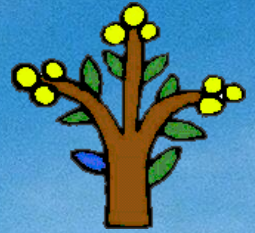


INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS



TOWARDS A ROBUST SYSTEM FOR THE TAXONOMY OF MEXICAN LUPINS: A COMPARATIVE MORPHOANATOMIC STUDY

Aurora Isabel Cantor del Angel, Arianna Michelle Hernández
Sánchez, María Concepción Guzmán Ramos, Estela Sandoval
Zapotitla, Kalina_Bermúdez_Torres



Género *Lupinus*

Taxonomía

- ❖ Reino: Plantae
- ❖ División: Magnoliophyta
- ❖ Clase: Magnoliopsida
- ❖ Orden: Fabales
- ❖ Familia: Fabaceae
- ❖ Subfamilia: Faboideae
- ❖ Tribu: Genisteae
- ❖ Género: *Lupinus* L.



~160 distribuidas en México



Distribución altitud 0 a 4300 m s.n.m

anuales o perennes,
Hierbas, arbustos, árboles

~275 distribuidas en el mundo



160 nombres

1. Elevada similitud de las estructuras florales
2. Elevada plasticidad fenotípica
3. Alto grado de hibridación



L. montanus



L. bilineatus



L. campestris



L. aschenbornii



L. splendens



L. hintonii

No existe una clave integrativa para México

Claves de identificación

Smith 1938

2. Flowers clearly more than 1 cm long (commonly 1.5 cm or nearly so); fruit usually ...
 3 cm long, variously pubescent or pilose; adaxial calyx-lobe entire ...
 usually (in most species) less than 1 mm long; keel incurved as ...
 about at right angles, the margins smooth or ciliate; plants var ...
 woody) mostly taller, not tufted with basal branches; middle ...
 growing below 3000 m.

3. Stems (at least below the inflorescence) ...
 erect straight hairs 2–5 mm long, intern ...
 adaxial calyx-lobe 3.5–6 (–7) mm long ...
 mostly less than 1 m tall; floral bracts at

Stipules large and conspicuous, mostly 3–6 cm. long or even longer. *L. montanus.*
Stipules rather inconspicuous, mostly 2 cm. long or shorter, rarely longer.
Leaflets linear or nearly so; plants annual. ... *L. angustifolius.*
Leaflets usually much broader than linear; plants perennial.
Stems and petioles pilose with very long, spreading, soft hairs. *L. Ehrenbergii.*
Stems and petioles with pubescence of chiefly or wholly appressed hairs.

Standley y Steyermark
 1953

1 Folíolos conduplicados, 0.3–0.6 cm de ancho, lineares. ... *L. costaricensis*
 1' Folíolos complanados, 0.5–1.3 cm de ancho, linear-oblancoelados o linear-oblongos
 a angostamente elípticos u ovoides.

... y very obtuse. *L. elegans.*

Mc Vaugh, 1987

2 Ramitas densamente amarillento-hirsutas; estípulas con la porción libre 1.5–2.5 cm.
 2' Ramitas esparcidamente hirsutas a pilosas o muy cortamente tomentosas a adpreso-
 seríceas o glabras; estípulas con la porción libre 0.3–1.5(–1.9) cm.
 3 Ramitas glabras a muy cortamente tomentosas o pilosas; estípulas libres o apenas
 adnatas a la base del pecíolo, enteras, con la porción libre 0.3–0.5 cm; hojas con
 5–7 folíolos; fls. con el labio inferior del cáliz 3–4 mm. *L. clarkii*
 3' Ramitas glabras a esparcidamente hirsutas o adpreso-seríceas; estípulas adnatas a la base

del pecíolo (por hasta ca. 0.4 cm), bidentadas, con
 hojas con (4–)6–9 folíolos; fls. con el labio inferior





























1 Folíolos conduplicados, 0.3–0.6 cm de ancho, lineares. *L. costaricensis*
 1' Folíolos complanados, 0.5–1.3 cm de ancho, linear-oblancoelados o linear-oblongos
 a angostamente elípticos u ovoides.
 2 Ramitas densamente amarillento-hirsutas; estípulas con la porción libre 1.5–2.5 cm. *L. valerioi*
 2' Ramitas esparcidamente hirsutas a pilosas o muy cortamente tomentosas a adpreso-
 seríceas o glabras; estípulas con la porción libre 0.3–1.5(–1.9) cm.
 3 Ramitas glabras a muy cortamente tomentosas o pilosas; estípulas libres o apenas
 adnatas a la base del pecíolo, enteras, con la porción libre 0.3–0.5 cm; hojas con
 5–7 folíolos; fls. con el labio inferior del cáliz 3–4 mm. *L. clarkii*
 3' Ramitas glabras a esparcidamente hirsutas o adpreso-seríceas; estípulas adnatas a la base
 del pecíolo (por hasta ca. 0.4 cm), bidentadas, con la porción libre 0.9–1.5(–1.9) cm;
 hojas con (4–)6–9 folíolos; fls. con el labio inferior del cáliz 4.5–8 mm. *L. elegans*

