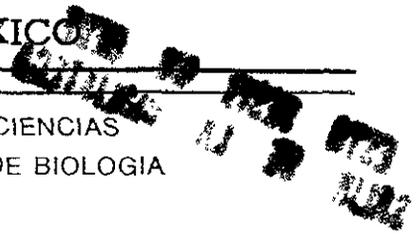


4
ZEJ



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA



ESTUDIO ESTOMATICO EN TRES ESPECIES DE
Selaginella (SELAGINELLACEAE) DEL ESTADO DE
GUERRERO, MEXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
FRANCISCO RADAMES ALEMON MEDINA



DIRECTOR DE TESIS · M. EN C. AURORA ZLOTNIK ESPINOSA

MEXICO, D. F.

1999.



TESIS CON
FALSA DE ORIGEN

10932



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
MEXICO

MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO
Jefa de la División de Estudios Profesionales
P r e s e n t e



Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

ESTUDIO ESTOMATICO EN TRES ESPECIES DEL GENERO *Selaginella*
(*Selaginellaceae*) DEL ESTADO DE GUERRERO, MEXICO

realizado por FRANCISCO RADAMES ALEMON MEDINA

Con número de cuenta 92361892 , pasante de la carrera de BIOLOGIA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de tesis

Propietario

M. EN C. AURORA ZLOTNIK ESPINOSA

Aurora Zlotnik

Propietario

M. EN C. ROSENDA MARGARITA PONCE SALAZAR

R. Margarita Ponce Salazar

Propietario

BIOL. RUBEN CASTELLANOS RAMIREZ

Suplente

DRA. JUDITH MARQUEZ GUZMAN

Judith Marquez Guzman

Suplente

DRA. MARCELA ESPERANZA AGUILAR MORALES

Marcela Esperanza Aguilar Morales

Edna M. Suarez Diaz

Consejo Departamental de BIOLOGIA

DRA. EDNA MARIA SUAREZ DIAZ

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por constituir parte fundamental en mi existencia, por concederme salud y perseverancia para continuar a cada momento.

Al Laboratorio de Plantas Vasculares de la Facultad de Ciencias, UNAM, por abrir un valioso espacio para desarrollar todas las observaciones microscópicas requeridas para este trabajo. Asimismo, al Herbario de la Facultad de Ciencias (FCME) UNAM, por ofrecer el material vegetal de las especies con que trabajé.

Al Dr. E. Mark Engleman, a la maestra Guadalupe Espinoza y al señor Miguel Vega, del Laboratorio de Anatomía Vegetal del Colegio de Posgraduados de la Universidad Autónoma Chapingo, por las facilidades otorgadas para la toma de las fotografías que ilustran este trabajo.

Agradezco infinitamente a la M. en C. Aurora Zlotnik Espinosa por haber dirigido este trabajo, mostrando amablemente disponibilidad para brindarme asesoría en todo el tiempo de su duración y por realizar todo lo humanamente posible para la conclusión del mismo.

A mi papá, Francisco Alemón Arias, por su apoyo durante el tiempo de duración de este trabajo.

A mi familia, por ser el cimiento moral y económico de mi formación académica, facilitándome todo lo indispensable para realizar mis estudios. En especial a mis tíos Josefina y Lou, por la ayuda que me brindaron para la escritura de este trabajo.

Muchas Gracias!!!

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis ...

A mamá, María Eugenia Medina Núñez, por ser lo más importante para mí en esta vida; por regalarme tus buenos ejemplos, tu apoyo, cariño y comprensión hasta este momento.

A mi hermanita, Penélope Alemón Medina, por compartir conmigo tu alegría, tus risas y tu buen humor todo el tiempo, habilitándome a tener ánimo para continuar mis estudios.

A mi "magüe", Mercedes Núñez Gómez, por regalarnos siempre tu amor y tu cálido abrigo cuando más lo necesitamos y por tus oraciones.

A mi familia, amigos y a todas aquellas personas que en algún momento de mi vida me han aportado un aliciente; motivaciones que constituyen el acopio de fuerza que me permite continuar mi camino profesional.

La vida es imperceptiblemente breve, por un momento somos dueños del alba, del atardecer, de las flores, de los ríos y de las estrellas.

Podemos con el magno espectáculo de la naturaleza, construir sueños, ilusiones o alucinaciones; pero todo es por un instante, mismo que debemos saborear, deleitarnos haciendo lo que nos gusta, lo que nos place, lo que nos satisface.

Nunca debemos de dudar en alcanzar todo eso, ni reparar en aquellos inconvenientes que nos impidan realizarlo, por más persistentes que sean.

Es el único y genuino sendero para lograr la felicidad.

Radamés Alemón

ESTUDIO ESTOMÁTICO EN TRES ESPECIES DE *Selaginella*
(SELAGINELLACEAE) DEL ESTADO DE GUERRERO, MÉXICO

ÍNDICE

| | |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| RESUMEN..... | 1 |
| INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| ANTECEDENTES | |
| DESARROLLO HISTÓRICO DE LA ANATOMÍA VEGETAL..... | 3 |
| EPIDERMIS..... | 5 |
| ESTOMAS..... | 7 |
| CLASIFICACIÓN DE LOS ESTOMAS..... | 8 |
| TIPOS DE HOJAS EN RELACIÓN A LA POSICIÓN DE LOS ESTOMAS..... | 12 |
| CLASIFICACIÓN DEL GÉNERO <i>Selaginella</i> | 12 |
| CARACTERÍSTICAS DE LA FAMILIA SELAGINELLACEAE..... | 13 |
| DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO <i>Selaginella</i> | 13 |
| DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS..... | 14 |
| ESTUDIOS SOBRE ESTOMAS EN <i>Selaginella</i> Y OTRAS PTERIDOFITAS.... | 16 |
| IMPORTANCIA DEL GÉNERO <i>Selaginella</i> | 17 |
| OBJETIVOS | 18 |
| MATERIAL | 19 |
| METODOLOGÍA | |
| DIAGRAMA DE FLUJO..... | 22 |
| TÉCNICA DE RÉPLICA..... | 23 |
| TÉCNICA DE TRANSPARENTACIÓN..... | 24 |
| ÍNDICE ESTOMÁTICO..... | 25 |
| TIPO DE ESTOMAS..... | 26 |
| DATOS MORFOMÉTRICOS..... | 26 |
| RESULTADOS | |
| TIPO DE ESTOMAS..... | 27 |
| OBSERVACIONES CORRESPONDIENTES A LAS HOJAS LATERALES (GRANDES)..... | 27 |
| OBSERVACIONES CORRESPONDIENTES A LAS HOJAS MEDIAS (PEQUEÑAS)..... | 30 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| DISCUSIÓN | |
| ASPECTOS TAXONÓMICOS..... | 40 |
| CLAVE SUGERIDA PARA DETERMINACIÓN DE LAS TRES ESPECIES DE <i>Selaginella</i> CONSIDERADAS EN ESTE TRABAJO..... | 42 |
| ASPECTOS ECOLÓGICOS..... | 42 |
| ASPECTOS FISIOLÓGICOS..... | 45 |
| | |
| CONCLUSIONES..... | 48 |
| | |
| PROYECCIONES A FUTURO..... | 49 |
| | |
| BIBLIOGRAFÍA CITADA..... | 50 |

RESUMEN

En este trabajo se estudian las características de los estomas en tres especies del género *Selaginella* del estado de Guerrero (*S. galeottii*, *S. rhizophora* y *S. sertata*); de las hojas de estas especies se ofrecen datos de índice estomático, tipo de estomas y morfometría de los mismos. Se discute la relevancia taxonómica, ecológica y fisiológica de estos datos. Este estudio forma parte del proyecto "Flora de Guerrero" que se lleva a cabo en el Laboratorio de Plantas Vasculares de la Facultad de Ciencias, UNAM.

INTRODUCCIÓN

El presente estudio constituye una aportación al campo de la Anatomía Vegetal, disciplina científica que ha tenido grandes aplicaciones en áreas como la Taxonomía, la Fisiología y Ecología Vegetales y la Farmacognosia, entre otras (Cutter, 1978); su elaboración obedece a la necesidad que existe de impulsar los estudios anatómicos para obtener conocimiento básico que ayude a resolver problemas en éstas y otras áreas relacionadas con la Botánica.

En este trabajo se eligió estudiar las características de los estomas, pues tales estructuras son uno de los más importantes caracteres anatómicos de la epidermis de las plantas; asimismo, se decidió realizar dicho estudio en tres especies de *Selaginella* del estado de Guerrero considerando, por un lado, que este tipo de estudios es escaso en dicho género y, por otro lado, que en este estado de la república el género *Selaginella* se encuentra muy bien representado ya que se ha reportado la presencia de más de veinte especies (Lorea y Velázquez, 1998).

Este estudio estomático queda circunscrito al marco del proyecto "Flora de Guerrero" que actualmente se desarrolla en el laboratorio de Plantas Vasculares de la Facultad de Ciencias, UNAM; la información aquí generada se espera que sea de la mayor utilidad en los aspectos taxonómico, ecológico y fisiológico y que contribuya al conocimiento de las plantas de este estado. De la misma forma y no en menor grado, se espera genere interés en la realización de trabajos relacionados con las características de estomas y otras estructuras vegetales de la flora de nuestro país.

ANTECEDENTES

DESARROLLO HISTORICO DE LA ANATOMÍA VEGETAL

La mayoría de las plantas vasculares se compone de un número determinado de órganos y cada uno de éstos está constituido de distintos tejidos. El estudio de la estructura interna de estas partes de la planta es conocido como Anatomía Vegetal (Cutter, 1978).

Dado que la Anatomía Vegetal es una disciplina científica que se basa en la Microtecnia [el arte y la ciencia de preparar tejidos y células para ser estudiados con el microscopio y que involucra básicamente la obtención de laminillas (Jones, 1967)] y en la Microscopía [disciplina que trata de los microscopios, que son instrumentos que proveen directamente de mapas a detalle de una muestra a resoluciones superiores a aquellas obtenibles por observación directa (Slayter y Slayter, 1992)], es posible afirmar que tiene sus inicios desde que estas dos metodologías se desarrollaron por primera vez.

El primer microscopio reconocido fué el que desarrolló Robert Hooke (1635-1703) (Aguilar, Coutiño, Salinas, 1996) y se dice que podía amplificar los objetos en 30 veces su tamaño, de modo que los detalles revelados fueron pocos. No obstante, con este instrumento, Hooke fue capaz de observar en una pieza de corcho estructuras que en la actualidad se conocen como células, nombre que él dió, obteniendo dos planos de corte de la muestra (Fahn, 1990; Bracegirdle, 1987). El resultado de tales estudios se publicó en 1665, en el brillante libro denominado "Micrographia" (Aguilar, Coutiño, Salinas, 1996; Metcalfe y Chalk, 1979).

Otro de los pioneros en el uso del microscopio fue Anton van Leeuwenhoek, quien en el año de 1674 desarrolló un microscopio con capacidad de amplificación de 275 veces el tamaño del objeto observado, con lo que pudo definir mejor la forma de estructuras como corpúsculos sanguíneos, cabello, microorganismos del sarro de los dientes, espermatozoides, entre otras (Bracegirdle, 1987). En el campo de la Botánica estudió cristales en *Iris* y punteaduras de vasos en leño secundario (Metcalfe y Chalk, 1979). No obstante, Leeuwenhoek fue un tanto discreto en cuanto a sus métodos y en todos sus escritos es poco lo que se conoce de su técnica de preparación de

muestras. Muchos de sus instrumentos se vendieron hacia el año de 1747 (Bracegirdle, 1987).

La Anatomía Vegetal, como una disciplina científica, es uno de los campos más antiguos de la Botánica, habiendo iniciado con los estudios microscópicos de Nehemia Grew [su obra "The Anatomy of Plants", fué la más importante de sus tres publicaciones (Metcalf y Chalk, 1979)] y Marcello Malpighi (con "Anatome Plantarum") hacia 1671 (Cutter, 1978; Mauseth, 1988; Metcalf y Chalk, 1979).

El trabajo de Grew involucró descripciones cuidadosas y bien ilustradas de material vegetal, pues consideraba que la Anatomía Vegetal debía incorporar estudios comparativos, estacionales y de desarrollo de toda la planta (Cutter, 1978). Demostró que cada clase de planta que investigó tenía su estructura distintiva por medio de la cual podía ser reconocida (Metcalf y Chalk, 1979).

Posteriormente, autores como Schleiden, von Möhl y Schulze publicaron trabajos hacia 1838 y 1850, referentes a pruebas histoquímicas; por ejemplo, Schleiden usó ácido sulfúrico y yodo para dar una reacción colorida azul con las paredes vegetales celulósicas; von Möhl informó también del uso de yodo y sus reacciones con diferentes tejidos vegetales, mientras que Schulze publicó la famosa reacción de yoduro de cloro y zinc, trabajo después del cual se generó un gran interés por las pruebas histoquímicas entre los botánicos, siendo menos interesantes para los zoólogos (Bracegirdle, 1987). Hugo von Möhl, por otra parte, publicó en 1852 "Principles of the Anatomy and Physiology of the Vegetable Cell", donde reconoció por primera vez el protoplasma vegetal y demostró que los haces vasculares están constituidos por xilema y floema (Metcalf y Chalk, 1979).

En 1854, a Hartig se le acredita hacer del dominio popular el proceso de tinción y, aunque ya se conocen otros colorantes como el rubio, índigo y palo de tinte, en un principio se usó exclusivamente el carmín, siendo referido por Hartig como "la solución de pigmento" (Bracegirdle, 1987). Algunos otros autores como Mirbel (1776-1834), Nägeli (1817-1891), Vesque (1848-1895), von Sachs (1832-1897) y de Bary (1831-1888) son a quienes se debe la reintroducción del estudio de la estructura vegetal en Inglaterra (Metcalf y Chalk, 1979) y en virtud de todos estos trabajos, desarrollados a finales del siglo XIX, es que la Anatomía Vegetal logra un gran auge en Europa.

Ya en el siglo XX, continúa el desarrollo de la Anatomía Vegetal con un enfoque sistemático, siendo uno de los representantes el alemán Radlkofer

(1829-1927), quien pertenece a los precursores en el uso de caracteres anatómicos en la clasificación de las plantas, como lo demuestra su trabajo con el género *Serjania* de la familia Sapindaceae (Metcalf y Chalk, 1979). A su vez, uno de los discípulos de Radlkofer, que fué Hans Solereder, siguió en esta misma línea y publicó el libro "Systematic Anatomy of the Dicotyledons" en 1908 (Metcalf y Chalk, 1979).

El desarrollo de la Anatomía Vegetal en América, tuvo sus inicios hacia mediados de este siglo, siendo uno de los pioneros Jeffrey (1866-1952) en los Estados Unidos. Otro investigador importante es Bailey, cuyas publicaciones fueron recopiladas en forma de un libro en 1954 (Metcalf y Chalk, 1979). Al mismo tiempo, hubo influencias de este tipo de estudios en la India, en donde P. Maheshwari (1904-1966), que era profesor de Botánica en Delhi, fungió como promotor del estudio de la Anatomía Comparada la que, reconoció, estaba fuertemente ligada al campo de la Embriología, especialidad de este investigador (Metcalf y Chalk, 1979).

Los avances de la Anatomía Vegetal a partir de la segunda mitad del siglo XX han sido más lentos en comparación con aquellos que tuvo en sus albores; no obstante, en algunos países se han hecho numerosos trabajos de investigación anatómica como en los Países Bajos y en los países escandinavos, además de Suiza, Japón y lo que antes era la Unión Soviética (Metcalf y Chalk, 1979).

EPIDERMIS

La epidermis es un sistema de células de estructura y función variadas, que constituye el recubrimiento del cuerpo primario de la planta, es decir, la capa más externa de las hojas, partes florales, frutos, semillas, tallos y raíces (Esau, 1977; Fahn, 1990; Mauseth, 1988). En virtud del arreglo de las células que la componen y de la presencia de una cutícula [capa de material ceroso (cutina), compuesto por polímeros derivados de lípidos, relativamente resistente, que las cubre e impregna (Bowes, 1996; Fahn, 1990)], la epidermis ofrece soporte mecánico, sobre todo en la zona del tallo; en la raíz, las paredes celulares de las células epidérmicas son delgadas y se reconoce por la presencia de pelos radicales (Mauseth, 1988), que son indicio de que la epidermis de las raíces jóvenes se especializa para la absorción. La epidermis es además un sitio de recepción de luz, involucrado en los movimientos foliares circadianos y en la inducción fotoperiódica pero, sobre todo, constituye la interfase entre la planta y el ambiente externo (Esau, 1977; Mauseth, 1988).

