



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA  
SISTEMÁTICA

**LAS ESTRUCTURAS SECRETORAS FOLIARES EN ASTERACEAE, IMPLICACIONES  
EVOLUTIVAS Y FUNCIONALES**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**DANIEL MARTÍN MARTÍNEZ QUEZADA**

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO**  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

**COMITÉ TUTOR: DR. JOSÉ LUIS VILLASEÑOR RÍOS**  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM  
**DR. RICARDO REYES CHILPA**  
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.**

**FEBRERO, 2024**



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

**LAS ESTRUCTURAS SECRETORAS FOLIARES EN ASTERACEAE, IMPLICACIONES  
EVOLUTIVAS Y FUNCIONALES**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**DANIEL MARTÍN MARTÍNEZ QUEZADA**

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO**  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

**COMITÉ TUTOR: DR. JOSÉ LUIS VILLASEÑOR RÍOS**  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM  
**DR. RICARDO REYES CHILPA**  
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.**

**FEBRERO, 2024**



COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA  
OFICIO: CGEP/CPCB/IB/0059/2024  
ASUNTO: Oficio de Jurado

**M. en C. Ivonne Ramírez Wence**  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **27 de noviembre de 2023** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del estudiante **MARTÍNEZ QUEZADA DANIEL MARTÍN** con número de cuenta **308224582** con la tesis titulada **“LAS ESTRUCTURAS SECRETORAS FOLIARES EN ASTERACEAE, IMPLICACIONES EVOLUTIVAS Y FUNCIONALES”**, realizada bajo la dirección de la **DRA. TERESA MARGARITA TERRAZAS SALGADO**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidenta: DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA  
Vocal: DR. MARCELO RODRIGO PACE  
Vocal: DRA. MARTHA JUANA MARTÍNEZ GORDILLO  
Vocal: DR. ANDRÉS ERNESTO ORTÍZ RODRÍGUEZ  
Secretario: DR. JOSÉ LUIS VILLASEÑOR RÍOS

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

**A T E N T A M E N T E**  
**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 15 de enero de 2024

**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**



c. c. p. Expediente del alumno

AGNS/RGA/EARR/rga

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la oportunidad de continuar con mi desarrollo profesional y académico.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT), por la beca de manutención otorgada para la realización de mis estudios de doctorado.

A la Dra. Teresa Margarita Terrazas Salgado, por aceptar ser mi tutora principal durante mis estudios de posgrado, por todo su apoyo e invaluable enseñanzas durante la realización de este proyecto.

A los miembros de mi comité tutor, el Dr. José Luis Villaseñor Ríos y el Dr. Ricardo Reyes Chilpa por sus valiosos y acertados comentarios durante las evaluaciones tutorales.

## **AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL**

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por las infinitas oportunidades.

A la Dra. Teresa Terrazas, por ser mi referente académico. Gracias por transmitirme su pasión por el estudio de los tejidos vegetales, por creer en mí y permitirme ser parte de sus estudiantes. Todas sus enseñanzas las llevo conmigo en esta nueva etapa.

A la Dra. Alicia Rojas, por todos los consejos fuera y dentro del laboratorio. Por muchos años más de amistad, Alice.

A los miembros de mi jurado: Dra. Sonia Vázquez Santana, Dr. Marcelo Rodrigo Pace, Dra. Martha Juana Martínez Gordillo, Dr. Andrés Ernesto Ortiz Rodríguez, por todos los comentarios y sugerencias que ayudaron a enriquecer este manuscrito.

A la Dra. Estela Sandoval y a la Biól. Bárbara Estrada, por todo su cariño y por permitirme jugar responsablemente en el Laboratorio de Apoyo a la Investigación del Jardín Botánico.

A la Biól. Yolanda Morales, por su infinito apoyo emocional, invaluable amistad y las eternas pláticas en el invernadero.

Al Dr. Ulises Rosas por su amistad y apoyo en todo momento.

A Rocío González Acosta de la Oficina de Posgrado en el Instituto de Biología, por siempre apoyar a los estudiantes del Posgrado en Ciencias Biológicas.

A mis profesores de la Facultad, la M. en C. Rosa María Fonseca, la Dra. Martha Martínez, la Dra. Guillermina Murguía, el M. en C. Ernesto Velázquez y al Biól. Gabriel Olalde por fomentar siempre mi interés por las plantas.

A mis amigos del cubículo A-105, Marysol Ramírez, Alejandro de la Rosa, Arantza Rodríguez y Marco Alvarado, por todas las charlas anatómicas.

Al Dr. Jorge Gutiérrez por abrirme las puertas de su laboratorio para poder seguir haciendo investigación en la Universidad Autónoma Chapingo (UACH).

A Minerva Reynoso, por tantos años de risas.

A todos los contribuyentes de México, porque gracias a ustedes podemos tener acceso a una beca de posgrado.

*A Dios, por ser tan grande conmigo,  
a mi mamá, porque este logro es tan suyo como mío,  
a mi hermana Emilia, la mujer más valiente que conozco,  
a Max, porque me ha hecho una mejor persona.*

## ÍNDICE

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción general.....	3
Capítulo I. Leaf secretory structures in Asteraceae: a synthesis of their diversity and evolution.....	6
Capítulo II. ¿Las estructuras secretoras promueven la diversificación de los linajes en Asteraceae?.....	39
Capítulo III. Ontogenia de los canales y cavidades de dos especies de Asteraceae.....	66
Discusión y conclusiones generales.....	84
Referencias generales.....	86

## RESUMEN

Las estructuras secretoras son responsables de la síntesis de los metabolitos secundarios, los cuales son importantes desde una perspectiva farmacológica, así como en el campo de la ecología química. El estudio de las estructuras secretoras se ha centrado en familias de angiospermas muy diversas. Aunque Asteraceae es la familia más grande dentro de las eudicotiledóneas, el estudio comparativo de sus estructuras secretoras es limitado y su relevancia evolutiva no se ha explorado. Este trabajo se divide en tres partes, en el Capítulo I, se describen y comparan las estructuras secretoras foliares de 542 especies de 35 tribus y 11 subfamilias de Asteraceae, se evalúa su diversidad a nivel de tribu, se reconoce su utilidad taxonómica y se identifican los patrones evolutivos generales en la familia. En el Capítulo II, se pone a prueba la hipótesis de la influencia de las estructuras secretoras foliares en los procesos de diversificación de los linajes en Asteraceae. Se evidencian dos cambios importantes en las tasas de diversificación de la familia y se relacionan con la presencia de tricomas glandulares y canales secretores. En el Capítulo III, se describe y compara la ontogenia de los canales y cavidades secretoras de dos especies de Asteraceae, se concluye que ambos tipos de estructuras secretoras internas se originan de promeristemos diferentes pero tienen patrones ontogenéticos similares, lo que permite inferir un origen evolutivo común. Los resultados mostraron que la diversidad estructural de las compuestas no sólo está circunscrita al aspecto morfológico, sino también anatómico. Este proyecto permitió apoyar la hipótesis sobre la relación entre la diversidad química como promotor de la diversificación de Asteraceae y es congruente con los resultados de trabajos previos utilizando otra fuente de atributos con relevancia ecológica.

## ABSTRACT

Secretory structures are responsible for the synthesis of secondary metabolites, which are important from a pharmacological perspective, as well as in the field of chemical ecology. The study of secretory structures has focused on very diverse angiosperm families. Although Asteraceae is the largest family within the Eudicots, the comparative study of their secretory structures is limited and their evolutionary relevance has not been explored. This work is divided into three parts, in Chapter I, the leaf secretory structures of 542 species from 35 tribes and 11 subfamilies of Asteraceae are described and compared, their diversity is evaluated at the tribe level, their taxonomic importance is recognized, and their general evolutionary patterns in the family are identified. In Chapter II, the hypothesis of the influence of leaf secretory structures on the diversification processes of lineages in Asteraceae is tested. Two important changes are evident in the diversification rates of the family and are related to the presence of glandular trichomes and secretory canals. In Chapter III, the ontogeny of the secretory canals and cavities of two species of Asteraceae is described and compared; it is concluded that both types of internal secretory structures originate from different promeristems but have similar ontogenetic patterns, which allows us to infer a common evolutionary origin. The results showed that the structural diversity of the Compositae is not only limited to the morphological, but also to the anatomical aspect. This project supported the hypothesis about the relationship between chemical diversity as a promoter of the diversification of Asteraceae and is consistent with the results of previous work using another source of attributes with ecological relevance.

## **INTRODUCCIÓN GENERAL**

A lo largo de su evolución, las plantas han desarrollado múltiples mecanismos fisiológicos para llevar a cabo procesos básicos de la vida como la autorregulación, la reproducción y la autopreservación. Estos mecanismos pueden incluirse en dos categorías: el metabolismo primario, que se encarga de las funciones básicas de mantenimiento (Pott et al., 2019) y el metabolismo secundario, que se centra en aquellos procesos que aunque no intervienen directamente en el metabolismo primario, cumplen funciones importantes para hacer frente a las presiones ambientales como la radiación solar, el estrés hídrico, así como para fungir como agentes reguladores de las interacciones que establecen con otros organismos (Salam et al., 2023).

Una de las principales estrategias de autopreservación es el desarrollo de la defensa química, la cual ha sido particularmente exitosa gracias a la síntesis de una gran variedad de productos del metabolismo secundario como los terpenoides, alcaloides y los compuestos fenólicos (Mithofer & Boland, 2012). Estos compuestos químicos pueden tener diferentes funciones tales como detener y repeler a herbívoros y patógenos (Anaya Lang, 2003) y son sintetizados en regiones especializadas de los órganos vegetales denominados sistemas secretores.

De acuerdo con Mauseth (1988), los sistemas secretores pueden dividirse en células (idioblastos) secretoras y estructuras secretoras. El estudio de las estructuras secretoras se ha centrado en los grupos de angiospermas altamente diversos como Apiaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Malvaceae, Rosaceae, Rutaceae y Solanaceae, en los cuales también se ha identificado un gran número de compuestos químicos (Moerman et al., 1999; Evans, 2009;



Gras et al., 2021). Asteraceae es la familia con mayor número de especies dentro de las eudicotiledóneas (Funk et al., 2009; Panero & Funk, 2008; Villaseñor, 2018) y se caracteriza por su gran relevancia medicinal debido a que los taxones que integran a esta familia sintetizan una amplia diversidad de metabolitos secundarios (Pérez-Castorena et al., 2001; Romo de Vivar et al., 2007; Arciniegas et al., 2009; Arciniegas et al., 2015). A pesar de que la diversidad química en Asteraceae está bien documentada (Calabria et al., 2009), el conocimiento de las estructuras secretoras en las compuestas es limitado. Los estudios publicados hasta la segunda década de los años 2000 estuvieron enfocados a caracterizar la superficie epidérmica o la anatomía general de los órganos vegetales de taxones puntuales de Asteraceae (Carlquist, 1958; Bombo et al., 2012; Redonda-Martínez et al., 2012; Ozcan et al., 2015; Silva et al., 2015; Dere & Aytas Akcin, 2017; Rojas-Leal et al., 2017; Bezerra et al., 2018) sin hacer énfasis en las estructuras secretoras ni profundizan en la relevancia de su estudio en un contexto evolutivo.

Evaluar los caracteres desde la perspectiva de la sistemática filogenética comparativa, es fundamental para analizar los patrones generados como resultado de procesos evolutivos (Papavero et al., 2001). Este tipo de análisis constituyen un punto de partida para comprender patrones evolutivos, desarrollar y contrastar hipótesis adaptativas, describir cambios morfológicos, dilucidar patrones de diversificación y convergencias evolutivas, así como analizar las relaciones de la biota con el ambiente (Morrone, 2013). Por lo tanto, este trabajo de investigación tiene por objetivos:

1. Conocer la diversidad de estructuras secretoras a lo largo de la familia y describir sus variaciones.

2. Identificar qué estructuras se encuentran en cada tribu y su abundancia, así como determinar su valor taxonómico.
3. Determinar las implicaciones evolutivas de las estructuras secretoras en la diversificación de los linajes en Asteraceae.
4. Contrastar los patrones ontogenéticos de dos tipos de estructuras secretoras con características estructurales similares en taxones filogenéticamente distantes.

Para abordar los objetivos, el capítulo 1 de este trabajo se centra en caracterizar la diversidad de estructuras secretoras foliares en Asteraceae en representantes de 35 de las 40 tribus reconocidas para la familia. En el capítulo 2 se explora la relevancia de estos sistemas secretores en la evolución de las compuestas a través de métodos filogenéticos comparativos. Por último, en el capítulo 3, se describe la ontogenia de los canales y cavidades en dos especies de Asteraceae y se contrastan con los patrones de desarrollo reportados en otros grupos de angiospermas.

## CAPÍTULO I

Artículo de requisito

Las estructuras secretoras foliares en Asteraceae: una síntesis de su diversidad y evolución

Martínez-Quezada D. M., Rivera P., Rojas-Leal A., Villaseñor J. L., Terrazas T. 2023. Leaf secretory structures in Asteraceae: a synthesis of their diversity and evolution. *The Botanical Review* 89: 59-90. DOI: [doi.org/10.1007/s12229-022-09276-4](https://doi.org/10.1007/s12229-022-09276-4)



## Leaf Secretory Structures in Asteraceae: A Synthesis of Their Diversity and Evolution

Daniel M. Martínez-Quezada<sup>1,2</sup> · Patricia Rivera<sup>1</sup> · Alicia Rojas-Leal<sup>1</sup> · José Luis Villaseñor<sup>1</sup> · Teresa Terrazas<sup>1</sup>

Accepted: 18 January 2022  
© The New York Botanical Garden 2022

### Abstract

This study presents the first comparative analysis of the leaf secretory structures across Asteraceae. In this work, the leaf secretory structures of more than 500 species of 35 of the 40 tribes and 11 of the 13 subfamilies of Asteraceae are described and compared to evaluate their diversity at the tribe level and to identify evolutionary patterns. Leaf secretory structures are present in 28 of the 35 analyzed tribes and correspond to canals (recorded in 17 tribes), secretory cavities (1 tribe), hydathodes (19 tribes), laticifers (4 tribes) and glandular trichomes (24 tribes). Canals are mostly associated with vascular bundles and predominate in Asteroideae, while cavities were only present within Tageteae. Hydathodes occur in leaves without divisions and with well-developed teeth. Laticifers were observed only in the tribes of Cichorioideae. Seven glandular trichome morphotypes were differentiated by their cellular composition and shape. These observations together with the available information showed that secretory structures are found in 80% of the Asteraceae tribes. Four of the 40 tribes did not present any type of secretory structure. Our study reveals that almost all of the tribes possess one to three types of secretory structures, and are absent in some early-diverging clades. Character evolution analyses show that glandular trichomes are plesiomorphic in Asteraceae. This study found that secretory structures prevail in late-diverging lineages and were taxonomically informative at different levels. Our comparative study of the secretory structures in Asteraceae is essential for the standardization of its terminology and will provide a frame of reference for future studies.

**Keywords** Glandular trichomes · Canals · Secretory cavities · Laticifers · Hydathodes

---

Extended author information available on the last page of the article

## Introduction

In plants, secretions account for the isolation or elimination of all types of substances not stored for their remobilization or incorporation into other metabolic processes; these substances are generally products of secondary metabolism or substances not modified by the action of cell metabolism (Fahn 1979). These compounds can be retained in subcellular compartments or released from the cells without compromising their integrity (Fahn 1982; Beck 2010). Individual cells or multicellular structures that are responsible for carrying out secretory functions are called secretory structures, and their classification has represented a great challenge because of their physiological, anatomical or topographic (its location on the plant body) aspects (Fahn 1979; Mauseth 1988). However, the topographic criterion, e.g., internal or external secretory structures, seems to be the most widely used by many authors. The first corresponds to secretory cells (also named secretory idioblasts), cavities, canals, and laticifers, while the latter includes glandular trichomes, papillae, colleters, nectaries, hydathodes, and the stigmatic tissue of the gynoecium (Esau 1977; Dickison 2000; Evert 2006; Beck 2010). Secretory structures can be found in all plant organs, although their major diversity is concentrated in the leaves (Fahn 1979).

The study of secretory structures has focused on highly diverse angiosperm families, such as Apiaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Malvaceae, Rosaceae, Rutaceae, and Solanaceae, in which a large number of phytochemicals have been identified (Moerman et al. 1999; Evans 2009; Gras et al. 2021). These compounds are not only relevant from a pharmacological perspective but also very important in the field of chemical ecology. Because Asteraceae is the most diverse family within angiosperms and has a large number of medicinal species that have been the subject of numerous phytochemical studies (Pérez-Castorena et al. 2000, 2001; Arciniegas et al. 2011, 2018; Heinrich et al. 2012; Cilia-López et al. 2021), this family is an interesting case study for studying the diversity of secretory structures. Most of the published studies are focused on the general leaf anatomy or the epidermal appendages in some punctual genera of certain tribes of the Asteraceae, such as Anthemideae (Dere & Aytas Akcin 2017), Cardueae (Ozcan et al. 2015), Heliantheae (Bombo et al. 2012; Silva et al. 2015; Bezerra et al. 2018), Madieae (Carlquist 1958; Carlquist 1959a, b, c), Senecioneae (Rojas-Leal et al. 2017), Tageteae (García-Sánchez et al. 2012) and Vernonieae (Redonda-Martínez et al. 2012, 2016). Past works that investigated leaf anatomy and epidermal appendages were not focused on secretory structures; therefore, the descriptions are often vague or unspecific and use different terms to refer to similar structures.

Several studies have comprised and compared the different tribes of Asteraceae, including the work of Lersten & Curtis (1985), who analyzed the presence of hydathodes in 88 species of 80 genera in 10 tribes; and Castro et al. (1997), who analyzed the leaf secretory structures in 72 species of 21 genera in 6 tribes. In 2009, Robinson presented a revision of the most important microcharacters of the family, while in 2019, Liesenfeld et al. analyzed the leaf trichomes of 34 species of 24 genera in 11 tribes. However, if we consider that Asteraceae includes approximately 40 tribes in 13 subfamilies (Panero & Crozier 2016), a descriptive comparative study that analyzes most of the tribes within the family based on the most recent phylogenetic



hypothesis is essential. Comparative studies allow us to establish homology hypotheses (De Pinna 1991) and are fundamental for developing a reference scheme in highly diverse taxa, such as Asteraceae. In this work, the leaf secretory structures occurring in members of 35 of the 40 recognized tribes are compared and described. This sampling included 11 of the 13 subfamilies of Asteraceae. Our aim was to recognize the diversity along the family, identify which secretory structures are found in each tribe, determine the variations of each structure, and discern the evolutionary patterns of the main types of secretory structures in the family.

## Material and Methods

### Taxonomic Sample

A total of 542 species from 35 tribes and 11 subfamilies of Asteraceae were selected, representing 87.5% of the tribes and 84% of the subfamilies according to Panero & Crozier (2016; ESM 1). For each species, at least one individual was selected from field collections or specimens deposited in the National Herbarium of Mexico, Universidad Nacional Autónoma de México (MEXU) and in the University of Texas at Austin Herbarium (TEX). One to two leaves per individual were sampled. The selection criteria were fully developed leaves without apparent damage and leaves not associated with inflorescences.

### Microtechnique

The middle third of the leaf blade (including the intercostal area from the middle vein to the margin) of the fresh samples was fixed with FAA (37% formaldehyde, glacial acetic acid, 95% ethanol, and distilled water, Ruzin 1999). The samples obtained from the herbarium specimens were previously rehydrated in boiling water and subsequently treated with a 20% NaOH solution to restore both the shape and size of the cells. An entire leaf or part of it (depending on the size of the leaf) was removed from the herbarium specimens and processed using the leaf clearing technique (Martínez-Cabrera et al. 2007). All samples were dehydrated with ethanol (10–100%) in a Leica TP1020 automatic changer (Leica, Wetzlar, Germany), with the samples maintained at each concentration for 24 h. The tissues were infiltrated and embedded with Paraplast®, and 12–16 µm sections were made in the transverse and paradermal planes with a rotary microtome (Leica RM2125RT, Leica, Wetzlar, Germany). The sections were stained with safranin-fast green (Johansen 1940) and mounted with synthetic resin. Photographs of secretory structures were taken with an Evolution™ LC color digital camera coupled to an Olympus Bx51 microscope (Olympus, Tokyo, Japan). The terms used to describe secretory structures are based on Fahn (1979), Mauseth (1988), Castro et al. (1997), Evert (2006) and Funk et al. (2009). According to the microscopic observations and information from the literature, a synthesis of the types of secretory structures in each of the Asteraceae tribes was carried out.

## Phylogenetic Analyses

The chloroplast DNA matrix generated by Rivera et al. (2020), including eleven molecular markers (*atpB*, *matK*, *ndhD*, *ndhF*, *ndhI*, *rbcL*, *ndhJ*, *ndhK*, *ndhC*, *trnL-trnF*, *23 S-trnA*) was used. Because not all the species included in the original molecular matrix were analyzed in this study, taxa for which no anatomical information was available were eliminated. To represent the four tribes included in Cichorioideae, sequences of *matK*, *ndhF*, and *trnL-trnF* of *Sinclairia ismaelis* (Funk et al. 2012; JN837476.1, JN837373.1, JN837283.1) from GenBank (Sayers et al. 2020) were incorporated into the matrix. Thus, the reduced matrix with 171 species of most of the tribes of Asteraceae and its sister groups (members of Calyceraceae and Goodeiaceae) was aligned using the default parameters in MAFFT v.7 (Kato et al. 2002).

Phylogenetic analysis was carried out through Bayesian inference using MrBayes 3.2.7a (Ronquist & Huelsenbeck 2003). The nucleotide substitution model for the plastid dataset was selected using jModelTest2 (Darriba et al. 2012) with eleven substitution schemes, and the model fit was evaluated using the Akaike information criterion to select the best model. Analyses were performed using two runs with four Markov Monte Carlo chains of 10,000,000 generations, saving one tree every 1000 generations, starting with a random tree. The burn-in was set after the first 25% of the generations, and the remaining trees were summarized in a majority-rule consensus tree. Both model selection and phylogenetic inference were carried out at the CIPRES Science Gateway (Miller et al. 2010).

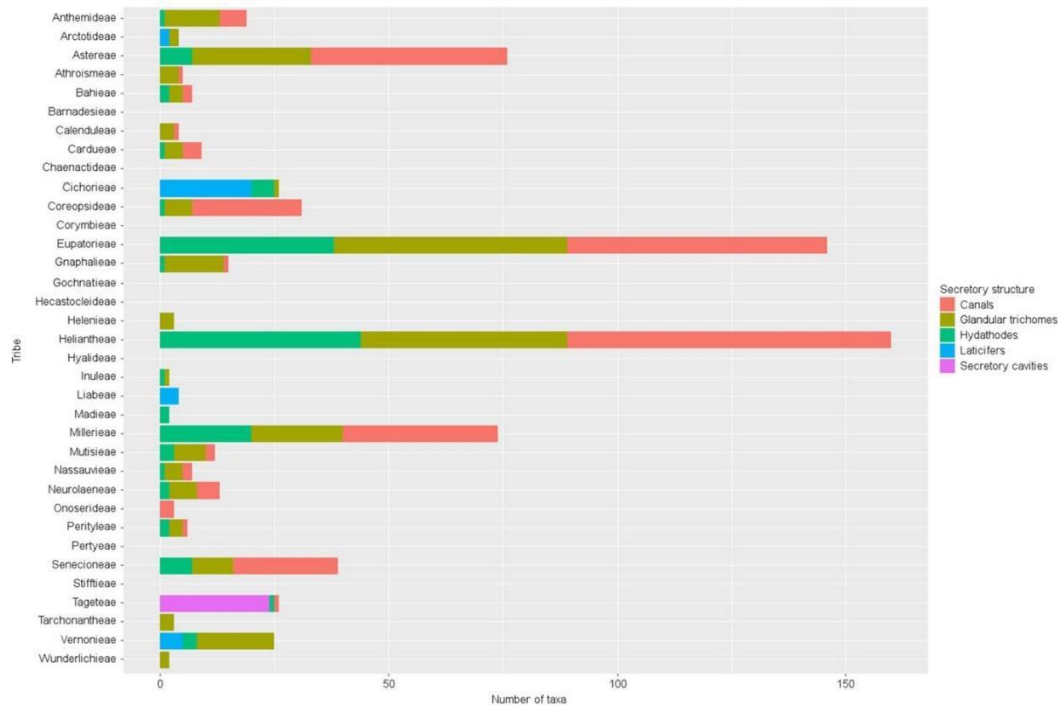
## Ancestral Character States Reconstruction and Character Evolution

A tree sample was compiled from the two t.files obtained from the MrBayes run using R v.4.0 (R Core Team 2020) through RStudio v.1.1.383 (RStudio Team 2020). First, trees from all runs were concatenated, with 10% of each of the trees in each file discarded. Then, 200 trees were randomly sampled from this concatenated tree file. An ancestral character state reconstruction analysis was performed in BayesTraits V3 (Meade & Pagel 2017) using the tree sample and the presence or absence of the five main types of secretory structures. The reversible-jump Markov chain Monte Carlo (rj-MCMC) approach was used to integrate the model uncertainty. Each rj-MCMC analysis was run with an exponential hyperprior (mean on a uniform interval from 0 to 10). The chain was run for 500,000 generations, and the first 10% were discarded as burn-in. The mean values of all the posterior probabilities found were illustrated as pie chart diagrams on the majority-rule consensus tree using the package Phytools v.0.7–47 (Revell 2012) of R v.4.0 (R Core Team 2020) through RStudio v.1.1.383 (RStudio Team 2020).

