

Morfología y anatomía foliar de *Argyrochosma nivea* (Poir.) Windham var. *nivea* (Pteridaceae) en un gradiente altitudinal en el noroeste argentino

Marcela Hernández¹, Patricia Albornoz¹⁻², María Eugenia Guantay¹ y Omar Varela³

¹ Instituto de Morfología Vegetal, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251. (4000) Tucumán.

² Cátedra Anatomía Vegetal, Fac. Cs. Nat. e I.M.L. Miguel Lillo 205. (4000) Tucumán.

³ Instituto de Ecología, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251. (4000) Tucumán.

R E S U M E N — Hernández Marcela, Patricia Albornoz, María Eugenia Guantay y Omar Varela. 2005. Morfología y anatomía foliar de *Argyrochosma nivea* (Poir.) Windham var. *nivea* (Pteridaceae) en un gradiente altitudinal en el noroeste argentino. *Lilloa* 42 (1-2).

El presente estudio describe y analiza la morfología y anatomía foliar de *Argyrochosma nivea* (Poir.) Windham var. *nivea*, en un gradiente altitudinal de 1000-4960 m s.m. en el noroeste argentino. Se trabajó con material fresco y herborizado, se realizaron cortes transversales y diafanizados de las pínulas mediante técnicas y tinciones convencionales. La morfología foliar no evidenció diferencias marcadas respecto de la descripción original. Anatómicamente, la lámina es dorsiventral e hipostomática con estomas de tipo anisocítico y polocítico. Los tricomas glandulares secretores de cera se hallan en la epidermis abaxial. El pecíolo es terete con cilindro vascular de tipo protostela y xilema en forma de Y. El análisis estadístico indica que el índice piloso se correlaciona positivamente con la altura mientras que una relación inversa se encontró para el índice estomático. Se describe por primera vez la anatomía foliar y se amplía el rango de distribución altitudinal de esta variedad.

Palabras clave: *Argyrochosma nivea*; anatomía foliar; morfología; gradiente altitudinal.

S U M M A R Y — Hernández Marcela, Patricia Albornoz, María Eugenia Guantay y Omar Varela. 2005. Leaf morphology and anatomy of *Argyrochosma nivea* (Poir.) Windham var. *nivea* (Pteridaceae) in an altitudinal gradient in the Northwestern Argentina. *Lilloa* 42 (1-2).

This study describes and analyses the leaf morphology and anatomy of *Argyrochosma nivea* (Poir.) Windham var. *nivea* (Pteridaceae) in an altitudinal gradient from 1000 to 4960 above sea level in the Northwestern Argentina. The study has been done with fresh and herborized plants. Transversal sections and diaphanization of the pinnules have been by means of conventional techniques and stains. The leaf morphology does not show significant differences from the original description. Anatomically, the leaf is dorsiventral and hypostomatic with anisocytic and polocytic type stomata. Glandular trichomes secrete wax in the abaxial epidermis. The stem is terete with protostelic vascular bundle, xylem Y-shaped. The statistical analysis shows that the trichome index correlatonates positively with height, while an opposite relationship was found for the stomatic index. The leaf anatomy of this species is described for the first time and the altitudinal distribution range is increased in this variety.

Key words: *Argyrochosma nivea*; leaf anatomy; morphology; altitudinal distribution.

Introducción

Argyrochosma (Poir.) Windham (Pteridaceae, Pteridophyta), comprende alrededor de 17 especies, distribuidas desde el sudoeste de Estados Unidos hasta Argentina y Chile (Morbelli *et al.*, 2001). En Argentina habita una sola especie, *Argyrochosma nivea* (Poir.) Windham con 3 variedades. La varie-

dad *nivea* se distribuye en zonas serranas del oeste y centro del país. En la región del noroeste crece en un amplio rango de altitud (1.300 y 4.650 m s.m.), frecuentemente asociada a grietas, bordes de acantilados o sobre rocas, y más raramente en suelos arcillosos (Sota, 1977; Tryon, 1956).

Los órganos foliares son particularmente susceptibles de experimentar cambios morfológicos y anatómicos en gradientes altitudinales extensos, en respuesta a las variaciones en los factores ambientales (intensidad de luz, radiación ultravioleta, temperatura y humedad del aire, velocidad del viento, fertilidad y disponibilidad de agua en el suelo, presión parcial de dióxido de carbono, densidad de ozono), a la plasticidad en el fenotipo y a la heterogeneidad de la constitución genética de las poblaciones (Beerling y Kelly, 1997; Kouwenberg *et al.*, 2003; Wagner *et al.*, 2005).

Entre los rasgos anatómicos que experimentan variaciones con la altura se destaca la pubescencia foliar (densidad y/o largo de pelos) y la densidad de estomas, si bien existen controversias en cuanto a sus tendencias de variación (Au, 1969; Johnson, 1975; Körner, 1983; Willmer, 1983; Woodward, 1987; Bravo y Grau, 1993; Tamariz y Flores, 1999; Kofidis *et al.*, 2003; Arias *et al.*, 2004).

El aumento de la pubescencia con la altura ha sido explicado como una respuesta adaptativa para prevenir daños por las bajas temperaturas, las altas intensidades luminosas y la radiación ultravioleta. En cambio, la densidad estomática ha sido relacionada inversamente con la concentración de CO₂, la cual tiende a enrarecerse con la altura. (Willmer, 1983; Woodward, 1987; Kofidis *et al.*, 2003).