A menudo, el tipo celular más abundante dentro de la capa epidérmica y que presenta variación considerable en tamaño y forma es la célula epidérmica ordinaria; estas células varían en volumen, aunque usualmente son de forma tubular y siempre integran una capa compacta que no deja espacios intercelulares (Esau, 1977; Fahn, 1990; Willmer, 1983). En los órganos alargados, son paralelas al eje mayor del órgano vegetal, aunque en órganos foliares tienen orientación perpendicular a ellos. Estas células contienen cloroplastos que por lo regular desarrollan pocos grana y son, por tanto, deficientes en clorofila (Esau, 1977).

Para el caso específico de las hojas, la epidermis evita la pérdida excesiva e incontrolable de agua, reduce la infección en las mismas por esporas de hongos y por bacterias, al tiempo que minimiza el daño mecánico (Willmer, 1983; Mauseth, 1988).

Existen estructuras asociadas a las células epidérmicas que constituyen verdaderos apéndices o prolongaciones de éstas y son los denominados tricomas (Esau, 1977; Rudall, 1994). Estos derivados epidérmicos incluyen pelos glandulares (secretores) y no glandulares, papilas y los pelos absorbentes de las raíces. Pueden ocurrir en todas las partes de la planta y persistir durante toda su vida, o bien desprenderse en etapas tempranas del desarrollo; asimismo, pueden ser unicelulares o multicelulares (Fahn, 1990). Aunque los tricomas varían extensamente en estructura dentro de los grupos vegetales, son a veces lo suficientemente uniformes en un taxón dado como para ser usados como caracteres de importancia taxonómica (Esau, 1977), aunque debe tenerse en cuenta que algunas veces se presentan diferentes tipos en las hojas de un mismo individuo o en una misma hoja (Rudall, 1994).

Otras células derivadas de la epidermis, son las células guarda (1), así como las células subsidiarias o accesorias (2) (Esau, 1977; Willmer, 1983), que en conjunto forman el complejo estomático o estoma (Fig. 1), estructura anatómica de principal atención en este estudio.

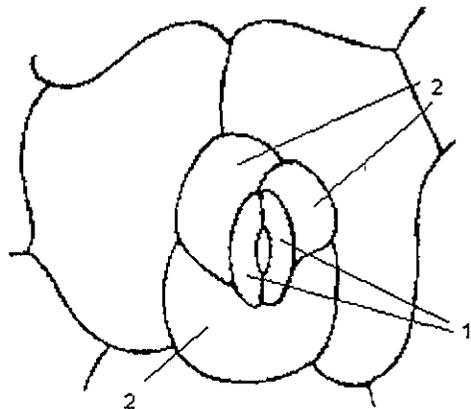


Fig. 1. Complejo estomático: 1, células guarda; 2, células subsidiarias (tomado de Fahn, 1990).

ESTOMAS

Los estomas son aberturas (poros o aperturas estomáticas) en la epidermis, formados por dos células especializadas, las células guarda o células oclusivas, que rodean al poro central; se encuentran comúnmente en partes aéreas de la planta (raramente en raíces) y pueden abrir y cerrar el poro para controlar el intercambio gaseoso entre la planta y su ambiente (Esau, 1977; Fahn, 1990; Rudall, 1994; Cronquist, 1961, Willmer, 1983).

En la hoja actúan como portales para la entrada de CO₂ en la fotosíntesis y para la salida de vapor de agua que puede ser usado para enfriamiento evaporativo de la hoja. El torrente transpiratorio puede también facilitar la toma y transporte de sales necesarias para la nutrición de la planta (Willmer, 1983).

La ubicación de los estomas en epidermis, varía en los distintos grupos vegetales. En la mayoría de las angiospermas monocotiledóneas y en las gimnospermas, se localizan en filas (Willmer, 1983; Foster y Gifford, 1974); en las angiospermas dicotiledóneas se presentan en las partes florales, incluyendo pétalos, sépalos, estambres y gineceo, así como en glumas, paleas y lemas de inflorescencias de gramíneas (Willmer, 1983).

Estas estructuras han sido reconocidas en todas las pteridofitas; en el género *Psilotum* se han descrito estomas grandes localizados principalmente en surcos entre los bordes del eje; en *Lycopodium* también existen grandes estomas en sus hojas y tallos; en *Equisetum* los estomas están confinados a surcos longitudinales de los tallos aéreos; en los helechos, los estomas son grandes y abundantes en las hojas y a menudo sólo están en la superficie inferior (Willmer, 1983).

En muchas plantas el estoma está flanqueado o rodeado por células que difieren en forma, dimensión, estructura y a veces en contenido, de las demás células epidérmicas (Esau, 1977). Estas células distintas se llaman células subsidiarias del estoma, células accesorias o células acompañantes y son células especializadas de la epidermis, que participan en los cambios osmóticos involucrados en los movimientos de las células guarda (Esau, 1977; Willmer, 1983; Baranova, 1987).

Autores como Solereder en 1908 y Rohweder et al. en 1971, han aplicado el término "células subsidiarias" a todas las células que directamente rodean a las células guarda, independientemente de su forma y el término "células acompañantes" a todas las otras células epidérmicas que rodean a las células

guarda, pero no están en contacto con ellas. No obstante, tal aplicación a estos términos no es convencional y ha caído en desuso (Baranova, 1987). Actualmente, Fryns-Claessens y Van Cotthem (1973) han definido a las células subsidiarias o acompañantes como aquellas que rodean a las células guarda y claramente difieren de las otras células epidérmicas y, a las células vecinas, como a las que están inmediatamente rodeando a las células guarda y que no difieren en forma y estructura del resto de las células epidérmicas.

El término estoma a veces designa al poro y células guarda (Cronquist, 1961), en otras ocasiones sólo se refiere al poro; sin embargo, muchas ocasiones indica a todo el complejo estomático que se ha definido formalmente como las células guarda y subsidiarias o anexas que conjuntamente rodean al poro (Mauseth, 1988). Del mismo modo, Fahn (1990) menciona el concepto de aparato estomático como sinónimo de complejo estomático, argumento que comparte con Baranova (1987).

Para fines prácticos, a lo largo de este trabajo, las células acompañantes serán tratadas como sinónimos de células subsidiarias, asimismo, será considerado de forma indistinta el término "estoma" que "complejo estomático".

CLASIFICACIÓN DE LOS ESTOMAS

Existen distintos criterios para la clasificación de los diferentes tipos de estomas y la utilidad que ofrecen depende del objetivo de quien los utilice. Son fundamentalmente dos los criterios que se han usado, a saber: el criterio ontogenético de clasificación de los estomas, que proporciona información acerca del origen de las células guarda y las subsidiarias y que fué propuesto por Pant en 1965 (Fryns-Claessens y Van Cotthem, 1973; Baranova, 1987) y el criterio morfológico, que se basa en el arreglo de las células acompañantes alrededor de las células guarda; este criterio fué propuesto por Metcalfe y Chalk en 1950 y se utiliza para fines taxonómicos (Baranova, 1987; Willmer, 1983).

La formación de un estoma comienza con la división de alguna de las células del protoderma [meristemo primario o tejido meristemático que da lugar a la epidermis (Esau, 1977)]. De las células resultantes una se constituye en una célula grande y la otra en una pequeña. La célula grande se desarrolla en una célula epidérmica ordinaria y no se distingue de las células epidérmicas restantes después de cierto tiempo. La célula pequeña contiene un citoplasma más denso y puede de nuevo dividirse desigualmente o producir directamente el par de células guarda; es a esta célula a la que se denomina inicial estomática o meristemoide (Fryns-Claessens y Van Cotthem, 1973; Willmer, 1983; Foster y Gifford, 1974).

Willmer (1983), así como Fryns-Claessens y Van Cotthem (1973) y Baranova (1987) reportan que, con base en la relación ontogenética de las células guarda y las células acompañantes, Pant formuló tres categorías destacables (Fig. 2):

1.-Mesógeno: estoma en el que la célula madre de las células guarda y todas las subsidiarias (o una sola células subsidiaria en forma de anillo) derivan del meristemoide, o bien, que las células guarda y las células acompañantes tienen un origen común

2.-Perígeno: tipo de estoma en el que todas las células acompañantes o vecinas derivan independientemente de la célula madre de la célula guarda, quien se divide sólo una vez para formar las dos células guarda; ésto es, que las células guarda y las células acompañantes no tienen origen común

3.-Mesoperígeno: estoma que presenta células acompañantes con origen dual, una de ellas de origen mesógeno y las otras perígeno; es decir, que por lo menos una célula acompañante tiene un origen común con la célula guarda

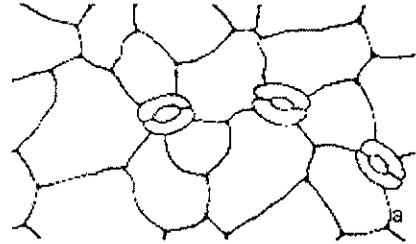
| Names or types | Meristemoid | I Div. | II Div. | III Div. | IV Div. | V Div. | Mature stoma |
|--------------------------------|-------------|--------|---------|----------|---------|--------|--------------|
| TETRALABRATE | | | | | | | |
| TRILABRATE (Cruciferous) | | | | | | | |
| Meso-paracytic (Rubiaceous) | | | | | | | |
| Meso-diacytic | | | | | | | |
| Pyroscopic type | | | | | | | |
| UNILABRATE (Anemia type) | | | | | | | |
| Plagiogyria type | | | | | | | |
| Tetrocentron type | | | | | | | |
| Ranunculous type | | | | | | | |
| PERIGENOUS | | | | | | | |

Fig. 2. Tabla de Pant de los principales tipos ontogenéticos de estomas (tomado de Fryns-Classens y Van Cotthem, 1973)

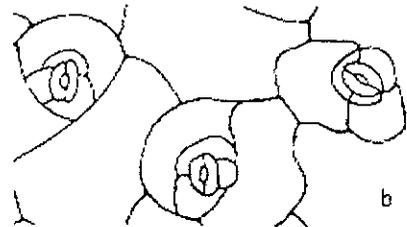
La segunda clasificación, de Metcalfe y Chalk, incluye cuatro tipos de estomas y vino a sustituir la terminología propuesta por Vesque en 1889; este autor fué quien formuló la primera clasificación de estomas en dicotiledóneas (Baranova, 1987 y 1992) y dió a cada tipo de estomas el nombre de la familia de plantas en que característicamente se presentaba de acuerdo a sus observaciones (tipos ranunculáceo, cruciferáceo, cariofiláceo y rubiáceo).

De acuerdo con Willmer (1983) y Baranova(1987), los cuatro tipos de estomas en esta nueva clasificación son (Fig. 3):

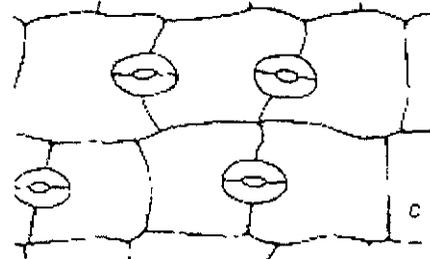
-Anomocítico: estoma rodeado por un número limitado de células que son indistinguibles en tamaño o forma del resto de la epidermis, lo que significa que no están presentes las células subsidiarias. En la clasificación de Vesque, corresponde al tipo ranunculáceo (Fig. 3a).



-Anisocítico: estoma rodeado por tres células de las que una es distintivamente más pequeña que las otras dos. Así, las células guarda están rodeadas por tres células subsidiarias de distintos tamaños. De acuerdo a Vesque son del tipo crucíferáceo (Fig. 3b).



-Diacítico: estoma encerrado por un par de células subsidiarias cuya pared común está en ángulos rectos respecto al eje mayor del estoma. Corresponde al tipo cariofiláceo de Vesque (Fig. 3c).



-Paracítico: estoma acompañado de cada lado por una o más células subsidiarias paralelas al eje mayor del poro y células guarda. También conocido como el tipo rubiáceo según Vesque (Fig. 3d).

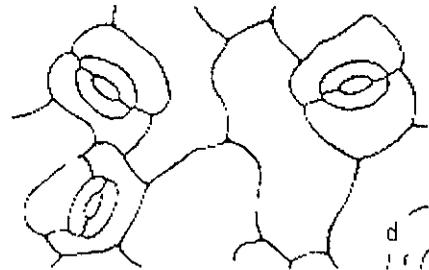


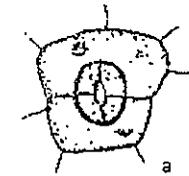
Fig. 3. Tipos de estomas según la clasificación morfológica de Metcalfe y Chalk: a, anomocíticos; b, anisocíticos; c, diacíticos; d, paracíticos (tomado de Esau, 1977).

En virtud de que las clasificaciones de estomas con antelación expuestas están basadas fundamentalmente en estudios con angiospermas y dado que el presente estudio se lleva a cabo con pteridofitas, es conveniente mencionar los tipos de estomas que han sido reportados en otras plantas a fin de ver en qué grupos se encuentra un mayor parecido con los aquí revisados.

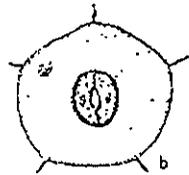
Foster y Gifford (1974) y Baranova (1992) reportan que la clasificación de Florin (1931, 1933) hace alusión a los estomas de gimnospermas y se basa en estudios ontogenéticos con este grupo de plantas; reconoce dos tipos de estomas: haploquélico, que se encuentra en Coniferales, Ginkgoales, Cycadales y en parte de los Gnetales (específicamente en *Ephedra*); sindetoquélico, que se encuentra en algunos miembros de los Gnetales, como en los géneros *Welwitschia* y *Gnetum*, así como en el orden fósil Bennettitales. En el tipo haploquélico la célula madre de las células guarda se divide sólo una vez, produciendo las dos células guarda. En el tipo sindetoquélico una célula primordial se divide produciendo inicialmente dos células, una se corta en el tercio medio y se convierte en la célula madre de las células guarda, de tal suerte que las células guarda y las células subsidiarias laterales se originan de una misma célula inicial.

Hacia 1970, Van Cotthem descubrió cinco tipos nuevos de estomas en helechos (Baranova, 1992), a saber (Fig. 4):

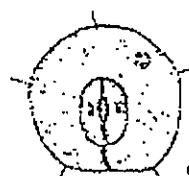
-Hipocítico: Dos células subsidiarias con un poro en su pared anticlinal común, arriba del cual las células guarda yacen en posición diacítica (Fig. 4a).



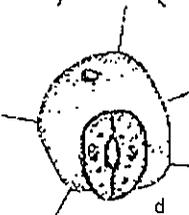
-Pericítico: Células guarda rodeadas por una sola célula subsidiaria; estoma no ligado con la célula subsidiaria por una pared anticlinal (Fig. 4b)



-Desmocítico: Células guarda rodeadas por una sola célula subsidiaria, pero con una pared celular anticlinal entre el estoma y la célula subsidiaria. Unión principalmente polar (Fig. 4c).



-Polocítico: Estoma unido al lado distal (marginopolar) de la célula subsidiaria, de tal modo que esta célula subsidiaria tiene forma de herradura (Fig. 4d).



-Estaurocítico: Estoma rodeado por cuatro (a veces tres o cinco) células subsidiarias similares con paredes anticlinales arregladas de forma cruzada a las células guarda; las células subsidiarias están más o menos elongadas radialmente (Fig. 4e).

