

**HISTOLOGIA FOLIAR COMPARADA DEL FRIJOL CACHA *Phaseolus*  
*dumosus* Macfad. Y *Phaseolus coccineus* L. EN ACCESIONES DEL  
SUROCCIDENTE COLOMBIANO**

**YHON JAIRO ACOSTA PÉREZ**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
POPAYÁN  
2007**

**HISTOLOGIA FOLIAR COMPARADA DEL FRIJOL CACHA *Phaseolus dumosus* Macfad. Y *Phaseolus coccineus* L. EN ACCESIONES DEL SUROCCIDENTE COLOMBIANO**

**YHON JAIRO ACOSTA PÉREZ**

**Trabajo de grado para optar al título de Biólogo**

**Director**

**M.Sc DIEGO MACIAS PINTO  
Universidad del Cauca**

**Asesores:**

**M.Sc MARIA CATALINA VELEZ  
Universidad de Antioquia**

**M.Sc EDWIN RENGIFO CANIZALES  
Universidad del Cauca**

**Lic. LYDA PATRICIA MOSQUERA  
Universidad del Cauca**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
POPAYÁN  
2007**

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

---

---

**M.Sc. Diego Macias Pinto**  
**Director**

---

**M.Sc. Carlos Alberto Agudelo Henao**  
**Jurado**

---

**M.Sc. Nilza Velasco Palomino**  
**Jurado**

Popayán, 6 de Mayo de 2007

*Y a Dios sobre todas las cosas; dedico este nuevo triunfo de mi vida, a mi familia: mi madre Melida Pérez Garzón, mi padre Jairo Acosta Martínez, mi hermano Fernando Alberto Acosta Pérez y mi abuela Emperatriz Garzón, en su apoyo e interés a una causa, que hoy me han permitido vislumbrar un nuevo camino.*

*Yhon Jairo Acosta Pérez*



## AGRADECIMIENTOS

Mi director, Diego Macias Pinto por su amable, respetable y valioso apoyo en la realización y culminación de este trabajo.

Mis asesores: María Catalina Vélez por su generosa contribución en el análisis cualitativo y atención en Medellín; a Lyda Patricia Mosquera por su amabilidad y aportes en el inicio de la metodología y a Edwin Rengifo Canizales, por su cordial contribución al análisis cuantitativo.

Hernán Puliche del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, en la estación experimental Santa Rosa por la facilitación de la accesión (G51034A).

Floreida Mosquera, Weimar Aurelio Pérez, Albeiro Gonzáles, Roció Paulin por su gran y amable servicio de facilitarme sus equipos personales para escribir y analizar los resultados.

Al grupo de Bioinformática en cabeza de Patricia Vélez e integrantes: Henry Fabián Tovar, Adrián Camilo Ararat; Carlos Tellez por su amable colaboración y préstamo de equipos, en las correcciones de los resultados.

Al grupo de Etnobotánica en la idea de la propuesta y a mis compañeros de trabajo Efrén Muñoz Galíndez, Néstor Adán Molano, Carlos Hernando Navia y Yhoana Orjuela Narváez.

Víctor Andrés Arcos, Fabiola Cotazo, Luís Fernando Cotazo y Diego Camayo del Jardín Botánico Álvaro José Negreth de la Universidad del Cauca – finca La Rejoja, por su compañía.

Imelda Garzón Pérez, Alberto Gómez y Luís Alberto Gómez, por su gran ayuda, apoyo y acogimiento en su casa y la alimentación

Irma Herrera, Claudia López, Lucy Rosas, Eduardo Rosas, Yolanda Ibarra, Darío López Álvaro Pérez Garzón, Harold Pérez y Cielo Jiménez por permitir habitar en sus casas, durante la época de mi carrera.

Astrid Jimena Jiménez por su gran y valioso apoyo, comprensión y compañía durante toda la carrera e investigación.

Todos los profesores, de Biología y compañeros de la Universidad del Cauca

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	16
1. ANTECEDENTES	17
1.1 CONSIDERACIONES GENERALES DE <i>Phaseolus dumosus</i> Macfad. y <i>Phaseolus coccineus</i> L.	17
1.2 DIVERSIDAD DE <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i>	17
1.3 HISTOLOGÍA FOLIAR DE <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i>	18
2. MARCO TEORICO	23
2.1 CARACTERÍSTICA BOTÁNICAS DE <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i>	23
2.1.1 <i>Phaseolus dumosus</i> Macfad. (1837)	23
• Descripción botánica	23
• Distribución	24
2.1.2 <i>Phaseolus coccineus</i> Linneo (1793)	24
• Descripción botánica	25
• Distribución	26
2.2 ETNOBOTÁNICA DE LAS ESPECIES	26
2.3 ASPECTOS HISTOLÓGICOS	27
2.4.1 Microscopía óptica de alta resolución (MOAR)	28
2.4.2 Histología foliar	28
• El pecíolo	29
• La epidermis	29
• El mesófilo	29

● Nervio principal (vena central o principal)	29
3. OBJETIVOS	30
3.1 GENERAL	30
3.2 ESPECÍFICO	30
4. AREA DE ESTUDIO	31
5. METODOLOGÍA	33
5.1 TRABAJO DE CAMPO: RECOLECCIÓN EL MATERIAL	33
5.2 TRABAJO DE LABORATORIO	33
5.2.1 Preparación histológica	33
● Muestras semipermanentes (corte a mano alzada).	33
● Muestras permanentes (corte en resina Spurr).	34
5.3 OBTENCIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DATOS	34
5.3.1 Análisis cualitativo	35
5.3.2 Análisis cuantitativo	35
6. RESULTADOS	36
6.1 EL PECÍOLO	36
6.1.1 Descripción cualitativa	36
6.1.2 Descripción cuantitativa	43
● Longitud	43
● Proporción	45
● Número de células	47
6.2 NERVIO PRINCIPAL	48
6.2.1 Descripción cualitativa	48
6.2.2 Descripción cuantitativa	53

• Longitud	53
• Proporción	56
• Número de células	57
6.3 MESÓFILO	58
6.3.1 Descripción cualitativa	59
6.3.2 Descripción cuantitativa	61
• Longitud	61
• Proporción	64
• Número de células	64
6.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS	65
6.4.1 Cualitativo	65
6.4.2 Cuantitativo (medidas estadísticas)	67
7. DISCUSIÓN	71
8. CONCLUSIONES	73
9. RECOMENDACIONES	75
BIBLIOGRAFÍA	76
ANEXOS	82

## INDICE DE TABLAS

	Pag.
<b>Tabla 1.</b> Descripción del análisis de las variables de comparación de las estructuras (peciolo, nervio principal y mesófilo) en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	35
<b>Tabla 2.</b> Comparación de caracteres anatómicos principales del peciolo en las especies <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	43
<b>Tabla 3.</b> Agrupación de las accesiones en clases del total de la longitud del peciolo ( $\mu\text{m}$ ) (P-t), en <i>P. dumosus</i> ( <i>Pd</i> ), <i>P. coccineus</i> ( <i>Pcc</i> ) y <i>P. vulgaris</i> ( <i>Pv</i> ).	46
<b>Tabla 4.</b> Comparación de sumatoria de diferencias en las variables de proporción y número de células (Cuadro 1) para accesiones y tejidos en peciolo de <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	46
<b>Tabla 5.</b> Comparación de caracteres anatómicos principales del nervio principal en las especies de <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	53
<b>Tabla 6.</b> Agrupación de accesiones en clases del total de la longitud del nervio principal ( $\mu\text{m}$ ) (N-t), en <i>P. dumosus</i> ( <i>Pd</i> ), <i>P. coccineus</i> ( <i>Pcc</i> ) y <i>P. vulgaris</i> ( <i>Pv</i> ).	55
<b>Tabla 7.</b> Comparación de sumatorias de diferencias en las variables de proporción y número de células (Cuadro 2) para accesiones y tejidos en nervio principal de <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	56
<b>Tabla 8.</b> Comparación de caracteres anatómicos principales del mesófilo en las especies <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	61
<b>Tabla 9.</b> Agrupación de accesiones en clases del total de la longitud del mesófilo ( $\mu\text{m}$ ) (M-t), en <i>P. dumosus</i> ( <i>Pd</i> ), <i>P. coccineus</i> ( <i>Pcc</i> ) y <i>P. vulgaris</i> ( <i>Pv</i> ).	62
<b>Tabla 10.</b> Comparación de diferencias en las variables de proporción y número de células (Cuadro 3) para accesiones y tejidos del mesófilo en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	63
<b>Tabla 11.</b> Comparación de las clases en la longitud total (P-t, N-t y M-t) entre las estructuras de las accesiones en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	67
<b>Tabla 12.</b> Comparación total de las diferencias de las accesiones respecto al número de tejidos diferentes estadísticamente significativos (Tabla.4; 6; 9), en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	69
<b>Tabla 13.</b> Comparación total de las diferencias de los tejidos respecto al número de accesiones diferentes estadísticamente significativas (Tabla.4; 6; 9), <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	70

## INDICE DE FIGURAS

	Pag.
<b>Figura 1.</b> Estructuras morfológicas del fríjol cache. A, <i>Phaseolus dumosus</i> Macfad. B, <i>Phaseolus coccineus</i> L.	25
<b>Figura 2.</b> Mapa de las zonas de procedencia de los materiales de fríjol cache, los puntos azules representan la distribución de <i>P. dumosus</i> y los rojos la de <i>P. coccineus</i> en el suroccidente colombiano (Cauca, Nariño y Putumayo).	31
<b>Figura 3.</b> Mapa ubicación del Jardín Botánico Álvaro José Negret de la Universidad del Cauca.	32
<b>Figura 4.</b> Invernadero experimental del Jardín Botánico Álvaro José Negret de la Universidad del Cauca.	32
<b>Figura 5.</b> Hoja completa de <i>P. coccineus</i> L., y <i>P. dumosus</i> M; a-b = Longitud del pecíolo; c-d = Longitud del nervio principal; e-f = Máximo ancho basal. Muestras de 0,5 cm en: <i>Pecíolo</i> (A); <i>Nervio principal</i> (B); <i>Mesófilo</i> (C) y <i>lámina foliar</i> (D).	34
<b>Figura 6.</b> Corte transversal de pecíolo. A, <i>P. dumosus</i> (PSCV036). B, <i>P. coccineus</i> (PSCV002). C, <i>P. vulgaris</i> (G51034A).	36
<b>Figura 7.</b> Corte transversal de la epidermis del pecíolo. A, Tricoma glandular multicelular <i>P. coccineus</i> (PSCV002) 20X; B, Estoma paracítico <i>P. dumosus</i> (PSCV022) 40X; C, Tricoma uniseriado unciforme <i>P. vulgaris</i> (G51034A) 4X; D, Tricoma uniseriado recto (PSCV001) 10X.	37
<b>Figura 8.</b> Almidones de pecíolo en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> . A, Gránulos enteros de almidón en fibras del xilema <i>P. vulgaris</i> (G51034A) 80X; B, Gránulos fragmentados de almidón en el parénquima medular <i>P. coccineus</i> (PSCV020) 40X.	38
<b>Figura 9.</b> Sección transversal del sistema vascular en el área basal del pecíolo de <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> . A, <i>P. vulgaris</i> (G51034A) 4X; B, <i>P. dumosus</i> (PSCV008) 4X.	38
<b>Figura 10.</b> Sistema vascular flemático del pecíolo en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> . A, sección transversal del metafloema <i>P. dumosus</i> (PSCV004) 40X; B y C, elementos cribosos <i>P. coccineus</i> (PSCV007) 80X y <i>P. vulgaris</i> (G51034A) 80X.	40
<b>Figura 11.</b> Sistema vascular xilemático del pecíolo en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> . A, sección transversal del xilema <i>P. coccineus</i> (PSCV002) 40X; B, punteaduras en el metaxilema <i>P. dumosus</i> (PSCV022) 40X; C, traqueas transversales <i>P. dumosus</i> (PSCV011) 80X; D, vaso del protoxilema con punteaduras <i>P. dumosus</i> (PSCV004) 80X.	41

- Figura 12.** Sección transversal de estructuras adaxiales del pecíolo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. A, Aristas del pecíolo *P. coccineus* (PSCV020) 4X; B, protuberancia en forma de punta *P. coccineus* (PSCV007) 4X; C: protuberancia semiredonda con haz vascular *P. coccineus* (PSCV027). 42
- Figura 13.** Sección transversal de nervio principal. A, *P. dumosus* (PSCV004); B, *P. coccineus* (PSCV007); C, *P. vulgaris* (G51034A). 49
- Figura 14.** Corte transversal de la epidermis del nervio principal de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. A, corteza de epidermis *P. coccineus* (PSCV001) 10X; B, tricoma uniseriado *P. vulgaris* (G51034A) 20X; C, tricoma glandular multicelular *P. coccineus* (PSCV002) 10X. 50
- Figura 15.** Sección transversal de la protuberancia (adaxial) en nervio principal de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. A, Protuberancia en punta *P. dumosus* (PSCV002) 10X; B, Protuberancia semiredonda *P. coccineus* (PSCV001) 10X. 50
- Figura 16.** Nervio principal en corte transversal de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. *P. dumosus* (PSCV004) (izquierda); *P. dumosus* (PSCV022) (derecha). 51
- Figura 17.** Sección interna central del sistema vascular del nervio principal en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. A, Has completo *P. coccineus* (PSCV002) 10X; B: Floema activo *P. coccineus* (PSCV007) 40X. 52
- Figura 18.** Sección transversal del mesófilo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.. A, *P. dumosus* (PSCV004) 20X; B, *P. coccineus* (PSCV020) 20X; C, *P. vulgaris* (G51034A) 20X. 59
- Figura 19.** Epidermis del mesófilo en vista superior de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. A y B, epidermis irregular *P. vulgaris* (G51034A) 20X (adaxial) y 40X (abaxial) respectivamente; C, epidermis longitudinal del nervio adaxial *P. vulgaris* (G51034A) 10X; D, estoma parásitico *P. coccineus* (PSCV001) 40X; E, tricoma glandular multicelular *P. dumosus* (PSCV004) 40X; F, tricoma uniseriado *P. coccineus* (PSCV001) 10X. 59
- Figura 20.** Sección transversal de mesófilo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. A, haz vascular *P. coccineus* (PSCV007) 20X; B, tricoma glandular. *P. dumosus* (PSCV004) 20X; C, tricoma uniseriado *P. coccineus* (PSCV001) 20X. 60

## INDICE DE CUADROS

	Pag.
<b>Cuadro 1.</b> Resumen de las comparaciones múltiples ( $\leq 0,01$ ), de los tejidos del peciolo de <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> , para las variables proporción “Tamhane” (Anexos K) y número de células “Duncan” (Anexo L).	46
<b>Cuadro 2.</b> Resumen de las comparaciones múltiples ( $\leq 0,01$ ) de los tejidos del nervio principal en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> , para las variables de proporción “Tamhane” (Anexos K) y número de células “Duncan” (Anexo L).	55
<b>Cuadro 3.</b> Resumen de las comparaciones múltiples ( $\leq 0,01$ ) de los tejidos del mesófilo en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> , para las variables de proporción “Tamhane” (Anexos K) y número de células “Duncan” (Anexo L).	63



## INDICE DE GRÁFICAS

	Pag.
<b>Gráfica 1.</b> Representación de las medias de los tejidos del pecíolo en las especies <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> (Anexo F). A, longitud ( $\mu\text{m}$ ); B, proporción (%) y C, número de células.	44
<b>Gráfica 2.</b> Representación de las diferencias de accesiones y tejidos totales para la proporción de el pecíolo (Tabla 4) en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> . A, accesiones; B, tejidos.	47
<b>Gráfica 3.</b> Representación de las diferencias de accesiones y tejidos totales para el número de células (Tabla 4), en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> . A, accesiones; B, tejidos.	48
<b>Gráfica 4.</b> Representación de las medias de los tejidos del nervio principal en las especies <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> (Anexo G). A: longitud ( $\mu\text{m}$ ); B: proporción (%) y C: número de células.	54
<b>Gráfica 5.</b> Representación de las diferencias de accesiones y tejidos totales para la proporción del nervio principal (Tabla 6), en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> . A, accesiones; B, tejidos.	57
<b>Gráfica 6.</b> Representación de las diferencias de accesiones y tejidos totales para el número de células (Tabla 6) en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> . A, accesiones; B, tejidos.	58
<b>Gráfica 7.</b> Representación de las medias de los tejidos del mesófilo en las especies <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> (Anexo H). A, Longitud ( $\mu\text{m}$ ); B, Proporción (%); C, Número de células.	62
<b>Gráfica 8.</b> Representación de accesiones y tejidos totales para la proporción y número de células del mesófilo (Tabla 9) en <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> . A, accesiones (proporción); B, tejidos (proporción); C, accesiones (número de células); D, tejidos (número de células).	64
<b>Gráfica 9.</b> Dendrograma de las distancias de 12 individuos de <i>Phaseolus sp.</i> , basados en la distancia Maniatan para conglomerados jerárquicos (entre grupos), para medidas histológicas totales en ( $\mu\text{m}$ ) de pecíolo, nervio principal y mesófilo; mediante el SPSS 14. A, longitud total del pecíolo; B, longitud total del nervio (N-t); C, longitud de mesófilo (M-t).	68

## LISTA DE ANEXOS

	Pag.
<b>ANEXO A.</b> Procedencia de <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i> evaluados.	82
<b>ANEXO B.</b> Caracteres morfológicos evaluados de <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i> .	83
<b>ANEXO C.</b> Preparación de muestras para inclusión en resina de <i>Phaseolus sp.</i>	84
<b>ANEXO D.</b> Esquema metodológico para preparar muestras histológicas de <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i> .	85
<b>ANEXO E.</b> Descripción de caracteres cuantitativos comparables en pecíolo, nervio principal, mesófilo de <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i> .	86
<b>ANEXO F.</b> Promedios de las tres variables de los tejidos en el pecíolo de <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	87
<b>ANEXO G.</b> Promedios de los tejidos de las tres variables en el nervio principal de <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	88
<b>ANEXO H.</b> Promedios de los tejidos de las tres variables en el mesófilo de <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	89
<b>ANEXO I.</b> Prueba Kruskal-Wallis para las variables de longitud ( $\mu\text{m}$ ) y distribución (%), en pecíolo, nervio principal y mesófilo de <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	90
<b>ANEXO J.</b> Prueba ANOVA para la variable número de células por estrato en pecíolo, nervio y mesófilo de <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i> y <i>P. vulgaris</i> .	91
<b>ANEXO K.</b> Comparaciones múltiples (Tamhane) para la variable proporción en <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i> .	92
<b>ANEXO L.</b> Comparaciones múltiples (subconjuntos-Duncan) para la variable número de células en <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i> .	101

## RESUMEN

La diversidad morfológica presente entre las especies de *P. dumosus* y *P. coccineus* previamente agrupadas en variantes y “posibles híbridos” por Sanabria *et al.*, (2005) y Molano (2006), con materiales procedentes del suroccidente colombiano (Cauca, Nariño y Putumayo) fue caracterizada y comparada anatómicamente mediante 12 accesiones “Ex situ” correspondientes a *P. dumosus* y *P. coccineus* y un blanco *P. vulgaris*, mediante cortes transversales de hoja de las estructuras de pecíolo, nervio principal y mesófilo, usando las técnicas de corte en resina (Suprr) y a mano alzada para microscopía de luz (MOAR). El estudio comprendió la descripción cualitativa en la forma y contorno y cuantitativamente en tres variables: longitud, proporción y número de células; analizando el contraste de las accesiones y los tejidos entre las especies, en cada estructura (pecíolo, nervio principal y mesófilo). Los resultados muestran que las accesiones de las especies de *P. dumosus* y *P. coccineus* son homogéneas anatómicamente en forma y/o contorno de los tejidos de las estructuras de pecíolo, nervio principal y mesófilo; *P. vulgaris* presentó diferencias respecto a las dos especies en el tipo de granulometría (almidones) y elementos cribosos (cristales de composición desconocida). Cuantitativamente las variables presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $\leq 0,01$ ) en algunos los tejidos analizados, que sin embargo a nivel general estos no correspondieron a valores altamente confiables para discriminar o agrupar las variantes y posibles híbridos de *P. dumosus* y *P. coccineus* señalados por Sanabria *et al.*, (2005) y Molano (2006); la variable proporción y número de células evidenciaron diferencias en 15,36 % y las accesiones en 12,90 % de los tejidos, estableciendo que son homogéneos los datos cuantitativos en un 84,64 % y 87,10 % respectivamente. El método usado para la caracterización y comparación concluye que es una manera rápida y precisa de obtener datos histológicos aplicables a la anatomía de las especies *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*, como apoyo a otras disciplinas para el conocimiento de las mismas.

**Palabras claves:** *Phaseolus dumosus* Macfad., *Phaseolus coccineus* L., *Phaseolus vulgaris* L., anatomía foliar, histología vegetal.

## INTRODUCCIÓN

La familia Leguminosae A. L. Jussieu (1789) o Fabaceae Lindley (1836) es la tercera más rica en número de especies entre las angiospermas (o Magnoliophyta) con aproximadamente 727 géneros y 19.235 especies (Romero *et al.*, 2007), presentando la mayor importancia económica mundial después de las Gramíneas (Forero, 2005).

El género *Phaseolus* Linneo (1753) es de origen americano; cuenta con cerca de 50-60 especies (Broughton *et al.*, 2003), de las cuales se cultiva *P. vulgaris*, *P. lunatus*, *P. coccineus*, *P. dumosus* y *P. acutifolius*, siendo aprovechadas desde tiempos precolombinos, como fuente principal de proteína (Debouck, 1992). El cultivo de fríjol común *P. vulgaris* L. es considerado como uno de los más antiguos, con evidencias desde 6000 y 8000 años en Centroamérica y Suramérica respectivamente (Schmit y Debouck, 1991), aunque pruebas arqueológicas de C<sup>14</sup>, lo ubican entre 8000 a 10000 años (Voysesst, 1983; Gepts, 1991; Debouck *et al.*, 1993).

*P. vulgaris*, se distribuye a nivel mundial, las demás especies cultivadas se encuentran en América, posiblemente desde Canadá, pasando por Centro América hasta Argentina, Chile, Bolivia y Brasil. Se considera como primer centro de diversificación a los altiplanos en México (Jalisco, Chiapas), bordeando Guatemala con extensiones al suroeste de Estados Unidos, y el segundo a Suramérica en los Andes (Gepts, 1991; Freytag y Debouck, 2002).

Investigaciones biológicas y agronómicas desde 1980 se han concentrado generalmente en los estudios de *P. vulgaris*, por su importancia comercial a nivel mundial; las demás especies aunque presentes en la agricultura moderna, presentan un interés comparable o superior al fríjol común (Debouck, 1992) y se cultivan para autoconsumo en la agricultura tradicional indígena y campesina (Sanabria *et al.*, 2005).

En el suroccidente colombiano se documentó la distribución geográfica de 43 materiales de *P. dumosus* y *P. coccineus*, llamado fríjol cache, colectados en Cauca, Nariño y Putumayo, manejados *in situ* en varios niveles: semisilvestre en hábitats de zonas húmedas, vegetación secundaria de laderas y riberas de ríos y cultivados, y es considerado como un recurso de alto valor alimenticio, medicinal y forrajero, que hace parte de la economía familiar indígena y campesina (Sanabria *et al.*, 2005). La diversidad morfológica presentó 10 variantes, 2 de *P. dumosus* y 5 de *P. coccineus*, y 3 posibles híbridos. Este trabajo caracterizó las hojas de *P. dumosus* y *P. coccineus* a partir de la histología y comparó las 10 variantes, en el marco del proyecto Unicauca ID 1881VRI “Estudio comparativo de la fenología y crecimiento *Ex situ* de las variantes y posibles híbridos de *P. dumosus* y *P. coccineus* del suroccidente colombiano” (Sanabria, 2005).

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 CONSIDERACIONES GENERALES DE *Phaseolus dumosus* Macfad. Y *Phaseolus coccineus* L.

La taxonomía del género *Phaseolus* es discutida, debido principalmente a su compleja morfología floral y falta de acuerdo en la definición de las especies que lo componen (Delgado, 1985 en: Basúrto, 2000), existen alrededor de 400 especies que se han descrito desde el 1700s (Freytag y Debouck, 2002) y hay propuestas de 40 – 55 especies (Debouck, 1992)

Freytag y Debouck (2002) en una revisión del género *Phaseolus* para Norte y Centroamérica, sugieren que *P. dumosus* Macfad. (1837) es el nombre específico correcto para llamar a *P. polyanthus* Greenm (1907), siguiendo a Lackey (1983) prioritariamente por ser descrita 70 años antes.

En la discusión de las especies *P. dumosus* y *P. coccineus*, entorno a su filogenética, se ha considerado a *P. dumosus* como un híbrido entre *P. vulgaris* y *P. coccineus* (Hernandez *et al.*, 1959 en: Smartt, 1972); con análisis enzimáticos ubican a *P. dumosus*, como subespecie de *P. coccineus* (Piñero y Eguiarte, 1988); pero evidencias de proteínas (faseolina) (Schmit y Debouck, 1991), ADNcp (Schmit *et al.*, 1993; Llaca *et al.*, 1994; Tovar, 2001) y ADNtotal (Tovar, 2001; Sanabria *et al.*, 2005 y Molano 2006), han sugerido según sus resultados el posicionamiento de *P. dumosus*, como un taxón independiente de *P. coccineus*.

### 1.2 DIVERSIDAD DE *P. dumosus* y *P. coccineus*

Sanabria *et al.*, (2005) y Molano (2006), estudiando la morfología de *P. dumosus* y *P. coccineus* en 43 accesiones, usando descriptores varietales para *P. vulgaris* de Muñoz *et al.*, (1993), determinaron 10 variantes, 5 para *P. coccineus*, 2 para *P. dumosus*, y 3 con estadios intermedios sugiriendo que son posibles híbridos; representado en 11 accesiones (Anexo A). Análisis moleculares, Molano (2006) y Navia (2006) de las dos especies con microsatélites RAMs, evidencian una mayor variabilidad en *P. coccineus* reflejado en el mayor número de variantes morfológicas contrario a *P. dumosus*. Contrario a estudios polínicos de Muñoz (2006) que evidencia uniformidad morfológica (forma, tamaño y número de aberturas de los granos de polen), ubicando a *P. dumosus* y *P. coccineus* como similares polínicamente (*estenopalínoligo*). Los autores sugieren que hay una relación de las dos especies en la posible formación de un complejo, probablemente por un flujo de genes entre ellas y *P. vulgaris*; donde *P. dumosus* presenta mayor distribución en el

suroccidente con menor variación intraespecífica, en contraste, *P. coccineus*, con menor distribución espacial y mayor variación intraespecífica (Sanabria *et al.*, 2005).

Orjuela (2006) en una etnografía de Caldoño, Cauca y Navia (2006) evaluando el manejo *In-situ* de cultivares tradicionales de *P. dumosus* y *P. coccineus* en el suroccidente colombiano, estudiaron la dinámica de circulación de tales especies, entre espacios considerados silvestres (monte) hacia cultivados (huertas caseras) y viceversa, atribuyendo que puede estar ocurriendo una domesticación de las plantas debido al constante manejo agrícola y la intervención social en los procesos naturales de las plantas que además hacen parte de la conservación *In situ* e influyendo en la generación de diversidad dentro de las especies, posibilitando el flujo genético entre éstas, que manejadas en conjunto en el mismo lugar generan el desarrollo de híbridos (Sanabria *et al.*, 2005).

Tovar (2001) usando la técnica AFLPS con ADNcp y ADNtotal en 36 materiales, atribuye homogeneidad a la diversidad de *P. dumosus* y *P. coccineus*, discutiendo que es debido a la polinización “alógama” (polinización cruzada), contrario a *P. vulgaris* autógama, probablemente por el constante flujo del material genético, conservando la población cultivada una estructura genética similar, además comparten una distribución ecológica similar en ambientes de alta montaña; igualmente reflejando en una introgresión genética entre las tres especies, como un producto del flujo genético y al reducido aislamiento reproductivo en la actualidad presentan híbridos naturales. Freytag y Debouck, (2002) señalan la existencia de híbridos en Putumayo (Colombia) y el norte de Ecuador entre *P. coccineus* y *P. dumosus*.

### 1.3 HISTOLOGÍA FOLIAR EN *P. dumosus* y *P. coccineus*

Los tejidos foliares en *P. dumosus* y *P. coccineus*, han sido poco estudiados, recurriendo a comparaciones de especies afines del género, a la subfamilia y a otro tipo de tejidos de la planta; ya que la información disponible en la literatura es poca.

Metcalf y Chalk (1957) investigaron la anatomía de las dicotiledóneas (hojas, tallo y maderas en relación taxonómica), describieron en la subfamilia Papilionaceae (Faboideae) tomando hojas de *Phaseolus sp.*, la presencia de tricomas uniseriados rectos y ganchudos (unciformes) “hooked hairs” con células basales cortas acompañando la célula alargada terminal y tricomas glandulares del tipo claviformes “club-shaped” comunes en Phaseoleae, con la cutícula engrosada rodeando y protegiendo las membranas de celulosa y células epidérmicas de paredes anticlinales angulares, incluyendo porciones de células mucilaginosas. Presentan estomas paracíticos, el mesófilo ocupado por células parénquimáticas que contienen a menudo clorofila, presentando islotes de aerénquima, el pecíolo contiene una hebra vascular continua y haces laterales hacia la corteza con fibras continuas de esclerénquima y presencia de cristales romboedrales en el floema.

Enright y Cumbie (1973) realizaron un estudio sobre tallo y desarrollo de los internodos de *P. vulgaris* L., evaluando 40 plantas de condiciones controladas en varios estadios del

desarrollo, evidencian que el procámbium es relativamente homogéneo y durante el desarrollo del tallo el meristemo vascular adquiere características de cámbium en el desarrollo secundario, también es considerable la cantidad producida de xilema secundario y consistencia de vasos, fibras y parénquima axial, su formación es contraria a la del xilema primario, esparciéndose hacia afuera los cilindros secundarios.

Percy y Santa (1976) revisaron el patrón estomático paracítico en la familia Leguminosae (Fabaceae), mediante la técnica de colodión “acetato de celulosa” en 150 especies de incluyendo *P. dumosus* Macfad., del herbario de la Universidad de Antioquia, evidencia, la presencia de estomas paracíticos tipo II (células de guarda completamente rodeadas por las células subsidiarias “mesógenas”) en *P. dumosus*.

Flores *et al.*, (1977) estudiaron las células epidérmicas de *P. vulgaris* L., mediante microscopía electrónica de barrido, describen la hoja como anfiestomática presentando estomas del tipo paracíticos y presencia de poros redondos no identificados, los tricomas de dos tipos: uniseriado (rectos y ganchudo) y multiseriado glandular, exhibidos en toda la hoja, excepto en las venas del haz; las células epidérmicas son largas rectangulares de paredes lisas, los tricomas y estomas presentan mayor cantidad en el envés; las células epidérmicas de las aréolas son de forma irregular y paredes profundamente onduladas cubiertas de una cutícula estriada, en el envés las células epidérmicas de venas y aréolas son mas pequeñas que las del haz tendientes a mantener la misma forma.

Lackey (1978) evaluó 122 especies en 80 géneros, que incluyen a *Phaseolus* (*P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*), de especímenes de herbario, con uso de microscopio de luz evidencia en la hoja un mesófilo (paravial) venas formando una red regular, pobres en clorofila, uno, dos o varios (algunas veces) estratos de células del parénquima de empalizada y presencia de cristales de oxalato de calcio, también cita este autor a Debold (1982) y Solereder (1899) quienes coinciden con el mesófilo paravial “mittelchicht”; la epidermis adaxial presenta células poligonales sin o con pocos estomas (paracíticos), la cara abaxial tiene células redondas con frecuentes estomas, los tricomas uniseriados “dreizellige haare” casi universal en la tribu formados por dos células cortas, rodeadas en la base por células regulares epidérmicas a menudo ordenadas ligeramente alrededor y una célula distal que varia desde largas a casi espinosas, también se describen tricomas ganchudos, siendo mas cortos que los uniseriados, los tricomas glandulares talludos comunes en Phaseoleae presentan un cuerpo multicelular soportado por un tallo uniseriado.

Engleman (1979) investigó sobre la anatomía y morfología de *P. vulgaris* L., describió los tejidos de el ápice del vástago hasta la raíz y el cotiledón, menciona la presencia de tubos cribosos en el xilema secundario del tallo inferior y de la raíz incluyendo las carnosas como las de *P. coccineus* L., este hecho se presenta también en *P. lunatus*, y *P. coccineus ssp. darwinianus* Hdz. X. y Mianda. (*P. dumosus* Macfad.) y generalmente en las que tienen un diámetro o mayor a 15 mm. Señala que los resultados son confusos debido a que en algunas plantas de las mismas especies se presenta y en otras no.

Grimson *et al.*, (1982) aislaron los cristales del interior de la vaina de *P. vulgaris* L., estudiados mediante microscopía de barrido, evidencian la presencia de cristales del tipo monohidratado por su alta birrefringencia y morfología, presentándose en dos formas: curvo y recto, distribuidos equitativamente en número y tamaño (40 – 50  $\mu\text{m}$  de largo, 20 – 25  $\mu\text{m}$  de ancho y 5 – 10 de profundo) y conformados por una subunidad básica para el cristal recto y dos para el curvo, algunos presentan una grieta y ambos presentan erosión después de 48 h expuesto al agua. Mencionan la presencia de cristales pequeños circulares de composición desconocida, siendo un poco refringentes a la luz polarizada.