La variación en los rasgos foliares con la altitud ha sido analizada en varias especies de espermatófitas. Sin embargo, antecedentes similares no se registran en Pteridophyta. La anatomía foliar de la variedad *nivea*, aun no ha sido estudiada. Debido al amplio rango de distribución altitudinal, esta variedad se encuentra asociada a diferentes comunidades vegetales.

El objetivo de este trabajo fue analizar la morfología y anatomía foliar de

A. nivea (Poir.) Windham var. *nivea* (Pteridaceae) en diferentes altitudes en el noroeste argentino.

Debido al amplio rango de distribución altitudinal, se espera que la variedad evidencie una variación continua en los rasgos anatómicos foliares, particularmente en el número de estomas y tricomas.

Materiales y Métodos

Se trabajó con material fresco y herborizado de los herbarios de la Fundación Miguel Lillo (LIL), del Instituto Darwinion (SI) y de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata (LP). Una parte del material fresco se fijó en FAA (1:1:8 v/v/v formol: ácido acético: alcohol 80%) y el resto se incorporó al Herbario LIL. Se tomaron 5 individuos cada 500 metros entre 1.000 y 4.960 m s.m. De cada individuo se seleccionaron 3 pínulas terminales del sector medio de la fronde. Se realizaron diafanizados (Dizeo de Strittmater, 1986) y cortes transversales a mano alzada. En el caso de cortes realizados en ultramicrotomo con cuchilla de vidrio, el material se fijó en glutaraldeído y se lo incluyó en resina Spurr. Las tinciones utilizadas fueron safranina, azul de toluidina y cloruro férrico-ácido tánico (Foster, 1986). Los cortes de pecíolo y pínulas se realizaron en el sector medio en ambos casos.

En la determinación del tipo de estoma se utilizó la clasificación de Van Cotthem (1970).

Las observaciones fueron realizadas con microscopio óptico y estereoscópico. Las fotos se tomaron en microscopio óptico Zeiss Axiolab con cámara fotográfica MC 80 y con cámara digital Kiocera, 3.2 Megapixel; las de microscopía electrónica de Barrido en un equipo Jeol JSM 35. CF.