## Results

Secretory structures are present in 28 of the 35 analyzed tribes and correspond to canals, cavities, hydathodes, laticifers and glandular trichomes (Fig. 1). Although at least one type of secretory structure is present in most tribes, seven of the analyzed





**Fig. 1** Distribution of the main five types of secretory structures in the 35 tribes of Asteraceae analyzed

tribes do not present such structures: Barnadesieae, Chaenactideae, Corymbieae, Hecastocleideae, Hyalideae, Pertyeae and Stiffieae. It is important to emphasize that the simultaneous presence of glandular trichomes, hydathodes, and canals is common along the family and occurs in 11 tribes (Table 1; Fig. 1). Each of the secretory structures observed is described below.

## Canals

Canals consist of intercellular spaces that are highly variable in size. Seen in paradermal sections, canals usually form a long duct (Fig. 2a, b), although in some cases, they can be solitarily short intercellular spaces that can be developed very close to each other, thus giving them the appearance of a single structure, as occurs in many species of Coreopsideae and Eupatorieae and some taxa of Astereae and Heliantheae (Fig. 2c, d). In either case, canals are always circular in transverse sections and delimited by the parenchymatous unistratified sheath with slightly thickened primary walls. Toward the canal lumen, there is a unistratified secretory epithelium that consists of small cells with thinned walls and evident nuclei, sometimes with reddish contents. In most cases, canals are associated with vascular bundles located on the xylem (Fig. 2e), phloem (Fig. 2f) or both vascular tissues (Fig. 2g). Canals can also be located laterally to the vascular bundles (Fig. 2h), mainly in representatives of Astereae and Coreopsideae. In all cases, canals are separated from the vascular tissue by the vascular bundle sheath. In some taxa of Astereae, Eupatorieae, Mutisieae, and Senecioneae, the canals are not associated with the vascular bundles. In the midrib, one to several canals are observed either toward the adaxial (Fig. 2i) or abaxial sur-



**Table 1** Summary of the main types of secretory structures by tribe reported in the literature for the family Asteraceae. For each tribe the number of genera/species re-recognized sensu Funk et al. (2009) is given and in parentheses the number of genera/species studied in this work. C=Canals, SC=Secretory cavities, H=Hydathodes, L=Laticifers, GT=Glandular trichomes. +, present; -, absent. All complete references are listed in ESM 2

Subfamily	Tribe Genera/spp (genera/spp)	Secretory structures						Reference
		C	SC	H	L	GT		
Asteroideae	Anthemideae 111/1800(10/20)	+	-	+	-	+	Frey-Wyssling 1941; Vermer & Peterson 1979; Corsi & Nencioni 1995; Pagni 1995; Pagni & Masini 1999; Pagni et al. 2003; Hayat et al. 2009; Konowalik & Kreitschitz 2012; Özbek et al. 2014; Dere & Aytas Akcin 2017; this work	
	Astereae 222/3100(33/55)	+	-	+	-	+	Reinke 1875; Anderson & Creech 1975; Semple et al. 1980; Lersten & Curtis 1985, 1989; Castro et al. 1997; Budel et al. 2004; Molares et al. 2009; Hulley et al. 2010; Hadad et al. 2013; Budel et al. 2017; Souza et al. 2018; this work	
	Athroismeae 5/59(3/5)	+	-	-	-	+	This work	
	Bahieae 20/83(4/4)	+	-	+	-	+	Rivera et al. 2019; this work	
	Calenduleae 12/120(4/5)	+	-	+	-	+	Lersten & Curtis 1985; this work	
	<i>Callilepis</i> tribe	-	-	-	-	-	<b>Without information</b>	
	Chaenactideae 3/29(1/1)	-	-	-	-	+	This work	
	Coreopsideae 30/550(10/25)	+	-	+	-	+	Carlquist & Grant 1963; Castro et al. 1997; Peter & Katinas 2003; Adejji & Jewoola 2008; this work	
	Eupatorieae 182/2200(37/65)	+	-	+	-	+	Ramayya 1962; Grassioli et al. 1985; Lersten & Curtis 1985; Castro et al. 1997; Cornara et al. 2001; Monteiro et al. 2001; Budel et al. 2004; Milan et al. 2006; Freire et al. 2007; Adejji & Jewoola 2008; Molares et al. 2009; Delbón et al. 2012; Fernandes et al. 2016; Gutiérrez et al. 2016; Pereira Stühsner et al. 2017; Budel et al. 2017; Rossi et al. 2018; Liesenfeld et al. 2019; Ornellas et al. 2019; this work	

Table 1 (continued)

Subfamily	Tribe Genera/spp (genera/spp)	Secretary structures						Reference
		C	SC	H	L	L	GT	
	Gnaphalieae 185/1240(10/18)	+	-	+	-	-	+	Frey-Wyssling 1941; Liesenfeld et al. 2019; this work
	Helenieae 13/12(5/5)	-	-	+	-	-	+	De Bary 1884; Beintincinco et al. 2011; this work
	Heliantheae 113/1500(48/83)	+	-	+	-	-	+	Carlquist 1957; Meidner & Sheriff 1976; Anderson et al. 1979; Lersten & Curtis 1985; Castro et al. 1997; Peter & Katinas 2003; Aguilera et al. 2004; Delbón et al. 2007; Bombo et al. 2012; Degen de Arrúa et al. 2012; Delbón et al. 2012; Aschenbrenner et al. 2013; Oliveira et al. 2013; Souza da Silva et al. 2014; Silva et al. 2015; Filartiga et al. 2016; Ferraro & Scremin-Dias 2017; Bezerra et al. 2018; Liesenfeld et al. 2019; this work
	Inuleae 66/687(2/2)	-	-	+	-	-	+	Werker & Fahn 1981; Castro et al. 1997; Aytas Akcin & Akcin 2017; Ferraro & Scremin-Dias 2017; Liesenfeld et al. 2019; this work
	Madieae 36/200(5/5)	+	-	+	-	-	+	Carlquist 1957, 1958, 1959a, b; this work
	Millerieae 34/400(18/34)	+	-	+	-	-	+	Aguilera et al. 2004; Mercado et al. 2006; Adedeji & Jewoola 2008; Degen de Arrúa et al. 2012; Delbón et al. 2012; Vitali 2017; this work
	Neurolaeneae 5/150(4/7)	+	-	+	-	-	+	Farago et al. 2006; Liesenfeld et al. 2019; this work
	Perityleae 7/84(3/5)	+	-	+	-	-	+	This work
	Senecioneae 150/3000(14/28)	+	-	+	-	-	+	De Bary 1884; Frey-Wyssling 1941; Hare 1941; Bercu 2014; Jianu et al. 2013; Lapp et al. 2013; Muravnik et al. 2016; Nurhan et al. 2017; Rojas-Leal et al. 2017; Liesenfeld et al. 2019; this work

Table 1 (continued)

Subfamily	Tribe Genera/spp (genera/spp)	Secretory structures							Reference
		C	SC	H	L	L	GT		
	Tageteae 32/270(10/25)	-	+	+	-	-	+	Simon et al. 2002; Fonseca et al. 2006; Milan et al. 2006; García-Sánchez et al. 2012; Oliveira et al. 2015; Lusa et al. 2016; Ferraro & Scremin-Dias 2017; Lizarraga et al. 2017; Lusa et al. 2017; Páez et al. 2019; Younis et al. 2020; this work	
Barnadesioideae	Barnadesieae 9/91(5/8)	-	-	-	-	-	-	Urbey 1999; Padin et al. 2015; this work	
Carduoideae	Cardueae 73/2400(9/14)	+	-	+	-	-	+	Frey-Wyssling 1941; Lersten & Curtis 1985; Lotočka & Geszprych 2004; Ozcan et al. 2015; this work	
	Dicomae 7/97	-	-	-	-	-	-	<b>Without information</b>	
	Oldenburgieae 1/4	-	-	-	-	-	-	<b>Without information</b>	
	Tarhonantheae 2/13(2/3)	-	-	-	-	-	+	Herman 2002; this work	
Cichorioideae	Arctotideae 17/215(3/3)	-	-	+	+	+	+	Karis 2006; this work	
	Cichorieae 86/1500(20/20)	-	-	+	+	+	+	De Bary 1884; Stahl 1900; Curtis 1943; Frey-Wyssling 1941; Perrin 1971a, b, 1972; Banerjee & Deshpande 1973; Lersten & Curtis 1985; Pickard 2007; Hagel et al. 2008; Krak & Mráz 2008; Makbul et al. 2011; Chwil et al. 2015; Castelblanque et al. 2016; Makbul et al. 2016; Wang et al. 2018; this work	
	Liabeae 18/190(3/4)	-	-	-	-	-	+	Robinson 1978, 1983, 1990; Bremer 1994; Funk et al. 1996; Cabrera et al. 1999; Funk & Zermoglio 1999; Moran & Funk 2006, 2007; Soejima et al. 2008; Dillon et al. 2009; Funk et al. 2012; Gutiérrez & Luján Luna 2013; this work	

Table 1 (continued)

Subfamily	Tribe Genera/spp (genera/spp)	Secretory structures						Reference
		C	SC	H	L	GT		
	Vernonieae 120/1000(11/18)	-	-	+	+	+	Metcalfé 1967; Narayana 1979; Castro et al. 1997; Milan et al. 2006; Adedeji & Jewoola 2008; Favi et al. 2008; Redonda-Martinez et al. 2012; Oliveira et al. 2015; Lusa et al. 2015 2016, 2018; Liesenfeld et al. 2019; this work	
Corymbioideae	Corymbieae 1/9(1/2)	-	-	-	-	+	Weitz 1989; this work	
Famatinanthoideae	Famatinanthaeae 1/1	-	-	-	-	+	Freire et al. 2014	
Gochnatioideae	Gochnatieae 4/88(4/7)	-	-	+	-	+	Castro et al. 1997; Freire et al. 2002; Melo-de-Pinna 2004; Ros-satto & Kolb 2010; Youssef et al. 2013; this work	
Gymnarrhenoidaeae	Gymnarrheneae 1/1	-	-	-	-	-	<b>Without information</b>	
Hecastocleidoideae	Hecastocleideae 1/11/1	-	-	-	-	-	This work	
Mutisioideae	Mutisieae 14/200(19/24)	+	-	+	-	+	Castro et al. 1997; Melo de Pinna 2004; Liesenfeld et al. 2019; this work	
	Nassauvieae 25/300(12/22)	+	-	+	-	+	Katnas 1996; Castro et al. 1997; this work	
	Onoserideae 6/52(4/7)	+	-	-	-	-	This work	
Pertyoideae	Pertyeae 4/80(1/1)	-	-	-	-	+	Cai-Fei et al. 2020; this work	
Stiffioideae	Stiffieae 6/?(3/4)	-	-	-	-	-	Ruiz et al. 2016; this work	
Wunderlichioideae	Hyalideae 4/6(2/2)	-	-	-	-	-	Melo de Pinna & Menezes 2003; this work	

**Table 1** (continued)

Subfamily	Tribe Genera/spp (genera/spp)	Secretary structures						Reference
		C	SC	H	L	GT		
Wunderlichieae 4/36(4/6)		-	-	-	-	+	This work	



face (Fig. 2j) or surrounding the vascular bundles (Fig. 2k). In most taxa, canals do not preserve their contents; however, in some cases, they preserve yellow contents with a crystallized appearance (Fig. 2l). Such canals were present in 280 species and 17 of the analyzed tribes (Fig. 3).

### **Cavities**

Cavities are distinguished as large elliptical to rounded intercellular spaces in paradermal sections (Fig. 2m). They are always solitary and externally delimited by the cavity sheath, which includes several strata of nonsecretory cells with thickened walls that surround the secretory region and by more than one layer of epithelial cells surrounding the cavity lumen (Fig. 2n). Given their size, they are evident to the naked eye, and in almost all taxa, they partially conserve their contents. Cavities were only present in the species analyzed from the tribe Tageteae.

### **Hydathodes**

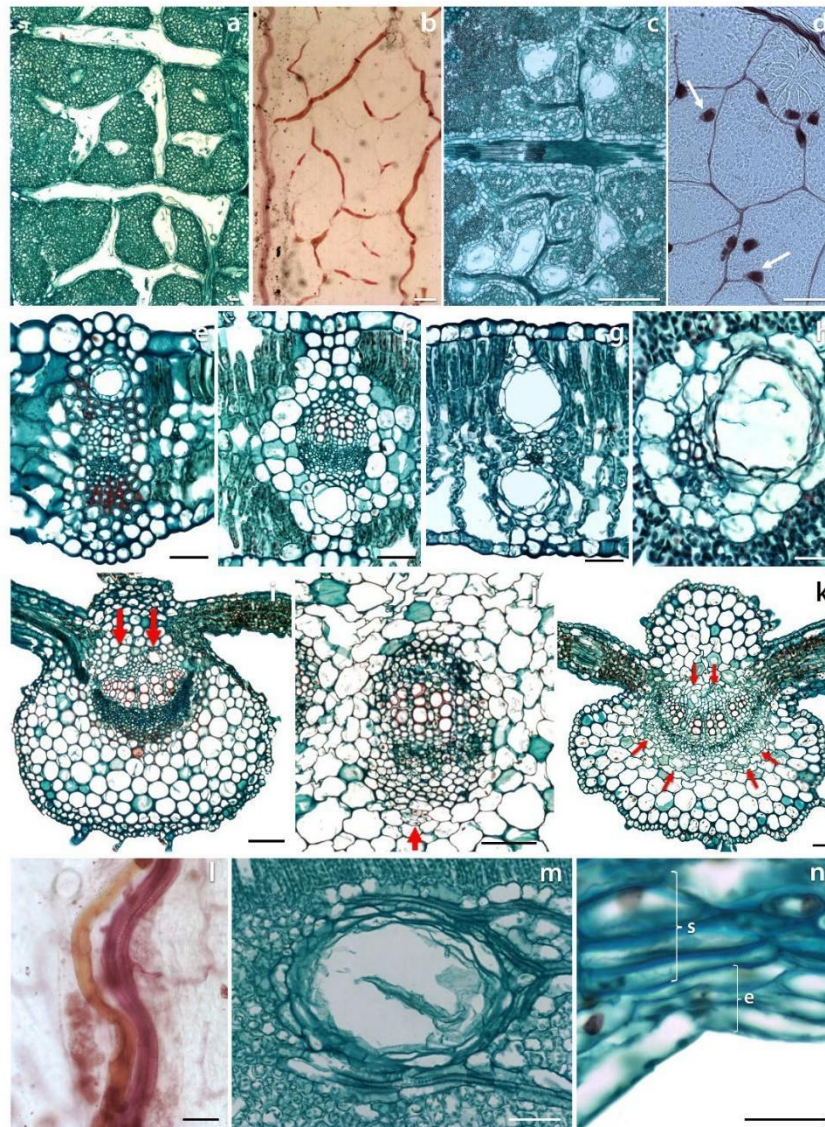
In the studied species, hydathodes are generally present in leaves with well-developed teeth; however, it is also possible to find hydathodes in leaf blades with entire margins or even in strongly divided leaf blades. In all cases, hydathodes are irrigated by a vein (primary, secondary or higher order) that divides into xylem strands upon reaching the tooth. The surrounding mesophyll of these strands differentiates into an epithem with large intercellular spaces (Fig. 4a, b). In the hydathode, one or more guttation pores are observed in the epidermis. They were found in 141 species and 19 tribes (Fig. 5).

### **Laticifers**

In paradermal sections, highly branched elongated cells are observed (Fig. 4c). Laticifers fuse with each other, forming articulated laticifers; however, they are not very evident because in most species, they lose their contents with histological processing. Some taxa partially retain grayish (Fig. 4d) or reddish (Fig. 4e) contents, both of granular consistency. In all the analyzed species, laticifers are associated with vascular bundles and are more visible toward the abaxial surface of the midrib, where they can be solitary or in groups (Fig. 4f). Laticifers were only observed in species of the tribes Arctotideae, Cichorieae, Liabeae, and Vernonieae.

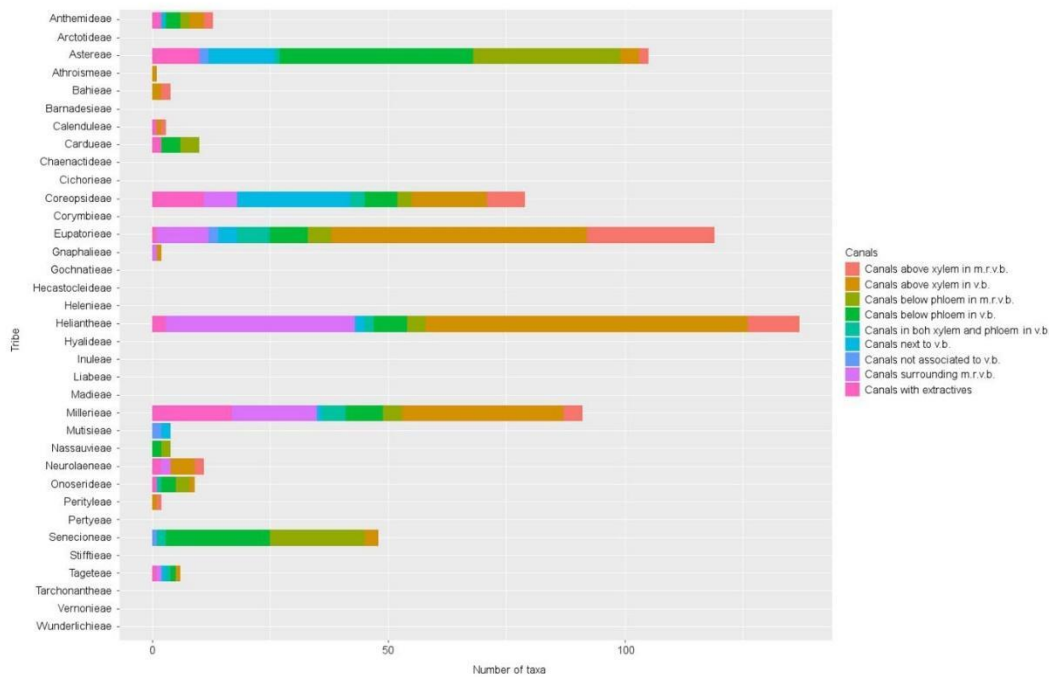
### **Glandular Trichomes**

Glandular trichomes in Asteraceae share the presence of thin cuticles and cell walls, large nuclei toward the apical cells of the trichome, and generally reddish cellular contents. Here, we recognize seven morphotypes: (1) vesicular, (2) stipitate, (3) pel-tate, (4) uniseriate, (5) globoid, (6) capitate, and (7) spatulate. Glandular trichomes can only be found on the abaxial surface (88 species) or on the adaxial surface of the leaf blade (3 species), although the predominant condition is on both surfaces (155 species). In all cases, glandular trichomes derive from epidermal cells and are mostly



**Fig. 2** Canals and cavities. **(a)** *Verbesina virgata*, canals, PS. **(b)** *Galinsoga parviflora*, canals, CL. **(c)** *Baccharis salicifolia*, canals, PS. **(d)** *Aldama dentata*, canals, CL. **(e)** *Lagascea rigida*, canal on xylem side of the vascular bundle, TS. **(f)** *Baccharis salicifolia*, canal on phloem side of the vascular bundle, TS. **(g)** *Verbesina virgata*, canals on both sides of the vascular tissue of the vascular bundle, TS. **(h)** *Cosmos parviflorus*, canal on lateral side of the vascular bundle, TS. **(i)** *Brickellia secundiflora*, canals on xylem side of the vascular bundle in the midrib, TS. **(j)** *Centaurea rothrockii*, canal on the phloem side of the vascular bundle of the midrib, TS. **(k)** *Ageratina pichichensis*, canals in both sides of the vascular tissue of the midrib, TS. **(l)** *Tridax rosea*, canal with contents, PS. **(m)** *Dyssoxia papposa*, secretory cavity, PS. **(n)** *Dyssoxia pinnata*, detail of the cavity sheath (s) and secretory epithelium (e), PS. In all cases, the red arrows indicate the position of the canals with respect to the vascular bundles. Scale bar is 50  $\mu\text{m}$  in **a**, **e–g**, **k–n**; 100  $\mu\text{m}$  in **b**, **d**, **i**, **j**; 300  $\mu\text{m}$  in **c**; 25  $\mu\text{m}$  in **h**. PS=paradermal section, TS=transverse section, CL=cleared leaf





**Fig. 3** Distribution of the canals in the 35 tribes of Asteraceae analyzed

multicellular at the base, body, and apex; however, the greatest variation is observed in the apical cells. Glandular trichomes occurred in 25 tribes and 247 of the analyzed species, representing 45.2% of the studied taxa (Fig. 6). Each of the morphotypes is described below.

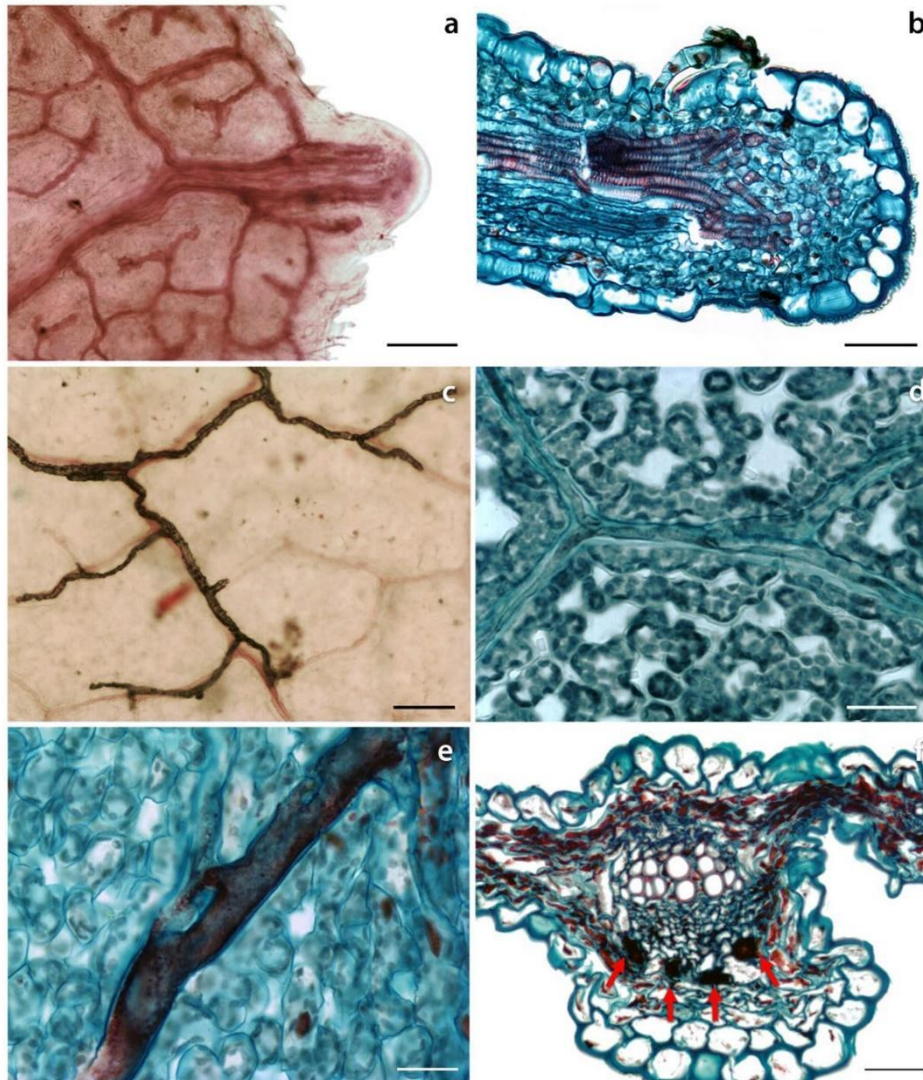
### Vesicular

In frontal view, the vesicular morphotype of glandular trichomes has both a base and short biseriate body (rarely triseriate) and the apex is bicellular (*Montanoa pteropoda*, Fig. 7a) and may or may not present an evident subcuticular space, as occurs in *Parthenium bipinnatifidum*. Vesicular glandular trichomes can sometimes be confused with uniseriate trichomes in lateral view because their position with respect to the section plane can change (Fig. 7b). Vesicular glandular trichomes can be found sunken in a depression of the epidermis or superficially. They were the predominant morphotype of glandular trichomes and occurs in 167 species and 20 of the studied tribes (Fig. 6).

