

# CARACTERIZACIÓN ANATÓMICA Y ANÁLISIS DE VARIACIÓN DE EPIDERMIS FOLIAR Y CAULINAR ENTRE DOS GENOTIPOS DE *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews

## ANATOMICAL CHARACTERIZATION AND VARIATION ANALYSIS OF FOLIAR AND CAULINAR EPIDERMIS BETWEEN TWO GENOTYPES OF *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews

Martínez-Quezada, D.M.<sup>1</sup>; Sandoval-Zapotitla, E.<sup>1\*</sup>; Solís-De la Cruz, J.<sup>1</sup>; Velázquez-Vázquez, D.E.<sup>1</sup>  
y Herrera-Cabrera, E.B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. CP 04510 D.F. México. <sup>2</sup> Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla. Boulevard Forjadores de Puebla No. 25. CP. 72760 Puebla, México.

\*Autor para correspondencia: esz@ib.unam.mx

### RESUMEN

*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, tiene su centro de origen en México donde agrupa su diversidad genética. Si bien existen algunos reportes sobre la anatomía vegetativa de *V. planifolia*, en particular no hay estudios que revelen si además de la variación genética y química detectada, existe variación anatómica. Se determinó si existe variación anatómica en la epidermis foliar y caulinar de dos genotipos de *V. planifolia* y qué caracteres apoyan al reconocimiento de los mismos o cuales están genéticamente establecidos y son propios de la especie. Se recolectaron muestras de lámina y tallo de los genotipos contrastantes GIII y GVI en cuanto a sus compuestos aromáticos en cinco localidades de la región del Totonacapan, México. Se obtuvieron preparaciones semipermanentes y permanentes de ambos órganos y analizaron diecisiete parámetros epidérmicos. Se presenta la descripción anatómica de la epidermis foliar y caulinar mencionando diferencias entre los genotipos. Se determinó que existen diferencias significativas en trece parámetros, y que el área de las células epidérmicas adaxiales de la lámina, área de las células epidérmicas, longitud de células oclusivas e índice estomático del tallo son caracteres probablemente definidos genéticamente para esta especie, y existe correlación positiva entre el tamaño de ciertos parámetros epidérmicos y la altitud del origen geográfico de los genotipos.

**Palabras clave:** Vainilla, anatomía vegetal, hoja, tallo.

### ABSTRACT

*Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews has its center of origin in Mexico, where its genetic diversity is grouped. Although there are some reports about the vegetative anatomy of *V. planifolia*, there are no specific studies that reveal whether there is anatomical variation, in addition to the genetic and chemical variation detected. Whether there is anatomical variation in the foliar and caulinar epidermis of two genotypes of *V. planifolia* was determined, as well as which traits support the recognition of these or are genetically established and characteristic of the species. Samples of leaf and stem of the contrasting genotypes in terms of their aromatic compounds, GIII and GVI, were collected in five localities of the Totonacapan region, Mexico. Semi-permanent and permanent preparations were obtained from both organs and seventeen epidermal parameters were analyzed. The anatomical description of the foliar and caulinar epidermis is presented, mentioning differences between the genotypes. It was found that there are significant differences in thirteen parameters, and that the area of adaxial epidermal cells in the leaf, the area of epidermal cells, the length of occlusive cells, and the stomatal index of the stem are traits that are probably defined genetically for this species, and that there is a positive correlation between the size of certain epidermal parameters and the altitude of the geographical origin of the genotypes.

**Keywords:** Vanilla, plant anatomy, leaf, stem.

**Agroproductividad:** Vol. 9, Núm. 1, enero. 2016. pp: 26-33.

## INTRODUCCION

El género *Vanilla* Mill., comprende entre 100 y 110 especies de distribución pantropical (Schlüter *et al.*, 2007; Govaerts *et al.*, 2008), y México es centro de origen de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews (Soto-Arenas 2003; Verpoorte, 2011), su cultivo se realiza en la Región del Totonacapan en Puebla y Veracruz, México (Chenaut, 2010), región que posee el germoplasma de mayor importancia biológica y comercial (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012); sin embargo, varios factores han contribuido a su baja variabilidad genética y morfológica y por ende su acentuada erosión genética (Schlüter *et al.*, 2007; Herrera-Cabrera *et al.*, 2012). Salazar-Rojas y colaboradores (2012) reportan que *V. planifolia* tiene seis variantes químicas que están definidas por la proporción de cuatro de los principales compuestos aromáticos producidos, siendo el quimiotipo QI el más parecido al tipo silvestre y el quimiotipo QVI al más ampliamente cultivado (Salazar-Rojas *et al.*, 2012). Herrera-Cabrera *et al.* (2012) demostraron variación genética en esta especie, de tal forma que el genotipo GVI corresponde al quimiotipo QI y el genotipo GIII al QVI (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012). La anatomía de *Vanilla* Mill. ha sido descrita (Stern y Judd, 1999) y algunas de sus especies (Raju, 1996; Baruah, 1998; Cameron y Dickinson 1998; Stern y Judd, 1999; Baruah y Saikia, 2002); y si bien existen trabajos en donde se incluye la descripción anatómica de la epidermis foliar y caulinar (Nayar *et al.*, 1976; Baruah, 1998; Stern y Judd, 1999) estos únicamente abarcan algunos aspectos generales. Con base en lo anterior, se realizó una descripción anatómica detallada de la epidermis foliar y caulinar de los genotipos GVI y GIII y analizó comparativamente caracteres cualitativos y cuantitativos, para saber su nivel de variación anatómica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El material utilizado en el presente trabajo incluyó 18 recolectas de cinco localidades de la Región del Totonacapan (Cuadro 1). Por cada localidad se seleccionaron tres individuos (plantas) maduros y sanos, de los cuales se tomaron segmentos de la región media de la lámina y del tallo, las cuales fueron fijadas y procesadas de acuerdo a las técnicas histológicas convencionales para el aislamiento de la epidermis y la obtención de secciones transversales (Sandoval *et al.*, 2005). Se realizaron observaciones en un fotomicroscopio Axioskop, Zeiss en campo claro y contraste de fases; se elaboraron fotomicrografías con una cámara de video ExwaveHAD (Sony) y se realizaron mediciones lineales y de área con el analizador de imágenes ImageJ v.1.48 (Ras-