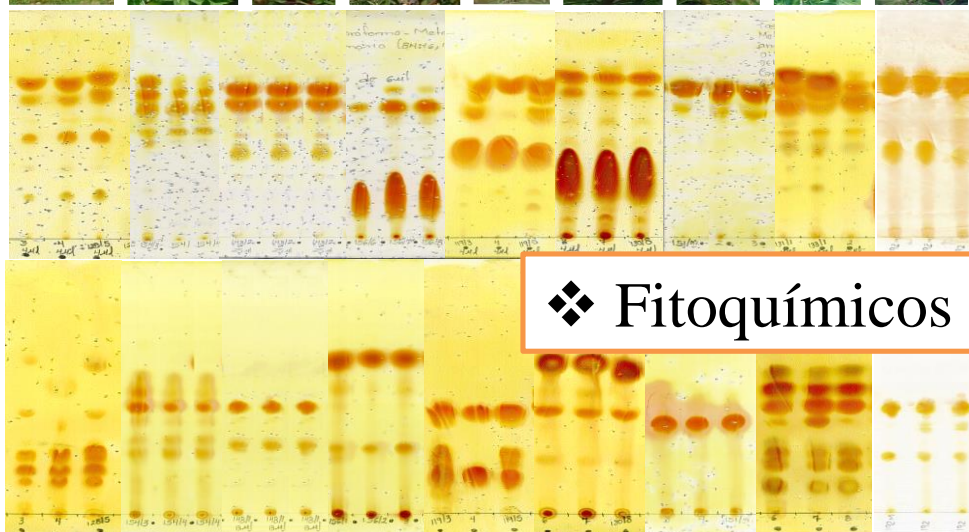
Dunn, 2001

Caracteres

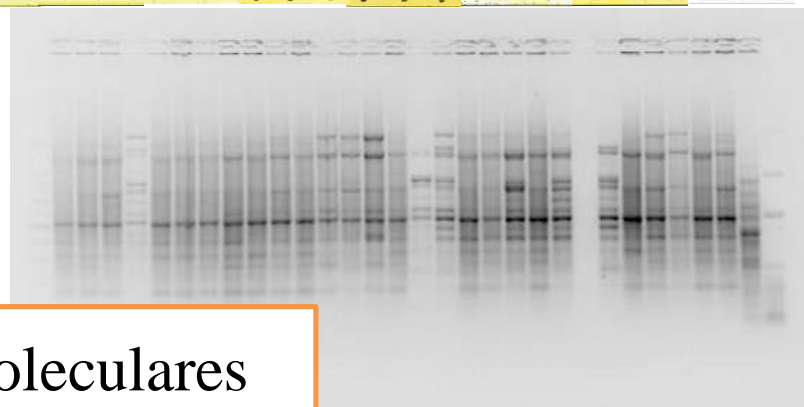
Atributos morfológicos, químicos o moleculares que caracterizan a un grupo o taxón, es decir, **caracteres con valor taxonómico**.

❖ Morfológicos

Species	Habitus	Flower	Leaf	Stipule
<i>L. campestris</i>				
<i>L. hintonii</i>				
<i>L. aschenbornii</i>				
<i>L. montanus</i>				
<i>L. splendens</i>				
<i>L. bilineatus</i>				
<i>L. leptophyllus</i>				



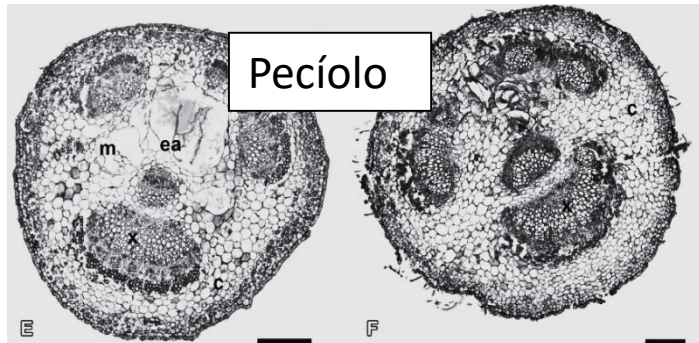
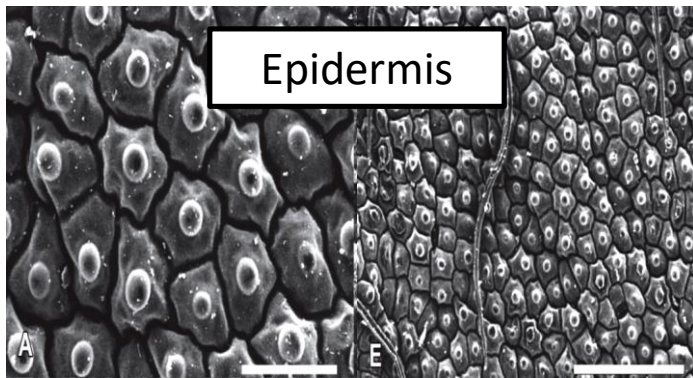
❖ Fitoquímicos



