



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO
FACULTAD DE CIENCIAS

**Variación anatómico-vegetativa de dos genotipos de
Vanilla planifolia Andrew (Orchidaceae) de la región
del Totonacapan, México**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A :

WOODEN VICTOR VELASCO TAPIA

**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. ESTELA SANDOVAL ZAPOTITLA**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, 2023



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por toda la formación académica que he obtenido, a la Facultad de Ciencias por todo el conocimiento adquirido acerca de la carrera de biología, al Instituto de Biología de la UNAM y en particular al laboratorio de Apoyo a la Investigación por proporcionarme las preparaciones histológicas utilizadas para este proyecto. A mi asesora de tesis la Dra. Estela Sandoval Zapotitla quien confió totalmente en mí para hacer este trabajo posible, además del apoyo recibido por parte otros académicos como el Dr. Ulises Rosas, la Biól. Ma. Concepción Guzmán, los M en C. Daniel Martínez Q y a la Dra Elizabeth Chávez García quien promovió mi amor hacia la botánica.

A mi comité sinodal conformado por el M en C. José Luis Vigosa, el Dr. Eduardo Pérez García por proporcionar retroalimentación a lo largo de este escrito

Al Dr. Leonardo Beltrán y la Dra. Andrea Bellasté por el compañerismo y su conocimiento brindado.

Al Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT 2012-04-190442 (SP06), así como a Dr. Jorge E. Campos y Dr. Víctor M. Salazar por el apoyo 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 su hospitalidad y amabilidad recibida durante cada visitada a los cultivos, proporcionando las estructuras de interés.

A mi profesor de Hatha-Yoga Salvador, quien me apoyó bastante en cuestiones de relajación a través de mi cuerpo y sentirme cada día más seguro de mi persona.

A mi mejor amiga Mafer quien me ha estado apoyando durante toda mi formación académica en la UNAM, donde reímos y lloramos, llegando hasta este punto de mi vida.

Finalmente, pero no menos importante a mis amigos y compañeros del Laboratorio Apoyo a la investigación en el Instituto de Biología, Danny, Sabrina, Barbarita, Chucho y Joel de quienes aprendí mucho acerca de otros grupos vegetales y sus diferentes enfoques, de nuestras pláticas fuera de lo común, de las cuales siempre me sacaban una enorme sonrisa.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a

A mi familia

A la persona que más admiro, la contadora Marisela Tapia Montes de Oca quien día a día ha estado luchando con el fin de permitirme continuar haciendo lo que realmente amo, además realizar uno de los papeles más importantes, el ser una madre ejemplar.

A mi tío Ángel Velasco quien ha tenido una enorme paciencia en educarme para ser una mejor persona con el pasar de los días. Levantándose todas las mañanas para desearme un excelente día y trasladarse de un punto de la escuela a otro.

A mi hermana menor Valeria Cortez quien se desvela conmigo realizando cualquier actividad académica, en donde aprovechamos para escucharnos el uno al otro y ofreciendo siempre los mejores consejos y ánimo para continuar haciendo lo que nos gusta.... ESTUDIAR.

A mi tía Cristy y mis primos Nataly y Joan quienes siempre tuvieron altas expectativas acerca de mi futuro como Biólogo, dándome los mejores consejos y levantándome el ánimo en tiempos desesperantes para mí, agradezco su apoyo y prometo visitarlos muy pronto a los Estados Unidos.

ÍNDICE

| | | |
|-----|--|----|
| 1. | Resumen | 6 |
| 2. | Introducción | 7 |
| 3. | Antecedentes | 9 |
| | 3.1 Taxonomía del género <i>Vanilla</i> | 9 |
| | 3.2 Importancia histórica de <i>Vanilla planifolia</i> en México | 12 |
| | 3.3 Importancia económica de <i>Vanilla planifolia</i> a nivel nacional y mundial..... | 13 |
| | 3.4 Distribución y estado actual de conservación de <i>Vanilla planifolia</i> | 14 |
| | 3.5 Variación genética y química en <i>Vanilla planifolia</i> | 16 |
| | 3.6 La plasticidad fenotípica como herramienta en la biología | 18 |
| | 3.7 Ecología y morfología de <i>Vanilla planifolia</i> | 19 |
| | 3.8 Importancia de los estudios anatómicos para la distinción de poblaciones en angiospermas | 21 |
| | 3.8.1 Estudios anatómicos de <i>Vanilla planifolia</i> | 23 |
| 4. | Justificación | 25 |
| 5. | Objetivos | 25 |
| | 5.1 Objetivo general | 25 |
| | 5.2 Objetivos particulares | 25 |
| 6. | Hipótesis | 26 |
| 7. | Materiales y Método | 26 |
| | 7.1 Material biológico | 26 |
| | 7.2 Análisis de caracteres anatómicos | 28 |
| | 7.3 Análisis estadísticos | 31 |
| 8. | Resultados | 32 |
| | 8.1 Anatomía vegetativa de dos genotipos de <i>Vanilla planifolia</i> | 32 |
| | 8.2 Variación de caracteres anatómicos entre los genotipos G-I y G-VI | 36 |
| | 8.3 Variación de caracteres anatómicos entre individuos de las localidades del genotipo G-I | 41 |
| | 8.4 Variación de caracteres anatómicos entre individuos de las localidades del genotipo G-VI | 47 |
| | 8.5 Análisis Discriminante Canónico (ADC) | 51 |
| | 8.6 Análisis de correlación de caracteres..... | 57 |
| | 8.6.1 Heatmap de caracteres anatómico-vegetativos | 57 |
| | 8.6.2 Correlación de Pearson entre caracteres Anatómico- vegetativos..... | 60 |
| 9. | Discusión | 67 |
| 10. | Conclusiones | 78 |
| 11. | Literatura citada | 79 |
| 12. | Anexos | 87 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|-----|---|----|
| 1. | Relaciones filogenéticas de la subfamilia Vanilloideae | 10 |
| 2. | Filogenia molecular en <i>Vanilla planifolia</i> | 11 |
| 3. | Códice más antiguo de <i>Vanilla planifolia</i> | 12 |
| 4. | Distribución de <i>Vanilla planifolia</i> en México | 15 |
| 5. | Distribución predictiva de <i>Vanilla planifolia</i> | 16 |
| 6. | Dendograma de genotipos y quimiotipos | 17 |
| 7. | Ejemplo de plasticidad fenotípica | 18 |
| 8. | Órganos vegetativos y reproductivos en <i>Vanilla planifolia</i> | 20 |
| 9. | Estomas en especies del género <i>Vanilla</i> | 22 |
| 10. | Condiciones selectivas de individuos | 28 |
| 11. | Variación de caracteres anatómicos entre los genotipos G-I y G-VI | 40 |
| 12. | Diagrama de Venn representando la variación natural entre genotipos | 41 |
| 13. | Diagrama de Venn representando la plasticidad fenotípica en G-I ... | 44 |
| 14. | Boxplots de variación de caracteres en G-I | 45 |
| 15. | Microfotografías de caracteres de lámina variables en G-I | 46 |
| 16. | Diagrama de Venn representando la plasticidad fenotípica en G-VI. | 50 |
| 17. | Boxplots de variación de caracteres en G-VI | 50 |
| 18. | Microfotografías de caracteres de tallo y raíz variables en G-I y de tallo en G-VI | 51 |
| 19. | Análisis de Discriminante Canónico en G-I y G-VI | 53 |
| 20. | Microfotografías de variación entre los genotipos G-I y G-VI | 54 |
| 21. | Heatmap de caracteres anatómicos en G-I y G-VI | 59 |
| 22. | Análisis de correlación de Pearson en caracteres entre G-I y G-VI.. | 62 |
| 23. | Análisis de correlación de Pearson en caracteres de G-I | 64 |
| 24. | Análisis de correlación de Pearson en caracteres de G-VI | 66 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|-----|--|----|
| 1. | Principales países productores de <i>Vanilla planifolia</i> | 14 |
| 2. | Acrónimos utilizados para nombrar a los genotipos de <i>Vanilla planifolia</i> | 26 |
| 3. | Datos de colecta de los genotipos G-I y G-VI de <i>Vanilla planifolia</i> .. | 27 |
| 4. | Caracteres analizados | 29 |
| 5. | Estadística descriptiva comparando los genotipos G-I y G-VI..... | 37 |
| 6. | Estadística descriptiva para las localidades del genotipo G-I | 42 |
| 7. | Estadística descriptiva para las localidades del genotipo G-VI | 48 |
| 8. | Resumen de Análisis de Discriminante Canónico | 56 |
| 9. | Representatividad de caracteres en ADC | 56 |
| 10. | Pares de caracteres significativamente correlacionados entre genotipos y para cada uno de ellos | 60 |

1.RESUMEN

La vainilla (*Vainilla planifolia*) es uno de los recursos biológicos, culturales y comerciales más importantes a nivel nacional e internacional, incluso desde tiempos de antiguas civilizaciones como los totonacas en el estado de Veracruz, México. Si bien su variación química (quimiotipos) y genética (genotipos) fue reportada en el Totonacapan, hoy en día esta información se extrapola en otras regiones de México como La Huasteca Potosina.

Algunas de las variantes más representativas son el genotipo 1 (G-I) y el genotipo 6 (G-VI), donde G-I es considerado como la condición más cercana al estado silvestre, mientras que G-VI a la más seleccionada. A pesar de estas aproximaciones que permiten distinguirlos, se desconoce si la anatomía vegetativa es una herramienta igualmente informativa. Por esta razón, el objetivo de este trabajo consistió en analizar la variación anatómica a dos niveles de comparación: (A) entre genotipos y (B) dentro de cada uno de ellos a partir de órganos como la hoja, tallo y raíz. Se colectaron individuos representativos de cada genotipo procedentes de la región del Totonacapan, obteniendo un total de 35 caracteres anatómicos cuantitativos correspondientes a estos tres órganos. A partir de los análisis estadísticos efectuados se pudo determinar que existen diferencias significativas en más del 50% de los caracteres anatómicos refiriéndose a ambos niveles comparativos, particularmente dentro de los tejidos dérmico y vascular de la hoja y el tallo. El Análisis de Discriminante Canónico (ADC) explicó la relevancia de algunos caracteres de la hoja y tallo para visualizar gráficamente la variación entre genotipos y sus respectivas localidades. A través de una correlación de Pearson se encontró que existen correlaciones significativas positivas representadas por caracteres de la hoja y tallo. Por otra parte, en el análisis jerárquico de conglomerados visualizado con un heatmap se encontró una correlación entre el área celular de ambas caras de la lámina y tallo; en adición a esto, se pudieron apreciar agrupaciones de las localidades por similitud de caracteres. Los resultados obtenidos permitieron responder a los objetivos planteados en este trabajo ya que no solo se evidenció la variación anatómico-vegetativa entre ambos genotipos y dentro de cada uno de ellos, sino también se resaltó la relevancia de las condiciones ambientales y rasgos genéticos propios de la especie que posiblemente afectan los valores de algunos parámetros anatómicos foliares y caulinares, lo cual debería ser retomado en un futuro para el diseño de estrategias de conservación de la especie.

2.INTRODUCCIÓN

Vanilla planifolia Andrew es una especie perteneciente a la familia Orchidaceae cuyo hábito de vida es hemiepífito, es decir que durante su crecimiento se desarrolla sobre el suelo, y posteriormente sobre un forofito, en este caso plantas con crecimiento de tipo secundario (Cordero, *et al.*, 1984).

Sus poblaciones proliferan en regiones tropicales y subtropicales de México, Centro y Sudamérica, de manera particular en regiones como El Totonacapan que abarca la parte norte de Puebla y Veracruz. En la actualidad la vainillina es uno de los productos más importantes a nivel nacional e internacional (Salazar-Rojas *et al.*, 2012) con valor cultural y económico en México (Romeu 1995, Soto-Arenas 2003). Existen diversos cultivares de esta especie, de cuyos frutos se extraen una gran cantidad de compuestos aromáticos volátiles, como la vainillina, la cual es ampliamente utilizada en diversas industrias como refresquera, vinícola, e incluso dentro del arte culinario de la repostería y elaboración de helados (Araya *et al.*, 2014). Además, la vainilla ha sido utilizada por algunas civilizaciones antiguas como los nativos mesoamericanos que utilizaban la parte reproductiva para fines medicinales y ornamentales. (Salazar-Rojas *et al.*, 2012).

Desafortunadamente las poblaciones silvestres han disminuido debido a la extracción y colecta excesiva llevándola a ser catalogada en el apartado de Protección Especial de acuerdo a los acuerdos internacionales y a la ley mexicana (SEMARNAT, 2010) e incluida dentro de especies en riesgo de extinción (CITES,2017). Anulado a lo anterior existe un acentuado desinterés en las nuevas generaciones para el cultivo de este recurso natural. En respuesta a ello se ha generado un gran interés en el estudio de la variabilidad en poblaciones que pueden llegar a existir dentro de *V. planifolia*.

Diferentes estudios han abordado la variación en poblaciones de vainilla, comprendiendo la parte genética y química. Dentro de la primera categoría resaltan los trabajos de Herrera-Cabrera y colaboradores (2011) en donde se analizaron 14 loci de cADN, dando como resultado la presencia de cinco variantes conocidas como genotipos (G).

Los análisis químicos realizados por Salazar -Rojas y colaboradores (2012) encontraron diferentes gradientes de concentración en cuatro compuestos aromáticos nombrando a seis variantes conocidas como quimiotipos (CH).

A pesar de estas iniciativas para entender la variabilidad intraespecífica en *V. planifolia*, todavía se conoce poco acerca de la variación anatómica, por esta razón el objetivo del presente trabajo fue llevar a cabo un análisis de la variación anatómica en órganos como la hoja, tallo y raíz tomando como referencia a los genotipos G-I y G-VI, estableciendo comparaciones entre genotipos y dentro de cada genotipo.

Para este estudio se seleccionaron seis localidades (tres para cada genotipo) ubicadas en la región del Totonacapan, en cada una de ellas se trabajaron 3 individuos, contando con una n muestral de 18 individuos, siendo sometidos al procesamiento histológico en órganos como hoja, tallo y raíces.

Se definieron 35 caracteres anatómicos cuantitativos (17 de hoja, 10 de tallo y 8 de raíz). Los análisis estadísticos permitieron identificar que más del 50% de los parámetros establecidos explican la variabilidad en los dos niveles de comparación. En el caso de la

comparación entre genotipos y dentro de G-I estos cambios estuvieron definidos por el tejido dérmico de la hoja, mientras que para G-VI fue dada por el tejido dérmico y vascular del tallo.

El Análisis de Discriminante Canónico (ADC) determinó que las tres primeras funciones canónicas explican un 94% de la variación entre genotipos, explicándose a través de caracteres como: el número de estratos de la vaina de esclerénquima en haces pequeños y medianos (NEVEHPE/NEVEHPE), el índice estomático (IEL) y el grosor de cutícula adaxial (GCADL) en la hoja. En el tallo correspondieron al grosor de la pared de fibras en haces vasculares (GPFV) y al grosor de la cutícula (GCT).

El resultado de la correlación de Pearson permitió definir relaciones significativas de tipo positivas entre pares de caracteres tomando como referencia los dos niveles de comparación establecidos.

En el primero de ellos, donde se compararon ambos genotipos, se encontró que los valores significativos involucran al tejido dérmico y vascular de la hoja, pero también al dérmico y fundamental del tallo. En el segundo nivel se compararon de manera independiente cada genotipo. Dentro de G-I las correlaciones estuvieron dadas por el tejido dérmico y vascular de la hoja, mientras que en G-VI, por los tres tejidos del tallo.

Esto último se complementó con el análisis jerárquico de conglomerados representado en un heatmap, el cual evidenció el nivel de agrupación por similitud de las localidades. El Ejido “Los Álamos”, Pantepec, Puebla (L3) mostró un efecto significativo en el comportamiento de algunos de los caracteres, siendo mayores en gran parte de ellos.

Se cree que la variación establecida al comparar ambos genotipos se encuentra influenciada por las características genéticas que residen en la especie, manifestándose en el fenotipo, particularmente en la hoja y tallo, mientras que la variabilidad dentro de cada genotipo quizás esté fundamentada por los elementos abióticos propios de las localidades. Aunque es necesario que en futuros estudios sea validada este tipo de información.

3. ANTECEDENTES

3.1 Taxonomía del género *Vanilla*

El género *Vanilla* Mill (Orchidaceae) incluye alrededor de 110 especies distribuidas en regiones tropicales del mundo, aunque la mayoría de ellas en América comprendiendo a Centroamérica y Sudamérica, en donde se estima que surgió hace ca. 61 M.Aa (Bory et al., 2008; Gigant et al., 2011; Azofeifa et al., 2014). El género abarca a la subfamilia Vanilloideae, tribu Vanilleae y subtribu Vanillinae (Gigant et al., 2011; Azofeifa et al., 2014).

La subfamilia Vanilloideae fue considerada por algunos autores una “categoría incierta” hablando particularmente de los géneros que la conforman debido a la limitación de variables morfológicas (vegetativas y reproductivas) (Cameron et al., 1999).

A partir del 2003 se realizaron estudios moleculares de ADN mitocondrial, nucleico y plastídico que mostraron relaciones filogenéticas entre las tribus Pogonieae y Vanilleae (Figura 1) (Chase et al., 2003) y diferenciándolas de las subfamilias Apostasioideae y Cypripedioideae (Cameron et al., 1999; Damián, 2020).

Vanillae es la tribu que engloba a *Vanilla* agrupándose con otros géneros como *Pseudovanilla* en cuyas especies juveniles se desarrollan órganos (tallos y hojas) no fotosintéticos, obteniendo nutrientes a través de hongos micorrízicos y propiamente del sustrato (Valdovinos-Ponce et al., 2016). Lo mismo sucede en *Galeola* y *Erythrorchis*.

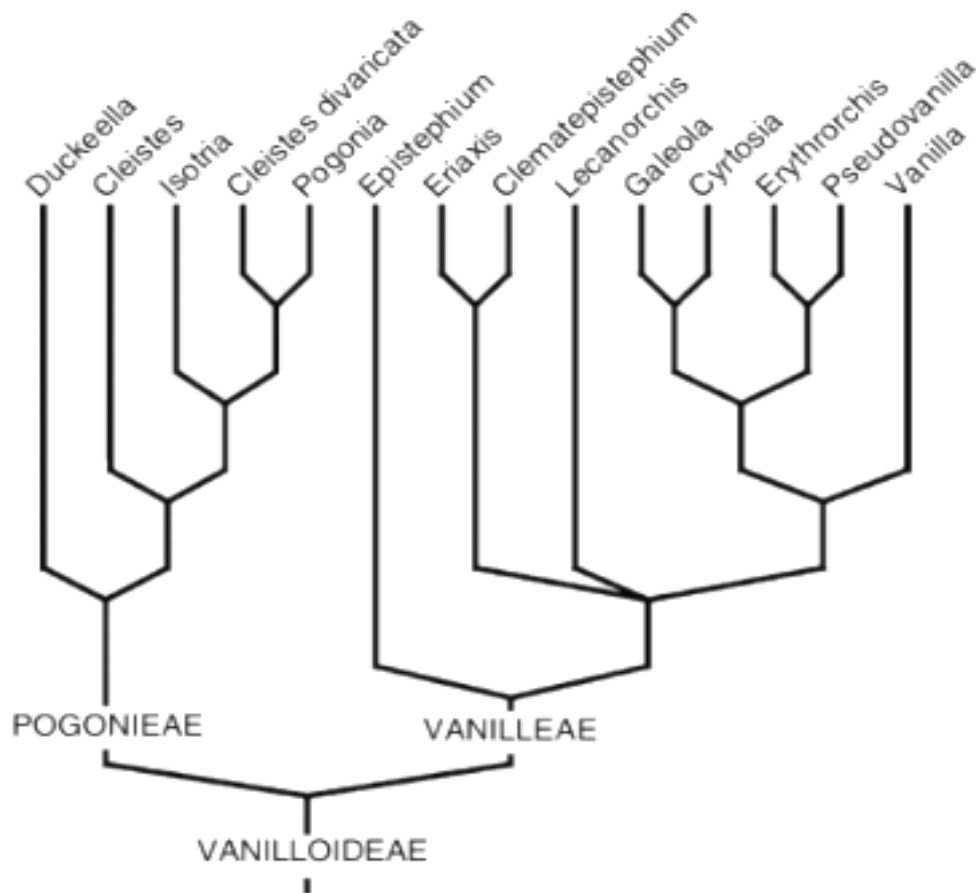


Figura 1. Cladograma en donde se muestran las relaciones filogenéticas dentro de la subfamilia Vanilloideae, basado en pruebas moleculares de DNA nuclear, mitocondrial y plasmídico. Dentro de la tribu Vanilleae se observa el género *Vanilla* (Cameron, 2005).

A su vez el género *Vanilla* fue dividido en tres clados (Figura 2) y se determinó que el clado alfa corresponde a las especies con hojas membranáceas. Por otro lado, el clado beta engloba a las especies distribuidas en regiones tropicales tales como *Vanilla planifolia*. Por último, el clado gamma comprende a las especies del Caribe y Europa (Bouetard *et al.*, 2010; Damián, 2020), logrando su éxito gracias a la dispersión de semillas (Bory *et al.*, 2010; Sánchez, 2014).

Una de las especies más representativas del género es *V. planifolia*, la cual puede ser diferenciada del resto de las especies por su crecimiento hemiepífita, tallos cilíndricos lianoides, posición del labelo y la composición química de los frutos que brindan aromas únicos (Soto-Arenas y Cribb 2010; Nicoletti de Fraga *et al.*, 2017; Damián, 2020).

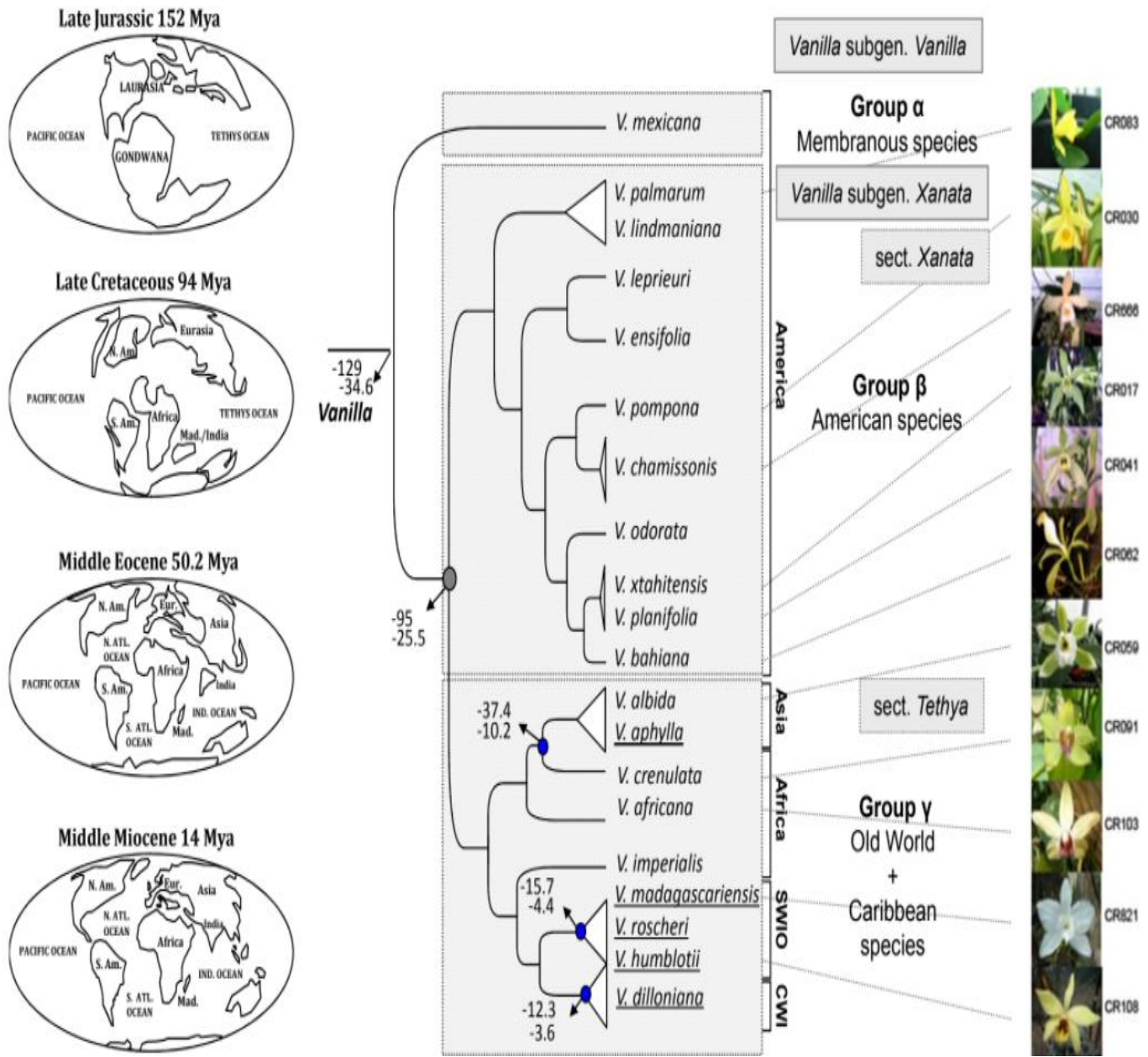


Figura 2. Filogenia con datos moleculares del género *Vanilla* (Bory *et al.*, 2010; Sánchez, 2014).

3.2 Importancia histórica de *Vanilla planifolia* en México

Durante el México prehispánico, la vainilla fue un elemento útil en varios ámbitos, entre ellos se resalta el uso de los frutos como pago de tributo al imperio azteca, además de ser un artículo dentro del comercio indígena.

La planta en general posee una serie de nombres en diferentes lenguas indígenas, entre ellos: xanat, shanat, caxixánath (Totonaco, Veracruz) y tlilxóchitl (Náhuatl antiguo) (Hágsater *et al.*, 2005; Menchaca, 2017).

Hoy en día representa un símbolo nacional, no solamente en el sentido de proporcionar aromas agradables a nuestro paladar, sino también porque es la primera orquídea registrada en el nuevo.

Algunos médicos nahuatlato como Martín de la Cruz y Juan Badiano ilustraron su cuerpo vegetativo y reproductivo en su códice *Libellus de medicinalibus indorum herbis* (Figura 3) que actualmente se conoce por su nombre.

Con la llegada de los españoles, algunas de las plantas de *V. planifolia* fueron trasladadas a varios países europeos, popularizándose rápidamente que se perfeccionaron técnicas de repostería.



Figura 3. Representación gráfica de una de las imágenes y descripciones más antiguas de *Vanilla planifolia* en el códice de la Cruz-Badiano (Menchaca, 2017; Gómez, 2008).

3.3 Importancia económica de *Vanilla planifolia* a nivel nacional y mundial

La producción de vainilla se llevó a cabo en principio dentro de regiones de México, hace 300 años. Actualmente sus cultivos han gran impacto económico a nivel mundial (Tabla 1), en sectores como la repostería, al desarrollar una gran variedad de dulces, galletas, helados, etc. (Rodríguez- López y Martínez- Castillo, 2019).

Para ello los países productores desarrollaron técnicas como curado y beneficiado (practicadas desde el siglo XVIII), con el fin de obtener el aroma característico de la vainilla, siendo posible gracias a los compuestos químicos presentes en el fruto como vainillina, ácido vaníllico, resinas, gomas y proteínas (Santiago, 2003).

La concentración puede variar entre los individuos silvestres y cultivados, puesto que se ha reportado la potencialidad de la vainillina dentro de este último grupo, por lo que es altamente utilizado en diversos países, entre ellos Perú, Colombia y algunos países europeos.

Las propiedades medicinales de estas plantas han sido estudiadas, por ejemplo, en un estudio reciente se le considera como un estimulante para fortalecer el cerebro humano, ataque contra infecciones virales (tos) y disminución de fiebre (Cortés, 2021).

A pesar de los beneficios previamente descritos hoy en día existe una problemática muy grande con las poblaciones cultivadas ya que la producción de frutos se ve disminuida a causa de anomalías morfológicas inducidas por hongos como Basidiomycota *Uromyces joffrini* (Iglesias-Andrew *et al.*, 2014; UAEM, 2015).

Otra problemática tiene que ver con la competencia entre la vainilla natural y sintética, ya que países como China comenzaron a utilizar el último grupo, sintetizándose a partir de la corteza de coníferas, siendo aún más económica que la vainilla natural, provocando una reducción poblacional de *Vanilla planifolia* (Soto-Arenas, 2006).

Cabe resaltar que en México la mayor producción de *Vanilla planifolia* se da en Veracruz, siendo la región de Totonacapan la que produce casi un 80% de vainilla a nivel nacional. En este lugar los pobladores desarrollan métodos agronómicos ancestrales, en donde los individuos son sometidos a diferentes condiciones ambientales (Rocha *et al.*, 2018). A partir de la enorme importancia de *Vanilla planifolia* en nuestro país, es conveniente su conocimiento y conservación abordado desde un punto de vista multidisciplinario.

Tabla 1. Principales países productores de *Vanilla planifolia* registrados en el año 2002 a nivel mundial, mostrando sus ingresos estimados en dólares (Jacob, 2007).

| País productor | Producción estimada (cantidad en dólares por año) |
|--------------------|---|
| Madagascar | 14,750 |
| Indonesia | 11,795 |
| China | 4,917 |
| México | 929 |
| Turquía | 836 |
| Comoras | 688 |
| Tonga | 639 |
| Bélgica | 492 |
| Uganda | 344 |
| Polinesia Francesa | 246 |

3.4 Distribución y estado actual de conservación de *Vanilla planifolia*

Con el propósito de conocer la distribución poblacional de esta especie se han utilizado herramientas de tipo geográficas, entre las cuales destacan los modelos predictivos de distribución espacial (Maxent), reportado por Hernández-Ruíz y colaboradores (2016) (Figura 5).

A partir de la información recabada en el Herbario Nacional de México (MEXU) y el Herbario del Instituto de Ecología A.C. (XAL) se utilizaron variables bioclimáticas por ejemplo el tipo de suelo, precipitación anual, altitud, tipo de vegetación, entre otras. Los resultados de este estudio y el de Villamontes y colaboradores y colaboradores (2017) determinaron que los individuos de *V. planifolia* presentan una distribución potencializada en norte de Oaxaca, particularmente en regiones tal y como se muestra en la figura 4.

Además, se determinó que sus poblaciones silvestres se distribuyen en climas húmedos y en sitios donde las precipitaciones son por encima de 1500 mm anuales, dichas variables podrían ser de gran utilidad para entender un poco mejor su centro de origen (Hernández *et al.*, 2016).

Si bien el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) estableció la denominación de origen “vainilla de Papantla” hoy en día está sujeta a protección especial debido a la tala de bosques, extracción ilegal de individuos e inclusive un aumento considerable de las sobre colecta de las poblaciones silvestres para la extracción de la vainillina (Bory *et al.*,

2008; Greule *et al.*, 2010; Bello *et al.*, 2015; Vega *et al.*, 2020), de tal manera que la NOM-059-SEMARNAT-2010 la decretó como una especie bajo protección especial (PR).