band, 2014). Se evaluaron diecisiete caracteres cuantitativos (Cuadro 2), de los cuales se registraron 60 datos correspondientes a tres individuos por localidad, y de tres localidades haciendo un total de 180 datos por genotipo y para cada uno de los parámetros analizados. A los datos obtenidos se les aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y se compararon las medias entre grupos mediante una prueba de Tukey, finalmente se calculó el promedio y desviación estándar para los genotipos. El análisis estadístico se realizó con el programa JMP v.7 (SAS Institute Inc.).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfológicamente las hojas de *V. planifolia* son de color verde oscuro, acuminadas, dorsiventrales, ligeramente conduplicadas en su extremo adaxial, gruesas, carnosas, lisas, con vena media poco diferenciada. El tallo es lustroso, verde, suculento y terete.

### Epidermis en vista superficial:

Apéndices epidérmicos con tricomas ausentes en ambas epidermis de lámina y tallo como fue reportado por Stern y Judd (1999). Células epidérmicas de forma poligonal, algunas rectangulares con paredes anticlinales lineales y gruesas en ambas caras de lámina y en tallo (Figuras 1A y B; 3A y B). Esta forma de células y el tipo de pared anticlinal fueron reportados por Baruah y Saikia (2002), aunque Nayar y colaboradores (1976) mencionaron que las paredes anticlinales son engrosadas en toda la epidermis. Las células de ambas epidermis y en ambos genotipos están distribuidas sin arreglo definido en la lámina (Figura 1A, B, C y D) y en hileras paralelas al eje longitudinal en el tallo (Figura 3A y B), como ya fue reportado por Nayar *et al.* (1976) y Baruah y Saikia (2002).

**Cuadro 1.** Localidad, altitud y número de individuos recolectados para los genotipos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

| Quimiotipo | Localidad | Nombre                        | Altitud (m) | No. de individuos recolectados |
|------------|-----------|-------------------------------|-------------|--------------------------------|
| GVI/QI     | L1        | Pantepec, Puebla.             | 450         | 9                              |
|            | L2        | Papantla de Ocampo, Veracruz. | 250         |                                |
|            | L7        | Pantepec, Puebla.             | 450         |                                |
| GIII/QVI   | L2        | Papantla de Ocampo, Veracruz. | 250         | 9                              |
|            | L3        | Papantla de Ocampo, Veracruz. | 250         |                                |
|            | L4        | Puntilla Aldama, Veracruz     | 50          |                                |

**Cuadro 2.** Parámetros epidérmicos cuantitativos analizados en *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

| No. de carácter | Carácter   |
|-----------------|--|
| 1               | Área celular adaxial de lámina ( $\mu\text{m}^2$ )                                       |
| 2               | Área celular abaxial de lámina ( $\mu\text{m}^2$ )                                       |
| 3               | Longitud de células oclusivas de lámina ( $\mu\text{m}$ )                                |
| 4               | Índice estomático de lámina  |
| 5               | Área celular del tallo ( $\mu\text{m}^2$ )   |
| 6               | Longitud de células oclusivas del tallo ( $\mu\text{m}$ )                                |
| 7               | Índice estomático del tallo  |
| 8               | Grosor de cutícula en el margen de lámina ( $\mu\text{m}$ )                              |
| 9               | Grosor de cutícula adaxial de lámina ( $\mu\text{m}$ )                                   |
| 10              | Ancho de células epidérmicas adaxiales de lámina (sección transversal) ( $\mu\text{m}$ ) |
| 11              | Alto de células epidérmicas adaxiales de lámina (sección transversal) ( $\mu\text{m}$ )  |
| 12              | Grosor de cutícula abaxial de lámina ( $\mu\text{m}$ )                                   |
| 13              | Ancho de células epidérmicas abaxiales de lámina (sección transversal) ( $\mu\text{m}$ ) |
| 14              | Alto de células epidérmicas abaxiales de lámina (sección transversal) ( $\mu\text{m}$ )  |
| 15              | Grosor de cutícula de tallo ( $\mu\text{m}$ )  |
| 16              | Ancho de células epidérmicas de tallo (sección transversal) ( $\mu\text{m}$ )            |
| 17              | Alto de células epidérmicas de tallo (sección transversal) ( $\mu\text{m}$ )             |

Su tamaño es de  $6126.66 \mu\text{m}^2$  en GVI y de  $5906.09 \mu\text{m}^2$  en GIII en la superficie adaxial y de  $4508.65 \mu\text{m}^2$  en GVI y  $5229.82 \mu\text{m}^2$  en GIII en la abaxial (Cuadro 3); Baruah y Saikia (2002) mencionan que en general las células epidérmicas abaxiales son más cortas y anchas que las adaxiales, esto concuerda con lo encontrado en este estudio ya que las células abaxiales son más pequeñas que las adaxiales. El tamaño de células en el tallo es de  $5106.28 \mu\text{m}^2$  en GVI y de  $4975.84 \mu\text{m}^2$  en GIII (Cuadro 3). Si bien, se reportan dimensiones de largo y ancho para células epidérmicas (Nayar *et al.*, 1976; Baruah y Saikia 2002), en este estudio se consideró el área celular como una medida comparativa del tamaño de las células, ya que estas tienen forma poligonal irregular.