Hayes *et al.*, (1985) caracterizaron la anatomía y fisiología de las estructuras celulares en áreas superficiales de la membrana plasmática y frecuencia de plasmodesmos de tallo en relación con la transferencia fotosintética radial de *P. vulgaris*; describieron a nivel anatómico el tallo con 15 vasos vasculares colaterales (aprox.), alrededor del parénquima medular, las células medulares forman una laguna central, cada haz vascular forrado por varias filas de fibras en el protofloema y separadas de las vecinas por células parenquimáticas 2 – 3 estratos, las casi continuas fibras de protofloema, separadas de la epidermis por 4 estratos de células corticales, presentado crecimiento secundario. El liber conformado por fibras floemáticas y elementos del metafloema funcional asociado a células acompañantes, el complejo del floema vivo (elementos taninos – células acompañantes), forma de 4 – 8 grupos de tubos cribosos y sus células se caracterizan por localizarse en la periferia que usualmente se asocian entre 1 – 4, separados por 1 – 2 vacuolas largas del parénquima, de no a parcialmente vacuolizado el parénquima del floema. El xilema primario conformado por tráqueas proto y metaxilemáticas, el crecimiento secundario evidencia la presencia continua de anillos de pared gruesa, desarrollando fibras del xilema secundario entre 2 – 5 anillos concéntricos, diferenciando solo una traqueida hacia los radios de los vasos del xilema primario, y/o pequeños grupos parcialmente diferenciados en el complejo del floema vivo; tanto xilema y floema permanecen completamente diferenciados.

Terhune *et al.*, (1991) comparan el desarrollo y morfología estomático en *P. vulgaris* L., en la infección de *Uromyces appendiculatus* empleando 111 plantas en condiciones de invernadero, mediante microscopía de luz, electrónica de transmisión y barrido, evidencian a nivel morfológico que el aparato estomático es similar a las de otras dicotiledóneas, las células guardas opuestas con las salientes en el exterior e inferior como límite de la apertura y los labios son extensiones de la cutícula.

Zaiter *et al.*, (1990) realizaron una comparación de la interacción abaxial de la pubescencia de las hojas de frijoles (*P. vulgaris* L.) en dos especies pubescentes (Pompadour Checa-50 y Jose Beta 83-21), con ocho glabras (Chichara, A-55, Agate, EP-1, Harris, Spinel, EZ Pick y 78631), evaluando la segregación (pubescente x glabro) hasta una  $F_3$ , en dos tipos de tricomas: el recto y unciforme, los resultados evidencian que la pubescencia se presenta dominante y sugieren que esta determinado por un gen importante o recesivo, dependiendo de las plantas a cruzar.



Voltan *et al.*, (1991) realizaron una comparación morfológica de plantas con hojas lisas y rugosas de *P. vulgaris*, en dos ambientes: invernadero y campo, describen en general a las plantas con una epidermis adaxial y abaxial de células irregulares y en las venas están paralelas a las nervaduras, con mayor espesor de las células de la cara adaxial; la hoja es anfiestomática, presenta mas densidad en el envés y un par de células guarda con clorofila que no se presenta en las células anexas, el ancho de los estomas abaxial es mayor en hojas lisas que en las rugosas en los dos ambientes, solo presentaron diferencias en el lado adaxial las plantas del invernadero, el largo de los estomas es mayor en la epidermis adaxial de planas rugosas en los dos ambientes, en el lado abaxial presentaron diferencia solo las de hoja lisa en campo. El mesófilo del tejido en empalizada presenta células elongadas y perpendiculares a la epidermis con un estrato las desarrolladas en invernadero y dos estratos en algunas regiones del limbo foliar de las desarrolladas en campo (más evidente en plantas rugosas), el tejido esponjoso tiene células ordenadas irregulares entre 4 – 5 estratos; el espeso total y densidad es mayor en hojas rugosas que en lisas.

Dahlin *et al.*, (1992) en la caracterización y densidad de tricomas en tres cultivares de frijól común (*P. vulgaris* L.) “Hill Z, Pompadour Checa y Diacol Calima” mediante microscopía electrónica de barrido (SEM); en ambas superficies (adaxial y abaxial), observaron tres tipos de tricomas: rectos, unciformes y glandulares en ambas caras de la hoja y en las tres variedades. Las diferencias en densidades de los tres cultivares no fue significativa aunque mostró alta en Pompadour Checa, media en Diacol Calima y baja en Hill Z, sugieren los autores que las tres variedades poseen una única característica en la distribución y densidad en los tricomas, teniéndose en cuenta para futuros desarrollos de cultivares ya que la presencia de estos confiere resistencia a plagas o imprevistos de adaptación ambiental.

García y Madriz (1999) estudiaron la anatomía foliar de *Vigna radiata* (L.) Wilczek., perteneciente a la subfamilia Papilionidae, evaluaron cinco fenotipos, usando la técnica de fijación para histología formalina-ácido acético-etanol 70% (FAA), muestran que la composición foliar es semejante en la anatomía del mesófilo (hojas bifaciales con 2-3 estratos de células del parénquima clorofiliano en empalizada hacia la cara adaxial y 5-7 capas de parénquima esponjoso del lado abaxial), la epidermis (tricomas tector unicelular y estomas paralelocíticos), el nervio central y la micromorfología, solo se observaron diferencias en las variables cuantitativas de la epidermis (densidad de estomas y tricomas), y evidenciando que son comunes las estructuras estomáticas, tricomas y el mesófilo a otros miembros de la subfamilia.

Navea *et al.*, (2002) evaluaron la respuesta anatómica de 3 fenotipos silvestre (Chitamá, G10019A y JAG113) con 3 cultivados (Chiapas, Michoacán y Durango), todos de origen centroamericano a estrés hídrico con variables de área foliar, espesor de la hoja y rasgos anatómicos. No se revelaron diferencias en el espesor de la hoja entre los materiales, sin embargo en las plantas cultivadas el parénquima en empalizada predomina sobre el esponjoso, contrario a los silvestres; concluyen que hay diferencias en la anatomía de la hoja entre silvestres y cultivados mexicanos y sugieren que los cultivados favorecen el alargamiento del área foliar y el incremento del parénquima en empalizada.

Herrera-Flores *et al.*, (2005) estudiaron la existencia de diferencias entre las especies *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris* en la estructura anatómica de la vaina”; compararon la anatomía de vainas de sus respectivos silvestres, en tres edades (20, 25 y 50 días de germinación) evidencian la relación de *P. dumosus* y *P. vulgaris*, en la presencia de polifenoles en espacios pequeños de la epidermis, contrario *P. coccineus*, y concluye que hay diferencias en las estructuras de tejidos de la vaina, a partir de las estructuras maduras (25 días) para las tres especies.

Stenglein *et al.*, (2004) realizaron una comparación micromorfológica en cuatro variedades de *P. vulgaris* centroamericanos, se describe la superficie con células epidérmicas de paredes anticlinales sinuosas, los tricomas uniseriados (rectos, unciformes) con dos células basales pequeñas y una apical larga, rodeados de 4 – 5 células epidérmicas y glandulares multicelulares con una célula basal, rodeado por 4 – 6 células epidérmicas y un tallo uniseriado o biseriado, el cual soporta un gorro de 2 – 4 células; los estomas paracíticos, anomocíticos y anisocíticos, los dos últimos reportados por primera vez. Evidencian en todas las variedades diferencias cuantitativas en la densidad y tamaños de tricomas uniseriados (rectos, unciformes) y estomas, en las hojas de frijoles, sugiriendo que hay presencia de variabilidad genética, por las características epidérmicas de la hoja, debido a factores genéticos o adaptaciones por el ambiente de la especie.

Stenglein *et al.*, (2005) examinando dos folíolos (central y tercero) de 66 hojas en 11 accesiones de *P. vulgaris* var. *aborigineus* colectados en la parte sur de los andes, describieron tricomas uniseriados (recto y unciformes) y glandulares, los estomas solo de dos tipos paracíticos y anomocíticos, evidencia diferencias en los caracteres epidérmicos de la hoja como: deposición de cera cristalina, cutícula, tipos y densidad en tricomas y estomas en todas las accesiones. Las diferencias de los dos folíolos analizados (central y tercero) de una misma accesión no presentaron diferencias estadísticamente significativas y son semejantes de caracteres de otras variedades de *P. vulgaris*.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS DE *P. dumosus* y *P. coccineus*

Orden:	Fabales
Familia:	Fabaceae
Subfamilia:	Faboideae
Tribu:	Phaseolae
Subtribu:	Phaseolinae
Género:	<i>Phaseolus</i>
Especie:	<i>P. dumosus</i> Macfadyen <i>P. coccineus</i> Linneo

Fuente: Judd *et al.*, 2002

**2.1.1 *Phaseolus dumosus* Macfad. (1837).** Se conoce con los sinónimos específicos de *P. polyanthus* Greenm., *P. flavescens* Piper., *P. leucanthus* Piper., *P. harmsianus* Diles., *P. coccineus* subsp. *darwinianus* E. Hernández & Miranda (Freitag y Debouck, 2002) y *P. coccineus* subsp. *polyanthus* (Greenm.) Maréchal, Mascherpa & Stainier (1978) (Schmit y Debouck, 1991).

Los nombres comunes mas conocidos son: xujumel, botil, acatetl, botil, ibis (México); piloya, piloy piligüe, ixich (Guatemala); toda la vida (Ecuador y Perú); petaco de año, torta, fríjol de año, petaco, cacha, fríjol añero o veranero, fríjol tranca (Colombia) (Schmit y Debouck, 1991; Debouck, 1992; Sanabria *et al.*, 2005).

Este taxón esta recientemente reconocido, como consecuencia de la identificación de sus formas ancestrales de Guatemala (Schmit y Debouck, 1991), no cuenta con registros arqueológicos y se considera como el más reciente domesticado de los cultivados; reporta una producción entre 300-3.500 kg/ha. (Debouck, 1992).

- **Descripción botánica.** Plantas de crecimiento aéreo en enredadera indeterminada 8 – 10 m o más viven de 2 - 4 años en partes secas. *Raíces* fibrosas, algunas gruesas fasciculadas anuales o perianuales. *Tallo* vástagos jóvenes de 3 mm de diámetro, provisto y cubierto con pubescencia estrigosa, a nivel del suelo robustos angular-estriado de 2 cm de grueso, perennes. *Estípulas* foliares, casi glabras, algunos con pelos en la superficie adaxial y margen. *Hojas* trifoliadas 30-39 cm largo; pecíolo de 15-20 cm long., robusto de 3 mm de diámetro; peciólulo 4-5 cm largo, con escaso pelos adpreso-estrigosos; el pulvínulo 4-5 mm de largo, cubierto con densa pubescencia estrigosa; el ápice de la hoja es ampliamente ovado en 1/3 de la base, acuminadá, apiculadá; los foliolos laterales desiguales,

adaxialmente estrigosa y pubescente sobre todo en las venas, la superficie abaxial casi glabra, tiene 3 nervios principales con pelos largos en la base de las venas, a menudo 2 venas más pequeñas marginales, casi membranosas muy finas; tienen un patrón verde claro en las venaciones con respecto al mesófilo. *Inflorescencia* en panícula, 2 flores tempranas en un eje secundario ramal en la antesis y las tardías producidas en las ramas, el pedúnculo principal, firme, erecto; raquis igual o más largo que el pedúnculo, cubierto con pubescencia dispersa; brácteas pedicelares, lanceoladas, el pedicelo lanceolado 2-4 mm. *Brácteas* lineares estrechas, oblongas, de 3 - 5 nervios agudos, márgenes hialinos, escaso o muy cubiertos con pelos estrigados. *Flor* púrpura o raramente blanca; el cáliz cubierto abaxial de pelos color marrón amarillo, especialmente el lado adaxial y glabro lateralmente, 3 lóbulos bajos, redondeados, levemente dentados, cubierto con pubescencia en ambas superficies; lámina redondeada, erguida; espina amplia y no definida, las aurículas poco desarrolladas, redondas, ahuecada; el estilo 1.5-1.75 mm largo, adherido a la quilla; lámina 14 mm largo x 12 mm ancho; el estambre 8.5 mm, cantos apenas desarrollados; anteras 0.75 mm largo; collar básico denticulado; ovario con 4 óvulos; el estilo 7 mm largo y estigma terminal, capitado e introrso, oblicuo. *Vaina* erguida cerca del tallo; las suturas fuertes al inferior redondeado las valvas planas, farináceas-pustulados, pubescencia corta, corta en fibras blancas; ápice casi recto. *Semilla* 70 – 100 g; oblonga, aplanada, 11.5 mm largo x 8.6 mm grueso x 3.9 mm grosor, aplanada alrededor del hilum; el hilum ovado-oblongo, con una cicatriz continua; el rafe prominente dividido. *Germinación* epígea; el hipocótilo 3-6.5 cm largo; epicótilo 3.5-4 cm largo; el entrenudo siguiente a 5 cm o más; estípulas presentes; lámina ovoide triangular, la base angular ampliamente auriculada, la extremidad acuminada y no apiculada, membranosa, casi glabro (Freytag & Debouck 2002) (Fig. 1A)

● **Distribución.** Se encuentra en Centro y Suramérica entre altitudes de 800-2900 m, bajo climas frescos y húmedos (Freytag y Debouck, 2002; Sanabria *et al.*, 2005), prefiere suelos profundos, orgánicos, húmedos y filtrantes, entre pH de 6.2 – 6.5 y tolera cierto nivel de sombra (Debouck, 1992).

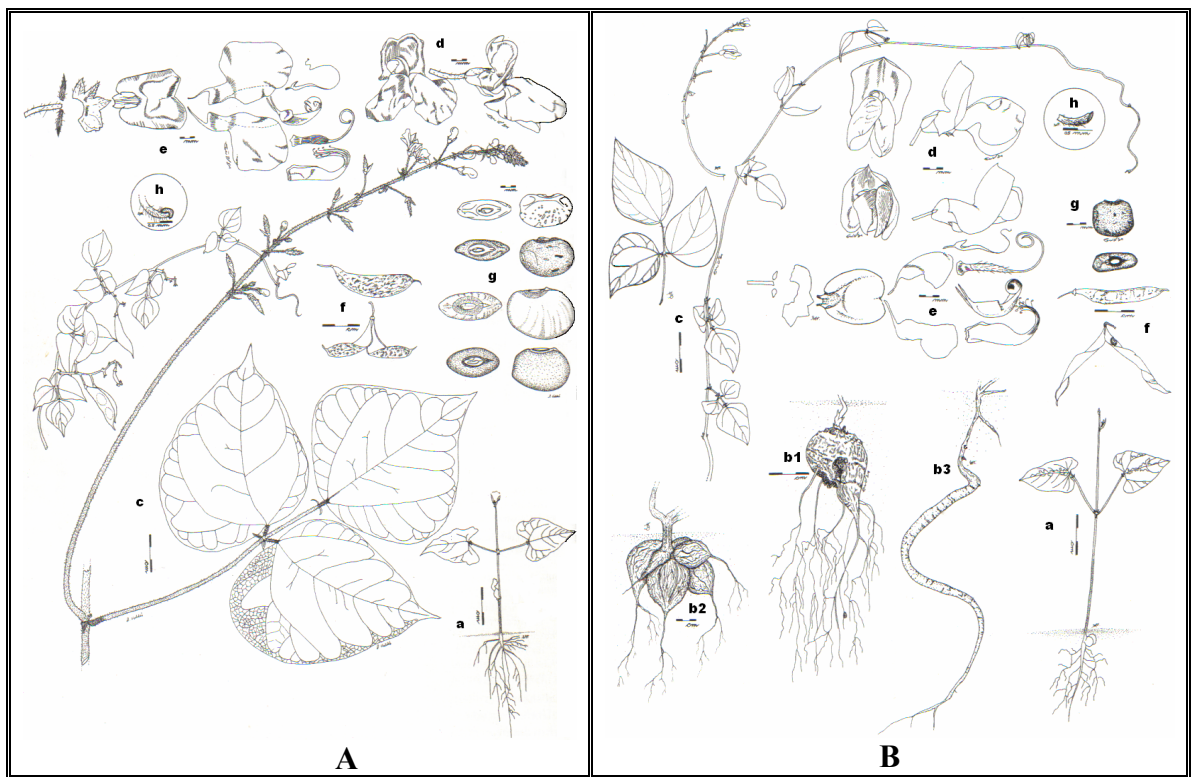
En el suroccidente colombiano se encuentra en vegetaciones secundarias, en zonas alto andinas y valles interandinos de la cordillera central, inclusive en zonas boscosas, en temperaturas de 3 – 24 °C y precipitaciones de 790 – 2000 mm (Sanabria *et al.*, 2005). Su forma silvestre solo se ha encontrado en Guatemala (Debouck, 1992).

**2.1.2 *Phaseolus coccineus* Linneo (1793).** Los sinónimos específicos, son muchos (aprox 34) (INPI, 2007; MBG-W3TROPICOS, 2007) debido a la forma compleja de la especie, que presenta aproximadamente 20 variedades, los mas comunes son: *P. multiflorus* Lam., *P. formosus* Kunth., *P. sylvestris* Kunth., *P. superbus* A.DC., *P. prorifirus* M. E. Jones., *P. leiiosepalus* Piper (Freytag y Debouck, 2002).

Los nombre comunes más conocidos son: abacote, patol, botil (México); Chonborote, piloy (Guatemala), cubá (Costa Rica) (Freytag y Debouck, 2002), cache, fríjol añero o veranero, fríjol tranca (Colombia) (Sanabria *et al.*, 2005)

Los datos arqueológicos datan de 10000 y 7500 – 9000 años, encontrados en México y ha sido cultivada en las partes altas de Mesoamerica por muchos siglos, las modificaciones por domesticación existe desde hace 7000 a 9000 años (Kaplan y MacNeish, 1960 en: Basurto, 2000); se registran silvestres en Centroamérica; su introducción en el sur de Colombia y en Europa podría haber ocurrido a partir del siglo XVII y se le ha estimado una producción de 400-4.000 kg/ha y 400-1.000 en formas arbustivas (Debouck, 1992).

**Figura 1.** Estructuras morfológicas del frijol cache. **A**, *Phaseolus dumosus* Macfad. **a**, Planta en germinación; **b**, Tallo; **c**, Hojas maduras con pecíolo; **d**, Hojas frontal y lateral; **e**, partes de la flor; **f**, Vaina; **g**, Semillas; **h**, Estigma; **B**, *Phaseolus coccineus* L. **a**, Planta en germinación; **b1**, Raíz de año; **b2**, Raíz de 2 años; **b3**, Raíz inusual; **c**, Tallo con hojas; **d**, Flores frontal y lateral; **e**, partes de la flor; **f**, Vaina; **g**, Semillas; **h**, Estigma.



Fuente: modificado de Freytag & Debouck (2002).

- **Descripción botánica** Planta vigorosa aérea o raramente postrada, indeterminada, 1 – 5 m envuelta sobre arbustos largos y árboles pequeños, *Raíz* globosa, fusiforme, ramificado con frecuencia, pluriannual, creciendo verticalmente u horizontalmente. *Tallo* la base a 1 cm de grueso, los entrenudos a 11 cm de largo, color verde o purpurino. *Estípulas* foliares, triangulares con 4 a 8 nervios, moderadamente pubescente a glabro. *Hojas* 6.5-16 cm. largo presentan venaciones verde con pigmentación púrpura; pecíolo 2.3-7.5 mm largo; peciólulo 0.9-2 cm largo; pulvínulo 2.5-4 mm largo, pubescente; el ápice ovado de romboide a lanceolado 1/4 de ancho en longitud foliar, hojas acuminadas, apiculadas, a menudo anchas en la base, coriáceas, glabrescentes sobre todo en las bases glandulares y en las venas,

márgenes ciliadas a menudo a lo largo de las venas principales. *Inflorescencia* en racimo corto erguido, el pedúnculo 7-14 cm largo, raquis de 2 a 6 nudos florecientes, casi glabros altamente pubescentes; brácteas lanceoladas, de 3 a 15 nervios, glabros y pubescentes; pedicelo delicado, poco pubescente en la superficie adaxial. *Brácteas* ovadas de 3 a 16 nervios, casi glabras, temporales después de la fertilización. *Flor* roja ladrillo (escarlata), frágil especialmente el estandarte y las alas, 2 – 3 por nudo, las vainas 2 – 3 o más por inflorescencia; el cáliz 5 mm largo, el diente central bajo y lateral, aguda, glabrosa; lámina redondeada, ahuecada; quilla enrollada adelante de la espina; estambre vexilar; anteras de 0.75-0.9 mm largo; ovario derecho con 3-4 óvulos; el estilo en la parte terminal espeso; estigma terminal capitado completamente y extrorso, oblicuo. *Vaina* pequeña, recta, las válvulas fibrosas, con las suturas gruesas, pubescentes, verde con rayas púrpuras, tempranamente dehiscente por una torcedura completa. *Semilla* oblonga, aplanada, 7 mm largo x 6 mm ancho x 3 mm alta, color brillante, marrón, negro u oscuro manchado y rayado en marrón ligero, rojo, o fondo púrpura (raro blanco en cultivares), un anillo negro alrededor del hilum; el óvalo del hilum de 1.5 mm largo. *Germinación* hipógea; hipocótilo no alargado; el epicótilo 9 mm largo; estípulas en el nudo; las hojas primarias simples, el pecíolo 33 mm largo; estípulas presentes, la lámina ovada triangular, algo aurícula, ápice agudo, levemente apiculado, pubescente variando de oscura y verde claro (Freitag & Debouck 2002)

- **Distribución** Soporta precipitaciones superiores a otras especies de *Phaseolus*, 400 – 2800 mm, en temperaturas de 12 - 22 °C., se distribuye en Centroamérica y el norte de Suramérica, la forma silvestre se extiende desde México hasta Panamá entre 1 400 y 2 800 m (Debouck, 1992). Al igual que *P. dumosus*, en el suroccidente colombiano crece en el bosque húmedo de zonas alto andinas y valles interandinos de la cordillera Central en ambientes de 3 – 17 °C y precipitaciones de 790 – 2000 (Sanabria *et al.*, 2005).

## 2.2 ETNOBOTÁNICA DE LAS ESPECIES

Las especies *P. dumosus* y *P. coccineus* han presentado un manejo por las comunidades desde tiempos precolombinos para la alimentación (como fuente de proteínas) (Debouck, 1992), y su formación de diversidad es considerada debido a las migraciones de las comunidades que llevaban las plantas a causas: agrícolas (ciclo de vida y adaptación), culturales y económicas (Martínez-Alfaro, 1992). Los primeros indicios de domesticación de la especie fueron en *P. vulgaris* de 5500 a 7000 años en el centro de México, intensificándose el cultivo en los siglos I y VII. *P. coccineus* y *P. dumosus* (*P. polyanthus*) registran manejo desde hace 2200 años (León, 1992).

En el suroccidente colombiano, las comunidades hacen uso de *P. coccineus*, y *P. dumosus*, en una dinámica de circulación de las plantas entre espacios considerados silvestres (monte) hacia espacios cultivados (huertas caseras) y viceversa, proponiendo estos sitios de manejo agrícola y de intervención social, donde pueden haber procesos de domesticación de las plantas y formación de diversidad (Sanabria *et al.*, 2005; Navia, 2006 y Orjuela, 2006).

## 2.3 ASPECTOS HISTOLÓGICOS

La histología (g. *histos*: tejido de telar), es la ciencia que estudia las células, su estructura y los elementos con los que se relaciona en la matriz extracelular y parte de la anatomía que trata los tejidos orgánicos (LeMoigne, 1982), se identifica en gran medida con lo que se ha llamado también *anatomía microscópica* (Geneser, 1990); considerando según Engleman (1979) la anatomía como el estudio de la estructura interna, diferente a la morfología estudio de la forma externa o de la homología de los órganos.

La importancia de la histología es que permite conocer la microanatomía, en el cual se puede estudiar características propias de cada órgano y especie, en más resolución (aumento microscópico) permitiendo el estudio de la célula o citología (Geneser, 1990). Los tejidos pueden estudiarse mediante proceso o técnicas variadas, las preparaciones pueden ser: inmediatas (propósito de un examen rápido), temporales (dejan tiempo para examinarlas) usando generalmente glicerina o gelatina-glicerada y definitivas o estables (conservadas durante toda la vida) (García-Barriga, 1964), aunque existen cortes en frío (nitrógeno líquido) que evitan el proceso de la fijación (Velásquez y Parra, 1996).

La fijación preserva la morfología y composición bioquímica de los tejidos de los elementos consecutivos de las células, de manera que puedan resistir los tratamientos sucesivos con varios reactivos, sin pérdida, distorsión o descomposición de sus partes, haciendo insoluble el citoplasma celular, pretendiendo evitar su autólisis, impedir la proliferación de bacterias, endurecer los tejidos, facilita el corte y aumentar la afinidad de las estructuras celulares hacia los colorantes (Velásquez y Parra, 1996). Los procedimientos son: *Deshidratación* o extracción agua contenida en los espacios intra y extra celulares (el mejor deshidratador es el etanol), sometiendo el tejido a concentraciones ascendentes en volúmenes 10 veces mayor que el tejido. *Aclaración* o desalcoholización, permite reemplazar el alcohol del tejido, por una sustancia misible (cloroformo o acetona) para incluir en parafina o resina respectivamente. *Inclusión* realiza impregnación del tejido intra y extra celular con parafina o resina, para dar una firme consistencia y dureza. *Cortes* incluidos en resinas, se realizan en ultramicrotomo de 0.1 – 0.5  $\mu\text{m}$  (semi-finos) y 20 – 30 nm (ultra-finos); en microtomo de 1 – 4  $\mu\text{m}$  de grosor para incluidos en parafina y en cortes a mano alzada de 0.5 – 0.1 cm, haciéndose en un mismo sentido, lo mas delgados posibles que dejen pasar a través de ellos la luz (García-Barriga, 1964).

La *tinción* se realiza dependiendo de la naturaleza del colorante: natural (carmin, hematoxilina, safranina, orceína) o artificial (derivados de la destilación de la hulla o anilina, como azul de toluidina, tionina, azul de metileno); de la manera como reaccionan: ácidos o protoplasmáticos presentan radical ácido coloreado tiñendo las partes básicas de la célula), básicos tienen radical básico coloreado tiñendo partes ácidas de la célula) y neutros (mezcla de ácidos y básicos como eosinato de azul de metileno). El método de coloración, directo (alta afinidad al tejido), indirecto emplea mordiente (sustancia química que ayuda a fijar el color), progresiva usa soluciones muy diluidas actuando hasta que alcanza su punto

óptimo y regresiva realizada con una coloración más intensa con sustancias diferenciadoras que ayuda a eliminar el exceso (García-Barriga, 1964; Velásquez y Parra, 1996).

La safranina (**Sa**) ( $C_{20}H_{19}N_4Cl$ ; CAS No: 477-73-6) y el azul de toluidina (**At**) ( $[C_{15}H_{16}ClN_3S]_2 \cdot ZnCl_2$ ; CAS No: 6586-04-5) son colorantes simples del tipo de la anilina pertenecientes al grupo de las tiazinas, metacromáticos (tiñen ciertos tejidos un tono o color muy diferente del que le es propio), los compuestos tisulares que presentan metacromasia son grandes moléculas aniónicas que contienen radicales sulfatos, fosfatos o ácido carboxílico, como polisacáridos ácidos y proteoglicanos. Las moléculas aniónicas que reaccionan con las moléculas del colorante se encuentran separadas por 6 Å, formando enlaces secundarios, entre las moléculas fijadas y la consiguiente polimerización. La Sa permite observar cromosomas, nucléolos y paredes celulares en rojo, presenta metacromasia de rojo a naranja claro; el At tiñe el citoplasma azul claro y el núcleo azul intenso y la metacromasia de rojo a púrpura (García-Barriga, 1964; Velásquez y Parra, 1996; INS, 1993).

**2.3.1 Microscopía óptica de alta resolución (MOAR).** La microscopía óptica de alta resolución (MOAR) es un método histotecnológico, obteniendo cortes de tejido de 0.5 – 2 micras de espesor, de muestras incluidas en plástico, aprovechando al máximo el poder de resolución del microscopio de luz perfecciona la observación de detalles morfológicos (INS, 1993).

La técnica MOAR se diferencia de la microscopía de luz (ML), gracias al perfeccionamiento en las correcciones para aberraciones cromáticas y esféricas de las lentes y hace parte previa de los estudios del microscopio electrónico (ME). A partir de 1956 se introdujeron las resinas epoxicas (plástico), mostrando mayor eficiencia en los cortes finos que los métodos tradicionales (maraglás y metacrilatos), las más usadas son: epón, araldita, Poly-bed y Spurr (Burns y Bretschneider, 1981: en INS, 1993), esta última empleada para materiales vegetales

**2.3.2 Histología foliar.** Las estructuras microscópicas varían en las hojas de las especies según la adaptación al medio ambiente tales como: hidrófitas (acuáticas); xerófitas (desiertos); xeromórficas (desérticas con adaptaciones) y las mesófitas de climas de buena temperatura y humedad (Paniagua *et al.*, 1997).

El crecimiento de las hojas es basípeto, comienza en el ápice y continúa hacia la base, diferenciando como último el pecíolo (crecimiento limitado y uniforme). Las hojas derivan del estrato epidérmico y estratos subepidérmicos en forma de primordios foliares, apartándose del ápice y toma forma de lámina triangular u ovada (*Phaseolus sp.*, forma tres foliolos); conformando tejidos de: *protodermis* células superficiales que origina la epidermis de la hoja, *meristemo fundamental* conformado de células del interior que origina el mesófilo o parénquima foliar y *procambium* células que forman una línea en el interior del meristemo fundamental, conectado con el tallo (Geneser, 1990; Paniagua *et al.*, 1997).



- **El pecíolo** El pecíolo es el enlace entre el limbo foliar y el tallo, las células tienen pocos cloroplastos en comparación con el mesófilo de la hoja, la epidermis es semejante a la del tallo, el parénquima fundamental ocupa todo el espesor del pecíolo hasta los haces vasculares, el colénquima subepidérmico es muy frecuente (Bracegirdle y Miles, 1975; Cortés, 1980; Paniagua *et al.*, 1997).

Visto desde corte transversal hay un número variable de haces vasculares y difieren de la simetría del tallo siendo simétricos respecto a un plano, la disposición es relativa, variando según donde se hagan los cortes. En la base de la hoja (ápice del pecíolo) en leguminosas, son frecuentes los pulvínulos motores (Paniagua *et al.*, 1997).

- **La epidermis.** Son paredes delgadas que rodean la hoja (haz y envés) y con fina cutícula, en hojas mesófitas aunque con variaciones. Al estudiar la epidermis se trata con detalle los estomas y tricomas (glandulares y no glandulares) siendo abundantes; estos últimos aún más en la superficie adaxial o haz (cara hacia arriba) contrario a los estomas que son más abundante en el lado abaxial o envés (cara hacia abajo).

En la taxonomía es importante la posición y presencia de tricomas y glándulas, por su disposición constante en la especie incluso en la variedad (Paniagua *et al.*, 1997); se consideran dos posibilidades en la presencia de éstos, la adaptación al ambiente donde se desarrolle la planta y la constitución genética (Stenglein *et al.*, 2005).

- **El mesófilo.** Constituye los tejidos entre las dos epidermis (haz y envés de la hoja), esta constituido por células parénquimáticas en dos estratos parénquima en *empalizada* y *lagunar*, el primero situado debajo de la epidermis adaxial, con células prismáticas alargadas en sentido dorsoventral (dejan pocos espacios intercelulares), con bastantes cloroplastos rodeando las vacuolas, el número de estratos es de uno a tres, dependiendo de la intensidad de luz; el parénquima lagunar, seguido del empalizada hasta la epidermis opuesta, sus células son de forma irregular (variable), presentando lóbulos, dejando espacios para ser ocupados por el CO<sub>2</sub> a través de los estomas, contiene cloroplastos en menor cantidad que el parénquima en empalizada y el volumen es variable, calcula de 1 a 4, generalmente es menor que el parénquima empalizada (Bracegirdle y Miles, 1975; Paniagua *et al.*, 1997).

- **El nervio principal (vena central o principal).** La venación en angiospermas es reticular, esta penetra por la base de la hoja y se ramifica, formando lo que se denomina costillas, con una serie de ramificaciones menores, estas penetran al mesófilo que termina en el extremo ciego. El nervio principal constituido de células parenquimáticas alargadas en el sentido de la vena y de mayor tamaño que las del mesófilo, con paredes relativamente delgadas, frecuentemente con varios haces (xilema y floema, en similar cantidad al haz principal del pecíolo), junto con otros grupos constituyen los nervios que pueden presentar tejido primario y secundario y tienden a formar un círculo o semicírculo, aunque también existe de forma irregular (Bracegirdle y Miles, 1975; Cortés, 1980; Paniagua *et al.*, 1997).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 GENERAL**

Realizar un análisis comparativo de los tejidos foliares en las especies *Phaseolus dumosus* Macfad., y *Phaseolus coccineus* L., mediante histología en accesiones *Ex situ* del suroccidente colombiano.

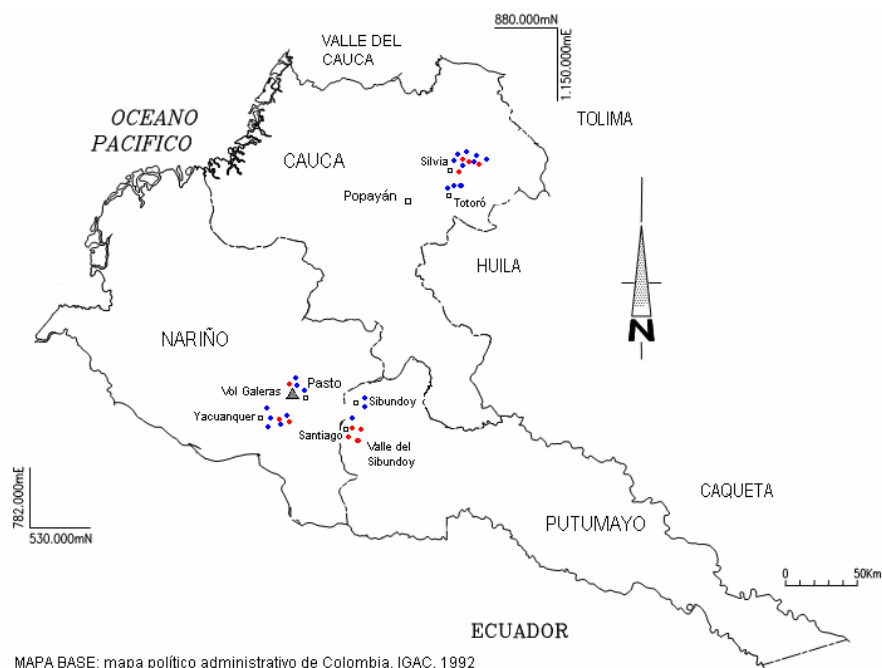
#### **3.2 ESPECÍFICO**

Caracterizar los tejidos foliares de pecíolo, nervio principal, y mesófilo de las especies *P. dumosus* y *P. coccineus*.