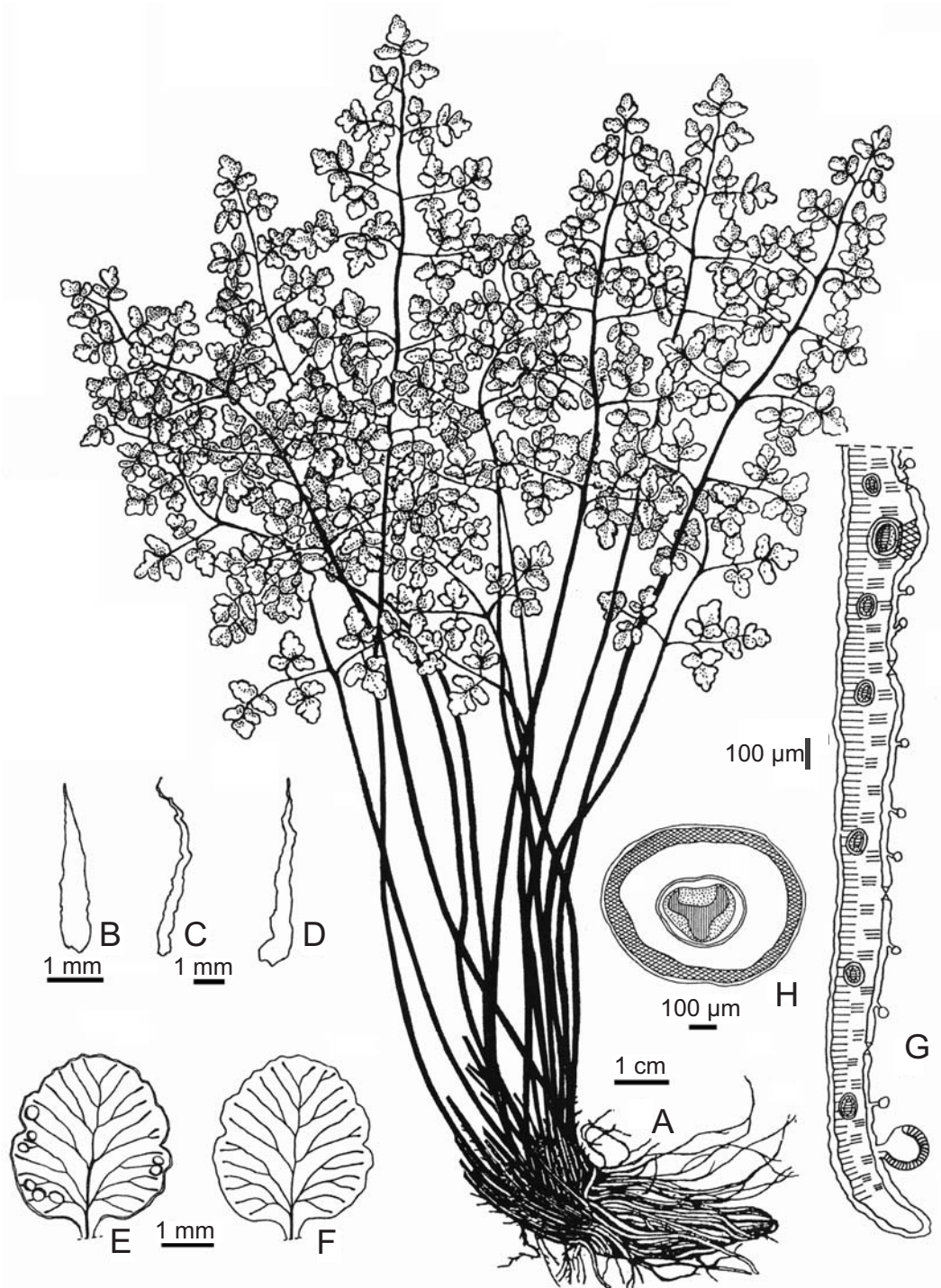


Fig. 1. *Argyrochosma nivea* (Poir) Windham var. *nivea*. **A.** Aspecto general de la planta; **B-D.** Escamas de la base del pecíolo y rizoma; **E-F.** Pínnula fértil: superficie abaxial; superficie adaxial; **G.** Corte transversal de lámina fértil; **H.** Corte transversal de pecíolo.

Análisis de rasgos anatómicos en relación con la altura

Con el fin de analizar la influencia de la altura sobre la anatomía foliar de *A. nivea* var. *nivea*, se estudiaron las siguientes características: Índices piloso y estomático; densidad de tricomas y de estomas; longitud de tricomas, ancho de la cabeza de pelos glandulares; longitud y ancho de los estomas.

El índice estomático fue calculado como el cociente entre el número de estomas por campo microscópico y el número de células epidérmicas y estomas (Salisbury, 1927). El índice piloso representa una extensión del índice estomático aplicado a pelos (Hernández & Albornoz, 2001), y fue calculado como el cociente entre el número de pelos por campo microscópico y el número de células epidérmicas y pelos. Se obtuvo un valor promedio por altura, para cada una de las características estudiadas.

Se aplicó el coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman (Zar, 1996) para analizar la relación entre cada uno de los parámetros estudiados y la altura.

Con el fin de evaluar probables diferencias entre individuos de distintas alturas en relación con los índices mencionados, se aplicó el análisis de la varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis. En el caso de diferencias generales, se aplicó posteriormente la prueba de comparaciones múltiples de Dunn (Zar, 1996), para un nivel de significancia del 5%.

Material estudiado

Prov. Catamarca. Dpto. Ambato: Rodeo-Quebrada del Nogal Marcado, 1.400 m s.m., 15-II-1959, Villa Carengo 898 (LIL); Las Juntas, 1.500 m s.m., 16-III-1959, Villa Carengo y Legname 1015 (LIL). Dpto. Andalgalá: El Suncho-

Río Campo, 1480 m s.m., 20-II-1951, Sleumer 1673 (LIL). Dpto. Cerrillos, 3.000 m s.m., 1-III-1944, Meyer 8305 (LIL). Dpto. Paclín: Cuesta del Totoral, 800 m s.m., 25-II-1964, Meyer 23064 (LIL). Dpto. Tinogasta: Cerro Negro, 4.960 m s.m., 10-III-1914, Rodríguez 23 (LIL); Reales Blancos a La Tranco, 3.500 m s.m., 4-II-1930, Schreiter 6196 (LIL).

Prov. Jujuy. Dpto. Humahuaca: 3.000 m s.m. 13-III-1936, West 6311 (LIL); Mina Aguilar, 4.100 m s.m., 28-III-1952, Petersen y Hjerting 107 (LIL); 4.500 m s.m., 13-I-1969, Fragi y Kiesling 54 (LP). Dpto. Rinconada: Minas Pirquitas, 4.000 m s.m., 19-X-1949, Hueck 330 (LIL); 4.300 m s.m., 1-III-1964, Ancibor, Vizinis y Schwake 1127 (LP); Cerro Negro, Laguna Vilama, 4.700 m s.m., 5-12-III-1964, Schwake 952 (LP). Dpto. Yavi: La Quiaca, 3.460 m s.m., 21-II-1940, Meyer s/n (LIL 96252); Cerro Negro, 4.000 m s.m., 27-II-1940, Meyer s/n (LIL 96285); 3.600 m s.m., 25-II-1940, Meyer s/n (LIL 96218); Yavi Chico-Cardonal, 3.450 m s.m., 19-I-1967, Bolsi y Werner 242 (LP).

Prov. La Rioja. Dpto. Famatina: Sa. Famatina-Cueva de Medina, 3.100 m s.m., 25-I-1951, Sparre 8768 (LIL).

Prov. Salta. Dpto. Cafayate: 1.400 m s.m., 24-XI-1949, Aroque y Barkley 19 Ar. 363 (LIL).