### Stipitate

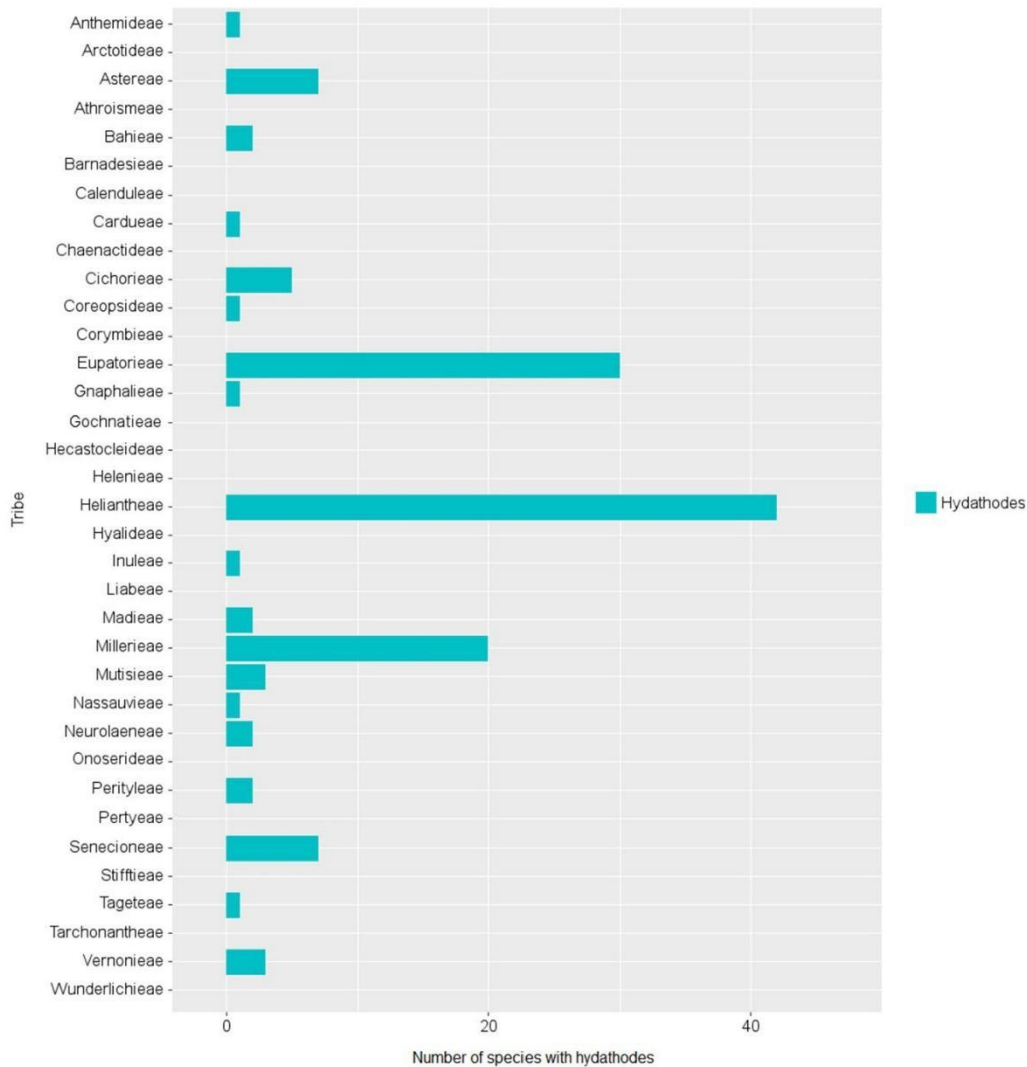
The stipitate morphotype of glandular trichomes has a multicellular foot, the body is generally elongated, uniseriate or biseriate, and the apex can be bicellular or multicellular. At least 4 subtypes of stipitate glandular trichomes are recognized, and they differentiated by the shape of the apex and division planes of apical cells. Subtype 1 is characterized by having a conical apex with divisions in multiple planes, as in *Ageratina adenophora* (Fig. 7c). Subtype 2 is characterized by a biseriate apex that





**Fig. 4** Hydathodes and laticifers. **(a)** *Stevia lucida*, hydathode, CL. **(b)** *Zaluzania augusta*, hydathode, TS. **(c)** *Pyrrhoppappus multicaulis*, laticifer, CL. **(d)** *Sonchus oleraceus*, laticifer with grayish contents, PS. **(e)** *Pyrrhoppappus multicaulis*, laticifer with reddish contents, PS. **(f)** *Pinaropappus roseus*, laticifers toward the abaxial surface of the midrib (red arrows), TS. Scale bar is 100  $\mu\text{m}$  in **a**, **c**; 50  $\mu\text{m}$  in **b**, **f**; 25  $\mu\text{m}$  in **d**, **e**. PS=paradermal section, TS=transverse section, CL=cleared leaf

becomes wider toward its most distal part, as in *Brickellia secundiflora* (Fig. 7d). Subtype 3 is characterized by a globose apex with divisions in multiple planes, as in *Piqueria pilosa* (Fig. 7e). Subtype 4 characterized by a bicellular apex, as observed in *Pseudognaphalium viscosum* (Fig. 7f). Stipitate glandular trichomes were observed in 15 species corresponding to 5 tribes (Fig. 6).

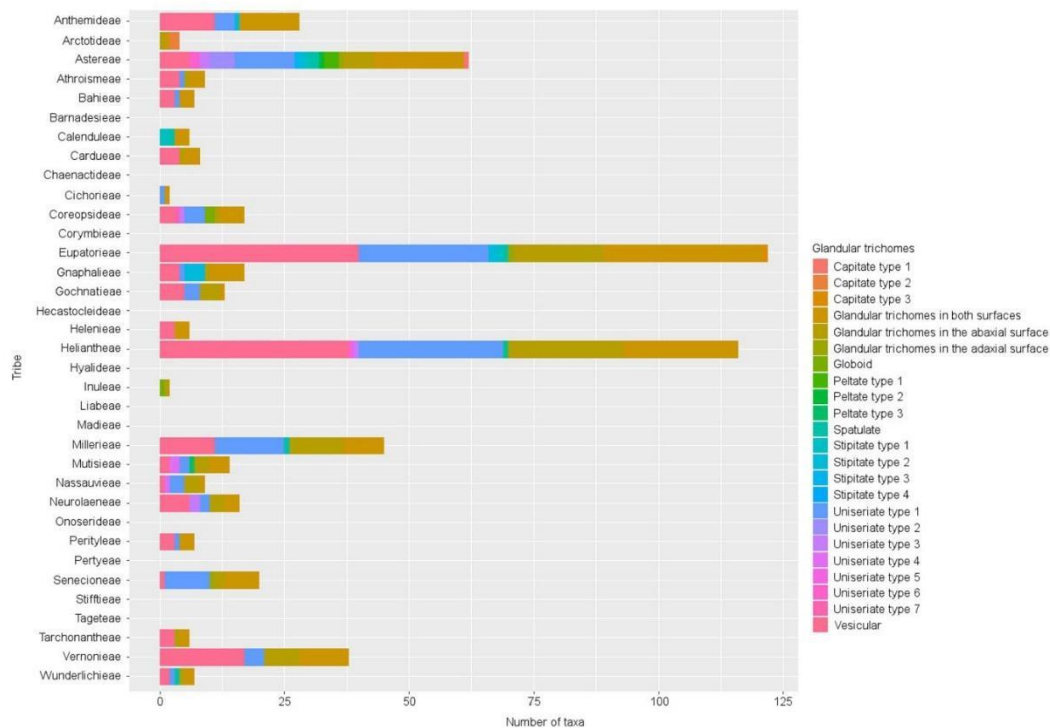


**Fig. 5** Distribution of the hydathodes in the 35 tribes of Asteraceae analyzed

## Peltate

The peltate morphotype of glandular trichomes are sunken in a depression of the epidermis; in surface view, they have a shield shape, while in the cross section of the leaf (longitudinal view of the trichome), they are obconic, and three different subtypes are recognized. Subtype 1 has a multicellular base and body, and the apex is not well differentiated from the body and lacks a particular cellular organization; in longitudinal sections, the terminal cells form a convex structure as observed in *Haplopappus deserticola*, *Hazardia berberidis*, and *Isocoma veneta*. (Fig. 7g, j). Subtype 2 is formed by a unicellular base and body and presents an apex that is well differentiated from the body with approximately 10 cells radially arranged, only found in *Erigeron longipes* (Fig. 7h, k). Subtype 3 is structurally similar to Subtype 1 but differs in the terminal cell form, which is flattened in longitudinal section, only in *Lophopappus tarapacanus* (Fig. 7i, l). Peltate glandular trichomes were only found in four species of Astereae and a single species of Mutisieae.

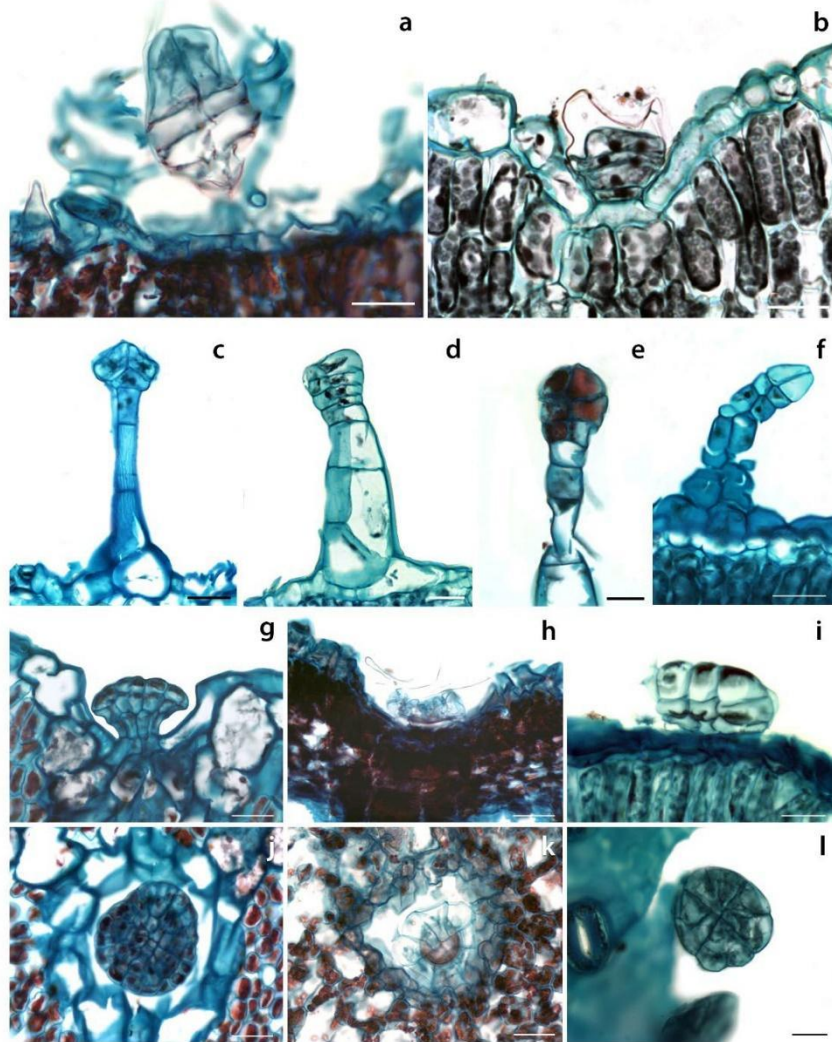




**Fig. 6** Distribution of the morphotypes of glandular trichomes and their position in the leaves of 35 tribes of Asteraceae

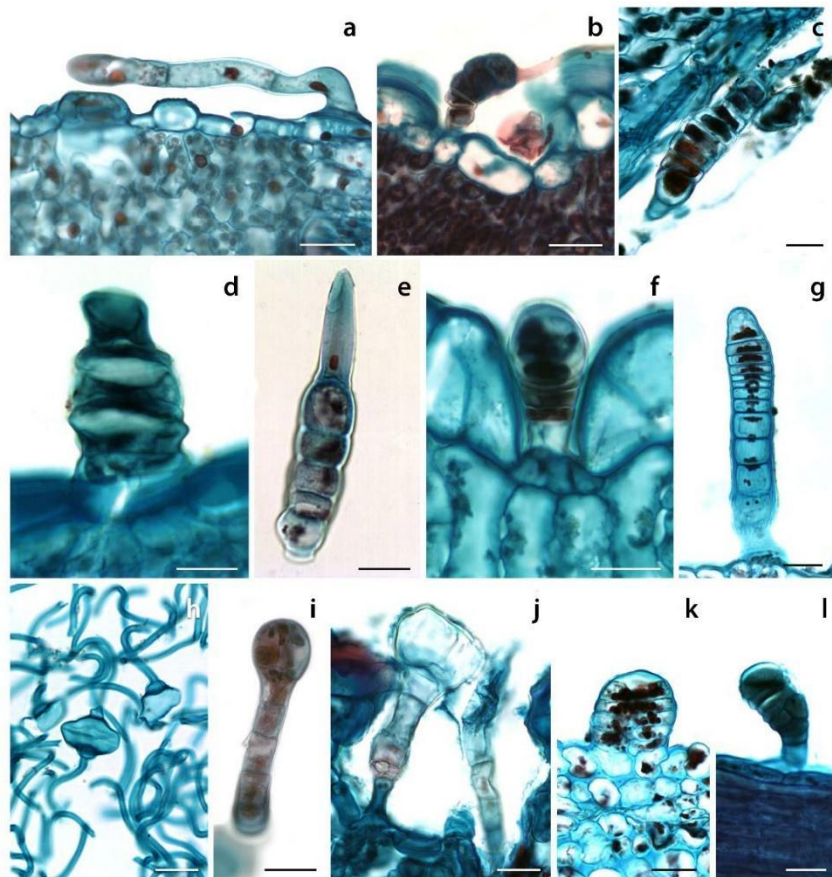
## Uniseriate

The uniseriate morphotype of glandular trichomes have a row of cells of variable number. Seven subtypes of uniseriate glandular trichomes were recognized according to the shape of the apical cell. In Subtype 1, the cells of the body are rectangular, equal in size, and the apical cell has the same shape as the rest of the trichome cells, but its distal region is rounded, as in *Chromolaena collina* (Fig. 8a). In Subtype 2, the cells of the body are more or less rounded and become larger toward the apex, ending with a flagelliform appendage derived from the cell wall, as in species of *Baccharis* and *Gutierrezia argyrocarpa* (Fig. 8b). In Subtype 3, the cells of the body are rectangular while the apical region was conical with acute distal region, as in *Chromolepis heterophylla* (Fig. 8c). In Subtype 4, the cells of the body are depressed while the apical cells were quadrangular and smaller in size, as exemplified in *Dolichlasium lagascae* (Fig. 8d). In Subtype 5, the cells of the body are rounded and have the same size while the apical cells are narrower, elongated, and sharp at its distal end, as in *Flourensia resinosa* (Fig. 8e). In Subtype 6, the cells are small and develop in an invagination of the epidermis, and they are clavate with depressed cells, except the apical cells, which are rounded, as in *Gundlachia corymbosa* (Fig. 8f). In Subtype 7, the cells are quadrangular at the base of the trichome and depressed toward the apex, and the apical cells are conical and rounded, as observed in *Cosmos bipinnatus* (Fig. 8g). Uniseriate trichomes were observed in 136 species and distributed in 15 tribes (Fig. 6).



**Fig. 7** Diversity of vesicular, stipitate and peltate glandular trichomes. **(a)** *Montanoa pteropoda*, vesicular glandular trichomes (frontal view), TS. **(b)** *Stevia tomentosa*, vesicular glandular trichomes (lateral view), TS. **(c)** *Ageratina adenophora*, stipitate trichome Subtype 1, TS. **(d)** *Brickellia secundiflora*, stipitate trichome Subtype 2, TS. **(e)** *Piqueria pilosa*, stipitate trichome Subtype 3, PS. **(f)** *Pseudognaphalium viscosum*, stipitate trichome Subtype 4, TS. **(g)** *Isocoma veneta*, peltate trichome Subtype 1, TS. **(h)** *Erigeron longipes*, peltate trichome Subtype 2, TS. **(i)** *Lophopappus tarapacanus*, peltate trichome Subtype 3, TS. **(j)** *Isocoma veneta*, peltate trichome Subtype 1, PS. **(k)** *Erigeron longipes*, peltate trichome Subtype 2, PS. **(l)** *Lophopappus tarapacanus*, peltate trichome Subtype 3, PS. Scale bar is 50  $\mu\text{m}$  in **a**; 25  $\mu\text{m}$  in **b, c, e–l**; 20  $\mu\text{m}$  in **d**. PS=paradermal section, TS=transverse section





**Fig. 8** Diversity of uniseriate, capitate, globoid, and spatulate glandular trichomes. (a) *Chromolaena collina*, uniseriate trichome Subtype 1, TS. (b) *Gutierrezia argyrocarpa*, uniseriate trichome Subtype 2, TS. (c) *Chromolepis heterophylla*, uniseriate trichome Subtype 3, PS. (d) *Dolichlasium lagascae*, uniseriate trichome Subtype 4, TS. (e) *Flourensia resinosa*, uniseriate trichome Subtype 5, PS. (f) *Gundlachia corymbosa*, uniseriate trichome Subtype 6, TS. (g) *Cosmos bipinnatus*, uniseriate trichome Subtype 7, TS. (h) *Arctotheca prostrata*, capitate trichome Subtype 1, PS. (i) *Heterothalamus alienus*, capitate trichome Subtype 2, PS. (j) *Campovassouria cruciata*, capitate trichome Subtype 3, TS. (k) *Cosmos bipinnatus*, globoid trichome, TS. (l) *Archibaccharis schiedeana*, spatulate trichome, PS. Scale bar is 25  $\mu\text{m}$  in a, b, e, f, h, i, l; 20  $\mu\text{m}$  in c, d, g, j, k

## Capitate

The capitate morphotype of glandular trichomes present a uniseriate body and spherical apex. Three subtypes of capitate trichomes are differentiated by body length and apex characters. Subtype 1 has a unicellular base and body and a unicellular or bicellular and spherical apex, as observed in *Heterothalamus alienus* (Astereae, Fig. 8 h). Subtype 2 has a unicellular base and a unicellular and elongated body that widens abruptly in the region near the spherical apical cell (Fig. 8i), as observed in *Arctotheca prostrata* (Arctotideae). Subtype 3 has a unicellular base, a uniseriate body, and a large (2 times larger than the rest) and bicellular apex, as observed in *Campovassouria cruciate* (Eupatorieae, Fig. 8j). Capitate trichomes were present in only three species of Arctotideae, Astereae and Eupatorieae (Fig. 6).

## Globoid

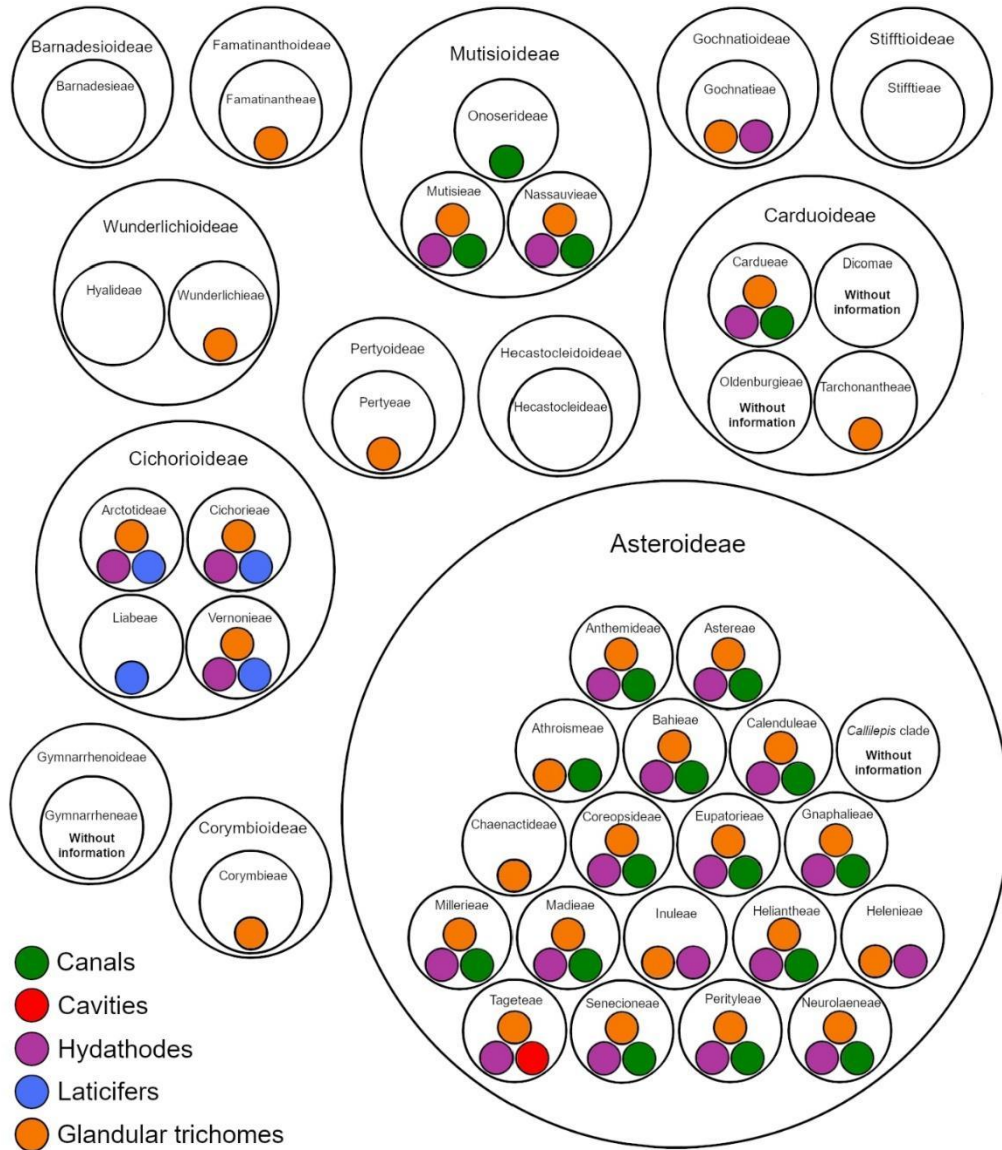
The globoid morphotype of glandular trichomes are constituted by a bicellular foot, bicellular body and an apical pyramidal cell; in some cases, they are bicellular (Fig. 8k). They occur in three species of Coreopsideae and Inuleae.

## Spatulate

The spatulate morphotype of glandular trichomes are distinguished by being thin at the base and widening toward the apex; they have depressed cells that can show multiple divisions, but the distal portion is always rounded, as in *Archibaccharis schiedeana* (Fig. 8l). They were present in six species of the tribes Astereae, Calenduleae, Eupatorieae, Millerieae and Wunderlichieae.

The synthesis of the secretory structures in Asteraceae based on our results and the information available in the literature is given in Table 1; Fig. 9. The integration of both sources of information reveals that almost all of the tribes possess one to three types of secretory structures, although these structures predominate in the subfamily Asteroideae and are absent in some early-diverging clades. Character evolution analyses for the main five secretory structures show that glandular trichomes are the plesiomorphic secretory structure in the family (Fig. 10) recorded in the early-diverging clades, and their presence is inferred in the basal nodes of the trees. Although glandular trichomes have originated in several lineages, their occurrence appears as an ancestral state with high probability in all reconstructed nodes. Canals and hydathodes appear in three different lineages within Asteraceae: Mutisioideae, Carduoideae (Cardueae) and Asteroideae, and they predominate in Asteroideae (the most recent and diverse subfamily). Compared with trichomes, the presence of canals or hydathodes is not a common ancestral state among the three lineages in any of the reconstructed nodes. Cavities and laticifers are revealed as apomorphies within Tageteae and Cichorioideae, respectively.

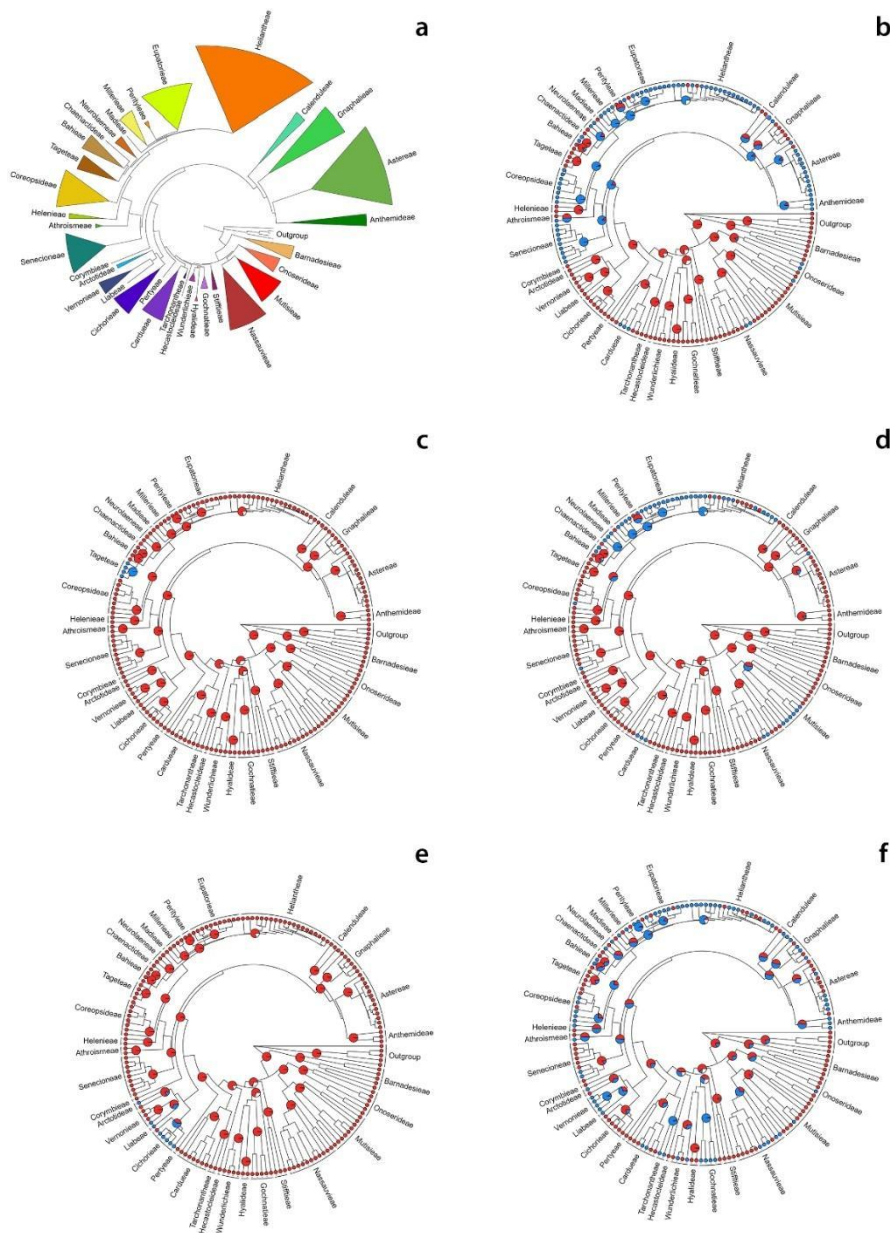




**Fig. 9** Graphic summary of the distribution of the five types of secretory structures, throughout Asteraceae, reported in this work and in previous studies

## Discussion

Asteraceae is the largest family among angiosperms, and it includes 23,113 to 23,600 species (Panero & Funk 2008, 2009; Villaseñor 2018). This diversity is reflected not only in its morphological variability but also in the anatomical complexity of its organs, particularly the leaves. In this study, five secretory structures occurring in the leaves were identified, which are informative at different taxonomic levels. Similarly, some tribes without secretory structures were recognized, which correspond mostly to early-diverging tribes. At the same time, some evolutionary patterns were recognized, and certain anatomical considerations of secretory structures were performed.