#### 4. AREA DE ESTUDIO

La investigación se desarrolló con materiales colectados por Sanabria *et al.*, (2005) procedentes de las zonas húmedas alto andinas de la cordillera central (Cauca), nudo de los Pastos (Nariño) y Valle interandino de Sibundoy (Putumayo) (Anexo A) (Fig. 2).

**Figura 2.** Mapa de las zonas de procedencia de los materiales de frijol cache, los puntos azules representan la distribución de *P. dumosus* y los rojos la de *P. coccineus* en el suroccidente colombiano (Cauca, Nariño y Putumayo).

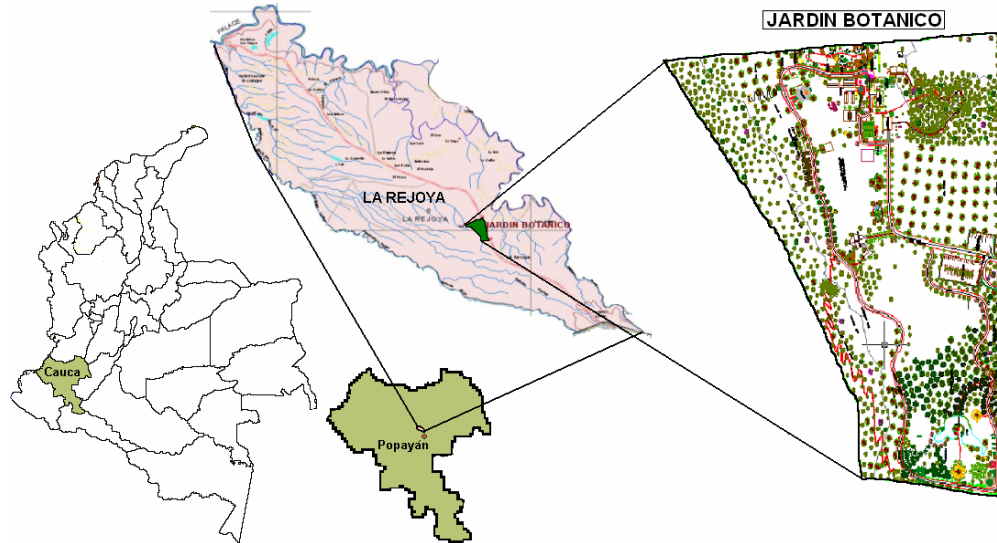


Fuente: Proyecto SENA-Colciencias-Unicauca-999VRI (Sanabria *et al.*, 2005).

Estos materiales fueron sembrados “Ex situ” en el Jardín Botánico Álvaro José Negret de la Universidad del Cauca, ubicado en la vereda La Rejoya en  $2^{\circ}31'230''$  N y  $76^{\circ}35'739''$  W (Fig. 3) del municipio de Popayán, Cauca, Colombia, a 10 Km. al noroccidente de la ciudad de Popayán, en una altitud de 1790 msnm. Los datos climatológicos de la zona se tomaron a partir de los acumulados en la estación del Aeropuerto “Guillermo León Valencia” del municipio de Popayán departamento del Cauca, la precipitación anual promedio es de 2200 mm, la temperatura entre 18.2 - 19.3 °C, la humedad relativa entre: 69 - 82%, el brillo solar 106 - 180 h/mes. El sistema de formaciones vegetales, para el corregimiento de La Rejoya se encuentra en la zona de vida de bosque muy húmedo premontano bmh-PM, según Holdridge (1982 en: IGAC, 1995) presenta suelos Andisoles (IGAC, 1995 en: Sanabria *et al.*, 2005).

Las accesiones fueron sembradas en 100 materas (50 accesiones con 2 repeticiones) bajo un diseño de hileras y calles en un invernadero en 200 m<sup>2</sup> de área, cerrado con polisombra y techado con plástico (Fig. 4), (Sanabria, 2005).

**Figura 3.** Mapa ubicación del Jardín Botánico Álvaro José Negret de la Universidad del Cauca.



Fuente: modificado de cartografía GEA (2005)

**Figura 4.** Invernadero experimental del Jardín Botánico Álvaro José Negret de la Universidad del Cauca.



Fuente: Informe de avance I Proyecto VRI-1881 (Sanabria *et al.*, 2006).

## 5. METODOLOGIA

### 5.1 TRABAJO DE CAMPO: RECOLECCIÓN DEL MATERIAL

Se tomaron 10 hojas, considerando a la hoja completa (pinnadamente trifoliada y pecíolo), de cada planta como unidad muestreo (**UM**) (Fig. 5), 8 para análisis en vivo (corte a mano alzada) y 2 fijadas (permanentes), de plantas en desarrollo R5 – R9 de *P. vulgaris* descrito por López *et al.*, (1985), de 12 accesiones *Ex situ*: 11 especies de *P. coccineus* y *P. dumosus* y 1 blanco *P. vulgaris* (Anexo B); para un total 120 UM (10UM x 12 accesiones).

Se transportaron envueltas dentro de un periódico húmedo, en un recipiente hermético (nevera de icopor) a una temperatura entre 2 – 5 °C desde el Jardín Botánico Álvaro José Negret ubicado en la vereda la Rejoya del municipio de Popayán, hacia el laboratorio de la Unidad de Microscopía Electrónica en la Vicerrectoría de Investigaciones (VRI) de la Universidad del Cauca en la ciudad de Popayán.

### 5.2 TRABAJO DE LABORATORIO

En el estudio se tomó de cada UM, fracciones de 0.5 cm de longitud para las estructuras de: *pecíolo* de la parte media (Fig. 5A); *nervio principal* del foliolo central donde intercepta con la máxima anchura basal (Fig. 5B) y *mesófilo* a 1.5 cm hacia la derecha, después del intercepto de la máxima anchura basal (Fig. 5C); empleando 40 cortes por cada estructura (Anexo E). El total de datos para las tres estructuras es de 360 (10UM x 12Accesiones x 3 estructuras).

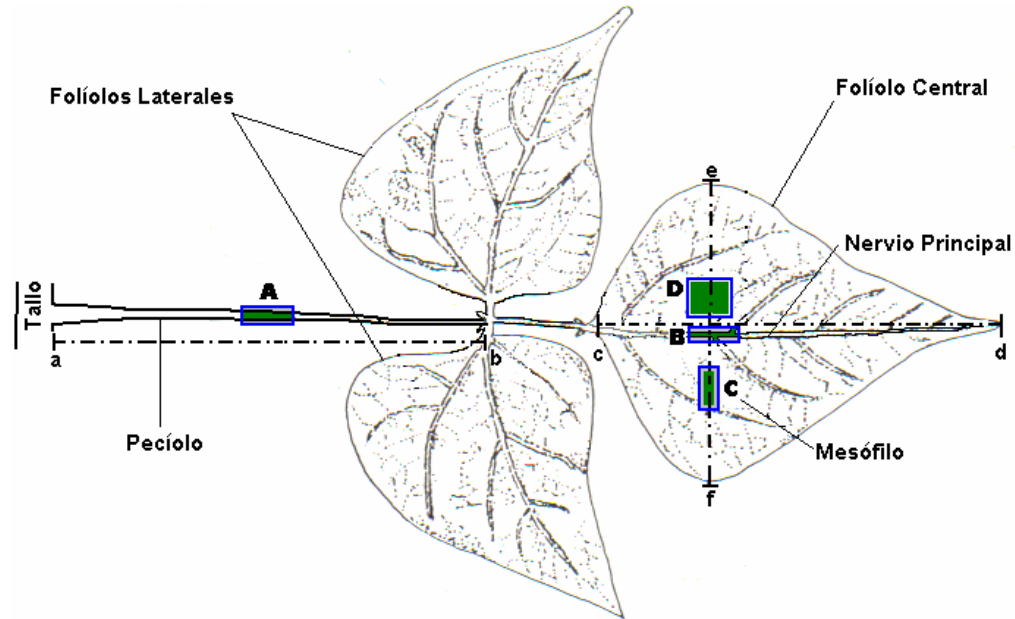
**5.2.1 Preparación histológica.** A fin de obtener datos sin dañar las estructuras, se trabajo con tejidos de muestras *in vivo*, en muestras semipermanentes usando la técnica de cortes a mano alzada (García-Barriga, 1964). En muestras permanentes, se emplearon cortes fijados en resina (González-Santander, 1968).

- **Muestras semipermanentes (corte a mano alzada).** Se realizaron cortes transversales en vivo a mano alzada procediendo de izquierda hacia derecha (considerando transversal, a la línea perpendicular de el largo del pecíolo hacia el nervio principal del foliolo central), lo más delgados posibles (pasando luz a través de ellos) (García-Barriga, 1964).

Se analizaron 4 cortes por cada UM, colocados en una caja de petri con agua destilada coloreados con Safranina (Sa) al 0.5% durante 2 minutos (INS, 1993), lavados 3 veces con H<sub>2</sub>O destilada y montados en portaobjetos con glicerina y agua (proporción 1:1) y se

observaron al microscopio óptico de luz (MOAR) (García-Barriga, 1964) (Anexo D). El total de cortes usados fueron 1152 (8UM x 12Accesiones x 4 cortes x 3 estructuras).

**Figura 5.** Hoja completa de *P. coccineus* L., y *P. dumosus* M; a-b = Longitud del peciolo; c-d = Longitud del nervio principal; e-f = Máximo ancho basal. Muestras de 0,5 cm en: *Peciolo* (A); *Nervio principal* (B); *Mesófilo* (C) y *lámina foliar* (D).



Fuente: Modificado de Muñoz *et al.*, 1993.

- **Muestras permanentes (corte en resina Spurr).** Se analizaron 4 cortes por cada UM, fijados los tejidos mediante la adición de glutaraldehído 2% en cacodilato de sodio 0.2 M a pH (7.2 – 7.4) posfijados con OsO<sub>4</sub> 1% deshidratados en alcoholes (etanol) ascendentes de 25% hasta el puro o absoluto (100%), preinhibidos en resina epóxica Spurr (Polyscience) + Acetona (3:7 y 7:3) respectivamente y embebidos en resina 100% (65 °C). (González-Santander, 1968; EUAFIP, 1960; INS, 1993; Velásquez & Parra, 1996) (Anexo C).

Los cortes para microscopía de luz se realizaron usando un ultramicrotomo Leica-Ultracut UCT52 a 1,5 µm de espesor, teñidos con azul de toluidina (At) al 1% durante 15 segundos y finalmente observados en MOAR (INS, 1993; González-Santander, 1968; Velásquez & Parra, 1996). El total de cortes usados fueron 288 (2UM x 12Accesiones x 4 cortes x 3 estructuras).

### 5.3 OBTENCIÓN Y SISTEMATIZACIÓN DE DATOS

Las muestras se observaron, usando un equipo Nikon 8945 para MOAR, en objetivos de 4X, 8X, 10X, 20X, 40X y 80X y se obtuvieron imágenes en (JPG) usando una video cámara JVC TK-C1380 adicionada al equipo; los cortes de cada UM se procesaron en el sistema de análisis de imágenes Leica Qwin 550IW; la edición y almacenamiento de las

imágenes se realizó en Corel Draw versión X3; para el análisis cuantitativo de los valores promedios, desviación estándar, y coeficiente de variación (análisis de varianza y comparaciones múltiples) en los tejidos se calcularon con el Statistical Package for the Social Sciences (SSPS 14.0) para Windows. El total de cortes fueron 1440 = [10UM x 12 Accesiones x 4 cortes x 3 estructuras]; 480 cortes para cada estructura.

**5.3.1 Análisis cualitativo.** Las comparaciones cualitativas se realizaron de observar los 1440 cortes (semipermanentes y permanentes), describiendo la forma y/o contorno de tejidos (epidermis, colénquima, parénquima, esclerénquima y haces vasculares) en aumentos de 4x a 80x (Tabla 1), según la nomenclatura para anatomía dada por Metcalfe & Chalk (1957 y 1979).

**5.3.2 Análisis cuantitativo.** Se analizaron 8 tejidos para los cortes de pecíolo (3840 datos) y nervio (3840 datos) y 4 tejidos para los del mesófilo (1920 datos), tomando medidas de distancia longitudinal en la trayectoria de la cara adaxial hacia el lado abaxial de cada corte, agrupado en tres variables: *longitud* ( $\mu\text{m}$ ), *proporción* (%) (distancia parcial de tejido / distancia total longitudinal x 100) y *número de células* (**Nc**) (número de células por estrato de la trayectoria) (Anexo E). El total de datos fueron de 9600 = [(480 cortes x 8 tejidos pecíolo) + (480 cortes x 8 tejidos nervio) + (480 cortes x 4 tejidos mesófilo)]; 3840 para pecíolo y nervio y 1920 para mesófilo

La variable *longitud* se analizó agrupando en tres rangos (alto, medio y bajo) la longitud total (P-t, N-t y M-t), obtenida de dividir la diferencia de los extremos totales sobre tres, la *proporción* y *número de células* se compararon usando las diferencias estadísticas (Anexo I y J) y comparaciones múltiples (Anexo K y L) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Descripción del análisis de las variables de comparación de las estructuras (pecíolo, nervio principal y mesófilo) en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

COMPARACIÓN	VARIABLE	ANÁLISIS
Cualitativa	*Forma y/o contorno	- Descripción cualitativa de los tejidos.
Cuantitativa	* Longitud	- Longitud total / 3 = Rango (alto, medio y bajo).
	* Proporción	- Accesoión: sumatoria de cantidad total de tejidos diferentes. Nº Accesoión = 11 (accesiones) x 8 (tejidos) = 88; (88 = 100%)
	* Nº Células	- Tejido: sumatoria de cantidad total de accesiones diferentes. Nº Tejido = 8 (tejidos) x 11 (accesiones) = 88; (88 = 100%)

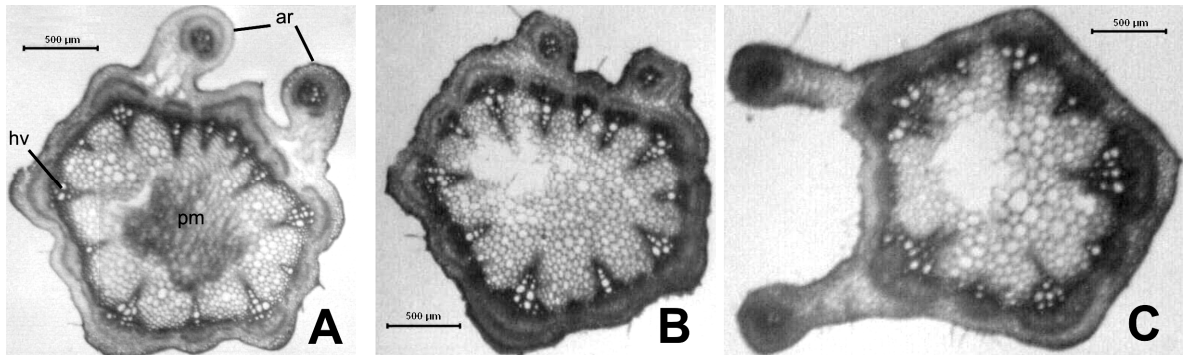
## 6. RESULTADOS

El estudio histológico en corte transversal de las estructuras foliares de pecíolo, nervio principal y mesófilo en la caracterización cualitativa, se mostró homogénea en su forma y contorno de los tejidos en las especies *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris* y las características cuantitativas presentaron en algunos tejidos diferencias altamente significativas en las variables (longitud, proporción y número de células). La descripción general y sus respectivas medidas en los tejidos *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*, presenta los siguientes resultados:

### 6.1 EL PECÍOLO

**6.1.1 Descripción cualitativa.** El pecíolo de las especies *P. dumosus* y *P. coccineus* y el blanco *P. vulgaris* es homogéneo, presentando un contorno de forma pentagonal a redondo con dos aristas adaxiales (Fig. 6), la cual en *P. vulgaris* mide tres veces más (Fig. 6C), que en *P. dumosus* y *P. coccineus*, estos dos últimos presentan en algunas UM una protuberancia intermedia entre las dos aristas (Fig. 12). La base se observa en forma aguda, el número de los haces vasculares entre 9 – 14 penetran en forma piramidal hacia el interior del corte, disponiéndose en anillo continuo alrededor de la parte externa del corte. Los casquetes de fibras del floema (esclerenquima).

**Figura 6.** Corte transversal de pecíolo. **A:** *P. dumosus* (PSCV036). **B:** *P. coccineus* (PSCV002). **C:** *P. vulgaris* (G51034A). (ar), aristas; (hv), haz vascular; (pm), parénquima medular.

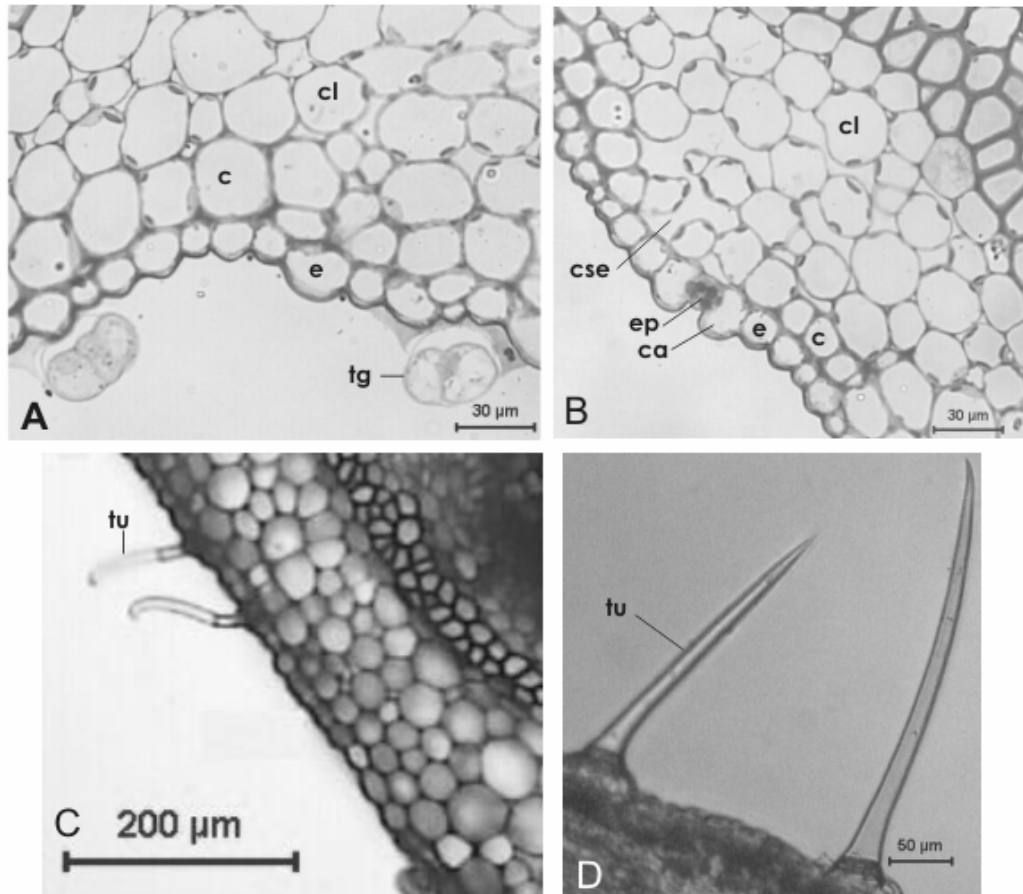


La epidermis es uniestratificada, posee células abaxiales cuticulizadas, pequeñas (12,90 – 18,87 µm), de semiredondas a ligeramente alargadas en sentido del corte transversal, un poco más grandes (16,77 – 40,57 µm) hacia el lado adaxial, presenta dos tipos de tricomas: los simples uniseriados en forma: rectos (Fig. 7D) y unciformes (Fig. 7C), los dos con células basales pequeñas y una célula apical larga (recta o curva) y los tricomas glandulares



multicelulares con una célula en la base soportando un “gorro” multicelular (Fig. 7A); se observaron pocos estomas paracíticos (Fig. 7B).

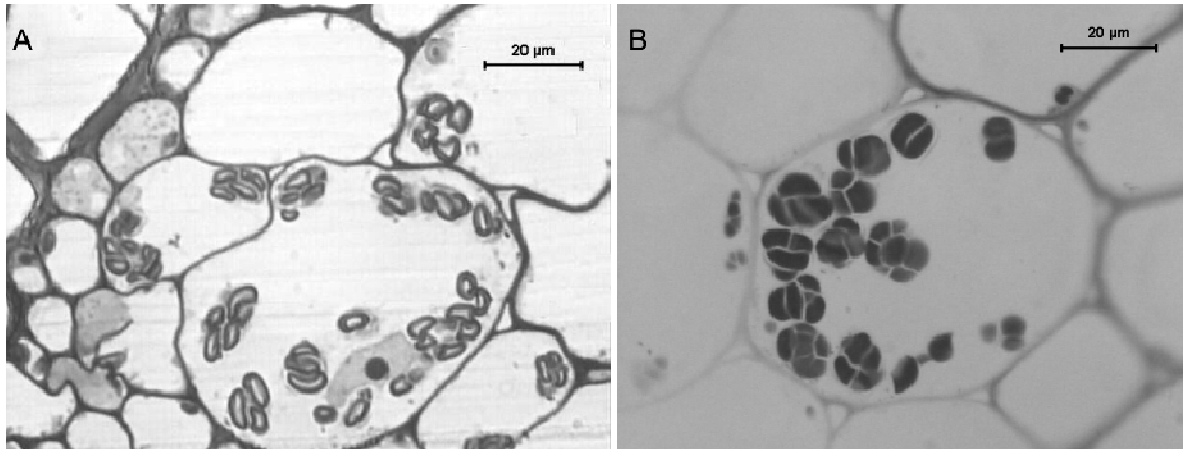
**Figura 7.** Corte transversal de la epidermis del peciolo. A, Tricoma glandular multicelular *P. coccineus* (PSCV002) 20X; B, Estoma paracítico *P. dumosus* (PSCV022) 40X; C, Tricoma uniseriado unciforme *P. vulgaris* (G51034A) 4X; D, Tricoma uniseriado recto (PSCV001) 10X. (c), colénquima cortical angular; (ca), célula acompañante estomática (cl), clorénquima cortical; (cse), cámara subestomática (e), epidermis; (ep), estoma paracítico, (tg), tricoma glandular; (tu), tricoma uniseriado.



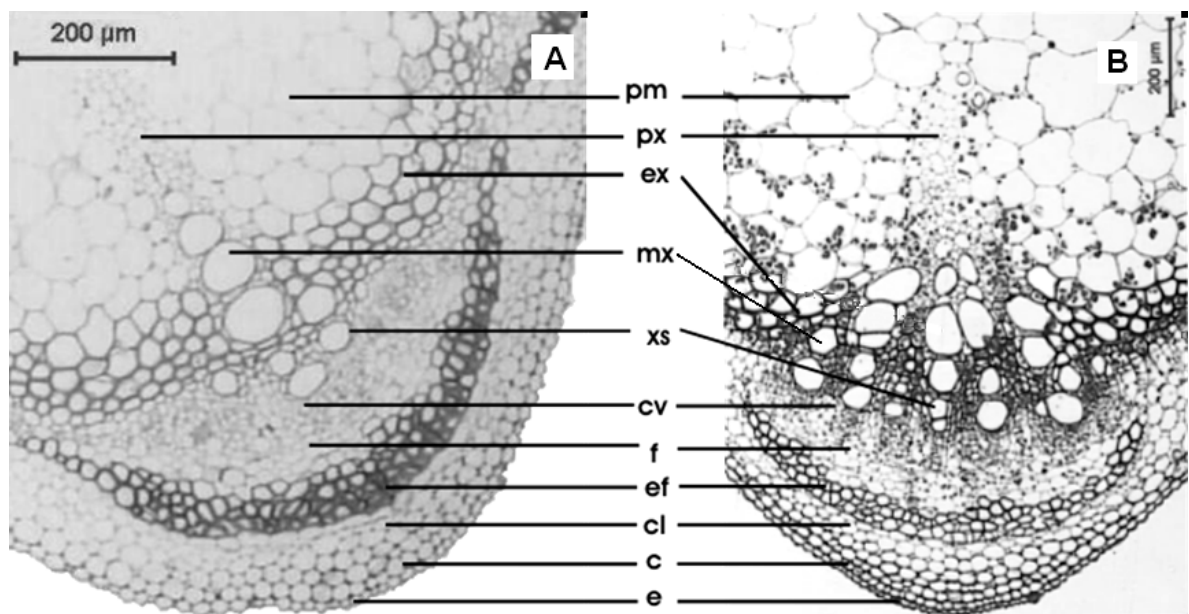
Hacia el radio medular presenta entre 1 – 3 estratos de colénquima angular después de la epidermis, seguido de 4 – 8 estratos de parénquima cortical clorofiliano (clorénquima) en las tres especies (Fig. 7A y B). El parénquima medular posee las células mas voluminosas respecto a todas y ocupa aproximadamente el 50% de la longitud total (adaxial-abaxial) del tejido, la médula tiene paredes gruesas solamente en el radio medular y el vértice generalmente es vacío o hueco formando una laguna (Fig. 6), es frecuente la presencia de almidones (amiloplastos) en estas células (Fig. 8A), aunque también se han observado en células del parénquima y fibras del xilema en todas las especies (Fig. 8B). Los amiloplastos presentaron dos tipos de forma y compactación granulométrica: en *P. dumosus* y *P.*

*coccineus* tienen una forma ovada y gránulos fragmentados (Fig. 8A) y *P. vulgaris* presentó forma semi-circular y gránulos enteros (Fig. 8B).

**Figura 8.** Almidones de peciolo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. A, Gránulos enteros de almidón en fibras del xilema *P. vulgaris* (G51034A) 80X; B, Gránulos fragmentados de almidón en el parénquima medular *P. coccineus* (PSCV020) 40X.



**Figura 9.** Sección transversal del sistema vascular en el área basal del peciolo de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. A, *P. vulgaris* (G51034A) 4X; B, *P. dumosus* (PSCV008) 4X. (c), colénquima cortical angular; (cl), clorénquima cortical; (cv), cambium vascular fascicular; (e), epidermis; (ef), esclerénquima del floema; (ex), esclerénquima del xilema; (f), floema; (mx), metaxilema; (pm), parénquima medular; (px), protoxilema; (xs), xilema secundario.



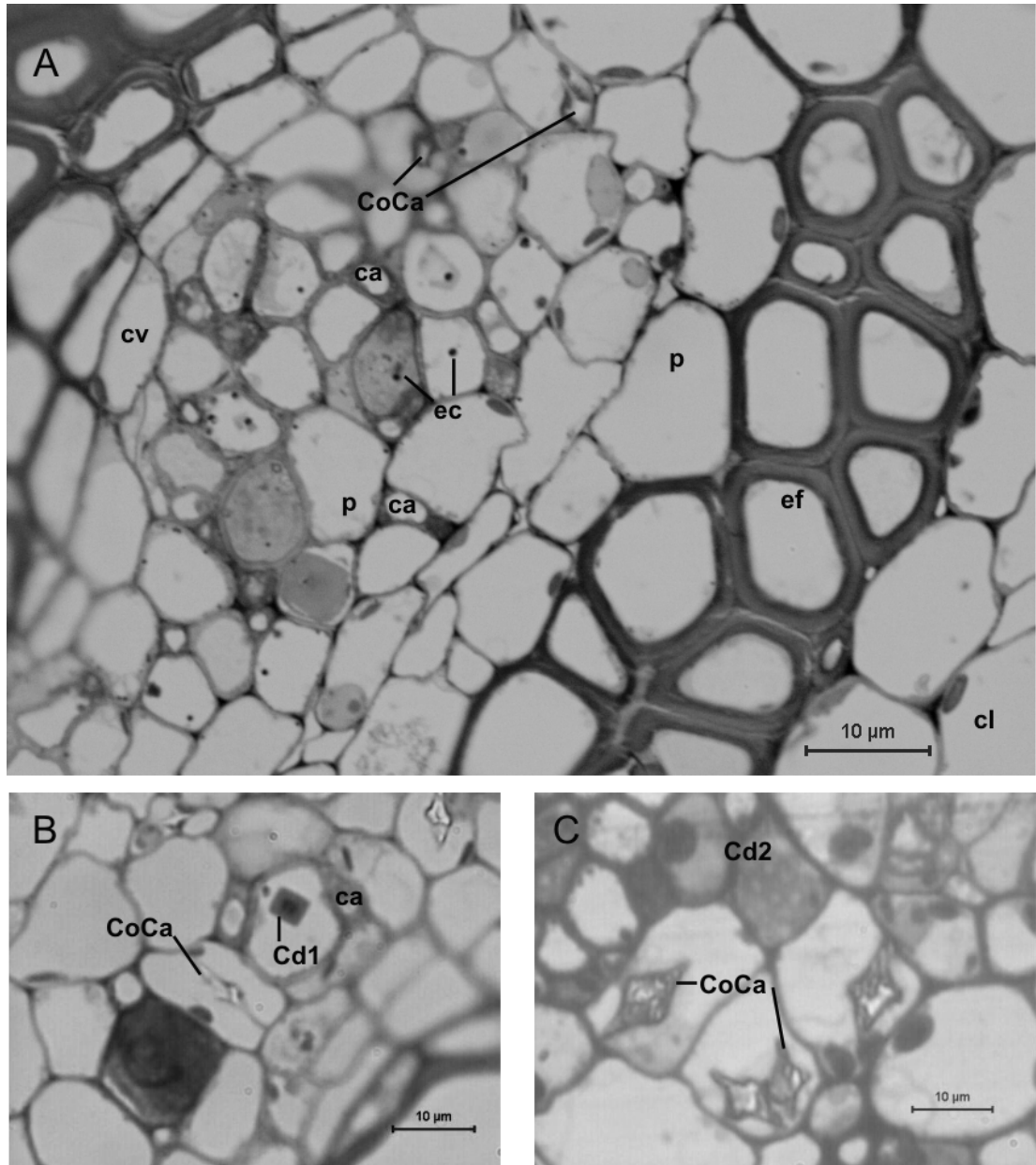
El sistema vascular ubicado entre los parénquimas cortical y medular, tiene los vasos en anillo, casi contiguo al rededor del pecíolo, bien definidos, fragmentados, de tipo colateral (Paniagua *et al.*, 1998) o eustele (Fahn, 1990), se encuentran entre 12 – 17 vasos para *P. dumosus* y *P. coccineus* y 9 – 12 en *P. vulgaris*, de forma piramidal penetrando hacia la médula y basalmente tiene más haces dilatados (Fig. 6 y 9).

En la parte externa de los haces vasculares, las fibras del floema presenta de 2-5 estratos de células esclerenquimáticas bien lignificadas (Fig. 9 y 10), hacia el interior del floema activo o vivo con células acompañantes en los tubos cribosos que están separados por células del parénquima; además se observaron masas tanínicas (Fig. 10A) y tres tipos de cristales en el floema: los de oxalato de calcio romboides refringentes y dos de tinción negra al **At** de composición desconocida poco refringentes: el primero en forma cuadrado transversal observado en todas las especies (Fig. 10B) y el segundo redondo (solamente en *P. vulgaris*) (Fig. 10C).

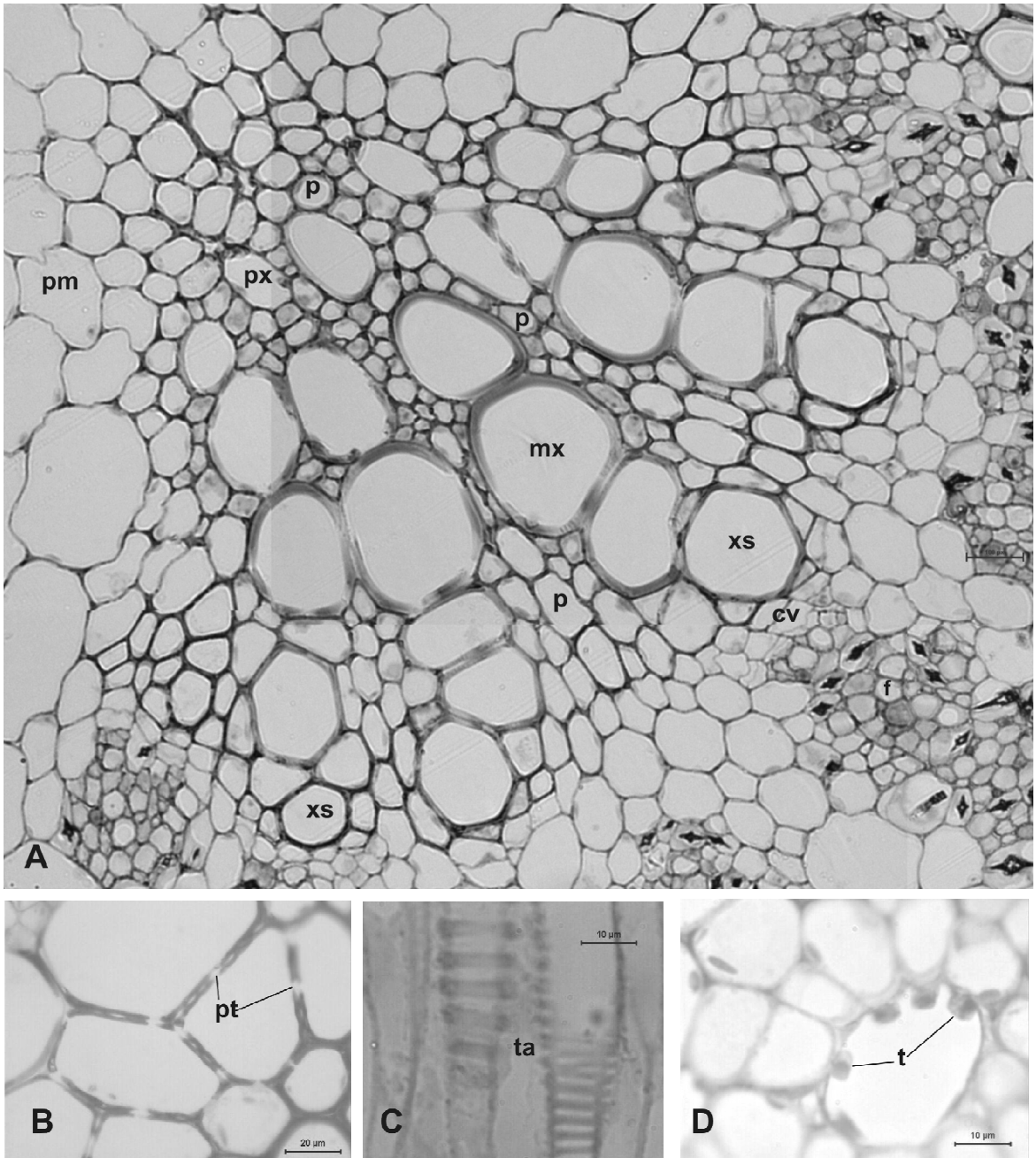
El cámbium es de tipo fascicular intermedio estratificado generalmente con residuos en el haz (Fig. 10A; 11A); el xilema medianamente centrado (concéntrico) al haz, esta formado por anillos discontinuos (Fig. 11A) con punteaduras en las tráqueas del metaxilema (Fig. 11B), del tipo helicadas simples, observadas en un corte que dispone el sistema vascular longitudinal (Fig. 11C) y son bordeados por un parénquima perivasal (Fig. 10A). En algunos casos el protoxilema evidencia tílides (Fig. 11D). El xilema secundario esta ligeramente separado de 1-3 estratos de fibras xilemáticas (Fig. 10A) que casi bordean y forman un anillo en el pecíolo (Fig. 6).