Los estomas sólo presentes en la epidermis abaxial, algunos arreglados en hileras paralelas al eje

longitudinal de la lámina y del tallo, otros al azar de tipo tetracítico en ambos genotipos (Figuras 1C y D; 3A y B); no obstante, Nayar *et al.* (1976) mencionan que además de tetracíticos en *V. planifolia* se han observado de tipo anisocítico, mientras que Baruah y Saikia (2002) reportaron que para esta especie los estomas son anomocíticos con 5-7 células subsidiarias, Stern y Judd (1999) mencionan los tres tipos de estomas presentes en *V. planifolia*, aunque prevalece el tipo tetracítico. La diversidad de tipos de estomas en un mismo taxa de monocotiledóneas ha sido reportada en pocos casos tales como, Pandanales y Spathiflorae y en *Dioscorea* con registros de siete diferentes tipos. Se considera que el tipo predominante de estoma en un taxón tiene valor taxonómico y filogenético (Sandoval *et al.*, 2010a). La predominancia de estomas de tipo tetracítico en varias especies de *V. planifolia* indica

que este tipo puede ser característico del género (Nayar *et al.*, 1976) aunque también se presenta en varios taxa de Orchidaceae (Sandoval *et al.*, 2010a). El tipo anomocítico es definido como más derivado que el resto de los tipos estomáticos mencionados (Stebbins y Khush, 1961). El género *Vanilla* Mill, es considerado como uno de los miembros primitivos de Orchidaceae (Cameron y Dickinson, 1998), y la presencia predominante del tipo estomático tetracítico menos derivado está de acuerdo con la posición primitiva que guarda este género dentro de la familia (Nayar *et al.*, 1976; Soto-Arenas y Dressler, 2010). La longitud de los estomas, estimado a partir de la longitud de las células oclusivas, fue de  $38.32 \mu\text{m}$  para el GVI y  $39.81 \mu\text{m}$  para el GIII (Cuadro 3), Stern y Judd (1999) reportan que para *Vanilla* Mill, la longitud promedio de los estomas en lámina es de  $48 \mu\text{m}$  y particularmente para *V. planifolia* de  $44 \mu\text{m}$ . En el tallo la longitud de los estomas es de  $39.28 \mu\text{m}$  para el GVI y  $38.80 \mu\text{m}$  para el GIII (Cuadro 3), Baruah y Saikia (2002) reportaron que en *V. planifolia* la longitud de los estomas es de  $25.13 \mu\text{m}$ , valores considerablemente menores a lo encontrado en los dos genotipos analizados. Si bien la longitud de las células oclusivas para estos dos genotipos fue similar, la variación detectada por otros autores puede atribuirse a una procedencia distinta de los materiales analizados.

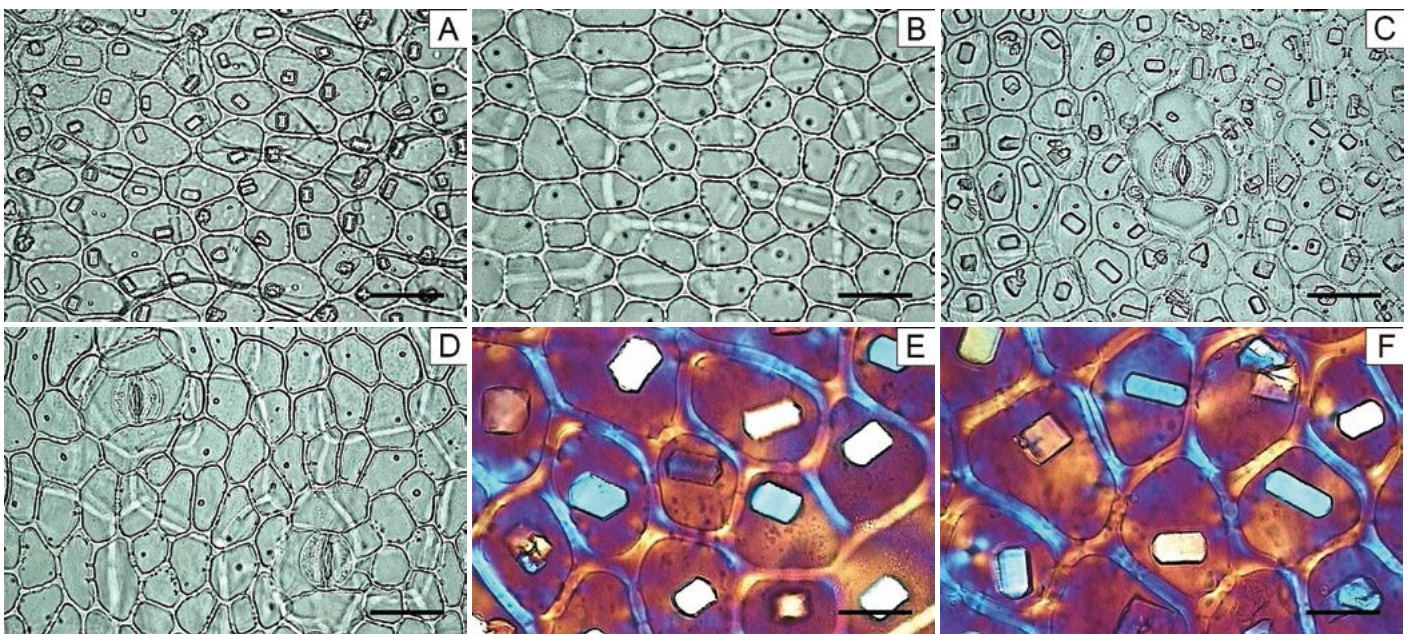
El índice estomático reportado para la lámina de *V. planifolia* va de 4.6 a 3.21 (Nayar *et al.*, 1976; Baruah y Saikia, 2002), y los valores encontrados en el presente estudio fueron de 1.81 para el GVI y 2.21 para el GIII (Cuadro 3) considerablemente menores. Nayar *et al.* (1976), mencionan que en *V. planifolia* existe un progresivo

incremento en el índice estomático desde la base (3.6) hasta el ápice (5.5) de la lámina, este análisis no fue realizado en el presente estudio, sin embargo, en estudios comparativos, analizar siempre la misma región de la lámina evita errores de interpretación dado que en varios grupos de monocotiledóneas se presenta dicha variación en el índice estomático a lo largo de la hoja. A este respecto, el índice estomático del tallo (IET) fue de 1.02 para el GVI y de 1.05 para GIII (Cuadro 3), el cual con lo reportado previamente para esta misma especie fue de 0.57 (Nayar *et al.*, 1976) y de 1.17 (Baruah y Saikia, 2002), este último valor es más cercano a lo obtenido en los genotipos estudiados. Aún cuando el índice estomático entre los dos genotipos fue similar, la diferencia en los valores reportados por otros autores para esta misma especie, puede deberse a diferentes condiciones de cultivo, procedencia del germoplasma analizado, y para el cálculo de este parámetro, posi-