**Fig. 10** Character evolution. **(a)** Summarized majority-rule consensus tree at the tribe level. **(b)** Canals. **(c)** Cavities. **(d)** Hydathodes. **(e)** Laticifers. **(f)** Glandular trichomes. Annotations: red=absence, blue=presence

### Systematic Value of Leaf Secretory Structures in Asteraceae and Their Evolutionary Patterns

The observations made in 542 species of Asteraceae distributed in 35 of the 40 tribes currently recognized by Panero & Crozier (2016) along with data from the literature review (Table 1) revealed that secretory structures are present in 80% of the



tribes in Asteraceae. The representatives of these tribes have one to three types of secretory structures, with the greatest diversity of them in the tribes of the subfamily Asteroideae. Four of the 40 tribes did not show any type of secretory structures: Barnadesieae, Hecastocleideae, Hyalideae and Stifftieae. Information on the secretory structures was not available for the *Callilepis* clade (Panero & Crozier 2016) or the tribes Dicomae, Gymnarrheneae and Oldenburgieae; therefore, future studies should be focused on these taxa (Fig. 9).

The tribes of Asteraceae that did not present secretory structures belong to early-diverging subfamilies: Barnadesioideae, Hecastocleidoideae, Stifftioideae, and Wunderlichioideae (Rivera et al. 2020). An interesting aspect is that secondary metabolites of medicinal interest have been reported for some of their members, such as *Barnadesia*, *Hyalis* and *Stifftia* (Bohm & Stuessy 1995; Ybarra et al. 1997; Machado et al. 2012; Marques et al. 2012). Therefore, these compounds must be synthesized in secretory idioblasts in some regions of the mesophyll. These secretory cells could be evolutionarily important to the development of more specialized and complex structures.

Secretory structures are considered important mechanisms to avoid herbivory. However, this defensive activity in early-diverging Asteraceae lineages is oriented to the development of both mechanical and chemical barriers. For the former, there are thicker cuticles, a higher density of eglandular trichomes, and a higher proportion of sclerenchyma in their leaves (Terrazas et al. unpublished data). In this sense, the evolutionary pattern of secretory structures in Asteraceae indicates that the early-diverging lineages did not present secretory structures, whereas most of the members of the later-diverging tribes generate a high diversity of secretory structures (Fig. 10).

Glandular trichomes constitute the most diverse secretory structure in the family. These epidermal appendages (together with the hydathodes) occur in some members of some earliest-diverging clades, and they appeared and disappeared multiple times in the evolution of the tribes. However, their presence becomes more frequent toward the lately diverging lineages of the subfamily Asteroideae, which exhibit the maximum diversity. Although the morphotypes of glandular trichomes and their subtypes were not diagnostic of any of the tribes, they are an important character sources for recognizing species inside several groups (Krak & Mráz 2008; Hayat et al. 2009; Rojas-Leal et al. 2017; Vitali 2017); i.e., Subtypes 3 and 4 of stipitate trichomes are diagnostic of *Piqueria pilosa* and *Pseudognaphalium viscosum*, respectively. Trichomes are solitary in almost all the studied taxa except in the *Baccharis* species, which are grouped and generally found in a depression on the epidermis (Budel et al. 2004, 2018; Hadad et al. 2013). Compared with the rest of the morphotypes, stipitate trichomes show greater complexity, and they were previously reported for *Stevia* (Gutiérrez et al. 2016), many genera of the tribe Cichorieae such as *Stephanomeria*, *Prenanthes*, *Dubyaea*, and *Hieracium* (Krak & Mráz 2008), and *Vernonia gossypina* and *V. ramaswamii* (Narayana 1979). Even though reported trichomes did not correspond to any of the subtypes of stipitate trichomes described in this work, the seven main morphotypes proposed have characteristics that make them sufficiently robust to classify the trichomes reported as stipitate trichomes. Thus, even if another different subtype exists in other Asteraceae groups, it will be possible to group it in this category.



Canals were observed in 280 species of Asteraceae studied distributed in 17 tribes and predominated in the tribes of Asteroideae (Fig. 10). Their position with respect to vascular bundle tissues is considered to be taxonomically informative because it allows the identification of groups of species in some genera, as previously reported for *Aldama* (Bombo et al. 2012; Oliveira et al. 2013; Souza da Silva et al. 2014; Filartiga et al. 2016). In *Erigeron galeotti* and *E. janivultus* there are canals above the xylem of the vascular bundles of the leaf blade, whereas *E. karwinskianus*, *E. longipes* and *E. pubescens* have canals below the phloem of the vascular bundles. The presence of contents in the canal lumen could be important for recognizing supraspecific taxa, as observed in many species of Coreopsidae. Likewise glandular trichomes, canals are present in some of the early-diverging clades but prevail in the most diversified tribes in the family.

Hydathodes appeared in several species of different tribes and were prevalent in several tribes of Asteroideae, such as Eupatorieae, Heliantheae, and Senecioneae, although they also appeared in some early-diverging tribes, such as Mutisieae. The results of this study contributed to broadening the knowledge of the number of taxa with hydathodes for the family, now identified in 142 analyzed species distributed in 19 tribes. Lersten & Curtis (1985) mentioned the presence of hydathodes in eight of the tribes of the subfamily Asteroideae; therefore, this work expands the presence of hydathodes to twice the number of tribes, pointing out they are more common than previously considered. Hydathodes are almost never reported due to their structural simplicity, making them difficult to identify by routine anatomical analyses (because more than a single microtechnique is needed to describe them, e.g., leaf clearings); therefore, the margin of the leaf blade is not often described in detail and the presence of guttation under field conditions is rarely reported. Hydathodes are commonly present in taxa with leaves without divisions and toothed margins, but not in Cardueae, where they are absent because of the massive sclerification of the veins and the presence of a spine at the apex of the margin teeth, as occurs in *Cirsium* species. However, they are also present in several taxa with leaves whose leaf blades are strongly divided or whose leaves are not divided but have entire margins.

According to Loockerman et al. (2003), cavities correspond to a synapomorphy for the tribe Tageteae. However, these secretory structures were present only in the analyzed species of the subtribe Tagetineae, as reported in previous studies (Simon et al. 2002; Fonseca et al. 2006; Milan et al. 2006; García-Sánchez et al. 2012; Oliveira et al. 2015; Lusa et al. 2016; Ferraro & Scremin-Dias 2017; Lizárraga et al. 2017; Lusa et al. 2017; Páez et al. 2019; Younis et al. 2020); therefore, the cavities are taxonomically informative at the subtribe level.

Laticifers have only been mentioned in previous studies for the tribe Cichorieae (Fahn 1979, 1982; Evert 2006); however, the observations in this work confirm also their occurrence in Arctotideae, Liabeae and Vernonieae, as previously reported (Metcalf 1967; Lewinsohn 1991; Karis et al. 2006; Gutiérrez & Lujan Luna 2013). These tribes belong to the subfamily Cichorioideae; therefore, although laticifers are not informative in recognizing tribes, they are informative at the subfamily level. Laticifers are commonly found toward the abaxial surface of the leaves and especially evident at the midrib, as in *Scorzonera* (Cichorieae; Makbul et al. 2011, 2016). It is possible that laticifers develop differentially in the organs of certain taxa, i.e.,

Melo-de-Pinna & Menezes (2003) reported laticifers in the adventitious roots of eleven species of *Richterago* (Mutisieae) but not in their leaves. In this work, laticifers were not observed in the leaves of *R. amplexifolia* and *R. angustifolia*. Laticifers in Asteraceae must be further studied to determine their role in the systematics of the family, such as in other angiosperm families, e.g., Sapindaceae (Medina et al. 2021).

### Anatomical Considerations

In this work, five secretory structures in the vegetative leaves of the analyzed species of Asteraceae were reported: glandular trichomes, canals, cavities, hydathodes and laticifers. The number of types is greater than that of Fahn (1979), who identified four types without considering the cavities. However, it is less than that of Castro et al. (1997), who reported the presence of extrafloral nectaries and glandular appendages in addition to the secretory structures found in this work. Extrafloral nectaries and glandular appendages are only found in leaves associated with reproductive structures, such as inflorescences and involucre bracts, as Carlquist (1959a, b) and O'Dowd & Catchpole (1983) previously reported. A more exhaustive review of secretory structures can provide a new standardization of the terminology and expand the knowledge of the taxa in which these structures occur. The number of taxa with secretory structures reported in previous works, added to those here studied increased substantially their knowledge in the Asteraceae (Table 1; Fig. 10).

In taxonomic studies, trichomes viewed on the surface represents a widespread identification method; however, in this work, the transverse and paradermal sections as well as the cleared leaves allowed us to summarize the diversity of glandular trichomes in seven morphotypes according to the fine details of the cellular organization in its three regions (base, body, and apex). Performing only observations of trichomes at the surface view and their associated inferences could lead to misinterpretation by assigning the same name to glandular trichomes, which differ in their cellular conformation.

Vesicular glandular trichomes outstand as the most common morphotype in the family (present in 167 species) and have been previously reported for several genera of different tribes, such as *Aldama* (Bombo et al. 2012; Oliveira et al. 2013; Souza da Silva et al. 2014; Filartiga et al. 2016), *Dimerostemma* (Silva et al. 2015), *Flourensia* (Delbón et al. 2007, 2012), *Helianthus* (Aschenbrenner et al. 2013), *Richterago* (Melo-de-Pinna 2004), *Sigesbeckia* (Aguilera et al. 2004) and *Vernonia* (Narayana 1979; Redonda-Martínez et al. 2012; Oliveira et al. 2015; Lusa et al. 2016). However, this morphotype has frequently been described in different ways, and its variations lead to the consideration of more than one type of glandular trichome because the cells of the apex can collapse; similarly, the subcuticular storage space may or may not be visible. The position of the trichome with respect to the section plane also influences the way it is described since these structures may appear biseriate in frontal view or uniseriate in lateral view.

In general, uniseriate trichomes are thought to have no secretory function; nevertheless, uniseriate trichomes share characteristics with the rest of the morphotypes, particularly the presence of reddish contents in their cells; however, confirming whether a uniseriate trichome is glandular requires histochemical tests (Aschen-



brenner et al. 2013; Muravnik et al. 2016). These epidermal appendages are structurally very similar to each other, and the greatest variation is found in the shape of the apical cell, as previously reported (Robinson 2009; Rojas-Leal et al. 2017). In most cases, more than one type of trichome, e.g., eglandular or glandular, can be found in the leaves of Asteraceae (Redonda-Martínez et al. 2016; Liesenfeld et al. 2019). The most common pattern is Subtype I uniseriate glandular trichomes and vesicular glandular trichomes on the same leaf.

The presence of peltate glandular trichomes was reported by Favi et al. (2008) in *Vernonia galamensis* ssp. *galamensis*; according to our observations, the glandular trichomes reported by these authors actually correspond to vesicular trichomes. Peltate trichomes were only observed in the analyzed species of *Erigeron*, *Isocoma*, *Haplopappus*, and *Hazardia*, all of them members of the Astereae tribe, thus representing the first confirmed report for Asteraceae. This diversity suggests the need to perform additional anatomical studies in combination with other techniques oriented to surface observations, in order they provide an even clearer picture of the diversity of glandular trichomes in the family.

In many cases, determining what type of internal secretory structure gives rise to certain secretions can be complicated; in general, any whitish liquid is reported as latex; however, exudates can originate in laticifers, canals or cavities (Pickard 2007). In Asteraceae, the predominant inner secretory structures are canals, which have generally been described as elongated intercellular spaces that are delimited by epithelial cells; however, none of the definitions indicates their length (Mauseth 1988; Evert 2006; Beck 2010). Canals have great variability in length, from less than 100  $\mu\text{m}$  to more than 800  $\mu\text{m}$ . For example, in most taxa of Astereae, Coreopsideae, and Eupatorieae, there are short (< 100  $\mu\text{m}$ ) to very long (> 500  $\mu\text{m}$ ) canals in the same leaf, as in *Bidens odorata* and *Conyza bonariensis*. In some species of *Cosmos* and *Dahlia*, the short canals are more or less spherical to elliptical in paradermal sections and tend to develop very close to each other, giving the appearance of being a single structure, although they always remain independent, as previously reported for *Solidago canadensis* (Lersten & Curtis 1989). Regardless of the size, the canals in Asteraceae always show a unistratified canal sheath derived from the vascular bundle sheath, as well as epithelium made up of a single stratum of secretory cells, which is consistent with the most widely used descriptions of canals (Mauseth 1988; Evert 2006).

Although secretory cavities, such as canals, are also intercellular spaces delimited by epithelial cells, Fahn (1979) and Mauseth (1988) mentioned that this type of secretory structure is characterized by the presence of a multistratified secretory epithelium and sheath. Crang et al. (2018) highlighted other differences between canals and cavities are that the latter are generally larger, more or less spherical and isolated from each other, as occurs in Myrtaceae and Rutaceae. Structural similarities between canals and secretory cavities could lead to misinterpretation, although the characteristics of the sheath wall and secretory epithelium are consistent across taxa. For this reason, it is recommended to take them into account when making observations; in the same way, it is advisable to section the leaves in the paradermal plane in addition to the transverse plane and perform observations in cleared leaves if possible.

Laticifers in Asteraceae have been underexamined, being those of *Taraxacum* (Cichorieae; Castelblanque et al. 2016) the most studied. This is mainly because their

structural characteristics do not allow them to be easily identified, as occurs in other families of angiosperms, such as Apocynaceae or Euphorbiaceae (Hagel et al. 2008). In Asteraceae, they are generally inconspicuous because they rarely retain their cellular contents. When the latex is preserved, it can be grayish with a granular appearance, as in *Sonchus oleraceus* (Cichorieae), while in other cases, it is reddish with an oily appearance, as in *Dillandia subumbellata* (Liabeae). Such traits could provide clues about the chemical composition of the latex they produce, as has been reported in other plant families with laticifers (Bauer et al. 2014).

Rios et al. (2020) mentioned that the extrafloral nectaries and hydathodes found on leaf teeth in eudicots can be very similar in appearance. However, they emphasize that the main differences between both types of secretory structures are the presence of an epithem (absent in the extrafloral nectaries) and the vascular bundles that irrigate the leaf teeth in their terminal portion, which are formed only by xylem strands in the case of hydathodes, while in the case of nectaries, the vascular strands are formed by xylem and phloem. In the analyzed Asteraceae species, the characteristics observed in the secretory structures found in the leaf teeth were consistent with those reported by Rios et al. (2020); therefore, it was confirmed that they correspond to hydathodes, while extrafloral nectaries do not exist in the family.

Idioblasts are individual cells with secretory activity (Fahn 1979; 1982; 1988; 2000), which is why many authors consider them a category within secretory structures; however, there are several attributes that together indicate their considerable differences. First is the fact that secretory idioblasts are unicellular, whereas the rest of the categories of secretory structures are multicellular and structurally complex. These secretory cells do not have a particular morphology distinguishing them from other adjacent cells (with the exception of size in some cases), which makes their identification difficult, and specific histological techniques, such as histochemical tests, are necessary for their recognition (Fahn 1979). Another important characteristic of idioblasts is its capacity of containing a great variety of compounds of different chemical nature (e.g., tannins, starch, oils, or compounds derived from calcium; Esau 1977; Crang et al. 2018). Their secretory activity in some cases can be affected by environmental conditions (Steyn et al. 2002; Solovchenko 2010) and can originate from any parenchymatic tissue, such as the epidermis or mesophyll (Beck 2010). For these reasons, we recommend using the term “secretory systems” (Mauseth 1988) to refer to any cell or groups of cells that have secretory activity (endogenous or exogenous). Under this terminology, we treat secretory idioblasts and secretory structures as two different types of secretory systems. Secretory idioblasts have been observed in many Asteraceae taxa, and these structures should be analyzed in detail in future publications.

## Conclusions

Asteraceae shows great morphological variability that is reflected in its anatomical diversity, particularly in its secretory structures. In this work, we found secretory structures in most tribes in the family but predominated in the late-diverging lineages, whereas they were absent or scarce in the early-diverging lineages. Secretory



structures allow for the recognition of taxa at different levels, and a comparative study of secretory structures in Asteraceae is essential for standardizing its terminology and thus providing a framework for future studies. The detailed descriptions presented in this work will allow us to test hypotheses through phylogenetic comparative methods and determine the evolutionary role of secretory structures in Asteraceae diversification.

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s12229-022-09276-4>.

**Acknowledgements** This paper is part of Daniel M. Martínez-Quezada's (DMMQ) dissertation and is presented as a partial requirement for the Ph.D. degree from the Postgraduate Program in Biological Sciences at the National Autonomous University of Mexico. This work was supported by the National Autonomous University of Mexico - Support Program for Research and Technological Innovation Projects (PAPIIT IN213916, IN209519) to JLV, as well as by the National Council of Science and Technology (CONACyT) for the scholarship granted to DMMQ for his graduate studies (736,800). Comments on the manuscript by Dr. Rosario Redonda-Martínez are appreciated. To Dr. José Luis Panero for facilitating the consultation and allowing us to remove samples of material deposited at the herbarium of the University of Texas at Austin. To George Yatskiyevych and Amalia Díaz for their assistance during sampling of herbarium specimens at TEX, as well as Julio César Montero-Rojas for artwork. We appreciate the comments of two anonymous reviewers that allowed us to improve the manuscript.

## Declarations

**Conflict of Interest** The authors declare that have no competing interests.

## References

- Aguilera, D. B., Meira, R. M. S. A., & Ferreira, F. A. (2004). Anatomia e histoquímica dos órgãos vegetativos de *Siegesbeckia orientalis* (Asteraceae). *Planta Daninha* 22: 483–489. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582004000400001>
- Arciniegas, A., Pérez-Castorena, A. L., Meléndez-Aguirre, M., Guillermo Ávila, J., García-Bores, A. M., Villaseñor, J. L., Romo de Vivar, A. (2018). Chemical composition and antimicrobial activity of *Ageratina deltoidea*. *Chemistry and Biodiversity* 15(3): e1700529. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700529>
- Arciniegas, A., Polindara, L. A., Pérez-Castorena, A. L., García, A. M., Ávila, G., Villaseñor, J. L., & Romo de Vivar, A. (2011). Chemical composition and biological activity of *Laennecia schiedeana*. *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences* 66(3–4): 115–22. <https://doi.org/10.1515/znc-2011-3-404>.
- Aschenbrenner, A. K., Horakh, S., & Spring, O. (2013). Linear glandular trichomes of *Helianthus* (Asteraceae): morphology, localization, metabolite activity and occurrence. *AoB PLANTS* 5: 1–9. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plt028>
- Bauer, G., Gorb, S. N., Klein, M. C., Nellesen, A., von Tapavicza, M., & Speck, T. (2014). Comparative study on plant latex particles and latex coagulation in *Ficus benjamina*, *Campanula glomerata* and three *Euphorbia* species. *PLoS ONE* 9(11): e113336. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113336>
- Beck, C. B. 2010. *An introduction to plant structure and development. Plant anatomy for the twenty-first century*. Cambridge University Press.
- Bezerra, L. D. A., Mangabeira, P. A. O., de Oliveira, R. A., Costa, L. C. D. B., & Da Cunha, M. (2018). Leaf blade structure of *Verbesina macrophylla* (Cass.) F. S. Blake (Asteraceae): ontogeny, duct secretion mechanism and essential oil composition. *Plant Biology (Stuttg)* 20: 433–443. <https://doi.org/10.1111/plb.12700>
- Bohm, B. A., & Stuessy, T. F. (1995). Flavonoid chemistry of Barnadesioideae (Asteraceae). *Systematic Botany* 20(1): 22–27. <https://doi.org/10.2307/2419629>

- Bombo, A. B., Santos De Oliveira, T., Da Silva Santos De Oliveira, A., Garcia Rehder, V. L., Galvão Magenta, M. A., & Appezzato-Da-Glória, B. (2012). Anatomy and essential oils from aerial organs in three species of *Aldama* (Asteraceae-Heliantheae) that have a difficult delimitation. *Australian Journal of Botany* 60: 632–642. <https://doi.org/10.1071/BT12160>
- Budel, J. M., Duarte, M. R., Santos, C. A. M., & Farago, P. V. (2004). Morfoanatomia foliar e caulinar de *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 23: 477–483.
- Budel, J. M., Raman, V., Monteiro, L. M., Almeida, V. P., Bobek, V. B., Heiden, G., Takeda, I. J. M., & Khan, I. A. (2018). Foliar anatomy and microscopy of six Brazilian species of *Baccharis* (Asteraceae). *Microscopy Research and Technique* 81(8): 832–842. <https://doi.org/10.1002/jemt.23045>
- Carlquist, S. (1958). Structure and ontogeny of glandular trichomes of Madinae (Compositae). *American Journal of Botany* 45(2): 675–682. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1958.tb12221.x>
- Carlquist, S. (1959a). The leaf of *Calycadenia* and its glandular appendages. *American Journal of Botany* 46(2): 70–80. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1959.tb06985.x>
- Carlquist, S. (1959b). Glandular structures of *Holocarpha* and their ontogeny. *American Journal of Botany* 46(4): 300–308. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1959.tb07016.x>
- Carlquist, S. (1959c). Studies on Madinae: anatomy, cytology and evolutionary relationships. *Aliso* 4: 171–236.
- Castelblanque, L., Balaguer, B., Martí, C., Rodríguez, J. J., Orozco, M., & Vera, P. (2016). Novel insights into the organization of laticifer cells: A cell comprising a unified whole system. *Plant Physiology* 172: 1032–1044. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00954>
- Castro, M. M., Leitão-Filho, H. F., & Rossi Monteiro, W. (1997). Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 20: 163–174. <https://doi.org/10.1590/S0100-84041997000200007>
- Cilia-López, V. G., Cariño-Cortés, R., & Zurita-Salinas, L. R. (2021). Ethnopharmacology of the Asteraceae family in Mexico. *Botanical Sciences* 99(3): 455–486. <https://doi.org/10.17129/botsci.2715>
- Crang, R., Lyons-Sobaski, S., & Wise, R. (2018). *Plant anatomy: A concept-based approach to the structure of seed plants*. Springer International Publishing AG.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, David. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8): 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- De Pinna, M. C. C. (1991). Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics* 7(4): 367–394. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.1991.tb00045.x>
- Delbón, N., Cosa, M., & Dottori, N. (2007). Anatomía de órganos vegetativos en *Flourensia campestris* y *F. oolepis* (Asteraceae), con especial referencia a las estructuras secretoras. *Arnaldoa* 14: 61–70. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000100002>
- Delbón, N., Cosa, M., & Bernardello, G. (2012). Exomorfología y anatomía de órganos vegetativos aéreos en especies de *Flourensia* DC. (Asteraceae) con importancia fitoquímica. *Acta Botanica Brasilica* 26: 2–10. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000100002>
- Dere, S. & Aytas Akcin, T. (2017). Anatomical and micromorphological properties of some *Tanacetum* L. (Asteraceae) taxa from Turkey and their systematic implications. *Acta Botanica Croatica* 76: 1–15. <https://doi.org/10.1515/botcro-2017-0005>
- Dickison, W. C. (2000). *Integrative plant anatomy*. Academic Press.
- Esau, K. (1977). *Anatomy of seed plants*. John Wiley & Sons.
- Evans, W. C. (2009). *Trease and Evans pharmacognosy*. Saunders/Elsevier.
- Evert, R. F. (2006). *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body. Their structure, function and development*. John Wiley & Sons.
- Fahn, A. (1979). *Secretory tissues in plants*. Academic Press Inc.
- Fahn, A. (1982). *Plant anatomy*. Pergamon Press.
- Fahn, A. (1988). Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* 108: 229–257. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1988.tb04159.x>
- Fahn, A. (2000). Structure and function of secretory cells. *Advances in Botanical Research* 31: 37–75. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(00\)31006-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(00)31006-0)
- Favi, F., Cantrell, C. L., Mebrahtu, T., & Kraemer, M. E. (2008). Leaf peltate glandular trichomes of *Vernonia galamensis* ssp. *galamensis* var. *aethiopica* Gilbert: development, ultrastructure, and chemical composition. *International Journal of Plant Sciences* 169: 605–614. <https://doi.org/10.1086/533598>
- Ferraro, A., & Scremin-Dias, E. (2017). Structural features of species of Asteraceae that arouse discussions about adaptation to seasonally dry environments of the Neotropics. *Acta Botanica Brasilica* 32(1): 113–127. <https://doi.org/10.1590/0102-33062017abb0246>