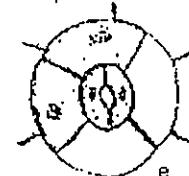
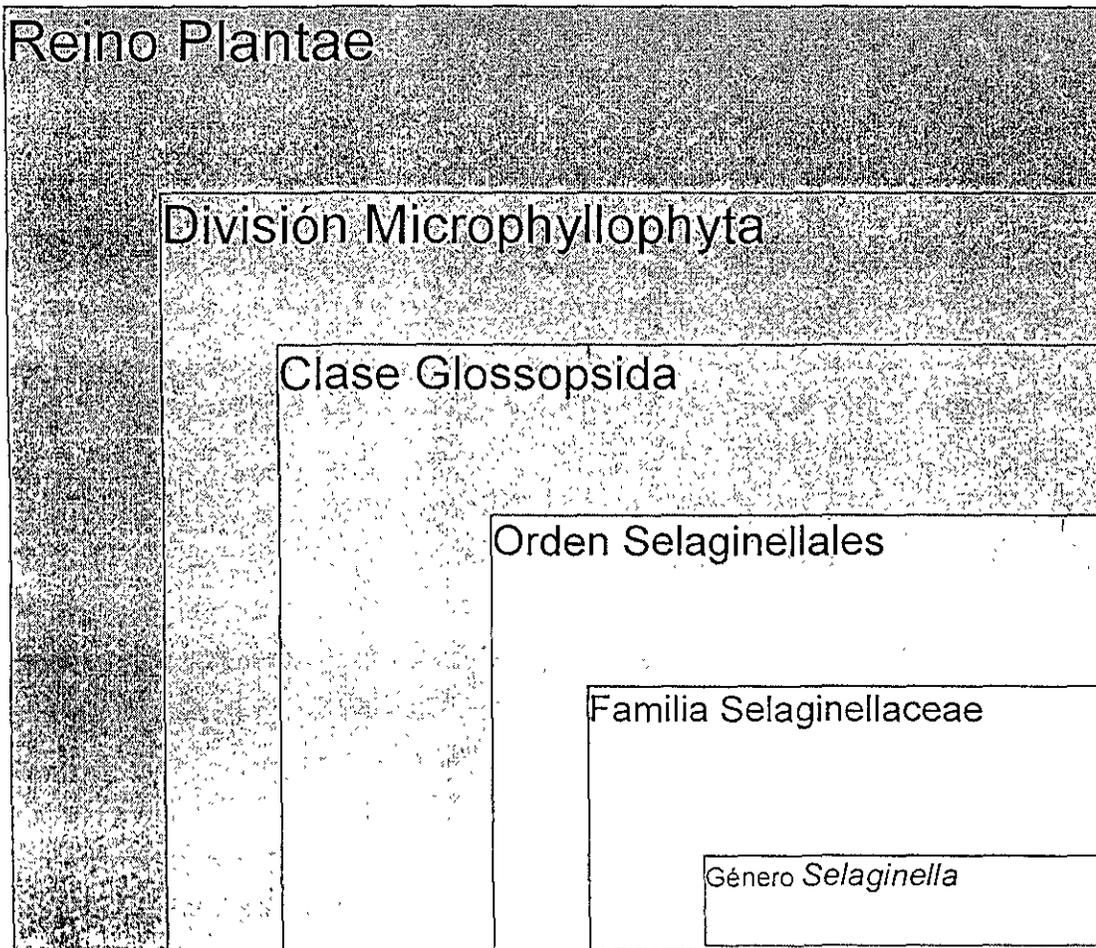


Fig. 4. Tipos de estomas según Van Cotthem: a, hipocítico; b, pericítico; c, desmocítico; d, polocítico; e, estaurocítico (tomado de Fryns-Claessens y Van Cotthem, 1973)

TIPOS DE HOJAS EN RELACIÓN A LA POSICIÓN DE LOS ESTOMAS

El número de estomas por unidad de área es variable incluso en diferentes partes de la misma hoja y en diferentes hojas de la misma planta. Pueden ocurrir en ambas caras de la hoja o sólo en una de ellas (Esau, 1977). En muchas coníferas, se encuentran en las dos superficies de la hoja, pero en ciertas taxa se restringen a la cara adaxial (superior) o abaxial (inferior) (Esau, 1977). En las hojas de muchas plantas herbáceas se encuentran en las dos superficies, pero generalmente son pocos estomas en la superficie superior. Por ejemplo, en la hoja de *Pinus* están en ambas superficies, por lo que la hoja se denomina "anfiestomática". Las hojas con estomas sólo en la superficie inferior, que se encuentran comúnmente en especies arbóreas, se denominan "hipostomáticas" y un ejemplo de ellas son las pertenecientes a *Pseudotsuga* (Foster y Gifford, 1974; Willmer, 1983). La disposición de los estomas en las caras foliares será un punto de interés, aunque no preponderante, en el presente trabajo.

CLASIFICACIÓN DEL GÉNERO *Selaginella* (Cronquist, 1961)



CARACTERÍSTICAS DE LA FAMILIA Selaginellaceae [Tomado de Ogura, 1972]

Esta familia contiene un género vivo, *Selaginella* y uno fósil, *Selaginellites*; el primero incluye cerca de 700 especies. Sus tallos son usualmente delgados y pueden ser de erectos a rastreros y su vástago fértil puede crecer erecto. Se ramifican dicotómicamente y aparentemente muestran ramificación simpodial. En algunas especies las hojas son isófilas y surgen en espiral, pero en la mayoría de las especies son anisófilas y arregladas en grupos dorsiventrales; en este último caso, el vástago puede ser aplanado. En algunas especies, como en *S. tamariscina*, numerosos tallos se juntan fuertemente para formar un grueso "tallo falso", en el que cada tallo crece libremente y en su parte superior los tallos y sus ramas se esparcen en forma de una corona. Aunque muchos de los tallos o ramas son más bien finos, pueden ser muy robustos; en tal caso, los tallos pueden perdurar en condiciones de sequía, como en el caso de *S. involvens*, *S. bryopteris* y *S. tamariscina*. Las raíces surgen de las ramificaciones de los tallos y se ramifican dicotómicamente.

Algunas especies de *Selaginellites*, los fósiles que muestran la forma de *Selaginella*, han sido descritos para el paleozoico desde hace tiempo, pero sus detalles fueron desconocidos hasta mediados de este siglo, cuando se describió la estructura anatómica en una especie, *Selaginellites crassicinctus*.

DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO *Selaginella* [Tomado de Mickel y Beitel, 1988]

Plantas terrestres o epipétricas, raramente epifíticas, postradas y rastreras a algunas veces ascendentes o por completo erectas, de poco a muy ramificadas; tallos con hojas pequeñas muy abundantes, isófilas y fuertemente imbricadas, arregladas en espiral en muchas filas, o más comúnmente anisófilas en cuatro filas, dos laterales o ventrales con mayor esparcimiento y dos medianas o dorsales adpresas y ascendentes en el lado superior del tallo, y hojas axilares en las axilas de las ramas; rizóforos (raíces) ya sea basales o a partir de los nudos (ramificaciones), ramificados dicotómicamente al tocar el suelo; hojas orbiculares a lineales con una sola vena y una lígula diminuta, hojas frecuentemente terminadas en una punta a modo de pelo o cabello (seta), completas a ciliadas-denticuladas, glabras o raramente hispídas en la superficie superior de la hoja; esporangios sésiles, generalmente en estróbilos de cuatro caras en posición terminal en las ramas, las esporófilas en cuatro filas y débilmente modificadas con respecto de las hojas vegetativas, usualmente monomórficas, raramente dimórficas; heterospóricas, micrósporas y megásporas en esporangios separados pero dentro del mismo estróbilo; microsporangios con cientos de micrósporas (de 10 a 31 ó 63 μm de diámetro); megasporangios con cuatro grandes megásporas (150-1500 μm de diámetro); esporas tetraédricas-globosas.

Selaginella probablemente tiene 600-700 especies, en su mayoría de regiones tropicales. Se han reconocido dos grupos principales, uno que contiene a las especies isófilas, que están principalmente en regiones secas de México y el oeste de Estados Unidos y el otro que abarca a las especies anisófilas, que representan por mucho la porción más grande del género y son de bosques húmedos tropicales.

DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS [Tomado de Mickel y Beitel, 1988]

Selaginella galeottii Spring (Fig. 5).

Tallos erectos a suberectos, enraizados en el tercio inferior, 3 mm diám., articulados, no flageliformes, no estoloníferos, estraminosos; rizóforos rectos, ca. 0.4-0.5 mm diám.; anisófila a todo lo largo; hojas laterales ovadas a oblongas-ovadas, hasta de 4.5 mm de longitud en el tallo principal, 3-4 mm de longitud en las ramas, rematando o disminuyendo en un ápice agudo, base truncada a subauriculada, con unión central a un ángulo de 45°, margen con pocos cilios, largos sólo en la base, por otra parte entero, margen basiscópico recurvado, superficie inferior algo lustrosa; hojas medias ovadas o lanceoladas, acuminadas, base auriculada casi igual, con algunos cilios en las aurículas, con uno o dos setas en cada aurícula; esporófilas monomórficas, verdes, ascendentes, nervaduras centrales no denticuladas, márgenes denticulados; megasporangios simples en la base del estróbilo; megásporas blancas a café claro, ca. 350 μm diám., con paredes muy reticuladas, blancas; micrósporas crema a beige pálido, con espinas cercanas entre sí.



Fig. 5. Vista dorsal del tallo articulado de *S. galeottii*, donde se nota la anisofilia a todo lo largo. Las micrófilas medias (m) tienen la cara adaxial en contacto con el tallo y son mucho más pequeñas que las micrófilas laterales (l); estas últimas se separan más del tallo y tienen la cara adaxial expuesta hacia arriba

Selaginella rhizophora Baker (Fig. 6). Tallos erectos a suberectos, 9-18 cm de longitud y hasta 0.8 mm de diám., enraizandos en la base, no articulados, ramas ocasionalmente flageliformes, ocasionalmente estoloníferas; rizóforos 0.1-0.2 mm de diámetro; anisófila a todo lo largo, hojas membranosas, glabras, con superficie lisa, plateadas debajo; hojas laterales estrechamente oblongas, hasta de 2.5 mm de longitud, ápice agudo, base redonda con unión subcentral, margen ciliado en la mitad basal del borde acroscópico y base del extremo de borde basiscópico, de otro modo diminutamente denticulado, con idioblastos esparcidos; hojas medias ovadas, largo-aristadas, base con una aurícula, margen con borde estrecho y blanco, largo-ciliadas, con cilios que varían en longitud a lo largo de toda la hoja; hojas axilares estrechamente oblongas, largo-ciliadas en la mitad inferior, exauriculadas; estróbilos con 1 mm de ancho, 3-4 mm de longitud; esporófilas monomórficas y de dos colores (las dos filas superiores (medias) son verdes, las filas inferiores (laterales) son incoloras), ascendentes, simétricas, con margen corto-ciliado y quilla estrecha, nervadura central denticulada cerca de la punta; megasporangios en dos filas ventrales, megásporas blancas, ca. 200-250 μm de diámetro, con reticulación somera; micrósporas rojo-naranjas, con papilas estrechas y a veces capitadas.



Fig. 6. Vista dorsal del tallo no articulado de *S. rhizophora*. Las micrófilas medias (m) tienen tricomas en el margen y su cara adaxial está en contacto con el tallo. Las micrófilas laterales (l) son más grandes que las medias y se localizan muy próximas entre sí; su cara adaxial está expuesta hacia arriba.

Selaginella sertata Spring (Fig. 7).

Tallos suberectos, enraizando en el cuarto inferior de la planta y en la porción flageliforme, generalmente de 10-20 cm de longitud, ca. 1 mm de diámetro, articulado, flageliforme en el ápice; anisófila por arriba de la primera rama del tallo; hojas laterales oblicuamente oblongas, 3-4 mm de longitud, ápice de afinado a agudo, base truncada con unión central, casi en ángulo recto con respecto al tallo, margen cortociliado hacia la base, denticulado; hojas medias oblicuamente ovadolanceoladas, muy acuminadas, base con una sola aurícula peltada, margen ciliado; hojas axilares lineares-oblongas, auriculadas con aurículas divergentes, ciliadas en la mitad inferior, denticuladas en la porción superior; esporófilas monomórficas, verdes, ascendentes; megasporangios solitarios en la base del estróbilo; megásporas grises, ca. 500 μm de diámetro, reticuladas con pocas o escasas excrescencias; micrósporas color crema, espinosas.



Fig. 7. Tallo articulado de *S. sertata* visto dorsalmente. Las micrófilas medias (m) son morfológicamente muy similares a las micrófilas laterales (l), sólo difieren en que el ápice de las micrófilas medias es notoriamente acuminado.

ESTUDIOS SOBRE ESTOMAS EN *Selaginella* Y OTRAS PTERIDOFITAS

A la fecha, se ha reportado que en las hojas de *S. breyneii*, *S. convoluta* y *S. mucosa*, los estomas son de tipo anomocítico, estando ausentes en ellos las células acompañantes (Barros, Mancilha, Santos y Sa, 1994). Estas especies, al igual que las del presente estudio, son anisófilas, por lo que se espera que existan también similitudes morfológicas en el tipo de estomas.

Por otro lado, en diversos estudios con *Selaginella*, se sabe que cambia el plano de división de la célula madre de las células guarda, con respecto al resto de las células epidérmicas, para lo que se modifica la disposición de los filamentos de actina de su citoesqueleto de radial a longitudinal, recobrándose la disposición radial en el fin de la división celular. En este proceso de división, los cloroplastos de la célula madre de las células guarda participan como organizadores centriolares (Brown y Lemmon, 1985; Cleary, Brown y Lemmon, 1992, 1993).

En estudios con otras pteridofitas, Baranova (1992) señala la clasificación de 5 tipos de estomas para helechos formulada por Van Cotthem, la cual se basa en la disposición de la pared de las células guarda, respecto a la pared de las células acompañantes. Asimismo, Rolleri *et al.* (1991), reportan los tipos de estomas en *Angiopteris*, *Danaea* y *Marattia*, colocándolos dentro de la clasificación de Van Cotthem.

IMPORTANCIA DEL GÉNERO *Selaginella*

Las tres especies de *Selaginella* fueron elegidas para desarrollar el presente trabajo en consideración a la gran importancia que este género tiene en distintos rubros científicos. La utilización de estas plantas es conocida en los estudios médicos para el desarrollo de drogas antitumorales, como agentes intermediarios del factor de necrosis tumoral (TNF) y el factor Meth A-DTH, que son algunos de los encargados de desencadenar muerte celular en células tumorales (Chao-Zhi y Dai-Kemin, 1996; Xu-Q, *et al.*; 1989; Mori-H, *et al.*; 1988; Janssen, *et al.*, 1993), además de su utilización en experimentos para el tratamiento de la diabetes en ratas (Miao-Naiquan, *et al.*, 1996).

Por otro lado, *Selaginella* es un taxón clave para entender los eventos tempranos en la diversificación de las plantas terrestres, incluyendo a las pteridofitas (grupo al que pertenece el género) y a las espermatofitas (plantas con semilla) (Renzaglia, Dengate y Bernhard, 1998). El registro fósil de *Selaginella* data del carbonífero y sus representantes actuales están distribuidos alrededor de todo el mundo. Su amplia distribución puede deberse en gran parte a la adquisición de heterosporia morfológica [producción de dos tipos de esporas que se encuentra asociada a cambios profundos en la morfología de la generación gametofítica (Cronquist, 1961)], hecho que le ha conferido distintas formas de liberación de sus esporas obteniendo alcances de colonización a mayores distancias con respecto a helechos homospóricos, al tiempo que es un fenómeno que se piensa dió la pauta para la formación de la semilla (Renzaglia, Dengate y Bernhard, 1998; Filippini, Holderegger y Schneller, 1997).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el tipo de estomas presentes en las especies *Selaginella galeottii*, *S. rhizophora* y *S. sertata* (Selaginellaceae) así como la morfometría de estomas y el índice estomático en cada una de ellas, estableciendo la correlación de tales datos anatómicos con las implicaciones taxonómicas, ecológicas y fisiológicas a fin de acrecentar el conocimiento que se tiene sobre estas especies vegetales.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener el índice estomático, el tipo de estomas y datos morfométricos de los mismos, de cada una de las especies.
- Comparar el índice estomático, dentro de cada una de las especies, entre hojas de diferente tipo.
- Establecer las implicaciones taxonómicas, ecológicas y fisiológicas que los distintos índices estomáticos y la morfología de los estomas confieren a las especies que los poseen.

MATERIAL

A fin de realizar el presente trabajo se utilizaron fragmentos de seis ejemplares de plantas pertenecientes a tres especies del género *Selaginella* (*S. galeottii*, *S. rhizophora* y *S. sertata*) obtenidos del material recolectado en el laboratorio de Plantas Vasculares de la Facultad de Ciencias, UNAM. Dichos ejemplares se incluyen en la colección de plantas del proyecto "Flora de Guerrero" vigente en el laboratorio antes citado y se encuentran en proceso de herborización, para integrarse después al herbario de esta facultad (FCME).

En cada uno de los ejemplares, se trabajó con los distintos tipos de hojas micrófilas que se presentan; teniendo en consideración que las tres especies son anisófilas. Fue similar el tratamiento que recibieron todas ellas, consistiendo en la aplicación de las técnicas de réplica (en pegamento transparente de secado rápido y en silicón fluido para impresiones dentales) y de transparentación.

El material de herbario empleado en este trabajo, se encontró debidamente determinado y etiquetado. En seguida se enuncian los datos de recolecta de cada ejemplar, especificándose nombre científico, nombre del recolector, número de recolecta, localidad, condiciones de crecimiento, fecha en que fueron recolectados, entre otros datos.

(1) *Selaginella galeottii* Spring

Municipio de Atoyac de Álvarez

Localidad: 1 km adelante de Nueva Delhi carretera de Atoyac a Puerto del Gallo

Altitud: 1300 msnm

Tipo de Vegetación: Bosque mesófilo (primaria)

Información ambiental: Ladera Este, sombreado en suelo color pardo rojizo

Asociada a Lobeliaceae y Compositae

Forma biológica: Hierba de 0.20 m

Abundante

Recolectada el 2 de mayo de 1984

Recolector: E. Velázquez. Número de recolecta: 366

(2) *Selaginella galeottii* Spring

Municipio de Atoyac de Álvarez

Localidad: 4 km adelante de El Molote camino a Puerto del Gallo

Altitud: 1410 msnm

Tipo de Vegetación: Restos de Bosque Mesófilo (secundaria)

Información ambiental: Ladera, en suelo de color amarillo con fase pedregosa

Asociada a Solanaceae, Rubiaceae y Ericaceae
 Forma biológica: Hierba de 0.50 m
 Abundante
 Recolectada el 15 de marzo de 1983
 Recolector: G. Lozano Valdez. Número de recolecta: 195

(3) *Selaginella rhizophora* Bak.