❖ Moleculares

Estudio de caracteres anatómicos

Especies	Órgano estudiado	Gradiente altitudinal	referencia
<i>L. meridanus</i> <i>L. eromonomos</i>	Foliolo y pecíolo	x	Briceño, 2000
<i>L. aschenbornii</i> <i>L. exaltatus</i> <i>L. montanus</i> <i>L. reflexus</i>	Foliolo y pecíolo	x	Zamora <i>et al.</i> 2008



- Cambios morfológicos en un gradiente altitudinal

Objetivo:

Determinar caracteres morfo-anatómicos con valor taxonómico que permitan delimitar especies del género *Lupinus*

Estudiar la variación de los caracteres morfo-anatómicos a nivel:

1. Interindividuo/intrapoblacional
2. Interpoblacional/Intraespecífica
3. Interespecífico entre *L. bilineatus*, *L. campestris* y *L. montanus*.

Colecta



Especies con las que se trabajaron



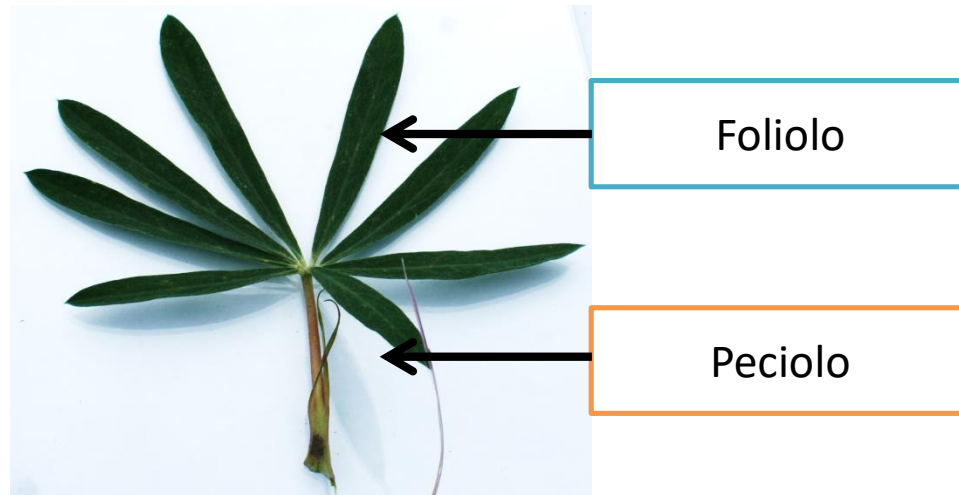
L. bilineatus



L. campestris



L. montanus



Morfología

Colecta de material: 4 hojas/10 individuos/ 3 poblaciones / 3 especies = **120** datos por especie

Plantas adultas

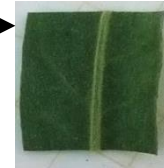


Anatomía

Colecta de material: 3 hojas/3 individuos/ 3 poblaciones = **180** datos por especie, n=20



0.5 cm



Epidermis

1.Secciones transversales



Fijación

Caracteres morfológicos

Área foliar, Largo del foliolo, Ancho del foliolo, Largo hacia la parte ancha del foliolo, Largo de peciolo

Alcohol 70%

Lavado

2 hrs



72 hrs



FAA: Formaldehído-ácido acético-alcohol-agua

Caracteres analizados

	Morfología	Epidermis		Secciones transversales	
		adaxial	abaxial	Foliolo	Peciolo
1	Perímetro foliar	Índice estomático	Índice estomático	Grosor de pared periclinal externa	Grosor de pared periclinal externa
2	Área foliar	Área de células	Área de células	Altura de papilas	Altura de papilas
3	Largo del foliolo	Longitud de células oclusivas	Longitud de células oclusivas	No. de vasos por hilera	No. de vasos por hilera
4	Ancho del foliolo	Densidad de tricomas	Densidad de tricomas	Grosor de la pared de vasos	Grosor de la pared de vasos
5	Largo hacia la parte ancha del foliolo	No. de células alrededor del tricoma	No. de células alrededor del tricoma	Diámetro de los elementos de vaso	Diámetro de los elementos de vaso
6	Largo de peciolo	Grosor de pared periclinal externa	Grosor de pared periclinal		

28 caracteres

3 especies/3 poblaciones/ 3 individuos
n = 20 datos por individuo/caracter

Caracteres morfológicos a nivel intrapoblacional

L. bilineatus

L. campestris

L. montanus

Población 1	Población 2	Población 3
		Área foliar
	Perímetro foliar	
Número de folíolos		Número de folíolos
Población 1	Población 2	Población 3
Área foliar	Área foliar	
Perímetro foliar	Perímetro foliar	
Población 1	Población 2	Población 3
	Área foliar	Área foliar
	Perímetro foliar	Perímetro foliar
Número de folíolos	Número de folíolos	
	Largo del foliolo	Largo del foliolo
Ancho del foliolo	Ancho del foliolo	Ancho del foliolo
Largo hacia la parte ancha del foliolo	Largo hacia la parte ancha del foliolo	
Largo del peciolo		Largo del peciolo
Estables = 57.14	Estables = 85.71	Estables = 71.43
Variables = 42.86	Variables = 14.29	Variables = 28.57