- Filartiga, A. L., Bombo, A. B., Garcia, V. L., & Appezzato-da-Glória, B. (2016). Leaf and stem anatomy and essential oil composition of four Brazilian *Aldama* species (Asteraceae) and their taxonomic significance. *Brazilian Journal of Botany* 40: 503–516. <https://doi.org/10.1007/s40415-016-0350-3>
- Fonseca, M. C. M., Meira, R. M. S. A., & Casali, V. W. D. (2006). Anatomia dos órgãos vegetativos e histolocalização de compostos fenólicos e lipídicos em *Porophyllum ruderale* (Asteraceae). *Planta Daninha* 24(4): 707–713. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582006000400011>
- Funk, V. A., Susanna, A., Stuessy, T. F., & Bayer, Y. R. J. (2009). *Systematics, evolution and biogeography of the Compositae*. International Association for Plant Taxonomy (IAPT).
- Funk, V. A., Kelloff, C., & Chan, R. (2012). Phylogeny and biogeography of the tribe Liabeae (Compositae subfamily Cichorioideae). *Taxon* 61(2): 437–455. <https://doi.org/10.1002/tax.612013>
- García-Sánchez, F., López-Villafranco, M. E., Aguilar-Rodríguez, S., & Aguilar-Contreras, A. (2012). Etnobotánica y morfo-anatomía comparada de tres especies de *Tagetes* que se utilizan en Nicolás Romero, Estado de México. *Botanical Sciences* 90: 221–232. <https://doi.org/10.17129/botsci.388>
- Gras, A., Hidalgo, O., D'Ambrosio, U., Parada, M., Garnatje, T., & Vallès, J. (2021). The role of botanical families in medicinal ethnobotany: a phylogenetic perspective. *Plants* 10(1): 1–17. <https://doi.org/10.3390/plants10010163>
- Gutiérrez, D. G., & Luján Luna, M. (2013). A comparative study of latex-producing tissues in genera of Liabeae (Asteraceae). *Flora* 208: 33–44. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2012.11.001>
- Gutiérrez, D. G., Muñoz-Schick, M., Grossi, M. A., Rodríguez Cravero, J. F., Morales, V., & Moreira-Muñoz, A. (2016). The genus *Stevia* (Eupatorieae, Asteraceae) in Chile: a taxonomical and morphological analysis. *Phytotaxa* 282(1): 1–18. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.282.1.1>
- Hadad, M., Gattuso, S., Gattuso, M., Feresin, G., & Tapia, A. (2013). Anatomical studies of *Baccharis grisebachii* Hieron. (Asteraceae). Used in folk medicine of San Juan province, Argentina. *Dominiguezia* 29: 41–47.
- Hagel, J. M., Yeung, E. C., & Facchini, P. J. (2008). Got milk? The secret life of laticifers. *Trends in Plant Science* 13: 631–639. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.09.005>
- Hayat, M. Q., Ashraf, M., Khan, M. A., Yasmin, G., Shaheen, N., & Jabeen, S. (2009). Diversity of foliar trichomes and their systematic implications in the genus *Artemisia* (Asteraceae). *International Journal of Agriculture and Biology* 11(5): 542–546.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M. (2012). *Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy*. Elsevier.
- Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw-Hill.
- Karis, P. O. (2006). Morphological data indicates two major clades of the subtribe Gorteriinae (Asteraceae-Arctotideae). *Cladistics* 22: 199–221. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2006.00109.x>
- Katoh, K., Misawa K., Kuma K., & Miyata, T. (2002). MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research* 30(14): 3059–3066. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>
- Krak, K., & Mráz, P. (2008). Trichomes in the tribe Lactuceae (Asteraceae) - taxonomic implications. *Biologia* 63: 616–630. <https://doi.org/10.2478/s11756-008-0106-z>
- Lersten, N. R., & Curtis, J. D. (1985). Distribution and anatomy of hydathodes in Asteraceae. *Botanical Gazette* 146(1): 106–114. <https://doi.org/10.1086/337504>
- Lersten, N. R., & Curtis, J. D. (1989). Foliar oil reservoir anatomy and distribution in *Solidago canadensis* (Asteraceae, tribe Astereae). *Nordic Journal of Botany* 9(3): 281–287. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1989.tb01003.x>
- Lewinsohn, T. M. (1991). The geographical distribution of plant latex. *Chemoecology* 2: 64–68. <https://doi.org/10.1007/BF01240668>
- Liesenfeld, V., Gentz, P., de Freitas, E. M., & Martins, S. (2019). Morphological diversity of foliar trichomes in Asteraceae from Sandfields of the Pampa biome, Rio Grande do Sul State, Brazil. *Hoehnea* 46(3): e752018. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-75/2018>
- Lizárraga, E., Mercado, M. I., Gálvez, C., Ruiz, A. I., Ponessa, G. I., & Catalán, C. A. N. (2017). Morpho-anatomical characterization and essential oils of *Tagetes terniflora* and *Tagetes minuta* (Asteraceae) growing in Tucumán (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 52(1): 55–68.
- Loockerman, D. J., Turner, B. L., & Jansen, R. K. (2003). Phylogenetic relationships within the Tageteae (Asteraceae) based on nuclear ribosomal ITS and chloroplast *ndhF* gene sequences. *Systematic Botany* 28(1): 191–207. <https://doi.org/10.1043/0363-6445-28.1.191>
- Lusa, M. G., Da Costa, F. B., & Appezzato-da-Glória, B. (2016). Histolocalization of chemotaxonomic markers in Brazilian Vernoniaceae (Asteraceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 182(3): 581–593. <https://doi.org/10.1111/boj.12481>



- Lusa, M. G., Loeuille, B. F. P., Ciccarelli, D., & Appezzato-da-Glória, B. (2017). Evolution of stem and leaf structural diversity: a case study in Lychnophorinae (Asteraceae). *The Botanical Review* 84: 203–241. <https://doi.org/10.1007/s12229-017-9191-4>
- Machado, R. R. P., Marques, A. M., Valente Júnior, W., Coimbra, E. S., Duarte, R. S., Soares, G. L. G., & Kaplan, M. A. C. (2012). Evaluation of in vitro antileishmanial and antimycobacterial activities of *Stiffia chrysantha* J.C. Mikan extracts. *Revista Fitos* 7(4): 252–258.
- Makbul, S., Coskuncelebi, K., Türkmen, Z., & Beyazoglu, O. (2011). Comparison of foliar anatomy of *Scorzonera* L. (Asteraceae) taxa from North East Anatolia. *Pakistan Journal of Botany* 43(1): 135–155.
- Makbul, S., Coskuncelebi, K., Okur, S., & Gültepe, M. (2016). Contribution to the taxonomy of Turkish *Scorzonera* (Asteraceae) taxa based on vegetative anatomy. *Nordic Journal of Botany* 34(6): 670–684. <https://doi.org/10.1111/njb.01159>
- Marques, A. M., Lima, M. C., Araújo Filho, H. C., Esteves, R. L., & Kaplan, M. A. C. (2012). Evaluation of the volatile components and the seasonal variation of the methyl salicylate from *Stiffia chrysantha* Mikan by HS-SPME/GC-MS. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 11(5): 413–419.
- Martínez-Cabrera, D., Terrazas, T., & Ochoterena, H. (2007). Leaf architecture of Hamelieae (Rubiaceae). *Feddes Repertorium* 118(7): 286–310. <https://doi.org/10.1002/fedr.200711140>
- Mauseth, J. D. (1988). *Plant anatomy*. Benjamin/Cummings Publishing Company.
- Meade, A., & Pagel, M. (2017). BayesTraits v.3.0 (Reading Evolutionary Biology Group).
- Medina, M. C., Sousa-Baena, M. S., Prado, E., Acevedo-Rodríguez, P., Dias, P., & Demarco, D. (2021). Laticifers in Sapindaceae: structure, evolution and phylogenetic importance. *Frontiers in Plant Science* 11: e612985. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.612985>
- Melo-de-Pinna, G. F. A. (2004). Anatomia foliar de *Richterago* Kuntze (Mutisieae, Asteraceae). *Acta Botanica Brasilica* 18(3): 591–600. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062004000300017>
- Melo-de-Pinna, G. F. A. & Menezes, N. L. (2003). Meristematic endodermis and secretory structures in adventitious roots of *Richterago* Kuntze (Mutisieae-Asteraceae). *Brazilian Journal of Botany* 26(1): 1–10. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042003000100002>
- Metcalf, C. R. (1967). Distribution of latex in the plant kingdom. *Economic Botany* 21: 115–127. <https://doi.org/10.1007/BF02897859>
- Milan, P., Hissae Hayashi, A., & Appezzato-da-Glória, B. (2006). Comparative leaf Morphology and anatomy of three Asteraceae species. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49(1): 135–144. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132006000100016>
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*. 1–8.
- Moerman, D. E., Pemberton, R. W., Kiefer, D., & Berlin, B. (1999). A comparative analysis of five medicinal floras. *Journal of Ethnobiology* 19(1): 49–67.
- Muravnik, L. E., Kostina, O. V., & Shavarda, A. L. (2016). Glandular trichomes of *Tussilago farfara* (Senecioneae, Asteraceae). *Planta* 244: 737–752. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2539-x>
- Narayana, B. M. (1979). Taxonomic value of trichomes in *Vernonia* Schreb. (Asteraceae). *Proceedings of the Indian Academy of Sciences* 88: 347–357. <https://doi.org/10.1007/BF03046107>
- O’Dowd, D. J., & Catchpole, E.A. (1983). Ants and extrafloral nectaries: no evidence for plant protection in *Helichrysum* spp. - ant interactions. *Oecologia* 59(2): 191–200. <https://doi.org/10.1007/BF00378837>
- Oliveira, T., Bombo, A. B., & Appezzato-da-Glória, B. (2013). Anatomy of vegetative organs with an emphasis on the secretory structures of two species of *Aldama* (Asteraceae–Heliantheae). *Botany* 91(6): 335–342. <https://doi.org/10.1139/cjb-2012-0271>
- Oliveira, T., Vasconcelos Filho, S. C., Bastos, A. V. S., Vasconcelos, J. M., & Rodrigues, A. A. (2015). Anatomical and histochemical analysis of vegetative organs of *Vernonia ferruginea* Less. (Asteraceae). *African Journal of Biotechnology* 14(38): 2734–2739. <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14934>
- Ozcan, M., Demiral, M., & Kahriman, A. (2015). Leaf anatomical notes on *Cirsium* Miller (Asteraceae, Carduoideae) from Turkey. *Plant Systematics and Evolution* 301: 1995–2012. <https://doi.org/10.1007/s00606-015-1209-y>
- Páez, V. A., Albornoz, P. L., Lizárraga, E., Sobrero, M. T., & Chaila, S. (2019). Anatomía foliar y caulinar, y caracterización fitoquímica foliar de *Flaveria bidentis* y *F. haumanii* (Asteraceae) de Santiago del Estero, Argentina. *Acta Botanica Mexicana* 126: 1–12. <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1409>
- Panero, J. L., & Crozier, B. S. (2016). Macroevolutionary dynamics in the early diversification of Asteraceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 99: 116–132. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.03.007>



- Panero, J. L. & Funk, V. A. (2008). The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the Asteraceae revealed. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47: 757–782. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.02.011>
- Pérez-Castorena, A. L., Arciniegas, A., Martínez, F., Villaseñor, J. L., & Romo de Vivar, A. (2000). Pyrrolizidine alkaloids from four *Senecio* species. *Biochemical Systematics and Ecology* 28(3): 279–282. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(99\)00057-5](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(99)00057-5)
- Pérez-Castorena, A. L., Arciniegas, A., Martínez, F., Marquez, C., Villaseñor, J. L., & Romo de Vivar, A. (2001). Chemical constituents of *Packera coahuilensis* and *Packera bellidifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology* 29(2): 203–206. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(00\)00043-0](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(00)00043-0)
- Pickard, W. F. (2007). Laticifers and secretory ducts: two other tube systems in plants. *New Phytologist* 177(4): 877–888. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02323.x>
- R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>
- Redonda-Martínez, R., Villaseñor, J. L., & Terrazas, T. (2012). Trichome diversity in the Vernoniaceae (Asteraceae) of Mexico I: *Vernonanthura* and *Vernonia* (Vernoniinae). *Journal of the Torrey Botanical Society* 139(3): 235–247. <https://doi.org/10.3159/TORREY-D-11-00069.1>
- Redonda-Martínez, R., Villaseñor, J. L., & Terrazas, T. (2016). Trichome diversity in the subtribe Leiboldiinae (Vernoniaceae, Asteraceae). *Journal of the Torrey Botanical Society* 143(3): 298–310. <https://doi.org/10.3159/TORREY-D-14-00062.1>
- Revell, L. J. (2012). Phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution* 3(2): 217–223. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x>
- Rios, A. B. M., Oliveira Menino, G. C., & Casagrande Dalvi, V. (2020). Leaf teeth in eudicots: what can anatomy elucidate? *Botanical Journal of the Linnean Society* 193: 504–522. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boaa028>
- Rivera, P., Villaseñor, J. L., Terrazas, T., & Panero, J. L. (2020). The importance of the Mexican taxa of Asteraceae in the family phylogeny. *Journal of Systematics and Evolution* 0(0): 1–16. <https://doi.org/10.1111/jse.12681>
- Robinson, H. (2009). An introduction to micro-characters of Compositae. In V. A. Funk, A. Susanna, T. F. Stuessy, & Y. R. J. Bayer (Eds.), *Systematics, evolution and biogeography of the Compositae* (pp. 89–99). International Association for Plant Taxonomy (IAPT).
- Rojas-Leal, A., Villaseñor, J. L., & Terrazas, T. (2017). Tricommas foliares en *Senecio* sección *Mulgedifolii* (Senecioneae, Asteraceae). *Acta Botanica Mexicana* 119: 69–78. <https://doi.org/10.21829/abm119.2017.1232>
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19(12): 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- RStudio Team. (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA. <http://www.rstudio.com/>
- Ruzin, S. E. (1999). *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press.
- Sayers, E. W., Cavanaugh, M., Clark, K., Ostell, J., Pruitt, K. D., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). GenBank. *Nucleic Acids Research* 48(D1): D84–D86. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz956>
- Silva, T. M., Vilhalva, D. A. A., Moraes, M. G., & Figueiredo-Ribeiro, R. C. L. (2015). Anatomy and fructan distribution in vegetative organs of *Dimerostemma vestitum* (Asteraceae) from the *campos rupestres*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 87(2): 797–812. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140214>
- Simon, P.M., Katinas, L., & Arambarri, A. M. (2002). Secretory structures in *Tagetes minuta* (Asteraceae, Helenieae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 37(3–4): 181–191.
- Solovchenko, A. (2010). *Photoprotection in plants: optical screening-based mechanisms*. Springer-Verlag.
- Souza da Silva, E. M., Hissae Hayashi, A., & Appezzato-da-Glória, B. (2014). Anatomy of vegetative organs in *Aldama tenuifolia* and *A. kunthiana* (Asteraceae: Heliantheae). *Brazilian Journal of Botany* 37: 505–517. <https://doi.org/10.1007/s40415-014-0101-2>
- Steyn, W. J., Wand, S. J. E., Holcroft, D. M., & Jacobs, G. (2002). Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist* 155: 349–361. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00482.x>
- Villaseñor, J. L. (2018). Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical Sciences* 96: 332–358. <https://doi.org/10.17129/botsci.1872>
- Vitali, M. (2017). Anatomía foliar del género *Smallanthus* (Asteraceae, Millerieae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 52(3): 463–472. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v52.n3.18027>

- Ybarra, M. I., Borkosky, S. A., Catalán, C. A. N., Cerda-García-Rojas, C. M., & Nathan, P. J. (1997). Diterpenes from *Hyalis argentea*. *Phytochemistry* 44(3): 479–483. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00517-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00517-1)
- Younis, S., Shaheen, S., Zaib, M., Harun, N., Khalid, S., Hussain, K., Hanif, U., & Khan, F. (2020). Scanning electron microscopic screening of 20 medicinally important Asteroideae taxa. *Microscopy Research and Technique* 83(8): 988–1006. <https://doi.org/10.1002/jemt.23492>

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

## Authors and Affiliations

**Daniel M. Martínez-Quezada<sup>1,2</sup> · Patricia Rivera<sup>1</sup> · Alicia Rojas-Leal<sup>1</sup> · José Luis Villaseñor<sup>1</sup> · Teresa Terrazas<sup>1</sup>**

---

✉ Teresa Terrazas  
tterrazas@ib.unam.mx

<sup>1</sup> Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-233, 04510 Ciudad de México, México

<sup>2</sup> Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, 04510 Ciudad de México, Coyoacán, México

## **CAPÍTULO II**

¿Las estructuras secretoras promueven la diversificación de los linajes en Asteraceae?

Martínez-Quezada, D. M., Rivera, P., Rojas-Leal, A., Villaseñor, J. L., Reyes-Chilpa, R, Terrazas, T.

*En preparación*



¿Las estructuras secretoras promueven la diversificación de los linajes en Asteraceae?

Daniel M. Martínez-Quezada<sup>1,2</sup>, Patricia Rivera<sup>1</sup>, Alicia Rojas-Leal<sup>1</sup>, José Luis Villaseñor<sup>1</sup>  
Ricardo Reyes-Chilpa<sup>3</sup> y Teresa Terrazas<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México Apartado Postal 70-233, 04510 Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México; Av. Universidad 3000, 04510, Coyoacán, Ciudad de México, México.

<sup>3</sup>Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito exterior s/n, Ciudad Universitaria, Ciudad de México, México.

\*Autor para correspondencia: [tterrazas@ib.unam.mx](mailto:tterrazas@ib.unam.mx)

## Resumen

Las plantas están constantemente sometidas a presiones ambientales mediadas por factores bióticos y abióticos. Las interacciones que las plantas establecen con otros organismos, particularmente la herbivoría, representan una fuerte presión selectiva y juegan un papel importante en los procesos evolutivos. La defensa química en las plantas ha sido particularmente exitosa debido a la síntesis de una amplia variedad de fitoquímicos sintetizados en estructuras secretoras. La presencia y diversidad de estructuras secretoras en grupos muy diversos de angiospermas ha permitido plantear la hipótesis de que son parte activa en procesos macroevolutivos. El objetivo de este trabajo es evaluar la relevancia de las estructuras secretoras en la diversificación de linajes en Asteraceae a través de métodos filogenéticos comparativos. Los resultados muestran que los tricomas y canales glandulares influyen en las tasas de diversificación en los clados más diversos de la familia, la alianza Heliantheae y el clado conformado por las subfamilias Asteroideae, Cichorioideae y Carduoideae. La mayor diversidad de fitoquímicos para Asteraceae se ha reportado en estos grupos, reconociéndose al menos 18 familias de compuestos químicos,

capaces de interferir en los procesos fisiológicos de diversos grupos de microorganismos y herbívoros. En este sentido, parece existir una relación entre la evolución de las estructuras secretoras en la familia, la síntesis de compuestos químicos cada vez más complejos y diversos y mayores tasas de diversificación en la familia. Los canales y tricomas glandulares, junto con otros rasgos previamente reconocidos como la duplicación completa del genoma, el capítulo racemoso, la presencia de vilano y frutos fitomelanánicos, han sido y son importantes para la radiación de linajes en Asteraceae.

Palabras clave: evolución dependiente de carácter, tasas de diversificación, macroevolución, adaptación, fitoquímica.

## **Introducción**

Las plantas, al ser organismos sésiles, están constantemente sometidas a presiones ambientales mediadas por factores bióticos y abióticos. A lo largo de su historia evolutiva han desarrollado diferentes estrategias para enfrentar dichas presiones, las cuales van desde pequeños cambios en la expresión genética (Rapp & Wendel, 2005; Smith & Ritchie, 2013), cambios en el metabolismo celular (Grotewold, 2005; Silvera et al., 2009; Greiner et al., 2011) hasta cambios estructurales (Wessinger et al., 2019; Howard et al., 2020; Cunha Neto et al., 2022). Dichas estrategias han permitido la supervivencia de los individuos y el establecimiento de sus poblaciones, lo que a su vez, ha desencadenado la diversificación de los linajes.

Las interacciones que las plantas establecen con otros organismos, están entre los factores bióticos que más influyen en los procesos macroevolutivos (Forister et al., 2012;

Hembry & Weber, 2020). Tales interacciones pueden ser de diferente naturaleza pero se resumen en cinco categorías: competencia, depredación, herbivoría, mutualismo y parasitismo (Gong & Zhang, 2014; Hembry & Weber, 2020). Las interacciones planta-animal, particularmente la herbivoría, representan una fuerte presión selectiva (Strauss & Agrawal, 1999; Fornoni, 2011). Bajo este escenario, las plantas han emprendido una carrera armamentista para hacer frente a los herbívoros, la cual tiene que ver principalmente con barreras mecánicas y químicas para la protección de los órganos vegetales (Fürstenberg-Hägg et al., 2013; War et al., 2018).

La defensa química en plantas ha sido particularmente exitosa gracias a la síntesis de una gran variedad de productos del metabolismo secundario, entre los que se encuentran alcaloides, cardenólidos, esteroides, terpenoides o compuestos fenólicos (Mithofer & Boland, 2012). Estos compuestos químicos tienen diferentes funciones como repeler, intoxicar, detener o interferir procesos de desarrollo o reproducción de herbívoros y patógenos (Anaya Lang, 2003). Esta gama de compuestos se sintetiza en regiones especializadas de los órganos vegetales denominados sistemas secretores, que de acuerdo con Mauseth (1988) pueden dividirse en células secretoras y estructuras secretoras.

El estudio de las estructuras secretoras en las angiospermas se ha remitido a taxones con un gran número de especies como Fabaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae o el orden Sapindales (Matos & Sousa Paiva, 2012; Almeida & Sousa Paiva, 2019; Guo & Zhou, 2019; Tölke et al., 2022). La presencia y diversidad de sistemas secretores en grupos de angiospermas que incluyen una gran diversidad de especies, ha permitido plantear la hipótesis de que los sistemas secretores forman parte activa en los procesos



macroevolutivos (Foisy et al., 2019). Asteraceae es la familia más diversa dentro de las eudicotiledóneas, incluyendo ca. 23,600 especies (Panero & Crozier, 2016). Las plantas de esta familia presentan una gran diversidad química y de estructuras secretoras, registradas en 80% de las tribus de la familia (Calabria et al., 2009; Martínez-Quezada et al., 2022). Dada la importancia de las estructuras secretoras desde el punto de vista ecológico, este trabajo tiene el objetivo de evaluar su relevancia evolutiva en la diversificación de los linajes en Asteraceae. Mediante la aplicación de métodos filogenéticos comparativos, se explora la potencial relación entre dichas estructuras con relevancia ecológica y la evolución de la familia.

## **Materiales y métodos**

*Análisis filogenéticos.* Se usó la matriz de secuencias de cloroplasto generada por Rivera et al. (2020), la cual incluye 11 marcadores moleculares (*atpB*, *matK*, *ndhD*, *ndhF*, *ndhI*, *rbcl*, *ndhJ*, *ndhK*, *ndhC*, *trnL-trnF*, *23 S-trnA*). Debido a que no todas las especies incluidas en la matriz molecular original fueron analizadas en este estudio, se eliminaron los taxones de los cuales no se tuviera información anatómica disponible. Para representar las cuatro tribus de Cichorioideae, se incorporaron a la matriz secuencias de *matK*, *ndhF* y *trnL-trnF* de *Sinclairia ismaelis* (Liabeae; Funk et al., 2012; JN837476.1, JN837373.1, JN837283.1); asimismo, para representar a la tribu Inuleae se incorporaron secuencias de *Blumea riparia* (Chen et al. 2016; KX526537.1, KX527129.1). Todos los nuevos sets de datos fueron obtenidos de GenBank (Sayers et al., 2020) de acuerdo con los números de registro mencionados. La matriz reducida quedó conformada por 172 especies, representando 35

de las 40 tribus de Asteraceae y sus grupos hermanos (miembros de Calyceraceae y Goodeniaceae), la cual fue alineada usando los parámetros por defecto en MAFFT v.7 (Kato et al., 2002).

Los análisis filogenéticos se llevaron a cabo a través de inferencia Bayesiana, usando MrBayes 3.2.7a (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). El modelo de sustitución de nucleótidos para el set de datos de cloroplasto se seleccionó usando jModelTest2 (Darriba et al., 2012), con 11 esquemas de sustitución y el modelo de mejor ajuste fue evaluado usando el criterio de información de Akaike para seleccionar el mejor modelo. Los análisis se llevaron a cabo usando dos corridas con cuatro cadenas de Markov Monte Carlo de 10 millones de generaciones, salvando un árbol cada 1,000 generaciones, empezando con un árbol aleatorio. El burn-in fue establecido después del primer 25% de generaciones y los árboles restantes fueron resumidos en un árbol de consenso de mayoría. Tanto la selección del modelo como la inferencia filogenética se llevaron a cabo en el portal CIPRES Science Gateway (Miller et al., 2010).

*Estimación de tiempos de divergencia.* Se utilizó la matriz concatenada para obtener un árbol filogenético calibrado, para lo cual se realizó la estimación de los tiempos de divergencia usando BEAST v.1.10.4 (Suchard et al., 2018) a través del portal CIPRES Science Gateway (Miller et al., 2010). Se particionó la matriz por marcador; los parámetros de cada marcador se estimaron independientemente bajo GTR + G con cuatro categorías gamma. Se implementó un reloj relajado lognormal para las tasas de sustitución y un modelo de nacimiento-muerte para el árbol. Los priors de calibración fueron los mismos utilizados por

Panero y Crozier (2016). Se realizaron dos corridas de 80 millones de generaciones de una cadena de Markov Monte Carlo (MCMC), las cuales corrieron independientemente y muestrearon cada 20,000 pasos para 4,000 árboles. El burn-in se estableció al 13% después de su inspección con Tracer v.1.7.2 (Rambaut et al., 2018). Se produjo un árbol de máxima credibilidad de clados en TreeAnnotator v.2.6.0 (Drummond & Rambaut, 2007) y se visualizó en FigTree v.1.4.3 (Rambaut, 2010).