Municipio de José Azueta
 Localidad: Al sur del caserío La Vainilla
 Altitud: 250 msnm
 Tipo de Vegetación: Bosque Tropical Subcaducifolio (primaria)
 Información ambiental: Ladera del camino
 Forma biológica: Hierba
 Abundancia regular
 Recolectada el 28 de octubre de 1989
 Recolectores: C. Gallardo, F.Lorea y A.Hanan. Número de recolecta: 236

(4) *Selaginella rhizophora* Bak.

Municipio de San Marcos
 Localidad: Canadá al oeste de Agua Zarca
 Altitud: 440 msnm
 Tipo de Vegetación: Bosque Tropical Subcaducifolio
 Información ambiental: A lo largo del camino en suelo profundo
 Asociada a Melastomataceae, Gesneriaceae y Polypodiaceae.
 Forma biológica: Hierba
 Abundancia regular
 Recolectada el 21 de agosto de 1985
 Recolector: E. Velázquez. Número de recolecta: 631

(5) *Selaginella sertata* Spring

Municipio de José Azueta
 Localidad: Al sur del caserío La Vainilla
 Altitud: 250 msnm
 Tipo de Vegetación: Bosque Tropical Subcaducifolio (primaria)
 Información ambiental: Ladera del camino
 Forma biológica: Hierba de 0.10 m
 Abundancia regular
 Recolectada el 28 de octubre de 1989
 Recolectores: C. Gallardo, F.Lorea y Ávila. Número de recolecta: 76

(6) *Selaginella sertata* Spring

Municipio de Atoyac de Álvarez
 Localidad: Al norte del Río Santiago entre la desviación a El Porvenir y Santiago de la Unión
 Altitud: 730 msnm
 Tipo de Vegetación: Bosque Tropical Subcaducifolio (primaria)
 Información ambiental: Ladera Norte con cafetales en suelo negro profundo con mucha hojarasca
 Forma biológica: Hierba de 0.25 m
 Abundante
 Recolectada el 27 de julio de 1984
 Recolector: E.Velázquez. Número de recolecta: 451

UBICACIÓN DE SITIOS DE RECOLECTA

El estado de Guerrero está situado al sur de la República Mexicana sobre el Océano Pacífico y se localiza entre los 16°18' y 18°48' de latitud norte y los 98°03' y 102°12' de longitud oeste; su extensión territorial es de 64,282 km², que corresponden al 3.3% del territorio nacional; limita al norte con los estados de México y Morelos, al noroeste con Michoacán, al noreste con Puebla y al este con Oaxaca (SEPLAP, 1985).

Este estado está localizado en una zona fundamentalmente intertropical, sin embargo, dada la variación altitudinal en su superficie, permite la existencia de múltiples tipos climáticos y, por tanto, de variados tipos de vegetación. En el caso de las especies aquí estudiadas, todas son de zonas de abundante humedad.

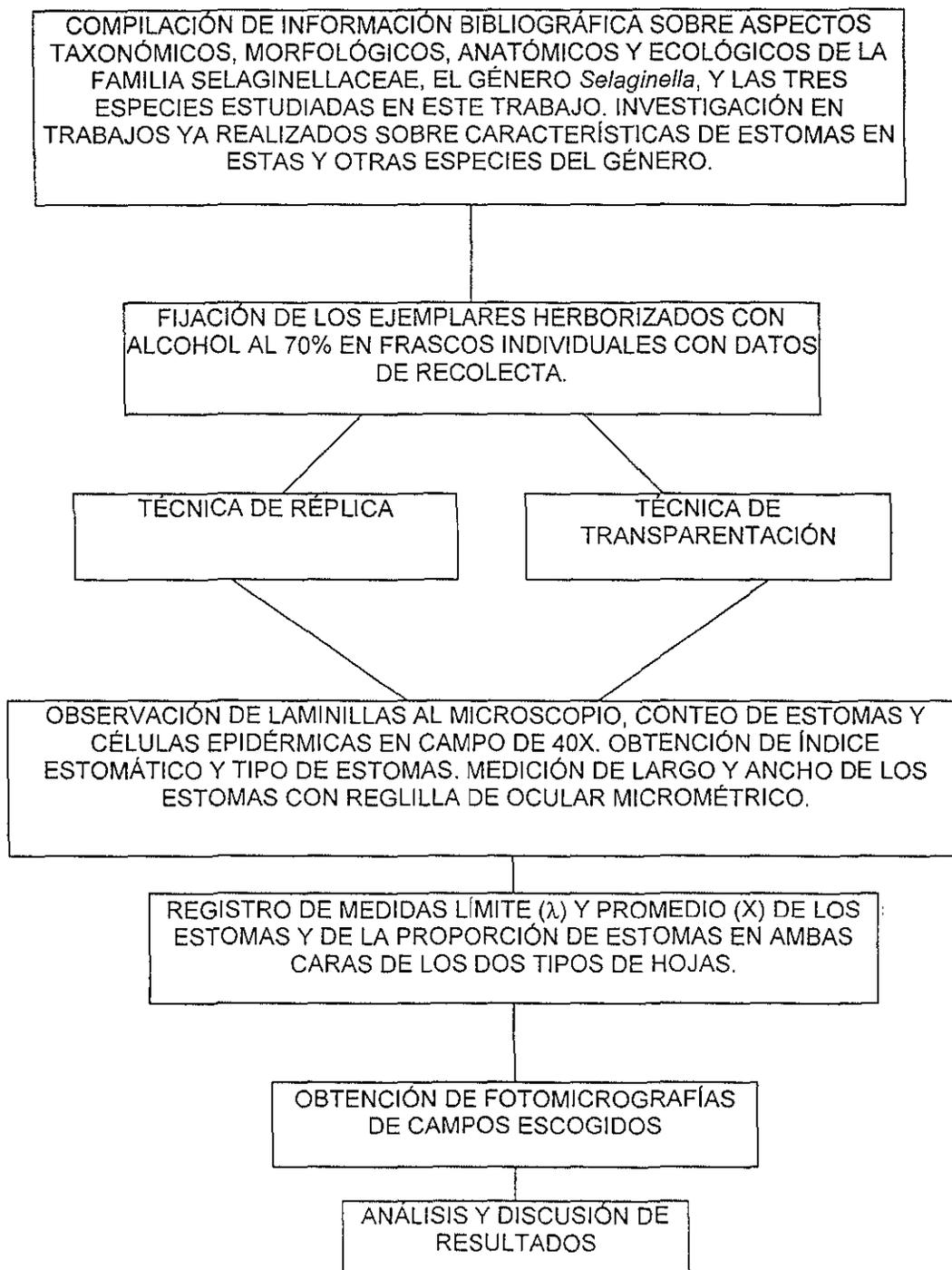
En la Fig. 8 se presenta la ubicación, frente a la costa del océano Pacífico que tienen los sitios de recolecta de los ejemplares de las tres especies de *Selaginella* empleadas en este trabajo.



Fig 8. Ubicación de sitios de recolecta de los ejemplares de *Selaginella* empleados en este trabajo. (1) *S. galeottii* E.V.366; (2) *S. galeottii* L.V.195; (3) *S. rhizophora* G.L.H. 236; (4) *S. rhizophora* E.V. 631; (5) *S. sertata* G.L.A. 76; (6) *S. sertata* E.V. 451.

METODOLOGÍA

DIAGRAMA DE FLUJO



TÉCNICA DE RÉPLICA

Antes de proceder a la realización de las técnicas, los fragmentos de los seis ejemplares herborizados fueron fijados. El proceso de fijación consistió en poner cada uno de los fragmentos de los ejemplares en agua hirviente durante 5 minutos, colocándose posteriormente en frascos individuales con etanol al 70%, teniendo cada frasco la información de recolecta de cada ejemplar.

El uso de réplicas transparentes es un método conveniente para el estudio microscópico de superficies (Sampson, 1961). En este caso la técnica de réplica fué hecha de dos modos, con dos tipos diferentes de material, uno de ellos consistió en un pegamento transparente de alta adhesividad y secado rápido, mientras que el otro consistió en un silicón fluido para impresiones dentales. Todo ello fué utilizado para obtener impresiones de las micrófilas laterales al tallo, es decir, las más grandes, pues las hojas más pequeñas o medias se colapsaron rápidamente al separarlas del tallo o fueron fácilmente embebidas por el material en que se colocaron para sacar la impresión.

El primer modo en que se realizó esta técnica fué empleando un pegamento transparente de secado rápido de la siguiente manera:

- Se colocó una pequeña gota del pegamento sobre un portaobjetos y sobre ella, inmediatamente después, la micrófila cuya impresión se deseó obtener, con la cara correspondiente (haz o envés) hacia abajo; se utilizaron unas pinzas de relojero (de punta fina) para desprender la micrófila del tallo. Antes de colocar la micrófila sobre el pegamento, ésta debió estar perfectamente seca, sin llegar a colapsarse.
- Se presionó ligeramente la micrófila sobre el pegamento, cuidando que ésta no fuese embebida en el mismo.
- Después de cerca de treinta segundos se retiró la micrófila del pegamento una vez seco, para ello se usaron las pinzas de relojero, cuidando de no romper la micrófila y no dañar la impresión.
- Se colocó un cubreobjetos sobre la impresión así obtenida, sellándolo al portaobjetos con barniz para uñas, transparente.

La segunda forma en que se realizó esta técnica fué con ayuda de material dental para impresiones de precisión (marca "Exactoden"). Dicho material está hecho a base de silicón fluido, que fué preparado mezclando la base con el endurecedor:

- Una vez preparada la pasta, ésta se extendió y se colocó la micrófila del ejemplar herborizado sobre ella y se presionó la cara de la micrófila que se replicaría (haz o envés).
- Se dejó secar la pasta hasta que la micrófila se desprendía con facilidad y no sufría daños (tiempo aproximado de treinta segundos). De este modo se obtuvo la impresión de la micrófila o negativo de la muestra. Habiendo obtenido un molde con el negativo de cada micrófila, se colocó cada uno de ellos sobre un papel absorbente a fin de eliminar el exceso de humedad, dejándolos secar durante un tiempo cercano a una semana.
- Al cabo del tiempo de secado del molde, se colocó sobre el negativo de la muestra una delgada capa de barniz para uñas y se dejó secar cerca de diez segundos.
- Se retiró cuidadosamente la capa de barniz ya seco con unas pinzas de relojero y se colocó sobre un portaobjetos. El barniz constituyó la impresión en positivo de la micrófila.
- Finalmente fue puesto un cubreobjetos sobre el positivo de la micrófila y se selló al portaobjetos con barniz para uñas, transparente.

El tipo de técnica de réplica en que se empleó el pegamento transparente ofreció la ventaja de ser mucho más económico que en la que se usó el silicón fluido para impresiones dentales (material de alto costo); además, la técnica en que se usó el pegamento fue más directa, pues permitió obtener una gran cantidad de laminillas con menos material y en un menor período de tiempo. No obstante, el empleo del silicón facilita obtener muchas réplicas de una misma micrófila.

TÉCNICA DE TRANSPARENTACIÓN

Dado que las hojas micrófilas de las tres especies con las que se trabajó difieren en tamaño y posición dentro de un mismo individuo, es decir, son anisófilas, la técnica de transparentación se eligió para tratar a las hojas que se localizan en la porción media al tallo, que son las más pequeñas.

Originalmente, se había planteado usar la técnica de disociado mecánico, la cual involucra la separación de la epidermis del órgano que se quiera estudiar, seguida de la transparentación y tinción de la misma (D'ambrogio de Argüeso, 1986). Sin embargo, en este caso no fue realizada la separación de la epidermis de las hojas a estudiar, debido al reducido tamaño de dichas hojas.

Se realizó entonces la técnica de transparentación de la siguiente manera:

- Se colocó una gota de blanqueador comercial (hipoclorito de sodio) en uno de los extremos de un portaobjetos y en ella se embebió la micrófila, de tal modo que la cara a observar quedara opuesta a la superficie del portaobjetos.
- Una vez transparentada la micrófila, después de un intervalo de tiempo de entre cinco y diez minutos, se retiró el blanqueador con papel secante.
- Se agregó sobre la micrófila una pequeña gota de colorante diluído (Azur A French al 0.1%).
- Se retiró el colorante con papel secante al transcurrir un tiempo cercano a siete minutos.
- Se agregó una cantidad reducida de jalea glicerizada en el otro extremo del portaobjetos y se calentó hasta derretirla, embebiendo en ella después la micrófila ya teñida.
- Se colocó un cubreobjetos sobre la jalea, concluyendo así el montaje de la micrófila.
- Se aplicó una capa de barniz para uñas en las orillas del cubreobjetos para sellarlo.

Las laminillas obtenidas gracias a estas dos técnicas permitieron determinar el índice estomático y tipo de estomas de cada especie estudiada, así como obtener los datos morfométricos de los estomas. Asimismo, de campos escogidos, se obtuvieron fotomicrografías con ayuda de un fotomicroscopio Karl Zeiss.

ÍNDICE ESTOMÁTICO

Para obtener el número de estomas por unidad de área foliar en las respectivas caras de las micrófilas de *Selaginella*, se procedió a contar todos los estomas que se observaron en un campo de 40X en un microscopio fotónico marca Nikon. Del mismo modo, sin modificar el campo visual, se contaron todas las células epidérmicas observadas que diferían de los estomas. Algunos conteos se realizaron en campo oscuro, para poder evidenciar las paredes de las células epidérmicas, pues éstas son muy delgadas.

Una vez obtenidos los datos numéricos, de cada una de las caras de los distintos tipos de micrófilas en todos los ejemplares, se calculó para ellas el índice estomático, utilizando la fórmula propuesta por Salisbury en 1928 (Willmer, 1983):

$$I.E. = (N.E./N.E.+N.C.E.) \times 100$$

donde: I.E.= índice estomático; N.E.= número de células estomáticas por unidad de área foliar; N.C.E.= número de células epidérmicas ordinarias por unidad de área foliar.

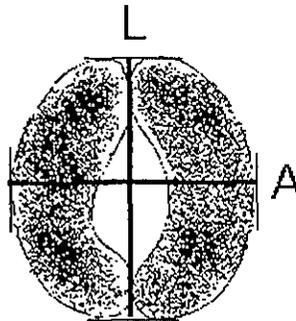
TIPO DE ESTOMAS

Se observaron cuidadosamente los estomas y las células epidérmicas ordinarias de las micrófilas en todas las laminillas en objetivo de 40X y se determinó el tipo de estomas mediante su comparación con las ilustraciones que Baranova (1987) y Esau (1977) reportan para los tipos morfológicos de estomas.

DATOS MORFOMÉTRICOS

A fin de determinar las medidas de los estomas en las micrófilas estudiadas se empleó una reglilla de ocular micrométrica; todas las medidas se realizaron en el campo de 40X. En aquellas preparaciones donde fueron observados un buen número de estomas, se midió un mínimo de treinta estomas; en las que la abundancia de estomas fue regular se midieron sólo diez y, si eran escasos los estomas, en algunas preparaciones se midieron todos los estomas observados. Las medidas de los estomas se tomaron de la siguiente manera:

L= largo= eje mayor del estoma
A= ancho= eje menor del estoma



Todas las medidas fueron multiplicadas por el factor de calibración del microscopio en el objetivo de 40X (en este caso de $0.38 \mu\text{m}/\text{u.o.}$), para que los resultados estuviesen dados en micrómetros, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Tamaño } (\mu\text{m}) = \# \text{ u.o.} \times \text{factor de calibración } (\mu\text{m}/\text{u.o.})$$

donde: u.o.= unidades oculares

RESULTADOS

TIPO DE ESTOMAS

En todos los ejemplares se observó que los estomas son de tipo anomocítico, de acuerdo con la clasificación propuesta por Metcalfe y Chalk (1979), pues las células epidérmicas asociadas a los estomas no presentaron diferencias morfológicas respecto al resto de las células de la epidermis, de modo que, al no haber células acompañantes, el estoma estuvo representado únicamente por las células guarda. Con ello, el aparato o complejo estomático en todas las especies estudiadas estuvo conformado por dos células guarda rodeando al poro central y las células vecinas son similares al resto de las células epidérmicas.

