *Diggs 3168* (MEXU); *González 1843* (MEXU).

Tilia longipes: Jalisco. Ayutla *Guízar 400* (MEXU); Oaxaca. Mecuiltianguis *Pérez 153* (MEXU).

Tilia macrophylla: Tamaulipas. Gómez Farías *González 13159* (MEXU).

Tilia mexicana: Chihuahua. Guachochic *Bye* 6962 (MEXU); Coahuila. Pico Centinela *Johnston* 11801 (MEXU); *Johnston* 11948(MEXU); Sierra de Maderas de Carmén *Carranza* 2040 (MEXU); Villa *Acuña Riskind* 2208 (MEXU); Hidalgo. Metztitlán *López* 145 (MEXU); *Panero* 6645 (MEXU); Molango *Hernández* 5901 (MEXU); Tianguistengo *Hernández* 5803 (MEXU); Zacualtipán *González* 2425 (MEXU); Zimapán *López* 305 (MEXU); Jalisco. Autlán *Guzmán* 986 (MEXU); *Ramírez* 1234 (MEXU); Ayutla *Guízar* 400 (MEXU); *Reynoso* 2199 (MEXU); Cuautitlán *Calzada* 5492 (MEXU); *Cuevas* 2885 (MEXU); Las Joyas *Boutin* 2351 (MEXU); *Cuevas* 4937 (MEXU); Manantlán *R.* 1830 (MEXU); *Ittis* 1212 (MEXU); San Gabriel *Mc Vaugh* 10013(MEXU); Talpa de Allende *Mc. Vaugh* 14378 (MEXU); Tapalpa *Lott* 397 (MEXU); Tolimán *Santana* 5857 (MEXU); Tuxpan *Mc Vaugh* 14946 (MEXU); *Mc Vaugh* 11749 (MEXU); Zapotitlán *Mancera* 330 (MEXU); Michoacán. Aguililla *Soto* 9350 (MEXU); Cherán *Nevilles* 22537 (MEXU); Chilchota *Nevilles* 22523 (MEXU); *Nevilles* 22524 (MEXU); *Nevilles* 22525 (MEXU); Erongarícuaro *Díaz* 1690 (MEXU); *Díaz* 2254 (MEXU); Morelia *Nevilles* 22521 (MEXU); *Nevilles* 22521-a (MEXU); *Nevilles* 22522 (MEXU); *Nevilles* 22522-a (MEXU); *Santos* 2093 (MEXU); *Santos* 2093-a (MEXU); *Medina* 1038 (MEXU); *Rzedowski* 49475 (MEXU); Pátzcuaro *Caballero* 194 (MEXU); Queréndaro *Rzedowski* 40018 (MEXU); Salvador Escalante *Nevilles* 22535 (MEXU); *Nevilles* 22535-a (MEXU); San Juan Parangaricutiro *Madrigal* 3101 (MEXU); Sta. Clara del Cobre *Escobedo* 1062 (MEXU); Tacámbaro *Arguelles* 1618 (MEXU); Tancítaro *García* 4230 (MEXU); Tzintzuntzan *Caballero* 221 (MEXU); Zacapu *Díaz* 4812 (MEXU); N. L. Galeana; Oaxaca. Calpulalpam de Méndez *Miranda* 8395 (MEXU); Chicomezuchil *Gary* 605 (MEXU); Comaltepec *Hernández*