*Estimación de las tasas de diversificación.* Se analizó la heterogeneidad en las tasas de diversificación usando BAMM v.2.5.0 (Rabosky, 2014). Debido a la gran diversidad de la familia Asteraceae, se incluyó un comando de muestreo incompleto, en donde se incluyó la proporción de especies muestreadas respecto al total de especies. Se corrió una cadena de Markov Monte Carlo por 50 millones de generaciones, muestreando cada 10,000 pasos; el burn-in fue establecido al 30%. Se usó el paquete Coda (Plummer et al., 2006) para verificar la convergencia de las cadenas. Los archivos de salida fueron procesados usando BAMMtools (Rabosky et al., 2014). Coda y BAMMtools fueron ejecutados en R v.4.0 (R Core Team 2020) a través de RStudio v.1.1.383 (RStudio Team, 2020).

*Evolución dependiente de carácter.* Para evaluar la contribución de las estructuras secretoras en la diversificación de Asteraceae, se llevó a cabo un análisis de evolución dependiente de carácter a través del Hidden State Speciation and Extinction method (HiSSE v.2.1.1), para seis caracteres focales. Primero la presencia-ausencia de estructuras secretoras, y luego evaluando independientemente a cada uno de los tipos principales de estructuras secretoras presentes en la familia: canales, cavidades, hidátodos, laticíferos y

tricomas glandulares. Usando la filogenia fechada, se probaron cinco modelos de evolución:

- 1) Primero un modelo nulo, donde las tasas de diversificación no cambian a lo largo de la filogenia (Null).
- 2) El segundo modelo prueba dos tasas de diversificación que dependen directamente de los estados del carácter focal (BiSSElike model).
- 3) El tercer modelo evalúa la correlación entre los cambios en las tasas de diversificación y los estados observados y no observados del carácter focal (HiSSE; Beaulieu & O’Meara, 2016). Los dos modelos restantes corresponden a modelos de diversificación independiente de carácter (CID; Beaulieu and O’Meara, 2016; Cunha Neto et al., 2022), con distintas tasas de diversificación;
- 4) un modelo con dos tasas de diversificación (CID2) y 5) uno con cuatro tasas de diversificación (CID4).

La tasa neta de diversificación y la tasa de fracción de extinción se calcularon a través de los parámetros por defecto, constreñidos para tener la misma tasa de transición para todos los estados de carácter. Se consideró una fracción del muestreo taxonómico (FitzJohn, 2012) y la selección del mejor modelo se obtuvo a través del criterio de información de Akaike (AIC). Los análisis de evolución dependiente de carácter se llevaron a cabo a través del paquete ‘diversitree’ (FitzJohn, 2012) en R v.4.0 (R Core Team, 2020) a través de RStudio v.1.1.383 (RStudio Team, 2020).

*Reconstrucción de estados ancestrales y evolución de caracteres.* Se seleccionó una muestra de árboles de los dos archivos .t obtenidos de las corridas de MrBayes usando R v.4.0 (R Core Team, 2020) a través de RStudio v.1.1.383 (RStudio Team, 2020). Primero, los árboles de todas las corridas fueron concatenados, descartando el 10% de los árboles en cada



archivo. Posteriormente, 200 árboles fueron muestreados aleatoriamente de este archivo de árboles concatenados. Se realizó un análisis de reconstrucción de estados ancestrales usando BayesTraits V3 (Meade & Pagel, 2017), considerando la muestra de árboles, así como los datos correspondientes a las estructuras secretoras que tuvieron influencia en las tasas de diversificación (la presencia o ausencia de canales y tricomas glandulares). Se usó la aproximación de las cadenas de Markov Monte Carlo de salto reversible (rj-MCMC) para integrar el modelo de incertidumbre. Cada uno de los análisis de rj-MCMC se corrió con un hyperprior exponencial (en un intervalo de 0 a 10). La cadena se corrió para 500,000 generaciones y el primer 10% fue descartado como burn-in. Los valores promedio de todas las probabilidades posteriores encontradas fueron ilustradas como diagramas de pastel sobre el árbol de consenso de mayoría, usando el paquete Phytools v.0.7–47 (Revell, 2012) de R v.4.0 (R Core Team, 2020) a través de RStudio v.1.1.383 (RStudio Team, 2020).

## **Resultados**

*Estimación de tiempos de divergencia y tasas de divergencia.* El árbol de Máxima Credibilidad de Clados derivado del análisis de estimación de tiempos de divergencia, mostró que Asteraceae divergió durante el Eoceno de su grupo hermano, Calyceraceae, hace 48.43 Ma (% HDP: -). Todas las tribus en la familia se originaron durante el Mioceno-Plioceno (2.84-22.93 Ma). El análisis de estimación de las tasas de diversificación reconoció dos cambios importantes en las tasas de diversificación en los linajes, el primer cambio ocurre en la tribu Cardueae, mientras que el segundo ocurre en Cichorioideae y Asteroideae (Fig. 1a).

*Evolución dependiente de carácter.* La influencia de las estructuras secretoras sobre las tasas de diversificación se evaluó a través de dos escenarios: 1) poniendo a prueba la presencia y ausencia de las estructuras secretoras independientemente del tipo y 2) evaluando cada tipo de estructura secretora de manera independiente. En el primer caso, el análisis mostró que el modelo HiSSE fue el mejor modelo a partir del criterio de información de Akaike (AIC). Por lo tanto, la presencia-ausencia de estructuras secretoras en Asteraceae (independientemente del tipo), no influye directamente sobre las tasas de diversificación de los linajes. En el segundo escenario, al evaluar de manera independiente cada uno de los cinco tipos de estructuras secretoras, en particular en los análisis de los canales y los tricomas glandulares, se seleccionó al modelo BiSSE como el de valor más bajo de AIC. En este caso se demostró que ambos tipos de estructuras secretoras influyen positivamente sobre las tasas de diversificación de los linajes en Asteraceae (Fig. 1b, c).

*Evolución de caracteres y reconstrucción de estados ancestrales.* El análisis de evolución de caracteres mostró que las tasas de transición entre los estados de carácter son iguales; en este sentido, la ganancia y pérdida tanto de los canales como de los tricomas glandulares ocurre con la misma probabilidad a lo largo de la filogenia (Fig. 2).

## **Discusión**

La aparición de la defensa química en plantas ha sido fundamental en la evolución vegetal (Jones & Firn, 1991; Weng et al., 2012; Li et al., 2020), pues ha funcionado como una estrategia regulatoria de las interacciones que las plantas establecen con los organismos y con su ambiente (Fürstenberg-Hägg et al., 2013). En particular, la herbivoría es uno de los

eventos biológicos más importantes que impulsa la evolución de las plantas, favoreciendo el desarrollo de mecanismos de defensa que consecuentemente permiten el mantenimiento de los individuos y las poblaciones, lo que constituye el motor primario de especiación (Turelli et al., 2001).

Los sistemas secretores están en constante interacción con el ambiente, por lo que su presencia se considera una estrategia adaptativa importante, ayudando al mantenimiento de la integridad de los órganos vegetales. Los sistemas secretores están estrechamente relacionados con la diversidad de compuestos producto del metabolismo secundario. Su relevancia ecológica ha sido inferida principalmente mediante la observación de fenómenos que ocurren en el campo. No obstante, la actividad biológica de estos fitoquímicos ha sido ampliamente documentada, demostrando su capacidad para interferir en los procesos fisiológicos de varios grupos de organismos (Anaya Lang, 2003; Reinecke & Hilker, 2014), así como para hacer frente a las condiciones del ambiente mediante su actividad fotoprotectora (Torres-Contreras et al., 2022; Lingwan et al., 2023).

En 1964, Ehrlich y Raven propusieron su hipótesis de escape y radiación, que trata de explicar la evolución de la defensa química en plantas mediada por la herbivoría. Siguiendo esta premisa, podemos esperar que existan sistemas secretores en grupos vegetales muy diversos, lo que a su vez estaría relacionado con los procesos de diversificación. En la actualidad, se considera que las familias de angiospermas con el mayor número de especies son Asteraceae, Orchidaceae, Fabaceae, Rubiaceae y Poaceae (Govaerts et al., 2017); en todas ellas se ha reportado la presencia de sistemas secretores en sus órganos (p.e. Lewinsohn et al., 1998; Somaru et al., 2002; Klein et al., 2004; Stern, et al., 2014; Martínez-

Quezada et al., 2022). La importancia de las estructuras secretoras como estrategias adaptativas en el contexto evolutivo se ha explorado muy poco; sin embargo, algunos estudios como el de Dassanayake et al. (2018) concluyen que las glándulas de sal (tricomas glandulares especializados en la secreción de sales) han sido estructuras secretoras fundamentales para el establecimiento, supervivencia y diversificación de múltiples linajes de angiospermas en ambientes salinos. Por otra parte, Tölke et al. (2022) hacen énfasis en la importancia de la relación entre los sistemas secretores (canales, cavidades e idioblastos secretores) y la diversidad química, en la evolución del orden Sapindales.

La diversidad química de Asteraceae es abrumadora, hasta el momento se han identificado al menos 18 familias de compuestos químicos entre los que se encuentran los alcaloides, las cumarinas, los flavonoides, las lactonas sesquiterénicas y los terpenos (Fig. 3). Estos compuestos actúan a varios niveles en las interacciones con otros organismos; sin embargo, resalta su actividad antifúngica, bactericida, citotóxica e insecticida (Cilia-López et al., 2021). En Asteraceae se ha reportado la presencia de al menos cinco tipos de estructuras secretoras (canales, cavidades, hidátodos, laticíferos y tricomas glandulares) en alrededor del 80% de las tribus de Asteraceae (Martínez-Quezada et al., 2022). Los tricomas glandulares son las estructuras secretoras más diversas en la familia en términos de forma, estructura y posición, identificándose al menos 20 tipos distintos (Martínez-Quezada et al., 2022). Las compuestas han explorado múltiples caminos evolutivos para el desarrollo de diferentes tipos de tricomas glandulares y su evolución tiene influencia en las tasas de diversificación de la familia. En este tipo de estructuras secretoras se han localizado diversos compuestos químicos, como fenoles, lactonas sesquiterpénicas, polisacáridos y terpenos



(Muravnik et al., 2016, 2019, 2022). En este sentido, los derivados epidérmicos parecen cumplir funciones fisiológicas y ecológicas importantes al fungir como la primera barrera defensiva de las plantas.

Agrawal & Konno (2009) mencionan que las estructuras secretoras internas, en particular los canales y los laticíferos, conforman defensas importantes contra la herbivoría, debido al gran número de compuestos químicos encontrados en sus secreciones producidas. Aunque la presencia de estructuras secretoras parece ser una condición constante en los órganos vegetales de grupos de angiospermas particularmente diversos, autores como Foisy et al. (2018) no encontraron asociación entre la evolución de los canales y los laticíferos con procesos de diversificación en 345 familias de angiospermas. Sin embargo, esto no sucede en Asteraceae, en donde se encuentra una clara relación entre la presencia de determinados tipos de estructuras secretoras y un incremento en las tasas de diversificación.

Hasta el momento no existen registros de canales secretores en las pteridofitas (Pickard, 2007; Prado & Demarco, 2017); no obstante, este tipo de estructuras secretoras es frecuentemente encontrada en todos de los órganos de la mayoría de los grupos de espermatofitas (en donde podría estar su origen evolutivo). El comportamiento de los canales al interior de las plantas con flores es muy variable, p.ej. los canales están presentes en tres familias (Anacardiaceae, Burseraceae y Simarubaceae) de las nueve que se reconocen en el orden Sapindales (Tölke et al., 2022). En el caso de Asterales, Foisy et al. (2018) reportan canales (resiníferos) únicamente para Asteraceae, específicamente dentro de la tribu Heliantheae. Estos mismos autores también reportan la presencia de látex en

miembros de Astereae, Cardueae, Heliantheae, Neurolaeneae, Mutisieae, Stifftieae y Tageteae. No obstante, los laticíferos únicamente están presentes en las cuatro tribus de la subfamilia Cichorioideae, mientras que las estructuras secretoras internas en la mayoría de las tribus de Asteraceae corresponden a canales secretores (Martínez-Quezada et al., 2022). Por lo tanto, es importante resaltar que las secreciones observadas en los órganos vegetales, pueden provenir de distintos tipos de estructuras secretoras internas (p.ej. canales, cavidades, células secretoras o laticíferos), por lo que su caracterización es importante al momento de establecer hipótesis de homología.

En este trabajo, los canales (al igual que los tricomas glandulares) influyeron en las tasas de diversificación en al menos dos linajes de Asteraceae: Carduoideae y Cichorioideae-Asteroideae. Esta discrepancia en el valor evolutivo de los canales, respecto a otros estudios previos como el de Foisy et al. (2018), podría deberse a variables que afectan el resultado de los análisis de diversificación, p.ej. el origen evolutivo de los canales en nodos profundos de la filogenia de las plantas vasculares, su aparición múltiple y de manera independiente en las angiospermas, así como la falta de una caracterización minuciosa de los sistemas secretores para los taxones analizados, sin mencionar que los órganos vegetativos parecen producir estructuras secretoras diferencialmente, como ocurre en el género *Richterago* (Melo-de-Pinna & Menezes, 2003; Martínez-Quezada et al., 2022).

Al realizar una revisión general sobre la diversidad química de Asteraceae, se puede observar que los linajes con mayor número de especies, es decir las subfamilias y tribus más diversas, presentan un mayor número de compuestos químicos reportados en los estudios fitoquímicos (Fig. 3). En el caso de los linajes menos diversos, el número de compuestos es

menor, encontrándose solamente alrededor de seis de las 18 de familias de compuestos químicos reportados en la familia. Estos resultados preliminares son congruentes con la diversidad de estructuras secretoras presentes en los mismos linajes; en este sentido es posible encontrar una relación entre la diversidad química y las estructuras secretoras, en conjunto con su complejidad estructural a nivel molecular y anatómico.

Asteraceae es la familia más diversa dentro de las plantas con flores. Su diversidad no sólo se refleja en el número de especies que la integran, sino también en su diversidad morfológica, anatómica y química. Es toda esta plasticidad la que se sugiere, ha promovido la diversificación de la familia. Sin duda, una de las innovaciones evolutivas más importantes, correspondería a las flores agrupadas en capítulos (cabezuelas) y la pérdida de la dominancia apical floral en el centro de la cabezuela (Pozner et al., 2012). No obstante, Panero y Crozier (2016) mencionan que otros caracteres como la duplicación y la presencia de elementos transponibles del genoma (Staton & Burke, 2015), los capítulos dispuestos en sinflorescencias racemosas, la presencia de un vilano (cáliz modificado) en las cipselas, los frutos fitomelánicos, así como los procesos de dispersión transoceánicos han sido fundamentales en la evolución de la familia. A esto puede sumarse que, gracias a la adquisición de diferentes tipos de hábitos y los eventos múltiples de extinciones masivas que han ocurrido a lo largo de la historia de la Tierra, las compuestas se convirtieron en parte fundamental de la flora colonizadora en el planeta (Palazzesi et al., 2022).

Aunque previamente Cronquist (1977) sugirió que la diversificación química de Asteraceae había sido un evento clave en la evolución de la familia, el valor evolutivo de estos fitoquímicos no fue explorado hasta el trabajo de Calabria et al. (2009), cuyos

resultados concuerdan con los nuestros, confirmando que el número de fitoquímicos presentes en las tribus más grandes de Asteraceae es mayor, respecto a los linajes menos diversos en términos de número de especies.

## **Conclusiones**

La evolución de las Asteraceae ha implicado múltiples cambios a diferentes niveles, desde cambios genéticos y fisiológicos hasta cambios morfológicos. En este trabajo se encontró que los tricomas glandulares y los canales son estructuras secretoras que han influido sobre las tasas de diversificación de la familia. Dicha influencia está relacionada con su diversidad química y con la diversidad de especies en los linajes. Bajo este escenario, los linajes de la familia donde predominan los canales y los tricomas glandulares, corresponden a las tribus más diversas y donde se ha reportado un mayor número de compuestos químicos. La diversificación de Asteraceae ha implicado, en consecuencia, no solo cambios macroscópicos sino también cambios a nivel estructural y químico.

## **Referencias**

- Agrawal AA, Konno K. 2009. Latex: a model for understanding mechanisms, ecology, and evolution of plant defense against herbivory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40: 311-331.
- Almeida AL, Sousa Paiva EA. 2019. Colleters in *Mabea fistulifera* Mart. (Euphorbiaceae): Anatomy and biology of the secretory process. *Flora* 258: 1-9.



Anaya Lang AL. 2003. *Ecología Química*. Plaza y Valdés-Universidad Nacional Autónoma de México. 349 pp.

Beaulieu JM, O'Meara BC. 2016. Detecting hidden diversification shifts in models of trait-dependent speciation and extinction. *Systematic Biology* 65: 583-601.

Calabria LM, Emerenciano VP, Scotti MT, Mabry TJ. 2009. Secondary chemistry of Compositae. In: Funk VA, Susanna A, Stuessy TF, Bayer YRJ (Eds.), Systematics, evolution and biogeography of the Compositae (pp. 73-88). International Association for Plant Taxonomy (IAPT).

Chen ZD, Yang T, Lin L, Lu LM, Li HL, Sun M, Liu B, Chen M, Niu YT, Ye JF, Cao ZY, Liu HM, Wang XM, Wang W, Zhang JB, Meng Z, Cao W, Li JH, Wu SD, Zhao HL, Liu ZJ, Du ZY, Wang QF, Guo J, Tan XX, Su JX, Zhang LJ, Yang LL, Liao YY, Li MH, Zhang GQ, Chung SW, Zhang J, Xiang KL, Li RQ, Soltis DE, Soltis PS, Zhou SL, Ran JH, Wang XQ, Jin XH, Chen YS, Gao TG, Li JH, Zhang SZ, Lu AM, China Phylogeny Consortium. 2016. Tree of life for the genera of Chinese vascular plants. *Journal of Systematics and Evolution* 54: 277-306.

Cilia-López VG, Cariño-Cortés R, Zurita-Salinas LR. 2021, Ethnopharmacology of the Asteraceae family in Mexico. *Botanical Sciences* 99: 455-486.

Cronquist A. 1977. The Compositae revisited. *Brittonia* 29: 137-153.

Cunha Neto IL, Pace MR, Hernández-Gutiérrez R, Angyalossy V. 2022. Linking the evolution of development of stem vascular system in Nyctaginaceae and its correlation to habit and species diversification. *EvoDevo* 13: 1-24.

Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772.

Dassanayake M, Larkin JC. 2017. Making plants break a sweat: The structure, function, and evolution of plant salt glands. *Frontiers in Plant Science* 8: 1-20.

Drummond AJ, Rambaut A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7: 214.

Ehrlich PR, Raven PH. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.

FitzJohn RG. 2012. Diversitree: Comparative phylogenetic analyses of diversification in R. *Methods in Ecology and Evolution* 3: 1084-1092.

Foisy MR, Albert LP, Hughes DWW, Weber MG. 2019. Do latex and resin canals spur plant diversification? Reexamining a classic example of escape and radiate coevolution. *Journal of Ecology* 107: 1606-1619.

Forister ML, Dyer LA, Singer MS, Stireman JO, Lill JT. 2012. Revisiting the evolution of ecological specialization, with emphasis on insect-plant interactions. *Ecology* 93: 981-991.

Fornoni J. 2011. Ecological and evolutionary implications of plant tolerance to herbivory. *Functional Ecology* 25: 399-407.

Funk VA, Kelloff C, Chan R. 2012. Phylogeny and biogeography of the tribe Liabeae (Compositae subfamily Cichorioideae). *Taxon* 61: 437-455.

Fürstenberg-Hägg J, Zagrobelny M, Bak S. 2013. Plant defense against insect herbivores. *International Journal of Molecular Sciences* 14: 10242-10297.

Gong B, Zhang G. 2014. Interactions between plants and herbivores: A review of plant defense. *Acta Ecologica Sinica* 34: 325-336.

Govaerts R, Hind N, Lindon H, Chase M, Baker W, Lewis G, Vorontsova M, Nicolson N, Christenhusz M, Barker A, Paton A. 2017. Naming and counting the world's plant families. En: Willis KJ. State of the World's Plants 2017. Report. Royal Botanic Gardens, Kew.

Greiner S, Rauwolf U, Meurer J, Herrmann RG. 2011. The role of plastids in plant speciation. *Molecular Ecology* 20: 671-691.

Grotewold E. 2005. Plant metabolic diversity: a regulatory perspective. *Trends in Plant Science* 10: 57-62.

Guo J, Zhou C. 2019. Secretory structures of *Pogostemon auricularius*: Morphology, development, and histochemistry. *Symmetry* 11: 1-13.

Hembry DH, Weber MG. 2020. Ecological interactions and macroevolution: A new field with old roots. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 51: 215-243.

Howard CC, Landis JB, Beaulieu JM, Cellinese N. 2020. Geophytism in monocots leads to higher rates of diversification. *New Phytologist* 225: 1023-1032.

Jones CG, Firth RD. 1991. On the evolution of plant secondary chemical diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 333: 273-280.

Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T. 2002. MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research* 30: 3059-3066.

Klein DE, Moreira Gomes V, Da Silva-Neto SJ, Da Cunha M. 2004. The structure of colleters in several species of *Simira* (Rubiaceae). *Annals of Botany* 94: 733-740.

Lewinsohn E, Dudai N, Tadmor Y, Kadzir I, Ravid U, Putievsky E, Joel DM. 1998. Histochemical localization of citral accumulation in lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., Poaceae). *Annals of Botany* 81: 35-39.

Li DD, Ni R, Wang PP, Zhang XS, Wang PY, Zhu TT, Sun CJ, Liu CJ, Lou HX, Cheng AX. 2020. Molecular basis for chemical evolution of flavones to flavonols and anthocyanins in land plants. *Plant Physiology* 184: 1731-1743.

Lingwan M, Pradhan AA, Kushwaha AK, Dar MA, Bhagavatula L, Datta S. 2023. Photoprotective role of plant secondary metabolites: Biosynthesis, photoregulation, and prospects of metabolic engineering for enhanced protection under excessive light. *Environmental and Experimental Botany* 209: 105300.

Martínez-Quezada DM, Rivera P, Rojas-Leal A, Villaseñor JL, Terrazas T. 2022. Leaf secretory structures in Asteraceae: A synthesis of their diversity and evolution. *The Botanical Review* 88: 1-32.

Matos EC, Sousa Paiva EA. 2012. Structure, function and secretory products of the peltate glands of *Centrolobium tomentosum* (Fabaceae, Faboideae). *Australian Journal of Botany* 60: 301-309.

Mauseth JD. 1988. *Plant anatomy*. Blackburn Press. 576 pp.

Meade A, Pagel M. 2017. BayesTraits v.3.0 (Reading Evolutionary Biology Group).

Melo-de-Pinna GFA, Menezes NL. 2003. Meristematic endodermis and secretory structures in adventitious roots of *Richterago* Kuntze (Mutisieae-Asteraceae). *Brazilian Journal of Botany* 26: 1-10.



- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*. 1-8.
- Mithöfer A, Boland W. 2012. Plant defense against herbivores: Chemical aspects. *Annual Review of Plant Biology* 63: 431-450.
- Muravnik LE, Kostina OV, Shavarda AL. 2016. Glandular trichomes of *Tussilago farfara* (Senecioneae, Asteraceae). *Planta* 244: 737-752.
- Muravnik LE, Kostina OV, Mosina AA. 2019. Glandular trichomes of the leaves in three *Doronicum* species (Senecioneae, Asteraceae): morphology, histochemistry, and ultrastructure. *Protoplasma* 256: 789-803.
- Muravnik LE, Kostina OV, Zaporozhets NL. 2022. Structure and functions of the glandular trichomes in three *Arnica* species (Asteraceae), depending on their location on leaves and flowers. *Flora* 290: 152047
- Panero JL, Crozier BS. 2016. Macroevoolutionary dynamics in the early diversification of Asteraceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 99: 116-132.
- Palazzesi L, Pellicer J, Barreda VD, Loeuille B, Mandel JR, Pokorny L, Siniscalchi CM, Tellería MC, Leitch IJ, Hidalgo O. 2022. Asteraceae as a model system for evolutionary studies: from fossils to genomes. *Botanical Journal of the Linnean Society* 200: 143-164.
- Pickard WF. 2007. Laticifers and secretory ducts: two other tube systems in plants. *New Phytologist* 177: 877-888.
- Plummer M, Best N, Cowles K, Vines K. 2006. CODA: convergence diagnosis and output analysis for MCMC. *R News*, 6: 7-11.

Pozner R, Zanotti C, Johnson LA. 2012. Evolutionary origin of the Asteraceae capitulum: Insights from Calyceraceae. *American Journal of Botany* 99: 1-13.

Prado E, Demarco D. 2017. Laticifers and secretory ducts: similarities and differences. En: Hufnagel L (Ed). *Ecosystem services and global ecology*. IntechOpen. pp. 103-123.

R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria.

Rabosky DL. 2014. Automatic detection of key innovations, rate shifts, and diversity-dependence on phylogenetic trees. *PLoS ONE* 9: e89543.

Rabosky DL, Grudler M, Anderson C, Title P, Shi J, Brown J, Huang H, Larson J. 2014. BAMMtools: an R package for the analysis of evolutionary dynamics on phylogenetic trees. *Methods in Ecology and Evolution* 5: 701-707.

Rambaut A. 2010. FigTree v.1.4.3. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>

Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA (2018) Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* 67: 901-904.

Rapp RA, Wendel JF. 2005. Epigenetics and plant evolution. *New Phytologist* 168: 81-91.

Reinecke A, Hilker M. 2014. Plant semiochemicals - perception and behavioural responses by insects. En: Voelckel C, Jander G. 2014. *Insect-Plant Interactions*. Wiley Blackwellpp. 115-137.