OBSERVACIONES CORRESPONDIENTES A LAS MICRÓFILAS LATERALES (GRANDES)

En *S. galeottii* (E.V. 366) no se observaron estomas en el haz (cara adaxial) de las hojas laterales; lo mismo sucedió con el segundo ejemplar de *S. galeottii* (Lozano Valdez 196) en el que sólo se encontraron los estomas en el envés (cara abaxial) de las hojas laterales. En esta cara de las hojas laterales de ambos ejemplares, son numerosos los estomas, sobre todo hacia la zona de la vena media de la micrófila, región donde se distribuyen en filas transversales muy próximas entre sí, teniendo cada una de estas filas de 4 a 5 estomas de longitud, formando una gran franja longitudinal de estomas en la parte central de la micrófila (Fig. 9). En estos mismos ejemplares se observaron algunos estomas diseminados en el resto de la lámina foliar (superficie de la micrófila), pero son mucho menos numerosos que los que están hacia el centro. Por lo anterior puede decirse que las hojas laterales (las de mayor tamaño en toda la planta) de *Selaginella galeottii* no presentan estomas en el haz.

Respecto a *S. rhizophora* (Gallardo, Lorea, Hanan 236), los estomas que se presentaron en la cara abaxial (envés) de las hojas laterales, estuvieron distribuidos mayoritariamente hacia la vena media; ahí forman filas transversales de tres estomas de longitud, lo que significa que presentan aproximadamente la misma disposición que en el envés de las micrófilas laterales de *S. galeottii*, salvo que son menos abundantes que en aquella (Fig. 10). En la cara adaxial (haz) se presentan sólo escasos estomas, cuya distribución se circunscribe al extremo izquierdo de la superficie, sitio en el que se encuentran diseminados (Fig. 11).

El segundo ejemplar de esta misma especie, es decir, *S. rhizophora* (E.V.631) también presenta estomas en el envés, ubicados en filas transversales de 4 ó 5 estomas en la parte de la vena media. No se observaron estomas hacia la periferia de la superficie foliar (Fig. 12). En el haz de las hojas de este ejemplar se observaron sólo algunos estomas ubicados hacia el extremo izquierdo de la superficie de la micrófila; por lo que puede afirmarse que *Selaginella rhizophora* presenta estomas en ambas caras de sus hojas laterales con la particularidad de que son inconspicuos en la cara adaxial o haz.

En relación a *S. sertata* (Gallardo, Lorea, Ávila 76), se presentan estomas en el envés, con disposición similar a la de la cara abaxial de las especies anteriores, es decir, se forman filas transversales de 2 a 3 estomas de longitud, a todo lo largo de la vena media. También se encontraron algunos hacia el resto de la lámina foliar (Fig. 13). Los estomas en la cara adaxial son muy escasos, apenas llegan a ser diez.

Para *S. sertata* (E.V 451), se observaron estomas en el envés con disposición en filas transversales con 4 a 5 estomas de longitud y restringidos a la zona de la vena media (Fig. 14), asimismo, se encontraron algunos estomas dispersados en la periferia de la superficie foliar. En la cara adaxial de las micrófilas laterales de este mismo ejemplar no se presentan estomas.

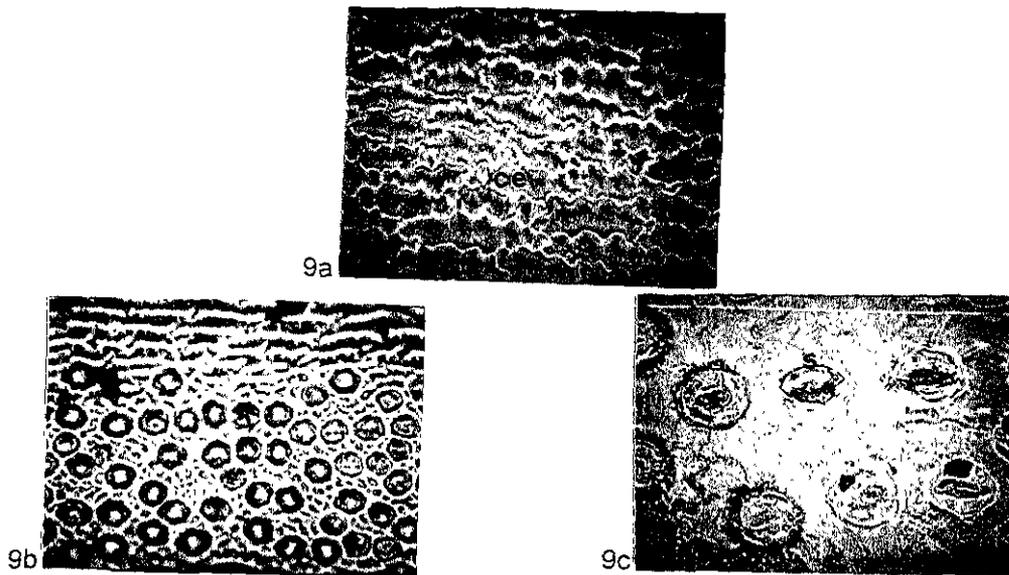
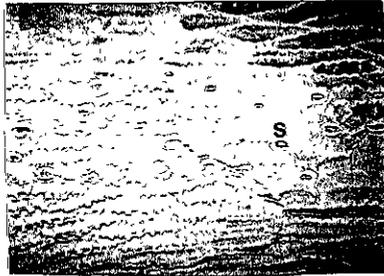


Fig. 9. *S. galeottii*: 9a, células epidérmicas en la cara adaxial, donde no se presentan estomas (Esc.1cm=59 μ m). 9b, cara abaxial, estomas distribuidos hacia la zona de la vena media, donde forman una franja de 4 a 5 estomas de espesor (Esc.1cm=7.69 μ m). 9c, estomas anomocíticos, en el centro de la superficie abaxial de las micrófilas laterales (9c; Esc.1cm=2.48 μ m).



10a



10b

Fig. 10. *S. rhizophora*: 10a y 10 b, estomas anomocíticos distribuidos hacia la vena media de la cara abaxial de las micrófilas laterales (Esc.1cm=6.17 μ m).

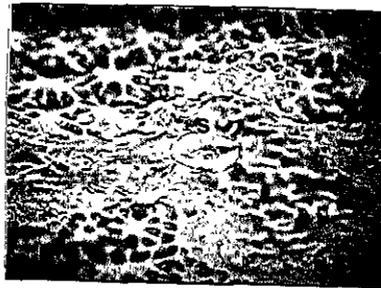


Fig. 11. *S. rhizophora*: estoma localizado hacia la orilla de la superficie adaxial (Esc.1cm=1.89 μ m).



Fig. 12. *S. rhizophora*: células epidérmicas hacia el extremo de la superficie abaxial. Es notoria su forma regularmente isodiamétrica y su pared celular ondulada (Esc.1cm=3.03 μ m).

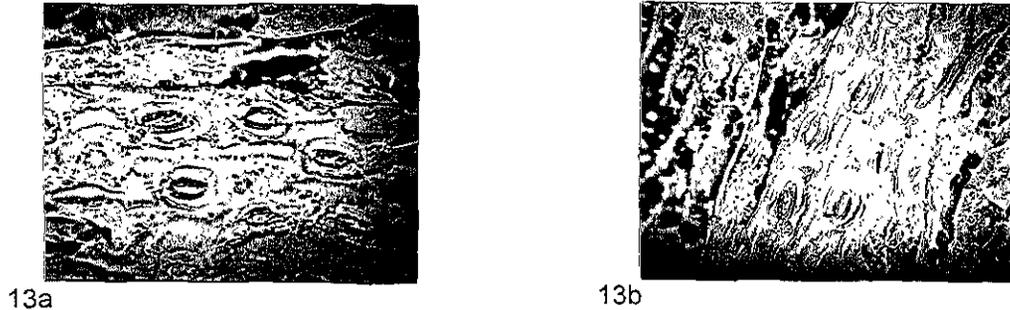


Fig. 13. *S. sertata*: 13a (Esc.1cm =2.48 μ m) y 13b (Esc.1cm=3.03 μ m), filas longitudinales de estomas anomociticos en la cara abaxial. Es notorio que la franja de estomas en la vena media es menos gruesa que en las otras especies.

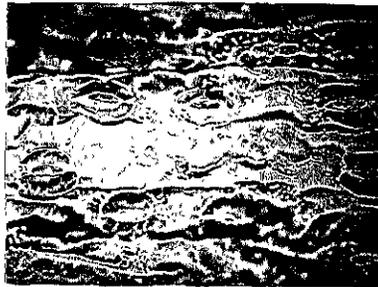


Fig. 14. *S. sertata* : franja central de estomas en la superficie abaxial. En esta región es donde se localiza la mayor proporción de estomas (Esc.1cm=2.03 μ m)

OBSERVACIONES CORRESPONDIENTES A LAS MICRÓFILAS MEDIAS (PEQUEÑAS)

En el envés de las hojas medias de *S. galeottii* (E.V. 366) los estomas son numerosos, aunque en menor cantidad que los de las hojas laterales de este mismo ejemplar; no obstante, presentan la misma disposición que aquellos (Fig. 15); sucede del mismo modo en *S. galeottii* (Lozano Valdez 195), teniéndose incluso la misma disposición en filas transversales hacia la vena media (Fig. 16). En la cara adaxial no se presentan estomas (Fig. 17).

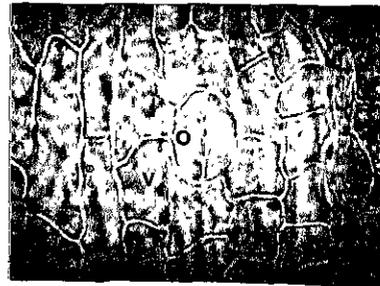
Las hojas medias de *S. rhizophora* (Gallardo, Lorea, Hanan 236) exhiben estomas en ambas de sus superficies, teniendo casi la misma abundancia, así como la disposición, que es también similar a la de los casos anteriores. Ésto quiere decir que, mientras en el envés son numerosos los estomas, en el haz

son regularmente numerosos y en ambas caras se ubican en mayor proporción hacia la vena media (Fig. 18). Ocurre lo mismo con los estomas en las hojas medias de *S. rhizophora* (E.V. 631), pues también presenta estomas en las dos superficies (Fig. 19).

Respecto a *S. sertata* (Gallardo, Lorea, Ávila 76), ésta presenta estomas en las dos caras de sus hojas medias, con la disposición ya expuesta para los casos anteriores (Fig. 20); sin embargo, su abundancia es regular, pues no son escasos, pero no llegan a ser treinta. Se observa el mismo comportamiento en *S. sertata* (E.V. 451) (Fig. 21).



15a

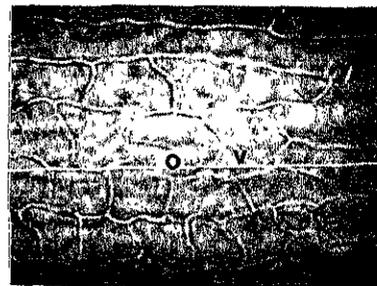


15b

Fig. 15. Estomas localizados hacia la vena media en la cara abaxial de las micrófilas medias de *S. galeottii* (E.V. 366). Su disposición es similar a la de las micrófilas laterales, pero es menor la intensidad de la franja (15a; Esc.1cm=2.48 μ m). Es claramente notable el carácter anomocítico de estos estomas (15b; Esc.1cm=1.89 μ m); se localizan células oclusivas (o) y células vecinas (v).



16a



16b

Fig. 16. Franja de estomas al centro de la cara abaxial de las micrófilas medias de *S. galeottii* (L.V. 195) (16a; Esc.1cm=3.03 μ m), con la misma disposición que en *S. galeottii* (E.V. 366). En este ejemplar los estomas son también anomocíticos (16b; Esc.1cm=1.89 μ m).

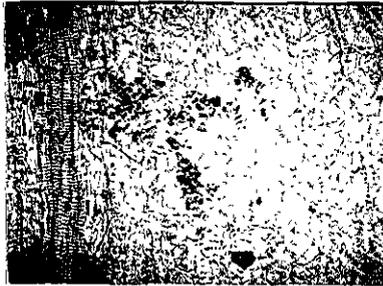
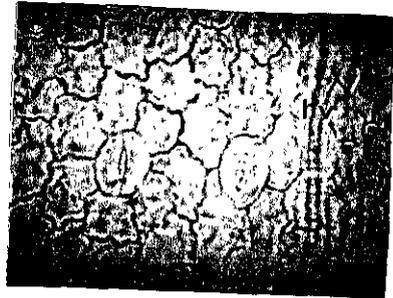


Fig. 17. Superficie adaxial de las micrófilas medias de *S. galeottii*, donde no se presentan estomas. Hacia la izquierda se observa el haz vascular (hv), que corresponde a la vena media, en el centro de la micrófila (Esc.1cm=3.03 μ m).

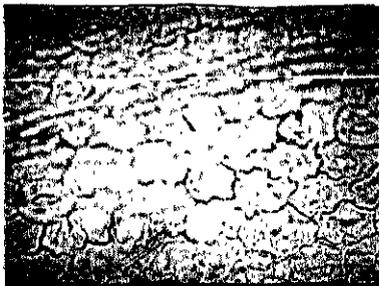


18a



18b

Fig. 18. Superficie abaxial en micrófilas medias de *S. rhizophora*. Los estomas se distribuyen mayoritariamente hacia la vena media (18a; Esc.1cm=2.48 μ m) y se encuentran muy próximos entre sí (18b; Esc.1cm=1.89 μ m). En ambos casos puede notarse el haz vascular (hv) (vena media).



19a



19b

Fig. 19. Estomas en las micrófilas medias de *S. rhizophora* (E.V. 631). En la cara adaxial los estomas se distribuyen hacia la vena media (19a; Esc.1cm=2.489m), pero se encuentran regularmente separados, estando más cercanos entre sí en la cara abaxial (19b; Esc.1cm=1.89 μ m).

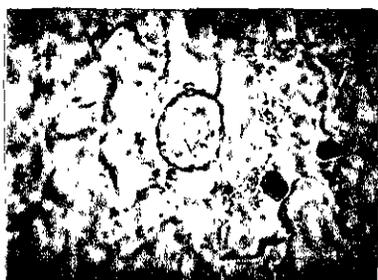


20a

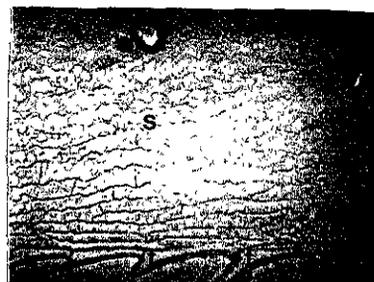


20b

Fig. 20. En *S. sertata* (G.L.A. 76) se presentan estomas tanto en la cara adaxial (20a; Esc.1cm=2.48 μ m) como en la abaxial (20b; Esc.1cm=2.48 μ m) con disposición y abundancia similares en ambas caras.



21a



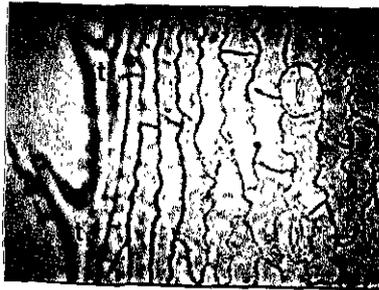
21b

Fig. 21. Estoma anomocítico localizado hacia el centro de la superficie adaxial en una micrófila media de *S. sertata* (E.V. 451) (21a; Esc.1cm=1.89mm). En la figura 21b (Esc.1cm=5mm) se muestra la cara abaxial de una micrófila media de este mismo ejemplar en donde se aprecia un estoma (s) y los tricomas unicelulares (t) hacia el margen (margen denticulado).

Cabe señalar que todas las micrófilas de todos los ejemplares poseen un mesófilo [tejido fotosintético de una hoja, localizado entre sus dos capas de células epidérmicas (Esau, 1977; Mauseth, 1988)] extremadamente delgado, cualidad que fué aprovechada para realizar la técnica de transparentación en las hojas medias de todos los ejemplares, siendo incluso posible observar los haces vasculares al interior de las mismas. Asimismo, se observaron prolongaciones a modo de tricomas, localizados en el margen de las micrófilas y orientados hacia el ápice de las mismas (Fig. 22); ésto es lo que desde el punto de vista de la morfología externa se denomina "margen denticulado".



22a



22b

Fig. 22. El escaso grosor del mesófilo permite ver caracteres como el haz vascular (hv) al interior de la micrófila (22a; Esc.1cm=3.03 μ m). Se observan tricomas unicelulares (t) que conforman el margen denticulado de las micrófilas medias de algunos ejemplares, como en *S. rhizophora* y *S. sertata* (22b; Esc.1cm=3.03 μ m).