G. 268 (MEXU); *Hernández* 62 (MEXU); Ixtlán de Juárez *Cedillo* 911 (MEXU); *Cedillo* 2335 (MEXU); *Lorence* 3247 (MEXU); *Lorence* 4068 (MEXU); Mixistlán *Torres* 482 (MEXU); Sn. Juan Evangelista *Analco Sánchez* 2160 (MEXU); *Sánchez* 2216 (MEXU); Sta. Cruz Itundujia *Nava* 2377 (MEXU); Santiago Textitlán *Salas* 6003 (MEXU); *Torres* 223 (MEXU); *Trujillo* 371 (MEXU); Querétaro. Jalpan *Carranza* 4082 (MEXU); *Carranza* 5526 (MEXU); *Servín* 341 (MEXU); *Servín* 1029 (MEXU); *Zamudio* 7324 (MEXU); Landa *Carranza* 1807 (MEXU); *González* 691 (MEXU); *Rubio* 815 (MEXU); *Rubio* 1788 (MEXU); *Zamudio* 11484 (MEXU); Pinal de Amoles *Zamudio* 6578 (MEXU); Sn. Joaquín *Fernández* 3317 (MEXU); San Luis Potosí. Aquismón *Alcorn* 3155 (MEXU); Ciudad del Maíz *Mc Vaugh* 10453 (MEXU); *Mc Vaugh* 10453-a (MEXU); Tamaulipas. Gómez Farías *González* 3627 (MEXU); *González* 3744 (MEXU); *Puig* 7012 (MEXU); Guemez *González* 13123 (MEXU); Hidalgo *González* 14102 (MEXU); *González* 17471 (MEXU); *González* 17471-a (MEXU); Padilla *González* 13080 (MEXU); Veracruz. Alto Lucero *Castillo* 1560 (MEXU); Calcahualco *Cházaro* 3461 (MEXU); *F.* 270 (MEXU); *Hernández* 876 (MEXU); *Martínez* 1237 (MEXU); Huayacocotla *Ballesteros* 230 (MEXU); Huiloapan *Calzada* 8580 (MEXU); Jalacingo *Cházaro* 1638 (MEXU); Juchique Ferrer *Hernández* 1563 (MEXU); *Hernández* 1563-a (MEXU); Naolinco *Calzada* 9408 (MEXU); Perote *Castillo* 3127 (MEXU); Tlachichilco *Rincón* 2561 (MEXU).

Tilia neglech: Veracruz. Atzalán *Sharp* 46157 (MEXU).

Tilia occidentalis: Durango. El Salto *Tenorio* 631 (MEXU); Estado de México. Ocuilán *Castañeda* 1183 (MEXU); Guerrero. Chilpancingo *Martínez* 511 (MEXU); Gral. Heliodoro García *Cruz* 3071 (MEXU); Hidalgo. Agua Blanca de Iturbide

Sharp 45841 (MEXU); Jalisco. Tuxpan *Rzedowski 19402* (MEXU); Zapotitlán *Martínez 10* (MEXU); Michoacán. Jiquilpan *Martínez 43248* (MEXU); *Martínez 43248-a* (MEXU); Tancítaro *García 4230* (MEXU); Oaxaca. Sn. Pedro Yolox *Ruíz 26* (MEXU); San Luis Potosí. Río Verde *Ramírez 1* (MEXU); Xilitla *Paray 497* (MEXU); Tamp. Gómez Farías *González 2494* (MEXU); Miquihuana *González 7127* (MEXU); *R. 1*(MEXU); *Hernández 668* (MEXU); *Loera 33* (MEXU); *Castañeda 1138*(MEXU).

Apéndice B. Caracteres de la arquitectura foliar de *Tilia* en México

Caracteres foliares		Venación	
Carácter	Descripción		
		1.-Marco de la vena primaria	Actinódroma basal
1.-Accesorios de la lámina	Pecíolo	2.-Número de venas basales	4 a 6
2.-Arreglo foliar	Alternado	3.-Venas agrofíticas	Compuestas
3.-Organización foliar	Simple	4.-Areolación	Bien desarrollada
4.-Tamaño de la lámina	Variable	5.-Venas libres	Ausentes
5.-Forma de la lámina	Aovada	6.-Venas libres	Simple
6.-Simetría medial	Generalmente asimétrica	7.-Venas libres	Una vez ramificadas
7.-Simetría basal	Asimétrica		
8.-Lobulación	No lobulado		
9.-Tipo de margen	Serrado		
10.-Características especiales del margen	Ausentes		
11.-Angulo del ápice	Agudo		
12.-Forma del ápice	Acuminado		
13.-Angulo de la base	Reflexo		
14.-Forma de la base	Cordada		
15.-Textura de la superficie	Lisa o pubescente		
16.-Glándulas superficiales	Ausentes		
Dientes			
	Regular		
1.-Espacio entre dientes			
2.-Ordenes de dientes	1		
3.-Dientes por centímetro	1 a 3		
4.-Forma del seno	Redondeado		
5.-Forma del diente	Cc/FI		
6.-Vena principal	Presente		
7.-Terminación del nervio principal	En el ápice del diente		