Rivera P, Villaseñor JL, Terrazas T, Panero JL. 2020. The importance of the Mexican taxa of Asteraceae on the family phylogeny. *Journal of Systematics and Evolution* 59: 935-952.

Revell LJ. 2012. Phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution* 3: 217-223.

Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.

RStudio Team. 2020. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA.

Sayers EW, Cavanaugh M, Clark K, Ostell J, Pruitt KD, Karsch-Mizrachi I. 2020. GenBank. *Nucleic Acids Research* 48: D84-D86.

Silvera K, Santiago LS, Cushman JC, Winter K. 2009. Crassulacean Acid Metabolism and epiphytism linked to adaptive radiations in the Orchidaceae. *Plant Physiology* 149: 1838-1847.

Smith G, Ritchie MG. 2013. How might epigenetics contribute to ecological speciation? *Current Zoology* 59: 686-696.

Somaru R, Naidoo Y, Naidoo G. 2002. Morphology and ultrastructure of the leaf salt glands of *Odysea paucinervis* (Stapf) (Poaceae). *Flora* 197: 67-75.

Staton SE, Burke JM. 2015. Evolutionary transitions in the Asteraceae coincide with marked shifts in transposable element abundance. *BMC Genomics* 16: 1-13.

Stern WL. 2014. Anatomy of the Monocotyledons Volume X: Orchidaceae. Oxford University Press. 288 pp.

Strauss SY, Agrawal AA. 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Tree* 14: 179-185.

Suchard MA, Lemey P, Baele G, Ayres DL, Drummond AJ, Rambaut A. 2018. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution* 4: vey016.

Tölke ED, Medina MC, Lopes Souto A, Rodrigues Marques JP, Gomes Nogueira Alves G, Laino Gama R, Rubens Pirani J, Demarco D. 2022. Diversity and evolution of secretory structures in Sapindales. *Brazilian Journal of Botany* 45: 251-279.

Torres-Contreras AM, Garcia-Baeza A, Vidal-Limon HR, Balderas-Renteria I, Ramírez-Cabrera MA, Ramirez-Estrada K. 2022. Plant secondary metabolites against skin photodamage: Mexican plants, a potential source of UV-Radiation protectant molecules. *Plants* 11: 1-25.

Turelli M, Barton NH, Coyne JA. 2001. Theory and speciation. *TRENDS in Ecology & Evolution* 16: 330-343.

War AR, Taggar GK, Hussain B, Taggar MS, Nair RM, Sharma HC. 2018. Plant defence against herbivory and insect adaptations. *AoB PLANTS* 10: ply037.

Weng JK, Philippe RN, Noel JP. 2012. The rise of chemodiversity in plants. *Science* 336: 1667-1670.

Wessinger CA, Rausher MD, Hileman LC. 2019. Adaptation to hummingbird pollination is associated with reduced diversification in *Penstemon*. *Evolution Letters* 3-5: 521-533.

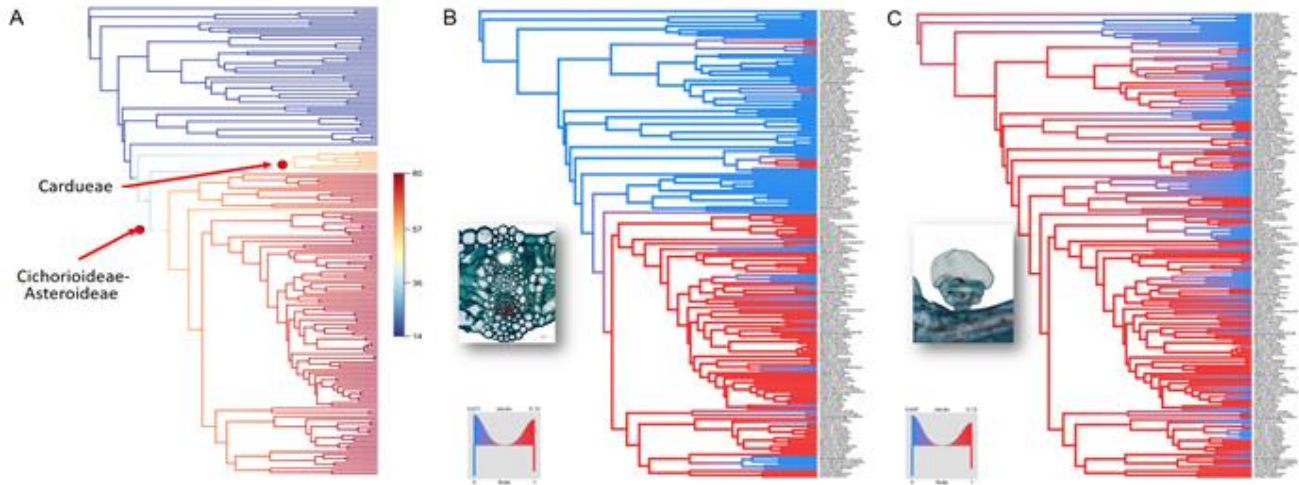


Figura 1. A) Tasas de diversificación en la familia Asteraceae. Los puntos rojos indican los cambios (shifts) en las tasas de diversificación, ubicando a la tribu Cardueae y al nodo que engloba a las subfamilias Cichorioideae y Asteroideae. B) Resultados del análisis de evolución dependiente de carácter, en azul se representa la ausencia de canales secretores, mientras que en rojo se representa la presencia de este tipo de estructuras secretoras. C) Resultados del análisis de evolución dependiente de carácter, en azul se representa la ausencia de tricomas glandulares, mientras que en rojo se representa la presencia de este tipo de estructuras secretoras.



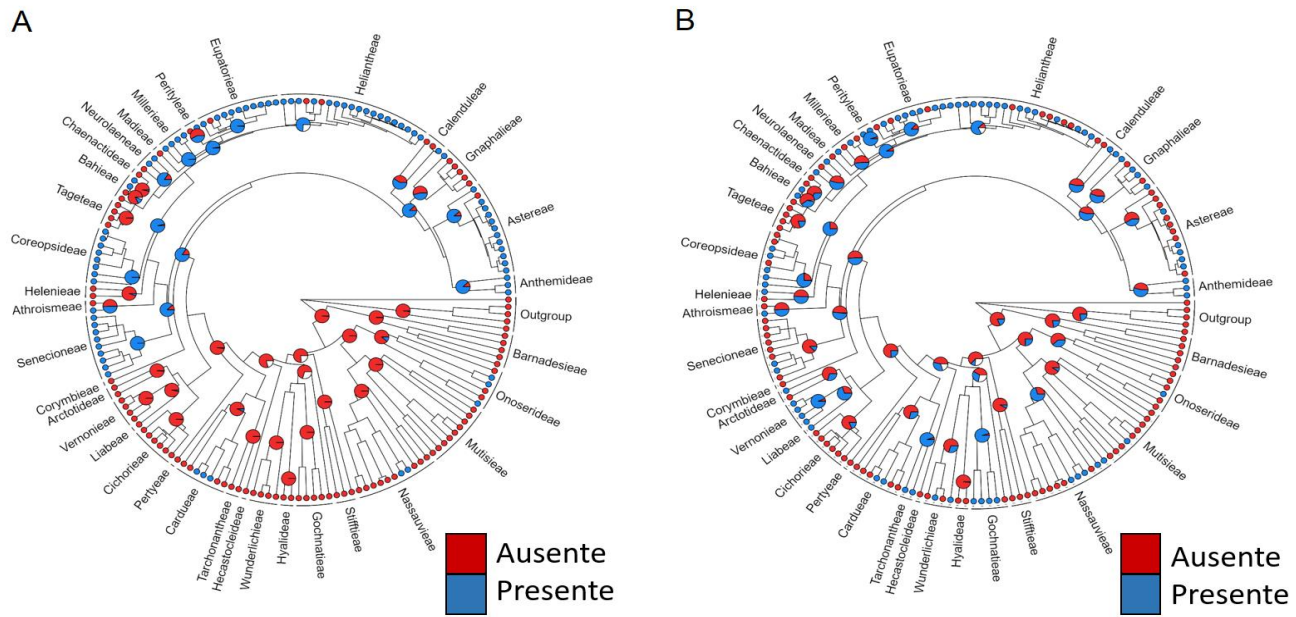


Figura 2. Evolución de las estructuras secretoras en Asteraceae. Se muestra la presencia y ausencia de A) canales y B) tricomas glandulares en las 35 tribus de Asteraceae analizadas.

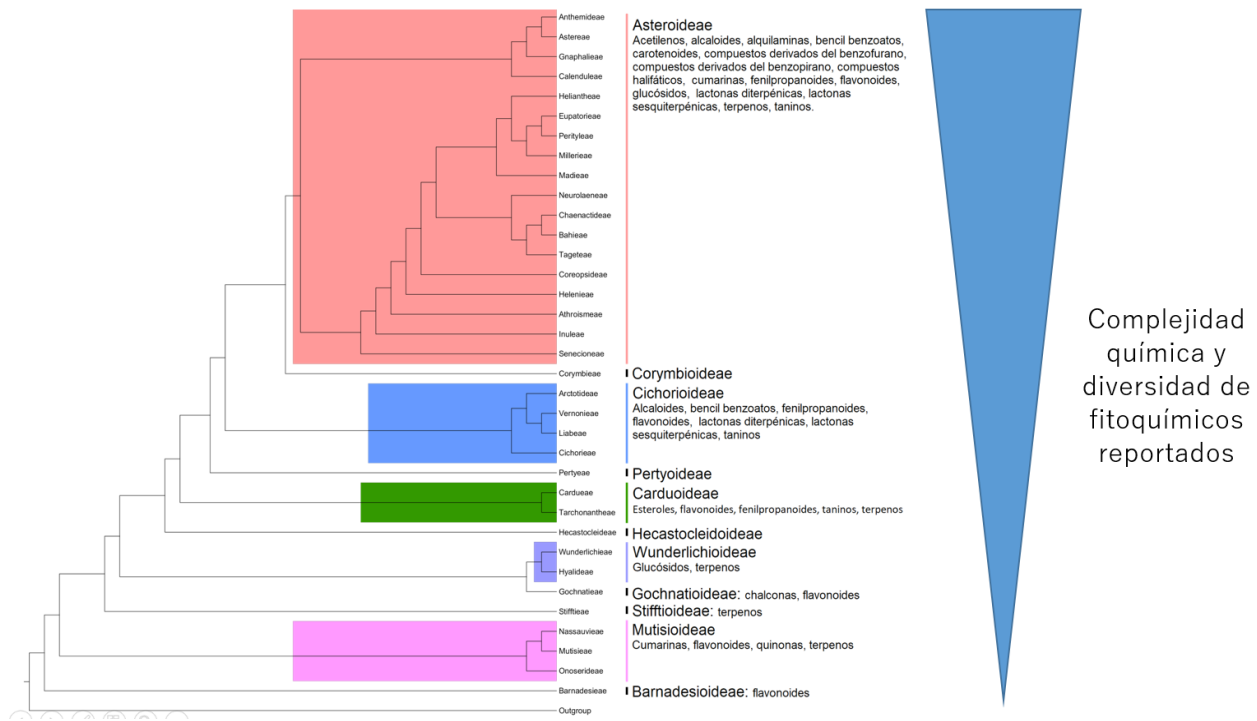


Figura 3. Representación diagramática de la diversidad química conocida en Asteraceae.

## **CAPÍTULO III**

Ontogenia de los canales y cavidades de dos especies de  
Asteraceae

Martínez-Quezada D. M., Rojas-Leal A., Villaseñor J. L., Terrazas T.

*En preparación*

## Ontogenia de los canales y cavidades de dos especies de Asteraceae

Daniel M. Martínez-Quezada<sup>1,2</sup>, Alicia Rojas-Leal<sup>1</sup>, José Luis Villaseñor<sup>1</sup> y Teresa Terrazas<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México Apartado Postal 70-233, 04510 Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México; Av. Universidad 3000, 04510, Coyoacán, Ciudad de México, México.

\*Autor para correspondencia: [tterrazas@ib.unam.mx](mailto:tterrazas@ib.unam.mx)

### Resumen

Los canales secretores están ampliamente distribuidos en las plantas con semilla, su diversidad se concentra en las angiospermas, donde han sido reportados en un gran número de familias, mientras que otros tipos de estructuras secretoras internas como las cavidades secretoras han sido identificadas únicamente en Rutaceae, Myrtaceae y Asteraceae. Identificar y reconocer estos dos tipos de estructuras secretoras ha sido complicado debido a sus similitudes estructurales y de desarrollo. En este trabajo se describe y compara la ontogenia de los canales y las cavidades secretoras en dos especies de Asteraceae, con el objetivo de entender las diferencias estructurales entre ellas y que permitan establecer hipótesis de homología más apropiadas. Se recolectaron hojas en desarrollo, incluyendo el ápice de los tallos de *Bidens odorata* y *Tagetes tenuifolia*. Las muestras se procesaron mediante la técnica de inclusión en metacrilatos y se realizaron cortes longitudinales y transversales. El desarrollo tanto de los canales como de las cavidades secretoras es de tipo esquizógeno, en contraste con lo reportado previamente para otras familias como Rutaceae en donde se reportan como lisígenas. Los canales en Asteraceae se originan de células del procambium mientras que las cavidades se originan

de células del meristemo fundamental. Las similitudes estructurales y del desarrollo entre ambos tipos de estructuras secretoras permiten inferir que tienen un origen evolutivo cercano. Los canales y las cavidades en Asteraceae se pueden diferenciar a partir del número de estratos del epitelio secretor y de la vaina, así como por el tipo de promeristemo que les da origen.

Palabras clave: estructuras secretoras, células epiteliales, esquizógeno, lisígeno.

## **Introducción**

Las estructuras secretoras en las plantas vasculares pueden clasificarse en externas e internas (Dickison, 2000). Dentro de las estructuras secretoras internas se encuentran las cavidades secretoras, los canales y los laticíferos (Evert, 2006). Por un lado, los laticíferos constituyen células alargadas que pueden fusionarse entre sí formando conductos simples o muy ramificados (Mauseth, 1988). En contraste, las cavidades secretoras y los canales se consideran estructuralmente más complejas al tratarse de espacios intercelulares rodeados por un epitelio secretor y células no secretoras que forman una vaina (Martínez-Quezada et al., 2022). Los canales han sido reportados en un gran número de familias de angiospermas (Fahn, 1979), mientras que las cavidades secretoras han sido identificadas típicamente en Rutaceae y Myrtaceae (Kalachanis y Psaras, 2005).

De acuerdo con Esau (1977) y Fahn (1982), la principal diferencia entre los canales y las cavidades secretoras es su origen ontogenético, esquizógeno para el caso de los canales y lisígeno para las cavidades secretoras. No obstante existen otras estructuras secretoras internas que comparten estadios de desarrollo que típicamente se reconocen en los



patrones esquizógenos o lisígenos, por lo que son denominadas estructuras secretoras esquizolisígenas (Turner et al., 1998). Los estudios ontogenéticos han aportado más información respecto a las diferencias entre los canales y cavidades, por lo que de acuerdo a estos trabajos, pueden ser diferenciados a partir de sus patrones de desarrollo (Bezerra et al., 2018).

Los canales y cavidades están presentes en muchas familias de angiospermas, particularmente en aquellas con gran diversidad de especies. En Asteraceae, los canales se han reportado en especies de 17 de las 40 tribus reconocidas para la familia, mientras que las cavidades se han registrado únicamente en los miembros de la subtribu Tagetinae de Tageteae (Martínez-Quezada et al., 2022). Estas estructuras secretoras suelen ser comúnmente confundidas tanto en Asteraceae como en otros grupos de angiospermas (Kalachanis y Psaras, 2005; García-Sánchez et al., 2012; Anaya-Gutiérrez et al., 2022). Esta confusión no es trivial, puesto que los canales y las cavidades secretoras han demostrado tener características estructurales similares. Los estudios de desarrollo, han aportado información importante para entender las diferencias entre estructuras secretoras similares (Ramírez-Díaz et al., 2019) y se han reconocido sus implicaciones evolutivas, ecológicas y sistemáticas (Orton, 1955; Wake, 1989; Ochoa-López et al., 2020). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es caracterizar e identificar diferencias en los patrones de desarrollo de estos tipos de estructuras en Asteraceae, que aporten más información para poder reconocerlas y establecer hipótesis de homología.

## **Materiales y métodos**

*Selección y recolecta de material.* Se seleccionaron dos especies de Asteraceae que presentaran canales o cavidades secretoras y que crecieran de manera natural en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA-UNAM). Se eligió a *Tagetes tenuifolia* Cav. (Tageteae) y *Bidens odorata* Cav. (Coreopsideae) como modelos de estudio, la primera por tener cavidades secretoras y la segunda por presentar canales en sus hojas maduras (Martínez-Quezada et al., 2022). De cada especie se seleccionaron 10 individuos, de los cuales se seleccionaron hojas en diferentes estadios de desarrollo, desde hojas ubicadas en el ápice del tallo hasta hojas completamente expandidas. En el caso de las hojas más pequeñas (muy próximas al ápice del tallo), se removieron en conjunto con el meristemo apical, mientras que en el caso de las hojas expandidas, se removió un lóbulo del tercio medio de la lámina.

*Procesamiento histológico.* Las muestras se fijaron en glutaraldehído por 24 h, transcurrido ese tiempo, se lavaron con agua destilada y se preservaron en etanol al 30%. Las muestras fijadas se deshidrataron en series graduales de etanol hasta etanol absoluto, posteriormente se infiltraron e incluyeron los tejidos en glicol-metacrilato (Zarlavsky, 2014). Las muestras incluidas se montaron en portamuestras de madera y se seccionaron con un micrótopo rotatorio en el plano transversal y longitudinal a 3-5  $\mu\text{m}$  de espesor. Los cortes se extendieron sobre portaobjetos gelatinizados, se tiñeron con violeta de cresilo (Zarlavsky, 2014), se montaron con resina sintética y se realizaron observaciones en el microscopio óptico.

## Resultados

Las estructuras secretoras estudiadas aparecen en los primeros estadios de desarrollo de las hojas, aproximadamente entre el segundo y tercer par de hojas en desarrollo (Fig. 1A). Al analizar los primordios foliares de *Bidens odorata*, se observa que el desarrollo de los canales inicia con la diferenciación de las células epiteliales, y aparentemente ocurre antes de la diferenciación de las células del procambium (Fig. 1B, C). Las células epiteliales tienen divisiones anticlinales y proliferan hacia ambos extremos del primordio foliar (Fig. 1D). Una vez que comienza la proliferación de las células epiteliales, dentro de éstas se desarrollan múltiples vacuolas, y simultáneamente se origina un espacio intercelular entre ellas formando el lumen del canal que se llena de contenidos (Fig. 1E-G).

Los primordios foliares de *Tagetes tenuifolia* se alargan gradualmente a partir del segundo y tercer par de hojas, una vez que esto sucede, en el margen de la lámina aparece una serie de protuberancias que corresponderán a los lóbulos de la lámina. El desarrollo de las cavidades secretoras inicia como un cúmulo de células con divisiones en todos los planos (Fig. 2A), más o menos esférico sobre cada uno de los lóbulos de la hoja. Las células en la periferia del cúmulo parecen cesar sus divisiones celulares mientras que las centrales siguen dividiéndose sin un patrón definido, las nuevas células son de mayor tamaño que las que les dieron origen y con núcleos grandes (Fig. 2A-D). Una vez que esto ocurre, se forma un espacio intercelular que dará origen al lumen de la cavidad, el cual crece en tamaño. Además, se observan más de tres divisiones periclinales que conforman la vaina de la cavidad. A medida que el lumen crece, las células que lo circundan se vuelven cada vez más compactas (Fig. 2E-J). En este momento se diferencian las células epiteliales en la periferia

del lumen (Fig. 2K), mientras que las células de la periferia engrosan sus paredes y la vaina de la cavidad se hace conspicua (Fig. 2L).

## **Discusión**

A pesar de que los sistemas secretores (en particular las estructuras secretoras) se encuentran en un gran número de especies dentro de las plantas vasculares, actualmente no existe un consenso generalizado para estandarizar su nomenclatura. Esta inconsistencia en el uso de la terminología ha llevado a asignar varios nombres a una misma estructura secretora p.ej. los diferentes tipos de tricomas glandulares o los términos usados para hacer referencia a los canales, lo que hace difícil tener un panorama más preciso sobre su diversidad, haciendo más complicado el establecimiento de hipótesis de homología.

El estudio de las estructuras secretoras con características similares no ofrece un panorama diferente, pues los canales y cavidades secretoras son a menudo confundidos debido a cuestiones técnicas o interpretativas (Kalachanis y Psaras, 2005; García-Sánchez et al., 2012; Anaya-Gutiérrez et al., 2022). Esto es debido principalmente a sus semejanzas estructurales, como la presencia de un epitelio secretor delimitado en muchos casos por uno o varios estratos de células no secretoras que conforman una vaina (Crang et al., 2018). Asimismo, a causa de su tamaño y posición se les denomina a menudo como glándulas (Aguilar-Rodríguez et al., 2022), haciendo más confuso el uso de términos para diferenciarlas. Aunque los estudios que se encargan de describir la ontogenia de las estructuras secretoras han sido importantes para delimitarlas (Bezerra et al., 2018), los límites que definen a una cavidad secretora permanecen poco claros.

### *El lumen de los canales y las cavidades secretoras en Asteraceae es de origen esquizógeno*

Por mucho tiempo, el criterio para hacer distinción entre las estructuras secretoras internas que tienen células epiteliales fue el origen ontogenético de su espacio intercelular (lumen), que se describió como esquizógeno o lisígeno (Esau, 1977; Fahn, 1982). Bajo esta premisa, la formación del lumen de los canales, se desarrollaría a partir de la separación de las células por la disolución de la lámina media (origen esquizógeno), mientras que en las cavidades secretoras dicho espacio será de origen lisígeno, es decir, se formará debido a la muerte celular programada (Turner et al., 1998).

Las cavidades secretoras han sido reportadas principalmente en Rutaceae y Myrtaceae (Fahn, 1979), familias en donde se ha concentrado el mayor número de estudios de desarrollo de este tipo de estructuras. En *Citrus* (Rutaceae), las cavidades se han reportado tanto en órganos vegetativos como reproductivos y el desarrollo del lumen de dichas cavidades se ha descrito principalmente como lisígeno (Knight et al., 2001; Rafiei y Rajaei, 2007). No obstante, en varios trabajos también se reportaron como cavidades esquizógenas, incluso algunos autores consideran que el límite entre esquizógeno y lisígeno no es claro, por lo que decidieron describirlas como esquizolisígenas (Fahn, 1988). Debido a estas inconsistencias, Turner et al. (1998) utilizando varios métodos de fijación y diferentes medios de inclusión, determinó que el origen lisígeno de las cavidades secretoras en *Citrus* correspondía a un artefacto del procesamiento histológico, tratándose en realidad de estructuras secretoras de origen esquizógeno, como confirmaron posteriormente otros autores (Bosabalidis, 2010).



Las cavidades secretoras de Myrtaceae son muy similares a nivel macroscópico a las de Rutaceae (Kalachanis y Psaras, 2004), describiéndose muchas veces como glándulas pelúcidas. El género más estudiado de esta familia es *Eucalyptus* y a diferencia de Rutaceae, siempre ha existido un consenso en que el lumen de las glándulas de aceite de este género es de origen esquizógeno (Carr y Carr, 1970). En los estudios publicados hasta el momento, se ofrece suficiente información sobre los mecanismos de disolución de la lámina media que dan paso a la formación de un espacio intercelular sin la lisis de las células. En las dos especies de Asteraceae analizadas, tanto el lumen de los canales como el de las cavidades tiene desarrollo esquizógeno, lo cual es consistente con lo reportado previamente para *Verbesina* (Bezerra et al., 2018) y *Tagetes* (Del Fueyo, 1986).

Un aspecto importante que se debe considerar es a partir de qué promeristemo se originan estas estructuras secretoras. De acuerdo con los trabajos de Knight et al. (2001) y Rafiei y Rajaei (2007), las cavidades secretoras de Rutaceae se originan a partir de células meristemáticas de la protodermis y del meristemo fundamental, mientras que en Myrtaceae, se originan únicamente de células de la protodermis (Carr y Carr, 1970; Kalachanis y Psaras, 2005). En el caso de *Bidens odorata*, la iniciación de las células epiteliales ocurre antes de la diferenciación de las células del procambium, dicha posición se mantiene durante el desarrollo de la lámina y coincide con el recorrido de los haces vasculares en las venas de la hoja. Por lo tanto, se puede inferir que la identidad de las células procambiales en este punto del desarrollo ya está determinada, por una parte darán origen a las células epiteliales del canal y al mismo tiempo, darán origen al sistema vascular (Bezerra et al. 2018). Por otra parte, la iniciación de las células epiteliales en *Tagetes*

*tenuifolia* no se encuentra espacial u ontogenéticamente asociada con las células procambiales, sino que se originan a partir de células del meristemo fundamental en regiones muy localizadas de los lóbulos de la lámina, como en otras especies de este género (Del Fueyo, 1986).

*¿Las cavidades secretoras son canales especializados?*

Algunos autores consideran que otra diferencia importante entre canales y cavidades es la longitud de dichas estructuras. Bajo la definición clásica de los canales, estos corresponderían a estructuras que forman un espacio intercelular alargado, mientras que las cavidades corresponderían a espacios intercelulares más o menos esféricos y elípticos. Esta diferencia posiblemente está asociada a la corteza y parece cumplirse para otros órganos como las hojas (Fahn, 1979; Angyalossy et al., 2016). Se han reportado canales de diferentes tamaños en varias especies de las tribus Astereae, Coreopsidae, Eupatorieae y Tageteae de Asteraceae, desde algunos más o menos elípticos y de menos de 30  $\mu\text{m}$ , hasta canales alargados de más de 100  $\mu\text{m}$  (Del Fueyo, 1986; Martínez-Quezada et al., 2022), por lo que esta variación en longitud no es un carácter que nos permita diferenciar los canales de las cavidades en hojas.