Prov. Tucumán. Dpto. Río Chico: Escaba, 600 m s.m., 6-XII-1913, Monetti 1660 (LIL). Dpto. Tafí: Parque Aconquija, 700 m s.m., 17-II-1955, Cristobal 96 (LIL); Colalao del Valle, 2.600 m s.m. 19-III-1913, Dinelli 12875 (LIL); Vega Pozuelos, 4.100 m s.m., 5-IV-1977, Halloy 807 (LIL); Cerro Muñoz, Piedra Pintada, 4.500 m s.m., VI-1920, Schreiter 1189 (LIL); Cumbre de Anfa a la Ciénaga, 2.500 m s.m. 2-X-1926, Schreiter 4360(LIL); 2.600 m s.m. 26-III-1922, Schreiter s/n (LIL 41962); Cumbres Calchaquíes, 4.200 m s.m., 1-II-1907; Lillo 5543 (LIL); La Ciénaga, 2.500 m s.m., 16.IV.1904, Lillo 3682

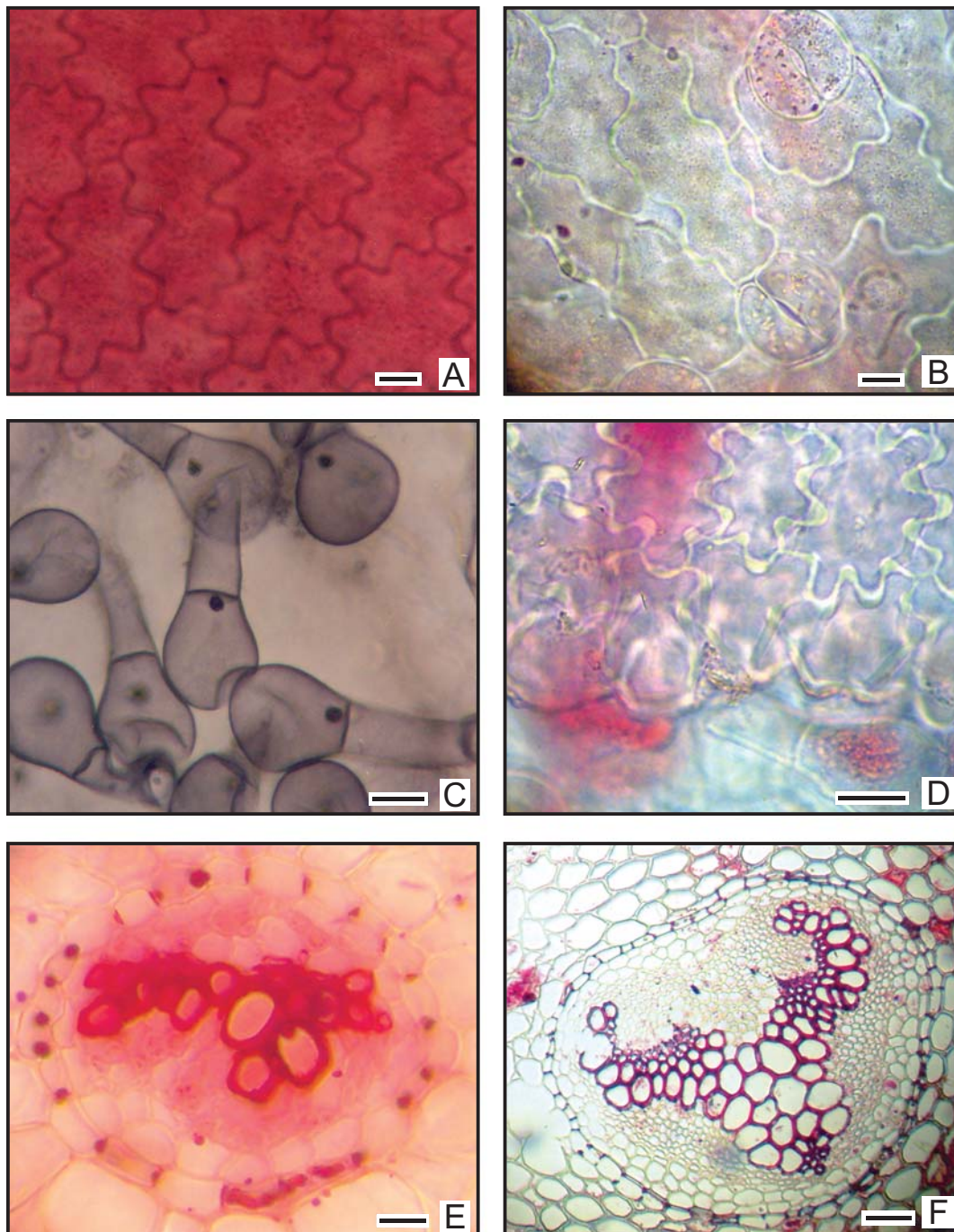


Fig. 2. *Argyrochosma nivea* (Poir) Windham var. *nivea*. **A.** Epidermis adaxial; **B.** Epidermis abaxial con estomas polocíticos y actinocíticos; **C.** Tricomas glandulares secretores de cera; **D.** Margen reflexo; **E.** Detalle de haz vascular de lámina; **F.** Detalle de haz vascular de pecíolo. A, B y D barra = 30 μ m; C = 25 μ m; E = 10 μ m; F = 40 μ m.