Los pecíolos en las especies de *P. dumosus* y *P. coccineus* presenta la formación de una protuberancia entre las dos aristas adaxiales, con una prolongación de apenas visible hasta 1/5 de las aristas (Fig. 12) y de forma semiredonda a puntuda (Fig. 12A y B) y ocasionalmente con la formación de un haz vascular intermedio (Fig. 12B). La unión de la arista con el resto del pecíolo esta intermediada por un parénquima lagunar (Fig. 12A) y es mas visible y grande en *P. vulgaris* (Fig. 6C). Las dos aristas adaxiales en el interior la epidermis, presenta una corteza con aproximadamente 4 estratos de colénquima angular y de 1 – 3 estratos de parénquima cortical (Fig. 12). Contiguo se encuentra el haz vascular, casi circular con tendencia a ser colateral bien definido, las fibras liberianas forman una medialuna o un círculo, bien lignificadas; el cámbium vascular es fascicular y el vértice del círculo vascular finaliza con el xilema (Fig. 12A).

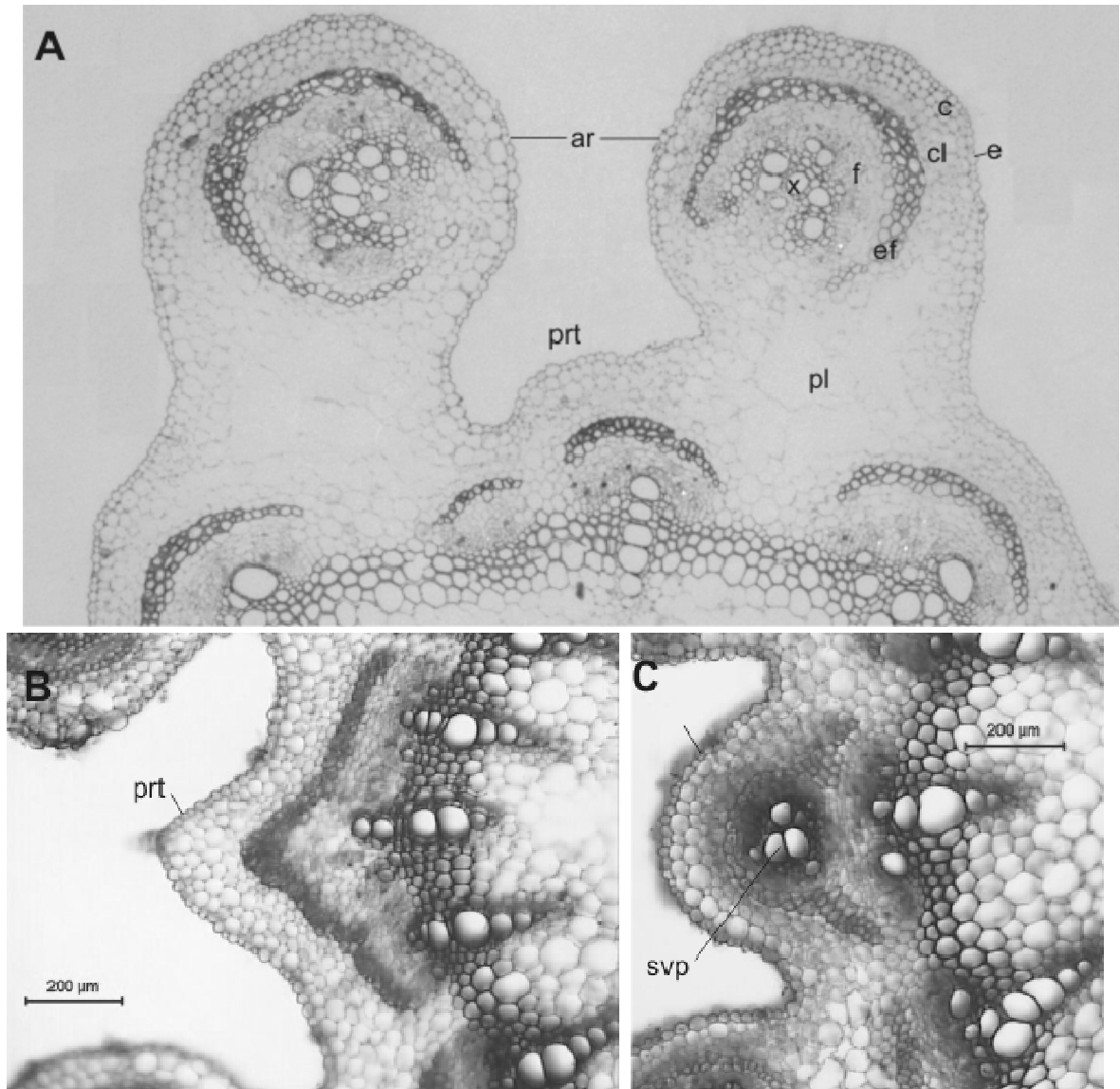
**Figura 10.** Sistema vascular floemático del peciolo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, sección transversal del matafloema *P. dumosus* (PSCV004) 40X; **B** y **C**, elementos cribrosos *P. coccineus* (PSCV007) 80X y *P. vulgaris* (G51034A) 80X respectivamente. (**ca**), células acompañantes del floema; (**Cd1**), cristal cuadrado desconocido; (**Cd2**), cristal redondo desconocido; (**CoCa**), cristales de oxalato de calcio; (**cl**), clorénquima; (**cv**), cámbium vascular; (**ec**), elementos cribrosos; (**p**), parénquima vascular.



**Figura 11.** Sistema vascular xilemático del peciolo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, sección transversal del xilema *P. coccineus* (PSCV002) 40X; **B**, punteaduras en el metaxilema *P. dumosus* (PSCV022) 40X; **C**, tráqueas transversales *P. dumosus* (PSCV011) 80X; **D**, vaso del protoxilema con punteaduras *P. dumosus* (PSCV004) 80X. (**ca**), células acompañantes del floema. (**cv**), cámbium vascular; (**f**), metafloema; (**mx**), metaxilema (**p**), parénquima perivascular; (**pm**), parénquima medular; (**pt**), punteaduras del xilema; (**px**), protoxilema; (**t**), tálides; (**ta**), tráqueas helicadas simples (corte longitudinal); (**xs**), xilema secundario.



**Figura 12.** Sección transversal de estructuras adaxiales del pecíolo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, aristas del pecíolo *P. coccineus* (PSCV020) 4X; **B**, protuberancia en forma de punta *P. coccineus* (PSCV007) 4X; **C**, protuberancia semiredonda con haz vascular *P. coccineus* (PSCV027). (**ar**), arista; (**c**), colénquima cortical angular; (**cl**), clorénquima; (**cv**), cámbium vascular; (**e**), epidermis; (**ef**), esclerénquima del floema; (**f**), floema; (**mx**), metaxilema; (**pl**), parénquima lagunar; (**prt**), protuberancia; (**svp**), sistema vascular en la protuberancia, (**x**), xilema.



La Tabla 2 compara 13 características anatómicas cualitativas del pecíolo, mostrando homogéneo los tejidos y en 9 características, solo en 4 se presentaron diferencias relacionadas con el blanco (*P. vulgaris*), en los amiloplastos (Fig. 8), cristales cuadrados de composición desconocida (Fig. 10B y C) y sin protuberancia intermedia de las aristas (Fig. 6).

**Tabla 2.** Comparación de caracteres anatómicos principales del pecíolo en las especies *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Especie	Accesión	Carácter												
		e	tu	tg	c	cl	sv	cv	coca	cd1	cd2	prt	amc	amf
<i>P. coccineus</i>	PSCV001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
	PSCV002	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
	PSCV007	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
	PSCV020	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
	PSCV027	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
<i>P. dumosus</i>	PSCV004	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
	PSCV036	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
<i>P. coccineus*</i>	PSCV011	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
<i>P. dumosus**</i>	PSCV008	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
	PSCV022	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
	PSCV040	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
<i>P. vulgaris</i>	G51034A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-

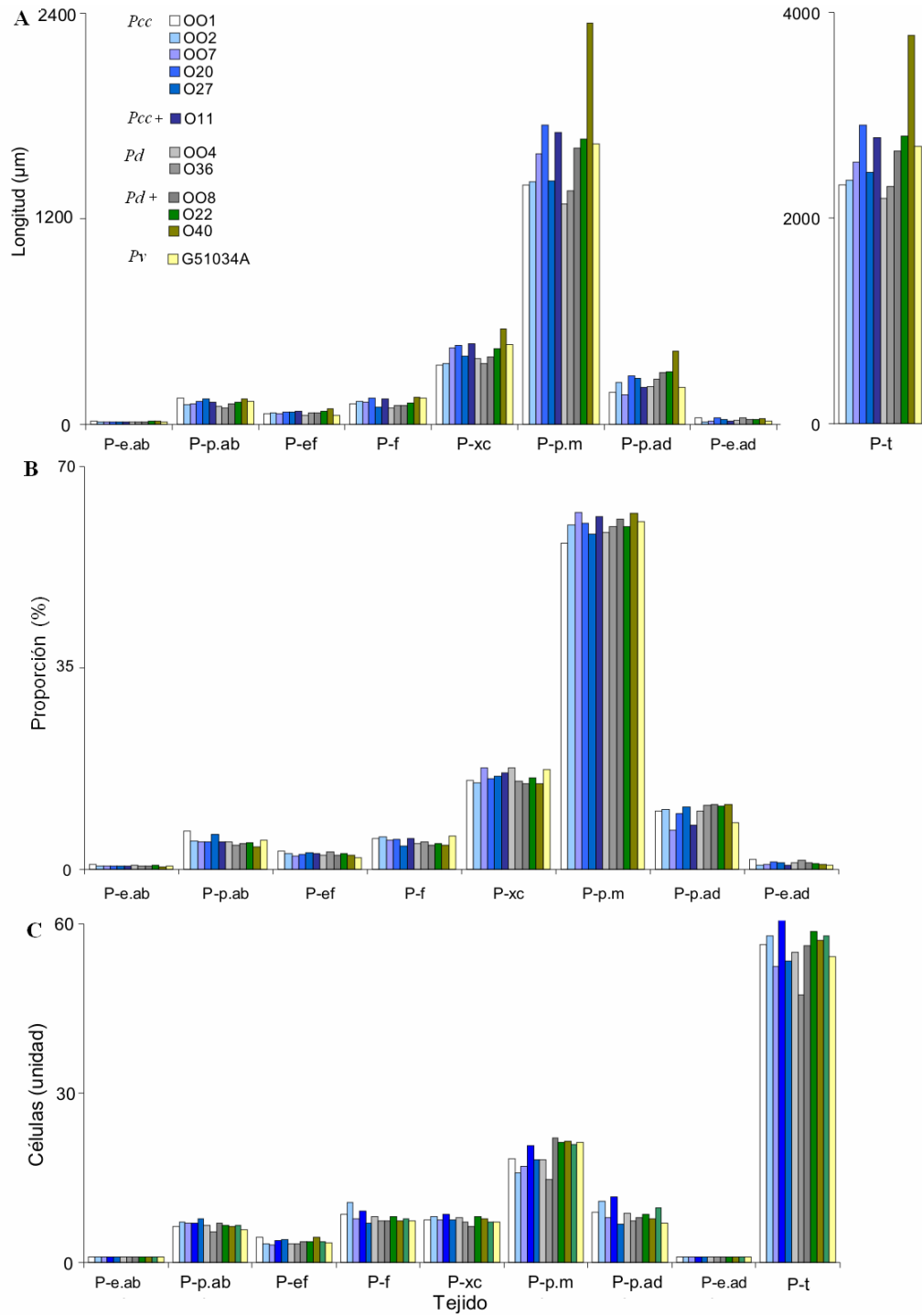
(+): Presente; (-): Ausente. \* Posible híbrido de *P. coccineus* \*\*Posible híbrido de *P. dumosus*.

**amc:** amiloplastos compactos; **amf:** amiloplastos fragmentados; **c:** colénquima angular; **cd1:** cristales (cuadrados); **cd2:** cristales (redondos); **cl:** clorénquima; **coca:** cristales (oxalato de calcio); **cv:** cámbium fascicular; **e:** epidermis uniestratificada; **prt:** protuberancia (intermedio de las aristas); **sv:** sistema vascular colateral; **tu:** tricomas uniseriados; **tg:** tricomas glandulares.

**6.1.2 Descripción cuantitativa.** Los datos de comparación cuantitativa en los tejidos del pecíolo, en relación a sus caracteres analizados (Anexo E), resumidos en valores medios en el Anexo F; presentan diferencias estadísticas en algunos tejidos de las accesiones (Anexo K y L); en las tres variables analizadas la longitud (Gráfica 1A) se muestra mas contrastante, seguida del número de células (Gráfica 1C) y la proporción (Gráfica 1B).

- **Longitud.** Presentaron mayores diferencias contrastantes los tejidos del xilema y cámbium (P-xc), parénquima medular (P-pm), parénquima adaxial (P-ad) y el total (P-t) (Gráfica 1A). Se observó homogeneidad en los tejidos de la epidermis adaxial y la abaxial (P-e.ad y P-e.ab), a pesar que la epidermis adaxial presenta el doble de longitud de la abaxial (Anexo F; Gráfica 1A). Las medias del total (P-t) (Anexo F), agrupadas en las tres clases (alto, intermedio y bajo), respecto al rango general (Tabla 3), compara las diferencias de las especies de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

**Gráfica 1.** Representación de las medias de los tejidos del peciolo en las especies *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris* (Anexo F). A, longitud ( $\mu\text{m}$ ); B, proporción (%) y C, número de células.





*P. coccineus* con rango entre 2324,97 – 2904,85  $\mu\text{m}$ , tiene accesiones en las clases: bajo y el intermedio, la accesión PSCV011 relacionada como un posible híbrido (Anexo B) se encuentra dentro del rango de la especie; no se presentaron accesiones en la clase alta (Tabla 3). *P. dumosus* con rango entre 2190,24 – 3781,45  $\mu\text{m}$ , presenta las tres clases: bajo intermedio y alto solo con PSCV040 (3781,45  $\mu\text{m}$ ), esta especie tiene el valor extremos alto, contrario a PSCV004 y PSCV036 con los mas bajos (inferiores a *P. coccineus*), presentando un mayor rango en el peciolo *P. dumosus* (Tabla 3). *P. vulgaris* se ubicó en la clase baja G51034A (2700,51  $\mu\text{m}$ ), estando dentro del rango de *P. dumosus* y *P. coccineus*. Las tres especies (*P. vulgaris*, *P. dumosus* y *P. coccineus*) se traslapan solo en la clase baja, *P. dumosus* y *P. coccineus* están en la clase baja e intermedia, solo *P. dumosus* en la clase alta (Tabla 3; Anexo F).

**Tabla 3.** Agrupación de las accesiones en clases del total de la longitud del peciolo ( $\mu\text{m}$ ) (P-t), en *P. dumosus* (*Pd*), *P. coccineus* (*Pcc*) y *P. vulgaris* (*Pv*).

Rango (P-t)	Clases	Grupos	Especie	Accesiones
2190,24 - 3781,45 $\mu\text{m}$	3251,05 – 3781,45	Alto	<i>Pd</i> <i>Pcc</i> <i>Pv</i>	PSCV040
	2720,65 – 3251,04	Intermedio	<i>Pd</i> <i>Pcc</i> <i>Pv</i>	PSCV022 PSCV020, PSCV011
	2190,24 – 2720,64	Bajo	<i>Pd</i> <i>Pcc</i> <i>Pv</i>	PSCV004; PSCV036; PSCV008. PSCV001; PSCV002; PSCV007; PSCV027 G51034A.

Las variables “proporción” y “número de células”, se relación con las comparaciones múltiples de los Anexos K y L respectivamente, resumidos en el Cuadro 1, agrupados en diferencias de: *accesión con cantidad total de tejidos diferentes* y *tejido con cantidad total de accesiones diferentes*, para ambos casos corresponde hasta un total de 88 diferencias [8 (tejidos) x 11 (accesiones) = 88 = 100%] (Tabla 1); la Tabla 4 resume los datos representativos.

● **Proporción.** En la Gráfica 1B presenta menos contraste en los tejidos que la longitud, las diferencias se presentan mas en los tejidos del parénquima abaxial (P-ab); floema (P-f); xilema y cámbium (P-xc); parénquima medular (P-pm) y parénquima adaxial (P-ad); además presentan diferencias altamente significativas entre algunos tejidos (Anexo I), sin embargo las accesiones de las especies y los tejidos no tienen una relación clara (Cuadro 1); observándose homogéneos los tejidos del esclerénquima de floema (P-ef), epidermis adaxial (P-e.ad) y epidermis abaxial (P-e.ab), en los dos últimos tejidos, P-e.ad presenta el doble de proporción respecto a P-e.ab (Anexo F; Gráfica 1B).

**Cuadro 1.** Resumen de las comparaciones múltiples ( $\leq 0,01$ ), de los tejidos del pecíolo de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*, para las variables proporción “Tamhane” (Anexos K) y número de células “Duncan” (Anexo L). (a), P-e.ab; (b), P-p.ab; (c), P-ef; (d), P-f; (e), P-xc; (f), P-p.m; (g), P-p.ad; (h), P-e.ad.

Pecíolo			Diferencias en proporción											
			<i>Pcc</i>					<i>Pd</i>		<i>Pcc+</i>	<i>Pd+</i>			<i>Pv</i>
			001	002	007	020	027	004	036	011	008	022	040	G51034 A
Diferencias en número de células	<i>Pcc</i>	PSCV001								d		b		
		PSCV002	b, d		e, g		b, d	d, h		g	d	d, h	a, b, d	c, e, g
		PSCV007	b, c	d		e, g	b, c, d	a, g	b, c, e		d, e	c, e, g	b, d, e, g	
		PSCV020	b	f			b	a	b	g	d		b, d	
		PSCV027	b	d, g		g		a, b	b	b, d	b, d	b	b	c, d
	<i>Pd</i>	PSCV004	b, c	d		e				g, h	a, e		a, b, e	d, f, h
		PSCV036	b, d, g		b	b, f, g	b	b						c
	<i>Pcc+</i>	PSCV011	b	d, e, f				e	b, f		d	g, h	d, g	c
	<i>Pd+</i>	PSCV008	b	d, f				e	bf				b, d	d, e
		PSCV022	c	b, d, f	b	b	b	b	f	b	b		a, b	c, d, g, h
		PSCV040		d, f			g		f, g					b, d, e, g
	<i>Pv</i>	G51034A		b, d, f, g	b	b, g	b	b	f	b	b		g	

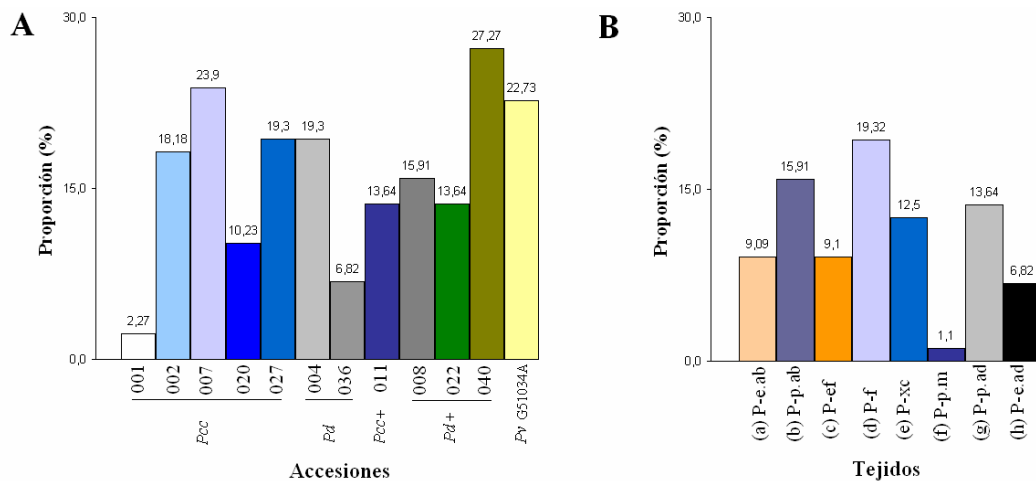
**Tabla 4.** Comparación de sumatoria de diferencias en las variables de proporción y número de células (Cuadro 1) para accesiones y tejidos en pecíolo de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Análisis	Proporción		Número Células	
	Número de diferencias	% (de 88)	Número de diferencias	% (de 88)
	Tejidos	Tejidos	Tejidos	Tejidos
Accesión	Tejidos	Tejidos	Tejidos	Tejidos
PSCV001	2	2,27	14	15,91
PSCV002	16	18,18	21	23,86
PSCV007	21	23,86	6	6,82
PSCV020	9	10,23	10	11,36
PSCV027	17	19,32	8	9,09
PSCV004	17	19,32	9	10,23
PSCV036	6	6,82	17	19,32
PSCV011	12	13,64	9	10,23
PSCV008	14	15,91	8	9,09
PSCV022	12	13,64	12	13,64
PSCV040	24	27,27	6	6,82
G51034A	20	22,73	13	14,77
Total	170		133	
Tejido	Accesiones	Accesiones	Accesiones	Accesiones
(a) P-e.ab	8	9,09	0	0,00
(b) P-p.ab	14	15,91	28	31,82
(c) P-ef	8	9,09	3	3,41
(d) P-f	17	19,32	9	10,23
(e) P-xc	11	12,50	4	4,55
(f) P-p.m	1	1,14	12	13,64
(g) P-p.ad	12	13,64	9	10,23
(h) P-e.ad	6	6,82	0	0,00
Total	77		65	

Las *accesiones* que presentaron mayor cantidad de tejidos estadísticamente significativos en la proporción del pecíolo son: PSCV040 (*P. dumosus*), PSCV007 (*P. coccineus*) y G51034A (*P. vulgaris*) con 24 (27.27%), 21 (23.9%) y 20 (22.73%) respectivamente; las accesiones de menos diferencias fueron: PSCV001 (*P. coccineus*) con 2 (2.27 %), PSCV036 (*P. dumosus*) con 6 (6.82%) y PSCV020 (*P. coccineus*) con 9 (10.23%) (Cuadro 1; Tabla 4; Gráfica 2A). Las accesiones a pesar de encontrar diferencias, no son valores suficientes (estadísticamente) para separar las accesiones o especies entre ellas.

Los *tejidos* de mayor frecuencia estadísticamente significativos en las accesiones de la proporción, fueron: el floema (P-f) con 17 (19.32%); parénquima abaxial (P-p.ab) con 14 (15.91%); parénquima adaxial (P-p.ad) con 12 (13.64%) y xilema y cámbium (P-xc) con 11 (12.5%), coincidiendo con la Gráfica 1B; los tejidos con menos diferencias es el parénquima medular (P-p.m) 1 (1.1%) y la epidermis adaxial (P-e.ad) 6 (13.64%) (Cuadro1; Tabla 4; Gráfica 2B). Igual que en las diferencias de las accesiones tampoco son valores suficientes para discriminar los tejidos.

**Gráfica 2.** Representación de las diferencias de accesiones y tejidos totales para la proporción de el pecíolo (Tabla 4) en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, accesiones; **B**, tejidos.

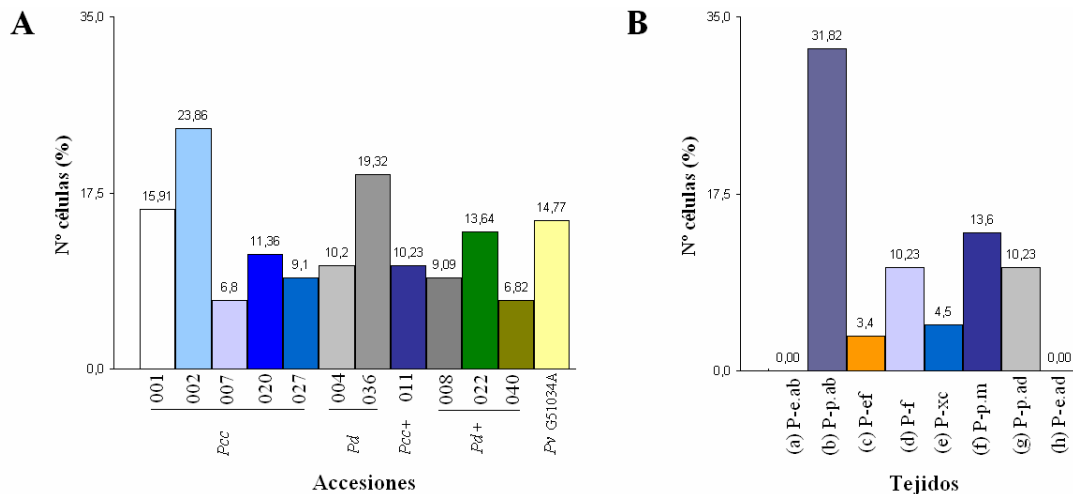


● **Número de células.** La Gráfica 1C presentó contrastes intermedio entre la longitud y la proporción, los tejidos mas representativos son: el floema (P-f), parénquima medular (P-pm), parénquima adaxial (P-ad) y total (P-t); el esclerénquima del floema (P-ef) tiene tendencia homogénea y la epidermis adaxial y abaxial (uniestratificada) es 100% homogénea. Estadísticamente se presentaron diferencias altamente significativas en pocos tejidos (Anexo J; L); igual que la proporción no se establece una relación entre los tejidos con cada accesión (Cuadro 1).

Las *accesiones* que presentaron mayor cantidad de tejidos estadísticamente significativos en el número de células son: PSCV002 (*P. coccineus*), PSCV036 (*P. dumosus*) y PSCV001 (*P. coccineus*) con 21 (23.86%), 17 (19.32%) y 14 (15.91%) respectivamente; los de menor cantidad son: PSCV007 (*P. coccineus*) y PSCV040 (*P. dumosus*) con 6 (6.82%) seguidos de PSCV008 (*P. dumosus*) y PSCV027 (*P. coccineus*) con 8 (9.1%) y PSCV004 (*P. dumosus*) y PSCV011 (*P. dumosus*) con 9 (10.23%) (Cuadro 1; Tabla 4; Gráfica 3A). Los valores en porcentaje son los menores que en proporción, tampoco siendo significativos para discriminar accesiones.

Los *tejidos* con mayor frecuencia estadísticamente significativos en las accesiones del número de células son: parénquima abaxial (P-p.ab) 28 (43.08%) el parénquima medular (P-p.m) 12 (18.46%); los tejidos menos diferentes (fuera de las dos epidermis) son: las esclerénquima del floema (P-ef) 3 (4.62%) y xilema y cámbium (P-xc) 4 (6.15%) (Cuadro 1; Tabla 4; Gráfica 3B).

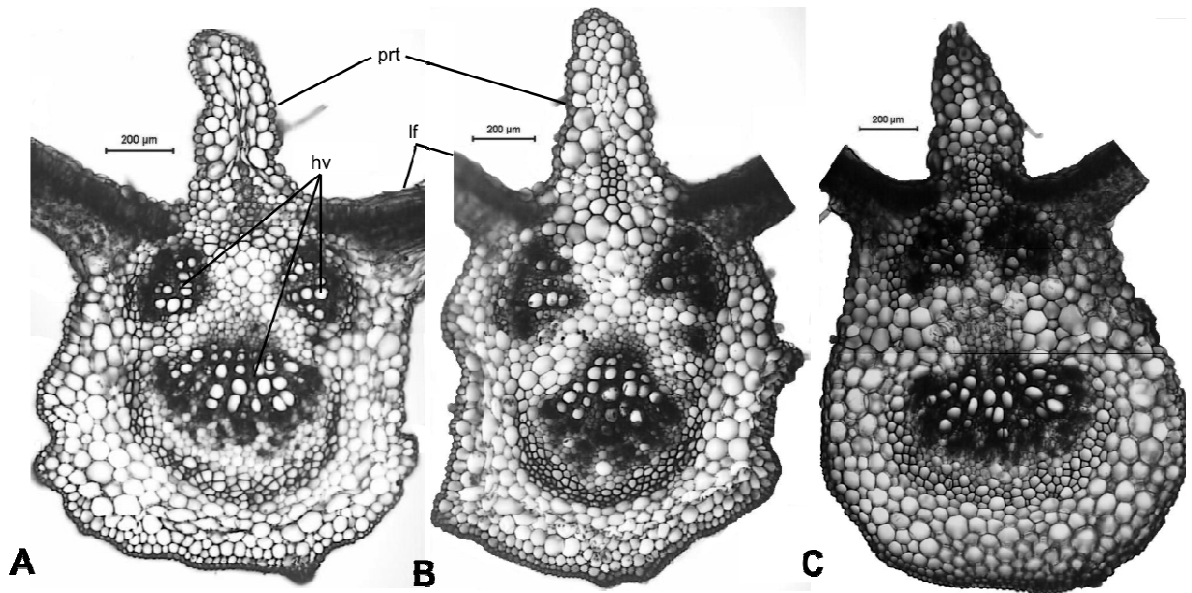
**Gráfica 3.** Representación de las diferencias de accesiones y tejidos totales para el número de células (Tabla 4) en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, accesiones; **B**, tejidos.



## 6.2 NERVI0 PRINCIPAL

**6.2.1 Descripción cualitativa.** El nervio en corte transversal presenta un contorno cuadrado y ligeramente ancho en la corteza basal, en forma ovado, el lado adaxial presenta una protuberancia intermedia, en punta a semiredonda sobre las láminas foliares, en el interior presenta tres grupos grandes vasculares, dos en la parte superior, cerca de la base de las láminas foliares, cada uno con 2 – 3 haces vasculares fusionados (Fig. 13A y B), en *P. vulgaris* mas cerca entre ellos (Fig. 13C) y un haz vascular grande en la base con lignificación fuerte, estos penetran igual que en el pecíolo en forma piramidal hacia el tejido, disponiéndose alrededor del tejido, (Fig. 13; 16).

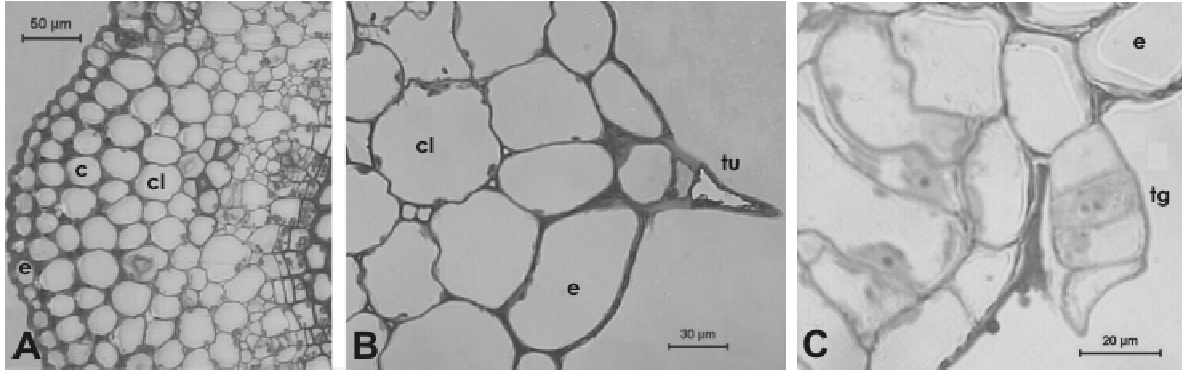
**Figura 13.** Sección transversal de nervio principal. **A**, *P. dumosus* (PSCV004); **B**, *P. coccineus* (PSCV007); **C**, *P. vulgaris* (G51034A); (**hv**), haz vascular; (**lf**), lámina foliar; (**prt**), protuberancia.