En las figuras 23 y 24 se muestran dos cuadros comparativos que describen la proporción y tamaño de los estomas, así como el índice estomático, para ambos tipos de hojas en haz y envés de todos los ejemplares. Los datos de estos cuadros exponen, además del tamaño promedio de los estomas en las micrófilas de todos los ejemplares, el tamaño límite que los estomas pueden tener, o bien, el intervalo en el que se sitúan sus dimensiones, pues en trabajos similares han sido expuestos de esta manera (Rolleri et al., 1991), sólo que en esta ocasión, tal parámetro está simbolizado por la letra λ .

| EJEMPLAR O ESPECIE | PROPORCIÓN DE ESTOMAS EN HAZ | PROPORCIÓN DE ESTOMAS EN ENVÉS | TAMAÑO X DE ESTOMAS HAZ | TAMAÑO X DE ESTOMAS ENVÉS | TAMAÑO λ DE ESTOMAS HAZ | TAMAÑO λ DE ESTOMAS ENVÉS | I.E. EN HAZ | I.E. EN ENVÉS |
|-------------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------|---------------|
| <i>Selaginella galeottii</i> (E.V. 366) | No se observaron estomas | Numerosos | — | 2.94X2.19 (μm) | — | 2.66-3.8 X 1.72-2.66 | — | 38.15 |
| <i>Selaginella galeottii</i> (L.V. 195) | No se observaron estomas | Numerosos | — | 2.66X1.82 (μm) | — | 1.9-3.42 X 1.14-2.47 | — | 41.6 |
| <i>Selaginella rhizophora</i> (G,L,H 236) | Escasos Sólo en uno de los márgenes | Numerosos | 2.14X1.22 (μm) | 2.39X1.64 (μm) | 1.9-2.28 X 1.14-1.33 | 1.9-3.04 X 1.14-1.9 | 1.88 | 30.35 |
| <i>Selaginella rhizophora</i> (E.V. 631) | Escasos Sólo en uno de los márgenes | Numerosos | 2.34X1.29 (μm) | 2.36X1.35 (μm) | 1.9-2.66 X 1.14-1.71 | 2.09-2.66 X 1.14-1.52 | 5.71 | 37.5 |
| <i>Selaginella sertata</i> (G,L,A 76) | Escasos No llegan a ser diez | Numerosos | 2.19X1.33 (μm) | 2.19X1.39 (μm) | 1.9-2.28 X 1.14-1.52 | 1.9-2.66 X 1.14-1.71 | 4.3 | 26.66 |
| <i>Selaginella sertata</i> (E.V. 451) | No se observaron estomas | Numerosos | — | 2.45X1.46 (μm) | — | 1.52-3.04 X 1.14-1.9 | — | 33.66 |

Fig. 23. Cuadro comparativo de datos para hojas laterales. El símbolo X representa el tamaño promedio de largo y ancho de los estomas. El símbolo λ indica el intervalo de valores en que pueden situarse las medidas de largo y ancho de los estomas.

| EJEMPLAR O ESPECIE | PROPORCIÓN DE ESTOMAS EN HAZ | PROPORCIÓN DE ESTOMAS EN ENVÉS | TAMAÑO X DE ESTOMAS HAZ | TAMAÑO X DE ESTOMAS ENVÉS | TAMAÑO λ DE ESTOMAS HAZ | TAMAÑO λ DE ESTOMAS ENVÉS | I.E. EN HAZ | I.E. EN ENVÉS |
|-------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------|---------------|
| <i>Selaginella galeottii</i> (E.V. 366) | No se observaron estomas | Numerosos | _____ | 2.83X1.99 (μm) | _____ | 2.28-3.42 X 1.52-2.28 | _____ | 37.5 |
| <i>Selaginella galeottii</i> (L. V. 195) | No se observaron estomas | Numerosos | _____ | 2.74X1.66 (μm) | _____ | 2.28-3.04 X 1.33-2.28 | _____ | 27.77 |
| <i>Selaginella rhizophora</i> (G.L,H 236) | Regularmente numerosos | Numerosos | 2.22X1.51 (μm) | 2.26X1.54 (μm) | 1.9-2.66 X 0.76-1.9 | 1.19-2.66 X 1.14-1.9 | 15.93 | 7.76 |
| <i>Selaginella rhizophora</i> (E.V.631) | Regularmente numerosos | Numerosos | 2.19X1.62 (μm) | 2.38X1.61 (μm) | 1.9-2.85 X 1.14-2.36 | 1.9-2.66 X 1.33-1.9 | 12.69 | 13.40 |
| <i>Selaginella sertata</i> (G.L,A 76) | Regularmente numerosos | Regularmente numerosos | 2.32X1.5 (μm) | 2.44X1.4 (μm) | 1.9-2.66 X 1.14-1.9 | 1.9-2.85 X 0.95-1.71 | 18.92 | 13.18 |
| <i>Selaginella sertata</i> (E.V. 451) | Regularmente numerosos | Regularmente numerosos | 2.55X1.68 (μm) | 2.64X1.49 (μm) | 2.28-2.85 X 1.14-2.28 | 2.28-3.42 X 1.14-1.9 | 10.16 | 15.62 |

Fig 24. Cuadro comparativo de datos para hojas medias. El símbolo X representa el tamaño promedio de largo y ancho de los estomas. El signo λ indica el intervalo de valores en que pueden situarse las medidas de largo y ancho de los estomas.

En las figuras 25, 26, 27 y 28, se presentan los gráficos en que se comparan los valores de índice estomático para ambas caras de los dos tipos de micrófilas en todos los ejemplares de las tres especies de *Selaginella*.

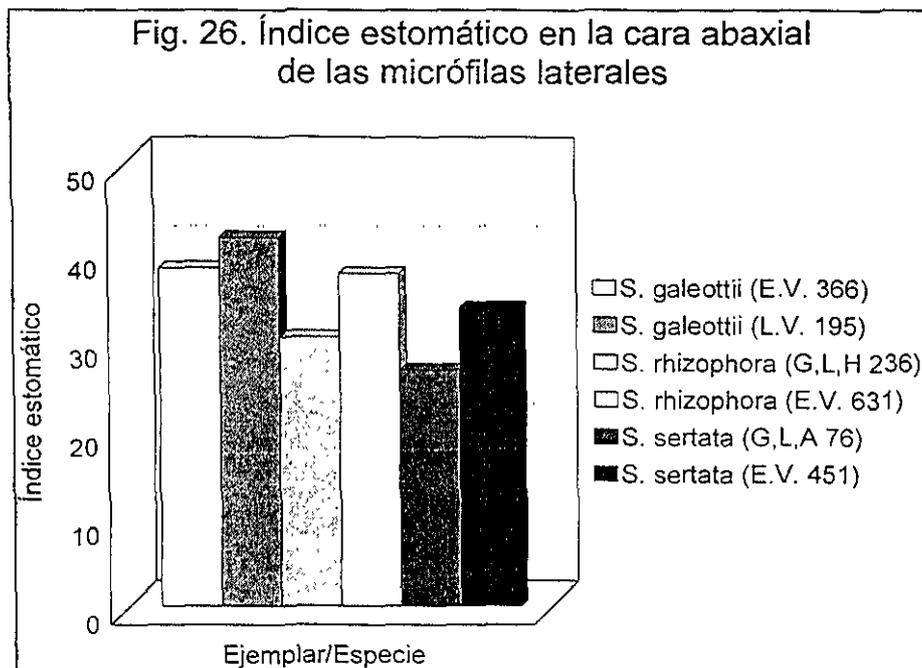
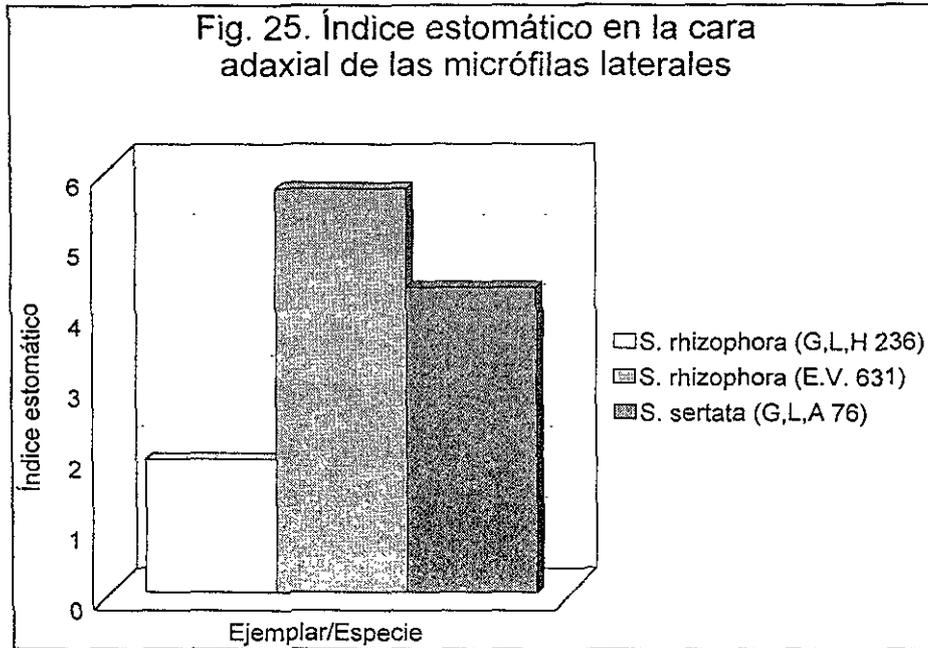
El primer gráfico muestra que el índice estomático en la cara adaxial de las micrófilas laterales de *S. rhizophora* fué de 1.88 para el ejemplar (Gallardo, Lorea, Hanan 236) y de 5.71 para *S. rhizophora* (E. Velázquez 631), datos muy distintos entre sí; siendo que el índice estomático para *S. sertata* (Gallardo, Lorea, Ávila 76) fue de 4.3. Se reportan sólo estos tres datos debido a que son los únicos ejemplares cuyas micrófilas laterales presentaron estomas en el haz.

En el segundo gráfico se aprecian los índices estomáticos en la cara abaxial o envés de este mismo tipo de micrófilas, sólo que esta vez es para todos los ejemplares. Puede verse que los dos ejemplares de *S. galeottii* difieren en 3.1 unidades, mientras que los correspondientes a *S. rhizophora* difieren en 7.15 unidades y los de *S. sertata* en 7 unidades.

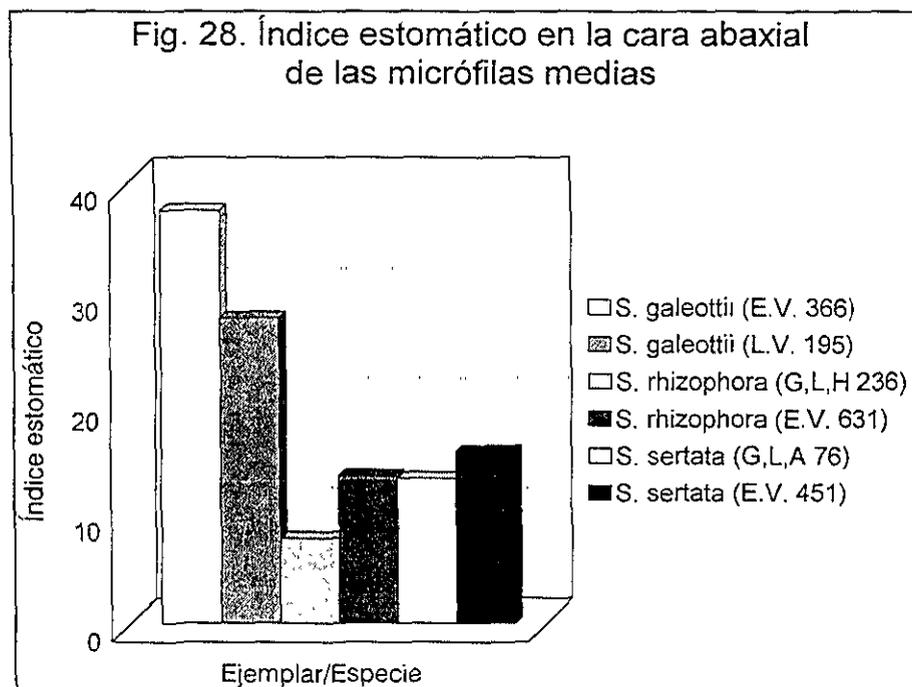
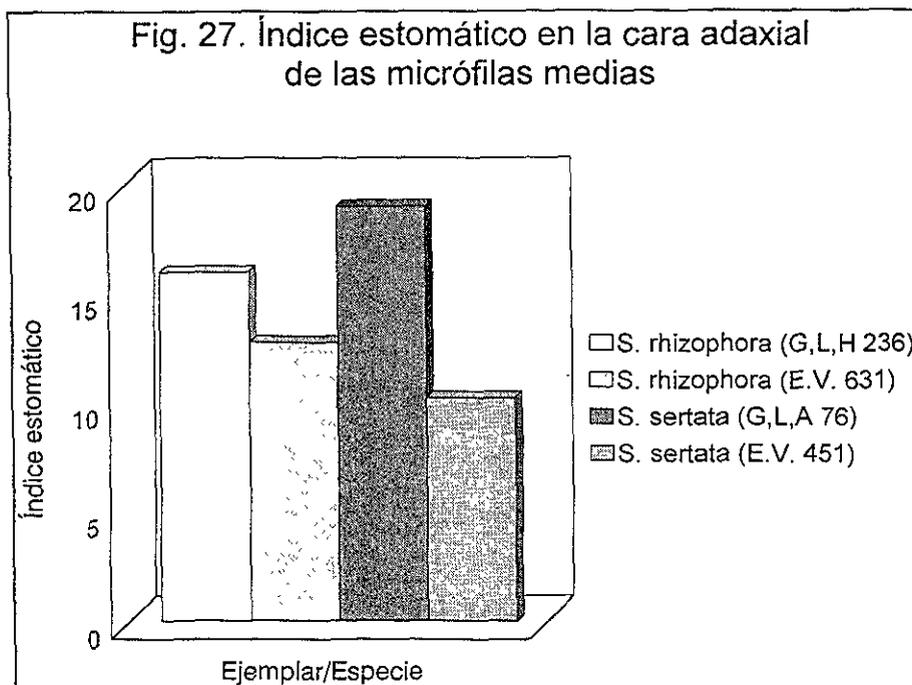
Los valores de índice estomático en las caras adaxiales de las micrófilas medias se comparan en el tercer gráfico, en donde puede verse que *S. rhizophora* (Gallardo, Lorea, Hanan 236) tiene un valor de 15.93, en relación al de 12.69 de *S. rhizophora* (E. Velázquez, 631). *S. sertata* (Gallardo, Lorea, Ávila 76) muestra un índice estomático de 18.92, al tiempo que en *S. sertata* (E. Velázquez 451) es de 10.16.

Una última comparación, que se hace entre los índices estomáticos del envés de las micrófilas medias, es la del cuarto gráfico, en donde se nota que *S. galeottii* (E. Velázquez 366) con índice estomático de 37.5, difiere en 9.73 unidades con el de 27.77 de *S. galeottii* (Lozano Valdez 195). Se presenta una diferencia de 5.64 unidades entre los dos ejemplares de *S. rhizophora* y una diferencia de 2.44 unidades entre los ejemplares de *S. sertata*.

Debe notarse que los valores más altos para el índice estomático se localizan en *S. galeottii*, siguiendo en orden descendente *S. rhizophora* y *S. sertata*, especies que presentan menor índice estomático en promedio, aunque tienen estomas en ambas caras de sus dos tipos de micrófilas.



Figs. 25 y 26. Gráficos que comparan los valores de Índice estomático en la cara adaxial de las micrófilas laterales de *S. rhizophora* (ejemplares G,L,H 236 y E.V. 631) y *S. sertata* (G,L,A 76), así como los de la cara abaxial de este mismo tipo de micrófilas de todos los ejemplares, respectivamente.



Figs. 27 y 28. Gráficos que comparan los valores de Índice estomático en la cara adaxial de las micrófilas medias de *S. rhizophora* (ejemplares G,L,H 236 y E.V. 631) y de *S. sertata* (ejemplares G,L,A 76 y E.V. 451), así como los de la cara abaxial de este mismo tipo de micrófilas de todos los ejemplares, respectivamente.

DISCUSIÓN

ASPECTOS TAXONÓMICOS

Los ejemplares de las tres especies del género *Selaginella* que se estudiaron en este trabajo presentaron estomas anomocíticos, de acuerdo con la clasificación de Metcalfe y Chalk (Willmer, 1983; Baranova, 1987), estomas que corresponden al tipo ranunculáceo en la clasificación formulada por Vesque (Baranova, 1987; Willmer, 1983) pues, como ya ha sido expuesto, los estomas estuvieron representados únicamente por las células guarda y el poro central, estando ausentes las células acompañantes.

Estos resultados son congruentes con los reportados por Barros, Mancilha, Santos y Sa (1994), quienes informaron que *S. breyneii*, *S. convoluta* y *S. mucosa* presentan también estomas anomocíticos.