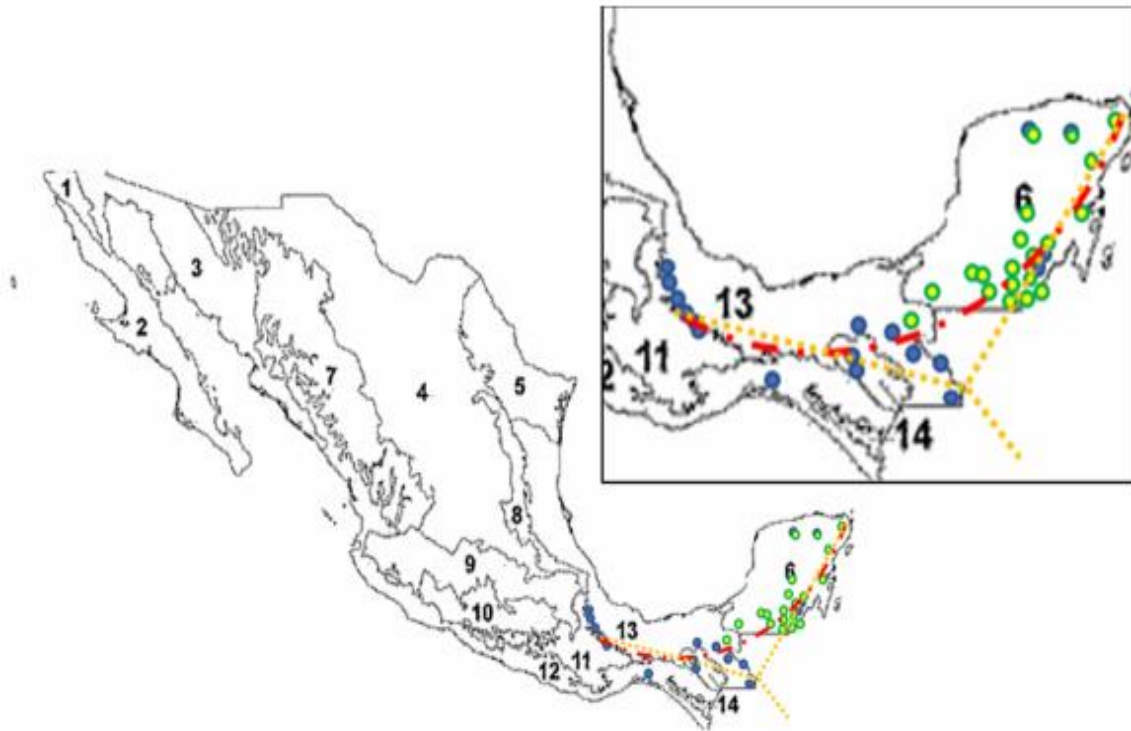


Figura 4. Representación de la distribución de *V. planifolia* con las provincias biogeográficas en México (forma de U) (Morrone, 2005). Puntos azules indican la distribución de acuerdo con Soto- Arenas (2009). Puntos verdes indican distribución de acuerdo con Villanueva-Villamontes, *et al* (2017). Las provincias en las que se distribuye *V. planifolia* corresponden a la Península de Yucatán (6), Sierra Madre del Sur (11), Golfo de México (13) y Chiapas (14) (Villanueva-Viramontes, 2017).

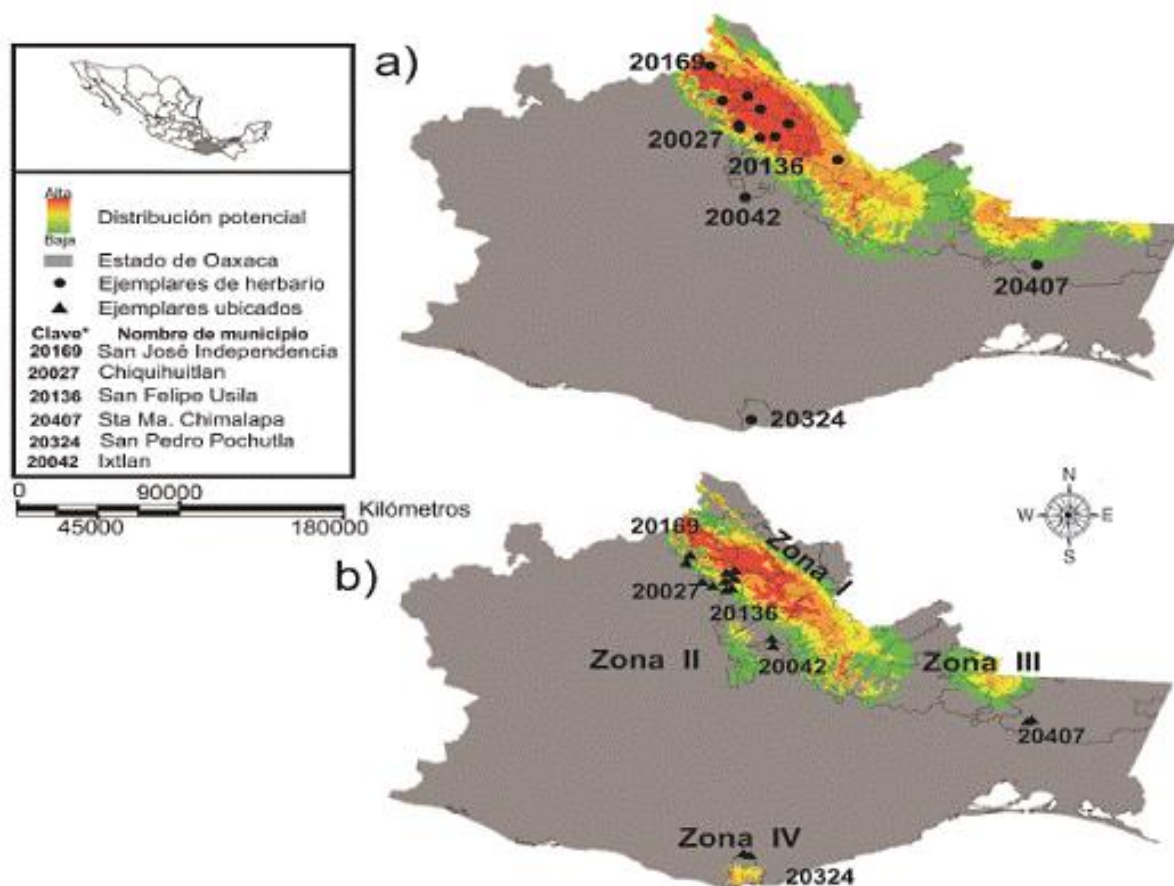


Figura 5. Distribución potencial de *Vanilla planifolia* a través del modelado de máxima entropía. La distribución del color de verde a rojo representa el aumento de la calidad del hábitat de la especie. Se muestran las distribuciones de la especie en dos periodos de tiempo (a) registro de 1939 a 1998; (b) situación en 2013. Los números indican la clave del municipio (INEGI, 2010; Hernández- Ruíz 2016).

3.5 Variación genética y química en *Vanilla planifolia*

Uno de los aspectos a considerar cuando nos referimos al término biodiversidad es la variación genética predominante dentro de una especie y tal es el caso de *Vanilla planifolia*, ya que el conocer la variabilidad es una herramienta útil para implementar estrategias de conservación (Esparza y Olguín, 2014; Abadie y Berretta, 2001; Villanueva-Villamontes, 2017).

De manera particular en la especie de interés existen estudios de variaciones genéticas en poblaciones cultivadas y silvestres, por ejemplo, Cibrián (2000) utilizó como punto de referencia ocho loci polimórficos con la finalidad de obtener la estructura genética de cultivares de Veracruz, Oaxaca y Chiapas. Sus resultados mostraron que las poblaciones silvestres en Oaxaca presentaron una mayor variación genética, siendo del 87.5% (Cibrián, 2000; Villanueva-Villamontes, 2017).

También se han utilizado marcadores moleculares RAPD (Random Amplified polymorphic DNA) en 17 individuos silvestres provenientes de Veracruz (13), Oaxaca (3) y Costa Rica (1) encontrando que los diferentes componentes geográficos. En este caso países como México y Costa Rica son evidencia contundente que explica la variación entre los

individuos silvestres, además que Oaxaca es fuente importante de variación de *Vanilla planifolia* (Schluter. 2002; Villanueva-Villamontes, 2017).

Por otro lado, algunos autores como Herrera-Cabrera y colaboradores (2012) igualmente han explicado la variación genética dentro del germoplasma de *Vanilla planifolia*, en particular centrándose en trece loci de ADN utilizando como herramienta microsatélites. Los principales hallazgos en esta investigación nos muestran que se definen 5 variantes en nuestra especie de interés denominándolas como genotipos (Figura 6) y denotadas con la letra G.

Sin embargo, hay que tomar en cuenta que el aspecto genético no ha sido el único en el que se ha detectado variación dentro de *Vanilla planifolia*, sino que también se ha establecido variación química a partir de compuestos aromáticos mayores y menores. En particular autores como Salazar-Rojas y colaboradores (2012), estudiaron las concentraciones de fitoquímicos como; ácido vanílico, p-hidroxibenzaldehído, p-hidroxibenzoico y vainillina, siendo este último el único clasificado como compuesto aromático mayor.

Como parte importante de este estudio se realizó un análisis de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) permitiendo la identificación de 6 variantes, conocidas como quimiotipos, simbolizados con CH. Una observación relevante acerca de este estudio es que la concentración de vainillina es mayor en la condición comercializada o seleccionada (CH-VI) y menor en la condición más cercana a lo silvestre (CH-I) tal y como se observa en la figura 6.

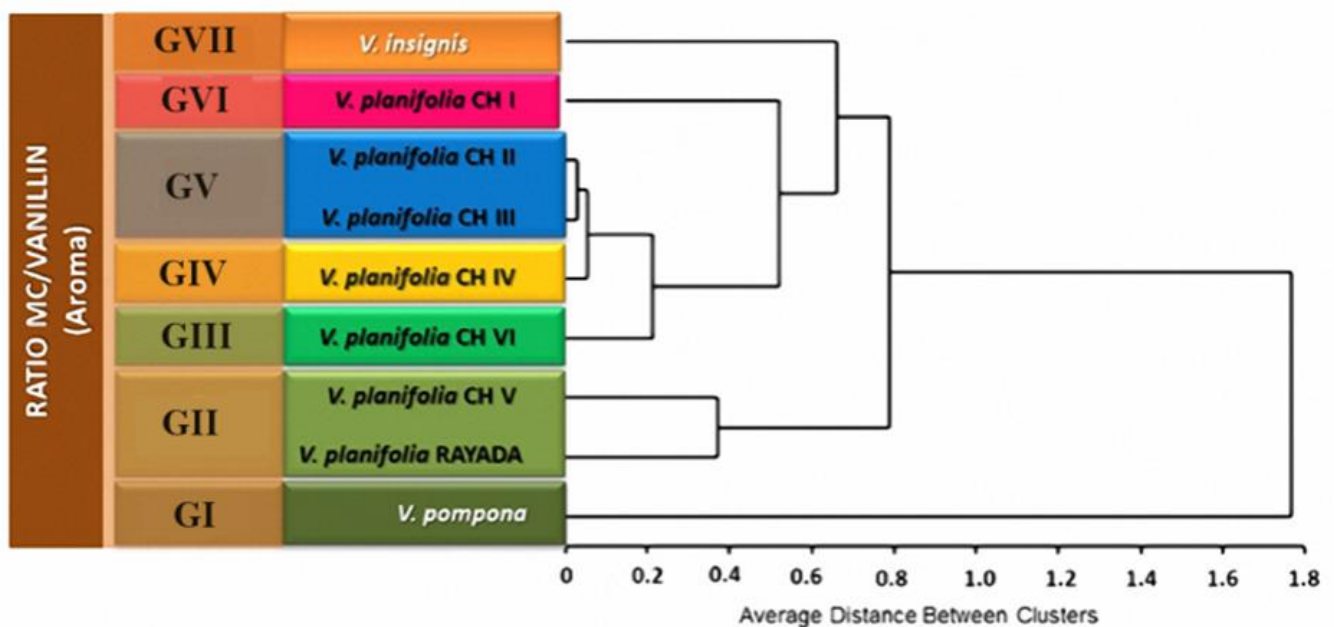


Figura 6. Dendrograma en donde se muestra el nivel de agrupación entre genotipos (G) y quimiotipos (CH) (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012; Salazar-Rojas *et al.*, 2011).

3.6 La plasticidad fenotípica como herramienta en la biología

La variación de los atributos en poblaciones de especies y subespecies de plantas es explicada a través de la plasticidad fenotípica. Varios autores reportan el caso de la variación anatómica entre individuos de *Agave salmiana* subsp *salmiana* Otto ex Salm-Dyck presentes en una misma localidad, en donde se explica que la variación anatómica de caracteres foliares a nivel interpoblacional, se explica como la plasticidad fenotípica (Chávez-Güitrón, *et al.*, 2019).

Autores como Galindo y colaboradores (2020) refieren este término como la gran cantidad de fenotipos producto de tan solo un genotipo, debiéndose a la heterogeneidad de un ecosistema (factores bióticos y abióticos existentes), la cual se debe a fuerzas evolutivas, como la microevolución.

Desde el punto de vista histórico el ambiente en el que se desarrolla una población ha causado lo que coloquialmente se conoce como “ruido” modificando la composición de genes dentro de las poblaciones, sin embargo, esto ha permitido comprender profundamente la acción que ejerce la selección natural que está presente en todos los seres vivos (Gianoli, 2004).

La figura 7 es un claro ejemplo de esto, en donde se observa la variación en el tamaño de la hoja en una misma especie tras ser expuestas a diferentes condiciones lumínicas, produciendo que, a menor porcentaje de luz, el tamaño aumenta y por ende la morfología de este órgano vegetativo se ve altamente modificada.

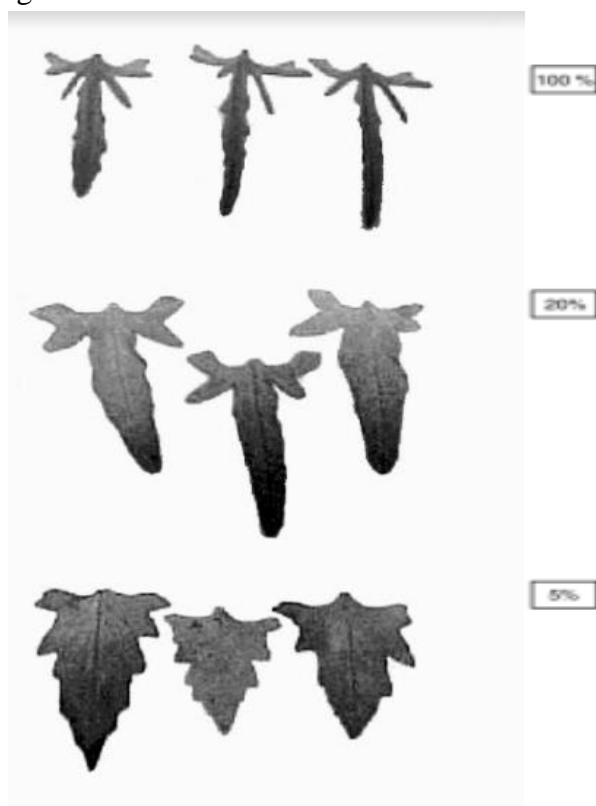


Figura 7. Ejemplo de plasticidad fenotípica en la forma de las hojas dentro de la especie *Convolvulus chilensis* Pers. creciendo en diferentes ambientes de intensidad lumínica (100%, 20% y 5% de luz) (Gianoli, 2004).

Por otra parte, la variación natural nos habla a un nivel de organización distinto, por ejemplo, en el caso de *Vanilla planifolia* nos referimos a la variación entre los genotipos, la cual se reporta en estudios de Martínez-Quezada y colaboradores (2016) quienes comparan los caracteres epidérmicos foliares y caulinares en dos genotipos G-I y G-VI.

Este término también se ha extrapolado a la raíz presente en los genotipos de cassava (*Manihot esculenta* Crantz) una especie de importancia económica, cuyo centro de origen es en el continente asiático. Utilizando los genotipos R5, R11, R9, HB60 y KU50 bajo diferentes condiciones ambientales como la disponibilidad de agua, se pudo apreciar una variación con respecto a los patrones de crecimiento, de tal modo que el genotipo R5 presentó una mayor masa en la raíz primaria al ser sometido en agua, que durante periodo de sequía (Kengkanna *et al.*, 2019).

3.7 Ecología y morfología de *Vanilla planifolia*

Vanilla planifolia se caracteriza por ser una planta herbácea perenne cuyo crecimiento (Augstburger, 2003; UAEM, 2015).

Los tallos son de color verde claro, los cuales interactúan con un forofito, extendiéndose hasta los 36 metros de largo (Figura 8).

Las hojas son de color verde oscuro, oblongas-elípticas, lisas y suculentas cuyos márgenes llegan a ser membranáceos (Figura 8) (Damián, 2020).

Existen dos tipos de raíces: las aéreas, es decir, las que se encuentran expuestas directamente con la atmósfera y ayudan al sostén de la planta a su huésped y las típicas subterráneas que comúnmente conocemos.

Las flores se disponen en helicoidalmente en racimos axilares, individualmente. Cada flor posee tres sépalos y tres pétalos de coloración blanquecina, uno de ellos modificado en el labelo, que posee papilas de color amarillo; poseen estructuras florales altamente especializadas.

El gimostemo o columna se ubica en el centro de la flor, es una estructura formada por la fusión de los órganos reproductivos masculinos y femeninos, proporcionando recompensas florales de tal modo que algunos insectos lleven a cabo la polinización (Castillo y Mark, 1993).

El fruto característico se define como una cápsula carnosa que tarda nueve meses en madurar, carece de aroma inclusive en su estado de maduración, adquiriéndolo a través de proceso conocido como beneficiado (Augstburger, 2003; Damiron-Velazquez, 2004; UAEM, 2015).



Figura 8. Órganos vegetativos presentes en *Vanilla planifolia* (Sandoval-Zapotitla, 2016).

Dentro de las interacciones ecológicas que se presentan destacan las existentes en las raíces subterráneas, puesto que varios géneros bacterianos pueden parasitar a este órgano vegetativo, algunos ejemplos son *Azotobacter* y *Enterobacter*, las cuales afectan directamente al crecimiento de esta estructura, pudiendo incluso representar una problemática durante la cosecha de individuos de *V. planifolia*, provocando que se marchiten (Guevara *et al.*, 2016).

3.8 Importancia de los estudios anatómicos para la distinción de poblaciones en Angiospermas

Los estudios con un enfoque anatómico, en particular en aquellos que engloban órganos vegetativos como la hoja y el tallo, han jugado un papel fundamental para conocer las posibles adaptaciones que han desarrollado los grupos de plantas ante condiciones ambientales en particular. También, a partir de la información obtenida podemos estudiar aspectos evolutivos como: variación natural y plasticidad fenotípica.

En algunos géneros de orquídeas como *Elleanthus* y *Pleurothallis* se estudiaron caracteres anatómico- foliares entre las poblaciones terrestres y epifitas existentes dentro de cada especie. Los resultados mostrados por Arévalo (2006) nos señalan dos aspectos, por un lado, la variación entre ambos géneros cuya distribución y condiciones climáticas son similares y por otro lado la distinción de las dos poblaciones en especies como *Pleurothallis cordifolia* (Ruiz & Pav.) Lindl. y *Elleanthus purpureus* C.Presl, tomando como punto de referencia un análisis de componentes principales.

En otras poblaciones de orquídeas como *Cattleya jenmanii* Rolfe y *Cattleya lueddemanniana* Rchb.F se encontraron diferencias en algunos parámetros foliares, atribuyéndose a las características ambientales presentadas en los tratamientos de crecimiento (orquideario, propagación in-vitro y aclimatación) (Torres y Sanabria, 2011).

Asimismo, en *Crassulaceae* del mismo modo se han retomado los estudios anatómico-vegetativos. Un claro ejemplo es el realizado por Sandoval y colaboradores (2019) cuyo objetivo se basó en conocer la posible variación de la hoja en siete accesiones (número de colecta) provenientes de *Echeveria* aff. *gigantea*, además de determinar si realmente los parámetros anatómicos se correlacionan con la forma de la hoja. Los resultados de este primer punto obtenidos a partir de un análisis multivariado nos reflejaron la distinción espacial de la accesión JE6693 en un grupo independiente del resto, mientras que JE5599 y JE5692 formaron otro grupo, donde la variación fue explicada a partir de los parámetros anatómico- foliares. Algunos ejemplos registrados son; el índice estomático abaxial y adaxial, grosor de la cutícula adaxial y abaxial.

Por otro lado, dentro de la familia Agavaceae algunos autores como Chávez-Güitrón y colaboradores (2019) reportaron la variación de *Agave salmiana* subsp *salmiana* Otto ex Salm-Dyck tomando como referencia sus hojas. A lo largo de este estudio se mencionan tres niveles de comparación, el primero se dio entre las regiones media, basal y apical de las hojas, el segundo entre los individuos de una localidad y finalmente entre tres localidades (Tecámac, San Martín de las Pirámides y Teotihuacán). Los resultados mostrados en un análisis de componentes principales denotan las principales diferencias entre los individuos de una localidad, especialmente de aquellos provenientes de la localidad de Tecámac, en donde los individuos TEC1 y TEC 2 logran separarse de TEC3, TEC4 y TEC5; esto es explicado en su mayoría por caracteres como la longitud de las células epidérmicas, grosor de las paredes anticlinales, área de las células epidérmicas e índice estomático en ambas caras de la epidermis. En adición a esto, un análisis de discriminante canónico aportó información para separar espacialmente a las localidades entre sí.

Por otra parte, algunos autores como Gilson y colaboradores (2006) analizaron la variación anatómica foliar presente en poblaciones de *Erythroxylum ovalifolium* Peyr

(Erythroxylaceae). una especie arbórea que se distribuye en los bosques de Brasil; Particularmente los estudios se centraron en tres localidades bien definidas Maricá (MC), Jurubatida (JB) y Massambaba (MB) las cuales a su vez presentan tres microhábitats diferenciados de acuerdo al tipo de vegetación predominante y humedad relativa. En el primero los individuos estuvieron expuestos directamente a los rayos solares, dentro del segundo las plantas fueron sometidas a condiciones parciales de luminosidad, mientras que, en el último de ellos, predominó la sombra. Por esta razón, Gilson y colaboradores (2006) establecieron dos niveles de comparación; 1) diferencias entre localidades y 2) diferencias entre microhábitats. Los resultados mostrados a partir de diagramas de caja-bigote nos indican las diferencias anatómicas foliares en estos niveles comparativos, en el primero se determinó que el grosor de la epidermis abaxial siendo parte del tejido dérmico (μm) difiere entre la localidad MB con respecto a MC y JB reportada en el trabajo. Por otro lado, hablando propiamente del tejido fundamental, el grosor del parénquima esponjoso y en empalizada difiere nuevamente entre MB y en conjunto de MC y JB.

Ahora bien respecto a estudios ligados al tallo se encontró que dentro de la especie *Aporocactus flagelliformes* (Linneo) (Cactaceae) existe variación anatómica en algunos parámetros entre los individuos, ubicados en el Estado de Hidalgo, Olalde (2000) los define como números de colecta, en cuyos resultados se denota que la longitud de las células epidérmicas, longitud de los estomas, diámetro tangencial de vasos y médula media presentan diferencias significativas en al menos un individuo, es decir, entre SA 1216, SA 1217, SA 1220 y SA 1221.

A partir de estos estudios se puede determinar que la variación es atribuible en varios grupos de angiospermas, denotándose a través de enfoques, como la morfología, genética y composición química. No obstante, la información anatómica permite abrir un panorama más amplio de las posibles diferencias no solamente dentro de las poblaciones en una especie, sino también para comparar especies y demás niveles taxonómicos, donde *V. planifolia* no es la excepción.

3.8.1 Estudios anatómicos en *Vanilla planifolia*

En la actualidad existen diversos estudios enfocados en la anatomía de los genotipos presentes en *Vanilla planifolia*, algunos enfatizando aspectos como la presencia de caracteres anatómicos de la epidermis foliar y caulinar. En este caso los autores tomaron como punto de partida la condición cercana a lo silvestre (G-VI) y la próxima a la seleccionada (G-III) siendo colectados en la región de Totonacapan (Martínez- Quezada *et al.*, 2016).

Si bien fueron detectadas algunas similitudes entre la anatomía de la epidermis del tallo y de la hoja de ambos como la forma poligonal y rectangular de las células, rodeadas por paredes anticlinales gruesas, igualmente reportadas por Baruah y Saikia (2002) y el tipo de estomas tetracíclico en la epidermis abaxial de la lámina (Nayar *et al.*, 1976; Martínez-Quezada *et al.*, 2016).

Existen otros que permiten diferenciarlos como el índice estomático, grosor de la cutícula en la hoja y el área de células epidérmicas del tallo, por mencionar algunos ejemplos.

Complementando este último estudio autores como Sandoval-Zapotitla y colaboradores (2016) analizaron profundamente variación entre los mismos genotipos de *Vanilla planifolia*, tomando como referencia tres tejidos: epidérmico, fundamental y vascular de cuatro órganos vegetativos: lámina, tallo, raíz subterránea y aérea.

Los resultados nos muestran que algunos caracteres procedentes del tejido vascular ayudan a diferenciar a un genotipo del otro, entre ellos se encuentran; los haces vasculares menores y marginales con vaina de esclerénquima los cuales forman parte del tallo. Mientras que de la raíz algunos de los mayormente destacados son: el grosor de la pared periclinal externa en raíz aérea, además del diámetro de los elementos de vaso del metaxilema en la raíz subterránea.

Si bien se menciona que en el genotipo G-I, representado como G-VI los valores de estos parámetros anatómicos son heterogéneos debido a las diversas condiciones ambientales a las que fueron expuestas los individuos y que por ende se diferencian del genotipo G-VI (G-III), no se menciona un método estadístico robusto que nos indique la relevancia de los parámetros anatómicos que nos permitan separar a los dos genotipos estudiados.

Por otro lado, dentro de aquellas investigaciones y estudios respecto a la anatomía en el género *Vanilla*, autores como Reyes-López y colaboradores (2015) estudiaron algunas características anatómicas de los estomas en cinco especies *V. planifolia* G Jackson, *V. pompona* Schiede, *V. inodora* Schiede, *V. odorata* Presl y *V. insignis* Ames (Figura 9).

Se determinó que la presencia de estructuras estomáticas prevalece en la cara abaxial de la lámina en la mayoría de las especies, por lo que su hoja es hipostomática. Mientras que otras como *V. inodora* Schiede, *V. odorata* Presl y *V. insignis* Ames tuvieron dichas estructuras en ambas caras de la lámina, por lo tanto, sus hojas son anfiestomáticas. Varios autores definen a esta condición como primitiva (Camargo, 2009; Reyes-López *et al.*, 2015), encontrando así una ventaja adaptativa ligada con la doble conductancia en la capa límite, ideal en ambientes donde la tasa fotosintética podría estar limitada.

En resultados ligados al índice estomático se concluye que la especie *V. planifolia* presentó el valor más bajo. Hernández y colaboradores (2007) reportan que la densidad estomática dentro del género *Vanilla* es bastante similar con algunos grupos de cactáceas, como

algunas poblaciones de *Myrtillocactus geometrizans* las cuales presentan un rango de estomas que varía entre 18 a 30 por mm².

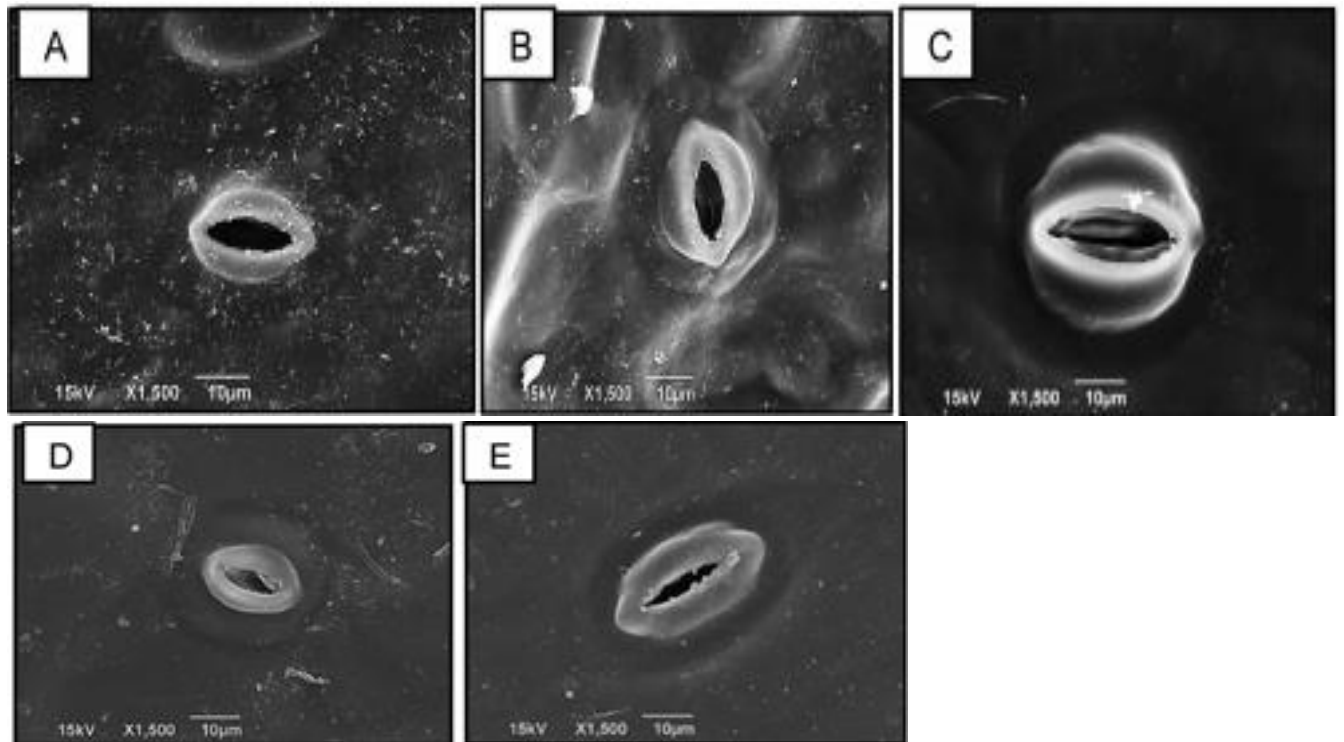


Figura 9. Estomas en la parte abaxial de la lámina del género *Vanilla*. (A). *Vanilla planifolia*. (B). *Vanilla pompona*. (C). *Vanilla insignis*. (D). *Vanilla inodora*. (E). *Vanilla odorata* (Reyes-López *et al.*, 2015).