	Población 1 Población 1	Población 2 Población 2	Población 3 Población 3
	Índice estomático adaxial		
	Ancho células oclusivas adaxial		Ancho células oclusivas adaxial
	Ancho células oclusivas abaxial		
	Longitud de células oclusivas adaxial		
	No. De células alrededor del tricoma adaxial		
	No. De células alrededor del tricoma abaxial	No. De células alrededor del tricoma abaxial	
	Grosor de la pared periclinal externa adaxial		
	Grosor de la pared periclinal externa abaxial		
	Longitud de las papilas adaxial		
			Longitud de las papilas abaxial
			No. de vasos por hilera en la vena media
	Estables = 30.43	Estables = 13.04	Estables = 13.04
	Variables = 69.57	Variables = 86.96	Variables = 86.96
	Variables = 65.72	Variables = 73.91	Variables = 91.30

Caracteres anatómicos a nivel interpoblacional

	<i>L. bilineatus</i>	<i>L. campestris</i>	<i>L. montanus</i>
	Estables = 4.35	Estables = 60.87	Estables = 47.83
	Variables = 95.65	Variables = 39.13	Variables = 52.17
adaxiales		adaxiales	
		Ancho células oclusivas abaxial	Ancho células oclusivas abaxial
			Longitud de células oclusivas adaxial
Longitud de células oclusivas abaxial			
		Densidad de tricomas adaxial	Densidad de tricomas adaxial
		Densidad de tricomas abaxial	Densidad de tricomas abaxial
No. De células alrededor del tricoma adaxial		No. De células alrededor del tricoma adaxial	No. De células alrededor del tricoma adaxial
No. De células alrededor del tricoma abaxial		No. De células alrededor del tricoma abaxial	No. De células alrededor del tricoma abaxial
Grosor de la pared periclinal externa adaxial		Grosor de la pared periclinal externa adaxial	
Grosor de la pared periclinal externa abaxial		Grosor de la pared periclinal externa abaxial	Grosor de la pared periclinal externa abaxial
Longitud de las papilas abaxial			
		No. de vasos por hilera en la vena media	
		Grosor de la pared de vasos	
		Diámetro de los elementos de vaso	
Espesor de lámina		Espesor de lámina	Espesor de lámina
Espesor del parénquima en empalizada			Espesor del parénquima en empalizada
Espesor del parénquima esponjoso		Espesor del parénquima esponjoso	
			Área del haz vascular mayor