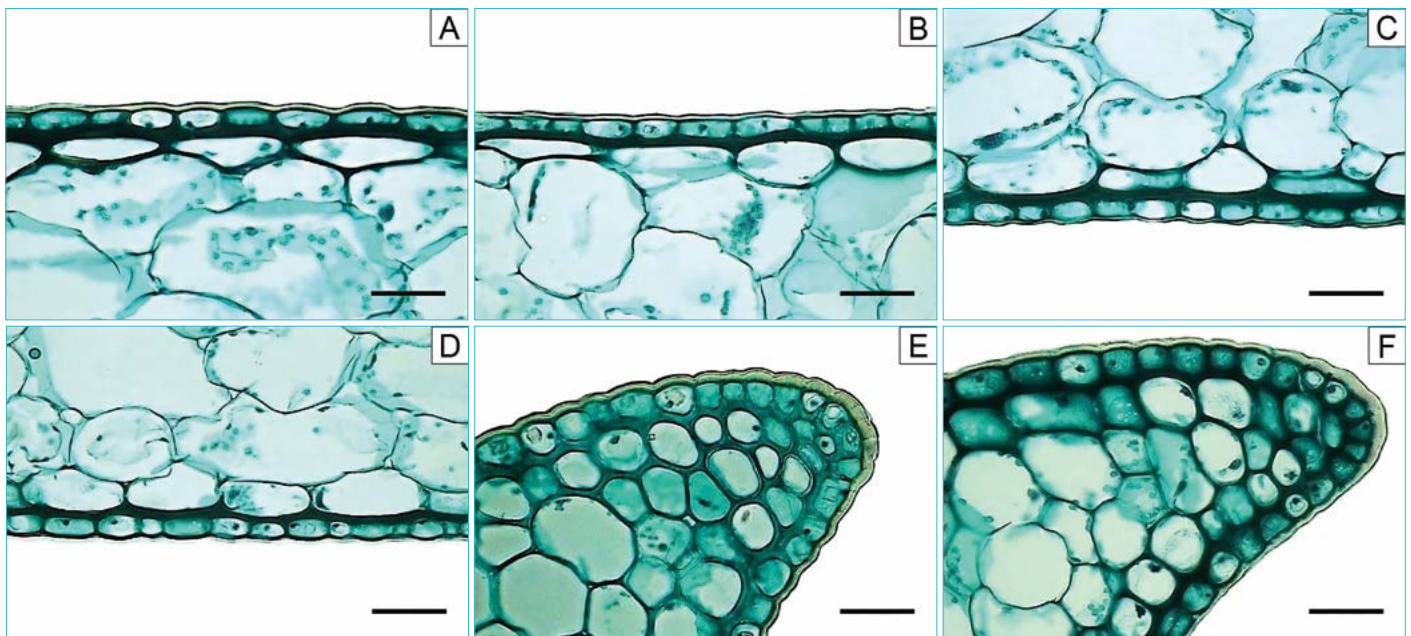
blemente los índices estomáticos empleados no necesariamente fueron los mismos.

En ambas epidermis de lámina y tallo se observaron cristales de oxalato de calcio solitarios y agrupados (Fig. 1E y F; 3A y B). Los primeros ubicados uno por célula, de forma regular o irregular; dentro de los regulares hay prismáticos con número de vértices variables. Dentro de los cristales irregulares se encuentran los cristales amorfos igualmente presentes en ambos genotipos, también se observaron los oblongos con constricciones, redondeados y los apenas visibles (Figura 3B). Los cristales agrupados se observaron unidos o separados, donde éstos últimos pueden ser dos o más cristales de formas regulares o pueden ser pequeños apenas visibles, como cristales en arena. La presencia de cristales ya fue reportado por Nayar *et al.* (1976) y Stern y Judd (1999). Cabe señalar que la presencia de cristales en la epidermis no es frecuente en Orchidaceae, reportándose sólo en *Cuitlauzina pygmaea* (Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams y *Rossioglossum ampliatum* (Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams de la subtribu Oncidiinae (Sandoval-Zapotitla *et al.*, 2010b).

**Epidermis en sección transversal.** Cutícula lisa, con un grosor adaxial de  $4.24 \mu\text{m}$  en el GVI y  $3.06 \mu\text{m}$  en el GIII, con grosor abaxial de  $2.47 \mu\text{m}$  en GVI y  $1.98 \mu\text{m}$  en GIII (Cuadro 3) (Figura 2A, B, C y D); a nivel de los márgenes es de  $9.15 \mu\text{m}$  y  $8.79 \mu\text{m}$  respectivamente (Cuadro 3) (Figura 2E y F). En todos los casos, siempre es más gruesa en la epidermis adaxial lo que tiene correspondencia con lo ya reportado para *Vanilla* Mill., (Stern y Judd, 1999). Entre los genotipos siempre fue más gruesa en el GVI. Para otras especies estudiadas, se ha reportado que la epidermis adaxial también tiene una cutícula más gruesa ( $2.5$  a  $7.5 \mu\text{m}$ ) y la abaxial más delgada ( $2.5 \mu\text{m}$ ), particularmente en *V. planifolia* el grosor de la cutícula adaxial es de  $2.5$  a  $5 \mu\text{m}$  y la abaxial



**Figura 1.** Lámina de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, vista superficial. A. Genotipo VI, epidermis adaxial. B. Genotipo III, epidermis adaxial. C. Genotipo VI, epidermis abaxial. D. Genotipo III, epidermis abaxial. E. Genotipo VI, epidermis adaxial con cristales prismáticos. F. Genotipo III, epidermis adaxial con cristales prismáticos. Barra=50  $\mu\text{m}$ .