8. JUSTIFICACIÓN

A lo largo del tiempo en México *Vanilla planifolia* Andrew ha sido de gran importancia desde el punto de vista económico ya que, a partir de la parte vegetativa, así como también de la sección reproductiva se obtienen una gran cantidad de productos en nuestra vida cotidiana tales como fragancias y aditivos para los alimentos (Cadena, 2016). No obstante, hoy en día se encuentra regida bajo la NOM-059 SEMARNAT catalogada como en peligro de extinción (Villanueva-Villamontes, 2017). De manera particular las poblaciones silvestres, es decir, similares al genotipo G-I, son las que mayormente han disminuido dentro de las regiones tropicales y subtropicales en Estados como Veracruz y Puebla. A causa esta problemática actual, es indispensable comprender varios aspectos biológicos en *V. planifolia*. Un claro ejemplo está ligado directamente con su posible variación anatómica abundante en órganos como la lámina, el tallo e inclusive las dos clases de raíces predominantes para su hábito de vida hemiepífita. Basándose en este tipo de información e incorporando la variación química y genética previamente descrita y registrada (Amos y Balmford, 2001) será posible crear de manera consciente planes de manejo para la conservación de las poblaciones de *V. planifolia*. Anudado a lo anterior, podrá tener un mayor conocimiento sobre los procesos adaptativos promovidos por distintas fuerzas evolutivas que permitieron su variación vegetativa, colonización y distribución a lo largo del territorio mexicano, englobando particularmente a los genotipos G-I (más cercana a la silvestre) y G-VI (más seleccionada y manejada) que se mencionan a lo largo de este trabajo.

9. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

- Describir y analizar la variación de caracteres anatómicos de hoja, tallo y raíz en los genotipos G-I y G-VI de *Vanilla planifolia*.

5.2 Objetivos particulares

- Conocer el nivel de variación natural de caracteres vegetativos entre los genotipos G-I y G-VI.
- Conocer el nivel de plasticidad fenotípica de caracteres vegetativos dentro de cada genotipo.
- Determinar el órgano vegetativo y tejido que contribuye a explicar la variación natural permitiendo diferenciar a los dos genotipos.
- Determinar el órgano vegetativo y tejido contribuye a explicar plasticidad fenotípica en cada genotipo.
- Conocer el nivel de correlación entre los atributos anatómicos y localidades a partir de su similitud.

10. HIPÓTESIS

Si en las poblaciones de *Vanilla planifolia* prevalecen diferencias genéticas y químicas, entonces desde una perspectiva anatómica vegetativa se ve reflejada esta misma tendencia, siendo evidente no solo al comparar G-I y G-VI, sino también dentro de cada una de estas variantes.

7. MATERIALES Y MÉTODO

7.1 Material biológico

Las preparaciones histológicas correspondientes a cada órgano de cada genotipo se obtuvieron del Acervo de preparaciones histológicas del Laboratorio de Apoyo a la Investigación del Jardín Botánico, Instituto de Biología de la UNAM. Dichas preparaciones provienen de secciones de la región media de la lámina, tallo y raíces tanto aéreas como también subterráneas de los genotipos seleccionados. Cabe resaltar que con el propósito de evitar confusiones en la manera en que se nombran las variantes en función del tipo de estudio reportado, se propone asignar el acrónimo G-I para señalar el genotipo más cercano a lo silvestre, mientras que G-VI para el mayormente seleccionado, tal y como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Nomenclatura propuesta para nombrar a los genotipos de *Vanilla planifolia*.

| Genotipo | Quimiotipo | Acrónimo seleccionado |
|----------|------------|-----------------------|
| GIII | CH-VI | G-VI |
| GVI | CH-I | G-I |

Todo el material biológico fue recolectado en distintas localidades de la Región del Totonacapan en los estados de Veracruz y Puebla (Tabla 3). La identificación de cada genotipo se dio gracias al conocimiento tradicional de los productores y al Dr. Víctor Salazar Rojas.

Tabla 3. Datos generales de colecta para los genotipos G-I y G-VI de *V. planifolia* de la región del Totonacapan, México. Valores promedio anual de precipitación y temperatura.

| Genotipo | Acrónimo de localidad | Nombre de la localidad /Coordenadas geográficas | Elevación (ms.n.m.) | Precipitación (mm) | Temperatura (°C) | Sistema de manejo |
|----------|-----------------------|--|---------------------|--------------------|------------------|--|
| G-I | L1 (L1) | Ejido “Los Mangos”, Pantepec, Puebla 20° 28' 53" N, 97° 45'42" O | 450 | 2500-4500 | 18-20 | Malla sombra a 70%, tutor de concreto |
| | L2 (L2) | Rancho “Veinte Soles”, Papantla de Ocampo, Veracruz 20° 27' 24" N, 97° 18' 56" O | 250 | 1500-2500 | 18-23 | Malla sombra, tutor natural |
| | L7(L3) | Ejido “Los Álamos”, Pantepec, Puebla 20° 28' 53" N, 97° 45'42" O | 450 | 2500-4500 | 18-22 | Tutor con árboles de cítricos |
| G-VI | L2.1(L4) | Rancho “20 Soles”, Papantla de Ocampo Veracruz 20° 27' 24" N, 97° 18' 56" O | 250 | 1500-2500 | 18-23 | Acahual |
| | L3 (L5) | Municipio 1 mayo, Papantla de Ocampo Veracruz 20° 27' 24" N, 97° 18' 56" O | 150 | 1500-2500 | 18-23 | Acahual |
| | L4(L6) | Puntilla, Aldama 20° 10' 59" N, 96° 52' 1" O | 50 | 1200-1500 | 18-25 | Tutor <i>Erythrina</i> sp y <i>Pachira acuatica</i> |

| | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--------------------------------|
| | | | | | | en sistema malla sombra al 70% |
|--|--|--|--|--|--|--------------------------------|

Se colectaron tres individuos adultos y sanos por cada una de las tres localidades de cada genotipo, teniendo un total de 18 individuos a evaluar para los dos genotipos. De igual manera en cada individuo y para cada carácter se obtuvieron 20 datos, por lo que al final se logró tener una matriz de 360 datos totales: 180 del genotipo G-I y 180 del genotipo G-VI. A continuación, se describe detalladamente la forma en que se obtuvo la base de datos.



Figura 10. Condiciones selectivas de individuos de *Vanilla planifolia* bajo diferentes sistemas de manejo. (A). Malla-sombra. (B). Árboles cítricos (C). Acahual.

7.2. Análisis de caracteres anatómicos

Las preparaciones histológicas fueron observadas en un fotomicroscopio Carl Zeiss Axioscop bajo las técnicas de iluminación: campo claro, contraste de fases y polarización, de tal modo que se logró hacer una descripción anatómica de los tejidos dérmico, fundamental y vascular en los órganos vegetativos de los genotipos G-I y G-VI. Dicha caracterización fue basada a partir del trabajo de Martínez-Quezada y colaboradores (2016).

Se establecieron un total de 35 caracteres cuantitativos (Tabla 4), los cuales conformaron la matriz previamente señalada. Dentro de este total 17 corresponden a la hoja, 10 al tallo y 8 a la raíz. Los datos obtenidos con sus respectivas repeticiones nos permitieron realizar una serie de análisis estadísticos.

Las fotomicrografías fueron tomadas a partir de una cámara Rising View versión 4.10.17214.20200601 y editadas a través del programa Paint Shop Pro versión 9.

Tabla 4. Caracteres cuantitativos analizados para lámina, tallo, raíz aérea y raíz subterránea.

| | Carácter | Acrónimo |
|---|---|-----------------|
| LÁMINA | Área de células, epidermis adaxial (μm^2) | ACEADL |
| | Área de células, epidermis abaxial (μm^2) | ACEABL |
| | Longitud de células oclusivas (μm) | LCOL |
| | Índice estomático | IEL |
| | Grosor de la cutícula en margen (μm) | GCML |
| | Grosor de la cutícula adaxial (μm) | GCADL |
| | Ancho de células epidérmicas adaxiales (μm) | ANCEAD |
| | Alto de células epidérmicas adaxiales (μm) | ACEAD |
| | Grosor de la cutícula abaxial (μm) | GCAD |
| | Ancho de células epidérmicas abaxiales (μm) | ACEAB |
| | Alto de células epidérmicas abaxiales (μm) | ALCEAB |
| | Número de estratos en la vaina de esclerénquima de haces medianos | NEVEHME |
| | Grosor de pared de fibras floemáticas en haces medianos (μm) | GPFHME |
| | Número de estratos en la vaina de esclerénquima en haces pequeños | NEVEHPE |
| Grosor de la pared fibras floemáticas en haces pequeños (μm) | GPFHPE | |

| | | |
|------------|--|-----------|
| | Grosor de la pared fibras floemáticas en haz marginal (μm) | GPPFHMA |
| | Diámetro tangencial de vasos en haz marginal (μm) | DVHMA |
| TALLO | Área de células epidérmicas (μm^2) | ACT |
| | Longitud de células oclusivas (μm) | LCOT |
| | Índice estomático | IET |
| | Grosor de cutícula (μm) | GCT |
| | Ancho de células epidérmicas (μm) | ACET |
| | Alto de células epidérmicas (μm) | ALCET |
| | Grosor de banda de esclerénquima en córtex (μm) | GFAECT |
| | Grosor de pared de fibras en la vaina de esclerénquima de haces vasculares (μm) | GPFV |
| | Número de estratos de la vaina de esclerénquima de haces vasculares | NEVEHVT |
| | Diámetro tangencial de vasos xilemáticos en haces vasculares (μm) | DVXHVT |
| RAÍZ AÉREA | Alto de células de exodermis (μm) | ACEXRA |
| | Ancho de células de exodermis (μm) | ANCEXRA |
| | Grosor de pared periclinal externa en células de la exodermis (μm) | GPPECEXRA |
| | Diámetro tangencial de vasos de metaxilema (μm) | DVMRA |
| | Alto de células de exodermis (μm) | ACERS |
| | Ancho de células de exodermis (μm) | ANCERS |

| | | |
|------------------|--|---------|
| RAÍZ SUBTERRÁNEA | Grosor de la pared periclinal externa en células de la exodermis (μm) | GPPECES |
| | Diámetro tangencial de vasos, metaxilema (μm) | DVMRS |

7.3 Análisis estadísticos

En principio se realizó una prueba estadística para conocer si los datos de los parámetros anatómicos presentaron o no normalidad. Para ello se hizo una prueba de Shapiro Wilks, la cual permitió separar a los 35 parámetros en dos grupos. Por un lado 30 de ellos tuvieron distribución normal, mientras que los restantes 5 no tuvieron ese comportamiento.

Por otro lado, se establecieron dos niveles de comparación para cada uno de los análisis estadísticos: (A) entre los genotipos G-I y G-VI y (B) entre las localidades que engloban a un mismo genotipo.

Con el propósito de establecer el nivel de variación natural y plasticidad fenotípica, además de definir qué órgano(s) vegetativo contribuye(n) a explicar cada concepto evolutivo se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) a un nivel de significancia 95% ($P \leq 0.05$). De manera análoga para los datos que no presentaron normalidad se realizó una prueba de Kruskal Wallis a un nivel de significancia de 5% ($P \leq 0.05$). Cuando el análisis de varianza fue significativo, se realizó la prueba de Tukey de comparación múltiple de medias con el mismo nivel de significancia. En los dos niveles de comparación se reportaron los valores de la media. Por otro lado, una vez que la prueba de Kruskal Wallis fue significativa, se efectuó la prueba de Dunnet con el mismo nivel de significancia. Esta serie de pruebas estadísticas fueron realizadas en el lenguaje computacional R-studio versión 4.1.2 (R Core Team, 2020)

Para cada uno de los caracteres se calculó el índice de canalización microambiental, indicando de manera indirecta el grado de plasticidad fenotípica ($LS = \text{Levene statistic } P \leq 0.05$), (Hall *et al.* 2007). Dichos valores fueron obtenidos a través del programa Excel versión 2019. La representación de la variabilidad en ambos niveles comparativos fue plasmada a manera de resumen estableciendo diagramas de Venn, señalando de esta manera el número de atributos que permanecieron constantes y aquellos que difirieron.

Los datos de tipo cuantitativos discretos fueron transformados mediante raíz cuadrada, mientras que los datos cuantitativos continuos se transformaron a través de logaritmo natural. (Arroyo-Cosultchi *et al.*, 2010; Martínez- Quezada, Sandoval-Zapotitla y Arias. 2019) con el propósito de correr un análisis de discriminante canónico (ACD) por medio del programa JMP-7, cuya información está ligada al conocimiento de aquellos caracteres relevantes para explicar la variación anatómica entre los genotipos y localidades estudiados. Se comprobaron las diferencias significativas entre los genotipos con sus respectivas localidades a través del valor obtenido en la prueba de Wilks Lambda.

Con la finalidad de conocer el nivel de correlación entre los parámetros anatómicos analizados, se realizó un análisis de Correlación de Pearson en el siguiente orden: (A) comparando el genotipo G-I con el genotipo G-VI y (B) dentro de un mismo genotipo. Con esta misma

intención, a partir de la normalización de las variables y usando distancia euclidiana, se corrió un análisis de agrupamiento visualizando con un mapa de calor, lo que también nos permitió identificar el nivel de asociación entre las localidades.

8. RESULTADOS

8.1 Descripción anatómico-vegetativa de *Vanilla planifolia*.

HOJA

Tejido dérmico.

Vista superficial. Epidermis adaxial. Células de forma poligonal alargadas e isodiamétricas con paredes anticlinales lineales y delgadas con rebordes curvados, con un área celular promedio de $5844.77 \mu\text{m}^2$ (Tabla 5) con un arreglo aleatorio (Figura 15 A-C). **Epidermis abaxial** células de forma poligonal alargadas e isodiamétricas con paredes anticlinales lineales y delgadas con rebordes curvados, con un área celular promedio de $4789.89 \mu\text{m}^2$ (Tabla 5) con un arreglo aleatorio. Los estomas sólo están presentes en la epidermis abaxial, por lo que la hoja es hipostomática con un arreglo aleatorio y de tipo tetracíclicos, en donde las células oclusivas están rodeadas de 4 células epidérmicas adyacentes, dos en los polos y otras dos en la parte lateral (Figura 15 D-F). La longitud promedio de las células oclusivas es de $39.14 \mu\text{m}$ con su eje longitudinal paralelo al eje longitudinal de la hoja, el índice estomático promedio es de 2.

Sección transversal. Epidermis adaxial. La cutícula es lisa, con grosor promedio de $3.63 \mu\text{m}$ excepto en el margen, donde tiene un promedio de $18.15 \mu\text{m}$. Epidermis uniestratificada. Células epidérmicas de forma oblonga, con un ancho de $38.07 \mu\text{m}$ y un alto de $15.87 \mu\text{m}$, excepto en el margen donde son isodiamétricas y de menor tamaño, con pared periclinal externa delgada y la pared periclinal interna gruesa (Figura 15 G-I). **Epidermis abaxial.** La cutícula es lisa, con grosor promedio de $2.22 \mu\text{m}$. Epidermis uniestratificada. Células epidérmicas de forma oblonga, con un ancho de $28.76 \mu\text{m}$ y un alto de $15.43 \mu\text{m}$. Con pared periclinal externa delgada y pared periclinal interna gruesa. Los estomas se encuentran al mismo nivel que el resto de las células epidérmicas, engrosamientos cuticulares externos e internos presentes, pero reducidos.

Tejido fundamental.

Sección transversal. Hipodermis adaxial y abaxial uniestratificada, con células de forma oblonga periclinamente alargadas, las abaxiales más pequeñas; la adaxial formando un estrato continuo del genotipo G-VI, la abaxial discontinuo, ambas con paredes celulares engrosadas celulósicas. El mesófilo homogéneo, con parénquima de tipo esponjoso, células de forma isodiamétrica, algunas oblongas, ambas formas con paredes celulares delgadas, excepto a nivel del margen donde son engrosadas; las células ubicadas en ambos extremos son más pequeñas y compactas, mientras que las ubicadas en el centro son más laxas y grandes, a este nivel se observan numerosos espacios aéreos, todas las células con cloroplastos frecuentes.

Tejido vascular.

Sección transversal. Conformado por haces colaterales, ubicados en la zona media adaxial del mesófilo. Se encontraron tres tipos de haces vasculares, en función de su tamaño y el número

de estratos de la vaina de esclerénquima hacia el xilema y hacia el floema. El tipo 1 de menor tamaño, sin estratos de la vaina a nivel del xilema y de uno a dos en el floema, cuyas fibras tienen un grosor de pared promedio de $4.6 \mu\text{m}$ (Figura 15 J-L). El tipo 2 de tamaño mediano, con un estrato de la vaina en el xilema y dos estratos en el floema, cuyas fibras tienen un grosor de pared promedio de $4.84 \mu\text{m}$ (Figura 20 E-F). En estos dos tipos de haces los elementos del xilema no son evidentes. El tipo 3 de mayor tamaño, con uno a dos estratos de la vaina en el xilema y dos a cuatro en el floema, cuyas fibras tienen un grosor de pared promedio de $5.00 \mu\text{m}$ tanto los elementos de xilema como los del floema son muy evidentes. Los tres tipos de haces presentan un arreglo aleatorio a lo ancho de la hoja, siendo los más abundantes los del tipo 1.

TALLO.

Tejido dérmico.

Vista superficial. Epidermis con células de forma poligonal alargadas e isodiamétricas con paredes anticlinales lineales y con un grosor promedio de $2.5 \mu\text{m}$ y rebordes curvados, con un área celular promedio de $4939.45 \mu\text{m}^2$ (Tabla 5) y un arreglo en hileras paralelas al eje longitudinal del tallo. Los estomas tienen un arreglo aleatorio y de tipo tetracítico, dos en los polos y otras dos en la parte lateral. La longitud promedio de las células oclusivas es de $39.06 \mu\text{m}$ con su eje longitudinal paralelo al eje longitudinal del tallo, el índice estomático promedio es de 1.04.

Sección transversal. Epidermis. La cutícula es lisa, con grosor promedio de $4.12 \mu\text{m}$. Epidermis uniestratificada. Células epidérmicas de forma oblonga tangencialmente alargadas o isodiamétricas, con un ancho promedio de $29.1 \mu\text{m}$ y un alto promedio de $21.42 \mu\text{m}$. Con pared periclinal externa delgada y pared periclinal interna gruesa (Figura 20 C-D). Los estomas se encuentran al mismo nivel que el resto de las células epidérmicas, engrosamientos cuticulares externos presentes e internos muy reducidos, cámara subestomática presente pero reducida.

Tejido fundamental.

Sección transversal. Hipodermis uniestratificada con un estrato continuo, con células de forma oblonga tangencialmente alargadas, con paredes celulares uniformemente engrosadas y celulósicas (Figura 20 C-D). El córtex es homogéneo, diferenciado en dos regiones, en la región periférica las células de forma oblonga tangencialmente alargadas y pequeñas; la región interna con células isodiamétricas y más grandes, ambas con paredes celulares delgadas y cloroplastos, el tejido es más laxo en la parte interna, entre el córtex y la región interna del tallo. Se observa una banda del esclerénquima con uno a tres estratos con células poligonales de tamaños variados y con células epidérmicas con grosor promedio de $5.45 \mu\text{m}$ (Figura 18 G-I). En la región interna también se observan dos regiones, en la región periférica y continua a la banda las células son isodiamétricas y más grandes; mientras que las de la región interna generalmente son isodiamétricas y más pequeñas, ambas con paredes celulares delgadas.

Tejido vascular.

Con un arreglo de tipo atactostele, conformado por haces colaterales organizados en círculos concéntricos, cada haz con floema exarca, mientras que la del xilema endarca. Se encontraron tres tipos de haces vasculares, en función de su tamaño y el número de estratos de la vaina de esclerénquima hacia el xilema y hacia el floema (Figura 18 A-C). El tipo 1 se ubican cercanamente en la región periférica de la región central del tallo, continuo a la banda de esclerénquima, de menor tamaño, sin estratos de la vaina a nivel del xilema y de uno a dos en el floema, en este caso los elementos del xilema no son muy evidentes. El tipo 2 de tamaño mediano, de uno a dos estratos de la vaina en el xilema y de uno a tres estratos en el floema. El tipo 3 de mayor tamaño, con un estrato de la vaina en el xilema y dos a tres en el floema. Tanto el tipo 2 y 3 se ubican en la región central del tallo; en ellos los elementos de xilema como los del floema son muy evidentes, sin embargo, en el tipo 3 predomina un elemento de vaso de mayor diámetro (promedio de $134.70 \mu\text{m}$). En algunos haces del tipo 2 y 3 no se observa la vaina de esclerénquima a nivel del xilema. De manera general, el promedio de los estratos de esta vaina de los tres tipos de haces vasculares es de 2.03, mientras que el grosor promedio de la pared de las fibras es de $5.6 \mu\text{m}$.

RAÍZ AÉREA.

Tejido dérmico.

Sección transversal. La rizodermis puede estar conformada por un estrato de células oblongas, algunas de ellas proyecciones a manera de pelos radicales tubulares y excepcionalmente en algunas raíces aéreas del genotipo G-VI se observan estratos multiestratificados con células rectangulares tangencialmente alargadas, ordenadas en hileras radiales y paredes ligeramente engrosadas ($2.5 \mu\text{m}$).

Tejido fundamental.

Sección transversal. Cortex conformado por exodermis, células parenquimáticas y una endodermis. Exodermis uniestratificada formando un estrato continuo con células rectangulares radialmente alargadas u oblongas, con un alto promedio de $44.72 \mu\text{m}$ y un ancho promedio de $33.57 \mu\text{m}$, con paredes externas gruesas en forma de arco, de un promedio de $5.98 \mu\text{m}$ y una pared interna delgada. En los extremos de la raíz que no se forman pelos radicales, la pared externa es más gruesa. En general el grosor de la pared externa de la exodermis en el genotipo G-VI es más gruesa. El parénquima es homogéneo, el cual se divide en dos regiones; en la región periférica las células son oblongas y más pequeñas, mientras que en la región interna las células son isodiamétricas y más grandes, ambas con paredes celulares delgadas, a este nivel se observan algunos espacios aéreos en algunas raíces. La endodermis es uniestratificada y discontinua a nivel de los polos del xilema, con células de forma oblonga y con paredes periclinales externas delgadas y periclinales internas gruesas en forma de U, en algunas raíces no es evidente el engrosamiento de esta pared.

Tejido vascular.

Dentro del cilindro vascular, el periciclo es uniestratificado con células poligonales, aunque en algunas raíces no es tan evidente, dentro de éste el tejido vascular incluye floema y xilema

organizados en polos alternos, en las raíces más desarrolladas se observan 11 paquetes de floema y 11 de xilema, mientras que en las pequeñas se observan 6 paquetes de cada uno de estos tejidos. El paquete de floema está rodeado de fibras con paredes lignificadas y engrosadas; en las raíces de tamaños menores no se observan estas fibras. El xilema con elementos de vaso organizado en hileras radiales, los vasos del metaxilema hacia el centro con un diámetro tangencial promedio de $42.67 \mu\text{m}$ y el protoxilema hacia afuera con elementos de vaso más pequeños (Figura 18 D-F). En el centro de la raíz se forma una médula con células poligonales e isodiamétricas, de paredes delgadas.

RAÍZ SUBTERRÁNEA.

Tejido dérmico.

Sección transversal. La rizodermis está conformada por un estrato de células oblongas y en ocasiones rectangulares tangencialmente alargadas (L4- G-VI), algunas de estas proyecciones a manera de pelos radicales tubulares, y excepcionalmente en la localidad de Puntilla Aldama” correspondiente al genotipo G-VI las raíces subterráneas se observan posibles estratos multiestratificados.

Tejido fundamental.

Sección transversal. Cortex conformado por exodermis, células parenquimáticas y una endodermis. Exodermis uniestratificada formando un estrato discontinuo de células generalmente rectangulares radialmente alargadas u oblongas, con un alto promedio de $59.93 \mu\text{m}$ y un ancho promedio de $43.08 \mu\text{m}$, con paredes externas gruesas en forma de arco, de un promedio de $6.72 \mu\text{m}$ y una pared interna delgada. La pared externa es en su mayoría uniformemente gruesa a lo largo de toda la raíz. En general el grosor de la pared externa de la exodermis en el genotipo G-I es más gruesa. El parénquima es homogéneo, el cual se divide en dos regiones; en la región periférica las células son generalmente oblongas, aunque existen algunas poligonales (L2 G-I, L5 G-VI), ambos tipos son más pequeñas, mientras que en la región interna las células son isodiamétricas y más grandes, ambas con paredes celulares delgadas, a este nivel en la mayoría de las raíces se observan algunos espacios aéreos (excepto en L4 G-VI). La endodermis es uniestratificada y discontinua a nivel de los polos del floema, con células de forma oblonga y con paredes periclinales externas delgadas y periclinales internas gruesas en forma de U, en algunas raíces no es evidente el engrosamiento de esta pared.

Tejido vascular.

Dentro del cilindro vascular, el periciclo no es tan evidente. Propiamente el tejido vascular está conformado por floema y xilema organizados en polos alternos, tanto en raíces pequeñas como también en desarrolladas hay numerosos paquetes de xilema y floema que van de un rango de 8-14 respectivamente. El paquete de floema está rodeado de fibras con paredes lignificadas y engrosadas, excepcionalmente esto no es así en la localidad de “Rancho 20 soles” del genotipo G-VI. El xilema con elementos de vaso organizado en hileras radiales, los vasos del metaxilema hacia el centro con un diámetro tangencial promedio de $78.96 \mu\text{m}$ y el protoxilema hacia afuera con elementos de vaso más pequeños. En el centro de la raíz se forma una médula con células

poligonales e isodiamétricas, de paredes generalmente delgadas, excepcionalmente las raíces del ejido “Los Mangos” del genotipo G-I tienen paredes gruesas.

CONTENIDOS CELULARES.

HOJA.

Cristales de oxalato de calcio con formas prismáticas alargadas, generalmente uno por célula, en algunas ocasiones se observan dos cristales por célula, presentes tanto en epidermis (Figura 15 A-F), como en las células del mesófilo a nivel de los márgenes. De manera particular en los individuos de las localidades L2 y L5 no se visualizaron, mientras que en L6 tan sólo se apreciaron sus restos.

TALLO.

Cristales de oxalato de calcio con formas prismáticas, cúbicos e irregulares, generalmente hay un cristal por célula, ocasionalmente dos cristales, en algunas regiones de la epidermis no hay cristales, éstos se encuentran presentes tanto en epidermis, así como también en el córtex. Presencia de almidón de asimilación en córtex y en las células de la región periférica de la parte central del tallo, donde hay mayor contenido y más gránulos. La mayor parte de los individuos correspondientes a G-VI no fue posible visualizarlos (L4 y L6).

RAÍZ AÉREA.

Las hifas se agrupan en pelotones, las cuales se encuentran distribuidos en el córtex y cristales de oxalato de calcio en forma de aguja (rafidios) distribuidos generalmente en las células de la región en la periferia de la raíz en el caso de la localidad L1.

RAÍZ SUBTERRÁNEA.

Las hifas se agrupan en pelotones, las cuales se encuentran distribuidos en algunos extremos de la raíz que comprenden el córtex (L1 del genotipo G-I y para el genotipo G-VI las localidades L5 y L6). Los cristales de oxalato de calcio en forma de aguja (rafidios) cuya distribución es en la región de la periferia de la raíz en el caso de la localidad L6 y L5 del genotipo G-VI y L2 de G-I.

8.2 Variación de caracteres anatómicos entre los genotipos G-I y G-VI.

De la comparación entre los dos genotipos (ANOVA de una vía con dos niveles) se encontró que 19 (54.29%) caracteres muestran variación significativa ($P \leq 0.05$) (Tabla 5) (Figura 11), estos son: área celular de la epidermis adaxial (ACEADL), área celular de la epidermis abaxial (ACEABL), índice estomático (IEL), grosor de la cutícula adaxial (GCADL), ancho de las células epidérmicas adaxiales (ANCEAD), alto de las células epidérmicas adaxiales (ACEAD), grosor de cutícula abaxial (GCAD), ancho de las células epidérmicas abaxiales (ACEAB), grosor de la pared de fibras floemáticas en haces pequeños (GPFHPE) y grosor de la pared en fibras floemáticas de haces medianos (GPFHME) que corresponden a la hoja: el grosor de la cutícula (GCT), ancho de las células epidérmicas (ACET), alto de las células epidérmicas (ALCET), grosor de las fibras en la vaina del esclerénquima de haces vasculares del tallo

(GFAECT), grosor de las paredes en la vaina de esclerénquima en haces vasculares (GPFV) y diámetro de vasos del xilema en haces vasculares (DVXHVT) del tallo y grosor de la pared periclinal externa de las células de la exodermis (GPPECEXRA), alto de las células de la exodermis (ACERS) y diámetro de vasos del metaxilema (DVMRS) a la raíz.

Los restantes 16 (45.71%) caracteres son constantes entre los dos genotipos, siete de la hoja; cuatro del tallo y cinco de la raíz. En esta comparación se observa que 28 (80 %) caracteres (13 en hoja, 8 en tallo y 7 en raíz) muestran valores mayores en el genotipo G-I mientras que solo 7 (20 %) valores (cuatro para hoja, dos para tallo y solo uno para raíz) son mayores en el genotipo G-VI (Figura 11).