Al parecer, el tipo de estomas es el mismo en todas las plantas de este género hasta ahora estudiadas, sin embargo, será necesario el estudio anatómico de los estomas en otras especies que presenten características diferentes a las de este trabajo. Por ejemplo, sería recomendable la observación de ejemplares isófilos, a fin de ver si difiere el tipo de estomas en ellos respecto a las especies incluídas en éste y otros trabajos, ya que *S. breyneii*, *S. convoluta* y *S. mucosa*, al igual que los ejemplares del presente estudio, son especies anisófilas (Barros, Mancilha, Santos y Sa, 1994; Mickel y Beitel, 1988).

Cabe mencionar que sería posible el empleo de técnicas más elaboradas que las empleadas en este trabajo para reconocer si los estomas anomocíticos de estas especies de *Selaginella* pueden entrar en otra clasificación, por ejemplo, aquella propuesta por Van Cotthem en 1970 (Baranova, 1992) para estomas de helechos y, de este modo, el tipo de estomas constituya un carácter

a considerar para discernir taxonómicamente a las especies dentro de este género. Tales técnicas involucrarían observaciones periódicas sobre la ontogenia de los estomas para visualizar de qué manera se originaron las células guarda o cuáles son sus posibles planos de división en la epidermis de las microfílas de estas plantas.

Actualmente se han realizado estudios en algunas especies de *Selaginella* respecto a la ontogenia de los estomas a nivel de microscopía electrónica y microscopía confocal, habiéndose descubierto que la célula madre de las células guarda, al momento de realizar su última mitosis, cambia significativamente la disposición de sus microtúbulos y sus filamentos de actina de radial a longitudinal (Cleary, Brown y Lemmon, 1993), con lo que el plano de esta última división es perpendicular al de las divisiones anteriores. En este proceso de división, los plastidios de la célula madre de la célula guarda migran hacia los polos centriolares, fungiendo como orientadores de la división (Cleary, Brown y Lemmon, 1992; Brown y Lemmon, 1985). Finalmente, los microtúbulos y filamentos de actina, adoptan nuevamente la disposición radial que induce esta misma disposición a las microfibrillas de la pared celular de las células guarda una vez constituidas y les da su característica forma arriñonada (Cleary, Brown y Lemmon, 1993; Taiz y Zeiger 1991).

Es de señalarse que las observaciones del desarrollo de los estomas que se proponen habrán de realizarse al nivel de resolución del microscopio óptico, alternativamente a las técnicas de microscopía ya desarrolladas, pues de esta manera podría determinarse de qué línea celular proviene la célula madre de las células guarda y, al mismo tiempo, qué influencia ejercen las células de la epidermis para que se lleve a cabo la formación de un estoma.

Por otro lado, se sugiere que la morfología del resto de las células epidérmicas no puede tomarse en cuenta como un carácter de importancia taxonómica, pues mientras algunos autores señalan que las células de la epidermis foliar de las especies isófilas de *Selaginella* son alargadas y en las especies anisófilas son más bien poligonales o cortas (Gopalakrishnan y Ravi, 1990), en el presente trabajo no se encontraron diferencias substanciales a este respecto entre las especies, pues en casi todas las hojas, estas células son alargadas; siendo que en la cara adaxial de las hojas medias de las tres especies son cortas o casi isodiamétricas.

CLAVE SUGERIDA PARA DETERMINACIÓN DE LAS TRES ESPECIES DE *Selaginella* CONSIDERADAS EN ESTE TRABAJO

En el principio de esta actividad se le dió poca importancia al tipo de hojas en función de la presencia de estomas en cualesquiera de sus caras, ya sea en ambas, sólo en la adaxial, o sólo en la abaxial. No obstante, es posible que éste sea el único carácter diferencial entre *S. galeottii*, *S. rhizophora* y *S. sertata*. Es por tal motivo que se sugiere una clave de tipo dicotómico para determinación de estas especies en función de este atributo.

- 1 .-Estomas anomocíticos en micrófilas laterales hipostomáticas..... 2
- 1' .-Estomas anomocíticos en micrófilas laterales anfiestomáticas.....2'

- 2 .-Micrófilas laterales hipostomáticas compartiendo el tallo con hojas medias hipostomáticas..... *S. galeottii*
- 2' .-Micrófilas laterales anfiestomáticas compartiendo el tallo con hojas medias anfiestomáticas.....3

- 3 .-Micrófilas laterales con escasos o nulos estomas en la cara adaxial y numerosos en la cara abaxial.....4
- 3' .-Micrófilas laterales con abundancia regular de estomas en ambas de sus caras.....Ninguna de las especies en este estudio

- 4 .-Micrófilas medias con abundancia regular de estomas en ambas de sus caras.....*S sertata*
- 4' .-Micrófilas medias con abundancia regular de estomas en la cara adaxial y estomas numerosos en la cara abaxial.....*S. rhizophora*

ASPECTOS ECOLÓGICOS

Los ejemplares de la especie *Selaginella galeottii* fueron recolectados en dos diferentes localidades, donde la vegetación preponderante está reconocida como Bosque Mesófilo de Montaña que, de acuerdo con J. Rzedowski (1988) corresponde a un clima húmedo de altura y dentro del conjunto de las comunidades que viven en las zonas montañosas ocupa sitios más húmedos que otro tipo de bosques, como son los de pino-encino; asimismo, son más cálidos que los bosques de abetos, pero más frescos que los bosques tropicales. En estos mismos ejemplares, ambos tipos de micrófilas fueron hipostomáticas, ésto es, que los estomas se encontraron únicamente en la cara inferior (abaxial) o en el envés de ellas, con lo que es posible decir que no son la mayor cantidad de estomas que puede tener, su distribución es limitada, aunque el índice estomático sea alto.

El hecho de que las plantas de esta especie presenten pocos estomas a lo largo de su cuerpo vegetativo, puede obedecer a que en la comunidad en que se desarrollan la precipitación media anual es superior a los 1000 mm, llegando a ser frecuentemente de hasta 3000 mm, siendo que el número de meses secos al año es menor de cuatro o inclusive es nulo (Rzedowski, 1988); todo esto origina que haya fuertes neblinas y alta humedad atmosférica, razón que indica que estas plantas posiblemente tengan baja tasa transpiratoria, no viéndose en la necesidad de eliminar agua hacia el medio externo; de ahí que, aunque el índice estomático registrado en esta especie sea el más alto en este estudio, tanto en sus micrófilas laterales como en sus micrófilas medias, la distribución limitada de sus estomas es congruente con la alta humedad del medio.

La región en donde se recolectaron los ejemplares pertenecientes a la especie *Selaginella rhizophora* tiene como tipo de vegetación la denominada Bosque Tropical Subcaducifolio, que se caracteriza porque al menos la mitad de sus árboles pierden las hojas durante la época de sequía, carácter que comparte con el bosque tropical caducifolio; sin embargo, tiene muchos componentes siempre verdes, lo que comparte con el bosque tropical perennifolio, por lo que se dice que es un tipo de vegetación intermedio (Rzedowski, 1988). Las micrófilas laterales en los ejemplares de *S. rhizophora* tienen estomas en ambas de sus caras, es decir, son anfiestomáticas, aunque se presenten considerablemente menos estomas en la cara superior (adaxial) o haz, que en la cara inferior (abaxial) o envés. Por su parte, también las micrófilas medias son anfiestomáticas, sólo que en su cara abaxial los estomas son poco más numerosos que en la cara adaxial de las micrófilas laterales.

Es posible que la presencia de micrófilas anfiestomáticas, tanto laterales como medias, esté directamente relacionada con las condiciones pluviales de la comunidad en que habita *S. rhizophora*, pues según Rzedowski (1988), la precipitación media anual es de 1000 mm a 1600 mm, e incluso menor y el período de sequía se comprende en cinco o siete meses en todo el año; no obstante, la humedad atmosférica se mantiene elevada, por lo que la tasa transpiratoria podría ser relativamente alta, respecto a la de *S. galeottii*, pues se tiene una distribución estomática mucho más extendida que en aquella.

Se ha dicho que las plantas que viven en ambientes xerofíticos tienen índices estomáticos menores que aquellas habitantes de los lugares más húmedos (Willmer y Fricker, 1996); si bien *S. rhizophora* no se distribuye en ambientes xerofíticos, sí fue encontrada en lugares menos húmedos que *S. galeottii*, hecho que corresponde al menor índice estomático que presentan las hojas de *S. rhizophora*.

Los ejemplares de la especie *S. sertata* fueron recolectados, al igual que los de *S. rhizophora*, en Bosque Tropical Subcaducifolio, por lo que para esta especie las condiciones de humedad son también altas, a pesar de que se presenten pocas lluvias en todo el año o con regular frecuencia. Ambos tipos de micrófilas son también anfiestomáticas en *S. sertata*, aunque en el ejemplar E.V. 451 no hayan sido observados estomas en la cara superior de las micrófilas laterales. El índice estomático es, en promedio, menor que en las correspondientes micrófilas de *S. rhizophora*, aunque no lo suficiente como para considerarlo mucho menor.

La tasa transpiratoria en *S. sertata* puede ser similar a la de *S. rhizophora* pues, además de compartir la disposición de los estomas en sus micrófilas y el tipo de vegetación en que se desarrollan, es muy parecido entre ellas el intervalo altitudinal en el que se distribuyen; éste va de los 250 msnm hasta menos de 750 msnm, con lo que se infiere que ambas especies podrían tener además, los mismos requerimientos hídricos. *S. galeottii* difiere a este respecto, pues su intervalo altitudinal se sitúa entre los 1300 y los 1410 msnm. Este factor podría contribuir a que *S. galeottii* difiera también en sus requerimientos hídricos, respecto a las dos especies más parecidas entre sí, que son *S. rhizophora* y *S. sertata*. De acuerdo con la clasificación propuesta por Samson y Tan (1992), que relaciona a las especies de *Selaginella* con su capacidad de liberar agua al medio externo, *S. galeottii* puede ser una especie higrófita, pues aunque tiene alto índice estomático en sus micrófilas, los estomas no están ampliamente distribuidos, lo que la hace retener más agua. Al mismo tiempo, *S. rhizophora* y *S. sertata* pueden ser especies mesófitas, pues aunque tienen un índice estomático menor, poseen una distribución estomática más amplia, lo que permite que el agua tienda más a salir.

Es por lo anterior, que *S. galeottii* probablemente tenga requerimientos hídricos menos estrictos que *S. rhizophora* y *S. sertata*, en ello son diferentes. No obstante, la tasa transpiratoria de las tres especies podría parecerse, pues aunque en el bosque mesófilo las lluvias son más abundantes que en el bosque tropical subcaducifolio, en ambas regiones es alta la humedad del ambiente, lo que podría favorecer que las tres especies tendieran a transpirar con la misma frecuencia, siendo que en *S. galeottii* probablemente se pierda gran cantidad de agua por las caras inferiores de las micrófilas y no se pierda agua por las caras superiores, mientras que en *S. rhizophora* y en *S. sertata*, lo más probable es que se pierda poca agua por las caras inferiores de las micrófilas, pero también se pierde un poco por las caras superiores; con esto se infiere que la tasa de transpiración podría ser similar en las tres especies, sólo que por las condiciones en que viven y por su distribución estomática, las especies tendrían la transpiración repartida de distinto modo en las micrófilas.

Por otro lado, es sabido que otras especies de *Selaginella*, como *S. helvetica*, en su asociación con otras plantas encuentran buen aporte de agua y consiguen gran amplitud territorial en ambientes donde la precipitación pluvial es escasa (Theurillat y Latour, 1996), por tanto, dicha asociación puede constituir una buena estrategia para *S. rhizophora* y *S. sertata* en su captación de agua, sobre todo con especies arbóreas (Santoso y Syam, 1985). Sin embargo, de acuerdo con los datos de recolecta, las especies del presente trabajo cuentan con distribución abundante, con lo que se piensa que las asociaciones de estas especies con otras plantas no son en realidad tan profundas pues, de ser así, correrían el riesgo de que otras plantas vasculares acaparen algunos de los recursos minerales y la luz, pudiendo tener reducción en su tasa fotosintética y en la síntesis protéica, como se ha reportado en *S. lepidophylla* (Van Auken y Bush, 1992; Eickmeier, 1986).

Se sabe que algunas especies de *Selaginella* están bien ubicadas en sustratos como roca madre y arcillas, donde tienen buen aporte de calcio en zonas xéricas (Macroberts y Macroberts, 1993) y, aunque las especies aquí estudiadas crecen en suelos someros o profundos y son de ambientes húmedos, su distribución es igualmente exitosa. Esto concuerda con lo que se dice de que *Selaginella* es un género por lo general de ambientes xéricos y presenta poca resistencia a las bajas temperaturas (Bannister, 1984), pero que en muchas ocasiones puede servir para reconocer regiones de tipo húmedo o frío (Lal y Negi, 1997; Baker et al., 1989; García y Robertsson, 1992).

Por todo lo anterior puede afirmarse que, pese a las posibles diferencias en el reparto de la transpiración entre las especies *S. galeottii*, *S. rhizophora* y *S. sertata*, en función de sus ambientes y en su proporción de estomas, las tasas de transpiración que se infiere son similares, indican que tales especies se encuentran bien adaptadas a los ambientes en que viven y por ello han podido lograr su colonización.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS

La respuesta fisiológica de los estomas dentro del cuerpo vegetal está influenciada directa o indirectamente por distintos factores ambientales, entre los que pueden citarse la cantidad y calidad de la luz, la concentración de CO₂ atmosférico, la temperatura y la humedad relativa o presión de vapor, así como los contaminantes (Willmer y Fricker, 1996).

Para el caso particular de las plantas del género *Selaginella*, factores como la humedad y la temperatura del ambiente parecen jugar un papel preponderante en la actividad de los estomas, que se refleja en la capacidad de

regular el agua dentro de la planta. Algunos individuos de este género, como los de la especie *S. lepidophylla*, desarrollan la estrategia de enroscar sus tallos, cuando la humedad del medio es baja y la temperatura es alta (Eickmeier, 1986) obteniendo tolerancia a estas condiciones de desecación. En esta especie se ha observado capacidad para resistir períodos prolongados de sequía, recobrando la capacidad fotosintética y la integridad de las membranas de sus células cuando las condiciones mejoran (Harten y Eickmeier, 1987; Eickmeier, 1986; Platt, Oliver y Thomson, 1994). Sin embargo, esta especie es poiquilohídrica y se distribuye fundamentalmente en sitios xéricos de elevada altitud (Lebkuecher y Eickmeier, 1992 y 1993; Eickmeier, 1988) lo que significa que tiene escasa capacidad de regulación hídrica en función de las condiciones del ambiente en que habita, características que la hacen diferente de las especies tratadas en el presente estudio.

No obstante, a pesar de estas diferencias, lo que es seguro es que en *S. galeottii*, *S. rhizophora* y *S. sertata*, operan las mismas condiciones que en *S. lepidophylla*, para la regulación hídrica, ésto es, que la humedad y la temperatura del ambiente son los factores que estimulan la acción de los estomas en el control del agua al interior de la planta, pues se ha visto que incluso el proceso fotosintético, indispensable para que la planta viva, es modificable y dependiente de estos factores, al menos en este género (Eickmeier, 1986; Lebkuecher y Eickmeier, 1991; Eickmeier, Casper y Osmond, 1993). Sólo debe tenerse en cuenta que, dado que las tres especies del presente estudio habitan en lugares húmedos y de temperaturas relativamente bajas, pueden no verse afectadas en su capacidad de retener agua al mismo grado que *S. lepidophylla*, inclusive aunque la cantidad de estomas en apertura por unidad de superficie foliar en estas tres especies pudiese provocar su deshidratación.

Otro de los factores de importancia en el estímulo de la apertura estomática es la concentración de CO₂ en el ambiente y que determina la toma de este gas hacia el interior de la planta para las reacciones fotosintéticas (Willmer y Fricker, 1996; Dennis y Turpin, 1990) y que es capaz de modificar la actividad de la maquinaria enzimática fotosintética, además de la velocidad de reacción en la síntesis de proteínas cuando hay un déficit de este gas dentro de las células vegetales de algunos ejemplares de *Selaginella* (Harten y Eickmeier, 1986; Eickmeier, 1988). Es por ello que estas plantas deben asegurar la entrada de la cantidad adecuada de CO₂ por sus estomas. Sin embargo, la apertura de los estomas para la captación de CO₂ no debe excederse al punto que se alcance la deshidratación por la salida de agua a través del poro estomático pues, como se sabe, por cada molécula de CO₂ que ingresa a la planta, se pierde un gran número de moléculas de agua (Willmer y Fricker, 1996; Salisbury, 1994).