**Figura 2.** Lámina de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, sección transversal. A. Genotipo VI, epidermis adaxial. B. Genotipo III, epidermis adaxial. C. Genotipo VI, epidermis abaxial. D. Genotipo III, epidermis abaxial. E. Genotipo VI, epidermis a nivel del margen. F. Genotipo III, epidermis a nivel del margen. Barra=50  $\mu\text{m}$ .

de menos de 2.5  $\mu\text{m}$  (Stern y Judd, 1999), no obstante Baruah y Saikia (2002) reportaron que ambas epidermis tienen un grosor de cutícula de 5.5  $\mu\text{m}$ . Los valores obtenidos para ambos genotipos están dentro de los valores reportados por Stern y Judd (1999) para esta especie. Para el tallo el grosor fue de 4.84  $\mu\text{m}$  en GVI y 3.38  $\mu\text{m}$  en GIII (Figura 3C y D).

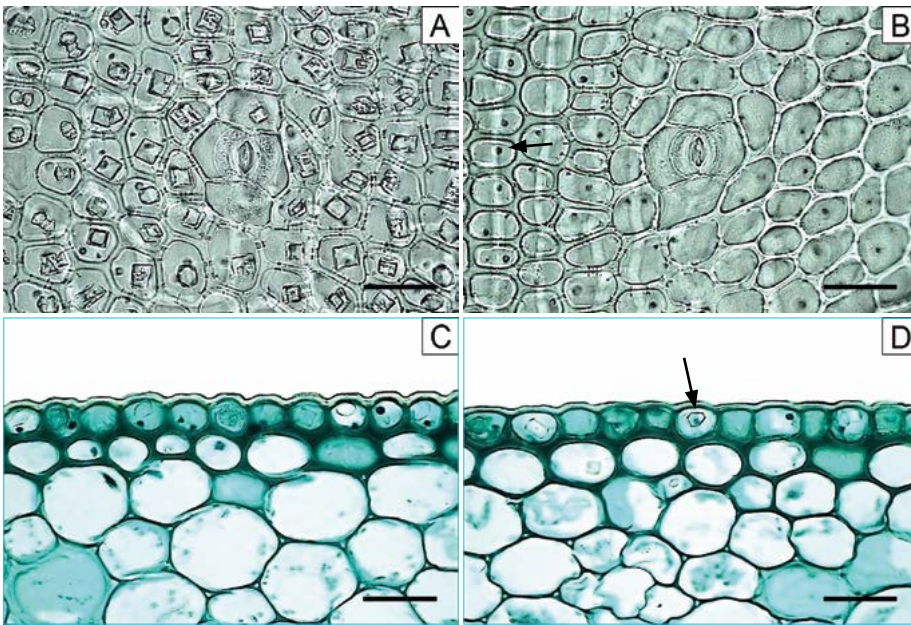
En las especies de *Vanilla* que Stern y Judd (1999) analizaron encontraron que el grosor de cutícula generalmente es de 2.5 a 7.5  $\mu\text{m}$  por lo que los grosores aquí observados en ambos genotipos están comprendidos dentro de este intervalo; sin embargo, Baruah y Saikia (2002) reportaron que *V. planifolia* tiene un grosor de cutícula de 18.75  $\mu\text{m}$ , este valor está muy alejado de los intervalos reportados para la misma especie. Por otro lado, se reportó que *V. barbellata* Rchb. f. y *V. madagascariensis* Rolfe tienen un grosor de cutícula de 10  $\mu\text{m}$ , mientras que en *V. claviculata* Lindl., es de 25  $\mu\text{m}$ ; en todos los casos la cutícula también es lisa. La epidermis en ambas caras de lámina y tallo es monoestratificada para los dos genotipos (Figuras 2A, B, C y D; 3C y D), Baruah y Saikia (2002) reportaron que la epidermis del tallo es monoestratificada, pero mencionan que la epidermis adaxial de *V. planifolia* incluye dos estratos y la abaxial tiene dos a tres estratos; posiblemente estos autores consideraron los estratos de la hipodermis como parte de la epidermis; sin embargo, el tamaño celular, el grosor de la pared

y los contenidos son aspectos que indican que estos estratos corresponden a una hipodermis y no a una epidermis múltiple (Dickison, 2000).

Las células epidérmicas en la lámina son de forma rectangular a oblongas y tangencialmente alargadas (Figura 2A, B, C y D), mientras que en el tallo son isodiamétricas y oblongas (Figura 3C y D). Stern y Judd (1999) mencionan que en ambas epidermis de la lámina, las células también pueden ser isodiamétricas, en los materiales analizados esta forma sólo se observó en las células ubicadas en los márgenes (Figura 2E y F).

El ancho de las células epidérmicas adaxiales fue de 44.16  $\mu\text{m}$  en GVI y 33.31  $\mu\text{m}$  para GIII, mientras que el alto fue de 17.40  $\mu\text{m}$  en GVI y 14.26  $\mu\text{m}$  para GIII (Cuadro 3); el ancho de las células epidérmicas abaxiales fue de 32.10  $\mu\text{m}$  en GVI y 25.49  $\mu\text{m}$  para GIII, mientras que el alto fue de 16.78  $\mu\text{m}$  en GVI y 14.24  $\mu\text{m}$  en GIII (Cuadro 3). Las células epidérmicas adaxiales son más grandes que las abaxiales, esto mismo fue reportado por Baruah y Saikia (2002); no obstante, las células epidérmicas del GVI fueron más grandes que las de GIII. En el tallo fueron de 32.64  $\mu\text{m}$  por 23.65  $\mu\text{m}$  en GVI y 26.22  $\mu\text{m}$  por 19.16  $\mu\text{m}$  en GIII (Cuadro 3).