Tabla 5. Promedio \pm una desviación estándar y LS (Levene statistic) de los parámetros anatómicos de los genotipos G-I y G-VI de *Vanilla planifolia*. Letras desiguales indican grupos distintos en la prueba Post Hoc ($P < 0.05$).

| Carácter | G-I | LS | G-VI | LS |
|----------|----------------------------|------|----------------------------|------|
| ACEADL | 5783.46 a \pm 1883.55 | 0.01 | 5906.09 b \pm 912.86 | 0.01 |
| ACEABL | 4350.13 a \pm 752.81 | 0.09 | 5229.82 b \pm 1073.41 | 0.09 |
| LCOL | 38.47 ab \pm 3.09 | 0.02 | 39.81 b \pm 2.33 | 0.02 |
| IEL | 1.80 a \pm 0.41 | 0.10 | 2.21 b \pm 0.40 | 0.10 |
| GCML | 9.36 a \pm 1.16 | 0.03 | 8.79 ab \pm 1.46 | 0.03 |
| GCADL | 4.21 a \pm 1.23 | 0.16 | 3.06 b \pm 0.58 | 0.16 |
| ANCEAD | 42.83 a \pm 15.81 | 0.13 | 33.31 b \pm 6.10 | 0.13 |
| ACEAD | 17.49 a \pm 8.61 | 0.10 | 14.26 b \pm 2.16 | 0.10 |
| GCAD | 2.46 a \pm 0.67 | 0.11 | 1.98 b \pm 0.38 | 0.11 |
| ACEAB | 32.03 a \pm 11.00 | 0.11 | 25.49 b \pm 5.15 | 0.11 |
| ALCEAB | 16.64 a \pm 6.32 | 0.08 | 14.23 ab \pm 2.14 | 0.08 |

| | | | | |
|---------|-------------------------|------|-----------------------|------|
| NEVEHME | 2.29 a ± 0.52 | 0.02 | 2.21 ab ± 0.57 | 0.02 |
| GPFHME | 5.80 a ± 3.28 | 0.20 | 3.88 b ± 1.33 | 0.20 |
| NEVEHPE | 1.92 a ± 0.75 | 0.10 | 1.57 a ± 0.63 | 0.10 |
| GPFHPE | 5.72 a ± 3.02 | 0.24 | 3.48 b ± 1.23 | 0.24 |
| GPFHMA | 5.25 a ± 1.84 | 0.10 | 4.33 ab ± 1.53 | 0.09 |
| DVHMA | 40.18 ab ± 9.76 | 0.00 | 39.81 b ± 8.00 | 0.00 |
| ACT | 4903.11 ab ± 1165.69 | 0.00 | 4975.84 b ± 752.14 | 0.00 |
| LCOT | 39.33 a ± 2.57 | 0.00 | 38.80 a ± 2.64 | 0.00 |
| IET | 1.03 a ± 0.42 | 0.00 | 1.05 ab ± 0.27 | 0.00 |
| GCT | 4.86 a ± 0.79 | 0.18 | 3.38 b ± 1.39 | 0.18 |
| ACET | 31.98 a ± 5.43 | 0.10 | 26.22 b ± 10.53 | 0.10 |
| ALCET | 23.68 a ± 2.97 | 0.11 | 19.16 b ± 7.17 | 0.11 |
| GFAECT | 6.67 a ± 1.87 | 0.23 | 4.22 b ± 1.80 | 0.23 |
| GPFV | 7.86 a ± 2.87 | 0.40 | 3.34 b ± 1.56 | 0.40 |
| NEVEHVT | 2.23 a ± 0.48 | 0.10 | 1.84 ab ± 0.69 | 0.10 |
| DVXHVT | 150.02 a ± 25.41 | 0.11 | 119.39 b ± 48.86 | 0.11 |
| ACEXRA | 46.36 ab ± 18.09 | 0.04 | 43.08 b ± 18.28 | 0.04 |
| ANCEXRA | 34.86 ab ± 14.97 | 0.04 | 32.28 b ± 14.97 | 0.04 |

| | | | | |
|-----------|---------------------|------|--------------------|------|
| GPPECEXRA | 5.44 a ± 4.26 | 0.10 | 6.52 b ± 3.47 | 0.10 |
| DVMRA | 43.21 ab ± 30.09 | 0.01 | 42.13 b ± 23.47 | 0.01 |
| ACERS | 66.01 a ± 11.63 | 0.10 | 53.85 b ± 10.91 | 0.10 |
| ANCERS | 45.34 a ± 8.08 | 0.05 | 40.83 ab ± 8.52 | 0.05 |
| GPPECES | 7.64 ab ± 3.43 | 0.14 | 5.81a ± 3.85 | 0.14 |
| DVMRS | 103.26 a ± 24.80 | 0.31 | 54.67 b ± 28.47 | 0.31 |

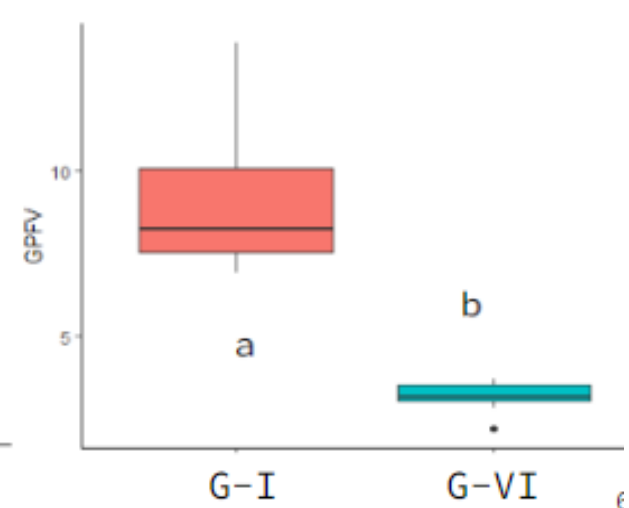
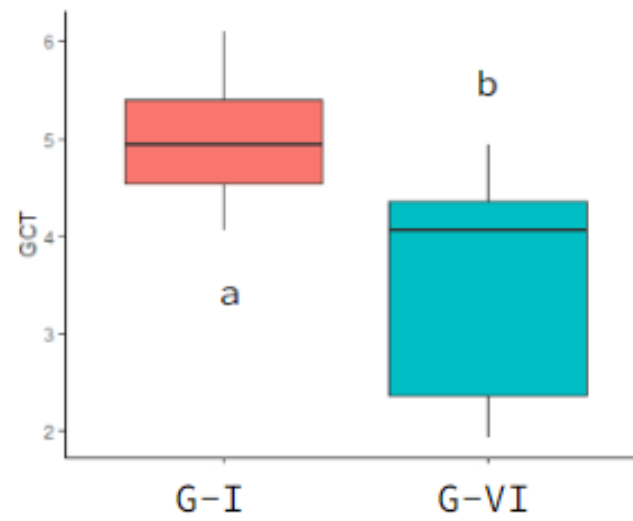
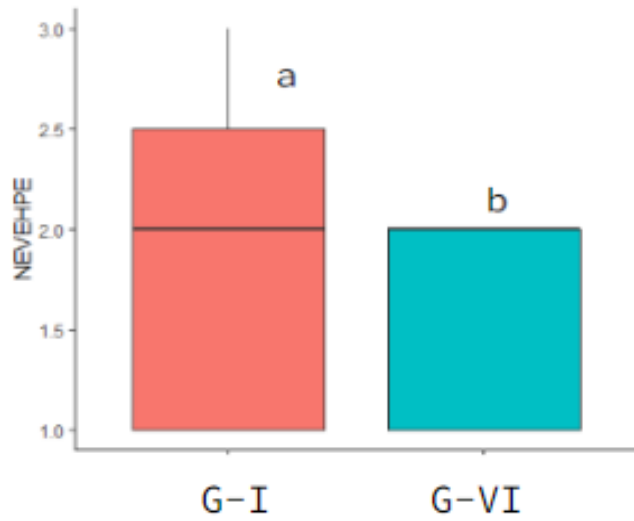
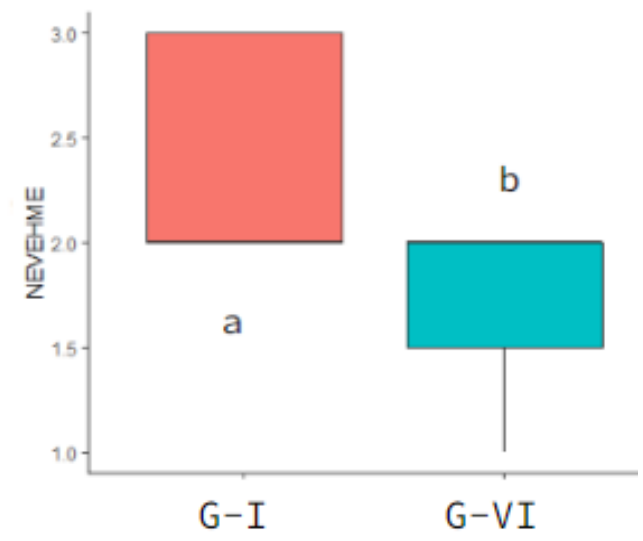
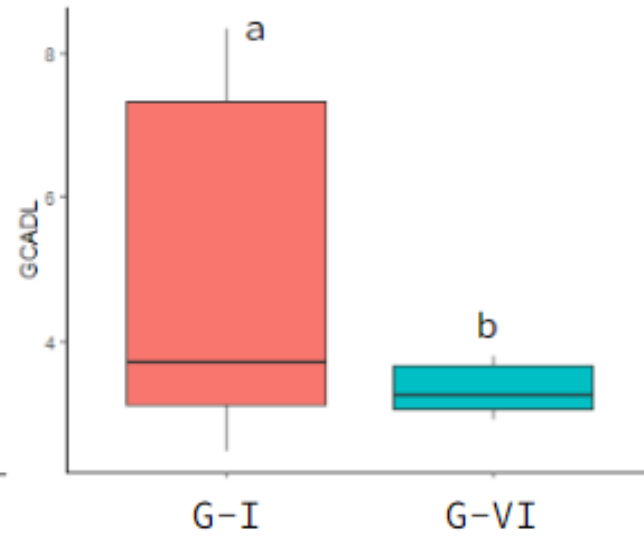
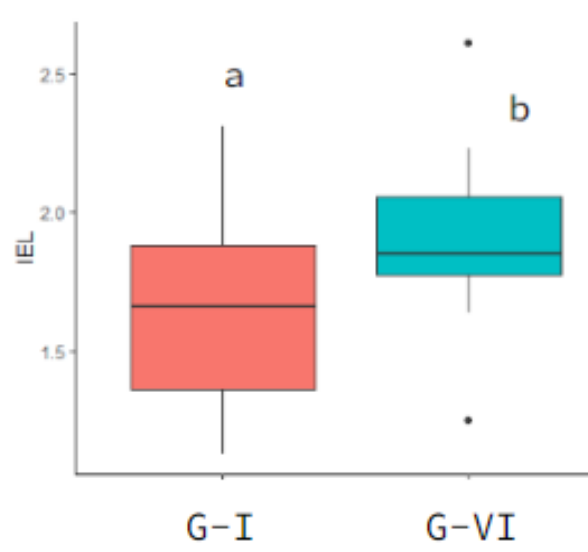


Figura 11. Diagramas de caja-bigote de aquellos caracteres representativos para distinguir a los genotipos G-I y G-VI.

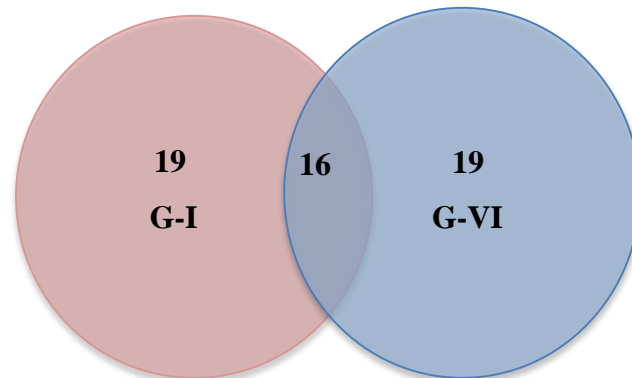


Figura 12. Diagrama de Venn en donde se muestra la variación natural a partir de los parámetros anatómicos entre genotipos (19), además de aquellos que permanecen constantes (16).

8.3 Variación de caracteres anatómicos entre individuos de las localidades del genotipo G-I

A partir de la comparación de las tres localidades del genotipo G-I (ANOVA de una vía con tres niveles), se encontró variación significativa ($P \leq 0.05$) en 23 caracteres (65.71%), en al menos en una de las tres localidades analizadas (Tabla 6) (Figura 13). La mayoría de los caracteres de la hoja resultaron ser variables con excepción del índice estomático (IEL) y número de estratos en la vaina de esclerénquima en haces medianos (NEVEHME), tan solo 4 en el tallo y 4 a la raíz. Dentro de estos 23 caracteres, 6 de ellos (17.14%), son los más variables al formar tres grupos (Figura 14 y 15). Cuatro de hoja: área celular de la epidermis en ambos extremos (ACEADL/ACEABL), grosor de la cutícula adaxial (GCADL) y grosor de la pared de las fibras floemáticas en los haces medianos (GPFHPE). Uno en el tallo: grosor de la pared de fibras en la vaina de esclerénquima en haces vasculares (GPFV). Uno de raíz aérea: diámetro de vasos del metaxilema (DVMRA).

Diecisiete caracteres (48.57%) tienen menor variación ya que forman dos grupos. Doce en la hoja: longitud de células oclusivas abaxial (LCOL), grosor de la cutícula en el margen de la lámina (GCML), ancho de las células epidérmicas abaxiales (ANCEAD), alto de células epidérmicas adaxiales (ACEAD), grosor de la cutícula abaxial (GCAD), ancho de las células epidérmicas abaxiales (ACEAB), alto de las células epidérmicas abaxiales (ALCEAB), número de estratos en la vaina de esclerénquima de haces medianos (NEVEHME), grosor de la pared en las fibras floemáticas en haces medianos (GPFHME), grosor de la pared en las fibras floemáticas en haces pequeños (GPFHPE), grosor de la pared de fibras floemáticas en haz marginal (GPFHMA) y diámetro de los vasos en el haz marginal (DVMMA). Dos en el tallo: área celular (ACT) y ancho de células epidérmicas (ACET) y tres en ambos tipos de raíz: alto de las células de la exodermis (ACEXRA), ancho de las células de la exodermis (ANCEXRA) y grosor de la pared periclinal externa de las células de la exodermis (GPPECES). Los restantes 12 (34.28%) caracteres son significativamente constantes entre las tres localidades analizadas para este genotipo (Figura 13). Dos en hoja, seis en tallo y cuatro en raíz (Tabla 6).

Cabe señalar que ocho caracteres (22.85%) muestran valores mayores para la localidad del Ejido “Los Mangos” también de Pantepec, Puebla, siete caracteres (20%) son mayores en la localidad de Rancho 20 Soles de Papantla de Ocampo, Veracruz. Finalmente 20 caracteres (57.14%) tienen valores mayores y corresponden a la localidad del Ejido “Los Álamos” en Pantepec Puebla.

Tabla 6. Promedio \pm una desviación estándar y LS (Levene statistic) de los parámetros anatómicos del genotipo G-I de *Vanilla planifolia* en tres localidades. Letras desiguales indican grupos distintos en la prueba Post Hoc ($P<0.05$).

| Carácter | L1 | LS | L2 | LS | L3 | LS |
|-------------------------------|---------------------------|------|---------------------------|------|---------------------------|------|
| ACEADL (μm^2) | 5787.88 c \pm 959.23 | 0.02 | 6711.70 a \pm 965.9 | 0.14 | 5165.88 b \pm 446.27 | 0.12 |
| ACEABL (μm^2) | 4881.18 a \pm 717.33 | 0.12 | 4327.40 b \pm 621.86 | 0.00 | 3841.43 c \pm 517.27 | 0.12 |
| LCOL (μm) | 41.41 a \pm 2.40 | 0.08 | 36.66 b \pm 2.55 | 0.05 | 37.36 b \pm 1.79 | 0.03 |
| IEL | 1.61 c \pm 0.41 | 0.10 | 1.80 bc \pm 0.34 | 0.00 | 1.95 c \pm 0.43 | 0.09 |
| GCML (μm) | 8.64 bc \pm 1.01 | 0.05 | 8.97 bc \pm 1.18 | 0.02 | 9.76 a \pm 0.94 | 0.07 |
| GCADL (μm) | 4.00 b \pm 0.48 | 0.09 | 5.02 c \pm 0.57 | 0.09 | 3.20 a \pm 1.55 | 0.15 |
| ANCEAD (μm) | 39.76 b \pm 8.99 | 0.07 | 36.44 bc \pm 6.83 | 0.15 | 52.18 a \pm 10.19 | 0.22 |
| ACEAD (μm) | 12.74 c \pm 1.86 | 0.28 | 14.21 bc \pm 3.18 | 0.19 | 25.57 a \pm 10.59 | 0.50 |
| GCAD (μm) | 2.00 bc \pm 0.35 | 0.18 | 2.19 b \pm 0.35 | 0.10 | 3.17 a \pm 0.56 | 0.29 |
| ACEAB (μm) | 27.53 bc \pm 4.60 | 0.14 | 29.76 b \pm 6.85 | 0.07 | 38.77 a \pm 15.66 | 0.21 |
| ALCEAB (μm) | 13.23 b \pm 1.97 | 0.20 | 13.46 b \pm 1.74 | 0.19 | 23.25 a \pm 6.92 | 0.40 |
| NEVEHME | 2.18 a \pm 0.59 | 0.05 | 2.06 b \pm 0.25 | 0.10 | 2.63 a \pm 0.48 | 0.15 |
| GPFFHME (μm) | 6.04 a \pm 0.92 | 0.04 | 4.43 b \pm 2.56 | 0.24 | 6.93 a \pm 4.69 | 0.19 |
| NEVEHPE | 2.48 a | 0.30 | 1.21 ab | 0.36 | 2.06 b | 0.08 |

| | | | | | | |
|---------------------------|-----------------------|------|----------------------------|------|-----------------------|------|
| | ± 0.65 | | ± 0.61 | | ± 0.25 | |
| GPFFHPE (µm) | 6.01 a ± 1.29 | 0.05 | 4.43 b ± 2.07 | 0.22 | 6.73 c ± 4.47 | 0.18 |
| GPFFHMA (µm) | 4.82 b ± 2.12 | 0.08 | 6.31 a ± 0.99 | 0.20 | 4.61 bc ± 1.75 | 0.12 |
| DVHMA (µm) | 38.28 bc ± 9.51 | 0.05 | 34.66 c ± 6.69 | 0.14 | 47.61 a ± 7.95 | 0.18 |
| ACT (µm ²) | 5143.88 a ± 890.57 | 0.05 | 5644.76 ab ± 1260.29 | 0.15 | 3923.08 c ± 382.19 | 0.20 |
| LCOT (µm) | 40 b ± 2.39 | 0.01 | 38.07 ab ± 2.33 | 0.03 | 39.91 a ± 2.55 | 0.02 |
| IET | 1.05 ab ± 0.46 | 0.02 | 1.01 ab ± 0.41 | 0.02 | 1.03 ab ± 0.39 | 0.00 |
| GCT (µm) | 4.58 b ± 0.45 | 0.06 | 4.77 ab ± 0.66 | 0.02 | 4.22 a ± 1.02 | 0.08 |
| ACET (µm) | 34.58 a ± 5.41 | 0.08 | 33.16 ab ± 4.32 | 0.04 | 28.19 c ± 4.31 | 0.12 |
| ALCET (µm) | 23.10 ab ± 2.63 | 0.02 | 23.03 ab ± 2.61 | 0.03 | 24.91 a ± 3.26 | 0.05 |
| GFAECT (µm) | 6.85 b ± 1.55 | 0.03 | 8.27 a ± 1.28 | 0.25 | 4.81 b ± 0.85 | 0.28 |
| GPV (µm) | 7.12 b ± 1.51 | 0.09 | 11.13 a ± 1.65 | 0.41 | 5.34 c ± 1.47 | 0.32 |
| NEVEHVT | 2.26 a ± 0.57 | 0.01 | 2.11 ab ± 0.37 | 0.05 | 2.33 a ± 0.47 | 0.04 |
| DVXHVT (µm) | 163.66 a ± 30.01 | 0.09 | 141.09 bc ± 19.97 | 0.06 | 145.62 ab ± 19.45 | 0.03 |
| ACEXRA (µm) | 33.90 a ± 5.19 | 0.22 | 51.32 b ± 7.29 | 0.18 | 53.87 b ± 8.10 | 0.24 |
| ANCEXRA (µm) | 28.17 c ± 21.19 | 0.19 | 37.48 ab ± 7.38 | 0.08 | 38.95 a ± 10.36 | 0.12 |
| GPPEXRA (µm) | 3.26 a ± 2.95 | 0.04 | 2.85 a ± 0.51 | 0.15 | 3.28 a ± 2.21 | 0.05 |
| DVMRA (µm) | 45.46 b ± 37.40 | 0.05 | 24.67 c ± 25.02 | 0.43 | 59.50 a ± 39.87 | 0.38 |

| | | | | | | |
|------------------------------|------------------------|------|-------------------------|------|-------------------------|------|
| ACERS (μm) | 63.78 a ± 12.09 | 0.03 | 66.41 a ± 14.01 | 0.00 | 67.83 a ± 7.70 | 0.03 |
| ANCERS (μm) | 44.53 bc ± 5.62 | 0.03 | 47.79 a ± 8.51 | 0.04 | 45.67 ab ± 8.94 | 0.00 |
| GPPECES (μm) | 7.11 bc ± 4.42 | 0.07 | 5.86 cd ± 0.81 | 0.23 | 9.95 a ± 2.57 | 0.23 |
| DVMRS (μm) | 86.85 b ± 32.00 | 0.19 | 100.43 ab ± 7.04 | 0.03 | 122.49 a ± 11.61 | 0.16 |

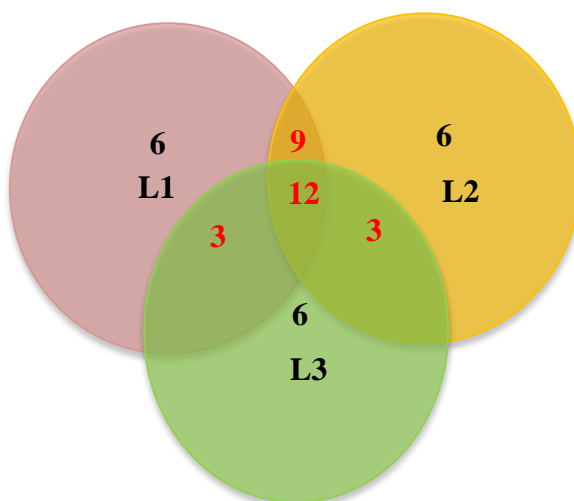


Figura 13. Diagrama de Venn en donde se sintetiza la variación dentro del genotipo G-I (plasticidad fenotípica) denotando tanto el número de caracteres que distinguen a las localidades (6) como también de aquellos que presentan constancia al compararlas (valores en rojo).

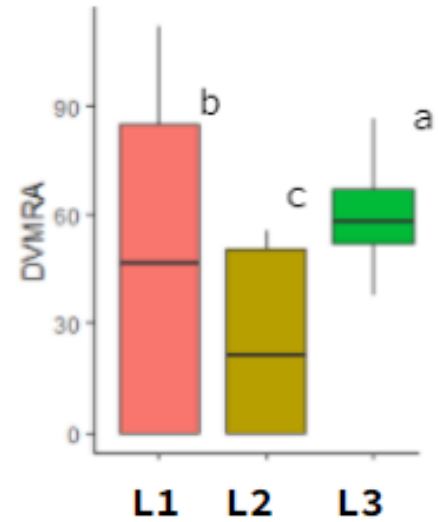
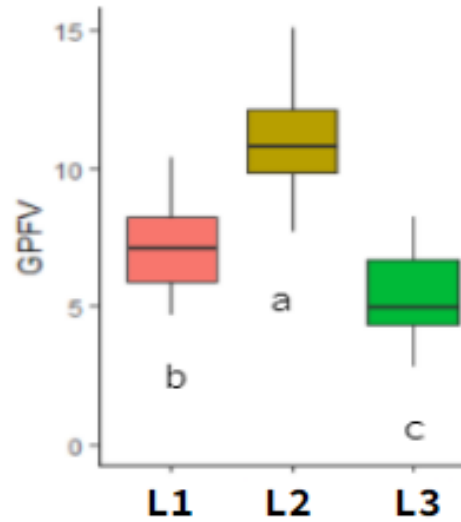
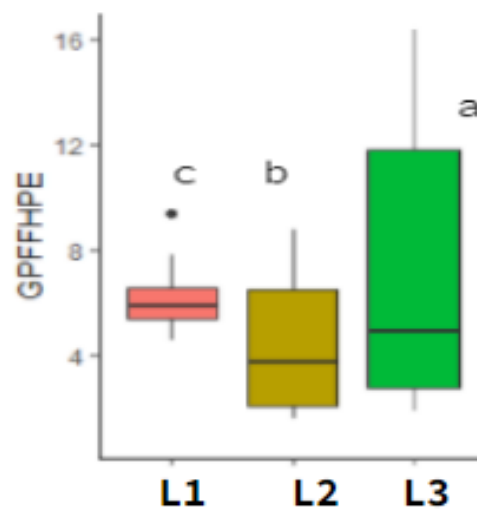
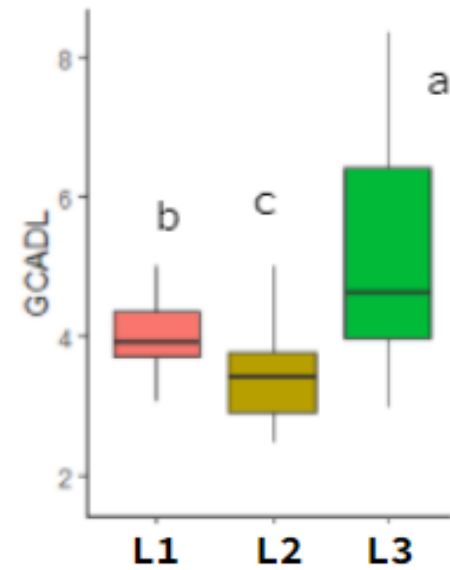
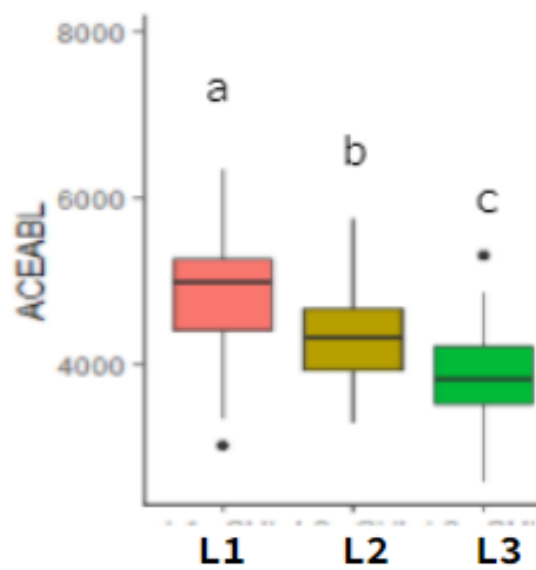
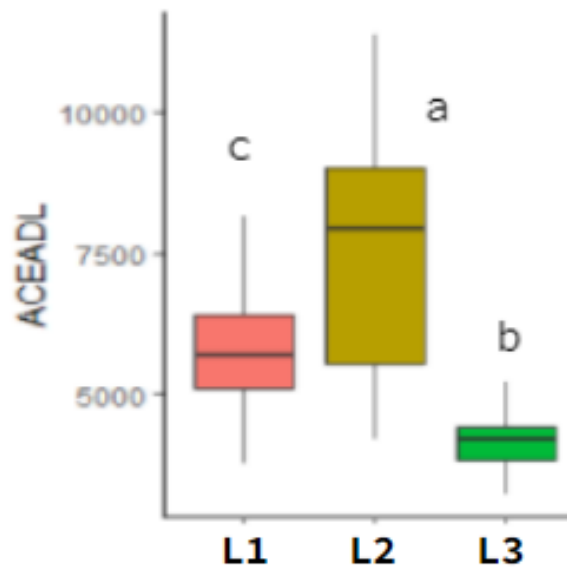


Figura 14. Diagramas de caja-bigote en donde se observan algunos caracteres del genotipo G-I que presentan diferencias significativas dentro de las localidades estudiadas.

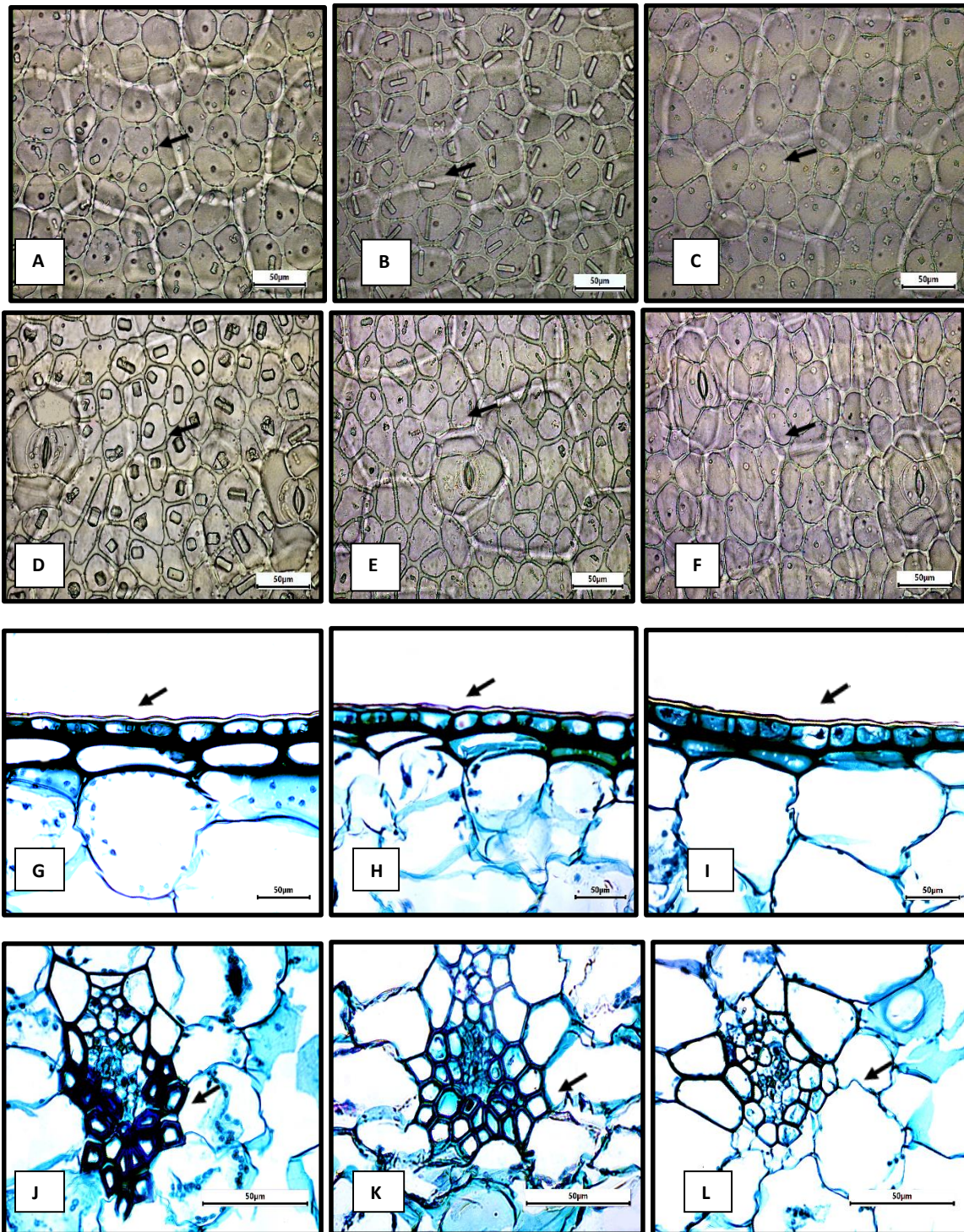


Figura 15. *Vanilla planifolia*. Diferencias dentro del genotipo G-I. A-F. Vista superficial. A-C. Área de células epidérmicas adaxiales (Flechas). D-F. Área de células epidérmicas abaxiales (Flechas). G-L. Secciones transversales. G-I. Grosor de cutícula adaxial (Flechas). J-L. Grosor de pared de fibras floemáticas en haces pequeños (Flechas). Columna izquierda Pantepec, Puebla. Columna central Papantla, Veracruz. Columna derecha Pantepec, Puebla.

8.4 Variación de caracteres anatómicos entre individuos de las localidades del genotipo G-VI.

A partir de la comparación de las tres localidades del genotipo G-VI (ANOVA de una vía con tres niveles), se encontró variación significativa ($P \leq 0.05$) (Tabla 7) (Figura 17) en 19 caracteres (54.29%), al menos en una de las tres localidades analizadas. En la hoja, solo cinco caracteres son variables, en el tallo la mayoría de los caracteres fueron variables a excepción de dos: el área celular (ACT) y la longitud de células oclusivas (LCOT), en la raíz 6 caracteres son variables y dos constantes: el ancho de las células de la exodermis en raíz aérea y subterránea (ANCEXRA/ANCERS).