Caracteres morfológicos a nivel interpoblacional

Morfología

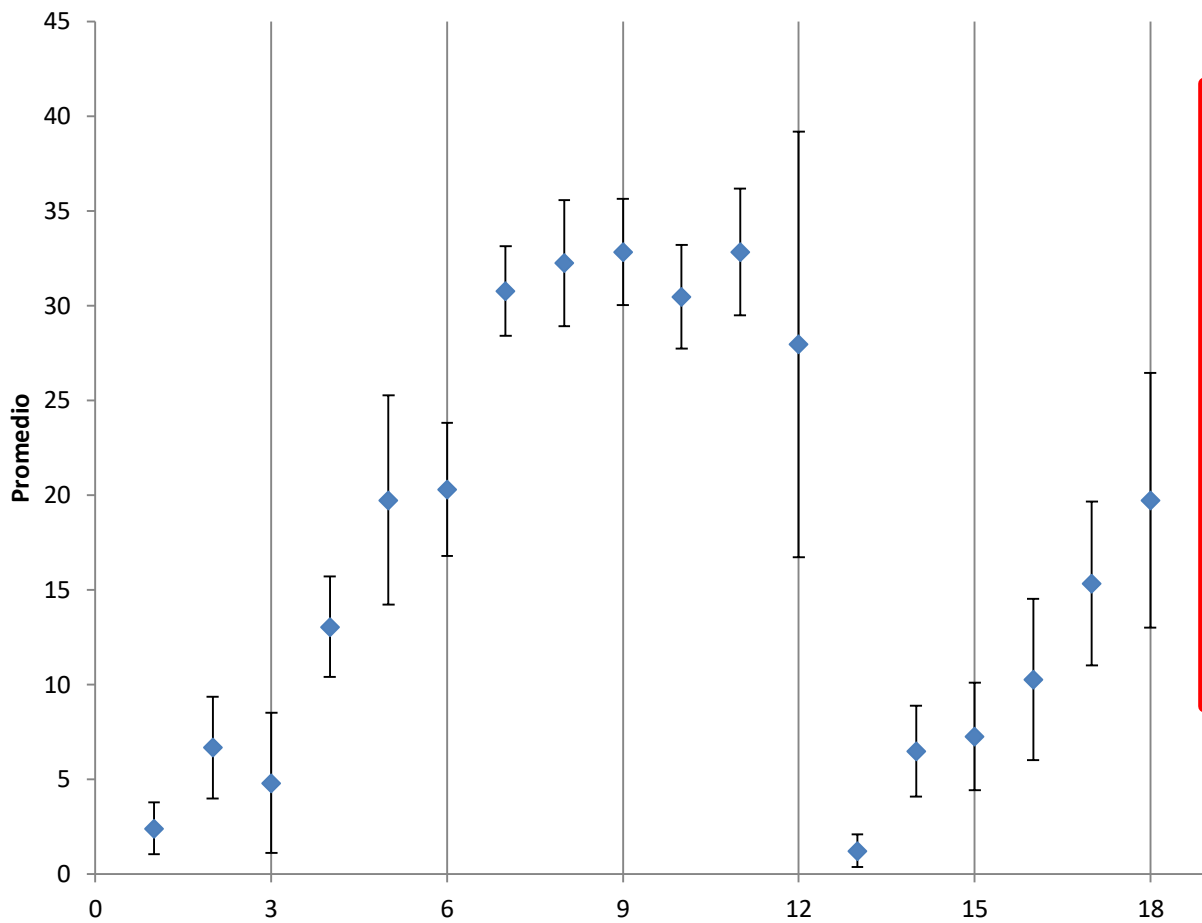


Caracteres anatómicos a nivel interespecífico

Carácter	<i>L. bilineatus</i>	<i>L. campestris</i>	<i>L. montanus</i>
Área foliar	8.35±5.30 A	4.00±1.64 B	12.09±3.55 C
Perímetro foliar	49.27±15.26 A	30.03±7.47 B	103.56±17.94 C
Número de folíolos	8.63±1.27 A	6.76±0.91 B	13.97±1.30 C
Largo del foliolo	3.12±1.13 A	2.26±0.41 B	4.37±0.55 C
Ancho del foliolo	0.55±0.23 AB	0.50±0.10 ABC	0.39±0.09 BC
Largo hacia la parte ancha del foliolo	1.59±0.64 AB	1.29±0.30 AB	2.50±0.55 C
Largo del peciolo	4.01±1.55 A	1.98±0.56 B	2.67±0.55 C

Variación caracteres anatómicos a nivel interespecífico

Anatomía



L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
.
c.	b	m	c.	b	c.	b	m	b	m	c.	b	r	c.	b	m	c.	b
.

No.	Carácter
1	Índice estomático adaxial
2	Índice estomático abaxial
3	Longitud de células oclusivas abaxial
4	Longitud de células oclusivas adaxial
5	Densidad de tricomas adaxial
6	Densidad de tricomas abaxial
7	No. De células alrededor del tricoma adaxial
8	No. De células alrededor del tricoma abaxial
9	Grosor de la pared periclinal adaxial
10	Grosor de la pared periclinal abaxial

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Conclusiones

Las especies evaluadas presentan mayor estabilidad de sus caracteres morfológicos. *Lupinus montanus* es la más estable. Los caracteres anatómicos son muy variables en las tres especies.