(LIL); 3.000 m s.m., 9-V-2001, Ortíz 30 (LIL); Cerro Muñoz- Quebrada Río Blanco, 2.600 m s.m., 30-I- 1903, Lillo 3.032 (LIL); Infiernillo, 3.040 m s.m., 8-III-1955, Cristóbal 143 (LIL); Calchaquies-Quebrada Honda, 3.500 m s.m., 26-I-1952, Sparre 9348 (LIL); La Quebradita, 2.000 m s.m., 9-II-2002, Hernández 104, 113, 126, 127 (LIL). Dpto. Trancas: Hualinchay, 1.500 m s.m., 30-I-1927, Schreiter 4856 (LIL), Hernández y Albornoz 15, 16, 17, 18, 19 (LIL); San Pedro de Colalao, Cueva de las Cabras, 1.000 m s.m., 10-III-03, Hernández y Albornoz 10, 12, 12 b, 13 (LIL).

Resultados

***Argyrochosma nivea* (Poir.) Windham**
var *nivea*. Amer. Fern J. 77 (2):
37-41. 1987.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS.— Plantas pequeñas de 7 a 25 cm de altura (Fig. 1, A); rizomas erectos u oblicuos, gruesos con escamas castaño rojizas de tres tipos: angostas de 3 a 6 mm de longitud; medianas, crispadas a fuertemente crispadas de 3 a 9 mm y anchas, poco crispadas de 5 a 6 mm (Fig. 1, B-D). Láminas tripinnadas, coriáceas, de contorno triangular a aovado-lanceolado, deltoideo-lanceolado a aovado. Pínnulas brevemente pecioluladas, articuladas, suborbiculares a anchamente elípticas; las terminales a menudo lobuladas, con base truncada a auriculada (Fig. 1, E y F); haz glabro; envés pubescente con cera blanca; venillas laterales furcadas a bifurcadas; margen de las pínnulas fértiles chato no modificado a poco modificado, levemente reflexo. Esporangios pedicelados en las terminaciones de las venillas o sobre ellas. Esporas triletas fuertemente crispadas. Pecíolos teretes, negros, lustrosos y escamosos en la

base. En el noroeste argentino se encuentra entre los 600 y 4.960 m s.m.

CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS.— En vista superficial, la lámina presenta ambas epidermis con células isodiamétricas a rectangulares lobuladas, paredes sinuosas y cutícula lisa, en la superficie abaxial las células son de menor tamaño. Los estomas son de tipo actinocítico y polocítico; siendo más frecuente el primero (Fig. 2, A y B). El tamaño de los estomas varía con la altura, desde 32 x 26 μm a los 1.000 m s.m. hasta 41 x 37 μm a los 4.960 m s.m. Los tricomas glandulares secretores de cera están formados por cabeza y pie unicelular, rara vez este último bicelular, éstos se encuentran en la epidermis abaxial (Fig. 2, C).

El margen reflexo presenta células isodiamétricas, lobuladas con paredes sinuosas; borde liso de células rectangulares con cutícula y pared gruesa (Fig. 2, D). En corte transversal, su estructura se halla poco modificada en comparación con la lámina.

En corte transversal la lámina tiene forma de V abierta, es dorsiventral e hipostomática (Fig. 1, G). La epidermis de ambas superficies es uniestratificada con los estomas levemente hundidos y los tricomas al mismo nivel de las células epidérmicas. El parénquima en empalizada presenta de 1 a 3 capas de células y el esponjoso de 2 a 3. El nervio principal y los secundarios son colaterales, periciclo uniestratificado, endodermis con banda de Caspary y vaina parenquimática (Fig. 2, E); el haz principal presenta tejido colenquimático subepidérmico hacia la epidermis abaxial, ocasionalmente hacia la adaxial (Fig. 1, G).

El pecíolo en sección transversal presenta una epidermis uniestratificada con cutícula gruesa y lisa, tejido colenquimático subepidérmico con 3 a 4 capas de células en frondes inmaduras, pasando a ser esclerenquimático en hojas maduras. Internamente a éste, se presenta un parénquima con paredes