La pared periclinal interna y las anticlinales de las células epidérmicas en ambas caras de la lámina y del tallo



**Figura 3.** Tallo de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. A. Genotipo VI, vista superficial, epidermis con estoma tetracítico, cristales prismáticos. B. Genotipo III, vista superficial, epidermis con estoma tetracítico, cristales diminutos (flecha). C. Genotipo VI, sección transversal, epidermis con cutícula lisa y células isodiamétricas, oblongas y tangencialmente alargadas, con cristales prismáticos. D. Genotipo III, sección transversal, epidermis con cutícula lisa y células isodiamétricas, oblongas y tangencialmente alargadas, con cristales prismáticos (flecha). Barra=50  $\mu\text{m}$ .

están engrosadas (Figuras 2A, B, C y D; 3C, D). Las células a nivel de los márgenes de la lámina tienen paredes celulares aún más engrosadas (Figura 2E y F), sin embargo, Sern y Judd (1999), reportaron engrosamientos solo

para las paredes periclinales internas, mientras que otras especies de *Vanilla* Mill., tienen paredes periclinales externas engrosadas.

Estomas superficiales, rebordes cuticulares externos pequeños y los internos inconspicuos; cámara subestomática pequeña, similar en tamaño a las células del mesofilo. Para otras especies de *Vanilla* Mill., se reporta que los estomas usualmente son superficiales, presentes generalmente solo en la epidermis abaxial, aunque en *V. insignis* Ames, *V. siamensis* Rolfe ex Downie y *V. poitaei* Rchb. f. (ésta última con hojas escuamiformes), los estomas están presentes en ambas epidermis, así mismo, se menciona que la cámara subestomática es predominantemente pequeña, los rebordes cuticulares internos pequeños a diminutos o ausentes en las especies con hojas escuamiformes (Stern y Judd 1999).

**Cuadro 3.** Promedio (P) y desviación estándar (D.E.) de los parámetros epidérmicos analizados en dos genotipos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. Las letras iguales en hileras representan grupos homogéneos.

| Carácter   | GVI                                | GIII                               |
|--|------------------------------------|------------------------------------|
|  | P $\pm$ D.E.                       | P $\pm$ D.E.                       |
| Área celular adaxial de la lámina ( $\mu\text{m}^2$ )        | 6126.66 $\pm$ 2279.57 <sup>a</sup> | 5906.09 $\pm$ 912.86 <sup>a</sup>  |
| Área celular abaxial de la lámina ( $\mu\text{m}^2$ )        | 4508.65 $\pm$ 862.26 <sup>b</sup>  | 5229.82 $\pm$ 1073.41 <sup>a</sup> |
| Longitud de células oclusivas de la lámina ( $\mu\text{m}$ ) | 38.32 $\pm$ 3.20 <sup>b</sup>      | 39.81 $\pm$ 2.33 <sup>a</sup>      |
| Índice estomático de la lámina                               | 1.81 $\pm$ 0.42 <sup>b</sup>       | 2.21 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>       |
| Área celular del tallo ( $\mu\text{m}^2$ )                   | 5106.28 $\pm$ 1341.65 <sup>a</sup> | 4975.84 $\pm$ 752.14 <sup>a</sup>  |
| Longitud de células oclusivas del tallo ( $\mu\text{m}$ )    | 39.28 $\pm$ 2.61 <sup>a</sup>      | 38.80 $\pm$ 2.64 <sup>a</sup>      |
| Índice estomático del tallo                                  | 1.02 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>       | 1.05 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>       |
| Grosor de la cutícula en el margen ( $\mu\text{m}$ )         | 9.15 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>       | 8.79 $\pm$ 1.46 <sup>b</sup>       |
| Grosor de la cutícula adaxial ( $\mu\text{m}$ )              | 4.24 $\pm$ 1.20 <sup>a</sup>       | 3.06 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>       |
| Ancho de células epidérmicas adaxiales ( $\mu\text{m}$ )     | 44.16 $\pm$ 15.73 <sup>a</sup>     | 33.31 $\pm$ 6.10 <sup>b</sup>      |
| Alto de células epidérmicas adaxiales ( $\mu\text{m}$ )      | 17.40 $\pm$ 8.60 <sup>a</sup>      | 14.26 $\pm$ 2.16 <sup>b</sup>      |
| Grosor de la cutícula abaxial ( $\mu\text{m}$ )              | 2.47 $\pm$ 0.66 <sup>a</sup>       | 1.98 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>       |
| Ancho de células epidérmicas abaxiales ( $\mu\text{m}$ )     | 32.10 $\pm$ 10.85 <sup>a</sup>     | 25.49 $\pm$ 5.15 <sup>b</sup>      |
| Alto de células epidérmicas abaxiales ( $\mu\text{m}$ )      | 16.78 $\pm$ 6.26 <sup>a</sup>      | 14.24 $\pm$ 2.14 <sup>b</sup>      |
| Grosor de la cutícula en el tallo ( $\mu\text{m}$ )          | 4.84 $\pm$ 0.76 <sup>a</sup>       | 3.38 $\pm$ 1.39 <sup>b</sup>       |
| Ancho de las células epidérmicas del tallo ( $\mu\text{m}$ ) | 32.64 $\pm$ 5.99 <sup>a</sup>      | 26.22 $\pm$ 10.53 <sup>b</sup>     |
| Alto de células epidérmicas del tallo ( $\mu\text{m}$ )      | 23.65 $\pm$ 3.00 <sup>a</sup>      | 19.16 $\pm$ 7.17 <sup>b</sup>      |