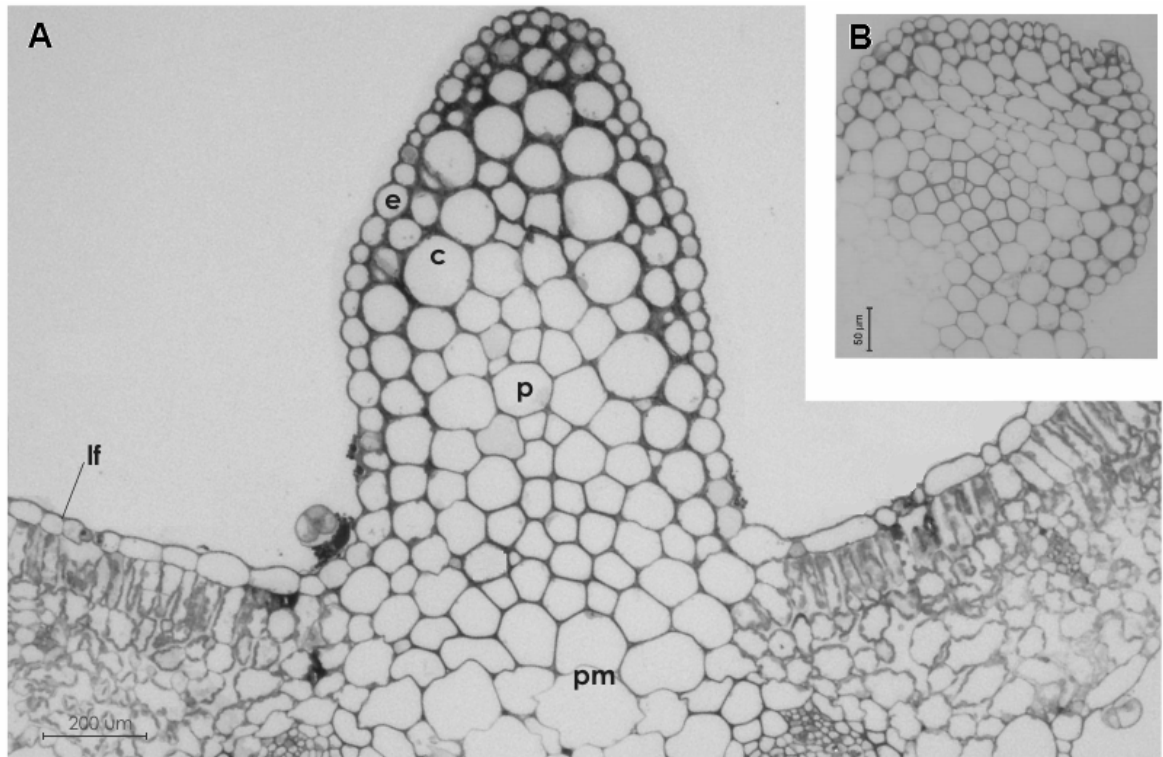
Igual que en el pecíolo, las tres especies presentaron una epidermis uniestratificada cuticulizada, de células adaxiales pequeñas (12,35 – 17,85 µm) esféricas (Fig. 14A) y adaxiales un poco más grandes (17,65 – 36,85 µm) de esféricas a ligeramente alargadas en sentido tangencial de la protuberancia (Fig. 14B), en vista superior son alargadas paralelas al nervio (Fig. 19C), se observaron tricomas simples uniseriados (rectos y unciformes) con dos células basales pequeñas y una apical larga y glandulares multicelulares (Fig. 14B y C); basalmente en la corteza se presenta de 1 – 2 estratos de colénquima angular y de 4 – 6 estratos de clorénquima (Fig. 14), el parénquima medular se estrecha y se hace pequeño en medio de los tres grupos grandes de haces vasculares (Fig. 13).

Las dos láminas foliares (mesófilo), se extienden después de las dos terceras partes del largo total del nervio, hacia arriba en las tres especies en forma de “V” (Fig. 13), la base se une por tejido colenquimático y parenquimático. La protuberancia (parte adaxial) con prolongación máxima de un tercio del largo total, en forma de punta (Fig. 13 y 15A) y simiredondo (Fig. 15B), conformado por células colenquimáticas angulares casi hasta la base, con presencia cloroplastos.

**Figura 14.** Corte transversal de la epidermis del nervio principal de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, corteza de epidermis *P. coccineus* (PSCV001) 10X; **B**, tricoma uniseriado *P. vulgaris* (G51034A) 20X; **C**, tricoma glandular multicelular *P. coccineus* (PSCV002) 10X. (c): colénquima cortical angular; (cl): clorénquima; (e): epidermis; (tg): tricoma glandular multicelular; (tu): tricoma uniseriado.

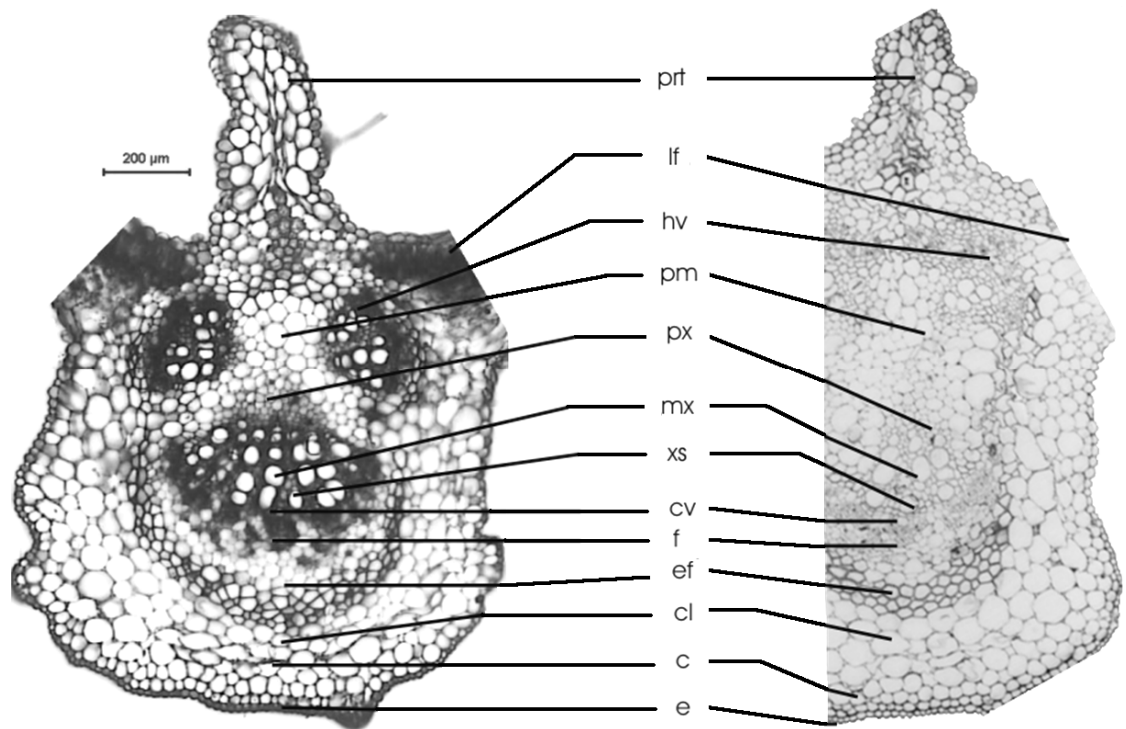


**Figura 15.** Sección transversal de la protuberancia (adaxial) en nervio principal de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, Protuberancia en punta *P. dumosus* (PSCV002) 10X; **B**, Protuberancia semiredonda *P. coccineus* (PSCV001) 10X. (c), colénquima; (e), epidermis; (lf), lámina foliar; (p), parénquima; (pm), parénquima medular.

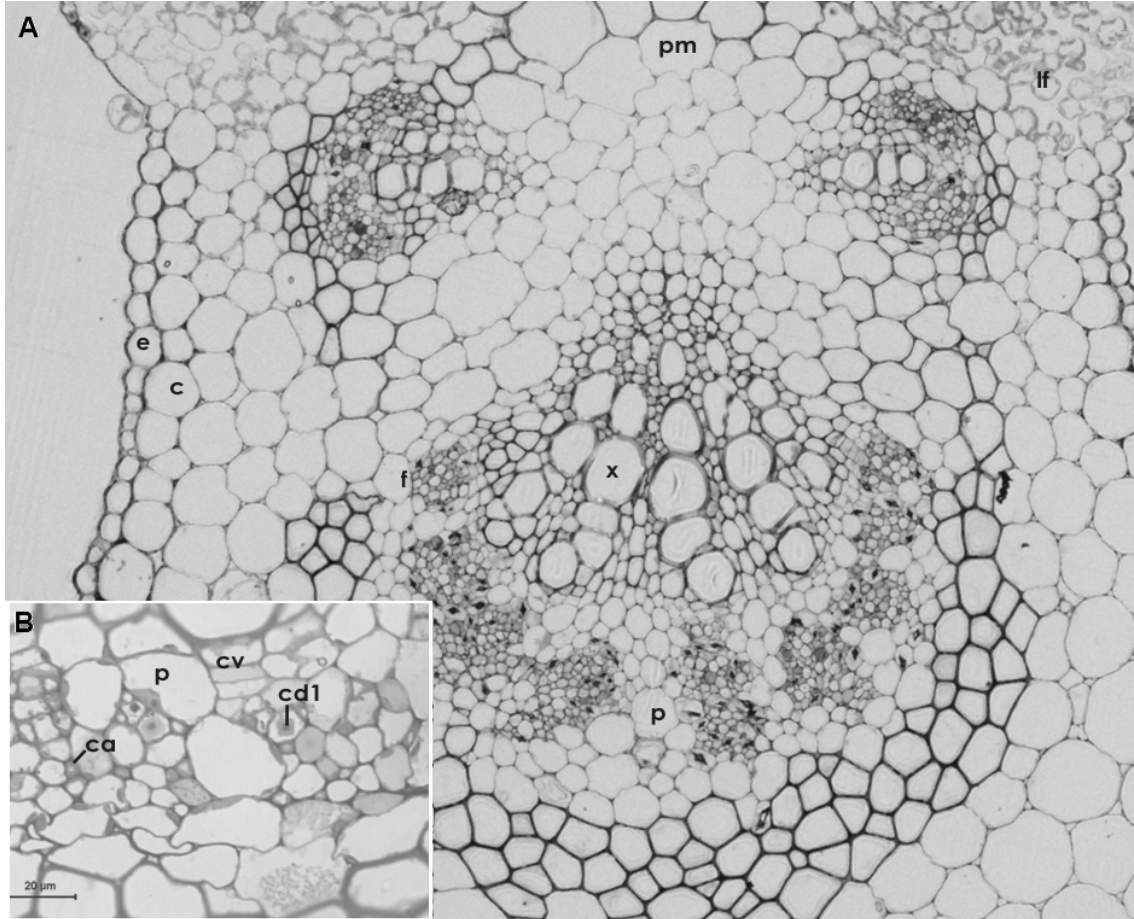


Presenta tres grandes grupos vasculares bien definidos de tipo colateral o eusteles, acompañados de haces dilatados fusionados; los casquetes de fibras esclerenquimáticas del floema con 2 – 7 estratos de células, formando una base en “U” (Fig. 16), el floema vivo entre 5 – 9 tubos cribosos, forman en total entre 4 – 10 estratos de células (Fig. 17A), con pocos cristales de oxalato de calcio, se observaron cristales cuadrados y no los redondos de composición desconocida descritas anteriormente en el pecíolo; el cámbium fascicular estratificado; el xilema es piramidal penetrando hacia la médula, medianamente centrado, con punteaduras en las tráqueas del metaxilema, bordeados de un parénquima perivasal (Fig. 17A). Las características son iguales en las tres especies, como en pecíolo (Fig. 13; Tabla 3).

**Figura 16.** Nervio principal en corte transversal de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. *P. dumosus* (PSCV004) (izquierda); *P. dumosus* (PSCV022) (derecha). (c), colénquima cortical angular; (cl), clorénquima cortical; (cv), cámbium vascular fascicular; (e), epidermis; (ef), esclerénquima del floema; (f), floema; (hv), haz vascular; (lf), lámina foliar; (mx), metaxilema; (pm), parénquima medular; (prt), protuberancia; (px), protoxilema; (xs), xilema secundario.



**Figura 17.** Sección interna central del sistema vascular del nervio principal en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, Has completo *P. coccineus* (PSCV002) 10X; **B**, Floema activo *P. coccineus* (PSCV007) 40X. (c), colénquima; (ca), células acompañantes; (cd1), cristal (cuadrado); (cv), cámbium vascular; (ef), fibras del floema; (ex), fibras de xilema; (f), floema; (x), xilema; (pv), parénquima.



Las 13 características anatómicas más contrastantes y visibles (algunas diferentes a las del pecíolo) comparadas en la Tabla 5, se observan homogéneas en 11 de ellas y solo en 2 se hallaron diferencias, de los tejidos en las tres especies, que igual que en pecíolo son los amiloplastos en *P. vulgaris*.



**Tabla 5.** Comparación de caracteres anatómicos principales del nervio principal en las especies de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Especie	Accesión	Carácter													
		e	tug	c	cl	sv	cv	coca	cr1	cr2	Prtp	Prtr	amv	amf	
<i>P. coccineus</i>	PSCV001	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
	PSCV002	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
	PSCV007	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
	PSCV020	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
	PSCV027	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
<i>P. dumosus</i>	PSCV004	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
	PSCV036	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
<i>P. coccineus</i> *	PSCV011	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
<i>P. dumosus</i> **	PSCV008	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
	PSCV022	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
	PSCV040	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	
<i>P. vulgaris</i>	G51034A	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	

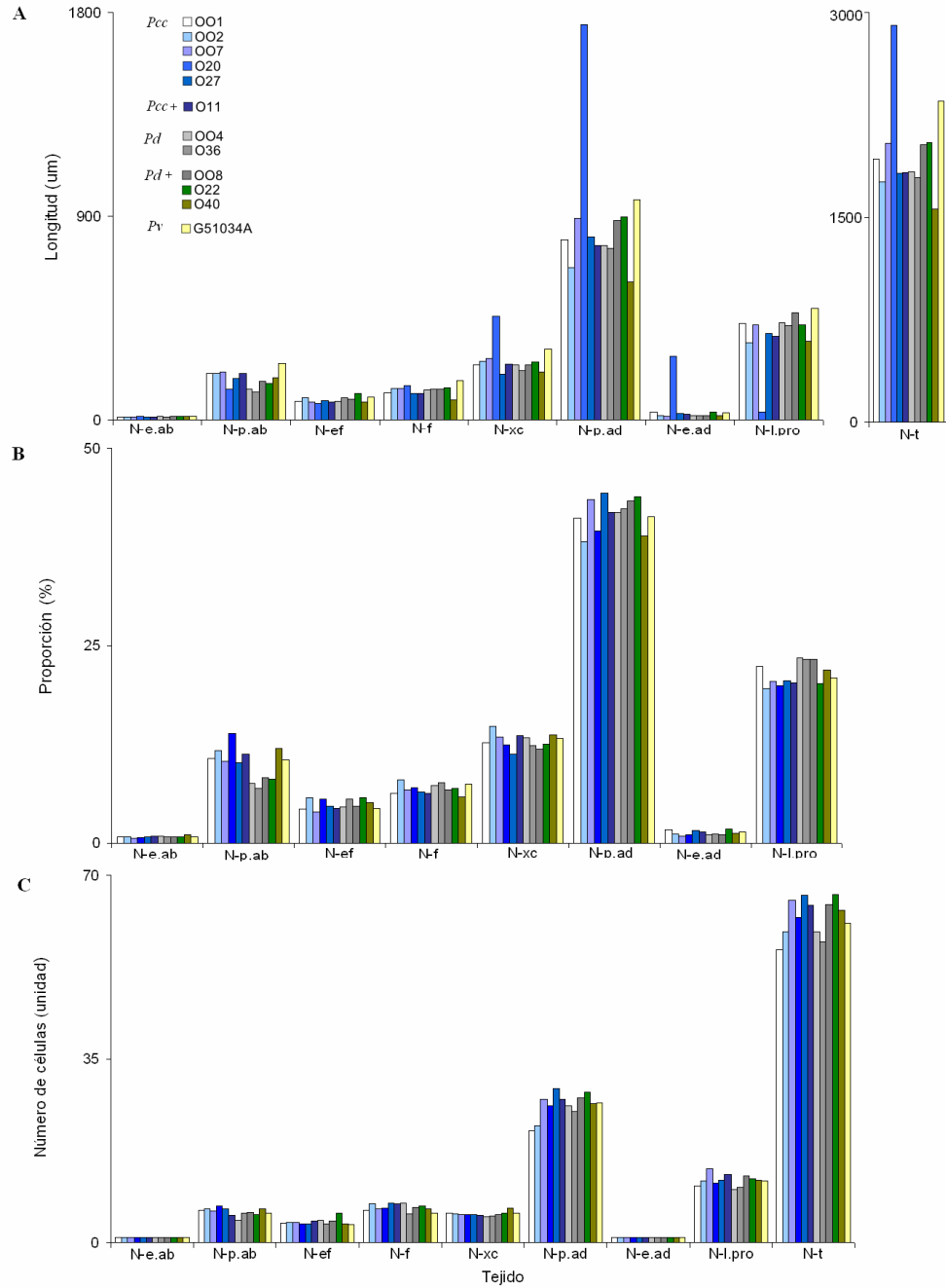
(+), Presente; (-), Ausente. \* Posible híbrido de *P. coccineus* \*\*Posible híbrido de *P. dumosus*.

**Amc**, amiloplastos compactos; **amf**, amiloplastos fragmentados; **c**, Colénquima angular; **cd1**, cristales (cuadrados); **cd2**, cristales (redondos); **cl**, clorénquima; **coca**, cristales (oxalato de calcio); **cv**, cámbium fascicular; **e**, epidermis; **prtp**, protuberancia en punta; **prtr**, protuberancia semiredonda; **sv**, sistema vascular colateral; **tu**, tricomas uniseriados; **tg**, tricomas glandulares.

**6.2.2 Descripción cuantitativa.** El Anexo G representa los valores medios de la comparación cuantitativa de los tejidos analizados en el nervio principal (longitud, proporción y número de células); igual que en pecíolo, presentaron diferencias estadísticas algunos tejidos de las accesiones (Anexo K y L). La Gráfica 4 representa las medias del Anexo G, mostrando los contrastantes más visibles que en el pecíolo. En el nervio las variables con mayor diferencia es la longitud (Gráfica 4A), seguido de proporción (Gráfica 4B) y número de células (Gráfica 4C).

- **Longitud.** Presentan mayor contraste los tejidos de el parénquima abaxial (N-p.ab), xilema y cámbium (N-xc), parénquima adaxial (N-p.ad), longitud de la protuberancia (N-l.pro) y el total (N-t) (Gráfica 4A); se observó homogéneos los tejidos de el esclerénquima del floema (N-ef), epidermis adaxial y la abaxial (N-e.ad y N-e.ab), N-e.ad con el doble de longitud que N-e.ab (igual en pecíolo). Las medias del rango (1563,75 – 2904,85 µm) de la longitud total (N-t) (Anexo G), se agruparon o en las tres clases igual que en pecíolo (alto, intermedio y bajo), respecto su rango total (Tabla 6).

**Gráfica 4.** Representación de las medias de los tejidos del nervio principal en las especies *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris* (Anexo G). A: longitud ( $\mu\text{m}$ ); B: proporción (%) y C: número de células.



**Tabla 6.** Agrupación de accesiones en clases del total de la longitud del nervio principal ( $\mu\text{m}$ ) (N-t), en *P. dumosus* (*Pd*), *P. coccineus* (*Pcc*) y *P. vulgaris* (*Pv*).

Rango (N-t)	Clases	Grupos	Especie	Accesiones
1563,75 - 2904,86 $\mu\text{m}$	2457,83 – 2904,86	Alto	<i>Pd</i> <i>Pcc</i> <i>Pv</i>	PSCV020
	2010,85 – 2457,82	Intermedio	<i>Pd</i> <i>Pcc</i> <i>Pv</i>	PSCV008, PSCV022 PSCV007 G51034A
	1563,75 – 2010,79	Bajo	<i>Pd</i> <i>Pcc</i> <i>Pv</i>	PSCV004, PSCV036, PSCV040 PSCV001, PSCV002, PSCV027, PSCV011

La especie *P. coccineus* con rango entre 1761,87- 2904,85  $\mu\text{m}$ , presenta accesiones en las clases: bajo, intermedio y alto; la PSCV011 (posible híbrido) está ubicado en la clase baja, (diferente en pecíolo) (Tabla 6). *P. dumosus* con rango entre 1791,32 - 1833,20  $\mu\text{m}$  presenta dos clases: bajo e intermedio; el posible híbrido PSCV040 con el valor mas bajo. *P. vulgaris* está en la clase intermedia G51034A (2353,72  $\mu\text{m}$ ); la tendencia es más hacia *P. coccineus* (Tabla 6). Las tres especies (*P. vulgaris*, *P. dumosus* y *P. coccineus*) se encuentran en la clase intermedia; *P. dumosus* y *P. coccineus* coinciden en la clase baja e intermedia y solo *P. coccineus* está en la clase alta (Tabla 6 y Anexo G). Estos resultados varían respecto al pecíolo (Tabla 3).

El Cuadro 2 agrupa las comparaciones múltiples de las variables “proporción” (Anexo K) y “número de células” (Anexo L), resumidos en la Tabla 7 igual que en pecíolo.

**Cuadro 2.** Resumen de las comparaciones múltiples ( $\leq 0,01$ ) de los tejidos del nervio principal en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*, para las variables de proporción “Tamhane” (Anexos K) y número de células “Duncan” (Anexo L). (a), N-e.ab; (b), N-p.ab; (c), N-ef; (d), N-f; (e), N-xc; (n), N-p.ad; (h), N-e.ad; (p), N-l.pro.

Nervio		Diferencias en proporción												
		<i>Pcc</i>					<i>Pd</i>		<i>Pcc+</i>	<i>Pd+</i>			<i>Pv</i>	
		001	002	007	020	027	004	036	011	008	022	040	G51034A	
Diferencias en número de células	<i>Pcc</i>	PSCV001		c,d,e,p	a,b	b,c			b,c,d		b	b,c	a	
		PSCV002			a,c,d,n,h	b,c,e	d,e,n	b,c,e,n,p	b,e,n,p	c,d,n	b,d,e,n,p	b,d,e,n	a,d,p	c,n
		PSCV007	h,p			b,c,n	e	a,b,c,p	a,b,c,h,p	a,g	b,e,p	a,b,c	a,c,d,n,h	n,h
		PSCV020	h		p		b,n	b,n,p	b,n,p	b,c,h	b,n,p	b,n	a,d,e,n,p	b,c,h
		PSCV027	h					b,e,n	b,d	e			a,e,n	e,n
	<i>Pd</i>	PSCV004	b,h	b	b	b	b		e	b,d,h,p	e	e	b,d,n	b,h,p
		PSCV036	b,h	b	b,p	b	b	p		b,f,d,p	b	b	a,b,d,n	b,c,p
	<i>Pcc+</i>	PSCV011	b	b,d	b,p	b	b,d	b,d,p	b,d		b,e,h,p	b,c	n	d
	<i>Pd+</i>	PSCV008	b,h	b	b	b	b	b	b,p			c	a,b,d,e,n	b,e,g,p
		PSCV022	b,c,h	b,c	b,c	b,c	b,c	c	c	b,c	b,c		a,b,d,n	b,c
		PSCV040	h	e	e	e	e	b,e	b,e	b,e	b,e	c,b		a,d,n
	<i>Pv</i>	G51034A	b,h	b	b	b	b	b	b			c,b	b	

**Tabla 7.** Comparación de sumatorias de diferencias en las variables de proporción y número de células (Cuadro 2) para accesiones y tejidos en nervio principal de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

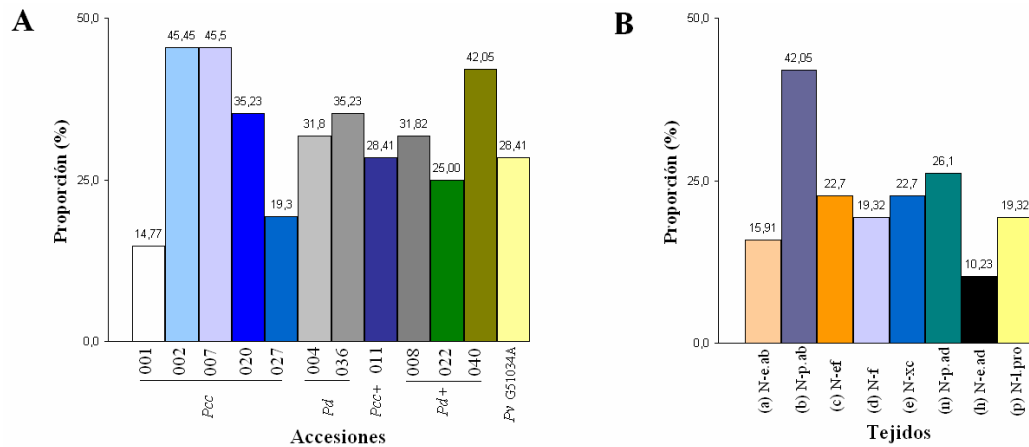
Análisis	Proporción		Número Células	
	Número de diferencias	% (de 88)	Número de diferencias	% de (88)
<b>Accesión</b>	<b>Tejidos</b>	<b>Tejidos</b>	<b>Tejidos</b>	<b>Tejidos</b>
PSCV001	13	14,77	17	19,32
PSCV002	40	45,45	9	10,23
PSCV007	40	45,45	12	13,64
PSCV020	31	35,23	10	11,36
PSCV027	17	19,32	10	11,36
PSCV004	28	31,82	15	17,05
PSCV036	31	35,23	16	18,18
PSCV011	25	28,41	17	19,32
PSCV008	28	31,82	13	14,77
PSCV022	22	25,00	21	23,86
PSCV040	37	42,05	16	18,18
G51034A	25	28,41	11	12,50
<b>Total</b>	<b>337</b>		<b>167</b>	
<b>Tejido</b>	<b>Accesiones</b>	<b>Accesiones</b>	<b>Accesiones</b>	<b>Accesiones</b>
(a) N-e.ab	14	15,91	0	0,00
(b) N-p.ab	37	42,05	45	51,14
(c) N-ef	20	22,73	11	12,50
(d) N-f	17	19,32	4	4,55
(e) N-xc	20	22,73	8	9,09
(n) N-p.ad	23	26,14	0	0,00
(h) N-e.ad	9	10,23	0	0,00
(p) N-l.pro	17	19,32	6	6,82
<b>Total</b>	<b>157</b>		<b>74</b>	

• **Proporción.** La Gráfica 4B presenta en los tejidos un contraste igual a la longitud, con todos los tejidos (Anexo G), adicional presentaron diferencias altamente significativas (Anexo I y K); solo se observó homogéneo los tejidos de la epidermis abaxial (N-e.ab). No se evidencio relación entre las accesiones para separar las accesiones.

Las accesiones que presentaron mayor cantidad de tejidos estadísticamente significativos en la proporción del nervio son: PSCV002 (*P. coccineus*) y PSCV007 (*P. coccineus*) con 40 (45.5%), PSCV040 (*P. dumosus*) con 37 (42.05%), PSCV020 (*P. coccineus*) y PSCV036 (*P. dumosus*) con 31 (35.23%) y las PSCV008 (*P. dumosus*) y PSCV004 (*P. dumosus*) con 28 (31.82%); las accesiones de menos diferencias fueron: PSCV001 (*P. coccineus*) con 13 (14.77%) y PSCV027 (*P. coccineus*) con 17 (19.32%) (Gráfica 5A; Tabla 6). Las accesiones a pesar de encontrarse el mayor número de diferencias, no son valores suficientes (estadísticamente) para separar las accesiones o especies entre ellas.

Los tejidos de mayor frecuencia significativos en las accesiones de proporción son: parénquima abaxial (N-p.ab) con 37 (42.05%); parénquima adaxial (N-p.ad) con 23 (26.14%); los tejidos de menor diferencias son la epidermis adaxial (N-e.ad) con 9 (10.23%), la epidermis abaxial (N-e.ad) con 14 (15.91%) y el floema del nervio (N-f) con 17 (19.32%) (Gráfica 5B).

**Gráfica 5.** Representación de las diferencias de accesiones y tejidos totales para la proporción del nervio principal (Tabla 6) en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, accesiones; **B**, tejidos.

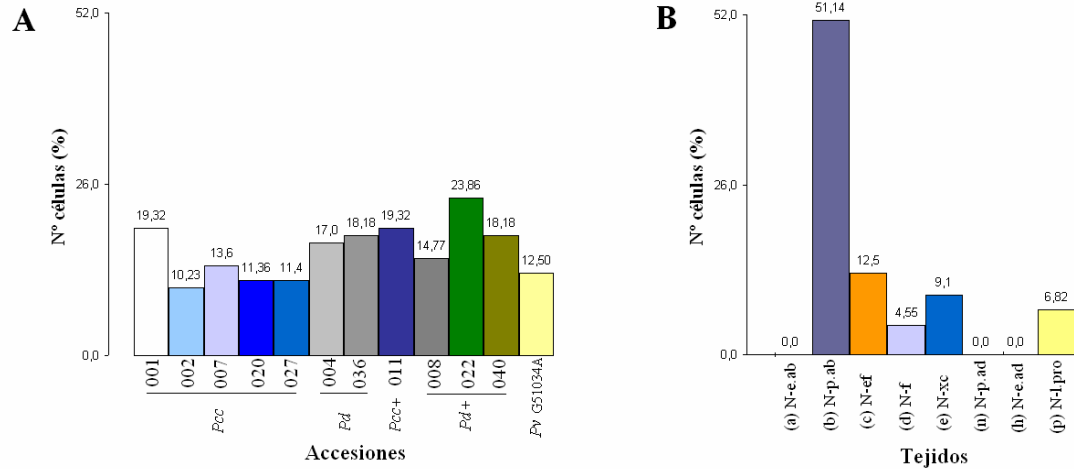


● **Número de células.** Las Gráfica 4C presentó menos contrastes que las dos variables anteriores, los tejidos representativos son: parénquima abaxial (N-p.ab), floema (N-f), parénquima adaxial (P-ad), longitud de la protuberancia (N-l.pro) y total (N-t); tiene tendencia homogénea el esclerénquima del floema (N-ef), el xilema y cámbium (N-xc), la epidermis adaxial y abaxial (uniestratificada) es 100% homogénea (Gráfica 4C). Estadísticamente hay diferencias significativas (Anexo J y L), no alcanzado a diferenciarse ó relacionarse entre los tejidos con cada accesión (Cuadro 2).

Las accesiones no tuvieron presencia alta de tejidos estadísticamente significativos el número de células, sin embargo los de mayor cantidad son: PSCV022 (*P. dumosus*) con 21 (23.86%), PSCV001 (*P. coccineus*) y PSCV011 (*P. coccineus*) con 17 (19.32%); los de menor cantidad son: PSCV002 (*P. coccineus*) con 9 (10.23%), PSCV020 (*P. coccineus*) y PSCV027 con 10 (11.36%) (Cuadro; Tabla 6).

Los tejidos que presentaron mayor frecuencia estadísticamente significativos en el número de células son el parénquima abaxial (N-p.ab) 45 (51.14%) y el esclerénquima del floema (N-ef) con 11 (12.50%); los tejidos que menos diferencias (fuera de las dos epidermis) son: el floema (N-ef) 4 (4.55%) y longitud de la protuberancia (N-l.pro) 6 (6.82%).

**Gráfica 6.** Representación de las diferencias de accesiones y tejidos totales para el número de células (Tabla 6), en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, accesiones; **B**, tejidos.

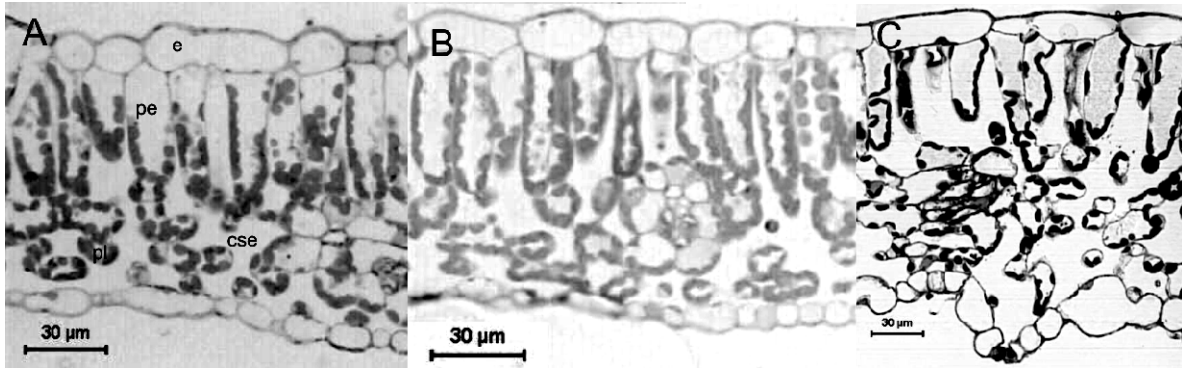


### 6.3 MESÓFILO

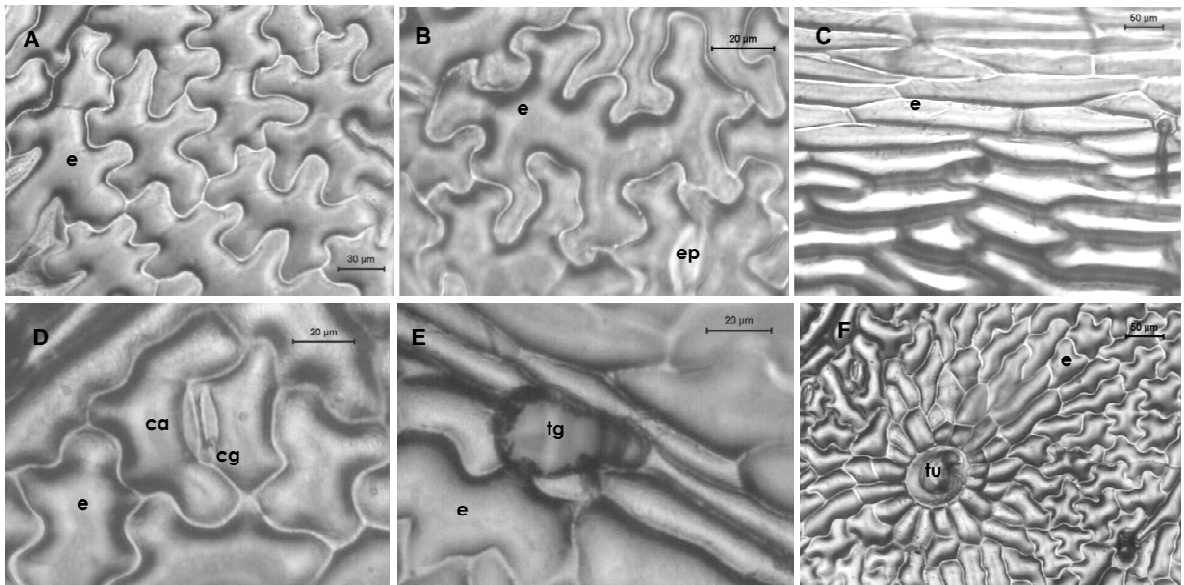
**6.3.1 Descripción cualitativa.** La lámina foliar presenta una distribución horizontal de los tejidos epidérmicos, parenquimáticos y haces vasculares (Fig. 18).