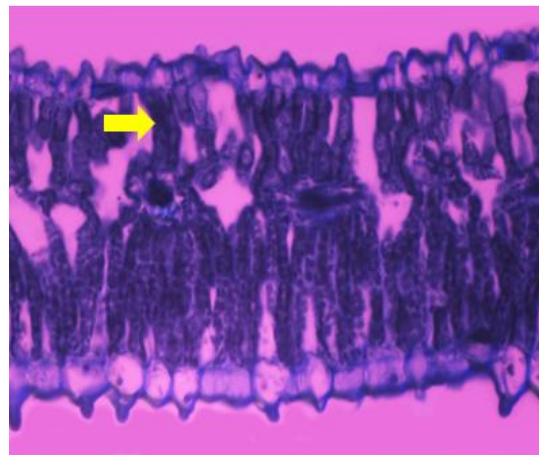
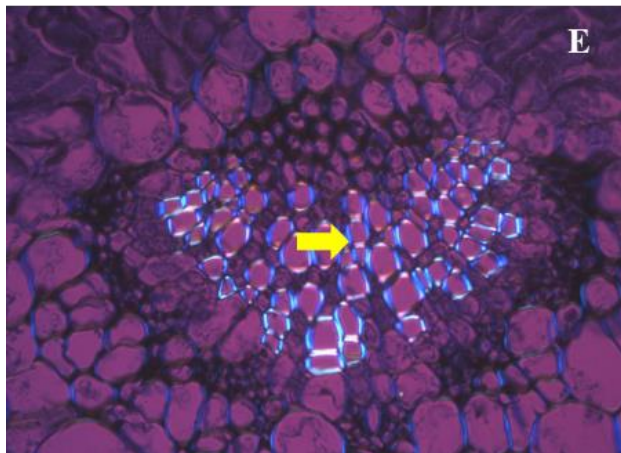
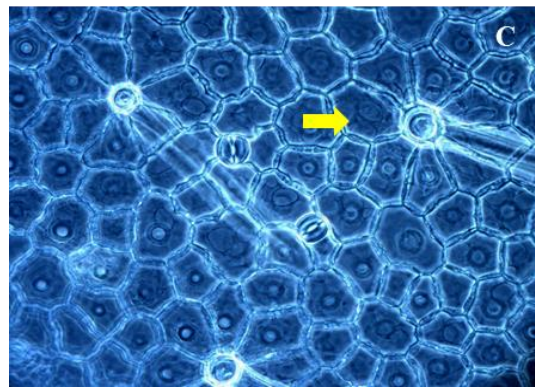
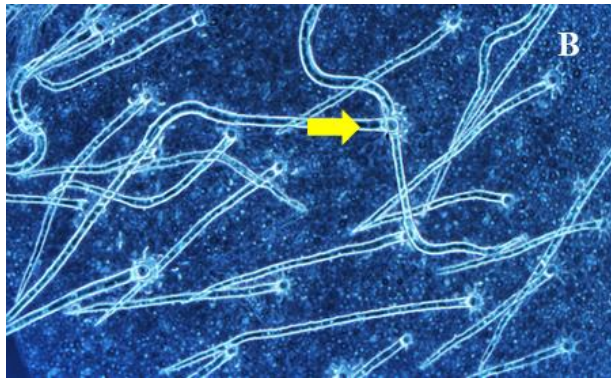
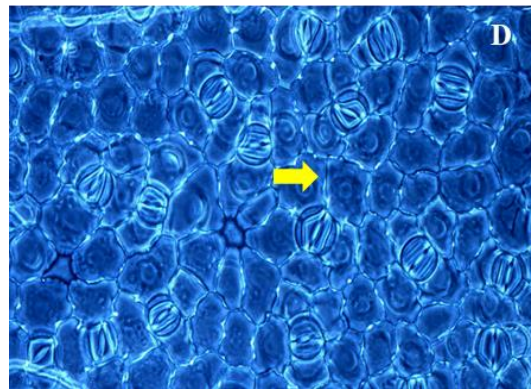
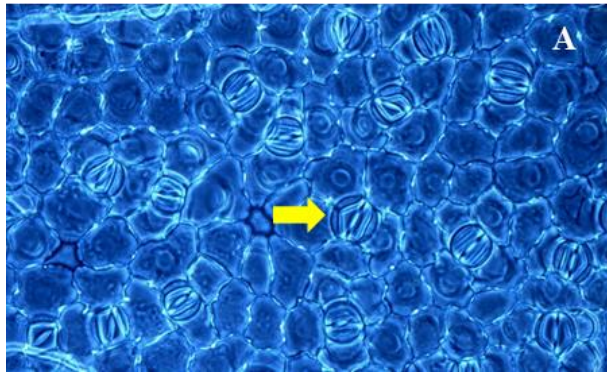
Las especies evaluadas tienen un alto grado de plasticidad y presentan gran variabilidad a nivel interpoblacional.

Los caracteres morfológicos con valor taxonómico son: área foliar, perímetro foliar, número de folíolos, largo de foliolo y largo de peciolo

Los caracteres anatómicos con valor taxonómico son: Índice estomático adaxial y abaxial, Longitud de células oclusivas abaxial y adaxial, Densidad de tricomas adaxial y abaxial



Gracias



No.	Carácter
1	Índice estomático adaxial
2	Índice estomático abaxial
3	Longitud de células oclusivas abaxial
4	Longitud de células oclusivas adaxial
5	Densidad de tricomas adaxial
6	Densidad de tricomas abaxial
7	No. De células alrededor del tricoma adaxial
8	No. De células alrededor del tricoma abaxial
9	Grosor de la pared periclinal adaxial
10	Grosor de la pared periclinal abaxial
	parénquima esponjoso