### Análisis de varianza (ANOVA) de los caracteres epidérmicos evaluados

#### Análisis por Localidad para cada genotipo

Los resultados mostraron que existen diferencias significativas de ciertos parámetros epidérmicos, entre localidades de los genotipos GVI y GIII. El análisis de varianza para las tres localidades del genotipo GVI indicaron que de diecisiete caracteres analizados, solo el índice estomático del tallo se mantiene sin variación entre localidades, por lo tanto, no contribuyó significativamente a la separación de grupos ( $P>0.05$ ), mientras que los dieciséis caracteres restantes fueron estadísticamente significativos ( $P<0.05$ ) y variables entre sus tres localidades. En las localidades del genotipo GIII, el área de las células epidérmicas



adaxiales y abaxiales, el índice estomático y el grosor de la cutícula abaxial, todos ellos de la lámina, fueron constantes para este genotipo ( $P > 0.05$ ), el resto de los caracteres, mostraron tener variación estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ). A partir de la constancia de estos cinco parámetros epidérmicos, se puede decir que estos caracteres se mantienen estables dentro de sus respectivos genotipos, independientemente de las localidades, y posiblemente están genéticamente definidos.

Cuando se consideran los caracteres cualitativos entre los genotipos GVI y GIII, no se observan diferencias entre ellos, además los resultados de los análisis de varianza y la prueba de Tukey para los caracteres cuantitativos muestran que no existen diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en el área de las células epidérmicas adaxiales de la lámina, área de las células epidérmicas, longitud de las células oclusivas y el índice estomático del tallo, por lo que es posible que exista una fuerte influencia genética dentro de *V. planifolia*. En el resto de los caracteres hubo diferencias que resultaron ser estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) y que permiten distinguir a los genotipos y postular que existe variación anatómica en el germoplasma de esta especie.

El genotipo GVI está restringido al Municipio de Pantepec, Puebla, México, cuya localidad se encuentra a una altitud cercana a 450 m; no obstante, tres individuos de los nueve analizados, fueron recolectados en Papantla, Veracruz, México a una altitud cercana a 250 m, con antecedentes de haber sido introducido; lo cual podría haber afectado su crecimiento y desarrollo y sea factor determinante para una mayor cantidad de parámetros epidérmicos diferentes entre las tres localidades del genotipo. Comparando las localidades del genotipo GIII, se observó menor número de caracteres diferentes entre ellas. Si bien, dos de las localidades analizadas están en Papantla a una altitud cercana a 250 m, una está en Puntilla Aldama, Veracruz, a 50 m de altitud, donde las condiciones ambientales son diferentes; sin embargo, a pesar de ello, se registró que cuatro de los parámetros epidérmicos analizados se mantienen constantes. Se ha mencionado que este genotipo es el mayormente cultivado y su distribución es más amplia (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012) pudiendo atribuirse mayor plasticidad genética.

Del análisis de varianza entre los genotipos destaca que trece parámetros epidérmicos (76.5%) fueron significativamente distintos y permiten ver que existe variación anatómica entre ellos, de lo cual se desprende que posi-

blemente dicha variación está controlada genéticamente. Los valores más altos correspondieron en 58.8% de los parámetros al genotipo GVI, con características relacionadas a parientes silvestres y una distribución altitudinal entre 250 y 450 m; mientras que los valores inferiores atañen al genotipo GIII, considerado como el representativo de las recolectas más comerciales, ubicadas en altitudes de 50 a 250 m (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012). Al parecer, el proceso de selección-domesticación de las recolectas de GIII habría propiciado reducción en el grosor de la cutícula, así como, en el ancho y alto de células epidérmicas tanto en lámina como en tallo, contribuyendo así, a la variación anatómica del germoplasma de *V. planifolia*. Para ambos genotipos se apreció una correlación positiva entre los valores de diez parámetros epidérmicos (Cuadros 1 y 3) y la altitud de la distribución geográfica de los mismos.

Si bien se ha reportado que existe una correlación positiva entre el índice estomático foliar y la altitud para *Polylepsis sericea* Wedd. (Rosaceae) y *Oyedaea verbesinoides* DC. (Asteraceae) (Colmenares-Arteaga *et al.* 2005; García y Lapp 2005), en el caso de los valores registrados para los genotipos, se observó que existe más bien una correlación negativa, es decir, el genotipo GVI que se distribuye a mayor altitud tiene un índice estomático foliar menor, esta misma relación fue mencionada para *Ribes ciliatum* Humb. & Bonpl. (Grossulariaceae) (Jiménez-Noriega *et al.*, 2015). Tanto el índice estomático foliar menor como un mayor grosor de cutícula en lámina y tallo así como, mayor tamaño del alto y ancho de las células en lámina y tallo pueden estar reflejando una adaptación a condiciones de estrés hídrico estacional, como se ha observado que sucede en las localidades del genotipo VI.

## CONCLUSIONES

Existe variación significativa entre los parámetros epidérmicos de los genotipos GIII y GVI de *V. planifolia*, ya que el 76.5% de los caracteres cuantitativos epidérmicos analizados permiten distinguir a los genotipos, poniendo en evidencia la variación anatómica en el germoplasma de esta especie; mientras que 23.5% de dichos caracteres, junto con los cualitativos, se mantienen estables y pueden estar genéticamente determinados. Se determinó que el genotipo GIII aún cuando se cultiva exitosamente en localidades que incluyen amplia distribución geográfica, mantiene el tamaño de sus células epidérmicas, índice estomático y grosor de la cutícula abaxial de la lámina sin variaciones significativas, mientras que el genotipo GVI reflejó que solo el índice estomático del tallo

es constante entre sus localidades. Se puede hablar de una correspondencia entre genotipo/quimiotipo y ciertos parámetros epidérmicos en el germoplasma de *V. planifolia*. Existe una correlación positiva entre el valor de ciertos parámetros epidérmicos y la altitud geográfica de los genotipos evaluados de *V. planifolia*.

## AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT: 2012-04-190442 (SP06), así como a, Dr. Jorge E. Campos y Dr. Victor M. Salazar por el apoyo brindado durante el trabajo de campo e identificación del material biológico. A los productores Don Veremundo Rodríguez, Ing. Raúl Deguetao, Don Edilberto Gallegos y Don Miguel A. Acosta por las facilidades otorgadas para la obtención del material biológico. Se agradece también a Ma. Concepción Guzmán, Tania G. Vallejo y Janeth Zamora por el apoyo técnico en el procesamiento histológico de las muestras.

## LITERATURA CITADA

- Baruah A., Saikia N. 2002. Vegetative anatomy of the orchid *Vanilla planifolia* Andr. J. Econ. Taxon. Bot. 26(1): 161-165
- Baruah A. 1998. Vegetative anatomy of the endemic orchid *Vanilla piliifera* Holt. Phytomorphology 48 (1): 101-105.
- Cameron K., Dickinson W.C. 1998. Foliar architecture of vanilloid orchids: insights into the evolution of reticulate leaf venation in monocotyledons. Botanical Journal of the Linnean Society 128:45-70.
- Chenaut V. 2010. Capítulo 2 Totonacas. En: Florescano, E. y Ortiz Escamilla (Coordinadores). Atlas del patrimonio natural, histórico y cultural de Veracruz. Tomo III. Patrimonio cultural. Gobierno del Estado de Veracruz.
- Colmenares-Arteaga M., Rada F., Luque R. 2005. Anatomía foliar de *Polylepis sericea* Wedd. (Rosaceae) a dos altitudes en los Altos andes Venezolanos. Plantula 3(3): 141-148.
- Dickson W.C. 2000. Integrative Plant Anatomy. Academic Press, USA.
- García M., Lapp M. 2005. Anatomía foliar en especímenes de *Oyedaea verbesinoides* DC. (Asteraceae) creciendo en tres ambientes distintos. Ernstia 15(1-4): 129-143.
- Govaerts R., Campacci M.A., Holland Baptista D., Cribb P., George A., Kreuz K., Wood J. 2008. World Checklist of Orchidaceae. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew.
- Herrera-Cabrera B.E., Salazar-Rojas V.M., Delgado-Alvarado A., Campos-Contreras J.E., Cervantes-Vargas J. 2012. Use and conservation of *Vanilla planifolia* J. in the Totonacapan Region, México. European Journal of Environmental Sciences 2(1): 43-50.
- Jiménez-Noriega M.S., Terrazas T., López-Mata L. 2015. Variación morfo-anatómica de *Ribes ciliatum* a lo largo de un gradiente altitudinal en el norte de la Sierra Nevada, México. Botanical Sciences 93(1): 23-32.
- JMP. Versión 7. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2007.
- Nayar B.K., Rajendra R., Vastala P. 1976. Dermal morphology of *Vanilla planifolia* Andr. and *V. wightii* Lindl. Proc. Indian Acad. Sci. 84(5): 173-179
- Raju M.S. 1996. Morpho-anatomical study of the endemic orchid *Vanilla wightiana* Lindl. (Orchidaceae). Phytomorphology 46: 371-375.
- Rasband W.S. 2014. ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, imagej.nih.gov/ij/, 1997-2012. JMP®, Versión 7. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2007.
- Salazar-Rojas V.M., Herrera-Cabrera B.E., Delgado-Alvarado A., Soto-Hernández M., Castillo-González F., Cobos-Peralta M. 2012. Chemotypical variation in *Vanilla planifolia* Jack. (Orchidaceae) from the Puebla-Veracruz Totonacapan región. Genet Resour Crop Evol 59: 875-887.
- Sandoval Z.E., Rojas A., Guzmán C., Carmona L., Ponce M., León C., Loyola C., Vallejo A., Medina A. 2005. Técnicas Aplicadas al Estudio de la Anatomía Vegetal. Cuadernos del Instituto de Biología 38. Instituto de Biología, UNAM. México 278 pp.
- Sandoval-Zapotitla E., García-Cruz J., Terrazas T., Villasenor J.L. 2010a. Relaciones filogenéticas de la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae) inferidas a partir de caracteres estructurales y secuencias de ADN (ITS y matK): un enfoque combinado. Revista Mexicana de Biodiversidad 81(2): 263-279.
- Sandoval-Zapotitla E., Terrazas T., Villaseñor J.L. 2010b. Diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae). Rev. Biol. Trop. 58(2): 733-755.
- Schlüter P.M., Soto Arenas M.A., Harris S.A. 2007. Genetic Variation in *Vanilla planifolia* (Orchidaceae). Economic Botany 61(4): 328-336.
- Soto-Arenas M.A. 2003. Vanilla. En: Pridgeon A.M., Cribb P.J., Chase M.W., Rasmussen F.N. (eds). Genera Orchidacearum, Vol 3, Orchidoideae (Part 2) Vanilloideae. Oxford University Press, p 402.
- Soto-Arenas M.A., Dressler R.L. 2010. A revision of the mexican and central american species of *Vanilla Plumier* ex Miller with a characterization of their region of the nuclear ribosomal DNA. Lankesteriana 9(3): 285-354
- Stebbins G.L., Khush G.S. 1961. Variation in the Organization of the Stomatal Complex in the Leaf Epidermis of Monocotyledons and Its Bearing on Their Phylogeny. American Journal of Botany, Vol. 48(1): 51-59.
- Stern W.L., Judd W.S. 1999. Comparative vegetative anatomy and systematics of Vanilla (Orchidaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 131: 353-382.
- Verpoorte R. 2011. Prologue. En: Odoux E, Grisoni M (eds), Vanilla (Medicinal and aromatic plants-industrial profiles). CRC Press.