La epidermis presenta en el lado adaxial células irregulares (Fig. 19A) con la cutícula lignificada, de poco menos tamaño en el lado abaxial (Fig. 19B), sobre el nervio las células son longitudinales paralelas al nervio (alargadas) (Fig. 19C), presenta tricomas uniseriados con células acompañantes epidérmicas modificadas (Fig. 19F) y tricomas glandulares multicelulares (Fig. 19E; 20B), asociados a los haces vasculares (Fig. 20); los estomas son paracíticos más abundantes del lado abaxial generalmente con cámara subestomática profunda y células anexas voluminosas un tercio o más grandes que las células guarda, (Fig. 19C).

**Figura 18.** Sección transversal del mesófilo. **A**, *P. dumosus* (PSCV004) 20X; **B**, *P. coccineus* (PSCV020) 20X; **C**, *P. vulgaris* (G51034A) 20X. **cse**, cámara subestomática; **e**, epidermis; **ep**, estoma paracítico; **pe**, parenquima empalizada; **pl**, parenquima lagunar.

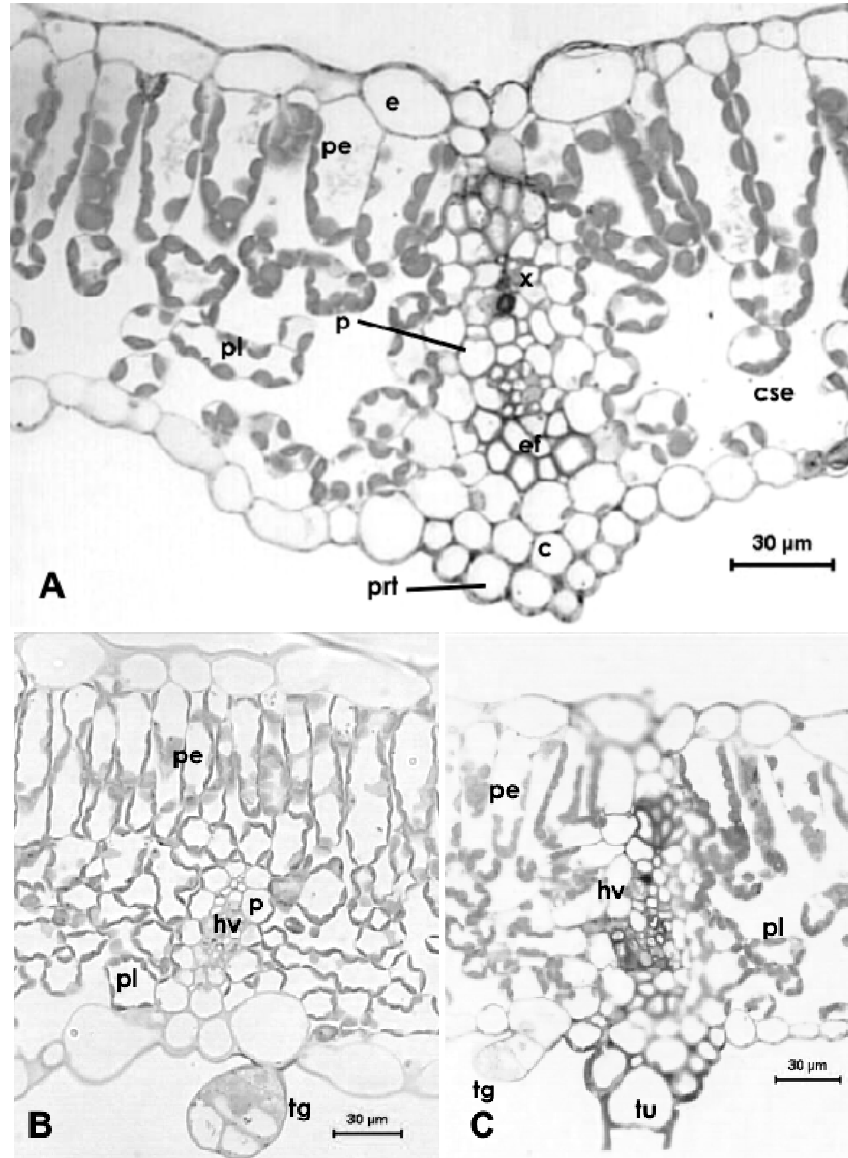


**Figura 19.** Epidermis del mesófilo en vista superior de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A** y **B**, epidermis irregular *P. vulgaris* (G51034A) 20X (adaxial) y 40X (abaxial) respectivamente; **C**, epidermis longitudinal del nervio adaxial *P. vulgaris* (G51034A) 10X; **D**, estoma paracítico *P. coccineus* (PSCV001) 40X; **E**, tricoma glandular multicelular *P. dumosus* (PSCV004) 40X; **F**, tricoma uniseriado *P. coccineus* (PSCV001) 10X. (**ca**), células anexas; (**cg**), células guarda; (**e**), epidermis; (**ep**), estoma paracítico; (**tg**), tricoma glandular; (**tu**), tricoma uniseriado.



El parénquima en empalizada presenta un solo estrato de células en forma regular, alargadas y con paredes compactas (Fig. 20A), algunas UM presentaron forma irregular de las accesiones *P. coccineus* (PSCV011), *P. dumosus* (PSCV040) y *P. vulgaris* (G51034A) (Fig. 20B). El parénquima esponjoso está conformado por células redondas e irregulares con espacios aeríferos entre 2 – 3 estratos, ambos parénquimas bordeados de bastantes cloroplastos (Fig. 20).

**Figura 20.** Sección transversal de mesófilo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, haz vascular *P. coccineus* (PSCV007) 20X; **B**, tricoma glandular. *P. dumosus* (PSCV004) 20X; **C**, tricoma uniseriado *P. coccineus* (PSCV001) 20X. (**cse**), cámara subestomática; (**e**), epidermis; (**ef**), esclerénquima del floema; (**hv**), haz vascular; (**pe**), parénquima de empalizada; (**pl**), parénquima lagunar (esponjoso); (**prt**), protuberancia; (**tg**), tricoma glandular; (**tu**), tricoma uniseriado; (**x**), xilema.



Los haces vasculares ocupan de 1 a 1/3 de todo el mesófilo (adaxial – abaxial), el haz rodeado de una vaina de células parenquimáticas, mas asociado al parénquima esponjoso y a tricomas uniseriados y glandulares (Fig. 20), también a formaciones protuberantes de variados tamaños casi piramidales (Fig. 20A), estas formaciones después de la epidermis presenta de 1 – 3 estratos de células colenquimáticas y las demás son parénquimáticas (Fig. 20).



La Tabla 8 compara 11 caracteres anatómicos de los tejidos estudiados en el mesófilo (Anexo E). Se observó homogeneidad en los tejidos y no se presentó en el mesófilo cristales de composición desconocida (circular y cuadrado) y los amiloplastos (enteros y fragmentados).

**Tabla 8.** Comparación de caracteres anatómicos principales del mesófilo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Especie	Accesión	Carácter										
		e	tug	pe	pl	clo	cro	cd1	cd2	prt	amv	amf
<i>P. coccineus</i>	PSCV001	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
	PSCV002	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
	PSCV007	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
	PSCV020	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
	PSCV027	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>P. dumosus</i>	PSCV004	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
	PSCV036	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>P. coccineus</i> *	PSCV011	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>P. dumosus</i> **	PSCV008	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
	PSCV022	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
	PSCV040	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
<i>P. vulgaris</i>	G51034A	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-

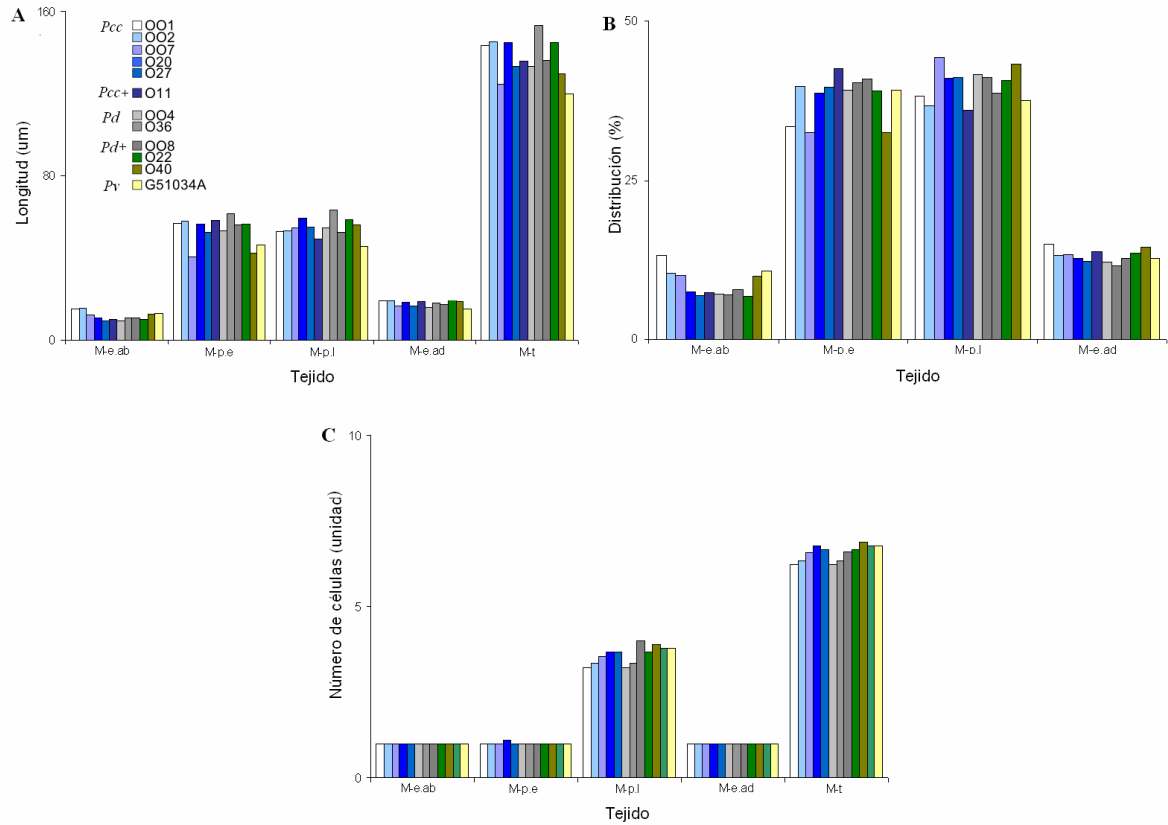
(+): Presente; (-): Ausente. \*Posible híbrido de *P. coccineus* \*\*Posible híbrido de *P. dumosus*.

**amf**, amiloplastos fragmentados; **amv**, amiloplastos ovados; **clo**, cloroplastos en ambas lados de la lámina foliar; **cro**, cristales (oxalato de calcio); **cr1**, cristales (cuadrados); **cr2**: cristales (redondos); **e**, epidermis uniestratificada; **pe**, parénquima de empalizada; **pl**, parénquima esponjoso (lagunar); **prt**, Protuberancia abaxial; **tug**, Tricomas uniseriados y glandulares.

**6.3.2 Descripción cuantitativa.** E Anexo H presenta los valores medios de la comparación de los tejidos en las tres variables del mesófilo (longitud, proporción y número de células), se representan en la Gráfica 7 mostrando al mesófilo menos variable que al pecíolo y el nervio, a pesar de esto se obtuvieron resultados estadísticamente significativos de algunos tejidos (Anexo L). La variable mas contrastante fue la longitud (Gráfica 7A), seguida de proporción (Gráfica 7B) y el número de células (Gráfica 7C).

- **Longitud.** Esta variable presentó diferencias en el parénquima de empalizada (M-p.e), parénquima esponjoso (M-p.l) y el total (M-t) y fueron homogéneas las epidermis abaxial (M-e.ab) y adaxial (M-e.ad) (Gráfica 7A). Las medias del rango en la longitud total (M-t) fue de 119,71 – 153,25  $\mu\text{m}$  (Anexo H). *P. coccineus* (133,12 – 145,12  $\mu\text{m}$ ), presenta las tres clases, el bajo, intermedio y el alto, solo PSCV011 (*P. coccineus*) (153,25  $\mu\text{m}$ ) “posible híbrido” con el valor más alto. *P. dumosus* (133,19 – 135,81  $\mu\text{m}$ ) de igual manera las tres clases, el bajo, intermedio y alto, no se presentaron variaciones extremos en los posibles híbridos. *P. vulgaris* presentó el valor mas bajo G51034A (119,71  $\mu\text{m}$ ), (Gráfica 7A; Tabla 9).

**Gráfica 7.** Representación de las medias de los tejidos del mesófilo en las especies *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris* (Anexo H). A, Longitud ( $\mu\text{m}$ ); B, Proporción (%); C, Número de células.



**Tabla 9.** Agrupación de accesiones en clases del total de la longitud del mesófilo ( $\mu\text{m}$ ) (M-t), en *P. dumosus* (*Pd*), *P. coccineus* (*Pcc*) y *P. vulgaris* (*Pv*).

Rango total	Clases	Grupos	Accesiones
119,71 – 153,25 $\mu\text{m}$	3251,05 – 153,25	Alto	( <i>Pd</i> ): PSCV040
	2720,65 – 3251,04	Intermedio	( <i>Pcc</i> ): PSCV020, PSCV011 ( <i>Pd</i> ): PSCV022
	119,71 – 2720,64	Bajo	( <i>Pcc</i> ): PSCV001; PSCV002; PSCV007; PSCV027 ( <i>Pd</i> ): PSCV004; PSCV036; PSCV008. ( <i>Pv</i> ): G51034A.

El Cuadro 3 agrupa las comparaciones múltiples las variables “proporción” (Anexo K) y “número de células” (Anexo L) resumidos en la Tabla 10.

**Cuadro 3.** Resumen de las comparaciones múltiples ( $\leq 0,01$ ) de los tejidos del mesófilo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*, para las variables de proporción “Tamhane” (Anexos K) y número de células “Duncan” (Anexo L). (a), M-e.ad; (r), M-p.e; (s), M-p.l; (h), M-e.ab.

Mesófilo			Diferencias en proporción											
			Pcc					Pd		Pcc+	Pd+		Pv	
			001	002	007	020	027	004	036	011	008	022	040	G51034A
Diferencias en número de células	Pcc	PSCV001		r	s	a	a,h	r,a	a,h	a,r,h	r,a	a		
		PSCV002			r,s	s,a	h	a	s,a	s,a	a	a	r,s	
		PSCV007				r,a	r,a	r,s,a	r,a	r,a	r,s,a	r,a		r,s
		PSCV020						s					r,a	a
		PSCV027						s					r,a	a
	Pd	PSCV004							a,s	s		s	r,s,a	a
		PSCV036											a,r,h	a
	Pcc+	PSCV011	s					s					a,r,h	a
	Pd+	PSCV008											r,a,h	a
		PSCV022	s					s					a	a
		PSCV040	s					s						r,s
	Pv	G51034A	s					s						

**Tabla 10.** Comparación de diferencias en las variables de proporción y número de células (Cuadro 3) para accesiones y tejidos del mesófilo en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

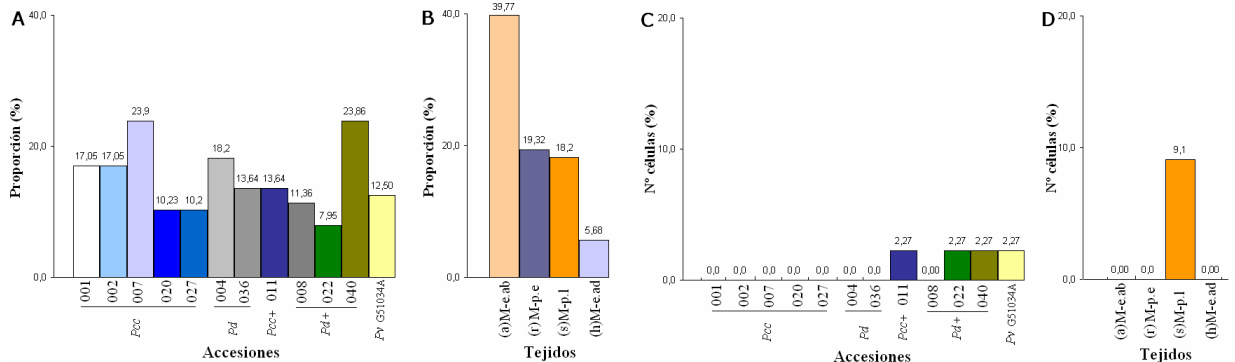
Análisis	Proporción		Número Células	
	Número de diferencias	% (de 88)	Número de diferencias	% de (88)
<b>Accesión</b>	<b>Tejidos</b>	<b>Tejidos</b>	<b>Tejidos</b>	<b>Tejidos</b>
PSCV001	15	17,05	0	0,00
PSCV002	15	17,05	0	0,00
PSCV007	21	23,86	0	0,00
PSCV020	9	10,23	0	0,00
PSCV027	9	10,23	0	0,00
PSCV004	16	18,18	0	0,00
PSCV036	12	13,64	0	0,00
PSCV011	12	13,64	2	2,27
PSCV008	10	11,36	0	0,00
PSCV022	7	7,95	2	2,27
PSCV040	21	23,86	2	2,27
G51034A	11	12,50	2	2,27
<b>Total</b>	<b>158</b>		<b>8</b>	
<b>Tejido</b>	<b>Accesiones</b>	<b>Accesiones</b>	<b>Accesiones</b>	<b>Accesiones</b>
(a) M-e.ab	35	39,77	0	0,00
(r) M-p.e	17	19,32	0	0,00
(s) M-p.l	16	18,18	8	9,09
(d) M-e.ad	5	5,68	0	0,00
<b>Total</b>	<b>73</b>		<b>8</b>	

- **Proporción.** Presenta en la Gráfica 7B un contraste poco menos que la longitud en la epidermis abaxial (M-e.ab), parénquima de empalizada (M-p.e) y parénquima esponjoso (M-p.l); el único tejido homogéneo gráficamente es la epidermis adaxial (M-e.ad). En el mesófilo se presenta la menor variación entre las accesiones para separarlas.

Las accesiones que presentaron mayor cantidad de tejidos estadísticamente significativos en la proporción del mesófilo son: PSCV040 y PSCV007 con 21 (23.86%), PSCV004 con 16 (18.18%) y PSCV001 y PSCV002 con 15 (17.05%); las accesiones con menos diferencias fueron: PSCV022 con 7 (7.95%), PSCV020 y PSCV027 con 9 (10.23%) y PSCV008 10 (11.36%) (Cuadro 3; Tabla 9).

En los tejidos de que presentaron mayor significancia estadística en las accesiones de la proporción para el mesófilo, solo de destacó la epidermis adaxial (M-e.ab) con 35 (39.77%), seguido con menos diferencias el parénquima de empalizada (M-p.e) con 17 (19.32%) y parénquima esponjoso (M-p.l) con 16 (18.18%); el único de menos diferencias (igual en accesiones) la epidermis adaxial (M-e.ad) con 5 (5.68%) (Cuadro 3; Tabla 9).

**Gráfica 8.** Representación de accesiones y tejidos totales para la proporción y número de células del mesófilo (Tabla 9) en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. **A**, accesiones (proporción); **B**, tejidos (proporción); **C**, accesiones (número de células); **D**, tejidos (número de células).



- **Número de células.** El parénquima esponjoso (M-p.l) y el total (M-t) presenta contrastes en la Gráfica 7C y es muy homogéneo las dos epidermis abaxial (M-e.ab) y adaxial (M-e.ad) y el parénquima de empalizada (M-p.e). Se presenta la menor representatividad estadística en esta variable.

En las accesiones solo fueron diferentes PSCV011 (*P. coccineus*), PSCV022 (*P. dumosus*), PSCV040 (*P. dumosus*) y G51034A (*P. vulgaris*) con 2 (2.27%), las especies corresponden a los “posibles híbridos” y el blanco (Cuadro 3; Tabla 9).

Los tejidos no se presentaron diferencias al 99 % de confianza (sig. 0.01) fue necesario usar el 95 % de confianza (sig. 0.05) con la prueba de Duncan Anexo L, encontrando con pocas diferencias en el parénquima esponjoso (M-p.l) con 8 (9.09%) (Cuadro 3; Tabla 9).

## 6.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS

**6.4.1 Cualitativo.** El parecido u homología de los tejidos del pecíolo, nervio principal y mesófilo en las tres especies *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*, se hace evidente a través de microscopía óptica de alta resolución (MOAR) (Tablas 2, 4 y 7) en aumentos de 1 – 100X, sin embargo hay sustanciales diferenciales como cristales (Fig. 10) y amiloplastos (Fig. 8) visibles en *P. vulgaris*, no presentes en *P. dumosus* y *P. coccineus*; estos dos últimos son tendencia mas homogénea.

La epidermis de el pecíolo y nervio principal, es semejante a la descrita por Flores *et al.*, (1977) y Voltan *et al.*, (1990) en vista superior, con células largas y paralelas a la nervadura (Fig. 19C), transversalmente Lackey (1978) las describe como redondeadas; en el mesófilo superficialmente presenta células irregulares (Flores *et al.*, 1977; Voltan *et al.*, 1991) y transversalmente alargadas “poligonales” (Lackey, 1978), de mayor volumen en la superficie adaxial y menos densa en estomas y tricomas. En las tres estructuras generalmente al lado adaxial presenta más cuticulización y son de mayor volumen, (Fig. 7; 14; 20E y 21B). Al límite entre la cutícula y la pared de la célula epidérmica no se observa una separación clara, entre 4X a 100X para MOAR, es necesario emplear más aumentos para su respectiva observación.

Los del tipo parácítico estomas son comunes en las especies cuyas células acompañantes o subsidiarias en este caso irregulares son paralelas a las guarda (Percy y Santana, 1976; Flores *et al.*, 1977; Lackey, 1978; Terhune *et al.*, 1991; Voltan *et al.*, 1991; Stenglein *et al.*, 2004; 2005) también llamados “rubiáceos” (Metcalfé y Chalk, 1957). Stenglein *et al.*, (2004; 2005) evidencian por primera vez la presencia de estomas anomocíticos y anisocítico en *P. vulgaris* L., en este estudio no se observo estos tipos de estomas, probablemente debido a la poca cantidad y exploración de improntas de superficie.

Los tricomas observados presentes en el pecíolo, nervio principal de y mesófilo las tres especies, fueron del tipo uniseriado con dos células basales pequeñas y una en la punta larga y unciforme (célula apical corta y curva al final), descrito por (Metcalfé y Chalk, 1957; Flores *et al.*, 1977; Lackey, 1978; Zaiter *et al.*, 1990; Dahlin *et al.*, 1992; Stenglein *et al.*, 2004; 2005). Flores *et al.*, (1977) llama a los tricomas unciformes como ganchudos; en este estudio se observaron pocos, debido a la técnica de impronta con polímero adhesivo de poliestireno “*ega*”, deja ver solo la superficie de las células, adhiriéndose el tricoma y arrancando, limitando su observación y los tricomas glandulares multicelulares llamados claviformes (Metcalfé y Chalk, 1957; Flores *et al.*, 1977) o talludos (Lackey, 1978), cuya célula basal pequeña esta rodeada por 4 – 6 células epidérmicas y un uniseriado o biseriado tallo el cual soporta un gorro de 2 – 4 células (Stenglein *et al.*, 2004; 2005). Metcalfé y Chalk (1957) y Stenglein *et al.*, (2004; 2005) señalan la presencia de glándulas pequeñas y mucilaginosas en *P. vulgaris*, que investigaciones de Flores *et al.*, (1977) no los observaron; de igual manera en este trabajo tampoco son vistas, probablemente debido a la poca exploración de la epidermis y al no uso de la técnica de microscopía de barrido.

Debajo de la epidermis en las tres especies se presentaron dos capas de colénquima angular, continuando hacia el parénquima cortical con cloroplastos (hasta los haces vasculares) y el parénquima medular hacia el vértice o centro forma un hueco (lagunar) estas descripciones coinciden con las hechas en *P. vulgaris* por Hayes *et al.*, (1985); precisando que este estudio es la primera descripción realizada en *P. dumosus* y *P. coccineus* de accesiones del suroccidente colombiano.

El sistema vascular colateral (Paniagua *et al.*, 1998) o eustele (Fahn, 1990), presente en las tres especies es semejante al descrito por Hayes *et al.*, (1985) en *P. vulgaris*, los haces vasculares fragmentados alrededor entre la médula y el parénquima cortical, sus partes están bien definidas (xilema, floema y cámbium) el xilema concéntrico, el primario conformado por tráqueas proto y metaxilemáticas con punteaduras rodeada de un parénquima perivasal, el crecimiento secundario algunas veces separado por fibras del xilema (Engleman, 1979), además presenta continuos anillos de pared gruesa. El cámbium es fascicular, el floema con fibras formando casquetes (esclerénquima) y los tubos cribosos con residuos de taninos y cristales de oxalato de calcio, Grimson *et al.*, (1982) describe estos cristales en *P. vulgaris* como monohidrato de forma curva y recto y presencia de cristales de composición desconocida (circulares), también observado en este estudio en *P. vulgaris* y no en *P. dumosus* y *P. coccineus* (Fig. 10).

Las reservas de almidón en *P. vulgaris*, presenta una granulometría de forma circular entero (Fig. 8C), distribuido ampliamente y denso en los tejidos parenquimáticos (también dentro del xilema primario y las fibras), diferente a la granulometría de *P. dumosus* y *P. coccineus*, que presentan forma ovada, fragmentado poco denso (Fig. 8), la literatura no describe este tipo de diferencias sobre del empaquetamiento de reservas de almidón en relación con las tres especies, pero se muestran diferentes, probablemente sea atribuido a la unidad básica (amilosa y amilopectina) del polisacárido (Robinson, 1991; Belitz y Grosch, 1997). Tofiño *et al.*, (2006) mencionan que la complejidad del metabolismo del almidón, desprende de la variación importante relativa de cada enzima en la formación al gránulo de acuerdo con el nivel de crecimiento de los anillos, cantidad y estructura de este polímero, además de un componente genético aun no develado, pero evidenciado a partir del análisis del genoma completo de arroz y *Arabidopsis* que ofrece una visión global de los genes involucrados en el metabolismo del almidón. Probablemente existan diferencias en las enzimas de *P. dumosus* y *P. coccineus*, con *P. vulgaris*.

Las aristas adaxiales del pecíolo fueron iguales en *P. dumosus* y *P. coccineus* con una protuberancia contrario a *P. vulgaris* cuyas aristas son de mayor longitud (3 – 4 veces mas) sin formación de protuberancia. En el nervio principal las protuberancias sobre la lámina foliar son iguales en las tres especies; el resto de estructuras son semejantes un poco la base es semi-redonda en *P. vulgaris* y ligeramente semi-cuadrada en *P. dumosus* y *P. coccineus*. Se evidencia una homología en las dos especies de fríjol cachea, respecto a estas estructuras.

El mesófilo en las tres especies, se presentó homogéneo con un solo estrato del parénquima de empalizada, a pesar que se han reportado en algunos casos de 2 o rara vez 3 estratos (Lackey, 1978; Voltan *et al.*, 1991; Navea *et al.*, 2002) no se evidenció en este estudio;

algunas UM de las misma especie, presentaron un parénquima de empalizada de forma casi irregular y poco empaquetado *P. vulgaris* (G51034A) *P. coccineus* (PSCV011) y *P. dumosus* (PSCV 040), probablemente influenciado por la luz que produce cambios en la concentración y elongación de cloroplastos (Nii y Kuroiwa, 1988); el parénquima esponjoso de forma irregular con espacios aeríferos y estomas en asociación con tricomas uniseriados y especialmente glandulares probablemente como un aparato para respuesta ante las condiciones climáticas y de defensa (Zaiter *et al.*, 1990; Stenglein *et al.*, 2004; 2005). La formación de protuberancias abaxiales, casi en forma piramidal debajo de la epidermis con 1 – 3 estratos de células colenquimáticas y parenquimáticas, pueden funcionar como reservorios de agua en un complemento del aparato anteriormente señalado.

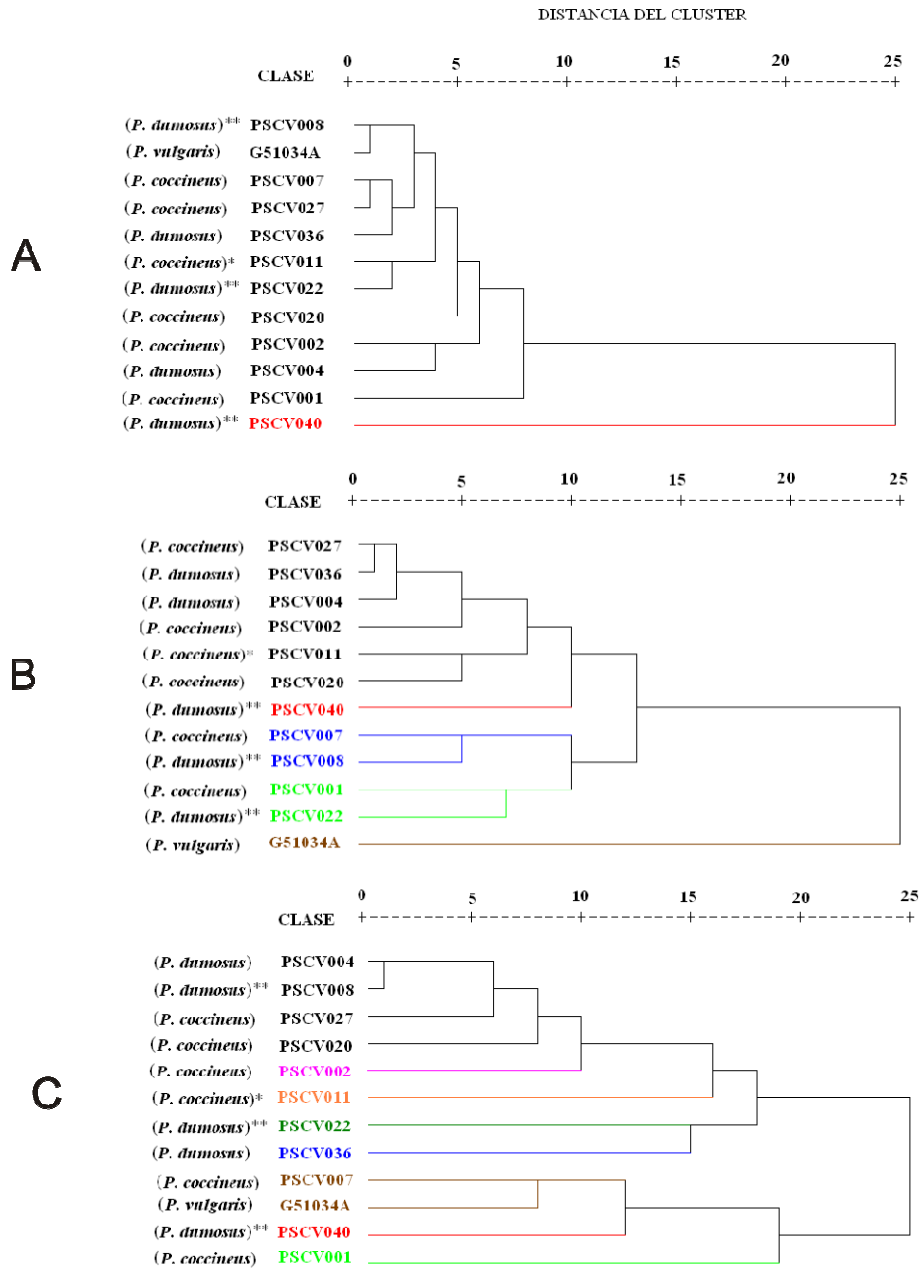
**6.4.2 Cuantitativo (medidas estadísticas).** Los datos de *longitud* ( $\mu\text{m}$ ) en pecíolo, nervio principal y mesófilo con análisis por rangos o clases (Tabla 3; 5; 8), no presentó una relación y constancia de las accesiones en la ubicación de los rangos (Tabla 10). Sin embargo las accesiones PSCV040 (*P. dumosus*) y PSCV020 (*P. coccineus*), presentan un comportamiento diferente a las demás (Tabla 11); no hay que descartar que el (Fenotipo = genotipo + ambiente) “teoría de las líneas puras” (Johansen 1903 en: Birnbaum, 1972), asumiendo que las plantas se desarrollaron en condiciones ambientales iguales, pueden estar diferenciadas en parte por un componente genético.

**Tabla 11.** Comparación de las clases en la longitud total (P-t, N-t y M-t) entre las estructuras de las accesiones de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Clase	Pecíolo	Nervio Principal	Mesófilo
Altos	PSCV040	PSCV020	PSCV001, PSCV002, PSCV011, PSCV020, PSCV022
Medio	PSCV020, PSCV011, PSCV022	PSCV007, PSCV008, PSCV022, G51034A	PSCV004, PSCV008, PSCV027, PSCV036
Bajo	PSCV001, PSCV002, PSCV007, PSCV027, PSCV004, PSCV036, PSCV008, G51034A	PSCV040, PSCV011, PSCV036, PSCV004, PSCV002, PSCV001, PSCV027, PSCV008	PSCV007, PSCV040, G51034A

Con los datos de longitud total en ( $\mu\text{m}$ ) de pecíolo, nervio y mesófilo (Anexo F, G y H) se compararon en un dendrograma mediante la distancia de Manhattan o en bloque que utiliza la suma de las diferencias absolutas entre los valores de los elementos (Gráfica 9); debe tenerse en cuenta que el análisis de conglomerados jerárquico es un método exploratorio, cuyos resultados deben considerarse provisionales hasta que sean confirmados mediante otra muestra independiente (Manual-SPSS.14, 2005); no se presentó relación de las estructuras totales (P-t N-t y M-t), con las especies, “posibles híbridos” y clases o rangos; sin embargo es notable una separación de PSCV040 (*P. dumosus*), las demás incluso G51034A (*P. vulgaris*) no evidenciando relación con los trabajos de Sanabria *et al.*, (2005); Molano, (2006) y Navia, (2006), en la agrupación de variantes y posibles híbridos.