Un solo carácter se diferencia en las tres localidades a nivel del tallo y es el grosor de banda del esclerénquima en cortex (GFAECT) (Figura 17). Dieciocho caracteres (51.43%) con menor variación forman dos grupos, ellos son: grosor de la cutícula adaxial (GCADL), ancho de las células epidérmicas abaxiales (ACEAB), alto de las células epidérmicas abaxiales (ALCEAB), grosor de la pared de las fibras floemáticas en los haces pequeños (GPFFHME) y número de estratos en la vaina de esclerénquima en los haces pequeños (NEVEHPE) en el tallo: índice estomático (IET), grosor de la cutícula (GCT), ancho de las células epidérmicas (ACET), alto de las células epidérmicas (ALCET), grosor de la pared de las fibras en la vaina de esclerénquima del córtex (GPFV) y número de estratos en la vaina de esclerénquima en los haces vasculares (NEVEHVT) y diámetro tangencial de vasos xilemáticos en haces vasculares (DVXHVT). Para la raíz: alto de las células de la exodermis (ACEXRA), grosor de la pared periclinal externa en las células de la exodermis (GPPECEXRA), diámetro de los vasos del metaxilema (DVMRA), alto de las células de la exodermis (ACERS), grosor de la pared periclinal externa de las células de la exodermis (GPPECES) y diámetro de los vasos del metaxilema (DVMRS) en raíz.

Los restantes 16 (45.71%) caracteres son significativamente constantes entre las tres localidades analizadas para este genotipo (Figura 16), 12 de ellos corresponden a la hoja, dos para tallo y dos para raíz (Tabla 7).

Cabe señalar que seis caracteres (17.14%) tienen valores mayores y corresponden a la localidad de Rancho 20 Soles de Papantla de Ocampo, Veracruz; diecisiete caracteres (48.57%) muestran valores mayores para la localidad 1° de mayo en Papantla de Ocampo, Veracruz y doce (34.28%) son mayores en la localidad de Puntilla Aldama, San Rafael, Veracruz.

Tabla 7. Promedio \pm una desviación estándar y LS (Levene statistic) de los parámetros anatómicos del genotipo G-VI de *Vanilla planifolia* en tres localidades. Letras desiguales indican grupos distintos en la prueba Post Hoc ($P < 0.05$).

| Carácter | L4 | LS | L5 | LS | L6 | LS |
|----------|---------------------------|------|---------------------------|------|----------------------------|------|
| ACEADL | 5862.7 a \pm 921.31 | 0.00 | 5802.66 a \pm 927.56 | 0.02 | 6052.91 a \pm 883.51 | 0.02 |
| ACEABL | 5294.31 a \pm 913.19 | 0.01 | 5207.1 a \pm 1167.88 | 0.00 | 5188.05 a \pm 1136.34 | 0.00 |
| LCOL | 40.93 a \pm 2.49 | 0.02 | 40.33 a \pm 2.27 | 0.00 | 38.79 ab \pm 1.86 | 0.03 |
| IEL | 2.19 a \pm 0.39 | 0.00 | 2.17 a \pm 0.31 | 0.02 | 2.27 a \pm 0.47 | 0.03 |
| GCML | 8.78 bc \pm 1.09 | 0.00 | 8.39 a \pm 1.19 | 0.05 | 9.20 ab \pm 1.88 | 0.05 |
| GCADL | 3.07 bc \pm 0.51 | 0.07 | 3.28 a \pm 0.57 | 0.14 | 2.82 c \pm 0.59 | 0.02 |
| ANCEAD | 32.14 a \pm 5.62 | 0.03 | 32.76 a \pm 5.36 | 0.02 | 35.02 ab \pm 6.93 | 0.05 |
| ACEAD | 12.94 a \pm 2.14 | 0.09 | 14.05 ab \pm 1.62 | 0.01 | 15.80 a \pm 1.66 | 0.10 |
| GCAD | 1.93 a \pm 0.33 | 0.02 | 2.08 ab \pm 0.31 | 0.05 | 1.94 a \pm 0.48 | 0.02 |
| ACEAB | 26.47 a \pm 4.73 | 0.04 | 23.31 b \pm 4.43 | 0.08 | 26.69 a \pm 5.58 | 0.05 |
| ALCEAB | 13.08 a \pm 1.83 | 0.08 | 13.58 a \pm 1.35 | 0.05 | 16.02 b \pm 1.93 | 0.13 |
| NEVEHME | 2.01 b \pm 0.29 | 0.04 | 2.26 ab \pm 0.60 | 0.08 | 2.01 a \pm 0.70 | 0.04 |
| GPFHME | 4.32 a \pm 1.01 | 0.11 | 4.28 a \pm 1.14 | 0.10 | 3.09 b \pm 1.44 | 0.20 |
| NEVEHPE | 1.72 a \pm 0.45 | 0.10 | 1.85 a \pm 0.77 | 0.16 | 1.16 b \pm 0.37 | 0.40 |
| GPFHPE | 4.28 ab \pm 0.76 | 0.23 | 3.67 ab \pm 1.11 | 0.06 | 2.48 b \pm 1.04 | 0.29 |
| GPFHMA | 4.94 a \pm 0.94 | 0.14 | 4.24 ab \pm 1.14 | 0.02 | 3.81 b \pm 2.07 | 0.12 |

| | | | | | | |
|---------|-----------------------|------|------------------------|------|------------------------|------|
| DVHMA | 38.85 a ± 8.37 | 0.02 | 38.25 ab ± 5.54 | 0.04 | 42.33 b ± 9.14 | 0.06 |
| ACT | 4722.16 c ± 726.72 | 0.05 | 5254.58 ab ± 701.00 | 0.06 | 4950.78 bc ± 742.78 | 0.00 |
| LCOT | 39.16 a ± 2.74 | 0.00 | 39.62 a ± 2.55 | 0.02 | 37.62 a ± 2.27 | 0.03 |
| IET | 0.89 b ± 0.32 | 0.15 | 1.19 a ± 0.21 | 0.13 | 1.08 a ± 0.18 | 0.03 |
| GCT | 2.70 b ± 1.99 | 0.20 | 3.51 a ± 0.76 | 0.04 | 3.92 a ± 0.76 | 0.16 |
| ACET | 21.43 c ± 15.78 | 0.18 | 27.42 b ± 4.93 | 0.05 | 29.81 ab ± 5.00 | 0.14 |
| ALCET | 14.54 b ± 10.47 | 0.44 | 21.69 a ± 2.47 | 0.17 | 21.26 a ± 2.75 | 0.19 |
| GFAECT | 2.96 c ± 2.20 | 0.30 | 5.48 a ± 1.01 | 0.30 | 4.21 b ± 0.88 | 0.00 |
| GPFV | 2.68 b ± 2.17 | 0.20 | 4.16 a ± 0.90 | 0.25 | 3.16 b ± 0.83 | 0.05 |
| NEVEHVT | 1.36 b ± 0.99 | 0.26 | 2.08 a ± 0.27 | 0.13 | 2.07 a ± 0.27 | 0.13 |
| DVXHVT | 132.54 c ± 37.55 | 0.00 | 136.82 ab ± 32.72 | 0.04 | 125.82 b ± 31.96 | 0.04 |
| ACEXRA | 45.77 a ± 10.11 | 0.00 | 49.77 bc ± 10.37 | 0.08 | 42.69 b ± 9.96 | 0.07 |
| ANCEXRA | 31.26 bc ± 6.46 | 0.03 | 37.50 ab ± 6.80 | 0.20 | 28.10 c ± 6.06 | 0.13 |
| GPPEXRA | 5.13 b ± 4.28 | 0.21 | 7.29 a ± 2.53 | 0.12 | 7.13 a ± 2.71 | 0.10 |
| DVMRA | 31.79 b ± 25.62 | 0.24 | 62.73 a ± 13.12 | 0.49 | 31.86 b ± 13.99 | 0.24 |
| ACERS | 56.01 a ± 7.08 | 0.04 | 48.52 b ± 9.30 | 0.10 | 57.01 a ± 13.45 | 0.06 |
| ANCERS | 41.58 ab ± 8.85 | 0.02 | 40.98 b ± 9.23 | 0.00 | 40.02 b ± 7.39 | 0.02 |
| GPPECES | 5.17 b ± 2.71 | 0.11 | 7.65 a ± 5.50 | 0.31 | 4.62 b ± 1.44 | 0.20 |

| | | | | | | |
|-------|-------------------|------|--------------------|------|-------------------|------|
| DVMRS | 49.68 a ± 7.67 | 0.09 | 61.76 a ± 13.79 | 0.12 | 52.56 b ± 7.84 | 0.03 |
|-------|-------------------|------|--------------------|------|-------------------|------|

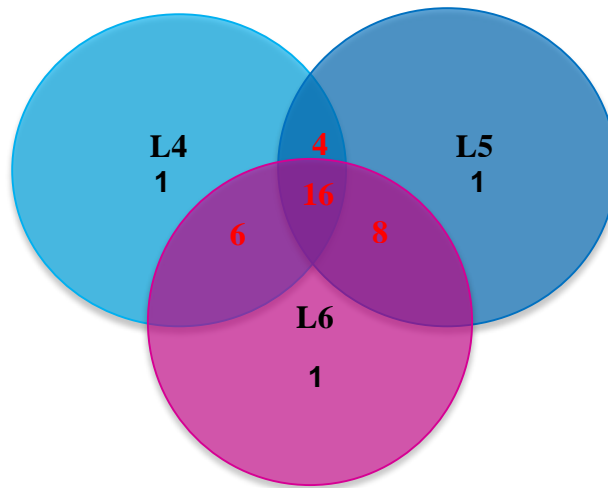


Figura 16. Diagrama de Venn en donde se sintetiza la variación dentro del genotipo G-VI (plasticidad fenotípica) denotando tanto el número de caracteres que distinguen a las localidades (1) como también de aquellos que presentan constancia al compararlas (valores en rojo).

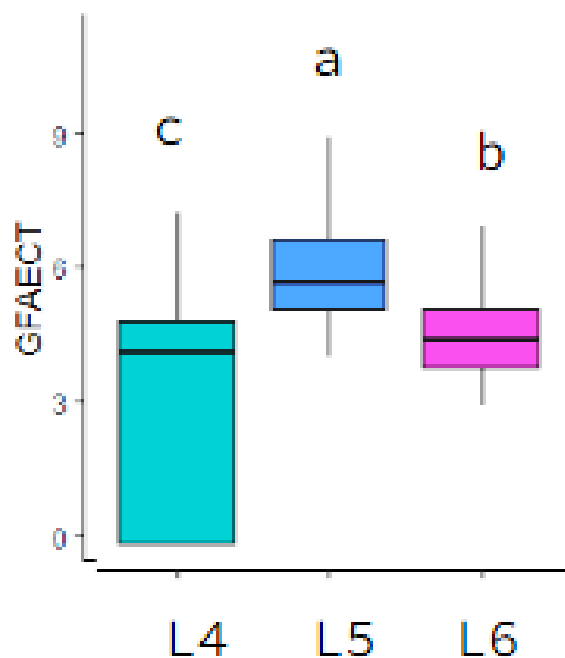


Figura 17. Diagramas de caja-bigote en donde se observan los caracteres del genotipo G-VI que presentan diferencias significativas dentro de las localidades estudiadas.

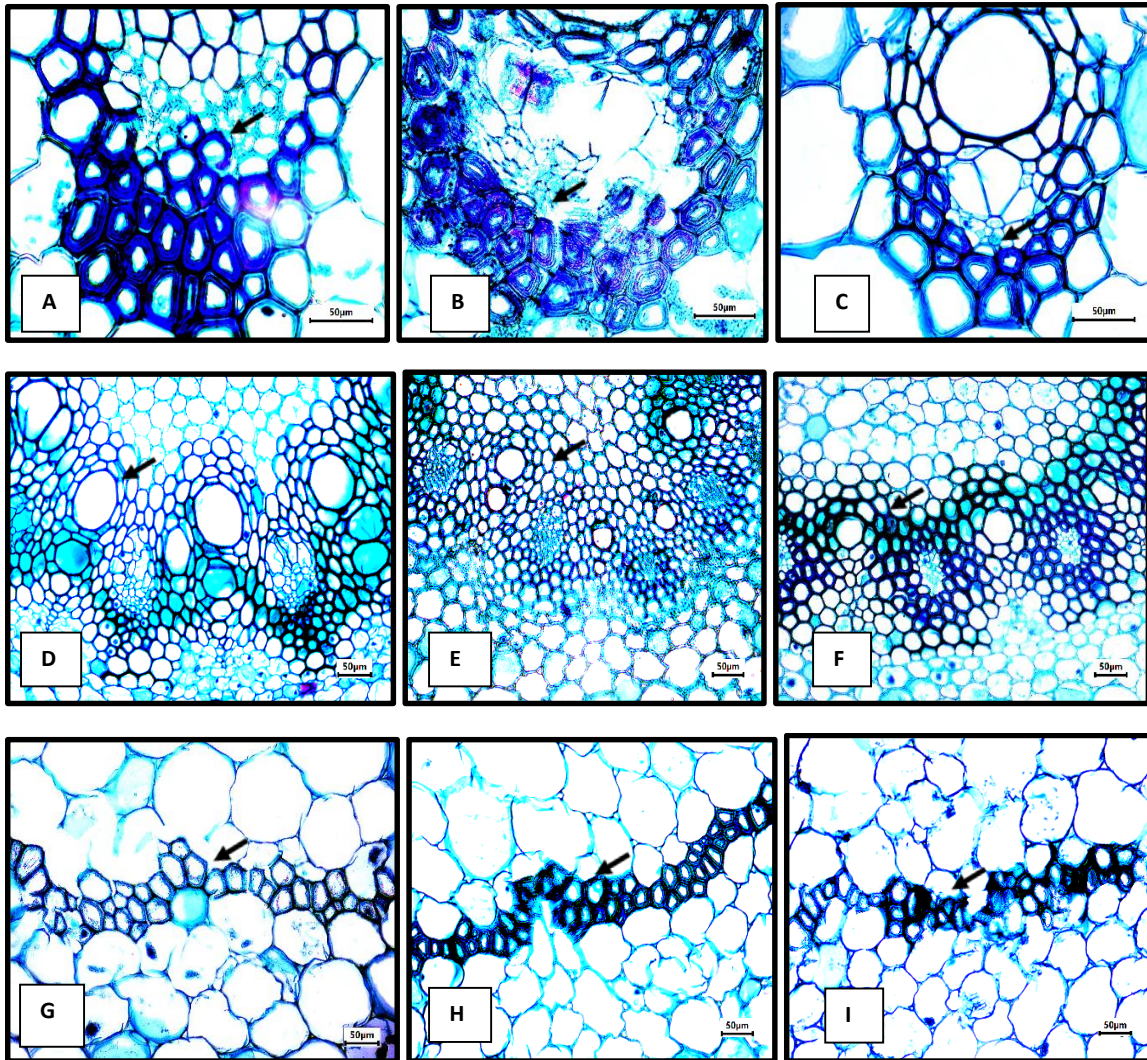


Figura 18. *Vanilla planifolia*. A-F. Sección transversal. Diferencias dentro del genotipo G-I. Columna izquierda Pantepec, Puebla. Columna central Papantla, Veracruz. Columna derecha Pantepec, Puebla. A-C. Grosor de pared de fibras en haces del tallo (Flechas). D-F. Diámetro tangencial de vasos de metaxilema en raíz aérea. (Flechas). G-I. Diferencias dentro del genotipo G-VI. Columna izquierda Papantla, Veracruz. Columna central Papantla, Veracruz. Columna derecha Puntilla Aldama. G-I. Grosor de banda de esclerénquima en córtex del tallo (Flechas).

8.5 Análisis de Discriminante Canónico (ADC).

A partir de lo obtenido en ADC se determinó que las tres primeras funciones canónicas representan el 94% (Tabla 8). Tanto los valores propios, así como también los valores de representación canónica fueron muy altos (cerca de 1), esto nos indica que los parámetros evaluados tienen una gran importancia en relación con la discriminación de los grupos. Por otra parte, el valor de Lambda Wilks es bajo ($\lambda = 0.00001$), teniendo un valor F igual a ($P \leq 0.05$), lo que indica que los valores entre las localidades de cada genotipo se distribuyen independientemente dentro de nubes de puntos (Figura 19).

Se encontró que ambos genotipos estudiados están separados espacialmente en la Figura 18, en donde las localidades del genotipo G-I son las nubes rojas y las del genotipo G-VI son las nubes azules, sin embargo, las localidades del genotipo G-VI tienen un mayor acercamiento entre sí, con respecto a las de G-I, ya que éstas últimas están más separadas entre sí.

El eje canónico 1 explica el 57.15% de la variación. Hacia la derecha de este eje podemos observar que se ubican los individuos distribuidos de la localidad L2 correspondientes al genotipo G-I los cuales poseen, un menor índice estomático en la lámina (IEL), un mayor número de estratos en la vaina de esclerénquima de los haces pequeños del esclerénquima (NEVEHPE) y una pared gruesa en las fibras de la vaina de esclerénquima en los haces vasculares del tallo (GPFV). Mientras que en el lado izquierdo de este mismo eje canónico se observa que los individuos de la localidad L3 comprendiendo nuevamente al genotipo G-I tiene un mayor índice estomático en la lámina (IEL), menos estratos en la vaina de esclerénquima en los haces pequeños (NEVEHPE), mientras que las paredes de las fibras de la vaina de esclerénquima en haces vasculares del tallo son más delgadas (GPFV: Figura 20).

En la parte superior del eje canónico 2 en la parte superior de la figura 19 podemos observar que los tres individuos de la localidad L3 los cuales comprenden al genotipo G-I presentan mayor grosor en la cutícula adaxial de la lámina (GCADL), y del tallo (GCT) y poseen más estratos en la vaina de esclerénquima en los haces medianos de la lámina (NEVEHME). Hacia el extremo inferior de este mismo eje canónico se ubican los individuos de la localidad L4 del genotipo G-VI con cutícula adaxial de las láminas y del tallo más delgadas (GCADL/GCT) y menos estratos en la vaina de esclerénquima en los haces medianos (NEVEHME: Figura 20).

Para finalizar dentro del eje canónico 3 (no incluido en la figura 19) hacia el extremo positivo se ubican las localidades L2 y L3 del genotipo G-I poseen más estratos en la vaina de esclerénquima en los haces vasculares pequeños (NEVEHPE) y una pared de fibras floemáticas más gruesa en el haz marginal (GPFHMA), ambos caracteres en la lámina (Tabla 9).

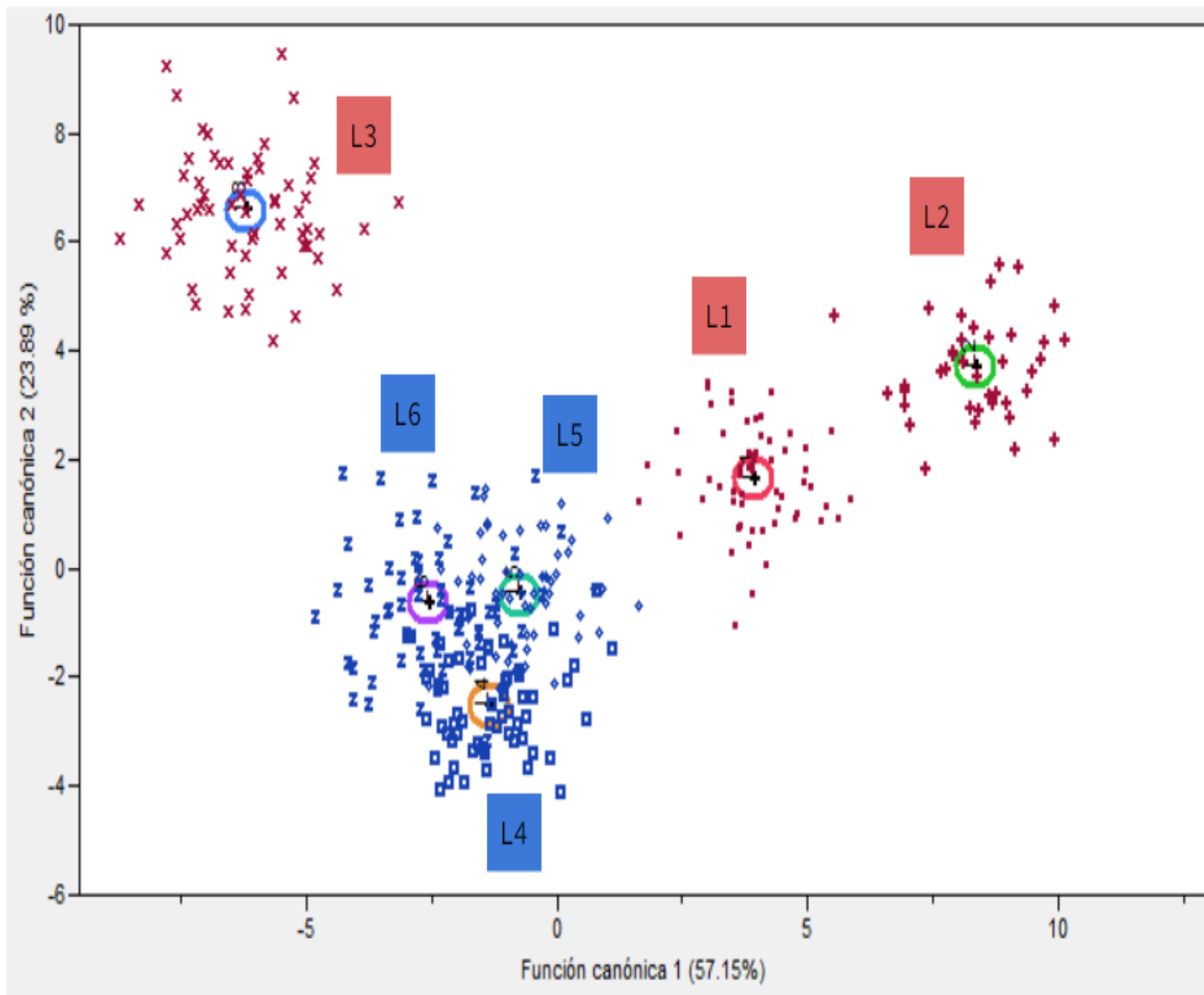
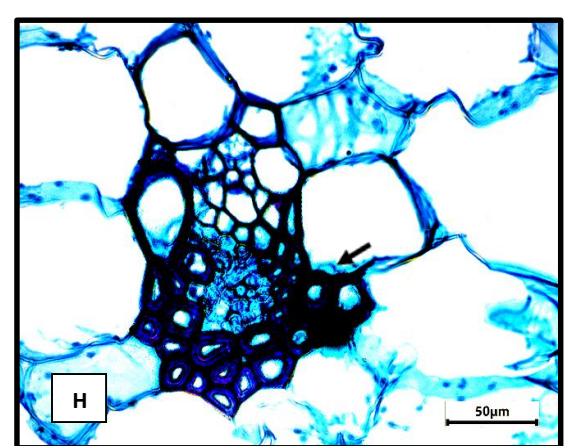
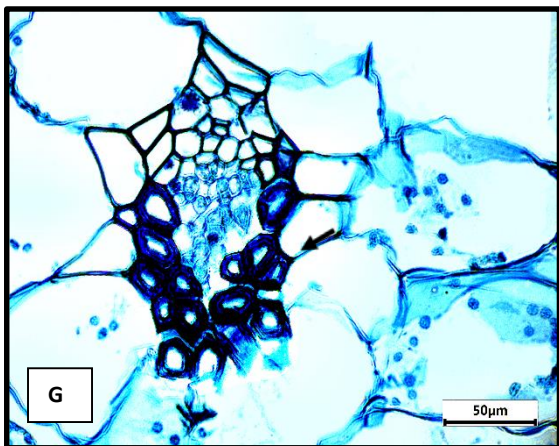
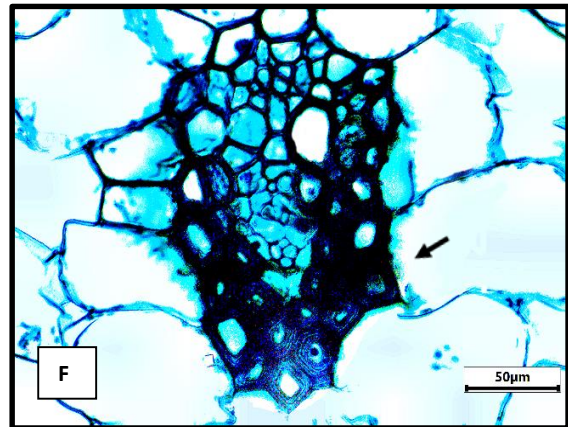
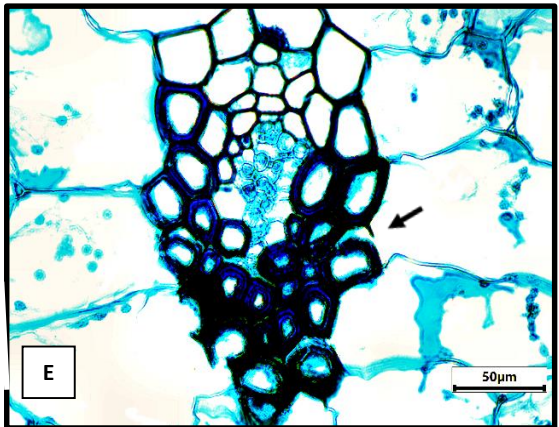
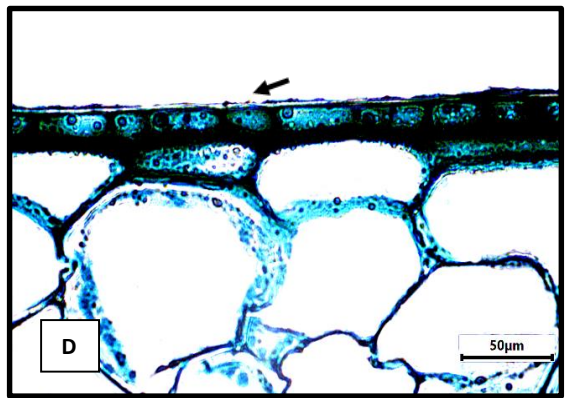
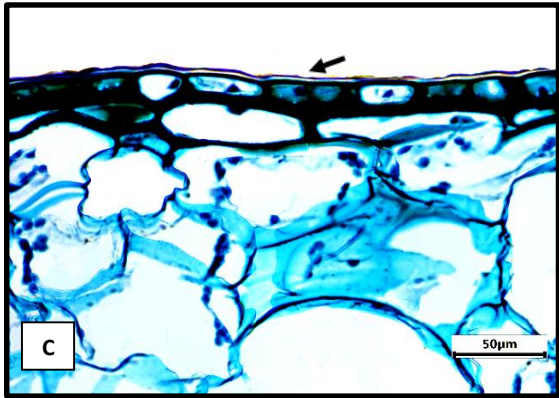
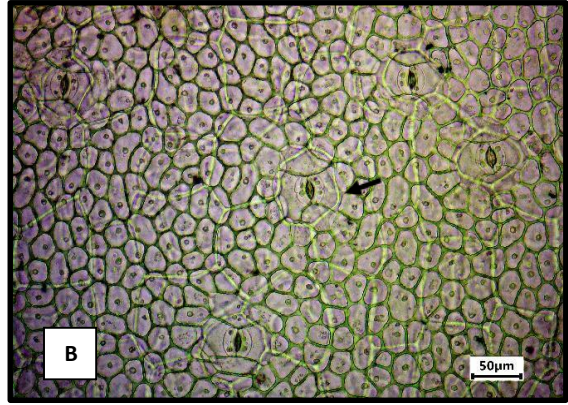
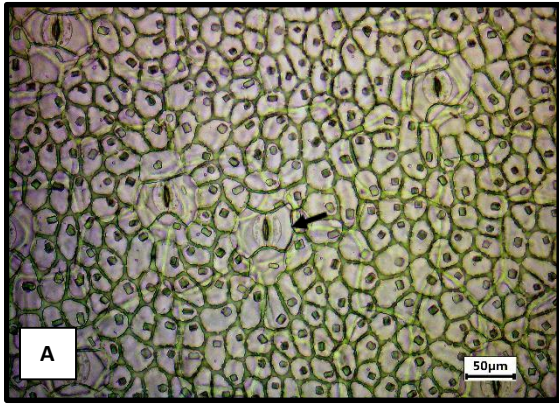


Figura 19. Diagrama de dispersión de puntos en el espacio bidimensional de análisis de discriminante canónico de 35 caracteres cuantitativos evaluados por cada uno de los genotipos. Genotipo G-I (rojo) L1 (■), L2 (+) y L3(×) y genotipo G-VI (azul) L4(□), L5(◇) y L6(Z).



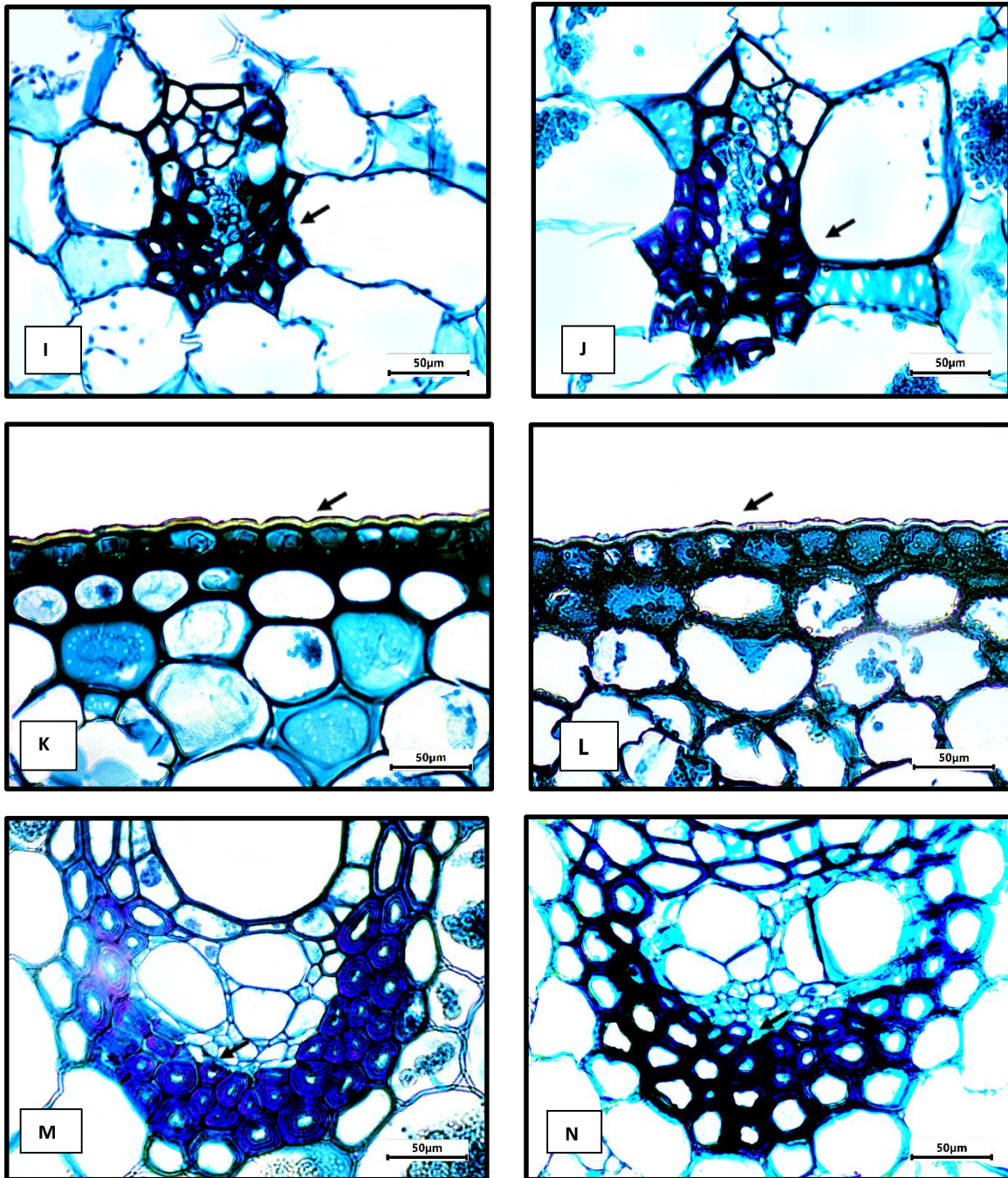


Figura 20. *Vanilla planifolia*. Comparación entre genotipos (columna izquierda G-I, columna derecha G-VI). A-B. Vista superficial, índice estomático de la lámina (Flechas). C-N. Sección transversal. C-D. Grosor de cutícula adaxial (Flechas). E-F. Número de estratos de vaina de esclerénquima en haces medianos (Flechas). G-H. Número de estratos de vaina de esclerénquima en haces pequeños (Flechas). I-J. Grosor de paredes de fibras floemáticas en haz marginal (Flechas). K-L. Grosor de cutícula de tallo (Flechas). M-N. Grosor de pared de fibras en haces vasculares del tallo (Flechas).