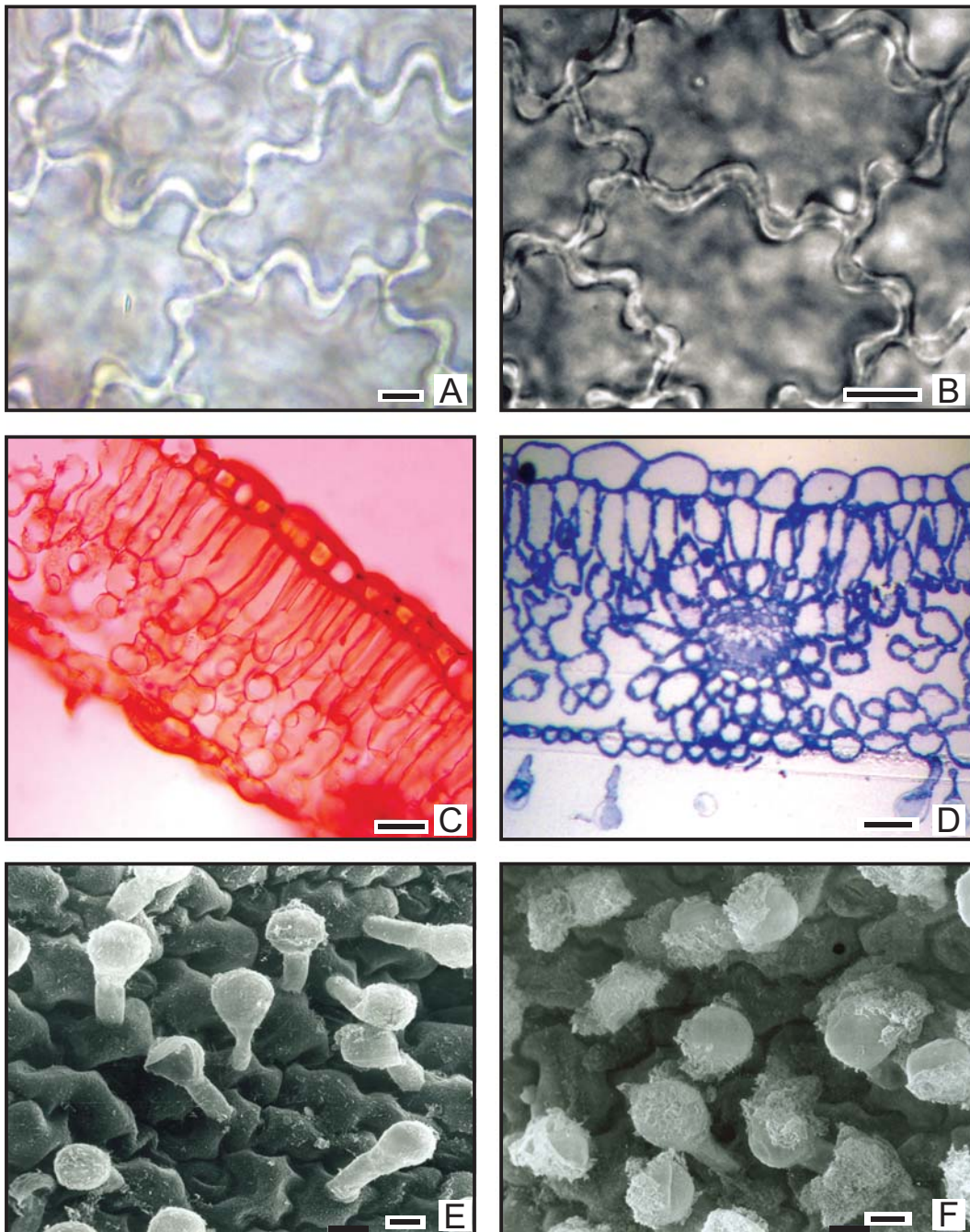


Fig. 3. *Argyrochosma nivea* (Poir) Windham var. *nivea*. Caracteres anatómicos comparados a 1000 m s.m. y 3000 m s.m. respectivamente. **A** y **B**. Células epidérmicas adaxiales; **C** y **D**. Corte transversal de la lámina; **E** y **F**. Tricomas glandulares. A barra = 20 μ m; B = 30 μ m; C y D = 50 μ m; E y F = 10 μ m.