**Gráfica 9.** Dendrogramas de las distancias el 12 individuos *Phaseolus sp.*, basados en la distancia Manhattan para conglomerados jerárquicos (entre grupos), para medidas histológicas totales en ( $\mu\text{m}$ ) de peciolo, nervio principal y mesófilo; mediante el SPSS.14. **A**, longitud total de peciolo (P-t); **B**, longitud total de nervio (N-t); **C**, longitud de mesófilo (M-t).



Los resultados de análisis de varianza para la *proporción* “no paramétrica” (Kruskal-Wallis) (Anexo I) y *número de células* “paramétrica” (ANOVA) (Anexo J) y las comparaciones múltiples Tamhane ( $\leq 0.01$ ) (Anexo K) y Duncan ( $\leq 0.01$ ) (Anexo L) respectivamente, en peciolo (Cuadro 1; Tabla 4), nervio (Cuadro 2; Tabla 6) y mesófilo



(Cuadro 3; Tabla 9), se sumaron y agruparon en la Tabla 12, relacionando las accesiones que presenta relación de las accesiones con especies, variantes y posibles híbridos. Todas las accesiones presentaron entre 10,48 –18,21 % diferencias respecto a los tejidos analizados, en promedio la homogeneidad se estima este estudio aproximadamente en 84,64 %.

*P. dumosus* tubo una tendencia a ser variable entre 12,54 - 18,21 %, con la accesión representante PSCV040; *P. coccineus* presentó diferencias entre 10,48 – 17,35 %, presentándose como menos variable en las accesiones PSCV027, PSCV001 y PSCV011; *P. vulgaris* se presentó intermedio a las diferencias de *P. dumosus* y *P. coccineus*. En las tres estructuras fue mas contrastante la variable proporción que el número de células y para ambas la estructura de el nervio fue el mas contrastante con 31,91% (proporción) y 15,81 (número de células); el peciolo sigue con 16,10 % (proporción) y 12,39 (número de células) y de último el mesófilo 14,96% (proporción) y 0,76 (número de células), como el menos variable.

**Tabla 12.** Comparación total de las diferencias de las accesiones respecto al número de tejidos diferentes estadísticamente significativos (Tabla.4; 6; 9) en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Accesión	Peciolo				Nervio				Mesófilo				Total	%
	Proporción		N células		Proporción		N células		Proporción		N células			
	Cant.	%	Cant.	%	Cant.	%	Cant.	%	Cant.	%	Cant.	%		
PSCV040	24	27,27	6	6,82	37	42,05	16	18,18	21	23,86	2	2,27	106	18,21
PSCV002	16	18,18	21	23,86	40	45,45	9	10,23	15	17,05	0	0,00	101	17,35
PSCV007	21	23,86	6	6,82	40	45,45	12	13,64	21	23,86	0	0,00	100	17,18
PSCV004	17	19,32	9	10,23	28	31,82	15	17,05	16	18,18	0	0,00	85	14,60
PSCV036	6	6,82	17	19,32	31	35,23	16	18,18	12	13,64	0	0,00	82	14,09
G51034A	20	22,73	13	14,77	25	28,41	11	12,50	11	12,50	2	2,27	82	14,09
PSCV011	12	13,64	9	10,23	25	28,41	17	19,32	12	13,64	2	2,27	77	13,23
PSCV022	12	13,64	12	13,64	22	25,00	21	23,86	7	7,95	2	2,27	76	13,06
PSCV008	14	15,91	8	9,09	28	31,82	13	14,77	10	11,36	0	0,00	73	12,54
PSCV020	9	10,23	10	11,36	31	35,23	10	11,36	9	10,23	0	0,00	69	11,86
PSCV001	2	2,27	14	15,91	13	14,77	17	19,32	15	17,05	0	0,00	61	10,48
PSCV027	17	19,32	8	9,09	17	19,32	10	11,36	9	10,23	0	0,00	61	10,48
<b>Total</b>	170	-	133	-	337	-	167	-	158	-	8	-	<b>973</b>	-
<b>%</b>	16.10		12.59		31.91		15.81		14.96		0.76		<b>15,36</b>	

La comparación de los *tejidos* (Tabla 13) con mayor diferencia en las accesiones, se presentó entre 2,84 – 46,59 %, principalmente por el tejido del parénquima abaxial en nervio (N-p.ab) y peciolo (P-p.ab) 46,59 % y 23,86 % respectivamente, los demás tejidos no sobre pasaron del 19,89 % de diferencia y los mas homogéneos son las epidermis adaxiales y abaxiales del peciolo y en el nervio y en mesófilo solo fueron las adaxiales. Los tejidos contrastantes lo presentó la variable proporción entre 17,44 %, mas del doble que la variable número de células. A pesar de las diferencias, el promedio general contrastante de los tejidos fue de 12, 90 % considerándose homogéneo en un 87,10 %.

A pesar de contar en algunos tejidos con significancia, los resultados no se muestran claros un poco confusos, sugiriendo realizarse modelos estadísticos multivariados que permitan relacionar las medidas de las estructuras (peciolo, nervio y mesófilo) con las diferencias de

las variables *longitud*, *proporción* y *número de células*, además de aumentar la trayectoria de medida horizontal y longitudinal de los tejidos.

**Tabla 13.** Comparación total de las diferencias de los tejidos respecto al número de accesiones diferentes estadísticamente significativas (Tabla.4; 6; 9) en *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Tejido	Análisis				Total	%
	Proporción		Número de células			
	Cantidad	%	Cantidad	%		
(b) N-p.ab	37	42,05	45	51,14	82	46,59
(b) P-p.ab	14	15,91	28	31,82	42	23,86
(a) M-e.ab	35	39,77	0	0,00	35	19,89
(c) N-ef	20	22,73	11	12,50	31	17,61
(e) N-xc	20	22,73	8	9,09	28	15,91
(d) P-f	17	19,32	9	10,23	26	14,77
(s) M-p.l	16	18,18	8	9,09	24	13,64
(n) N-p.ad	23	26,14	0	0,00	23	13,07
(p) N-l.pro	17	19,32	6	6,82	23	13,07
(g) P-p.ad	12	13,64	9	10,23	21	11,93
(d) N-f	17	19,32	4	4,55	21	11,93
(r) M-p.e	17	19,32	0	0,00	17	9,66
(e) P-xc	11	12,50	4	4,55	15	8,52
(a) N-e.ab	14	15,91	0	0,00	14	7,95
(f) P-p.m	1	1,14	12	13,64	13	7,39
(c) P-ef	8	9,09	3	3,41	11	6,25
(h) N-e.ad	9	10,23	0	0,00	9	5,11
(a) P-e.ab	8	9,09	0	0,00	8	4,55
(h) P-e.ad	6	6,82	0	0,00	6	3,41
(d) M-e.ad	5	5,68	0	0,00	5	2,84
<b>Total</b>	<b>307</b>		<b>147</b>		<b>454</b>	
<b>%</b>	<b>17,44</b>		<b>8,35</b>			<b>12,90</b>

## 7. DISCUSIÓN

Las descripciones cualitativas en general son realizadas por primera vez para las especies *P. dumosus* y *P. coccineus* del suroccidente Colombiano, mostrando homogeneidad con *P. vulgaris* (Tablas 1, 3, 5), evidenciado que los tejidos se conservan en el mismo género, Tovar (2001) le atribuye homogeneidad genética a la diversidad de *P. dumosus* y *P. coccineus* porque que están influenciadas por el mismo tipo de polinización alógama y es probablemente como un producto del flujo genético no antes observado en estudios similares, desde la histología no se puede asegurar lo expuesto por Tovar (2001), pero sin duda se evidencia una homogeneidad de las tres especies en torno a la forma de los tejidos.

La diferencia de cristales en *P. vulgaris* con *P. dumosus* y *P. coccineus*, Distch *et al.*, (1995) señalan que la deposición de cristales no solo esta afectada por las condiciones ambientales sino también por factores genéticos, en este sentido el presente estudio encontró dos tipos de cristales de composición desconocida, uno en *P. vulgaris* (circular), diferente en *P. dumosus* y *P. coccineus* (cuadrado), probablemente como un resultado de procesos metabólicos diferentes entre *P. dumosus* y *P. coccineus* con *P. vulgaris*.

Los gránulos de almidón están constituidos por una unidad básica de amilosa y amilopectina del polisacárido (Robinson, 1991; Grosch y Belitz, 1997), presenta diferentes en *P. vulgaris* (compacto) y *P. dumosus* y *P. coccineus* (fragmentado); Tofiño *et al.*, (2006) señala que existe un componte genético asociado al metabolismo para la formación de los gránulos de almidón aun no develados, pero si evidenciado en genomas completos de arroz y *Arabidopsis* (Ciereszko, 2005 en: Tofiño *et al.*, 2006). De igual manera que los cristales puede ser un resultado de procesos metabólico diferente de *P. vulgaris* con *P. dumosus* y *P. coccineus*

En los datos cuantitativos la variable *longitud*, fue usada para homogenizar las medidas en las variables de *proporción* y *número de células*, presentando estas dos últimas contrastantes significativos ( $\leq 0,01$ ) en algunos tejidos del pecíolo, nervio principal y mesófilo (Tabla 12 y 13), teniendo en cuenta que las accesiones fueron desarrolladas y evaluadas “Ex situ”, bajo condiciones ambientales y de nutrición igual, estas son provenientes de áreas geográficas diferentes generalmente de alta montaña (Cauca, Nariño y Putumayo) (Fig. 2, Anexo A), se discute que el contraste observado y calculado es probablemente como consecuencia de la carga genética evidenciada en las diferencias microanatómicas cuantitativas, asumiendo que el ambiente es 0 según la regla (Fenotipo = genotipo + ambiente) “teoría de las líneas puras” (Johansen 1903 en: Birnbaum, 1972). Sin embargo lo anterior puede ser un error, debido al asegurar que dichos cambios pueden ser consecuencia del proceso de diferenciación y maduración de los tejidos, a pesar que las hojas fueron colectadas asumiendo la máxima madurez, pero desconociendo el proceso maduración interna de los tejidos, en el momento de colecta del material, sugiriendo repetir este proceso para validar estos datos.

Los datos cualitativos y cuantitativos de los tejidos del pecíolo, nervio principal y mesófilo, demuestran que *P. dumosus* y *P. coccineus* tienden a ser homogéneos microanatómicamente, ambos un poco diferentes de *P. vulgaris*; de igual manera los posibles híbridos no se mostraron diferentes a las variantes y no presentaron homología o correlación con la agrupación de las accesiones de los datos morfológicos de Sanabria *et al.*, (2005) y Molano (2006) (Anexo A), exceptuando los valores altos de diferencias en la longitud y significativas en proporción y número de células en la PSCV040 (*P. dumosus*) “posible híbrido”, pero en general con tendencia homogéneo. Estos resultados son semejantes con las apreciaciones de Muñoz (2006) en la caracterización palinológica al considerarlos polínicamente iguales “estenopalinológicas”.

Wellhausen *et al.*, (1951) menciona que las recombinaciones seleccionadas, al sufrir nuevas hibridaciones, dan origen a otras recombinaciones, de tal forma que este mecanismo continuo, a través de generaciones ha permitido al hombre seleccionar sus variantes con características fenotípicas deseables. No hay que desconocer el papel importante respecto al manejo de estos recursos por parte de las poblaciones en el lugar de procedencia de los mismos (Sanabria *et al.*, 2005; Navia, 2006 y Orjuela, 2006), donde pueden contribuir o afectar la conservación, que en general microanatómicamente se muestra homogénea la diversidad de las especies *P. dumosus* y *P. coccineus*, debido probablemente al tipo de reproducción “alógama” y al aislamiento geográfico que están siendo sometidas las especies (Tovar, 2001), otra consecuencia de la descripción anatómica histológica, es que solo han variado en el orden de familias y en algunos casos en géneros (Metcalfé y Chalk, 1959), que sin embargo se hallaron diferencias en especies del mismo género relacionadas (Hernández *et al.*, 1959 en: Smartt, 1972; Piñero y Eguiarte, 1988; Schmit y Debouck, 1991; Schmit *et al.*, 1993; Llaca *et al.*, 1994; Tovar, 2001).

Las especies del mismo género “*Phaseolus*” comparadas cualitativa y cuantitativamente, solo fueron representativas este último, encontrando una gran posibilidad con alto potencial en las comparaciones cuantitativas, mediante tratamientos estadísticos multivaridos; mencionado por Metcalfé y Chalk (1959) que la anatomía esta restringida a especies y grupos de bajo rango categorial como especie, porque las diferencias entre ellos son usualmente mas de tipo cuantitativo que cualitativo y muchos exigen tratamiento estadísticos basados en gran cantidad de material, logrando solo proveer evidencias o interrelaciones en grandes grupos como de familias a familias. Probablemente exista una gran homología entre especies relacionadas, este estudio permite evidenciar que las comparaciones tienen diferentes formas o caminos permitiendo en futuro que puedan aprobarse métodos histológicos en la caracterización y comparación taxonómica de en los vegetales, como apoyo de otras disciplinas.

## 8. CONCLUSIONES

La caracterización foliar de las estructuras de: pecíolo, nervio principal y mesófilo de las especies *P. dumosus* y *P. coccineus* es la primera realizada en las accesiones del suroccidente colombiano y son homogéneas a las descritas para *P. vulgaris*.

El pecíolo de *P. dumosus* y *P. coccineus* está compuesto por células epidérmicas uniestratificadas, seguido de colénquima angular y clorénquima, en el centro parénquima medular, los haces vasculares son colaterales con fibras del floema y xilema (y respectivas formaciones secundarias) mediados por un cámbium fascicular. El contorno presenta dos aristas adaxiales y formaciones de una protuberancia intermedia a las aristas y en alrededor presentan tricomas simples uniseriados (rectos y unciformes) y tricomas glandulares además de estomas paracíticos.

El nervio principal de *P. dumosus* y *P. coccineus* presenta células epidérmicas uniestratificadas, colénquima angular, clorénquima, parénquima medular, tres haces vasculares colaterales con fibras del floema y xilema mediados por un cámbium fascicular. En la epidermis presenta tricomas simples uniseriados (rectos y unciformes) y tricomas glandulares y estomas paracíticos; además de la formación de una arista adaxial por encima de las láminas foliares.

El mesófilo de *P. dumosus* y *P. coccineus* es bifacial con células epidérmicas uniestratificadas, un estrato adaxial de parénquima en empalizada y un estrato abaxial de parénquima esponjoso; los haces vasculares de lado a lado foliar o intermedios, protegidos por un parénquima. Exhiben tricomas simples uniseriados (rectos y unciformes) y tricomas glandulares y estomas paracíticos más en la cara abaxial y presenta formaciones protuberantes en el lado adaxial.

Las comparaciones cualitativas en forma y/o contorno de las estructuras del pecíolo, nervio principal y mesófilo fueron homogéneas para todas las accesiones de *P. dumosus* y *P. coccineus* en el suroccidente colombiano.

Hay presencia de productos metabólicos diferentes entre *P. dumosus* y *P. coccineus* con *P. vulgaris*, observado en los cristales de composición desconocida y granulometría de almidones.

Las comparaciones cuantitativas presentaron pocas diferencias en algunos tejidos de las accesiones de *P. dumosus* y *P. coccineus*, presentando contrastante la variable proporción en un 15,36 % y el número de células en 12,90 %, ambas en general consideradas como homogéneas por tener 84,64 % y 87,10 % respectivamente de homogeneidad.

Las accesiones de *P. dumosus* fueron mas variable con 12,64 – 18,21 %, respecto a *P. coccineus* que presentó diferencias entre 10,48 – 17,35 %. Ambas están dentro en un mismo rango, de igual manera que *P. vulgaris*.

Los tejidos más variables fueron los parénquimas abaxiales en el pecíolo P-p.ab (46,59 %) y nervio N-p.ab (23,86 %) y los más homogéneos fueron la epidermis adaxial en el mesófilo M-e.ad (2,84 %), adaxiales y abaxiales en pecíolo y nervio [P-e.ad (3,41 %); P-e.ab (4,55 %); N-e.ad (5,11 %) y N-e.ab (7,95 %)].

Entre los posibles híbridos solo presentó características variables cuantitativas la accesión PSCV040 (*P. dumosus*) (18,21 %), los demás están dentro del rango de las variantes.

No se establece una relación en la comparación cualitativa y cuantitativa de las 12 accesiones de *P. dumosus* y *P. coccineus* con las agrupaciones morfológicas realizadas por Sanabria *et al.*, (2005) y Molano (2006) de variantes y posibles híbridos.

La metodología mediante el uso de las técnicas de corte de tejidos en resina y mano alzada para histología, combinada con microscopía de luz (MOAR), permitió obtener resultados en corto tiempo y de fácil análisis en la caracterización anatómica cualitativa y cuantitativa de los tejidos foliares en las especies *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

## 9. RECOMENDACIONES

Hacer cortes longitudinales para observar los tejidos conductores xilemáticos y floemáticos, y tomar sus respectivas medidas, ya que todos los cortes y observaciones en este estudio fueron transversales.

Realizar medidas de tipo horizontal en los tejidos analizados, para comprobar si varían a lo ancho los tejidos de las estructuras de pecíolo, nervio principal y mesófilo, como si se observo en algunos tejidos de medidas realizadas “verticales” (haz – envéz) que se encontraron diferencias, como los parénquimas.

Añadir a la metodología análisis preliminares de histoquímica “vegetal”, para identificar y caracterizar los elementos y residuos del floema y otras estructuras de los demás tejidos.

Complementar los datos de los tejidos de corteza, haz vascular y médula mediante el uso de microscopía de transmisión y barrido para caracterizar más a detalle las diferencias de cristales y almidones entre *P. dumosus* y *P. coccineus* con *P. vulgaris*.

Adicionar al mesófilo comparaciones epidérmicas superficiales mediante el uso de microscopía de barrido para calcular densidad e índice estomático y de tricomas, con el fin de adicionar datos cuantitativos en la caracterización de las especies.

Integrar mediante un diseño experimental el cual se pueda evaluar el tallo, la raíz y la flor de estos materiales, para complementar la caracterización anatómica de las especies de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. Dejando claro que estas partes de la planta señalados no fueron evaluadas en esta investigación, debido a los pocos materiales que habían, el cual no se podía tomar muestras de tallo, raíz, las flores tenían como objetivo la producción de semilla.

La metodología solo se encuentra limitada por el desconocimiento del estado de maduración de las hojas, como consiguiente al desarrollo de los tejidos, a fin de controlar más la homogeneidad en la evaluación de las especies.

## BIBLIOGRAFÍA

- BASURTO, Peña Francisco Alberto. 2000. Aspectos etnobotánicos de *Phaseolus coccineus* L. y *Phaseolus polyanthus* Greenman en la Sierra Norte de Puebla, México. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. División de Estudios de Posgrado. p. 4
- BELITZ, H. D., GROSCH, W. 1997. Química de los alimentos, 2ed. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España, p. 338 – 341.
- BERNAL, H. Y. y JIMENEZ, L. C. 1990. SECRETARIA EJECUTIVA DEL CONVENIO ANDRES BELLO (SECAB) Ciencia y Tecnología No 16, Editorial Guadalupe Ltda. Bogotá D.C., p. 35.
- BRACEGIRDLE, Brian y MILES, Patricia H. 1975. Atlas de estructura vegetal. Editorial Paraninfo, Madrid España, p. 68 - 72
- BIRNBAUM, Allan. 1972. The random phenotype concept, with applications. *Courant Institute of Mathematical Sciences*, New York University, New York, N.Y., p. 267
- BROUGHTON, WJ., HERNANDEZ, G., BLAIR, M., BEEBE, S., GEPTS, P. and VANDERLEYDEN, J. 2003. Beans (*Phaseolus spp.*) – model food legumes. *Plant and soil* 252:55-128.
- CORTÉS, Benavides Felipe. 1980. Histología Vegetal Básica. Ed Blume, Madrid, p. 81.
- DAHLIN, R; BRICK M. y OOG, J. 1992. Characterization and density of trichomes on three common bean cultivars. *Economic Botany* 46:299-304.
- DEBOUCK, Daniel G. 1992. Frijoles (*Phaseolus spp.*). En: BERMEJO, J. E. H. and LEON, J. Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492. (Colección FAO: Producción y Protección vegetal, No. 26); Roma, Italia, p. 47.
- ; TORO, Orlando., PAREDES, Oscar M., JONSON, William C. and GEPTS, Paul. 1993. Genetic Diversity and Ecological Distribution of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in Northwestern South America. *Economic Botany* 47(4):408-423.
- ENGLEMAN, E.M. 1979. Anatomía y morfología. En: Contribución al conocimiento del frijol. Colegio de Postgraduados. México, p.23-37.
- ENRIGHT, A. M. y CUMBIE, B. G. (1973). Stem anatomy and internodal development in *Phaseolus vulgaris*. *Amer. J. Bot.* 60(9):915-922.



- ESTADOS UNIDOS ARMED FORCES INSTITUTE OF PATHOLOGY (EUAFIP). 1960. Manual of histologic and special staining technics Armed Forces Institute of Pathology. 2ed. McGraw-Hill 1960. New York, p.12-60.
- FAHN, Abraham. 1990. Plant anatomy 4<sup>th</sup> ed. Pergamon Press. New York, p. 1 – 408.
- FORERO, Enrique. 2005. Avances de la botánica colombiana: Estudios sobre leguminosas. En: SIMPOSIO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA BIOLÓGICAS (5° : Popayán). Ponencia del V Simposio de Investigación en Ciencia Biológicas. Popayán.
- FLORES, Eugenia M; ESPINOZA, Ana M. y KOZUKA, Y. 1977. Estudio ultraestructural de la epidermis foliar de *Phaseolus vulgaris* L. *Turrialba* 27(2):117-124.
- FREYTAG, George and DEBOUCK, Daniel. 2002. Taxonomy, Distribution and Ecology of the Genus *Phaseolus* (LEGUMINOSAE-PAPILIONOIDEAE) in Northe America, México and Central America. Editorial BRIT. Texas, USA, p. 1-60
- GARCIA, Barriga Hernando. 1964. Técnica Microscópica Vegetal Fitomicroscopía. Publicaciones Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional. Bogotá Colombia, p. 29 – 50.
- GARCIA, M. y MADRIZ, P. 1999. Anatomía foliar comparada cinco fenotipos de fríjol mongo, *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Rev. Fac. Agron.* 16:610-620.
- GENESER, Finn. 1990. Histología. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires Argentina, p. 34-71.
- GEPTS, Paul. 1991, La biotecnología aclara el proceso de domesticación del fríjol. *Diversity*, 7(1-2):52-53.
- GONZALES, Santander Rafael. 1968. Técnicas de microscopio electrónico en biología. Tolle Lagre Aguilar. Madrid España, p. 3 – 665.
- GRIMSON, M.J.; ARNOTT, H.J.; WEBB, M.A. 1982. A scanning electron microscopy study of winged twin crystals in the bean legume. *Scanning Electron Microscopy* 3:1133-1140
- HAYES, P.M; OFFLER, C.E. y PATRICK J.W. 1985. Cellular Structures, plasma membrane surface areas and plasmodesmatal frecuencies of the stem of *Phaseolus vulgaris* L. in relation to radial photosynthate transfer. *Annals of Botany* 56:125-138.
- HERRERA-FLORES, Teresa S., CARDENAS, Elizabeth. S., ORTIZ, Joaquín. C., ACOSTA, J. A. G. y MENDOZA, Ma. del Carmen C. 2005. Anatomía de la vaina de tres especies del género *Phaseolus*. *Agrociencia*, 39:595-602.

INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI. IGAC. (Colombia). 1995. Suelos de Colombia, origen, evolución, clasificación, distribución y uso. Sub. Agrol. Santa Fé de Bogotá, D.C. p 800.

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. 1993. Microscopía óptica de alta resolución MOAR, Manual de procedimientos. Editorial del Instituto Nacional de Salud, p. 9 – 33.

INTERNATIONAL PLANT NAME INDEX. 2007. Database of the names and associated basic bibliographical details of all seed plants. [Consulta: miércoles, 23 de mayo de 2007]. Available from World Wide Web: <[http://www.ipni.org/ipni/simplePlantNameSearch.do;jsessionid=FCAEAC84C4013C73839B5C6C7AA473F5?find\\_wholeName=phaseolus+coccineus&output\\_format=normal&query\\_type=by\\_query&back\\_page=query\\_ipni.html](http://www.ipni.org/ipni/simplePlantNameSearch.do;jsessionid=FCAEAC84C4013C73839B5C6C7AA473F5?find_wholeName=phaseolus+coccineus&output_format=normal&query_type=by_query&back_page=query_ipni.html)>.

JUDD, Walter S., CAMPBELL, Christopher S., KELLOGG, Elizabeth A., STEVENS, Peter F. and DONOGHUE, Michael J. 2002. Systematics: A Phylogenetic Approach, Second Edition, p. 208

LACKEY, James. A. 1978. Leaflet anatomy of Phaseoleae (Leguminosae: Papilionoideae) and its relation to taxonomy. *Botanical Gazette* 139(4):436-446.

LLACA, V., DELGADO, S. A. and GEPTS, P. 1994. Chloroplast DNA as an evolutionary marker in the *Phaseolus vulgaris* complex. *Theor. Appl. Genet.* 88:646-652.

LEMOIGNE, Lender D. 1982. Diccionario de Biología. Ed. GRIJALBO, S.A. Barcelona, España, p.116

LEON, J.. 1992. Los recursos fitogenéticos del nuevo mundo. En: BERMEJO, J. E. H. and LEON, J. Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492. (Colección FAO: Producción y Protección vegetal, No. 26); Roma, Italia, p. 42.

LÓPEZ, Marceliano; FERNÁNDEZ, Schoonhoven, Aart van. 1985. Fríjol: Investigación y Producción CIAT. Editorial XYZ; Cali, Colombia, p. 63

METCALFE C. y CHALK L. 1957. Anatomy of the Dicotyledons leaves, stem, and wood in relation to taxonomy whit notes on economic uses. Vol I. Clarendon Press, Oxford, p. 477-535.

----- y ----- . 1979. Anatomy of the Dicotyledons systematic anatomy of leaves and stem whit a brief history of the subject. Vol I. Clarendon Press, Oxford, p. 1-276.

MARTINEZ, Alfaro Miguel Ángel. 1992. Repercusiones de la introducción de la flora del Viejo Mundo en América y causas de la marginación de los cultivos. En: BERMEJO, J. E. H. and LEON, J. Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492. (Colección FAO: Producción y Protección Vegetal, No. 26); Roma, Italia, p. 26 -27.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN W3TROPICOS. 2007. Nomenclatural database 23 May 2007. [Consulta: miércoles, 23 de mayo de 2007]. Available from World Wide Web: <[http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search\\_vast](http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast)>.

MOLANO, P. Néstor A. 2006. Descripción Morfológica de Variantes del fríjol cacha (*Phaseolus dumosus* Macfad.) en Agroecosistemas Tradicionales del Suroccidente Colombiano. Trabajo de Grado Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación, Departamento de Biología. Popayán, Colombia, p. 75.

MUÑOZ, Efrén G. 2006. Aportes Palinotaxonómicos al estudio etnobotánico del fríjol cacha *Phaseolus dumosus* Macfad. en Agroecosistemas del Suroccidente Colombiano. Trabajo de Grado Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación, Departamento de Biología. Popayán, Colombia, p. 62.

MUÑOZ, Guillermo; GIRALDO, Guillermo; FERNANDEZ DE SOTO, José. 1993. Descriptores varietales: Arroz, fríjol, maíz, sorgo. CIAT, Cali, Colombia. p. 55.

NAVEA, Carlos; TERRAZAS, Teresa; DELGADO-SALINAS, Alfonso y RAMÍREZ-VALLEJO, Porfirio. 2002. Foliar response of wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* L. to water stress. *Genetic Resources and Crop Evolution* 49:125-132.

NAVIA, Imbachi Carlos H. 2006. Manejo y conservación de fríjol cacha *Phaseolus dumosus* Macfad. en Agroecosistemas del Suroccidente Colombiano. Trabajo de Grado Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación, Departamento de Biología. Popayán, Colombia, p. 68.

NII, N., KUROIWA. 1988. Anatomical changes including chloroplast structure in peach leaves under different light conditions. *Journal of Horticultural Science* 63(1): 37 – 45.

ORJUELA, Muñoz Yohana. 2006. El atx' tul o huerta Nasa: cosmovisión y pensamiento Nasa del entorno doméstico. Monografía de grado, Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Humanas y Sociales, Departamento de Antropología. Popayán, Colombia, p. 87.

PANIAGUA, Ricardo; NISTAL, M; SESMA, P; URÍA, M. A; FRAILE, B; ANADÓN, R; SÁEZ, F. J. y PAZ DE MIGUEL M. 1997. Citología e histología vegetal y animal 2 edición. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid España, p. 750-828.

PERCY, Domingo y SANTA, José. 1976. El patrón estomático parásito en leguminosas. *Actualidades Biológicas* 5(18):80-87.

PIÑEROS, Daniel y EGUIARTE, Luis. 1988. The origin and biosystematic status of *Phaseolus coccineus* ssp. *polyanthus*: electrophoretic evidence. *Euphytica* 37:199-203.

ROBINSON, David S. 1991. Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España, p. 56 – 65.

ROMERO, Carolina., RUIZ, Liz Karen y FORERO, E. 2007. Estudios en leguminosas colombianas. En: CONGRESO COLOMBIANO DE BOTANICA (4° : Medellín). Memorias del IV Congreso Colombiano de Botánica. Medellín: *Actual. Biol.* 29(Supl. 1):321.

SANABRIA, Olga L. 2005. Proyecto estudio comparativo de la fonología y crecimiento *Ex situ* de las variantes y posibles híbridos de *Phaseolus dumosus* Macfady y *Phaseolus coccineus* Linneo de suroccidente Colombiano. Vicerrectoría de Investigaciones Universidad del Cauca, Código VRI 1881.

-----; MUÑOZ G. E., MOLANO, N. A. y ACOSTA, Y. J. 2006. Informe de avance semestres II 2005 y I de 2006. Proyecto estudio comparativo de la fonología y crecimiento *Ex situ* de las variantes y posibles híbridos de *Phaseolus dumosus* Macfad. y *Phaseolus coccineus* Linneo de suroccidente Colombiano. Vicerrectoría de Investigaciones Universidad del Cauca, Código VRI 1881, p. 1

-----; NAVIA, C. H., MOLANO, N. A., ORJUELA, Y. y MUÑOZ, E. 2005. Conservación y manejo *In situ* de arvenses y cultivares tradicionales en el suroccidente colombiano. Sena-Colciencias-VRI999 Informe Técnico Final, p. 5.

SCHMIT, V. and DEBOUCK, D. G. 1991. Observations o the origin of *Phaseolus polyanthus* Greenman. *Economic Botanic.* 45(3):345-364.

-----; JARDIN, P; BAUDOIN, J. P. and DEBOUCK, D. G. 1993. Use of chloroplast DNA polymorphisms for the phylogenetic study of seven of *Phaseolus* taxa including of *P. vulgaris* and of *P. coccineus*. *Theor. Appl. Genet.* 87:506-516.

SMARTT, J. 1972. The possible status of *Phaseolus coccineus* L. ssp *Darwinianus* Hdz. X et Miranda C. as a distinct species and cultiven of the genus *Phaseolus*. *Euphytica*, 22:424-426.

STENGLEIN, Sabastian A., ARAMBARRI, A. M., VIZGARRA, O. N. and BALATTI, P. A. 2004. Micromorphological variability of leaf epidermis in Mesoamerica common bean (*Phaseolus vulgaris*, Leguminosae). *Australian Journal of Botany*, 52:73-80.

-----; -----, MENENDEZ, S, M., O. N. and BALATTI, P. A. 2005. Leaf epidermal characters related with plants passive resitance to pathogens vary among accessiones of wild beans *Phaseolus vulgaris* var. *aborigineus* (Leguminosae-Phaseoleae). *Flora* 200:285-295.

- TERHUNE, B. T; E. A. ALLEN, and H.C. HOCH. 1991. Stomatal ontogeny and morphology in *Phaseolus vulgaris* in relation to infection structure initiation by *Uromyces appendiculatus*. *Canadian Journal of Botany* 69(3):477-484.
- TOFIÑO, Adriana., FREGENE, Martín., CEBALLOS, Hernan y CABAL, Diana. 2006. Regulación de la biosíntesis del almidón en plantas terrestres: perspectivas de modificación. Artículo de Revisión derivado del Seminario II, Doctorado en Ciencias Agrarias, énfasis en Fisiología Vegetal, Universidad Nacional de Colombia – Bogotá, p. 65.
- TOVAR, Luque Eduardo. 2001. Caracterización de la diversidad genética de la colección núcleo de *Phaseolus coccineus* L. y *Phaseolus polyanthus* G., mediante el uso de AFLPs. Trabajo de Grado Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Bogotá D.C., p. 62 – 119.
- VELASQUEZ, Genarina E. y PARRA, Olga V. 1996. Métodos Histológicos Aplicables al Estudio de las Células y los Tejidos. Fondo Editorial Cooperativo Uniantioquia., Medellín, Colombia, p. 8-58
- VOLTAN, R. B. Q; WUTKE, E. B; BULISANI, E. A; AMBROSANO, E. J; SORDI, G. y PEREIRA, J. C. V. N. A. 1991. Comparação da morfologia de folhas lisas e rugosas de plantas de feijoeiro. *Bragantia* 50(1):1-15.
- VOYSEST, Oswaldo. 1983. Variedades de frijol en América Latina y su Origen. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, p.7.
- WELLHAUSEN, E.J. FEUENTES O., A.; and HERNÁNDEZ C., A. 1986. In collaboration with Mangelsdorf. En: Aguilar, José Alfredo. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en Aguas Calientes México. Situación actual y comparación del plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, Escuela Nacional de Agricultura, Colegio de Postgraduados. México, p 35.
- ZAITER H.Z; COYNE D.P; STEADMAN J.R and BEAVER J.S. 1990. Inheritance of adaxial leaf pubescence in beans. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 115,158-160.