Tabla 8. Resumen del análisis de discriminante canónico (ADC), de los 35 caracteres anatómicos cuantitativos evaluados por cada genotipo de *Vanilla planifolia*.

| Función canónica | Valores propios | Porcentaje | Porcentaje acumulado | Correlación canónica |
|------------------|-----------------|------------|----------------------|----------------------|
| 1 | 22.36 | 57.15 | 57.15 | 0.98 |
| 2 | 9.34 | 23.89 | 81.03 | 0.95 |
| 3 | 5.07 | 12.97 | 94.00 | 0.91 |

Tabla 9. Representatividad de los 35 caracteres anatómicos evaluados de los dos genotipos (G-I y G-VI) de *Vanilla planifolia* en cada una de las 3 primeras funciones canónicas del análisis de discriminante canónico. En negritas los caracteres de mayor peso.

| Carácter | Función canónica 1 | Función canónica 2 | Función canónica 3 |
|----------|--------------------|--------------------|--------------------|
| ACEADL | 0.00 | -0.00 | -0.00 |
| ACEABL | 0.00 | -0.00 | 0.00 |
| LCOL | 0.00 | -0.09 | 0.16 |
| IEL | -0.60 | -0.19 | -0.41 |
| GCML | -0.07 | -0.06 | -0.13 |
| GCADL | -0.43 | -0.68 | 0.19 |
| ANCEAD | -0.00 | 0.00 | 0.01 |
| ACEAD | -0.17 | 0.05 | -0.11 |
| GCAD | -0.40 | 0.45 | 0.13 |
| ACEAB | -0.00 | 0.00 | -0.04 |
| ALCEAB | -0.14 | 0.08 | -0.17 |
| NEVEHME | 0.04 | -0.73 | -0.19 |
| GPFHPE | 0.04 | -0.28 | 0.16 |
| NEVEHPE | -0.48 | 0.16 | 0.66 |
| GPFHME | 0.16 | -0.08 | 0.43 |
| GPFHMA | 0.32 | -0.48 | -0.57 |
| DVHMA | 0.02 | 0.00 | -0.01 |

| | | | |
|---------|-------------|-------------|-------|
| ACT | 0.00 | -0.00 | -0.00 |
| LCOT | 0.01 | -0.02 | 0.05 |
| IET | 0.00 | 0.20 | -0.03 |
| GCT | -0.20 | 0.52 | 0.00 |
| ACET | 0.02 | -0.09 | -0.00 |
| ALCET | -0.01 | 0.08 | -0.0 |
| GFAECT | 0.43 | 0.23 | 0.14 |
| GPV | 0.62 | 0.32 | 0.14 |
| NEVEHVT | -0.30 | -0.27 | 0.41 |
| DVXHVT | -0.00 | -0.00 | 0.01 |
| ACEXRA | 0.01 | -0.00 | -0.03 |
| ANCEXRA | -0.03 | 0.00 | -0.02 |
| GPPEXRA | -0.40 | -0.00 | -0.14 |
| DVMRA | 0.03 | 0.00 | 0.04 |
| ACERS | 0.00 | 0.02 | -0.02 |
| ANCERS | 0.00 | 0.01 | -0.00 |
| GPPECES | -0.20 | 0.13 | 0.07 |
| DVMRS | 0.02 | 0.04 | 0.01 |

8.6 Análisis de correlación de caracteres.

8.6.1. Visualización con heatmap o mapa de calor.

Para los 35 caracteres de las tres localidades de cada genotipo se calculó su distancia euclidiana con varianzas normalizadas, se representa el gráfico de heatmap en donde es posible observar la agrupación de estos caracteres anatómicos (Figura 21). Es posible observar la agrupación de caracteres anatómicos en cada uno de los genotipos G-I y G-VI. Existen dos grupos: A y B, en el primer grupo, tenemos dos subgrupos: A1 con 20 caracteres y A2 con 12 caracteres. Dentro del subconjunto A1, se observan dos agrupaciones. La primera incluye: índice estomático de la lámina (IEL) y del tallo (IET), número de estratos en la vaina de esclerénquima de haces medianos y pequeños (NEVEHME/NEVEHPE), número de estratos de la vaina de esclerénquima de haces vasculares del tallo (NEVEHVT), grosor de pared de fibras del floema en haces pequeños, medianos y los del margen de la hoja (GPFFHPE/GPFFHME/GPFFHMA), grosor de cutícula adaxial y abaxial de la lámina y del tallo (GCADL/GCABL/GCT). En la

segunda agrupación de este mismo subconjunto se incluyen: altura de las células epidérmicas abaxiales y adaxiales de la lámina y del tallo (ALCEAB/ACEAD/ALCET). Por otro lado, dentro del subconjunto A2 se agrupan: la longitud de células oclusivas en la lámina (LCOL) y tallo (LCOT), ancho de las células de la exodermis en raíz aérea (ANCEXRA), y subterránea (ANCERS), ancho de células epidérmicas abaxiales y adaxiales de la hoja (ACEAB/ANCEAD) y del tallo (ACET), altura de las células de la exodermis en raíz aérea y subterránea (ACEXRA/ACERS), diámetro de los vasos del metaxilema en la raíz subterránea y aérea (DVMRS/DVMRA) y diámetro de los vasos en el haz marginal de la hoja (DVHMA). Por otra parte, en el interior del grupo B se puede observar la relación de tres caracteres: área de células epidérmicas abaxiales y adaxiales (ACEABL/ACEADL) y área de células epidérmicas del tallo (ACT).

En relación a la agrupación de las localidades de los dos genotipos, se puede apreciar que la primera agrupación es entre la localidad L1 del genotipo G-I (Ejido los Mangos de Pantepec, Puebla) y la localidad L4 del genotipo G-VI (Rancho 20 Soles en Papantla de Ocampo, Veracruz) y estas dos localidades con la localidad L5 del genotipo G-VI (Ejido 1° de mayo, Papantla de Ocampo Veracruz). Por otro lado, se observa una agrupación entre la localidad L6 del genotipo G-VI (Puntilla Aldama, San Rafael, Veracruz) con la localidad L2 del genotipo G-I (Rancho 20 Soles en Papantla de Ocampo, Veracruz) y estos dos se relacionan con las tres localidades anteriores. Finalmente, la localidad L3 del genotipo G-I (Ejido los Álamos de Pantepec, Puebla) es la localidad que presenta una menor correlación con el resto de las localidades.

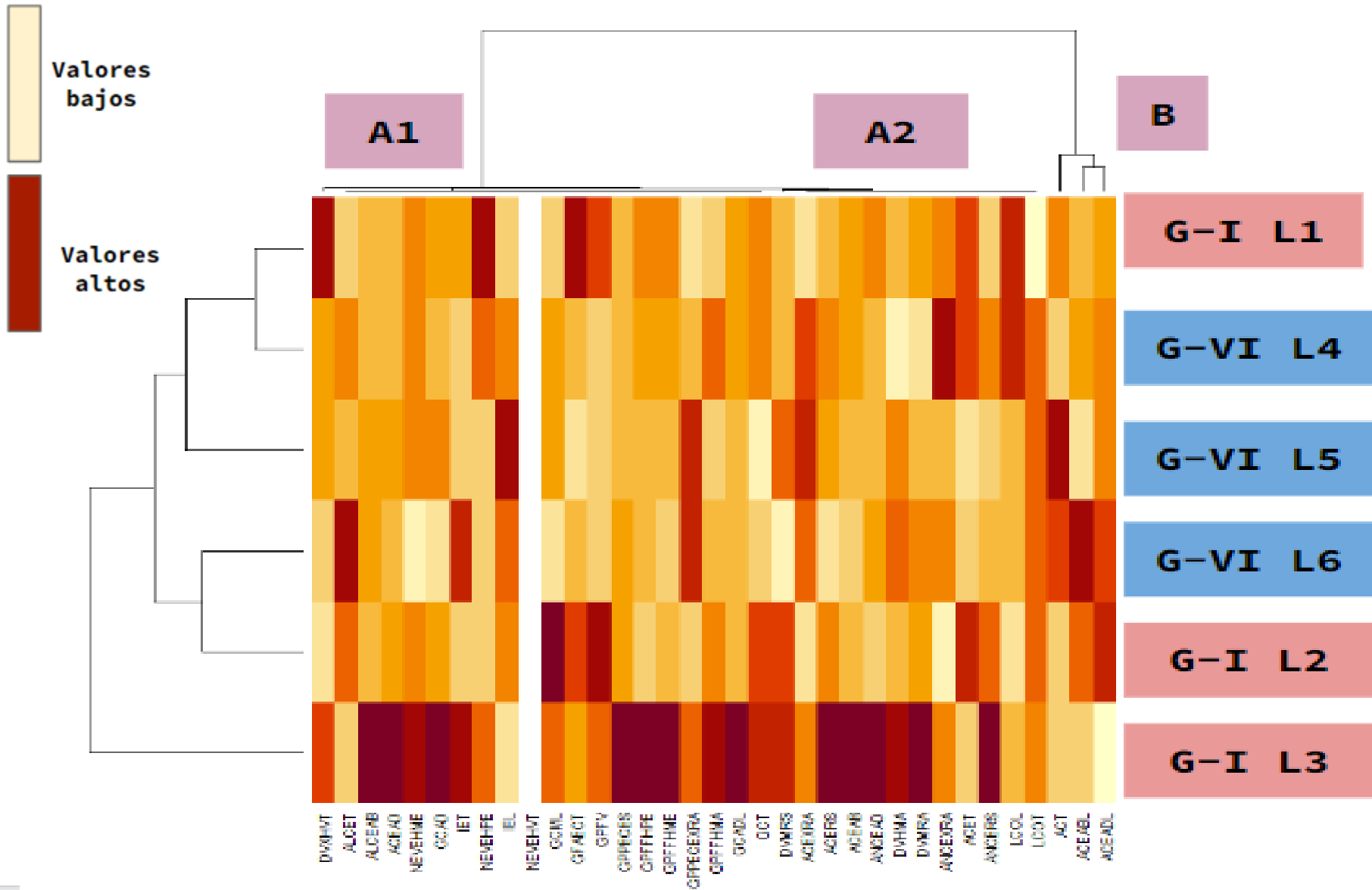


Figura 21. Heatmap de 35 caracteres anatómicos evaluados para cada una de las localidades de los genotipos G-I y G-VI de *Vanilla planifolia*.

8.6.2 Correlación de Pearson entre caracteres anatómico-vegetativos en genotipos de *Vanilla planifolia*.

Se realizó un análisis de correlación de Pearson con la finalidad de conocer si los caracteres anatómico- vegetativos entre los genotipos G-I y G-VI, y dentro de cada uno de ellos correspondientes a *V. planifolia* están correlacionados entre sí.

Tabla 10. Correlaciones mayormente significativas en los dos niveles de comparación con $r \geq 0.80$.

| Pares de caracteres correlacionados | Valor de r | Nivel de comparación | Órgano involucrado | Tejido involucrado |
|-------------------------------------|--------------|----------------------|--------------------|-----------------------|
| GPFFHME/GPFFHPE | 0.90 | Entre genotipos | Hoja | Dérmico |
| ALCEAB/ACEAD | 0.85 | | | Vascular |
| GFAECT/GPFV | 0.80 | | Tallo | Fundamental/ Vascular |
| GPFFHPE/GPFFHME | 0.91 | Dentro de G-I | Hoja | Dérmico |
| ALCEAB/ ACEAD | 0.87 | | | Vascular |
| ALCET/NEVEHVT | 0.89 | Dentro de G-VI | Tallo | Dérmico/Vascular |
| ACET/ALCET | 0.88 | | | Dérmico |
| ALCET/DVXHVT | 0.83 | | | Dérmico/Vascular |
| ACET/DVXHVT | 0.83 | | | Dérmico/Vascular |
| ACET/NEVEHVT | 0.83 | | | Dérmico/Vascular |
| ACET/GCT | 0.82 | | | Dérmico |
| ALCET/GFAECT | 0.82 | | | Dérmico/ Fundamental |
| ALCET/GCT | 0.80 | | | Dérmico |

| | | | | |
|-------------|------|--|--|----------------------|
| GPFV/GFAECT | 0.80 | | | Vascular/Fundamental |
|-------------|------|--|--|----------------------|

A continuación, en las figuras 22, 23 y 24 se muestra gráficamente las correlaciones establecidas para la comparación entre ambos genotipos y dentro de cada uno de estos, comprendiendo un total de 17 caracteres positivamente correlacionados, es decir, aquellos que tuvieron $r \geq 0.50$.

Figura 22. Correlaciones de Pearson de caracteres anatómico- vegetativos de *V. planifolia* en genotipos G-I y G-VI. Cada color identifica el tipo de relación. La intensidad de color indica una mayor correlación: tonos fuertes, correlación cercana a 1, positiva (azul), correlación cercana a -1, negativa (rojo).

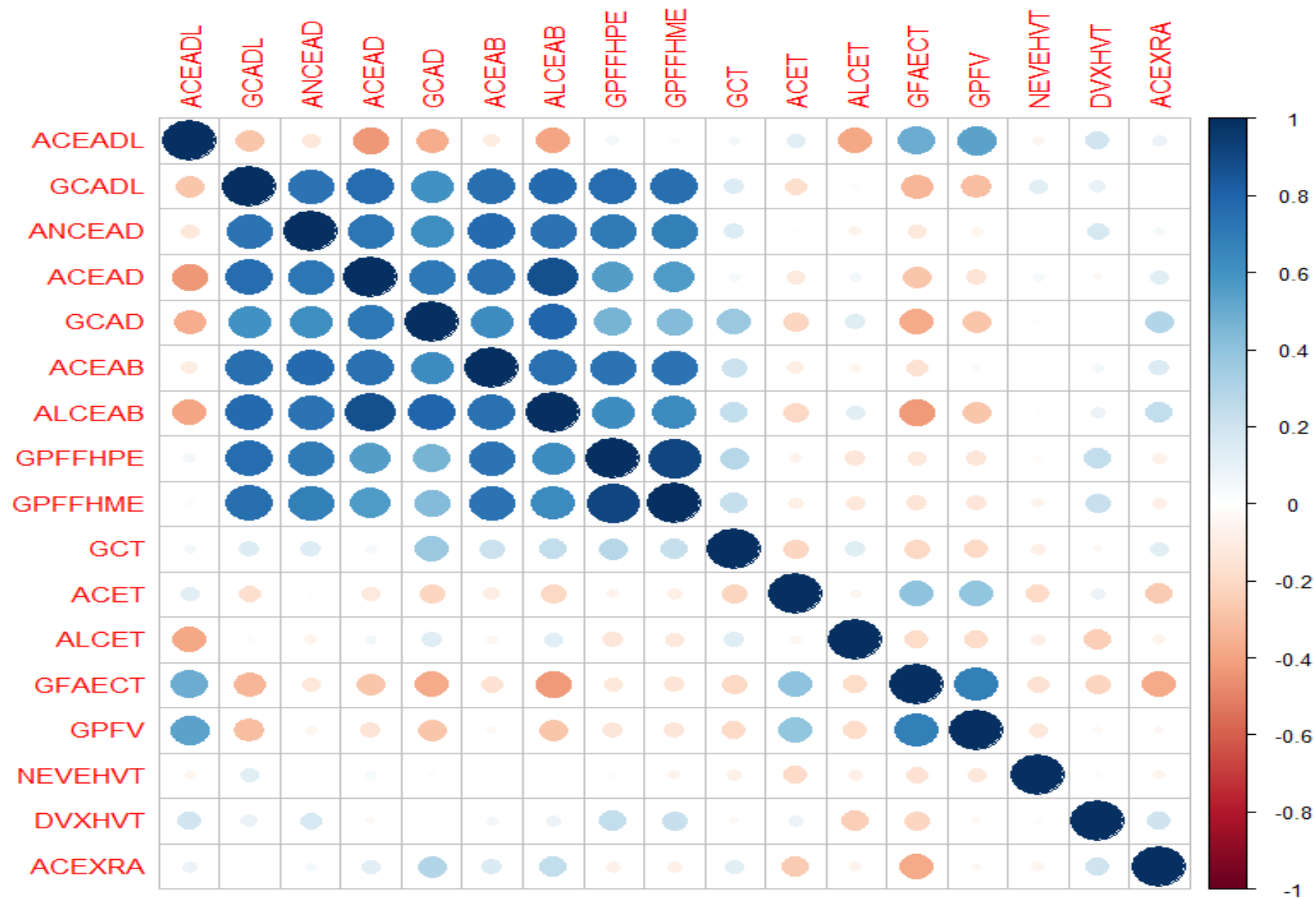


Figura 23. Correlaciones de Pearson de caracteres anatómico- vegetativos de *V. planifolia* en el genotipo G-I. Cada color identifica el tipo de relación. La intensidad de color indica una mayor correlación: tonos fuertes, correlación cercana a 1, positiva (azul), correlación cercana a -1, negativa (rojo).

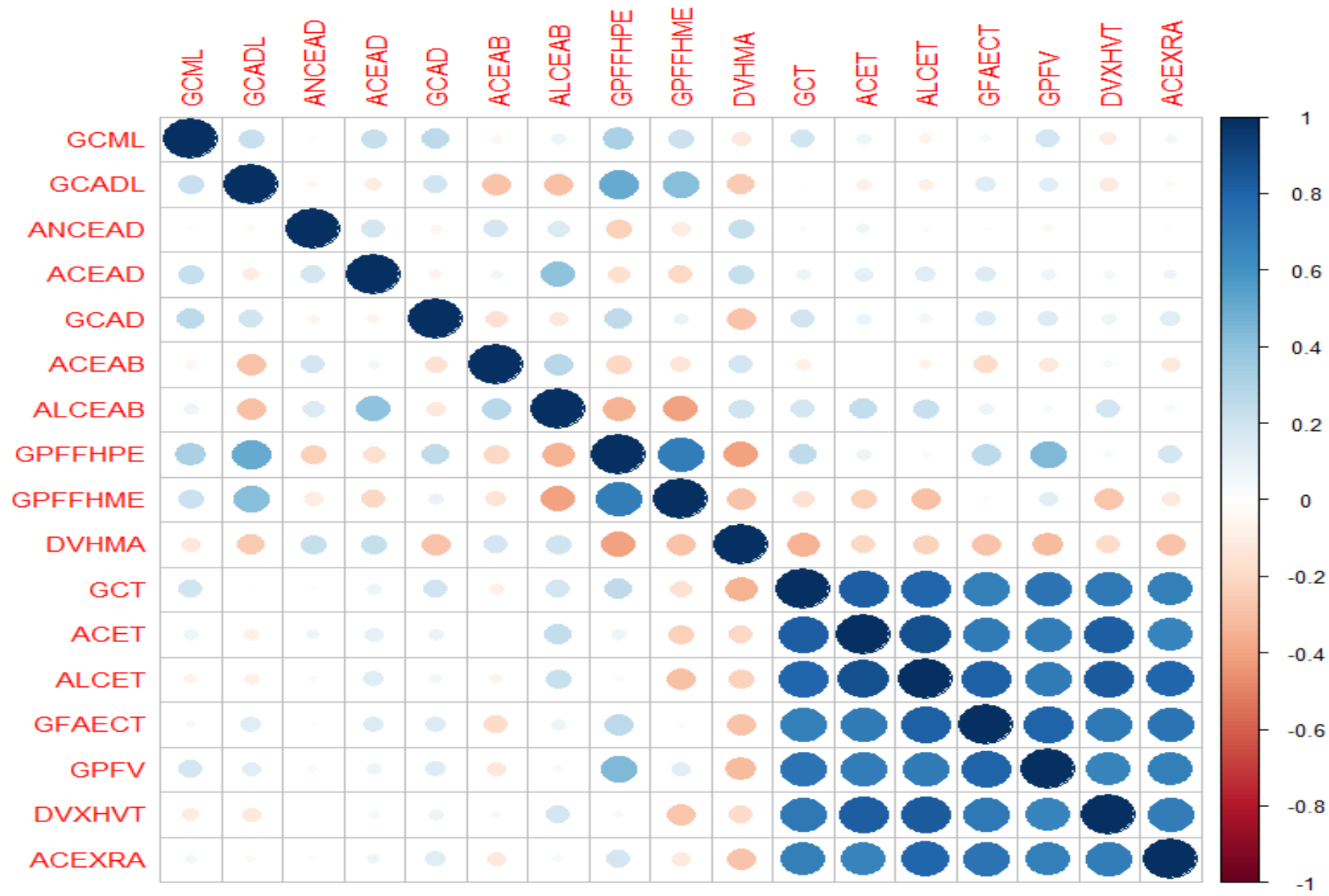


Figura 24. Correlaciones de Pearson de caracteres anatómico- vegetativos de *V. planifolia* en el genotipo G-VI. Cada color identifica el tipo de relación. La intensidad de color indica una mayor correlación: tonos fuertes, correlación cercana a 1, positiva (azul), correlación cercana a -1, negativa (rojo).

9. DISCUSIÓN.

A lo largo del presente escrito se estudiaron parámetros anatómicos de tipo vegetativos de los dos genotipos distintos de *V. planifolia*. Uno de dichas estructuras es la hoja en donde se observaron células epidérmicas poligonal alargadas y algunas isodiamétricas, ambas caras con rebordes curvados y paredes anticlinales delgadas, tal y como se reportó por Martínez- Quezada y colaboradores (2016).

Con respecto a su distribución se observó un arreglo aleatorio en ambas epidermis, corroborado por Nayar y colaboradores (1976) y Baruah y Saikia (2002), por lo que se puede considerar un carácter común dentro de la especie.

Los estomas se localizan en la superficie abaxial de la lámina, siendo por lo tanto hipostomática, concordando con los hallazgos de Martínez- Quezada y colaboradores (2016). Este comportamiento también se observa en otras especies como *V. wightii* Lindl. ex Wight (Nayar *et al.*, 1976) y grupos como Cyripedioideae y Epidendroideae (Arévalo *et al.*, 2011), considerada una característica primitiva no sólo en Orchidaceae sino también en otras plantas (Camargo, 2009). Ortiz-Cruz y colaboradores (2021) afirman que esta condición está ligada con la poca capacidad de retención de agua.

Los estomas son tetracíclicos, donde Nayar y colaboradores (1976) resaltan su importancia para diferenciar grupos dentro Orchidaceae, en particular Stebbins y Klush (2014) definen que dicha condición está relacionado con la forma de la hoja, asociándolo a las de tipo elípticas. Algunos autores como Sandoval-Zapotitla y colaboradores (2010b) ratifican que este parámetro tiene un gran peso en la taxonomía y en la filogenia de esta familia. Desde un punto de vista fisiológico, los estomas reducen la pérdida de agua, conservando así la succulencia (Zotz, 2016).

El valor de la longitud de las células oclusivas e índice estomático varían con respecto a varios estudios, mientras que en el de Martínez- Quezada y colaboradores (2016) ambos parámetros coinciden con el presente escrito, autores como Stern y Judd (1999) reportan valores superiores (48 μm para este primero y 3 a 4.40 para el índice estomático).

En esta última característica no se menciona la región específica donde se midieron estos valores, ya que Bird y Gray (2003) afirman que el número de estomas por mm^2 varía en diferentes partes de la hoja, registrándose en *Cymbidium*, por lo que podrían existir inconsistencias al momento de reportar (García-Gaytán *et al.*, 2013).

En cuanto a las secciones transversales de la hoja se observó una cutícula lisa y delgada en ambas caras de la epidermis, no obstante, resultó ser mayor en la epidermis adaxial (3.06 a 4.21 μm) que en la abaxial (1.98 a 2.46 μm) coincidiendo con lo reportado por Stern y Judd (1999)

donde la primera comprende valores entre 2.5 y 5 μm , mientras en esta última los valores son menores a 2.5 μm .

A nivel del margen la cutícula fue gruesa ya que se registran datos que varían desde 8.79 a 9.36 μm . De acuerdo con varios autores como Dickinson, (2000) y Ortiz- Cruz y Morales (2018). Esto probablemente juega un papel importante para enfrentar el estrés biótico y abiótico. Sin embargo esto está sujeto a discusión ya que *Plectrophora* H.Focke presenta una cutícula delgada a pesar de desarrollarse en ambientes xerófitos. Por ello Figueroa, (2007) sugiere que este carácter no es del todo informativo para deducir la adaptación de las orquídeas.

Respecto a la epidermis se observó que es de tipo uniestratificada continua para ambas epidermis y a nivel del margen. Otros autores que han estudiado *V. planifolia* mencionaron que tanto la parte adaxial como la abaxial poseen de dos a tres estratos (Baruah y Saikia, 2002), dicho resultado quizás se debió al considerar a los estratos de la hipodermis, por este motivo se presentaron errores dentro de la interpretación.

Las células epidérmicas son oblongas, con un ancho de 38.07 μm y un alto de 15.87 μm en la parte adaxial y un ancho de 28.76 μm y alto de 15.43 μm en la epidermis abaxial. Si bien Martínez- Quezada y colaboradores (2016) encontraron valores más alto para la misma especie, en otras como *Oncidium abortivum* Rchb. f., *Elleanthus obliganthus* Poepp & Endl. y *Stelis Swartz* se aproximaron a lo estimado en el presente (Arévalo *et al.*, 2011).

La pared periclinal externa de las células epidérmicas es delgada, mientras que la interna es gruesa, lo cual concuerda con lo dicho por (Stern y Judd 1999), por el contrario, Martínez-Quezada y colaboradores. (2016) afirman que las dos paredes están engrosadas, esto quizás se deba a la perspectiva visual del parámetro anatómico. Algunos autores como Zotz (2016) afirma que el engrosamiento de ambas está asociado con especies xerófitas.

Referente a los engrosamientos cuticulares en los estomas, se determinó que son muy reducidos pero evidentes, los cuales ayudan a conservar la humedad en los estomas y disminuir la evapotranspiración (Riverón *et al.*, 2017).

En relación al tejido fundamental se observó que existe una hipodermis tanto adaxial y abaxial uniestratificadas. En la sección abaxial fue continua y en la adaxial discontinua, lo cual no se había reportado para *V. planifolia*, por lo que el presente escrito aporta información adicional para entender sus posibles adaptaciones y procesos evolutivos, jugando un rol importante en la protección de los tejidos internos de la hoja como el mesófilo y los haces vasculares de la insolación.

El mesófilo es homogéneo y de tipo esponjoso con dos clases de células, las que se ubican cerca de la hipodermis son más pequeñas y oblongas, mientras que aquellas cercanas a los haces vasculares son más grandes e isodiamétricas. García-Gaytán y colaboradores (2013) consideran el grosor del mesófilo un parámetro para saber si las hojas son gruesas o delgadas y deducir las condiciones ambientales a las que crecen los individuos.

A nivel del mesófilo fueron evidentes espacios aéreos y cloroplastos. De acuerdo a Arévalo y colaboradores (2011) esta característica foliar se encuentra asociada a plantas con un metabolismo de tipo CAM, el cual ha sido considerado una adaptación fisiológica contra el déficit de agua, registrada en orquídeas epifitas de corteza como *Epidendrum excisum* Lindl., y de ramita *Rodriguezia lehmannii* Rchb.f.

Finalmente, referente al tejido vascular fue posible observar abundantes haces vasculares, distribuidos a lo ancho de la hoja y de tipo colateral. Cabe resaltar que los 3 tipos de haces no habían sido referidos para esta especie. En el caso de *Plectrophora* se hallaron de dos tipos, prevaleciendo en la parte media de la lámina (Figuroa, 2007). Mientras que en otras orquídeas como *Cattleya jenmanii* Rolfe y *C. lueddemanniana* Rchb. presentan de uno a dos tipos de acuerdo a Torres y Sanabria (2011), por lo que se puede concluir que esta condición es variable en Orchidaceae.

El grosor de la vaina de las fibras de esclerénquima tiene la función de conferir mayor resistencia mecánica a las hojas en caso de deshidratación, por lo que es una condición característica de hojas en ambientes xerófitos (Arévalo *et al.*, 2011). En el caso de *V. planifolia* es más gruesa a nivel de floema por lo que podría tratarse de una barrera de protección contra herbívoros evitando la succión de savia en el floema.

Dentro de la vista superficial del tallo se observó una epidermis cuyas células son poligonales, reportadas por Martínez- Quezada y colaboradores (2016): sin embargo, en el presente estudio se identificaron algunas isodiamétricas, también definidas en tallos de otras orquídeas tales como *Cochlioda noezliana* (Mast.) Rolfe y *Osmoglossum boothianum* Rchb.f. (Stern y Carlswald, 2006).

Las paredes anticlinales celulares fueron lineales y ligeramente gruesas (2.5 μm) tal y como lo observaron autores como Baruah y Saikia (2002) para la especie de estudio. Mientras que la organización celular es paralela al eje longitudinal del tallo, coincidiendo con los resultados de Martínez- Quezada y colaboradores (2016).

Los estomas son de tipo tetracítico cuyo arreglo fue aleatorio difiriendo a lo descrito por Martínez- Quezada y colaboradores (2016) quienes además afirmaron la presencia un arreglo en hileras asimismo, esto mismo se reporta en los estomas de *V. wightii*. Probablemente este arreglo se interpreta como distinto ya que los estomas estuvieron muy cercanos entre sí y esto pudo impedir el definir con claridad dicho patrón.

La longitud de las células oclusivas no se había analizado con anterioridad, por lo que es un dato complementario para la descripción de la especie. El valor de índice estomático cae dentro de los valores reportados por Martínez- Quezada y colaboradores (2016) (1.02 a 1.5) y por Baruah y Saika (2002) (1.17 a 2.07).