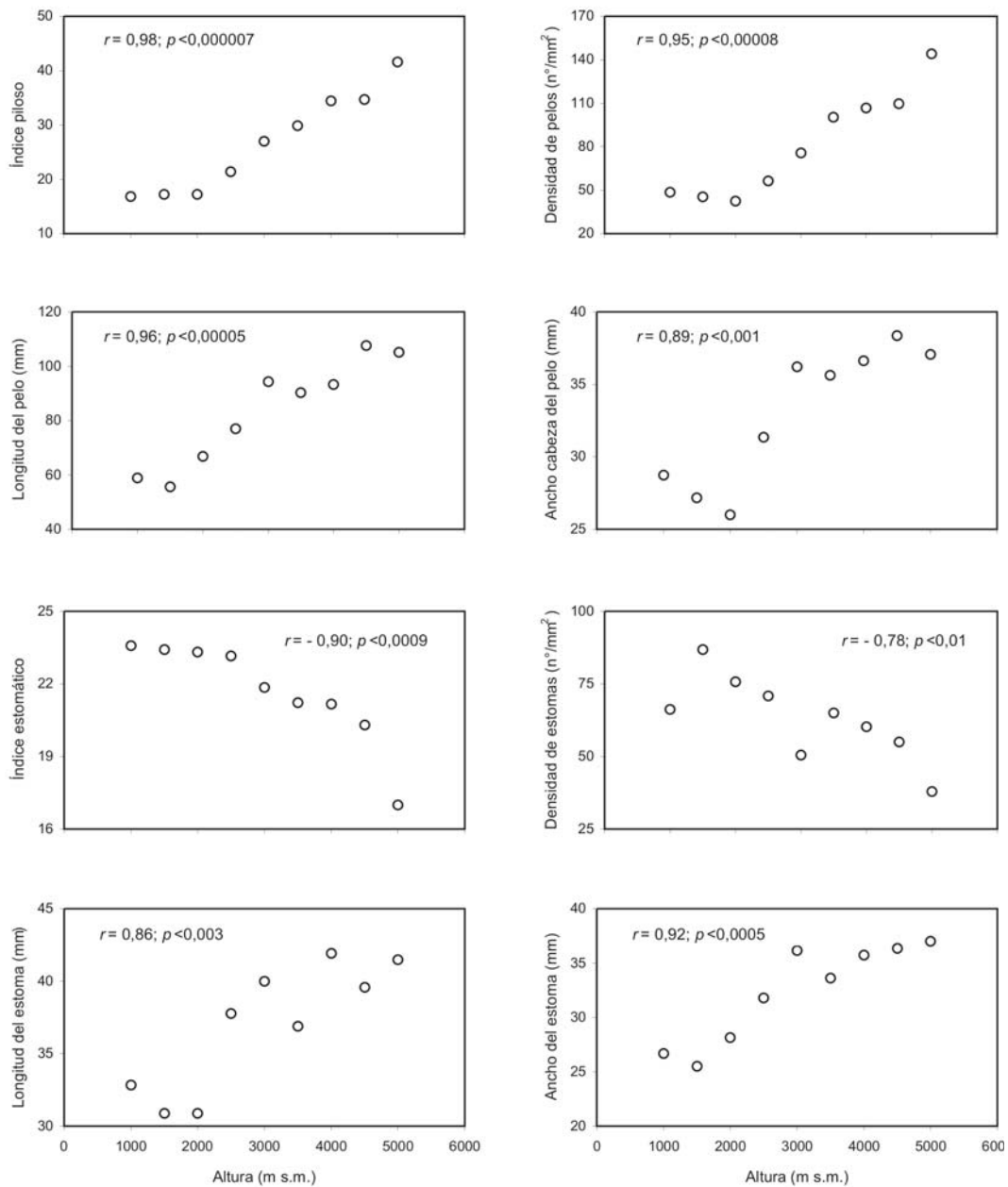


Fig. 4. Comportamiento de 8 características anatómicas foliares de *A. nivea*. var. *nivea* con la altura. Se indica el coeficiente de correlación r de Pearson y la probabilidad correspondiente.

engrosadas de 5-6 capas de células (Fig. 1, H). El cilindro vascular es una protostela con xilema en forma de Y, endodermis con bandas de Caspary y periciclo pluriestratificado (Fig. 2, F).

A mayor altura se observa, un incremento del grosor de la cutícula y de la

pared celular en las células epidérmicas (Fig. 3, A y B); un aumento del espesor de la lámina, debido al incremento del tamaño de las células de los tejidos constituyentes (Fig. 3, C y D) y una mayor densidad de tricomas (Fig. 3, E y F).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.— El índice piloso mostró una correlación positiva con la altura, mientras que una relación inversa se observó para el índice estomático.

Se encontraron diferencias significativas entre individuos de distintas alturas en relación al índice estomático ($H = 25,43$, $n = 49$; $p < 0,002$, Kruskal-Wallis corregido para empates). Los valores de este índice para individuos que habitan entre 1.000 y 1.500 m fue significativamente mayor respecto de los de 5.000 m, mientras que en individuos de alturas intermedias no mostraron diferencias significativas (Fig. 5).

El índice piloso evidenció un patrón similar en cuanto a la segregación de los grupos de individuos ($H = 39,43$, $n = 49$; $p < 0,0001$, Kruskal-Wallis corregido para empates), sólo que a la inversa (Fig. 5).

Discusión y Conclusión

En base al objetivo planteado, los resultados obtenidos en *A. nivea* var. *nivea* muestran variación de la anatomía foliar en relación con la altura. Se observó un aumento del tamaño de los estomas a lo largo del gradiente altitudinal, en tanto que el índice estomático muestra una correlación negativa, con-

trariamente a lo encontrado por Woodward (1987), Kofidis *et al.* (2003) y Arias *et al.* (2004), pero coincidentes con investigaciones recientes (Beerling y Kelly, 1997).

A lo largo del gradiente altitudinal se observan incrementos en el espesor de la lámina, y en la cantidad de tricomas, caracteres también observado en otros grupos de plantas por Johnson (1975), Körner (1983) y Kofidis *et al.* (2003);

También el grosor de la cutícula y el tamaño de las células epidérmicas aumentan con la altura. En todos los individuos observados, las células epidérmicas adaxiales son de mayor tamaño que las abaxiales, coincidiendo con Tamariz y Flores (1999).

De acuerdo con la hipótesis planteada, los resultados de este estudio indican que el índice piloso incrementa con la altura, no así el índice estomático.

Se concluye que *Argyrochosma nivea* var. *nivea* pertenece a un grupo de helechos xeromorfos en conflicto taxonómico de modo que los resultados obtenidos, son de importancia relevante y podrían ser un aporte en su tratamiento. Si bien la morfología es similar a la descrita para la variedad, observamos la presencia de tres tipos de escamas en la base del peciolo y rizoma.

Se describe por primera vez la anatomía foliar de *A. nivea* var. *nivea* y se

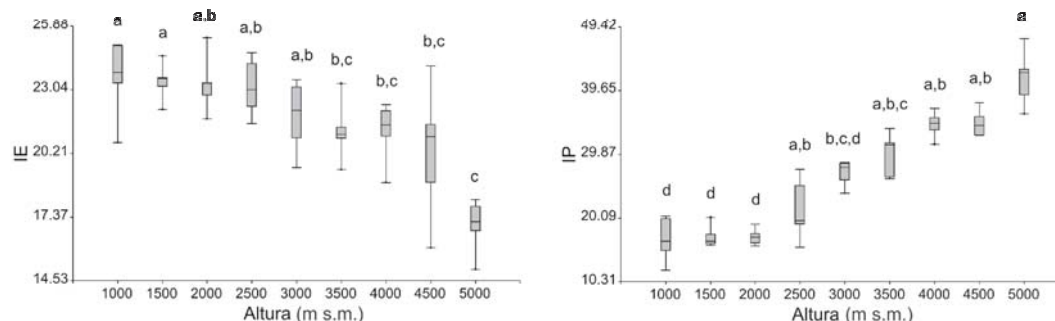


Fig. 5. Valores promedio de los índices estomáticos (IE) y piloso (IP) en relación con la altura. La línea horizontal representa la mediana, los lados superior e inferior del rectángulo los cuartiles y la línea vertical el rango. Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Dunn, $P < 0,05$).

amplía el área de distribución altitudinal desde los 600 hasta los 4.960 m s.m., para el noroeste argentino.