Se puede inferir un origen evolutivo común entre canales y cavidades debido a sus similitudes estructurales como la presencia de un epitelio secretor delimitado por células no secretoras que conforman una vaina (Martínez-Quezada et al., 2022), su origen potencial a partir de cualquiera de los tres promeristemas, patrones de desarrollo similares, así como su gran variabilidad en cuanto a tamaño y la presencia simultánea de ambos tipos de

estructuras secretoras en el mismo órgano (Del Fueyo, 1986). Las cavidades secretoras han aparecido en clados o linajes de angiospermas con una gran representatividad de canales, p.ej. en el orden Sapindales (Tölke et al., 2022), que incluye a Rutaceae, los canales están presentes en Anacardiaceae, Burseraceae y Simaroubaceae. En contraste, en Asteraceae los canales están presentes en al menos 17 tribus y las cavidades están circunscritas a Tageteae (Martínez-Quezada et al., 2022), por lo que se puede determinar que los canales son plesiomórficos respecto a las cavidades. Estos mismos autores resaltan que en Asteraceae el número de estratos de células epiteliales y de la vaina (un estrato de epiteliales y de la vaina en los canales, tres o más estratos de en el caso de las cavidades), son diferencias consistentes que permiten delimitarlas en la familia. Bajo este marco de referencia las glándulas de aceite que se reportan en Rutaceae, efectivamente corresponden a cavidades secretoras, mientras que las que se reportan para Myrtaceae, corresponden a canales cortos.

Planteamos la hipótesis de que las cavidades secretoras surgen como una variación de los canales en la historia evolutiva de las angiospermas. Las cavidades secretoras se originan como canales especializados (Vuillmin, 1884; Van Tieghem, 1885; Lebois, 1887) que se vuelven muy grandes y por una cuestión mecánica y funcional, han desarrollado un epitelio secretor y vaina multiestratificados. Los multiestratos de las cavidades le permiten soportar una mayor presión debido a la acumulación de un mayor volumen de secreciones.

## **Conclusiones**

Los canales y las cavidades secretoras en Asteraceae tienen origen esquizógeno. Los patrones de desarrollo de estos tipos de estructuras secretoras coinciden con otros grupos como Myrtaceae y Rutaceae. Estos tipos de estructuras secretoras pueden desarrollarse a partir de células provenientes de diferentes promeristemas en taxones distintos, los canales pueden originarse potencialmente a partir de células de la protodermis, del meristemo fundamental y del procambium, mientras que en el caso de las cavidades secretoras, sólo se ha reportado su origen a partir de células de la protodermis y del meristemo fundamental. Los caracteres estructurales más consistentes que permiten reconocer a los canales de las cavidades secretoras en Asteraceae son aquellos que corresponden al número de estratos de células epiteliales y de la vaina de la cavidad como se había reportado en trabajos previos. Además de esto, los canales en esta familia se originan a partir de células del procambium, mientras que las cavidades secretoras se originan a partir de células del meristemo fundamental.

## **Referencias**

Anaya-Gutiérrez EJ, Gutiérrez J, Serrato-Cruz MA, Vázquez-Sánchez M. 2022. Anatomía foliar de nueve especies de *Tagetes* L. (Tageteae: Asteraceae). *Botanical Sciences* 100: 667-684.

Angyalossy V, Pace MR, Evert RF, Marcati CR, Oskolski AA, Terrazas T, Kotina E, Lens F, Mazzoni-Viveiros SC, Ángeles G, Machado SR, Crivellaro A, Rao KS, Junikka L, Nikolaeva N, Baas P (2016) IAWA list of microscopic bark features. *IAWA J* 37:517–615.

Bezerra LDA, Mangabeira PAO, De Oliveira RA, Costa LCDB, Da Cunha M. 2018. Leaf blade structure of *Verbesina macrophylla* (Cass.) F. S. Blake (Asteraceae): ontogeny, duct secretion mechanism and essential oil composition. *Plant Biology* 20: 433-443.

Bosabalidis AM. 2010. Anatomical, histochemical and ultrastructural features of cell wall modifications in the secreting oil glands of *Citrus deliciosa* Ten. *Biharean Biologist* 4: 99-102.

Carr DJ, Carr SGM. 1970. Oil glands and ducts in *Eucalyptus L'herit* II. Development and structure of oil glands in the embryo. *Australian Journal of Botany* 18: 191-212.

Chattaway M. 1955. The anatomy of bark II. Oil glands in *Eucalyptus* species. *Australian Journal of Botany* 3: 21-27.

Crang R, Lyons-Sobaski S, Wise R. 2018. *Plant anatomy. A concept-based approach to the structure of seed plants.* Springer Nature Switzerland AG. 725 pp.

Dahlgren R, Thorne RF. 1984. The Order Myrtales: circumscription, variation, and relationships. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 71: 633-699.

Del Fueyo GM. 1986. Ontogenia de las glándulas foliares e involucrales de *Tagetes minuta* (Compositae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica.* 24: 403-410.

Esau K. 1977. *Anatomy of the seed plants.* 2nd Edition. John Wiley & Sons Ltd, New York.



Ever RF. 2006. Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development. John Wiley & Sons, Inc.

Fahn A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.

Fahn A. 1982. Plant anatomy. 3rd Edition. Pergamon, Oxford.

Fahn A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* 108: 229-257.

García-Sánchez F, López-Villafranco ME, Aguilar-Rodríguez S, Aguilar-Contreras A. 2012. Etnobotánica y morfo-anatomía comparada de tres especies de *Tagetes* que se utilizan en Nicolás Romero, Estado de México. *Botanical Sciences* 90: 221-232.

Kalachanis D, Psaras GK. 2005. Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communis* leaves. *Biologia plantarum* 49: 105-110.

Knight TG, Klieber A, Sedgley M. 2001. The relationship between oil gland and fruit development in Washington navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Annals of Botany* 88: 1039-1047.

Lebois A. 1887. Recherches sur l'origine et le développement des canaux sécrèteurs et des poches sécrétrices. *Annales des Sciences Naturelles Botanique*. 7: 247-330.

Martínez-Quezada DM, Rivera P, Rojas-Leal A, Villaseñor JL, Terrazas T. 2022. Leaf secretory structures in Asteraceae: a synthesis of their diversity and evolution. *The Botanical Review* 89: 59-90.

Mauseth JD. 1988. *Plant anatomy*. The Blackburn Press.

Ochoa-López S, Damián X, Rebollo R, Fornoni J, Domínguez CA, Boege K. 2020. Ontogenetic changes in the targets of natural selection in three plant defenses. *New Phytologist* 226: 1480-1491.

Orton GL. 1955. The role of ontogeny in systematics and evolution. *Evolution* 9: 75-83.

Poli F, Sacchetti G, Bruni A. 1995. Distribution of internal secretory structures in *Tagetes patula* (Asteraceae). *Nordic Journal of Botany* 15: 197-205.

Rafiei M, Rajaei H. 2007. Structural and developmental studies on oil producing reproductive organs in lime (*Citrus aurantifolia* Swingle). *Journal of Biological Sciences* 7: 848-853.

Ramírez-Díaz M, Terrazas T, Aguilar-Rodríguez S, Rojas-Leal A, Martínez-Cabrera D. 2019. Ontogenia de los tricomas foliares de *Tilia caroliniana* subsp. *floridana* (Malvaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 90: e902779.

Simon PM, Katinas L, Arambarri AM. 2002. Secretory structures in *Tagetes minuta* (Asteraceae, Helenieae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 37: 181-191.

Tölke ED, Medina MC, Lopes Souto A, Rodrigues Marques JP, Gomes Nogueira Alves G, Laino Gama R, Rubens Pirani J, Demarco D. 2022. Diversity and evolution of secretory structures in Sapindales. *Brazilian Journal of Botany* 45: 251-279.

Turner GW, Berry AM, Gifford EM. 1998. Schizogenous secretory cavities of *Citrus limon* (L.) Burm. F. and a reevaluation of the lysigenous gland concept. *International Journal of Plant Sciences* 159: 75-88.

Van Tieghem MP. 1885. Canaux sècrèteurs des plantes. *Annales des Sciences Naturelles Botanique*. 7: 6-20.

Vuillemin M. 1884. Remarque sur la situation de l'appareil sécréteur des Composées.

Bulletin de la Société botanique de France 31: 108-119.

Wake DB. 1989. Phylogenetic implications of ontogenetic data. Geobios 22: 369-378.

Zarlavsky G E. 2014. Histología vegetal: técnicas simples y complejas. Sociedad Argentina de Botánica.

Figura 1. Desarrollo de los canales de *Bidens odorata*. A) Ápice del tallo en sección longitudinal, se aprecian los primeros tres pares de primordios foliares y las primeras células que corresponden al inicio de los canales secretores (flechas). B-C) Diferenciación de las células epiteliales e inicio de las células procambiales (flecha). D) Proliferación de las células epiteliales a través de divisiones anticlinales hacia ambos extremos del primordio foliar. E-F) Desarrollo de múltiples vacuolas al interior de las células epiteliales, formación del espacio intercelular y producción de secreciones. G) Canal completamente desarrollado. E = células epiteliales, X = xilema.

Figura 2. Desarrollo de las cavidades secretoras de *Tagetes tenuifolia*. A-D) Cúmulo de células con divisiones en todos los planos que marca el inicio del desarrollo de las cavidades secretoras en los lóbulos de la hoja. E-J) Formación del espacio intercelular y compactación de las células en la periferia debido al crecimiento del lumen de la cavidad. K) Diferenciación de las células epiteliales en la periferia del lumen de la cavidad. L). Cavidad secretora madura, se observan las células de la periferia engrosadas (vaina) rodeando al epitelio secretor (Fig. 2).

Figura 1

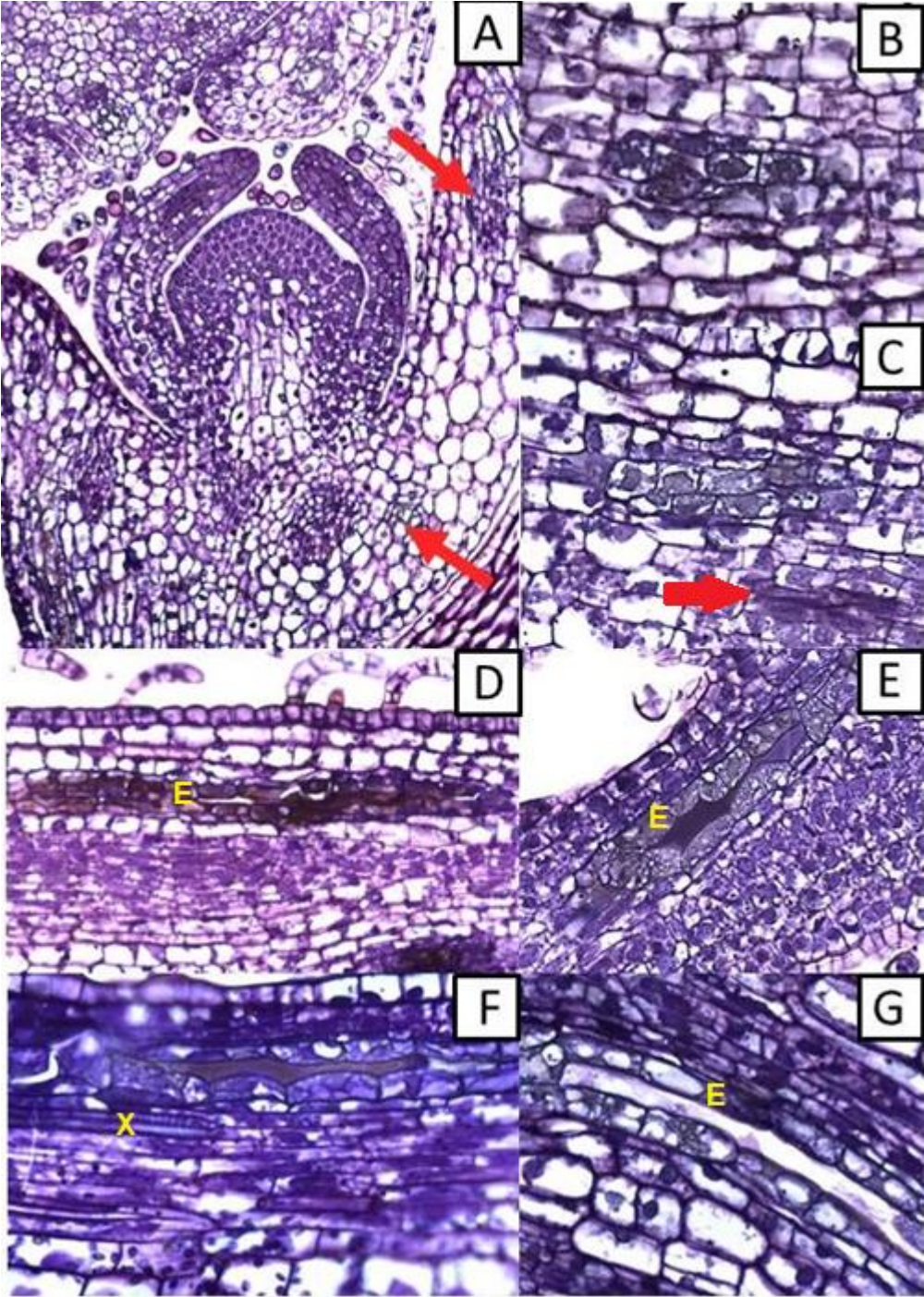
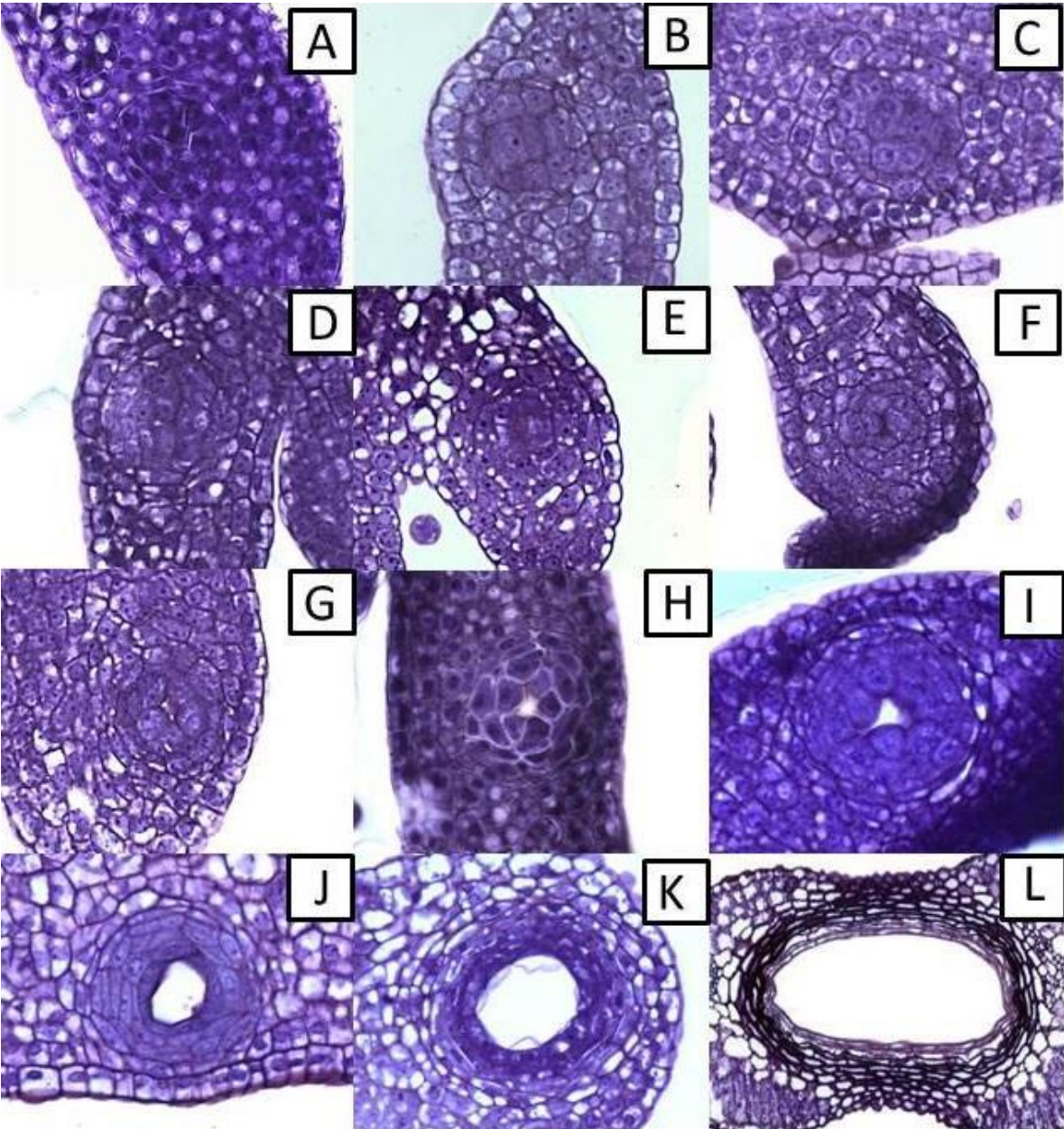




Figura 2



## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES**

Asteraceae es una de las familias más diversas dentro de las angiospermas, esta diversidad no sólo se refleja en el número de especies que comprende, sino que también se ve reflejada en su variabilidad morfológica y anatómica. Los miembros de Asteraceae presentan modificaciones del plan estructural básico de las eudicotiledóneas que han resultado exitosas en términos ecológicos y evolutivos. De acuerdo con Panero y Crozier (2016), caracteres como la duplicación y la presencia de elementos transponibles del genoma (Staton & Burke, 2015), los capítulos dispuestos en sinflorescencias racemosas, la presencia de un vilano (cáliz modificado) en las cipselas, los frutos fitomelánicos, así como los procesos de dispersión transoceánicos han permitido la diversificación de los linajes de la familia.

Aunque actualmente se reconoce la extraordinaria diversidad química presente en las compuestas, su valor adaptativo sólo fue reconocido por pocos autores, siendo Cronquist (1981) uno de los primeros en sugerir que la fitoquímica de Asteraceae contribuyó a su éxito evolutivo. Todos estos compuestos no son sintetizados aleatoriamente en los órganos vegetales sino que se producen en células y tejidos especializados de los mismos, conocidos como sistemas secretores. Por lo tanto, se podría inferir que la diversidad de compuestos químicos producidos en los órganos de las Asteraceae (principalmente las hojas), estaría relacionada con la diversidad de sistemas secretores.

En este trabajo se analizaron representantes del 87% de las tribus reconocidas para Asteraceae. Los resultados en conjunto con lo reportado previamente para la familia,



demonstraron que las estructuras secretoras están presentes en el 80% de las tribus en la familia. Los resultados también mostraron que la diversidad estructural de las compuestas no sólo está circunscrita al aspecto morfológico, sino también anatómico. En el primer capítulo de esta tesis se encontraron 20 tipos de tricomas glandulares agrupados en 20 categorías, cavidades secretoras, hidátodos, laticíferos y canales secretores en al menos cuatro posiciones distintas respecto a los haces vasculares. En este sentido, los miembros de esta familia han puesto a prueba las estructuras secretoras en múltiples ocasiones en su historia evolutiva, resultando en una gran diversidad de formas estructurales.

El resultado de los análisis filogenéticos comparativos, permitieron apoyar la hipótesis de Cronquist (1981), puesto que las estructuras secretoras más diversas dentro de Asteraceae (canales y tricomas glandulares) se revelaron como atributos que favorecieron la diversificación de los linajes de las compuestas. Los patrones de las tasas de diversificación a lo largo de la filogenia utilizada son similares a los obtenidos por Panero y Crozier (2016). Si bien previamente se había hablado del papel de la diversidad química como un promotor de la radiación de Asteraceae; este estudio es el primer acercamiento que explora la relación entre las estructuras secretoras, la diversidad química y los patrones de diversificación. En este sentido, los linajes con un menor número de especies, pueden o no presentar estructuras secretoras y éstas se vuelven más abundantes y diversas en los linajes con un mayor número de especies; patrón que se repite con la diversidad química reportada en la familia.

## REFERENCIAS GENERALES

Anaya Lang AL. 2003. *Ecología Química*. Plaza y Valdés-Universidad Nacional Autónoma de México. 349 pp.

Arciniegas A, Pérez-Castorena AL, Nieto-Camacho A, Villaseñor JL, Romo de Vivar A. 2009. Chemical constituents of *Psacalium sinuatum*. *Journal of the Mexican Chemical Society* 53: 229-232.

Arciniegas A, Pérez-Castorena AL, Nieto-Camacho A, Ironzi Maldonado J, Villaseñor JL, Romo de Vivar A. 2015. Chemical composition and anti-inflammatory activity of *Roldana platanifolia*. *Quimica Nova* 38: 1172-1175.

Bezerra LDA, Mangabeira PAO, de Oliveira RA, Costa LCDB, Da Cunha M. 2018. Leaf blade structure of *Verbesina macrophylla* (Cass.) F. S. Blake (Asteraceae): ontogeny, duct secretion mechanism and essential oil composition. *Plant Biology* 20: 433-443.

Bombo AB, Santos De Oliveira T, Da Silva Santos De Oliveira A, Garcia Rehder VL, Galvão Magenta M A, Appezzato-Da-Glória B. 2012. Anatomy and essential oils from aerial organs in three species of *Aldama* (Asteraceae-Heliantheae) that have a difficult delimitation. *Australian Journal of Botany* 60: 632-642.

Calabria LM, Emerenciano VP, Scotti MT, Mabry TJ. 2009. Secondary chemistry of Compositae. In: Funk VA, Susanna A, Stuessy TF, Bayer YRJ (Eds.), *Systematics, evolution and biogeography of the Compositae* (pp. 73-88). International Association for Plant Taxonomy (IAPT).

Carlquist S. 1958. Structure and ontogeny of glandular trichomes of *Madinae* (Compositae). *American Journal of Botany* 45: 675-682.

Cronquist A. 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. Nueva York: Columbia University Press.

Dere S, Aytas Akcin T. 2017. Anatomical and micromorphological properties of some *Tanacetum* L. (Asteraceae) taxa from Turkey and their systematic implications. *Acta Botanica Croatica* 76: 1-15.

Evans WC. 2009. *Trease and Evans pharmacognosy*. Saunders/Elsevier.

Funk VA, Susanna A, Stuessy TF, Bayer YRJ. 2009. *Systematics, evolution and biogeography of the Compositae*. International Association for Plant Taxonomy (IAPT).

Gras A, Hidalgo O, D'Ambrosio U, Parada M, Garnatje T, Vallès J. 2021. The role of botanical families in medicinal ethnobotany: a phylogenetic perspective. *Plants* 10: 1-17.

Mauseth JD. 1988. *Plant anatomy*. Benjamin/Cummings Publishing Company.

Mithöfer A, Boland W. 2012. Plant defense against herbivores: Chemical aspects. *Annual Review of Plant Biology* 63: 431-450.

Moerman DE, Pemberton RW, Kiefer D, Berlin B. 1999. A comparative analysis of five medicinal floras. *Journal of Ethnobiology* 19: 49-67.

Morrone JJ. 2013. *Sistemática, fundamentos, métodos, aplicaciones*. Las prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, Ciudad de México.

Ozcan M, Demirala M, Kahrman A. 2015. Leaf anatomical notes on *Cirsium* Miller (Asteraceae, Carduoideae) from Turkey. *Plant Systematics and Evolution* 301: 1995-2012.

Panero JL, Crozier BS. 2016. Macroevolutionary dynamics in the early diversification of Asteraceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 99: 116-132.

- Panero JL, Funk VA. 2008. The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the Asteraceae revealed. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47: 757-782.
- Papavero N. 2001. Historia de la Biología Comparada. Vol. IV De Descartes a Leibniz (1628-1716). Las prensas de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Pérez-Castorena AL, Arciniegas A, Martínez F, Marquez C, Villaseñor JL, Romo de Vivar A. 2001. Chemical constituents of *Packera coahuilensis* and *Packera bellidifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology* 29: 203-206.
- Pott DM, Osorio S, Vallarino JG. 2019. From central to specialized metabolism: An overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. *Frontiers in Plant Science* 10: 835.
- Redonda-Martínez R, Villaseñor JL, Terrazas T. 2012. Trichome diversity in the Vernonieae (Asteraceae) of Mexico I: Vernonanthurinae and Vernonia (Vernoniinae). *Journal of the Torrey Botanical Society* 139: 235-247.
- Rojas-Leal A, Villaseñor JL, Terrazas T. 2017. Tricomas foliares en *Senecio* sección *Mulgediifolii* (Senecioneae, Asteraceae). *Acta Botanica Mexicana* 119: 69-78.
- Romo de Vivar A, Pérez L, Arciniegas A, Villaseñor JL. 2007. Secondary metabolites from Mexican species of the Tribe Senecioneae (Asteraceae). *Journal of the Mexican Chemical Society* 51: 160-172.

Salam U, Ullah S, Zhong-Hua T, Elateeq AA, Khan Y, Khan J, Khan A, Ali S. 2023. Plant metabolomics: An overview of the role of primary and secondary metabolites against different environmental stress factors. *Life* 13: 706.

Silva TM, Vilhalva DAA, Moraes MG, Figueiredo-Ribeiro RCL. 2015. Anatomy and fructan distribution in vegetative organs of *Dimerostemma vestitum* (Asteraceae) from the campos rupestres. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 87: 797-812.

Villaseñor JL. 2018. Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical Sciences* 96: 332-358.