Ahora bien, hablando de la epidermis caulinar en sección transversal fue posible determinar una cutícula lisa con un grosor promedio de 4.12 μm , siendo superior a los encontrados en la epidermis de la lámina a nivel de la vena media, pero menor al del margen.

Las células epidérmicas son oblongas tangencialmente alargadas, en menor proporción prevalecen las isodiamétricas. Generalmente son más anchas (29.1 μm) que altas (21.42 μm), coincidiendo dentro de lo establecido por Martínez- Quezada y colaboradores (2016).

Por otro lado, los estomas son superficiales, siendo una condición adaptativa para las orquídeas expuestas a humedad constante y sombra (Figuroa, 2007). Sus rebordes cuticulares externos e internos son reducidos, con una cámara subestomática más pequeña que el resto de las células del mesófilo. De acuerdo con Metcalfe (1963) la reducción de la cámara desempeña un papel importante en la protección contra pérdida constante de agua y gases.

El tejido fundamental comprende una hipodermis uniestratificada con células oblongas tangencialmente alargadas. En adición a esto se puede afirmar que, en esta especie, tanto el tallo como la hoja son órganos vegetativos que almacenan nutrientes y agua en ausencia de pseudobulbos (Figueroa, 2007).

El córtex es homogéneo; sin embargo, hay dos regiones bien definidas, en ambas se pudo evidenciar una gran cantidad de cloroplastos, cuya función principal a nivel fisiológico es la fotosíntesis (Figueroa, 2007).

Prevalece una banda de esclerénquima casi a la mitad de cortex con uno a tres estratos celulares de forma poligonal y con paredes celulares de 5.45 μm anteriormente no reportados para esta especie. La presencia de esta banda podría jugar un papel importante respecto a la protección contra patógenos hacia el tejido vascular (Sandoval-Zapotitla, 2016).

Por último, dentro del tejido vascular en el tallo se encontró un estele atactostele, cuyos haces se organizaron en círculos concéntricos, característica descrita para las monocotiledóneas (Gifford y Foster, 1989). Al igual que en la hoja, los haces vasculares se dividieron en tres tipos de acuerdo a su tamaño y el número de estratos de su vaina de esclerénquima en xilema y floema. Dicho aspecto no se había registrado para la especie.

Respecto al tejido dérmico en la raíz aérea y subterránea se encontró un velamen multiestratificado con células rectangulares tangencialmente alargadas con paredes ligeramente engrosadas (2.5 μm), lo cual difiere con respecto a lo reportado por Baruah y Saika (2002) para la misma especie ya que exclusivamente se menciona un velamen uniestratificado, cuya explicación quizás esté ligada con la procedencia de las raíces.

Las células del velamen de *V. planifolia*, son isodiamétricas y en algunas ocasiones elípticas con paredes engrosadas. La presencia de dicha estructura ha permitido que las raíces en varios grupos de orquídeas epifitas eviten la pérdida de agua ya que la disponibilidad de este recurso es de difícil acceso a comparación de plantas que crecen sobre un sustrato rico en materia orgánica, es decir, hablando de plantas terrestres (Zotz, 2016).

Como parte del tejido fundamental, la pared externa de la exodermis es gruesa y lignificada, mientras que la interna es delgada, en consecuencia, dentro de la pared externa se forma un arco conformado por lignina y cuya función está ligada a la protección contra patógenos hacia el córtex (Ramírez *et al.*, 2016), evidenciado en *Encyclia cordigera* Hook. De igual manera ha aportado tolerancia hacia el estrés biótico a partir de la biosíntesis de metabolitos como PHS1 y PSH2, reportadas en *V. planifolia* (Miranda, 2021).

Las células de la exodermis son más altas y anchas en la raíz subterránea, lo cual se pueda deber a una mayor capacidad de almacenamiento de nutrientes puesto que esta raíz interacciona simbióticamente con hongos micorrízicos (Silva, 2010).

En la región central se pudieron apreciar numerosos espacios aéreos en algunas de las raíces, particularmente en las maduras. Por este motivo, es recomendable para futuros estudios tomar en cuenta el estado de madurez de las raíces para encontrar diferencias de expresión de caracteres.

Por último, el tejido vascular se encuentra organizado en un cilindro vascular, albergando un periciclo evidente en algunas raíces maduras, cuyas células son poligonales. El grosor de sus paredes no fue tomado en cuenta, no obstante, autores como Ramírez y colaboradores (2016), mencionan la importancia de un periciclo esclerificado para evitar un daño ante cierto tipo de plagas, como hongos e insectos, pero no solo esto, sino que también Rodrigues y Santana (2008) mencionan su importancia en relación a una rigidez estructural ante ambientes secos. En la parte interior del periciclo se apreciaron elementos asociados al xilema y floema organizándose en polos alternos, cuyo xilema es exarco, (Baruah y Saika, 2002). Hoy en día no existen estudios rigurosos acerca de la descripción anatómica detallada en la raíz de *V. planifolia*, por lo que este escrito podría ser una iniciativa para realizar estudios comparativos futuros con especies cercanas, además de comprender la relación existente entre los caracteres anatómicos y el entorno.

En relación a los contenidos celulares en cada órgano vegetativo podemos decir lo siguiente. En vista superficial de la lámina, se observó la presencia de cristales de oxalato de calcio. Sus estructuras fueron variables, no obstante, la forma prismática alargada fue la que predominó, algunos de ellos siendo solitarios y en ocasiones agrupados. Si bien ya fueron mencionados para *V. planifolia* (Martínez-Quezada *et al.*, 2016), en donde también se presentaron cristales amorfos y oblongos.

Su principal función está relacionada con la regulación de la salinidad en la planta, también son útiles como mecanismo de defensa contra la herbívora (Jauregui-Zúñiga; Moreno-Carcamo, 2004). Una contribución adicional es la presencia de estos cristales en varias hojas de *V. planifolia* correspondientes a la condición cercanamente a lo comercializado. Por otra parte, en el mesófilo de la hoja hubo cristales y también en la vena media.

En las células del mesófilo dichas estructuras están presentes, sin embargo, no son tan abundantes como en la epidermis, a este nivel son rafidios, los cuales no habían sido registrado en la especie. Autores como Carlswald y colaboradores (1997) afirman que su presencia, tipo y ubicación ayuda a la delimitación de grupos filogenéticos (Sandoval-Zapotitla *et al.*, 2010a).

A nivel del tallo, los cristales abundantes presentan forma prismática, cúbica e irregulares, siendo solitarios y agrupados, no obstante, en el trabajo de Martínez-Quezada y colaboradores (2016) se mencionan algunas otras formas como oblonga, redondeada e inclusive algunos amorfos.

Por otra parte, en sección transversal fue posible observar mayor abundancia de cristales en la epidermis que en cortex. A este último nivel se encontró una gran cantidad de gránulos de almidón de asimilación, cuya función está ligada con los procesos fotosintéticos, de asimilación del carbono para la diferenciación (Tofiño *et al.*, 2006).

Adicionalmente Loza- Cornejo y colaboradores (2007) afirman un aumento considerable de estas reservas del almidón en relación a la baja precipitación del sitio donde la planta se desarrolle, siendo extensamente abordado en *Mammillaria uncinata*.

Dentro de los contenidos celulares en la raíz aérea, se encontró a nivel del córtex numerosos pelotones de hifas de especies fúngicas, cuya identificación taxonómica no se ha llevado a cabo, sin embargo, no se descarta la posibilidad su ubicación en el filum Basidiomycota, ya

que se han reportado en las raíces de *V. planifolia*, permitiendo eficiencia de absorción de nutrientes como fósforo (P) y nitrógeno (N) (Smith y Read, 1997).

Autores como Silva (2010) menciona dos tipos principales de pelotones presentes dentro de las raíces de Orchidaceae, por ejemplo, pelotones intactos o pelotones digeridos, por lo que sería importante abordarlo en estas raíces.

A nivel del córtex, se observaron múltiples rafidios, los cuales no se habían registrado para este órgano vegetativo.

En la raíz subterránea, fue posible observar nuevamente varios pelotones de hifas en el parénquima, no obstante, a diferencia de la raíz aérea, dichas estructuras fúngicas se distribuyeron en solo algunos extremos de la raíz, lo que podría sugerir un almacenamiento de nutrientes exclusivamente en esas regiones. Al igual que en la raíz aérea, se apreciaron nuevamente rafidios, los cuales fueron más abundantes en la región periferia del parénquima, cercanamente a las células exodérmicas, protegiendo al tejido fundamental y vascular contra agentes patógenos infecciosos.

Variación entre los genotipos

De los caracteres que corresponden al tejido dérmico de la lámina, ocho presentaron diferencias significativas, no obstante, el índice estomático (IEL) y el grosor de la cutícula adaxial (GCADL) contribuyeron en un 81.04 % de la variación natural (Figura 13). Estos últimos resultados concuerdan con lo estipulado por Martínez-Quezada y colaboradores (2016) al comparar los mismos genotipos, pero también en otros géneros de orquídeas como *Pleurothallis* R.BR y *Elleanthus* (Arévalo, 2011)

Cabe resaltar que el índice estomático en la lámina ha sido útil para separar poblaciones de *Agave salmiana* subsp *salmiana* (Chávez-Güitrón *et al.*, 2019) y *Olea europea* L. (Guefel *et al.*, 2008).

La mayoría de los parámetros dérmicos tienen valores más altos en el genotipo G-I con excepción del área celular en ambas caras de la epidermis (ACEADL Y ACEBL) e índice estomático (IEL), lo que nos podría indicar que dentro de G-VI la posibilidad de captar luz es mayor al denotar mayor tamaño. De la misma manera, al tener mayor número de estomas la tasa de evapotranspiración aumenta.

De manera general, el tejido dérmico de la hoja actúa como un interfaz entre la planta y su entorno, explicando varios aspectos biológicos (Brown y Jordan, 2002).

En relación al tejido fundamental, no se tomaron parámetros cuantitativos, por lo que es importante que en futuras investigaciones se consideren algunos como: número de estratos de la hipodermis, alto y ancho de las células hipodérmicas e inclusive el grosor de sus paredes celulares mencionados por Sandoval-Zapotitla y colaboradores (2019)

Dentro del tejido vascular existen dos caracteres que presentan variación. Ambos corresponden al número de estratos de la vaina de esclerénquima en haces medianos y pequeños (NEVEHME y NEVEHPE), siendo lo más representativos para explicar un 81.04 % de la variación natural (Figura 13). Si bien Sandoval-Zapotitla y colaboradores (2016) reportaron sus funciones con

respecto a la eficiencia en el transporte de agua y protección contra agentes patógenos, en la actualidad no se había mostrado la significancia de estos parámetros para diferenciar a los genotipos.

En relación al tallo se encontró que en el tejido dérmico existen tres caracteres con variación, sin embargo, solamente el grosor de la cutícula (GCT) contribuye a explicar el 23.89% dentro del ADC. Los valores de este carácter son mayores en el genotipo G-I, coincidiendo con lo reportado por Martínez-Quezada y colaboradores (2016), lo que indica una mayor protección contra los rayos solares y disminución de la pérdida de agua por evapotranspiración.

Con respecto al tejido fundamental, sólo el grosor de la pared de la banda de esclerénquima en córtex (GFAECT) contribuyó a distinguir ambos genotipos, sin embargo, no es un parámetro indicativo dentro del ADC. Cabe resaltar que G-I presenta un mayor grosor, dando como resultado una mayor eficiencia en la protección de los haces vasculares en el tallo (Sandoval-Zapotitla, 2016).

Referente al tejido vascular, dos parámetros fueron variables, sin embargo sólo el grosor de la pared de fibras en vaina de esclerénquima en haces vasculares (GPFV) 23.89 % (Figura 13), fue significativo para distinguir genotipos mismo que no había sido registrado en la especie, donde G-I presenta los valores más altos, interpretando que el tejido vascular en las poblaciones de este genotipo se encuentran mayormente protegidas ante patógenos, corroborado por Sandoval-Zapotitla y colaboradores (2016).

Respecto a la raíz aérea y subterránea si bien existen caracteres que presentan diferencias significativas no tienen peso en la distinción de los genotipos, dando como resultado que dicho órgano vegetativo es el más conservado al compararlos. Se propone que en futuros estudios se deberían considerar algunos otros parámetros, como el número de estratos celulares en el velamen, alto y ancho de las células del velamen y número de estratos del parénquima, tal y como en el estudio de la raíz de *Encyclia cordigera* (Ramírez *et al.*, 2016).

Posiblemente este órgano vegetativo es el más conservado entre todos los genotipos de *V. planifolia*, por lo que se propone enfatizar el estudio comparativo en hoja y tallo. Esto último no solo se ha visto en esta especie, sino también en otras como, por ejemplo: *Camaridium wrightii* Lindl, *Stelis Swartz*, *Masdevallia walteria* Ruiz y Pav y *Lepanthes wendlandii* Rchb.F. (Orchidaceae) en donde se realizó una caracterización anatómica foliar y un análisis comparativo que permitió observar diferencias entre las especies y de qué manera los caracteres se encuentran relacionados con las condiciones ambientales donde crecen (Ortiz-Cruz *et al.*, 2021). A partir de esto Terrazas y Arias (2003) señalan la importancia de la anatomía foliar y caulinar de las especies vegetales para poder de esta manera distinguirlas en grupos independientes.

Variación dentro de genotipos

Por otro lado, hablando del genotipo G-I, en donde se manifiesta la plasticidad fenotípica. Fueron seis los caracteres que formaron tres grupos independientes correspondientes a sus localidades.

Tres de ellos corresponden al tejido dérmico de la lámina, y contribuyen con un 50% de la variación en este genotipo. Dos se definen como el área de las células epidérmicas adaxiales y abaxiales (ACEADL y ACEABL), mientras que el último fue el grosor de la cutícula adaxial (GCADL).

Si bien para esta variante es la primera vez que se reportan estos hallazgos, dentro de poblaciones vegetales que comprenden *Lupinus campestris* L, *Lupinus montanus* L (Fabaceae) Cantor del Ángel (2018), *Agave salmiana* subsp. *salmiana* Otto ex Salm- Dyck (Agavaceae) (Chávez-Güitrón *et al.*, 2019), *Alchemilla procumbens* Rose (Rosaceae), *Symphoricarpos microphyllus* (Jimenez- Noguiera *et al.*, 2017) se resalta la variabilidad a nivel poblacional de estos caracteres anatómico foliares.

Todos estos trabajos indican que estos parámetros no son condiciones diagnósticas en estos grupos denotando la plasticidad fenotípica, en donde las presiones selectivas del ambiente juegan un rol importante.

La mayoría de estos rasgos dérmicos son mayores en la localidad de El Ejido “Los Mangos”, Pantepec, Puebla y en Rancho “20 Soles”, Papantla de Ocampo, Veracruz. Considerando que todos ellos crecieron en un sistema de Malla sombra al 50%, lo que podría indicar que, bajo este sistema de cultivo, donde la radiación solar es reducida, con nutrientes limitados y periodos de sequías marcados, la presencia de células con área mayor y una cutícula gruesa podría permitir una mayor captación de radiación solar y menor pérdida de agua por evapotranspiración.

Se ha reportado que en algunas especies de orquídeas como *Cattleya Jemnmanii* ROLFE y *C. lueddemaniana* RCHB existe un engrosamiento de la cutícula foliar marcado al ser sometidas a un orquideario, donde prevalecieron altas temperaturas y baja tasa de humedad (Sanabria y Torres, 2010)

Por otra parte, en el tejido vascular de la lámina, el grosor de la pared de fibras de los haces vasculares pequeños (GPFHPE), permite diferenciar a las localidades en tres grupos, en donde los individuos del Ejido “Los Álamos”, Pantepec, Puebla posee valores más altos, lo que podría indicar eficiencia en el transporte de agua y una mayor protección contra patógenos.

Respecto al tejido vascular del tallo sólo el grosor de la pared de fibras de esclerénquima de haces vasculares (GPFV) resultó ser el único parámetro variable, determinando que el Ejido “Los Mangos”, Pantepec en Puebla y al Rancho “20 Soles”, Papantla de Ocampo en Veracruz, los valores son superiores, denotando una mayor protección del haz vascular contra patógenos, además de ofrecer soporte mecánico (Sandoval-Zapotitla *et al.*, 2016).

Por último, dentro del tejido vascular de la raíz aérea se estimó que el diámetro tangencial de vasos de metaxilema (DVMRA) fue donde se obtuvieron tres grupos diferenciados. El cual

desempeña su labor en la eficiencia de transporte de agua. Del mismo modo Sandoval-Zapotitla y colaboradores (2016) resaltan su relevancia en relación a la tolerancia bajo el déficit de agua. Dicha condición fue muy marcada en el Ejido “Los Álamos”, Pantepec, Puebla quizá por ser el sitio con mayor humedad.

De manera general se afirma que el Ejido “Los Álamos” en Pantepec, Puebla se caracterizó por presentar los valores más altos en veinte parámetros anatómicos. Probablemente debiéndose al sistema de manejo en tutores de árboles cítricos, además de una mayor disponibilidad de nutrientes y agua, descritos por Sandoval-Zapotitla y colaboradores (2016).

Contrariamente en el Ejido “Los Mangos” en Pantepec, Puebla con siete caracteres con valores altos y el Rancho “20 Soles” en Papantla de Ocampo, Veracruz con ocho caracteres. Siendo que el sistema de manejo fue de tipo malla-sombra con limitados nutrientes y agua, donde inclusive existe una estacionalidad de sequía muy marcada en el Ejido “Los Mangos” en Pantepec, Puebla.

Si bien estos resultados coinciden con lo reportado por Sandoval-Zapotitla y colaboradores (2016) para la misma especie, hasta hoy no se había enfatizado qué parámetros anatómicos se modificaban, explicando la plasticidad fenotípica de G-I

Respecto al genotipo G-VI se determinó que sólo el grosor de banda de esclerénquima en córtex (GFAECT) en el tallo, permite una clara diferenciación de las tres localidades en este genotipo. El cual no había sido abordado en estudios previos, por esta razón, sería interesante definir y comparar caracteres anatómicos adicionales ligados al tejido fundamental de este órgano.

Para este parámetro la localidad del Municipio 1° de mayo, Papantla de Ocampo Veracruz es la que concentra los valores más altos contando con un sistema de manejo Acahual, una altitud de 150 msnm, y abundancia de forofitos de relevancia económica (maíz).

El mayor grosor de esta banda en el córtex podría ser una ventaja al impedir el ataque de patógenos hacia el tejido vascular del tallo, siendo así una barrera de aislamiento para estos organismos.

Dentro del genotipo G-VI la localidad de Municipio 1 mayo, Papantla de Ocampo en Veracruz presentó los valores más altos en la mayoría de los caracteres, seguido de Rancho “20 Soles” en Papantla de Ocampo, Veracruz y por último la localidad Puntilla, Aldama, Veracruz.

Esto posiblemente se deba al sistema de manejo utilizado en esta localidad (malla-sombra) con tutores vivos. Basándonos en este estudio pareciera ser que existe una correlación entre el sistema malla sombra y parámetros anatómico- vegetativos con valores reducidos, aunque habría que realizar estudios aún más detallados para confirmarlo.

A partir de lo estimado se puede afirmar que la plasticidad fenotípica en este genotipo es mayormente representada por el tallo, correspondiendo al tejido fundamental seguido del dérmico, lo cual puede ser retomado en futuros estudios de índole comparativa.

Finalmente, es importante resaltar la validez de los estudios anatómicos dentro de los procesos de microevolución ya que no es suficiente el analizar únicamente parámetros morfológicos, dentro de los cuales no es posible distinguir dentro de los individuos que corresponden a un genotipo.

Correlaciones entre caracteres

Dentro de las agrupaciones más evidentes se encuentran integradas por diecisiete parámetros anatómicos conformados por los tejidos dérmico, fundamental y vascular, es decir, un 45.71 %, cuyo valor es $r \geq 0.50$, lo que indicaría su relevancia en este tipo de estudios, dando una idea de la adaptación particular dentro de esta especie.

Dentro de estas correlaciones resaltan aquellas con valores de $r \geq 0.80$ y están restringidas a la hoja y el tallo, donde están involucrados principalmente los tejidos dérmico y vascular. Cabe resaltar que la relación entre el alto de las células epidérmicas abaxiales y adaxiales (ALCEAB/ACEAD) junto con el grosor de pared de fibras de los haces pequeños y medianos (GPFHPE/GPFHME), ambos en la hoja, están correlacionados tanto entre genotipos como hacia dentro del genotipo G-I.

En cada uno de estos parámetros los valores son superiores en la localidad del Ejido “Los Álamos” en Pantepec, Puebla (L3), siendo evidente en el heatmap (Figura 21) debido a las tonalidades más oscuras. Sin embargo, el primer par corresponde al tejido dérmico y el segundo al vascular, siendo predecibles debido a su procedencia en común.

Si bien Castellanos (2020) reportó el primer par como una correlación positiva en *Laelia* spp (Orchidaceae), ésta no fue significativamente alta ($r=0.20$), indicando que sus tejidos operan como sistemas biológicos diferentes.

Por otro lado, con valor altamente significativo, se encontró la agrupación entre el grosor de pared de las fibras en la banda de esclerénquima en el córtex y el de la pared de las fibras en los haces vasculares en el tallo (GFAECT/GPFV) los cuales se presentan entre genotipos y dentro de G-VI.

A pesar de que en ambos caracteres está involucrado el esclerénquima, es de resaltar que corresponden a dos tejidos diferentes, el fundamental y el vascular, por lo que se sugiere que en futuros estudios sean considerados denotando su relevancia en futuros estudios comparativos.

Es importante resaltar que a diferencia del genotipo G-I, dentro del genotipo G-VI, se reflejaron un mayor número de correlaciones significativas todas ellas a nivel del tallo. En el tejido dérmico se establecieron tres pares de relaciones: ancho y alto de células epidérmicas (ACET/ALCET), ancho de células epidérmicas y grosor de cutícula (ACET/GCT) y alto de células epidérmicas y grosor de cutícula (ALCET/GCT). Todo esto nos señala que los caracteres del tejido dérmico en el tallo de esta variante operan como un sistema altamente correlacionado.

A pesar de lo estipulado, en tallos de *Aporocactus flagelliformis* (Cactaceae), se reporta una correlación negativa entre el ancho de sus células epidérmicas y el grosor de la cutícula ($r=-0.53$), por lo tanto, estas especies funcionan como sistemas biológicos independientes entre sí.

De igual manera fue posible detectar correlaciones de caracteres que corresponden a distintos tejidos, por ejemplo: el número de estratos de la vaina de esclerénquima en los haces vasculares con el alto y ancho de las células epidérmicas (NEVEHVT/ALCET- ACET), diámetro de vasos del xilema en los haces vasculares con el alto y ancho de las células epidérmicas

(DVXHVT/ALCET- ACET), donde se observa que están involucrados el tejido vascular y dérmico. Finalmente, de igual forma se percibió una relación significativa entre el alto de las células epidérmicas y el grosor de pared de las fibras de la banda de esclerénquima en el córtex (ALCET/GFAECT), donde están involucrados el tejido dérmico y fundamental. Todas estas agrupaciones no habían sido definidos en estudios previos, por lo que es importante que se consideren a futuro

Es necesario señalar que, dentro de este genotipo, los caracteres presentan un comportamiento diferente, ya que, en la mayoría corresponden al tejido dérmico, son mayores en la localidad “Rancho 20 Soles” en Papantla de Ocampo, Veracruz. (L4) a excepción del alto de las células epidérmicas (ALCET), siendo este último más alto en el resto de las localidades de G-VI (Figura 17), mientras que los correspondientes al tejido vascular como el número de estratos de la vaina de esclerénquima en los haces vasculares (NEVEHVT) y al diámetro de vasos del xilema en los haces vasculares (DVXHVT) son homogéneos en las tres localidades de G-VI, compartiendo tonalidades similares en el análisis de heatmap (Figura 21).

Cabe resaltar que dentro de las relaciones de diferentes tejidos no se habían dado a conocer, por lo que es necesario considerarlos en futuros estudios de índole biológica.

Correlación entre localidades

De manera general se determinó una agrupación dispersa para las localidades del genotipo G-I (Figura 17), mientras que para las localidades del G-VI esta agrupación es estrecha.

Los individuos de la localidad L1, del Ejido “Los Mangos”, en Pantepec, Puebla guardan mucha similitud con los de la localidad L4 del Rancho “20 Soles” en Papantla de Ocampo Veracruz y a su vez con aquellos de la localidad L5 del Municipio 1° de mayo en Papantla de Ocampo, Veracruz.

Si bien los individuos de la localidad de G-I crecieron bajo un sistema de manejo de malla con 70% de sombra, tutores de concreto, a una altitud de 450 m s. n. m., con temperatura promedio anual de 18 a 20 °C, y precipitación promedio anual de 2500-4500 mm, los individuos de ambas localidades de G-VI crecieron en condiciones diferentes, bajo un sistema de manejo de acahual, tutores naturales, a una altitud de 250 m s. n. m. (L4) a 150 m s. n. m. (L5), con una temperatura promedio anual de 18 a 23 °C, y precipitación promedio anual de 1500-2500 mm, lo que nos indica diferencias tanto en la altitud como en la precipitación, no obstante, los individuos de estas tres localidades comparten una gran similitud en sus caracteres anatómico- vegetativos, a pesar de corresponder a diferentes genotipos (Figura 21).

Once caracteres son compartidos en los individuos de estas dos localidades, de los cuales seis corresponden a la hoja, cinco de éstos al tejido dérmico y sólo uno al vascular (Tabla 10), tres al tallo siendo dos de ellos parte del tejido dérmico y el restante al vascular, para la raíz sólo se comparten dos caracteres, uno de tejido fundamental y otro del vascular.

Los individuos de la localidad L5 a su vez comparten tres caracteres con los individuos de las localidades anteriores, uno para cada órgano analizado, perteneciendo al tejido vascular en el caso de la hoja y el tallo y al fundamental en la raíz (Tabla 10).

Por otro lado, los individuos de la localidad L2 del Rancho “20 Soles” en Papantla de Ocampo, Veracruz del genotipo G-I guardan una estrecha relación con los individuos de la localidad L6 en Puntilla Aldama, Veracruz, si bien en ambas las plantas crecieron en un sistema similar de malla sombra al 70%, sobre tutores vivos y bajo una temperatura media anual similar (18-24 °C), sin embargo, las localidades L6 del G-VI, se ubica a una altitud mucho menor (50 m s. n. m.), con una precipitación promedio anual también menor (1200-1500 mm) en comparación a los individuos de la localidad L2 del G-I (250 m s. n. m. y 1500-2500 mm).

No obstante, de pertenecer a dos genotipos diferentes, creciendo en altitudes y precipitaciones distintas, sus individuos comparten una gran similitud en cinco de sus caracteres anatómicos (Figura 21), sólo uno dérmico para hoja, tres para tallo de los cuales dos corresponden al tejido dérmico y uno al vascular y en la raíz sólo un carácter del tejido fundamental (Tabla 10)

Finalmente, los individuos de la localidad L3 en el Ejido “Los Álamos” en Pantepec, Puebla del genotipo G-I, se separa notablemente de ambos conjuntos y se distingue porque son individuos que crecieron en un sistema de manejo sobre árboles de cítricos, a una altitud de 450 m s. n. m., precipitación promedio anual de 2500 a 4500 mm y temperatura promedio anual de 18 a 22 °C. Es necesario mencionar que, en algunos estudios, la presencia de árboles cítricos como *Citrange carrizo* que cumplen la función de forofito para las plantas de *V. planifolia* han contribuido significativamente en la reducción de algunos caracteres, en particular se señala el índice estomático en hojas y tallos (Cañizares *et al.*, 2003).

Sin embargo, en el presente estudio se encontró que los valores en varios caracteres presentes en los individuos se caracterizaron por ser mayores respecto al resto de las localidades debido a las tonalidades más oscuras dentro del heatmap (Figura 21). Los organismos de esta localidad crecieron sobre tutores vivos con una alta precipitación estacional y con un buen suministro de materia orgánica y de ventilación, lo que quizás explique las tendencias de expresar valores más altos en doce de sus caracteres, ocho de ellos expresados en la hoja, de los cuales seis pertenecen al tejido dérmico y los dos restantes al vascular, mientras que en la raíz cuatro caracteres expresan valores altos, tres del tejido fundamental y uno al vascular (Figura 21).

10. CONCLUSIONES

De manera general se determinó que existe variación anatómico-vegetativa en los genotipos G-I y G-VI de *V. planifolia*. Dichos hallazgos complementan la variabilidad genética y química que se ha encontrado en trabajos previos, cumpliendo lo establecido en la hipótesis.

Referente a la variación natural entre ambos genotipos se encontró que más de la mitad de los caracteres analizados (54%) permiten distinguirlos; no obstante, fue en la hoja y tallo en donde fue muy evidente, en particular en sus tejidos dérmico y vascular, abordando el primer y tercer objetivo particular en el presente escrito.

Al igual que en el caso anterior, más de la mitad de los parámetros anatómicos explicaron la plasticidad fenotípica. Dentro de G-I se reportó un 65%, el cual, fue mayormente atribuido al

tejido dérmico de la hoja, mientras que en G-VI fue del 54%, sin embargo, esta vez fue explicado en su mayoría por el tejido dérmico del tallo. Las características anatómicas de la raíz permanecieron constantes en ambos niveles comparativos, posiblemente a la expresión marcada de procesos adaptativos en órganos como la hoja y tallo. Respondiendo al segundo y cuarto objetivo específico.

Por otro lado, se estableció que las correlaciones significativas de caracteres comparando ambos genotipos engloban a los tejidos dérmico y vascular de la hoja, pero también al tejido fundamental y vascular del tallo. Por otra parte, en G-I dichas agrupaciones se limitaron exclusivamente al tejido dérmico y vascular de la hoja, a diferencia de G-VI en donde prevalecieron en los tres tejidos del tallo. Asimismo, se pudo determinar el nivel de agrupación de las localidades producto quizás de la similitud ambiental y de sistemas de manejo, resolviendo lo desarrollado por el quinto objetivo particular. No obstante, es indispensable que en un futuro se indague su posible relación con los parámetros anatómicos.

Este es el primer trabajo en donde se incorporan análisis estadísticos tomando como punto de partida caracteres cuantitativos de tipo anatómico- vegetativos para algunos de los genotipos en *V. planifolia*, siendo un aporte para el estudio de la evolución intraespecífica, en donde cada una de estas variantes inician la divergencia hacia lo que se conoce como especiación.

Es importante que en futuros estudios se anexe la información anatómica referente al resto de los genotipos, conociendo de esta manera algunos aspectos biológicos de la especie como es el caso de las estrategias adaptativas bajo ciertas condiciones abióticas, además de los cambios estructurales en los órganos vegetativos tras los procesos de selección y factores abióticos.

11. LITERATURA CITADA

- Abadie, T., y Berretta, A. (2001). Caracterización y evaluación de los recursos genéticos en: Berreta y Rivas, coord. Estrategia en Recursos Filogenéticos para los países del CONO Sur. PROCISUR. Documentos, Uruguay. 91-99.
- Amos, W., y Balmford, A. (2001). When does conservation genetics matter? *Heredity*. 87: 257-265.
- Araya, C., Cordero, R., Paniagua, A., y Bernal, J. (2014). Seminario Internacional de Vainilla: Promoviendo la investigación, la producción de Vainilla en Mesoamérica. INISEFOR. 7-10.
- Arevalo, R. (2006). Anatomía morfo-fisiológica y estructura foliar en especies de orquídeas epifitas y terrestres. Universidad de los Andes. Bogotá, Colombia. 36-38.