Agradecimientos

Al personal de la sección Iconografía del Área Botánica de la Fundación Miguel Lillo por la diagramación de las figuras.

Bibliografía

- Arias, M. E., Albornoz, P. L., Kirschbaum, D. S., Díaz Ricci, J. C., Castagnaro, A. P. 2004. Foliar Anatomy of species of the subtribe Potentillinae (Rosaceae) in Tucumán (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 38 (3-4): 277-284.
- Au, S. 1969. Internal leaf surface and stomatal abundance in Arctic and Alpine populations of *Oxyria digyna*. *Ecology* 50 (1): 131-134.
- Beerling, D. J. y C. K. Kelly. 1997 Stomatal density responses of temperate eodland plants over the past seven decades of CO₂ increase: A comparison of Salisbury (1927) with contemporary data. *American Journal of Botany* 84 (11): 1572-1583.
- Bliss, L. C. 1962. Adaptations of arctic and alpine plants to environmental conditions. *Arctic* 15: 117-144.
- Bravo, S. J. y A. Grau. 1993. Variaciones de la densidad estomática en poblaciones de *Alnus acuminata* en un gradiente altitudinal. *Lilloa* 38 (1): 39-45.
- Dizeo de Strittmatter, C. 1986. Técnica de Dizeo de Strittmatter. En D'Ambrogio de Argüeso (ed.). *Manual de técnicas en Histología Vegetal*. pp. 52. Hemisferio Sur. Bs. As.
- Foster, A. S. 1986. Técnica de Foster. En D'Ambrogio de Argüeso (ed.). *Manual de técnicas en histología vegetal*. pp. 51. Hemisferio Sur. Bs. As.
- Hernández, M. y P. Albornoz. 2001. Morfología y anatomía foliar en especies de *Cheilanthes* (Pteridaceae) del noroeste argentino. *Lilloa* 40 (2): 187-207.
- Johnson, H. B. 1975. Plant pubescence: An ecological perspective. *Bot. Rev.* 41: 233-258.
- Kofidis, G.; A. M. Bosabalidis y M. Moustakas. 2003. Contemporary Seasonal and Altitudinal variations of leaf structural features in Oregano (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany* 92: 635-645.
- Körner, C. H. 1983. Altitudinal variation of leaf diffusive conductance and leaf anatomy in heliophytes of mountain in New Guinea and their interrelation with microclimate. *Flora* 174: 91-135.
- Kouwenberg, L. L. R., J. C. McElwain, W. M. Kürschner, F. Wagner, D. J. Beerling, F. E. Mayle y H. Visscher. 2003. Stomatal frequency adjustment of four conifer species to Historical Changes in atmospheric CO₂. *American Journal of Botany* 90 (4): 610-619.
- Mooney, H. and A. W. Johnson. 1965. Comparative physiological ecology of an arctic and alpine population of *Thalictrum alpinum* L. *Ecology* 46 (5): 721-727.
- Morbelli, M. A., M. M. Ponce, C. C. Macluf y M. R. Piñeiro. 2001. Palynology of South American *Argyrochosma* and *Notholaena* (Pteridaceae) species. *Grana* 40: 280-291.
- Salisbury, E. J. 1927. On the causes and Ecological Significance of Stomatal Frequency with Special Reference to The Woodland Flora. *Rg. Soc. London* 216 (II): 1-65.
- Sota, E. R. de la. 1977. Pteridophyta. En A. Cabrera (ed.). *Flora de la Provincia de Jujuy*. R.A. Col. Cientif. INTA, Bs As. Tomo 13 (2): 2-275.
- Tamariz, C. y M. Flores. 1999. Estudio anatómico de plantas altoandinas. Adaptaciones morfoanatómicas de *Senecio sublutescens* Cuatrecasas. *Arnaldoa* 6 (1): 75-85.
- Tryon, R. M. 1956. A revision of the American Species of *Notholaena*. *Contr. Gray Herb.* 179:1-106.
- Van Cotthem, W. R. J. 1970. A classification of stomatal types. *Bot. J. Linn. Soc.* 63: 235-246.
- Wagner, F.; D. L. Dilcher y H. Visscher. 2005. Stomatal frequency responses in hardwood-swamp vegetation from Florida during a 60-years continuous CO₂ increase. *American Journal of Botany* 92 (4): 690-695.
- Willmer, C. 1983. *Stomata*. Longman Press. London. pp
- Woodward, F. I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increase in CO₂ from pre-industrial levels. *Nature* 327: 617-618.
- Zar, J. D. 1996. *Biostatistical analysis*. Tercera edición. Prentice Hall Inc., New Jersey, USA. 662 pp.