Caracteres morfológicos

Área foliar

Largo del foliolo

Ancho del foliolo

Largo hacia la parte ancha del foliolo

Largo de peciolo



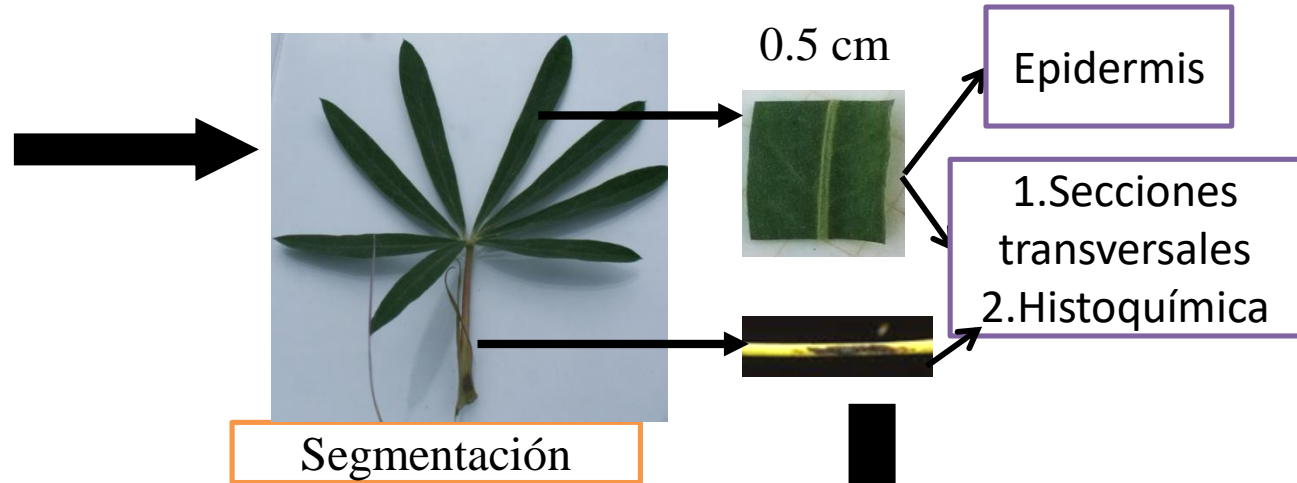
Anatomía e histoquímica

Colecta y preservación del material vegetal

Colecta de material: 3 hojas/3 individuos/ 3 poblaciones = **180** datos por especie
n=20



Plantas adultas



Lavado



2 hrs

Fijación



FAA: Formaldehído-ácido acético-alcohol-agua

Alcohol
70%

Anatomía

Extracción de epidermis

45 min a
3 h

Cloro
1.2%



15 min
NaOH 20%



3 hojas/3 individuos/ 3
poblaciones = **120** datos
por especie

**Integración y
análisis
estadístico de
datos**

Limpieza y
etiquetado



Separación epidermis
adaxial y abaxial



ImageJ

Image Processing & Analysis in Java

Anatomía de epidermis

Caracteres

Epidermis adaxial

Epidermis abaxial

Índice estomático

Índice estomático

Densidad de tricomas

Densidad de tricomas

Área de células epidérmica

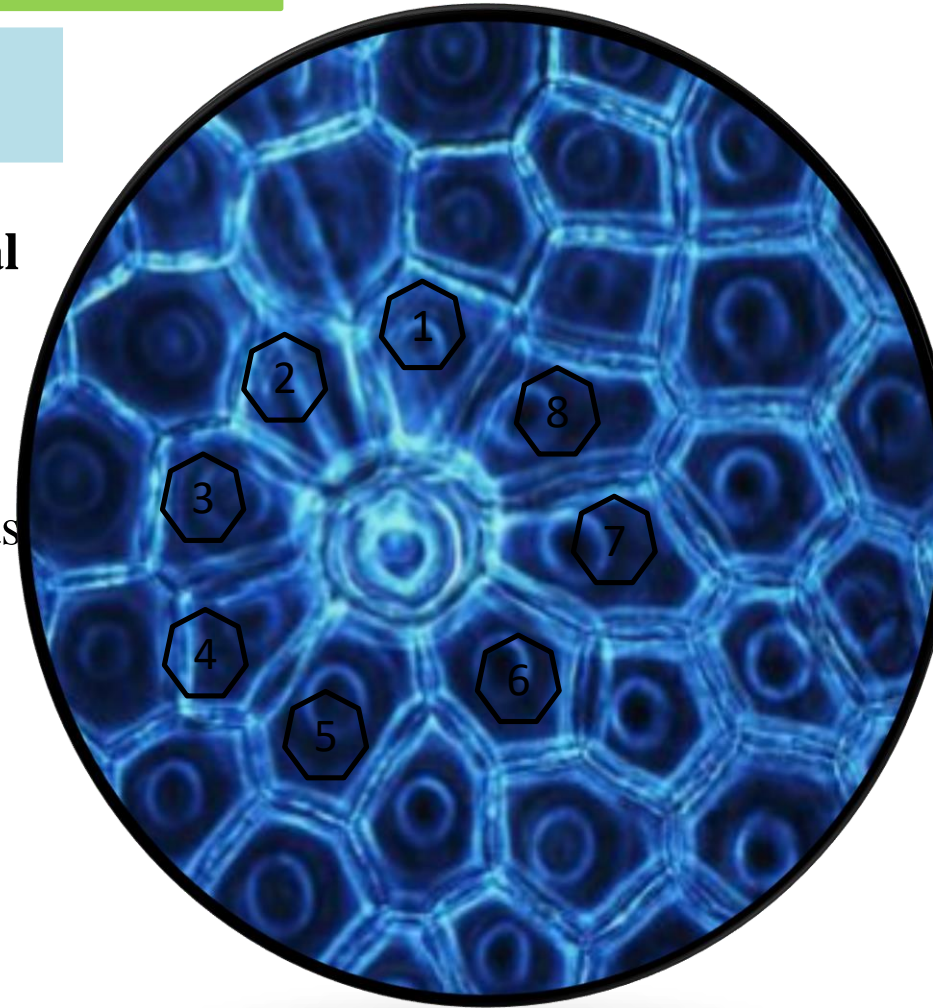
Área de células epidérmica

Longitud de células oclusivas

Longitud de células oclusivas

Células alrededor del tricoma

Células alrededor del tricoma



3 hojas/3 individuos/ 3 poblaciones = **180** datos por especie



0.5 cm



Deshidratación



TBA: 35%, 50%, 60%, 70%, 85%, 95%, 100%



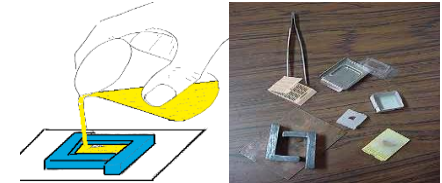
Infiltración



Parafina líquida 1 hora Parafina líquida 1 hora Parafina líquida 2 horas



Inclusión



Desparafinado



Tinción (Safranina-Verde rápido)