Para *S. galeottii*, cuyo índice estomático es el más alto de este estudio en sus dos tipos de micrófilas, es posible que la relación $[CO_2]$ que ingresa/ $[H_2O]$ que sale, esté equilibrada, pues la apertura estomática (que en esta especie ocurre sólo en la cara inferior de sus micrófilas) está muy extendida en la superficie foliar, hecho que podría permitirle captar el CO_2 suficiente para la fotosíntesis y, aunque por ello podría perder demasiada agua, el exceso de humedad del ambiente aseguraría que tal pérdida sea mínima o no ocurra.

Algo similar podría ocurrir con *S. rhizophora* y *S. sertata*, debido a que puede ser que su tasa transpiratoria sea parecida a la de *S. galeottii* y, a pesar de que el índice estomático es menor en estas dos especies y la humedad relativa del ambiente donde viven es menor que en donde se distribuye *S. galeottii*, la presencia de hojas medias anfiestomáticas podría conferirles la facultad de captar la cantidad de CO_2 que requieren. Por otro lado, aunque la humedad del ambiente en que habitan estas dos especies es relativamente baja, no lo es tanto como para provocar en ellas una pérdida excesiva de agua cuando los estomas se abren.

Por otra parte, en virtud de que las células del mesófilo en las micrófilas de estas tres especies de *Selaginella* son muy escasas o poco numerosas, es posible que la difusión de CO_2 en todo este tejido fotosintético cubra uniformemente los requerimientos que metabólicamente las células tienen de este gas y probablemente por ello no tengan problemas por déficit de CO_2 intracelular.

CONCLUSIONES

Los estomas que se presentan en todas las micrófilas de las especies *Selaginella galeottii*, *Selaginella rhizophora* y *Selaginella sertata* son anomocíticos y no constituyen un carácter ponderable para discernirlas taxonómicamente. En cambio, la posición de los estomas en las distintas caras en ambos tipos de micrófilas de estas especies podría utilizarse como característica taxonómica distintiva entre estas especies.

Los índices estomáticos de distinto valor entre los ejemplares de *S. galeottii* respecto a los de *S. rhizophora* y *S. sertata* (dos especies que son muy parecidas entre sí), así como las diferencias en el clima, principalmente en cuanto a humedad relativa y temperatura media anual de los ambientes en que viven, pueden ser indicativos de que el proceso de evapotranspiración en estas plantas está repartido de distinta forma. No obstante, la distribución diferencial de los estomas en las caras foliares de las micrófilas de estas plantas, que es lo que las hace diferir taxonómicamente, puede originar que la tasa transpiratoria neta de las tres especies sea muy parecida, con lo que podría afirmarse que tanto *S. galeottii* como *S. rhizophora* y *S. sertata* se encuentran bien adaptadas a los sitios donde habitan.

Por otro lado, el dinamismo correcto de la fotosíntesis de estas plantas, que se refleja en su distribución abundante en el sustrato en el que se desarrollan, indica que los niveles de captación de CO₂ que estas plantas tienen pueden ser de los más adecuados, pudiendo estar además bien sincronizada la apertura estomática dedicada a la entrada de CO₂ con aquella por la que se pierde agua; esto último, debido en gran parte a las altas humedades relativas de la atmósfera en los hábitats de estos organismos.

PROYECCIONES A FUTURO

Aún quedan diversas cuestiones por resolver acerca de los estomas de las hojas micrófilas de las especies del género *Selaginella*, sobre todo aquellas relacionadas con su fisiología y ecología, sin dejar del lado la participación de estos caracteres anatómicos dentro de la taxonomía del grupo.

No es claro aún si en todas las especies de este género se presentan estomas anomocíticos y si la distribución de los estomas en ambas caras de sus micrófilas es similar. Asimismo, se desconoce en qué magnitud influye el índice estomático de estas plantas sobre su tasa transpiratoria y su efectividad para realizar la fotosíntesis.

Para responder a tales interrogantes, será necesario llevar a cabo trabajos que tengan los siguientes objetivos:

- Observar el tipo de estomas en otras especies del género.
- Determinar el índice estomático en más especies de este género.
- Describir la distribución de los estomas en las superficies de las micrófilas en otras especies.
- Determinar la tasa transpiratoria en especies de *Selaginella*, tanto a nivel de campo como en invernadero.
- Determinar en estas especies la eficiencia fotosintética, cuantificando la cantidad de CO₂ consumido.

Una recomendación importante desde el punto de vista de este trabajo es la de usar en otros proyectos especies isófilas del género *Selaginella*, o bien, otras especies anisófilas que habiten ambientes diferentes (en cuanto a vegetación, condiciones climáticas, altitud, etc.) a las especies aquí incluidas. Probablemente con ello a futuro se logre tener una visión más integral de las características morfológicas y de comportamiento ecofisiológico de los estomas de este interesante grupo vegetal.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- AGUILAR, M.M., COUTIÑO, B.B. y P. SALINAS. 1996. **Manual General de Técnicas Histológicas y Citoquímicas**. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- BAKER, R.G., SULLIVAN, A.E., HALLBERG, G.R. y D.G. HORTON. 1989. Vegetational Changes in Western Illinois (USA) during the onset of Late Wisconsinan glaciation. **Ecology** 70 (5):1363-1376.
- BANNISTER, P. 1984. The seasonal course of frost resistance in some New Zealand pteridophytes. **New Zealand Journal of Botany** 22(4): 557-564.
- BARANOVA, M. 1987. Historical development of the present clasification of morphological types of stomates. **The Botanical Review** 1(53):53-79.
- BARANOVA, M. 1992. Principles of comparative stomatographic studies of flowering plants. **The Botanical Review** 1(58):49-99.
- BARROS, I.C.L., MANCILHA, E.S.D.L., SANTOS, K.R.M.D. y P.S.D.A. SA. 1994. Stomatal apparatus in *Selaginella breyneii* Spring and Char., *S. convoluta* (Arnott) Spring and *S. mucosa* Spring (Pteridophyta). **Boletim da Sociedade Broteriana** 66(2):139-152.
- BOWES, G.B. 1996. **A Color Atlas of Plant Structure**. Grafos. España.
- BRACEGIRDLE, B. 1987. **A History of Microtechnique**. Science Heritage Ltd. (2a). EUA.
- BROWN, R.C. y B.E. LEMMON. 1985. Development of stomata in *Selaginella*: division polarity and plastid movements. **American Journal of Botany** 72(12):1914-1925.
- CHAO-ZHI y DAI-KEMIN. 1996. Taxonomical Identification of Chinese traditional drug Juanbai (Herba *Selaginellae*). **Acta Academiae Medicinae Shanghai** 23(5):367-369.
- CLEARY, A.L., BROWN, R.C. y B.E. LEMMON. 1992. Establishment of division plane and mitosis in monoplastidic guard mother cells of *Selaginella*. **Cell Motility and the Cytoskeleton** 23(2):89-101.
- CLEARY, A.L., BROWN, R.C. y B.E. LEMMON. 1993. Organization of microtubules and actin filaments in the differentiating *Selaginella* guard cells. **Protoplasma** 177(1-2):37-44.
- CRONQUIST, A. 1961. **Introductory Botany**. Harper and Row. EUA.
- CUTTER, G.E. 1978. **Plant Anatomy. Part I. Cells and Tissues**. Edward Arnold. (2a). Gran Bretaña.
- D'AMBROGIO DE ARGÜESO, A. 1986. **Manual de Técnicas de Histología Vegetal**. Hemisferio Sur. Argentina.
- DENNIS, D.T. y D.H. TURPIN. 1990. **Plant Physiology, Biochemistry and Molecular Biology**. Longman Scientific & Technical. Singapur.

- EICKMEIER, W.G. 1986. The correlation between high-temperature and desiccation tolerances in a poikilohydric desert plant. **Canadian Journal of Botany** 64(3):611-617.
- EICKMEIER, W.G. 1988a. Physiological effects of transplantation on the desiccation tolerant pteridophyte *Selaginella lepidophylla* (Selaginellaceae) in Big Bend National Park (Texas, USA). **Southwestern Naturalist** 33(3):287-294.
- EICKMEIER, W.G. 1988b. The effects of desiccation rates on enzyme and protein-synthesis dynamics in the desiccation-tolerant pteridophyte *Selaginella lepidophylla*. **Canadian Journal of Botany** 66(12):2574-2580.
- EICKMEIER, W.G., CASPER, C. y C.B. OSMOND. 1993. Chlorophyll fluorescence in the resurrection plant *Selaginella lepidophylla* (Hook and Grev.) Spring during high-light and desiccation stress, and evidence for zeaxanthin associated photoprotection. **Planta (Heidelberg)** 189(1):30-38.
- ESAU, K. 1977. **Anatomy of Seed Plants**. John Wiley & Sons. (2a). EUA.
- FAHN, A. 1990. **Plant Anatomy**. BPCC.Wheatons. (4a). Gran Bretaña.
- FILIPPINI-DE GIORGI, A., HOLDEREGGER, R. y J.J. SCHNELLER. 1997. Aspects of spore dispersal in *Selaginella*. **American Fern Journal** 87(3):93-103.
- FOSTER, A.S. y E.M. GIFFORD. 1974. **Comparative Morphology of Vascular Plants**. Freeman and Company. EUA.
- FRYNS-CLAESSENS, V. y W. VAN COTTHEM. 1973. A new classification of the ontogenetic types of stomata. **The Botanical Review** 39(1):71-138.
- GARCÍA-AMBROSIANI, K. y A.M. ROBERTSSON. 1992. Early Weichselian interstadial sediments at Harnosand, Sweden. **Boreas (Oslo)** 21(4):305-317.
- GOPALAKRISHNAN, V. y S. RAVI. 1990. Comparative Anatomy of some species of *Selaginella* Psalisot de Beauvois. **Indian Fern Journal** 7(1-2):94-99.
- HARTEN, J.B., y W.G. EICKMEIER. 1986. Enzyme dynamics of the resurrection plant *Selaginella lepidophylla* during rehydration. **Plant Physiology (Bethesda)** 82(1):61-64.
- HARTEN, J.B. y W.G. EICKMEIER. 1987. Comparative desiccation tolerance of three desert pteridophytes response to long-term desiccation. **American Midland Naturalist** 118(2):337-347.
- JANSSEN, M.W., VAN HOUTEN, B., BORM, J.A. y B.T. MOSSMAN. 1993. Biology of disease. Cell and tissue responses of oxidative damage. **Laboratory Investigation** 69(3):261-273.
- JONES, A.W. 1967. **Microtechnique. A student's guide to slide making**. (4a). Burgess Publishing Company. EUA.
- LAL, C. y NEGI, B.S. 1997. The aquatic vegetation of Uttarkashi-Garhwal Himalayan region, U.P. **Journal of Economic and Taxonomic Botany** 21(1):79-82.
- LEBKUECHER, J.G. y W.G. EICKMEIER. 1991. Reduced photoinhibition with stem curling in the resurrection plant *Selaginella lepidophylla*. **Oecologia (Heidelberg)** 88(4):597-604.
- LEBKUECHER, J.G. y W.G. EICKMEIER. 1992. Photoinhibition of photophosphorylation, adenosine triphosphate content, and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (NADP) following high-irradiance desiccation of *Selaginella lepidophylla*. **Canadian Journal of Botany** 70(1):205-211.

- LEBKUECHER, J.G. y W.G. EICKMEIER. 1993. Physiological benefits of stem curling for resurrection plants in the field. **Ecology (Tempe)** 74(4):1073-1080.
- LOREA, H.F. y E. VELÁZQUEZ. 1998. **Estudios Florísticos en Guerrero, No.9 Pteridofitas**. F.C. UNAM. México.
- MACROBERTS, M.H. y B.R. MACROBERTS. 1993. Vascular flora of sandstone outcrop communities in Western Louisiana, with notes on rare and noteworthy species. **Phytologia** 75(6):463-480.
- MAUSETH, D.J. 1988. **Plant Anatomy**. Benjamin Cummings. EUA.
- METCALFE, C.R. y L. CHALK. 1979. **Anatomy of the Dicotyledons**. Oxford University Press. (2a). EUA.
- MIAO-NAIQUN, TAO-HUIRAN, TONG-CHUNLING, XUAN-HUA y ZHANG-GUIFANG. 1996. The *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring complex treatment for experimental diabetes and its effects on blood rheology. **Zhongguo Zhongyao Zazhi** 21(8):493-495,512.
- MICKEL, J.T. y J.M. BEITEL. 1988. **Pteridophyte flora of Oaxaca, Mexico**. The New York Botanical Garden. EUA.
- MORBELLI, M.A y J.R. ROWLEY. 1993. Megaspore development in *Selaginella*. I. "Wicks", their presence, ultrastructure and presumed function. **Sexual Plant Reproduction** 6:98-107.
- MORI-H, XU-Q, SAKAMOTO-O, VESUGI-Y, ONO-Y, KODA-A y NISHIOKA-I. 1988. Immunological mechanisms of antitumor activity of some kinds of Chinese herbs: Meth A-induced delayed type hypersensitivity. **Japanese Journal of Pharmacology** 48(1):37-46.
- OGURA, Y. 1972. **Comparative Anatomy Of The Vegetative Organs Of The Pteridophytes**. Gebrüder Borntraeger. Berlin.
- PLATT, K.A., OLIVER, M.J. y W.W. THOMSON. 1994. Membranes and organelles of dehydrated *Selaginella* and *Tortula* retain their normal configuration and structural integrity: Freeze fracture evidence. **Protoplasma** 178(1-2):57-65.
- RENZAGLIA, K., DENGATE, S. y D. BERNHARD. 1998. Architecture of the spermatozoid of *Selaginella australiensis*. **American Fern Journal** 88(1):1-16.
- ROHWEDER, O., SCHLUMP, F. y K. KRATTINGER. 1971. Anmerkungen zur diacytischen spaltöffnungstyp und zur taxonomischen Bedeutung der Spaltöffnungen in allgemeinen. **Ber. Deutsch Bot. Ges.** (84) 275-285, en: Baranova, 1987.
- ROLLERI, C., DEFERRARI, A. y M.C. LAVALLE. 1991. Epidermal morphology of the pinnae of *Angiopteris*, *Danaea* and *Marattia*. **American Fern Journal** 81(2):44-62.
- ROWLEY, J.R. y M.A. MORBELLI. 1995. Megaspore wall growth in *Selaginella* (Lycopodiatae). **Plant Systematics and Evolution** 194:133-162.
- RUDALL, P. 1994. **Anatomy of the Flowering Plants. An introduction to structure and development**. Cambridge University Press. (2a). EUA.
- RZEDOWSKI, J. 1988. **Vegetación de México**. Limusa. México.
- SALISBURY, B.T. 1994. **Fisiología Vegetal**. Grupo Editorial Iberoamericano. México.
- SAMPSON, J. 1961. A method of replicating dry or moist surfaces for examination by light microscopy. **Nature** 4791(191):932-933.

- SAMSON, B.K. y B.C. TAN. 1992. Water loss rate and habitat correlation of some philippine *Selaginella* species. **Asia life Sciences** 1(1-2):1-8.
- SANTOSO, E. y A. SYAM. 1985. Composition and biological value of undergrowth associated with *Pinus merkusii* of the Tapanula strain growing in the Dolok Sibual-buali. Nature Reserve North Sumatra (Indonesia). **Buletin Penelitian Hutan** 0(466):46-55.
- SEPLAP. 1985. **Geografía Física del Estado de Guerrero**. Centro de Estudios y Proyectos Estadísticos del Estado de Guerrero. México.
- SLAYTER, E. y H. SLAYTER. 1992. **Light and Electron Microscopy**. Cambridge University Press. EUA.
- SOLEREDER, H. 1908. **Systematic Anatomy of the Dicotyledons**. Oxford University Press. Inglaterra, en: Baranova, 1987.
- TAIZ, L. y E. ZEIGER. 1991. **Plant Physiology**. The Benjamin/Cummings Pub. Co. EUA.
- THEURILLAT, J.P. y C. LATOUR. 1996. About *Selaginella helvetica* (L.) Link (*Selaginellaceae*, *Pteridophyta*) in Geneva and its sociology in the Alps. **Saussurea** 0(27):83-91.
- VAN-AUKEN, O.W. y J.K. BUSH. 1992. Factors influencing the density and distribution of *Selaginella lepidophylla* in the black gap area of the Chihuahuan desert of Western Texas. **Southwestern Naturalist** 37(3):274-279.
- VAN COTTHEM, W. 1970. Comparative morphological study of the stomata in the Filicopsida. **Bull. Jard. Bot. Nat. Belg.** (40) 81-239, en: Baranova, 1987.
- WILLMER, C.M. 1983. **Stomata**. Longman. EUA.
- WILLMER, C.M. y M. FRICKER. 1996. **Stomata**. Chapman & Hall. (2a). Gran Bretaña.
- XU-Q, MORI.H, SAKAMOTO-O, VESUGI-Y y KODA-A. 1989. Immunological mechanisms of antitumor activity of some kinds of crude drugs on tumor necrosis factor production. **International Journal of Immunopharmacology** 11(6):607-614.