- Arévalo, R., Figueroa, J., y Madriñan, S. (2011). Anatomía foliar de ocho especies de orquídeas epifitas. *Lankesteriana*. 11(1). Department of Botany, University of Wisconsin-Madison. U.S.A. 39-54.
- Arroyo-Cosultchi, G., Terrazas, T., Arias, S., y López-Mata, L. (2010). Delimitación de *Neobuxbaumia mezcalaensis* y *N. multiareolata* (Cactaceae) con base en análisis multivariados. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 86, 53–64. <http://dx.doi.org/10.17129/botsci.2320>.
- Augstburger, L. (2003). Manual de Fitoprotección y Análisis de Plaguicidas. Cultivo: Vainilla (*Vanilla planifolia*). Colombia Alternative Development (CAD) Project. Chemonics. 22.
- Azofeifa, B., Paniagua, A., y García, J. (2014). Importancia y desafíos de la conservación de *Vanilla* spp (Orchidaceae) en Costa Rica. *SciELO*. 25: 1-5.
- Baruah, A., Saikia, N. (2002). Vegetative anatomy of the orchid *Vanilla planifolia* Andr. *J. Econ. Taxon. Bot.* 26(1): 161-165.
- Bello, J., García, G., e Iglesias, L. (2015). Conservación de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks) bajo condiciones de lento crecimiento *in vitro*. *Revista. filot. Mexicana*. Vol 38(2): 165-171.
- Beeckman, H., (2016). Wood anatomy and trait-based ecology. *Iawa Journal* 37: 127-151.
- Bird, S. M., y Gray, J. E. (2003). Signals from the cuticle affect epidermal cell differentiation. *New Phytol.* 157:9-23.
- Bory, S., Lubinsky, A., Risterucci, J., Noyer, M., Grisoni, M., F. Duval., y P, Besse. (2008) Patterns of introduction and diversification of *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) in Reunion Island (Indian Ocean). *American Journal of Botany* 95:805-815.
- Bory, S., y Séverine, M. (2007). Diversité de *Vanilla planifolia* G. Jackson dans l'Océan Indien et de ses espèces apparentées: aspects génétiques, cytogénétiques et épigénétiques. 17-18.
- Bory, S., Brown, S., Duval F., y Besse, P. (2010). Evolutionary processes and diversification in the genus *Vanilla*. En: E. Odoux, M. Grisoni, editores, *Vanilla*. CRC Press, Florida, US. 15-29.
- Bouetard, A., Lefeuvre, P., Gigant, R., Bory, S., Pignal, M., Besse, P. & Grisoni, M. (2010). Evidence of transoceanic dispersion of the genus *Vanilla* based on plastid DNA phylogenetic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55, 621-630.
- Brown, M. y Jordan, G. (2022). No cell is an island: characterising the leaf epiderm using epidermalmorph, a new R package. Available in: <https://doi.org/10.1111/nph.18519>.
- Cadena, J. (2016). Variación de aroma en *Vanilla planifolia*. Jacks ex Andrews Silvestre y cultivada. *Agroproductividad*. 9.: 56-58.
- Camargo, M.A.B. (2009). Stomatal characteristics in tree species of Central Amazonia. Dissertação de mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, BRA.
- Cameron, K.M., Chase, K. M., Whitten, M., Kores, P., Jarrel, D., Albert, V., Yukawa, M., Hills H., & Goldman, D. (1999). A phylogenetic analysis of the Orchidaceae, evidence from *rbcL* nucleotide sequences. *American Journal of Botany*. 86:208– 224.

- Cameron, K.M. (2005) Recent advances in the systematics biology of Vanilla and related orchids (Vanilloideae, Orchidaceae). In *Vanilla: First International Congress*. Allured Publishing, Carol Stream, IL.
- Cantor del Angel, A. (2018). Estudio morfoanatómico comparativo en tres especies de *Lupinus*. Yucatepec de Zaragoza, Morelos. Instituto Politécnico Nacional. México. 43-45.
- Cañizares, A., M.E. Sanabria., D.A. Rodríguez., y Perozo. (2003). Características de los estomas, índice y densidad estomática de las hojas de lima Tahití (*Citrus latifolia tanaka*) injertada sobre ocho patrones cítricos. *Rev. Cien. UDO Agríc* 3:59-64.
- Carlquist, S. (1988). *Comparative wood anatomy: Systematic, ecological, and evolutionary, aspects of dicotyledon wood*. Springer-Verlag Berlin Beideiberg: Nueva York.
- Carlsward, B.S., W.L. Stern., W.S. Judd., y T.W. Luchansky. (1997). Comparative leaf anatomy and systematics in *Dendrobium* sections *Aportum* and *Rhizobium* (Orchidaceae). *Int. J. Plant Sci.* 158. 332-342.
- Castellanos, M. (2020). Morfoanatomía del género *Laelia* en México: Un análisis de similitud. UNAM. Fes Zaragoza. 66-68.
- Castillo, R., y Mark, E. (1993). Caracterización de dos tipos de *Vanilla planifolia* *Acta Mexicana Botánica*. México. 6-9.
- Chase, M.W., Cameron, K.M., Barrett, R., and Freudenstein, J.F. (2003) DNA Data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. In *Orchid Conservation*, ed. K.W. Dixon, Kell, S.P., Barrett, R.L. and Cribb, P.J. (Eds), Natural History Publications, Kota Kinabalu, Sabah, pp. 69–89.
- Chávez- Güitrón., Salinas, F., Pérez, E., Caballero, J., Vallejo, A., y Sandoval-Zapotitla. (2019). Variación de caracteres epidérmico-foliares de *Agave salmiana subsp. salmiana* (Asparagaceae) en el centro de México. *Botanical Sciences*, 97(4), 711-724. Epub 04 de febrero de 2020. <https://doi.org/10.17129/botsci.2159>.
- Cibrián, J. (2000). Variación genética en *Vanilla planifolia* en México. Tesis de Pregrado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 60-62.
- CITES. (2017). Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre. Disponible en: <https://cites.org/esp/app/appendices.php>.
- Cordero, F, E., Corrales., y V, Vargas. (1984). El cultivo de la vainilla (*Vanilla planifolia*). Reporte. Instituto Tecnológico de Costa Rica, San Carlos, Costa Rica.
- Cortés, P. (2021). Propiedades de la vainilla que actúan sobre el estrés oxidativo celular. UNIVERSO.Universidad Veracruzana. México.
- Damian, L. (2020). Taxonomía del género *Vanilla Plum,ex Mill.* (Orchidaceae: vanilleae) en Perú. Tesis para optar el grado de Magíster en Botánica con mención en Taxonomía y Sistemática Evolutiva. Unidad de Posgrado, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Damiron-Velazquez, R. (2004). La vainilla y su cultivo. Dirección General de Agricultura y Fitosanitaria. Gobierno del Estado de Veracruz. S/p.
- Dickinson-William, C. (2000). *Integrative plant anatomy*, San Diego: Harcourt/Academic Press.
- Esparza, M., y Olguin, L. (2014). ¿Qué sabemos acerca de la rareza de las especies vegetales? Un enfoque genético-demográfico. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. (75): 17-32.

- Figuerola, J. (2007). Variaciones morfo-fisiológicas y anatómicas de diferentes tipos ecológicos de orquídeas epifitas. Departamento de Ciencias Biológicas. Bogotá, Colombia. 16-20.
- Galindo, S., Finegan, B., Delgado-Rodríguez, D., y Mesén, S. (2020). Variación intraespecífica de rasgos funcionales de *Cedrela odorata* L. en la Península de Nicoya, Costa Rica. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 11(57), 57-86. Epub 20 de junio de 2020. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v11i57.556>.
- García, G., Valdovinos, G., Rodríguez, M., Pedraza, M., Trejo, L., y Soto, M. (2013). Rutas de la penetración foliar en la fertilización de la orquídea *Cymbidium* sp. (Orchidaceae). *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* vol.4, n.spe5, 913-924. ISSN 2007-0934.
- Guevara, J., Espinosa, H., Herrera, B., Navarro, A., Delgado, A., y Luna, M. (2016). Vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks ex. Andrews) relacionados con procesos de beneficiado-Agroproductividad. (9): 3-9.
- Gianoli, E. (2004). Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. *Fisiología Ecológica en plantas. Mecanismos y Respuestas al Estrés en los ecosistemas*, M. Cabrera. (ed). Departamento de Botánica. Universidad de Concepción, Chile. 14-16.
- Gifford, E.M., and A.S. Foster. (1989). *Morphology and evolution of vascular plants*. New York. W.H.Freeman. 22-24.
- Gigant, R., S, Bory., M, Grisoni., y P, Besse. (2011). Biodiversity and evolution in the *Vanilla* genus. En: O. Grillo, y G. Venora, editores, *The dynamical processes of biodiversity - case studies of evolution and spatial distribution*. InTech, FR. 1-26.
- Gilson, D., Franca, C., y Rubio, F. (2006). Leaf anatomy variation within and between three “restinga” populations of *Erythroxylum ovalifolium* Peyr. (Erythroxylaceae) in Southeast Brazil. *Revista Brasil. Bot.* 29 (2): 209-215.
- Gómez, P. (2008). *Vanilla planifolia*, the first Mesoamerican orchid illustrated, and notes on the de la Cruz-Badiano Codex Lankesteriana 8(1): 81-88.
- Greule, M., L, Tumino., T, Kronewald., U, Hener., J, Schleucher., A, Mosandl., and F, Keppler. (2010) Improved rapid authentication of vanillin using $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^2\text{H}$ values. *European Food Research and Technology* 231:933-941.
- Guefel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Chaibi, W., y Zarrouk, M. (2008). Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europea* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae* 119(2009) 257:263.
- Hágsater, E., Soto, M., Salazar, G., Jiménez, R., López, M., y Dressler, R. (2005). Las orquídeas de México. Instituto Chinoin. México D.F. 304-306.
- Hall, T.M., Haine, M., Holzer, D., LeBel, F., Terenzi., y D.W. Waugh, (2007). Ventilation rates estimated from tracers in the presence of mixing. *J. Phys. Oceanogr.*, **37**, 2599-2611, doi:10.1175/2006JPO3471.1.
- Hernández, M., Terrazas, A., Delgado, L., y Luna, M. (2007). Los estomas de *Myrtillocactus geometrizans* (Mart. ex. Pfeiff) Console (Cactaceae): Variación en su área de distribución. *Rev. Fitotec. Mex.* 30:235-240.
- Hernández-Ruíz, J., Herrera-Cabrera, B, E., Delgado-Alvarado, A., Salazar-Rojas, V. M., Bustamante-Gonzalez, Á., Campos-Contreras, J. E., & Ramírez-Juarez, J. (2016). Distribución potencial y características geográficas de poblaciones silvestres de *Vanilla*

- planifolia* (Orchidaceae) en Oaxaca, México. *Revista de Biología tropical*, 64(1), 235-246.
- Herrera-Cabrera, Salazar, R., Delgado-Alvarado A., Campos-Contreras, Jorge., y Cervantes-Vargas, A. (2012). Use and conservation of *Vanilla planifolia* in the Totonacapan region, México. *European Journal of Environmental Science*. 2.(1).
- Iglesias-Andrew, L., Ramos-Castella, A., Bello-Bello, J., y Lee-Espinoza, H. (2014). Improved propagation of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) using a temporary immersion system. *Plant Tissue Culture*. 50. P.p: 576-581.
- INEGI, (2010). Localidades de la República Mexicana, (2010), escala: 1:1. Obtenido de Principales resultados por localidad (ITER). Censo de Población y Vivienda 2010. Editado por Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). México, D. F.
- Ibarra- Cantún, D., Delgado- Alvarado, A., Herrera-Cabrera, H., y Salazar-Rojas, V. (2018). Variación de fitoquímicos de dos genotipos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews bajo cultivo en acahual. Vol 11. Núm. 3. *Agroproductividad*. P.p: 45-50.
- Iglesias-Andreu, L., G, Andrade-Torres., A, Flores-Estevez., N, Giorgana_Figueroa, J. L., Luna-Rodríguez, M., Nahuat-Dhib, J., C, Noa-Carrazana., A, Ortiz-Ceballo., C Reyes-Sosa, L., Rodríguez-Gil, L., y Zaenz-Catrbonell. (2014). Establecimiento de las bases biotecnológicas y ecológicas en la mejora genética de *Vanilla planifolia* Jacqs. (Orchidaceae). *Cuadernos de Biodiversidad* 45:1-6.
- Jacob, F. (2007). El cultivo de vainilla y sus principales plagas. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”. 6-10.
- Jauregui- Zúñiga., y Moreno, Carcamo. (2004). La biomineralización del oxalato de Calcio en Plantas. *REB*. 23(1). UNAM. México. 18-23.
- Jiménez- Noriega, Terrazas, T., López-Mata., Sánchez-González., y Bibrans. (2017). “Anatomical variation of five plant species along an elevation gradient in Mexico City basin within the Trans-Mexican Volcanic Belt, Mexico”. *J. Mt. Sci.* 14(11): 2182-2199.
- Kengkanna, J., Jakaew, P., Amawan, S., Busener, N., Bucksch, A., y Saengwilai, P. (2019). Phenotypic variation of cassava root traits and their responses to drought. *Applications in plant sciences* 7: 4. DOI: <https://doi.org/10.1002/aps3.1238>.
- Kurzweil, H., H.P, Linder., W.L, Stern., & A.M, Pridgeon. (1995). Comparative vegetative anatomy and classification of *Diseae* (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 117: 171–220.
- Loza-Cornejo, S., Aparicio-Fernández, X., Patakfalvi, R., y Rosas-Saito, G. (2007). “Caracteres anatómicos y fitoquímicos del tallo y raíz de *Mammillaria uncinata* (Cactaceae)”. *Acta botánica mexicana*, (120), 21-38.
- Martínez-Quezada D., Sandoval-Zapotitla, E., Solis, J., Velázquez, E., y Herrera, E. (2016). Caracterización anatómica y análisis de variación de epidermis foliar y caulinar entre dos genotipos de *Vanilla planifolia* Jacks. Ex. Andrews. *Ib. UNAM*. 9: 26-33.
- Martínez-Quezada D., Sandoval-Zapotitla, E., y Arias, S. (2019). Análisis morfométrico del grupo *Selenicereus vagans* (Cactaceae: Hylocereeae) con base en la anatomía del tallo. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. (90). 5-7.
- Mauseth, D. (2004). The structure of photosynthetic succulent stems in plants other than cacti. *Int. S. Plant. Science*. 165 (1): 1:9. The University of Chicago. U.S.A.
- Menchaca, R. (2017). El cultivo de *Vanilla planifolia* en México. *UNAM*. (1) 6-10.

- Metcalfe, C. (1963). *Comparative Anatomy as a Modern Botanical Discipline*. Vol. 1. *Advance in Botanical Research*. Academic Press, Londres y Nueva York.
- Miranda, J. (2021). Análisis in silico de las rutas metabólicas asociadas al proceso de caída del ovario no fertilizado de *Vanilla planifolia* Andrews (Orchidaceae). UNAM. México. 20-24.
- Morrone, J. (2005). Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 76. 207-252.
- Nayar, B.K., Rajendra, R., y Vastala, P. (1976). Dermal morphology of *Vanilla planifolia* Andr. and *V. wightii* Lindl. *Proc. Indian Acad. Sci.* 84(5): 173-179.
- Nevo, E., Bolshakova, M.A., Martyn, G.I., Musatenko, L.I., Sytnik, K., Pavlíček, T., Beharav, A., (2000). Drought and light anatomical adaptative leaf strategies in three woody species caused by microclimatic selection at ‘‘Evolution Canyon’’ Israel. *Isr. J. Plant Sci.* 48, 33–46.
- Nicoletti de Fraga, C., Rodrigues, D., y Pensarin, E. (2017): Two new species of *Vanilla* (Orchidaceae) in the Brazilian Atlantic Forest. *Phytotaxa* 296 (1), 063– 072.
- Nyffeler, R. (1998). The genus *Uebelmannia* Buining (Cactaceae). *Bot. Janrb. Syst.* 120: 145-163.
- Olalde, G. (2000). Estudio anatómico del tallo en *Aporocactus flagelliformis* (L.) Barthlott (Cactaceae Hylocerae). Universidad Nacional Autónoma de México. México. 45-47.
- Orozco- Cruz., Carrodegas- Gonzalez., y Zuñiga- Orozco. (2021). Caracterización anatómica foliar de cuatro especies de orquídeas epifitas de Cuerici, Costa Rica. Vol.4. N.1. *Repertorio Científico*. 96-108.
- Ortiz- Cruz., y Morales, A. (2018). Caracterización anatómica foliar de cuatro especies cubanas del género *Tolumnia* (Orchidaceae). *Revista del Jardín Botánico Nacional*. Universidad de la Habana. Vol. 39: 91-96.
- Ramírez M., Niño, S., y Berrio, T. (2016). Anatomía de la raíz de *Encyclia cordigera* (Kunth) Dressler (Orchidaceae). Programa de Ciencias del Agro y del Mar. Caracas, Venezuela. 58-60.
- R. Core Team. (2020). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en: <http://www.r-project.org/index.htm>.
- Reyes-López, D., Quiroz-Valentín, J., Kelso-Bucio, H. A., Huerta-Lara, M., Avendaño-Arrazate, C. H., & Lobato-Ortiz, R. (2015). Caracterización estomática de cinco especies del género *Vanilla*. *Agronomía Mesoamericana*, 26(2), 237-246.
- Riverón-Giró, F., Damon, A., García-González, A., Solís-Montero, L., Aguilar-Romero, O., Ramírez-Marcial, N., & Nieto, G. (2017). Anatomy of the invasive orchid *Oeceoclades maculata*: ecological implications. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 184, 94–112.
- Rocha G., Herrera, E., Velasco, J., Salazar, V., Delgado, A., y Mendoza, C. (2018). Determinación preliminar de componentes de rendimiento para el cultivo de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) en la región de Totonacapan, México. *Agroproductividad*. (1). 9-14.

- Rodrigues, L., y Santana, M. (2008). Determinação do teor de sílica em madeira por espectrograma de absorção atômica de chama versus espectroscopia no ultra-violeta visível. *Ciência Florestal*, Santa Maria 2(18): 259-264.
- Rodríguez- López, T., y Martínez -Castillo. (2019). Exploración actual sobre el conocimiento de la vainilla (*Vanilla planifolia* Andrews) en las tierras bajas del norte de Yucatán, México. Núm:48. *Polibotánica* 48.13. P.p: 12-15
- Romeu, E. (1995). La vainilla: de Papantla a Papantla, el regreso de un cultivo. *Biodiversitas* 1:10-13.
- Ruíz- Valencia. (2021). Anatomía ecológica y sistemática del género *Forestiera* Poir. en México. En capítulo 2. Anatomía del género *Forestiera* Poir. en México. Colegio de Postgraduados. Texcoco, México.
- Salazar-Rojas, V., Herrera-Cabrera, E., Delgado-Alvarado, A., Soto-Hernández, M., Castillo, F., y Cobos, M. (2011). Chemotypical variation in *Vanilla planifolia* Jack.(Orchidaceae) from the Puebla-Veracruz Totonacapan region". Springer Science. México.
- Sánchez, O. (2014). Subfamilia Vanilloideae. Asociación de Jueces de Orquídeas de Costa Rica. *AJOCORI*. 21-22.
- Sandoval-Zapotitla, E., Terrazas, T., y Villaseñor, J.L. (2010a). Diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae). *Rev. Biol. Trop.* Vol.58 (2). 733-755.
- Sandoval-Zapotitla, E., García-Cruz, J., Terrazas, T., Villaseñor, J.L. (2010b). 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. (2016). Estudios anatómicos en *Vanilla planifolia* de la Región Totonacapan (Veracruz- Puebla). Instituto de Biología.
- Sandoval-Zapotitla, E., Martínez-Quezada, D., Guzmán, M., Zamora, J., y Herrera, B. (2016). Cambios anatómicos en genotipos de Vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks ex. Andrews) por estrés ambiental. *Agroproductividad*. Instituto de Biología. UNAM. 1-2.
- Sandoval-Zapotitla E., Martínez-Quezada, D., Reyes-Santiago, J., Islas-Luna, M., and Rosas, U. (2019). Leaf morpho-anatomical diversity in *Echeveria gigantea* (Crassulaceae). *Botanical Sciences*. 97: 218-235.
- Santiago, A. (2003). Producción de cultivo de *Vanilla planifolia* Andrews y su importancia en el mercado nacional y mundial. Departamento de fitomejoramiento. México. 54-60.
- SEMARNAT. (2010). Norma Oficial Mexicana de Protección Especial de Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestre 59. *Diario Oficial de la Federación*. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5420810&fecha=21/12/2015.
- Schluter. (2002). RAPD variation in *Vanilla planifolia* Jackson (Orchidaceae) and assessment of the putative hybrid *Vanilla tahitensis* Moore. Tesis de Maestría. University of Oxford. Reino Unido.
- Silva, C. (2010). Aislamiento, identificación y potencial micorrízico de hongos endorricosfericos en la orquídea *Vanilla planifolia* Jacks. ex. Andrews. Universidad de Chapingo. México. 25- 29.

- Smith, S.E., y Read, D. J. (1997). *Mycological Symbiosis*. 2nd edn. Academic Press London. 605.
- Soto-Arenas, M. (2003). Vanilla. In: Pridgeon, AM; Cribb, PJ; Chase, MW; Rasmussen, FN. eds. *Genera Orchidacearum*. Vol. 3, Orchidoideae (Part 2) Vanilloideae Nueva York, E.U.A, Oxford University Press. p. 402.
- Soto-Arenas, M. (2006). La vainilla: Retos y perspectivas de su cultivo. *CONABIO. Biodiversitas* 66:1-9.
- Soto-Arenas, M., y Solano-Gómez, R. (2007). Ficha técnica de *Laelia speciosa*. En: Soto-Arenas, M. A. (compilador). Información actualizada sobre las especies de orquídeas del PROY-NOM-059-ECOL-2000. Instituto Chinoín A.C., Herbario de la Asociación Mexicana de Orquideología A.C. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No. W029. México, D.F.
- Soto-Arenas, M. (2009). Recopilación y análisis de la información existente sobre las especies mexicanas del género *Vanilla planifolia*. Instituto Chinoín A.C en: SEMARNAT. CONABIO. 1-4.
- Soto-Arenas, M., & Cribb, P. (2010). A new infrageneric classification and synopsis of the genus *Vanilla* Plum. Ex Mill. (Orchidaceae: Vanillinae). *Lankesteriana* 9, 355–398.
- Stebbins, L., y Klush, G. (2014). Variation in the organization of the stomatal complex in the leaf epidermis of monocotyledons and its bearing on their phylogeny. *American Journal of Botany*. 48. (1): 51-59.
- Stern, W., Judd, W. (1999). Comparative vegetative anatomy and systematics of *Vanilla* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 131: 353-382.
- Stern, W., y Carlswald, B. (2006). Comparative vegetative anatomy and systematics of Oncidiinae (Maxi lariaeae, Orchidaceae). *Faculty Research & Creative Activity*. 263.
- Terrazas, T., y Arias, S. (2003). Comparative Steam Anatomy in the Subfamily Cactoideae. *The Botanical Review*. 68(4). 444-473.
- Tofiño, A., Fregene, M., Ceballos, H., y Cabal, D. (2006). Regulación de la biosíntesis del almidón en plantas terrestres: perspectivas de modificación. *Universidad Nacional de Colombia*. 11-28.
- Torres, A., y Sanabria, M. (2011). Efecto del ambiente de desarrollo sobre la anatomía foliar de *Cattleya jenmanii* ROLFE y *C. lueddemanniana* RCHB.F.F (Orchidaceae). *Acta Botánica. VENEZ.* 34 (1). Caracas, Venezuela. 199-214.
- Universidad Nacional del Estado de México. (2015). Cultivo de Vainilla (*Vanilla planifolia* Jackson). UNAEM. Facultad de Ciencias Agrícolas. 3-5.
- Valdovinos-Ponce, G., Díaz, E., Villegas, M., y González-Chávez, M. (2016). Hongos asociados a hojas y tallos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. Vol.9. *Gale ONEFILE*.
- Vega, M., Hernández, M., Herrera-Cabrera, B., & Wegier, A. 2020. *Vanilla planifolia* (amended version of 2017 assessment). *The IUCN Red List of Threatened Species* 2020:e.T103090930A172970359. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-2.RLTS.T103090930A172970359.en>.
- Villanueva-Villamontes, S. (2017). Genética de la conservación y la historia de vida de *Vanilla planifolia* Andrews (Orchidaceae). *Herbario CICY*. 6: 88-90.

- Villanueva-Villamontes, S., Hernández, G., Dorantes, J., y Martínez, C. (2017). Wild *Vanilla planifolia* and its relatives in the Mexican Yucatán Peninsula: systematic analysis with ISSR and ITS. *Botanical Sciences*. 95(2); 1-19.
- Zotz. (2016). *Plants on plants- The Biology of vascular Epiphytes in: Functional Anatomy and Morphology*. Fascinating Life Science. Springer. University of Oldenburg. Germany. 67-84.

12. ANEXOS

Scripts utilizados en R

A) Prueba de Shapiro Wilks

```
# Instalar paquete ggplot2 y ggpubr
library(ggpubr)
library(ggplot2)
shapiro.test(vai1$ACEABL)
shapiro.test(vai1$ACEADL)
```

La función `shapiro.test` permite conocer si los datos presentan o no una distribución normal, dentro del paréntesis `vai1` es la base de datos nombrada inicialmente, después se observó el signo `$` y finalmente `ACEABL` y `ACEADL` son los acrónimos correspondientes a algunos de los caracteres evaluados

B) Gráficas para el modelo hipotético de la normalidad

```
vai1$LOGGEN <- paste (vai1$local, "-", vai1$genotipo)
```

La función “`paste`” permitió agrupar a dos columnas dentro de la base de datos `vai`, en este caso la localidad (`local`) y genotipo, asignando un nombre a esta nueva columna (`LOGGEN`)

```
ggqqplot(vai1, "ACEABL", facet.by = "LOGGEN", ylab = "area cel de epid abax lam")
```

C) ANOVA

```
# Análisis de varianza
aov(ACEABL ~ LOGGEN, data=vai)
#para tener tabla completa
summary(aov(ACEABL ~ LOGGEN, data=vai))
#o
aov(ACEABL ~ LOGGEN, data=vai) -> "ACEABL"
```

Para obtener los valores correspondientes al análisis de varianza se usa la función `aov`, esto para aquellos caracteres que presentaron normalidad

D) Prueba Post-Hoc

```
#Instalar paquete agricolae
library(agricolae)
TukeyHSD(ACEADL)
HSD.test(ACEADL, "LOGGEN", group= TRUE, console=TRUE)
```

La función TukeyHSD permite separar grupos a partir de letras en aquellos caracteres que presentaron normalidad

E) Prueba de Kruskal Wallis

```
#Instalar paquetes ggplot2, tidyverse, rstatix, ggpubr y agricolae
library(agricolae)
library(tidyverse)
library(ggpubr)
library(rstatix)
library(ggplot2)
vai %>% kruskal_test(ACEXRA ~ LOCGEN)
```

La función `kruskal_test` nos indica si hay diferencias significativas entre los genotipos con respecto a los caracteres evaluados, en particular para aquellos que no se comportaron de manera normal

F) Prueba de Dunn

```
#Instalar paquetes FSA y R companion
library(FSA)
library(R companion)
L <- dunn_test(LCOL~LOCGEN, data=vai)
print(L, dunn.test.results=TRUE)
L
```

La función `dunn_test` permite la asignación de letras para diferenciar a los grupos dentro de aquellos caracteres que no presentaron distribución de tipo normal, donde `LCOL` es el carácter y `LOCGEN` es la variable donde se incluyen los datos de las localidades y genotipos estudiados, finalmente la letra `L` denota el objeto asignado

Las matrices de datos fueron cargadas, donde `X1` corresponde a las variables dependientes (caracteres) y `Y1` a las independientes (ambientales y sistemas de manejo)

```
X1 <- read.csv(file.choose(), row.names=1, sep=",")
X1
Y1 <- read.csv(file.choose(), row.names=1, sep=",")
Y1
# Para conocer el número de dimensiones a tomar en cuenta en el gráfico
print(model1)
barplot(model1$cor, xlab = "Dimension", ylab = "Canonical correlations", ylim = c(0,1))
## Para realizar este análisis fue necesario llamar y posteriormente utilizar la función CCA
install.packages('CCA')
library(CCA)
## Posteriormente obtenemos el gráfico, observando el comportamiento de ambos tipos de variables
model3 <- cc(X1, Y1)
model3
```

```
plt.cc(model3,var.label = TRUE)
```

G) Heatmap

```
#Mapa de calor para vai
```

```
vai1
```

```
#Quitar columnas que no tienen información
```

```
vai1[,-(39:79)]-> vai1
```

```
names(vai1)
```

```
#Quitar columnas que no tienen datos numéricos (Localidad, genotipo y LOCGEN)
```

```
data1 <- as.matrix(vai1[, -c(1,2,38)])
```

```
heatmap(data1)
```

```
dim(data1)
```

```
# Dentro de la función rownames fueron asignados los nombres a las filas dentro del heatmap, en este caso las localidades con sus respectivos genotipos
```

```
rownames(data1) <- c("CHI L1", "CHI L2", "CHI L3", "CHVI L4", "CHVI L5", "CHVI L6")
```

La función heatmap nos permite reordenar columnas y filas provenientes de la base de datos (vai1), de tal manera que al trabajar con las medias aritméticas se crea una imagen, en cuyos laterales se forman dendrogramas.

H) Análisis de correlación de Pearson.

```
# Instalar paquetes como:
```

```
library("PerformanceAnalytics")
```

```
library("xts")
```

```
library("zoo")
```

```
library("ggplot2")
```

```
install.packages("PerformanceAnalytics", dependencies = TRUE)
```

```
#Entre genotipos
```

```
#Para conocer todas las correlaciones posibles
```

```
chart.Correlation(vai1, histogram= TRUE, pch=19, size= 2)
```

```
#Eliminar columnas donde haya datos no paramétricos
```

```
vai1$genotipo <- NULL
```

```
vai1$local <- NULL
```

Nota: En caso de ser un gráfico muy grande, se pueden eliminar aquellas correlaciones menores a una $r < 0.5$, quedando como:

```
vai1$NEVEHME <- NULL
```

```
vai1$NEVEHPE <- NULL
```

```
vai1$GPFFHMA <- NULL
```

Donde NEVEHME, NEVEHPE y GPFFHMA son los caracteres que queremos omitir, esto con la finalidad de permitir visualizar eficazmente la correlación.

```
#Otra manera de realizar este análisis es mediante la función cor
```

```
#Para ello se llama al paquete corrplot
```

```
library(corrplot)
#Nuevamente se omiten las variables no numéricas
CHI$genot <- NULL
CHI$local <- NULL
#Posteriormente se ejecuta el método numérico
M = cor(CHI)
corrplot(M, method = 'number')
#También se pueden aplicar otras técnicas como la del círculo
corrplot(M, method = 'circle')
```