Integración y análisis estadístico de datos



ImageJ

Image Processing & Analysis in Java



Secciones transversales

Carácter

Foliolo

Peciolo

Altura de papilas

Altura de papilas

No. de vasos por hilera

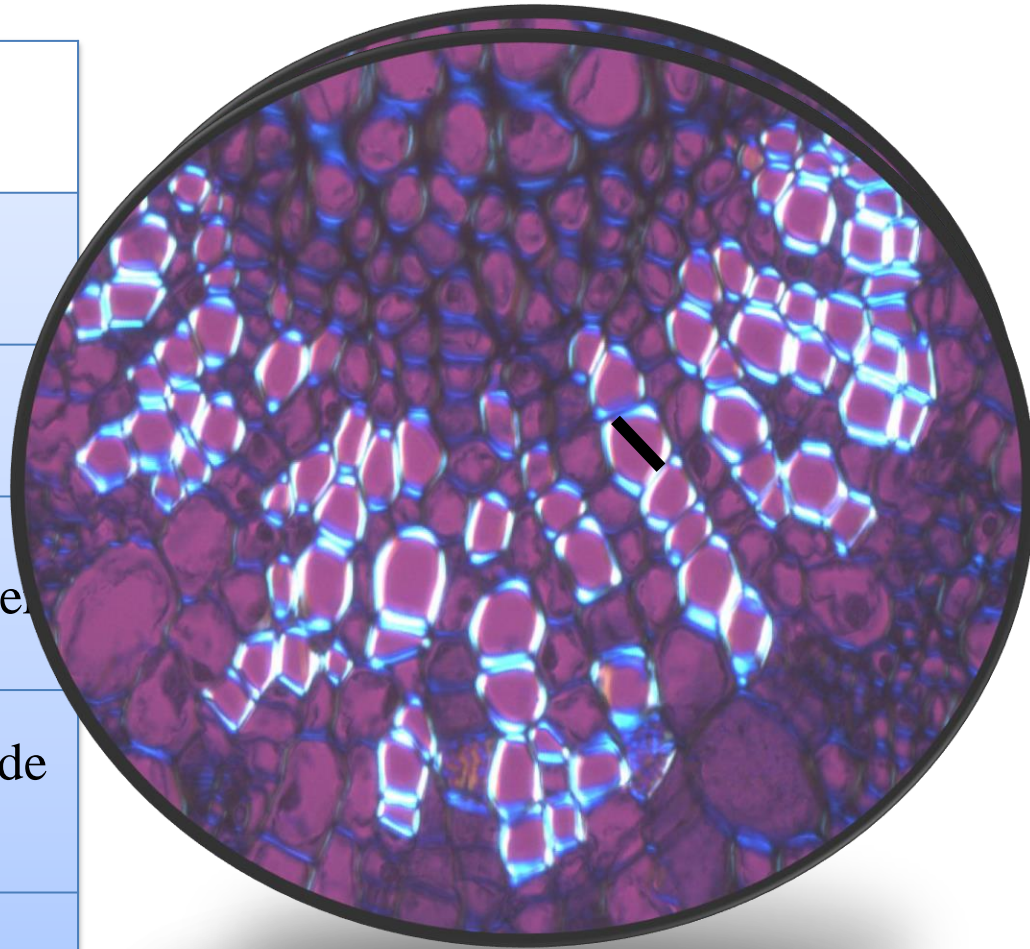
No. de vasos por hiler

Grosor de la pared de vasos

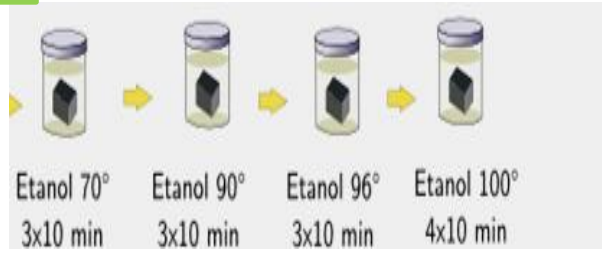
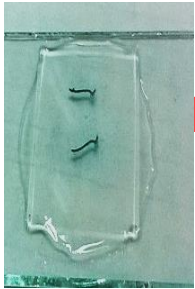
Grosor de la pared de vasos

Diámetro de los elementos de vaso

Diámetro de los elementos de vaso



Histoquímica



Etanol 70° 3x10 min Etanol 90° 3x10 min Etanol 96° 3x10 min Etanol 100° 4x10 min

Alcohol 100 al 30%



-Rojo "O"
-Lugol
-Reactivo de Dragendorff



Registro de resultados

Caracteres

Almidón

Aceites

Alcaloides quinolizidínicos