**ANEXO A.** Procedencia de *P. dumosus* y *P. coccineus* evaluados

<b>ACCESION</b>	<b>ESPECIE</b>	<b>PROCEDENCIA</b>	<b>ALTITUD (msnm)</b>
PSCV001	<i>P. coccineus</i> L.	El Manzanal, Silvia / Cauca	2680
PSCV002	<i>P. coccineus</i> L.	El Manzanal, Silvia / Cauca	2680
PSCV004	<i>P. dumosus</i> Macfad.	La Peña, Totoró/Cauca	2679
PSCV007	<i>P. coccineus</i> L.	Ambachico, Silvia / Cauca	2524
PSCV008**	<i>P. dumosus</i> Macfad.	Agoyá, Silvia / Cauca	2507
PSCV011*	<i>P. coccineus</i> L.	Miraflores, Silvia / Cauca	2440
PSCV020	<i>P. coccineus</i> L.	San Andrés, Santiago/Putumayo	2121
PSCV022**	<i>P. dumosus</i> Macfad.	Tamabioy, Santiago/Putumayo	2125
PSCV027	<i>P. coccineus</i> L.	Moechiza, Yacuanquer/Nariño	2672
PSCV036	<i>P. dumosus</i> Macfad.	Vichoy, Santiago/Putumayo	2123
PSCV040**	<i>P. dumosus</i> Macfad.	Jenny, Pasto / Nariño	2123
G51034A <sup>©</sup>	<i>P. vulgaris</i> L.	CIAT, Palmira	850

\* : Posibles híbridos de *Phaseolus coccineus* L.

\*\* : Posibles híbridos de *Phaseolus dumosus* Macfad.

© : Blanco de la estación CIAT-Santa Rosa.

Fuente: Proyecto “Conservación y manejo *In situ* de arvenses y cultivares tradicionales en el suroccidente colombiano. Sena-Colciencias-UnicaucaVRI999 Informe Técnico Final” (Sanabria *et al.*, 2005)

**ANEXO B.** Caracteres morfológicos evaluados de *P. dumosus* y *P. coccineus*.

<b>Accesión</b>	<b>Germinación</b>	<b>Flor</b>	<b>Estigma</b>	<b>Bractéolas</b>	<b>Hilum</b>
PSCV001	Hipógea	Naranja-rojo	Extrorso	Ovadas	Lanceolado
PSCV002	Hipógea	Naranja-rojo	Extrorso	Ovadas	Lanceolado
PSCV004	Epígea	Blanca	Introrso	Lanceoladas	Ovado
PSCV007	Hipógea	Naranja-rojo	Extrorso	Ovadas	Lanceolado
PSCV008**	Epígea	Blanca-lila	Introrso	Lanceoladas	Ovado
PSCV011*	Hipógea	Naranja-rojo	Introrso	Ovadas	Lanceolado
PSCV020	Hipógea	Naranja-rojo	Extrorso	Ovadas	Lanceolado
PSCV022**	Epígea	Naranja-lila	Introrso	Lanceoladas	Ovado
PSCV027	Hipógea	Naranja-rojo	Introrso	Lanceoladas	Ovado
PSCV036	Epígea	Blanca	Introrso	Lanceoladas	Ovado
PSCV040**	Epígea	Rosada	Introrso	Lanceoladas	Ovado

\* : Posibles híbridos de *Phaseolus coccineus* L.

\*\* : Posibles híbridos de *Phaseolus dumosus* Macfad.

Fuente: Proyecto “Conservación y manejo *In situ* de arvenses y cultivares tradicionales en el suroccidente colombiano. Sena-Colciencias-UnicaucaVRI999 Informe Técnico Final” (Sanabria *et al.*, 2005).

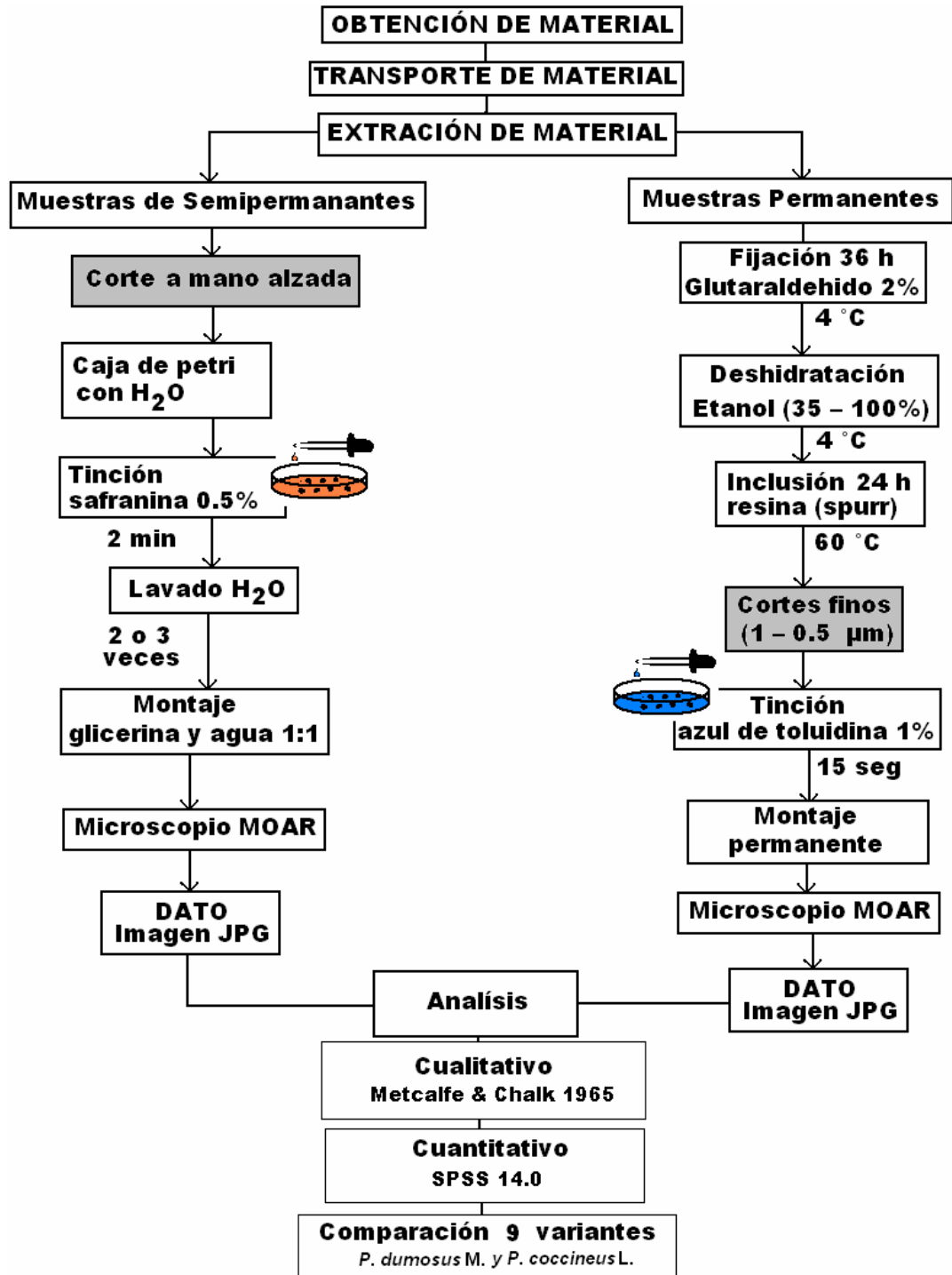
**ANEXO C.** Preparación de muestras para inclusión en resina en *Phaseolus sp.*

ETAPA	PROCESO	DURACION
1. PREFIJACION	Glutaraldehído 2%	36 horas
2. LAVADO	Cacodilato buffer 0.1M Ph= 7.4	15 min.
3. POSFIJACION	OsO <sub>4</sub> 2%	2 hora
4. LAVADO	Fosfato de Milloniq	30 min.
	1. cambio	15 min.
	2. cambio	15 min.
5. DESHIDRATACION	Alcohol 25%	30 min.
	1. cambio	15 min.
	2. cambio	15 min.
	Alcohol 50%	30 min.
	1. cambio	15 min.
	2. cambio	15 min.
	Alcohol 75%	30 min.
	1. cambio	15 min.
	2. cambio	15 min.
	Alcohol 95%	30 min.
	1. cambio	10 min.
	2. cambio	10 min.
	3. cambio	10 min.
	Alcohol 100%	30 min.
	1. cambio	10 min.
	2. cambio	10 min.
	3. cambio	10 min.
	Acetona 100%	1hora
6. PREIMBIBICION	Mezcla (Resina Spurr + Acetona)	6 horas
	1. Resina Spurr + Acetona 1:3	2 hora
	2. Resina Spurr + Acetona 3:1	2 hora
	3. Resina Spurr 100% (Temp. 17 – 25°C)	2 hora
7. INCLUSION DEFINITIVA	Resina Spurr 100% (Temp. 65°C)	24 hora

Fuente: Modificado de Gonzáles-Santander (1968).



ANEXO D. Esquema metodológico para preparar muestras histológicas de *P. dumosus* y *P. coccineus*



**ANEXO E.** Descripción de caracteres cuantitativos comparables en pecíolo, nervio principal, mesófilo de *P. dumosus* y *P. coccineus*.

Estructura	Tejido	Abreviatura	Análisis de variable		
			a	b	c
<b>PECÍOLO</b>	Epidermis abaxial	<i>P-e.ab</i>	X	X	X
	Parénquima abaxial	<i>P-p.ab</i>	X	X	X
	Esclerenquima del floema	<i>P-ef</i>	X	X	X
	Floema	<i>P-f</i>	X	X	X
	Xilema y cámbium	<i>P-xc</i>	X	X	X
	Parénquima medular	<i>P-p.m</i>	X	X	X
	Parénquima adaxial	<i>P-p.ad</i>	X	X	X
	Epidermis adaxial	<i>P-e.ad</i>	X	X	X
	Longitud total del pecíolo	<i>P-t</i>		X	X
<b>NERVIO PRINCIPAL</b>	Epidermis abaxial	<i>N-e.ab</i>	X	X	X
	Parénquima abaxial	<i>N-p.ab</i>	X	X	X
	Esclerenquima del floema	<i>N-ef</i>	X	X	X
	Floema	<i>N-f</i>	X	X	X
	Xilema y cámbium	<i>N-xc</i>	X	X	X
	Parénquima adaxial	<i>N-p.ad</i>	X	X	X
	Epidermis adaxial	<i>N-e.ad</i>	X	X	X
	Longitud de la protuberancia	<i>N-l.pro</i>	X	X	X
	Longitud total del nervio	<i>N-t</i>		X	X
<b>MESOFILO</b>	Epidermis abaxial	<i>M-e.ab</i>	X	X	X
	Parénquima empalizada	<i>M-p.e</i>	X	X	X
	Parénquima esponjoso	<i>M-p.l</i>	X	X	X
	Epidermis adaxial	<i>M-e.ad</i>	X	X	X
	Longitud total del mesófilo	<i>M-t</i>		X	X

a: Longitud ( $\mu\text{m}$ ) (trayectoria adaxial – abaxial).

b: Porcentaje de distribución (%).

c: Número de células ( $N^\circ$ ) por estratos de la trayectoria (a).

**ANEXO F.** Promedios de las tres variables de los tejidos en el pecíolo de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Variable	Accesión	P-e.ab	P-p.ab	P-ef	P-f	P-xc	P-p.m	P-p.ad	P-e.ad	P-t	
Longitud (µm)	<i>Pcc</i>	OO1	18,17	155,72	61,66	121,64	343,33	1396,63	187,25	40,57	2324,97
		OO2	14,44	116,35	66,86	133,05	354,18	1417,64	245,14	16,77	2364,44
		OO7	14,41	121,66	60,54	127,41	447,22	1580,18	171,65	20,47	2543,55
		O20	15,85	136,10	73,68	152,52	458,52	1746,76	284,57	36,85	2904,85
		O27	12,90	148,96	71,26	100,31	396,97	1419,38	267,68	29,13	2446,58
	<i>Pd</i>	OO4	16,15	103,52	54,48	97,55	385,43	1288,19	220,05	24,87	2190,24
		O36	14,04	95,29	69,51	108,60	352,89	1364,83	261,89	36,25	2303,31
	<i>Pcc+</i>	O11	16,71	130,53	76,44	150,23	468,86	1702,93	216,71	20,52	2782,93
	<i>Pd+</i>	OO8	13,72	120,20	65,26	109,41	395,33	1614,03	301,61	28,69	2648,25
		O22	18,21	129,70	77,91	125,38	442,71	1665,11	309,40	26,99	2795,40
		O40	18,87	149,62	89,16	158,51	557,86	2344,53	429,11	33,79	3781,45
	<i>Pv</i>	G51034A	15,41	135,30	54,57	153,60	467,32	1639,17	216,17	18,97	2700,51
	Distribución (%)	<i>Pcc</i>	OO1	0,93	6,68	3,24	5,29	15,42	56,62	10,11	1,73
OO2			0,62	4,87	2,82	5,65	15,03	59,88	10,42	0,72	100
OO7			0,56	4,79	2,38	5,01	17,60	62,08	6,76	0,81	100
O20			0,55	4,75	2,54	5,25	15,79	60,13	9,68	1,31	100
O27			0,53	6,10	2,94	4,07	16,19	58,21	10,78	1,19	100
<i>Pd</i>		OO4	0,76	4,77	2,48	4,49	17,69	58,60	10,07	1,14	100
		O36	0,61	4,13	2,99	4,75	15,35	59,54	11,08	1,55	100
<i>Pcc+</i>		O11	0,60	4,75	2,76	5,40	16,75	61,31	7,69	0,74	100
<i>Pd+</i>		OO8	0,52	4,54	2,49	4,14	14,93	60,94	11,35	1,10	100
		O22	0,66	4,66	2,78	4,48	15,88	59,53	11,03	0,97	100
		O40	0,49	3,93	2,46	4,20	14,95	61,85	11,21	0,91	100
<i>Pv</i>		G51034A	0,58	5,10	2,05	5,72	17,33	60,44	8,07	0,72	100
Células (unidad)		<i>Pcc</i>	OO1	1	6	4	9	8	18	9	1
	OO2		1	7	3	11	8	16	11	1	58
	OO7		1	7	3	8	8	17	8	1	52
	O20		1	7	4	9	8	21	12	1	63
	O27		1	8	4	7	8	18	7	1	53
	<i>Pd</i>	OO4	1	7	3	8	8	18	9	1	55
		O36	1	5	3	7	7	15	7	1	47
	<i>Pcc+</i>	O11	1	7	4	7	6	22	8	1	56
	<i>Pd+</i>	OO8	1	7	4	8	8	21	9	1	59
		O22	1	6	4	7	8	22	8	1	57
		O40	1	7	4	8	7	21	10	1	58
	<i>Pv</i>	G51034A	1	6	4	7	7	21	7	1	54

(*Pd*), *P. dumosus*; (*Pcc*), *P. coccineus*; (*Pv*), *P. vulgaris*.

(*Pd+*), Posible híbrido de *P. dumosus*; (*Pcc+*), Posible híbrido de *P. coccineus*.

**ANEXO G.** Promedios de los tejidos de las tres variables en el nervio principal de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Variable	Accesión	N-e.ab	N-p.ab	N-ef	N-f	N-xc	N-p.ad	N-e.ad	N-l.pro	N-t	
Longitud (µm)	<i>Pcc</i>	OO1	14,83	205,94	82,68	121,09	243,18	798,20	35,67	425,11	1926,70
		OO2	14,17	207,19	101,01	140,80	261,45	672,50	20,16	344,60	1761,87
		OO7	12,35	211,87	78,37	139,11	274,49	889,50	17,65	421,54	2044,88
		O20	15,85	136,10	73,68	152,52	458,52	1746,76	36,85	284,57	2904,85
		O27	13,21	183,33	85,25	117,28	202,84	808,70	29,60	383,78	1823,99
	<i>Pd</i>	OO4	15,05	136,70	83,99	132,57	244,85	771,39	18,93	429,71	1833,20
		O36	13,81	124,01	99,47	136,31	220,00	758,71	21,13	417,88	1791,32
	<i>Pcc+</i>	O11	14,99	207,23	79,48	115,05	248,17	768,56	25,06	369,02	1827,58
	<i>Pd+</i>	OO8	15,17	169,63	94,56	137,12	242,02	882,48	21,21	472,84	2035,03
		O22	15,48	164,70	116,23	143,06	257,44	895,03	35,27	421,45	2048,65
	<i>Pv</i>	O40	15,85	188,01	79,91	91,49	214,12	609,36	19,92	345,08	1563,75
		G51034A	17,85	248,59	104,30	173,45	312,01	971,98	33,26	492,28	2353,72
	Distribución (%)	<i>Pcc</i>	OO1	0,77	10,66	4,28	6,28	12,70	41,16	1,74	22,42
OO2			0,81	11,72	5,71	8,02	14,82	38,20	1,16	19,57	100
		OO7	0,60	10,38	3,87	6,81	13,42	43,49	0,86	20,55	100
		O20	0,68	13,92	5,50	7,03	12,39	39,50	1,06	19,93	100
		O27	0,73	10,19	4,70	6,49	11,21	44,38	1,65	20,64	100
<i>Pd</i>		OO4	0,83	7,58	4,62	7,23	13,33	41,93	1,04	23,45	100
		O36	0,78	6,95	5,55	7,59	12,29	42,35	1,19	23,32	100
<i>Pcc+</i>		O11	0,83	11,28	4,36	6,26	13,60	41,92	1,39	20,36	100
<i>Pd+</i>		OO8	0,75	8,29	4,70	6,74	11,93	43,30	1,04	23,26	100
		O22	0,76	8,14	5,70	6,97	12,48	43,94	1,79	20,22	100
<i>Pv</i>		O40	1,02	12,03	5,13	5,84	13,74	38,97	1,27	21,98	100
		G51034A	0,75	10,56	4,40	7,40	13,27	41,28	1,42	20,93	100
Células (unidad)		<i>Pcc</i>	OO1	1	6	4	6	6	21	1	11
	OO2		1	6	4	7	5	22	1	12	59
		OO7	1	6	4	6	5	27	1	14	65
		O20	1	7	4	7	5	26	1	11	62
		O27	1	6	4	7	5	29	1	12	66
	<i>Pd</i>	OO4	1	5	4	7	5	27	1	13	64
		O36	1	4	4	7	5	26	1	10	59
	<i>Pcc+</i>	O11	1	6	4	5	5	25	1	10	57
	<i>Pd+</i>	OO8	1	6	4	7	5	28	1	13	64
		O22	1	5	6	7	6	29	1	12	66
	<i>Pv</i>	O40	1	6	4	6	7	26	1	12	63
		G51034A	1	6	3	6	6	27	1	12	61

(*Pd*), *P. dumosus*; (*Pcc*), *P. coccineus*; (*Pv*), *P. vulgaris*.

(*Pd+*), Posible híbrido de *P. dumosus*; (*Pcc+*), Posible híbrido de *P. coccineus*.

**ANEXO H.** Promedios de los tejidos de las tres variables en el mesófilo de *P. dumosus* y *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Variable	Accesión	M-e.ab	M-p.e	M-p.l	M-e.ad	M-t	
Longitud (µm)	<i>Pcc</i>	OO1	15,00	56,48	52,78	19,18	143,44
		OO2	15,20	57,65	53,12	19,16	145,12
		OO7	12,32	40,58	54,87	16,51	124,28
		O20	10,90	56,22	59,30	18,36	144,78
		O27	9,20	52,29	55,22	16,41	133,12
	<i>Pd</i>	OO4	10,08	58,10	48,88	18,74	135,81
		O36	9,30	53,32	54,80	15,77	133,19
	<i>Pcc+</i>	O11	10,64	61,81	62,97	17,83	153,25
	<i>Pd+</i>	OO8	10,53	55,73	52,53	17,35	136,13
		O22	9,94	56,38	58,74	19,70	144,76
		O40	12,82	42,18	55,84	18,79	129,63
	<i>Pv</i>	G51034A	12,85	46,23	45,52	15,11	119,71
	Proporción (%)	<i>Pcc</i>	OO1	13,27	33,51	38,29	14,92
OO2			10,41	39,79	36,62	13,18	100
OO7			9,94	32,41	44,31	13,34	100
O20			7,59	38,63	41,03	12,75	100
O27			6,96	39,68	41,11	12,25	100
<i>Pd</i>		OO4	7,41	42,65	36,10	13,85	100
		O36	7,17	39,15	41,61	12,07	100
<i>Pcc+</i>		O11	6,98	40,35	41,09	11,58	100
<i>Pd+</i>		OO8	7,78	40,87	38,60	12,76	100
		O22	6,85	38,98	40,59	13,58	100
		O40	9,85	32,52	43,17	14,46	100
<i>Pv</i>		G51034A	10,68	39,08	37,55	12,69	100
Células (unidad)		<i>Pcc</i>	OO1	1	1	3	1
	OO2		1	1	3	1	6
	OO7		1	1	4	1	7
	O20		1	1	4	1	7
	O27		1	1	4	1	7
	<i>Pd</i>	OO4	1	1	3	1	6
		O36	1	1	3	1	6
	<i>Pcc+</i>	O11	1	1	4	1	7
	<i>Pd+</i>	OO8	1	1	4	1	7
		O22	1	1	4	1	7
		O40	1	1	4	1	7
	<i>Pv</i>	G51034A	1	1	4	1	7

(*Pd*), *P. dumosus*; (*Pcc*), *P. coccineus*; (*Pv*), *P. vulgaris*.

(*Pd+*), Posible híbrido de *P. dumosus*; (*Pcc+*), Posible híbrido de *P. coccineus*.

**ANEXO I.** Prueba Kruskal-Wallis para las variables de longitud ( $\mu\text{m}$ ) y distribución (%), en pecíolo, nervio principal y mesófilo de *P. dumosus* y *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Tejido	gl	Chi-cuadrado	Significancia Asintótica	Significancia Monte Carlo	Intervalo de confianza de 99%	
					Límite inferior	Límite superior
<b>P-e.ab</b>	11	53,670	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>P-p.ab</b>	11	137,852	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>P-ef</b>	11	74,728	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>P-f</b>	11	150,547	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>P-xc</b>	11	124,125	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>P-p.m</b>	11	170,547	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>P-p.ad</b>	11	139,955	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>P-e.ad</b>	11	80,877	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>P-t</b>	11	181,960	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>P-e.ab</b>	11	65,194	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>P-p.ab</b>	11	129,959	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>P-ef</b>	11	67,199	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>P-f</b>	11	125,344	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>P-xc</b>	11	86,337	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>P-p.m</b>	11	46,967	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>P-p.ad</b>	11	144,994	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>P-e.ad</b>	11	109,858	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<hr/>						
<b>N-e.ab</b>	11	53,911	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>N-p.ab</b>	11	254,171	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>N-ef</b>	11	127,933	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>N-f</b>	11	170,612	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>N-xc</b>	11	148,330	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>N-p.ad</b>	11	235,583	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>N-e.ad</b>	11	138,605	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>N-l.pro</b>	11	184,763	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>N-t</b>	11	223,419	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>N-e.ab</b>	11	75,708	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>N-p.ab</b>	11	252,342	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>N-ef</b>	11	131,921	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>N-f</b>	11	110,962	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>N-xc</b>	11	104,517	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>N-p.ad</b>	11	150,812	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>N-e.ad</b>	11	101,770	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>N-l.pro</b>	11	112,251	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<hr/>						
<b>M-e.ad</b>	11	49,304	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>M-p.e</b>	11	165,132	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>M-p.l</b>	11	92,603	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>M-e.ab</b>	11	114,590	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
<b>M-t</b>	11	115,072	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>M-e.ad</b>	11	58,415	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>M-p.e</b>	11	139,755	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>M-p.l</b>	11	100,443	0,000	0,000(a)	0,000	0,000
(%) <b>M-e.ab</b>	11	197,015	0,000	0,000(a)	0,000	0,000

Estadísticos de contraste (b,c).

a: (Pecíolo), basado en 10000 tablas muestrales con semilla de inicio 2000000. (Nervio) basado en 10000 tablas muestrales con semilla de inicio 2048628469. (Mesófilo) Basado en 10000 tablas muestrales con semilla de inicio 2000000; b, Prueba de Kruskal-Wallis; c, Variable de agrupación: Accesoión

**ANEXO J.** Prueba ANOVA para la variable número de células por estrato en pecíolo, nervio y mesófilo de *P. dumosus* y *P. coccineus* y *P. vulgaris*.

Tejido	Causas	gl	SC	MC	F	Significancia
<b>P-p.ab</b>	Tratamientos	11	42,892	3,899	3,737	0,000 *
	Error	108	112,700	1,044		
	Total	119	155,592			
<b>P-ef</b>	Tratamientos	11	21,200	1,927	2,602	0,006 *
	Error	108	80,000	,741		
	Total	119	101,200			
<b>P-f</b>	Tratamientos	11	119,867	10,897	3,796	0,000 *
	Error	108	310,000	2,870		
	Total	119	429,867			
<b>P-xc</b>	Tratamientos	11	36,767	3,342	2,500	0,008 *
	Error	108	144,400	1,337		
	Total	119	181,167			
<b>P-p.m</b>	Tratamientos	11	655,167	59,561	4,218	0,000 *
	Error	108	1525,200	14,122		
	Total	119	2180,367			
<b>P-p.ad</b>	Tratamientos	11	246,225	22,384	8,788	0,000 *
	Error	108	275,100	2,547		
	Total	119	521,325			
<b>P-t</b>	Tratamientos	11	1597,467	145,224	6,209	0,000 *
	Error	108	2526,000	23,389		
	Total	119	4123,467			
<b>N-p.ab</b>	Tratamientos	11	55,825	5,075	6,138	0,000 *
	Error	108	89,300	,827		
	Total	119	145,125			
<b>N-ef</b>	Tratamientos	11	39,492	3,590	7,247	0,000 *
	Error	108	53,500	,495		
	Total	119	92,992			
<b>N-f</b>	Tratamientos	11	49,067	4,461	2,596	0,006 *
	Error	108	185,600	1,719		
	Total	119	234,667			
<b>N-xc</b>	Tratamientos	11	20,092	1,827	2,481	0,008 *
	Error	108	79,500	,736		
	Total	119	99,592			
<b>N-p.m</b>	Tratamientos	11	619,000	56,273	6,316	0,000 *
	Error	108	962,200	8,909		
	Total	119	1581,200			
<b>N-p.ad</b>	Tratamientos	11	138,067	12,552	3,980	0,000 *
	Error	108	340,600	3,154		
	Total	119	478,667			
<b>N-t</b>	Tratamientos	11	1359,825	123,620	5,101	0,000 *
	Error	108	2617,100	24,232		
	Total	119	3976,925			
<b>M-p.e</b>	Tratamientos	11	0,092	0,008	1,000	0,451 ns
	Error	108	0,900	0,008		
	Total	119	0,992			
<b>M-p.l</b>	Tratamientos	11	7,892	0,717	2,491	0,008 *
	Error	108	31,100	0,288		
	Total	119	38,992			
<b>M-t</b>	Tratamientos	11	7,225	0,657	1,609	0,106 ns
	Error	108	44,100	0,408		
	Total	119	51,325			

\* Significativo; ns, no significativo

**ANEXO K.** Comparaciones múltiples (Tamhane) para la variable proporción en *P. dumosus* y *P. coccineus*.

Variable Independiente	Variable Dependiente	Accesión (I)	Accesión (J)	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo 99%			
							Límite inferior	Límite superior		
Pecíolo	P-e.ab	002	040	,12700(*)	0,03075	0,006	0,0043	0,2497		
		004	007	,19700(*)	0,04833	0,008	0,0030	0,3910		
			008	,23675(*)	0,04435	0,000	0,0562	0,4173		
			020	,21150(*)	0,04533	0,001	0,0278	0,3952		
			027	,22750(*)	0,04835	0,001	0,0334	0,4216		
			040	,26850(*)	0,04490	0,000	0,0862	0,4508		
			007	004	-,19700(*)	0,04833	0,008	-0,3910	-0,0030	
			008	004	-,23675(*)	0,04435	0,000	-0,4173	-0,0562	
			020	004	-,21150(*)	0,04533	0,001	-0,3952	-0,0278	
			022	040	,16250(*)	0,03797	0,004	0,0096	0,3154	
			027	004	-,22750(*)	0,04835	0,001	-0,4216	-0,0334	
			040	002	-,12700(*)	0,03075	0,006	-0,2497	-0,0043	
				004	-,26850(*)	0,04490	0,000	-0,4508	-0,0862	
				022	-,16250(*)	0,03797	0,004	-0,3154	-0,0096	
			P-p.ab	001	040	2,74275(*)	0,63913	0,007	0,0672	5,4183
				002	027	-1,22800(*)	0,19831	0,000	-2,0205	-0,4355
					040	,93825(*)	0,16984	0,000	0,2434	1,6331
				004	027	-1,32900(*)	0,17665	0,000	-2,0326	-0,6254
				040	,83725(*)	0,14395	0,000	0,2528	1,4217	
		007		027	-1,31000(*)	0,16966	0,000	-1,9856	-0,6344	
				036	,66300(*)	0,15417	0,003	0,0478	1,2782	
				040	,85625(*)	0,13529	0,000	0,3086	1,4039	
		008		027	-1,56325(*)	0,17049	0,000	-2,2422	-0,8843	
				040	,60300(*)	0,13633	0,003	0,0510	1,1550	
		011		027	-1,35375(*)	0,19227	0,000	-2,1212	-0,5863	
				040	,81250(*)	0,16275	0,000	0,1479	1,4771	
		020		027	-1,35325(*)	0,16704	0,000	-2,0185	-0,6880	
				036	,61975(*)	0,15128	0,007	0,0164	1,2231	
				040	,81300(*)	0,13199	0,000	0,2794	1,3466	
		022		027	-1,43600(*)	0,15920	0,000	-2,0706	-0,8014	
				040	,73025(*)	0,12191	0,000	0,2394	1,2211	
		027		002	1,22800(*)	0,19831	0,000	0,4355	2,0205	
				004	1,32900(*)	0,17665	0,000	0,6254	2,0326	
				007	1,31000(*)	0,16966	0,000	0,6344	1,9856	
				008	1,56325(*)	0,17049	0,000	0,8843	2,2422	
				011	1,35375(*)	0,19227	0,000	0,5863	2,1212	
				020	1,35325(*)	0,16704	0,000	0,6880	2,0185	
				022	1,43600(*)	0,15920	0,000	0,8014	2,0706	
				036	1,97300(*)	0,15469	0,000	1,3556	2,5904	
				040	2,16625(*)	0,13588	0,000	1,6161	2,7164	
		036		007	-,66300(*)	0,15417	0,003	-1,2782	-0,0478	
				020	-,61975(*)	0,15128	0,007	-1,2231	-0,0164	
				027	-1,97300(*)	0,15469	0,000	-2,5904	-1,3556	
		040		001	-2,74275(*)	0,63913	0,007	-5,4183	-0,0672	
				002	-,93825(*)	0,16984	0,000	-1,6331	-0,2434	
				004	-,83725(*)	0,14395	0,000	-1,4217	-0,2528	
				007	-,85625(*)	0,13529	0,000	-1,4039	-0,3086	
				008	-,60300(*)	0,13633	0,003	-1,1550	-0,0510	
				011	-,81250(*)	0,16275	0,000	-1,4771	-0,1479	
				020	-,81300(*)	0,13199	0,000	-1,3466	-0,2794	
				022	-,73025(*)	0,12191	0,000	-1,2211	-0,2394	
				027	-2,16625(*)	0,13588	0,000	-2,7164	-1,6161	
				G51034A	040	-1,16275(*)	0,23781	0,001	-2,1466	-0,1789
				040	1,16275(*)	0,23781	0,001	0,1789	2,1466	
		P-ef		002	G51034A	,76575(*)	0,17022	0,002	0,0869	1,4446
				007	022	-,40100(*)	0,09679	0,006	-0,7865	-0,0155
				027	-,56150(*)	0,13370	0,006	-1,1007	-0,0223	
				036	-,61175(*)	0,15064	0,010	-1,2230	-0,0005	
			011	G51034A	,70450(*)	0,16417	0,003	0,0504	1,3586	
			022	007	,40100(*)	0,09679	0,006	0,0155	0,7865	
				G51034A	,72850(*)	0,12975	0,000	0,2071	1,2499	
			027	007	,56150(*)	0,13370	0,006	0,0223	1,1007	
				G51034A	,88900(*)	0,15920	0,000	0,2550	1,5230	



	036	007	,61175(*)	0,15064	0,010	0,0005	1,2230
		G51034A	,93925(*)	0,17366	0,000	0,2462	1,6323
	G51034A	002	-,76575(*)	0,17022	0,002	-1,4446	-0,0869
		011	-,70450(*)	0,16417	0,003	-1,3586	-0,0504
		022	-,72850(*)	0,12975	0,000	-1,2499	-0,2071
		027	-,88900(*)	0,15920	0,000	-1,5230	-0,2550
	036		-,93925(*)	0,17366	0,000	-1,6323	-0,2462
P-f	002	004	1,15875(*)	0,24134	0,001	0,1956	2,1219
		008	1,51450(*)	0,18377	0,000	0,7776	2,2514
		022	1,16900(*)	0,22029	0,000	0,2917	2,0463
		027	1,58400(*)	0,18095	0,000	0,8571	2,3109
		040	1,44800(*)	0,17505	0,000	0,7416	2,1544
	004	002	-1,15875(*)	0,24134	0,001	-2,1219	-0,1956
		G51034A	-1,22975(*)	0,26301	0,001	-2,2771	-0,1824
	007	008	,87425(*)	0,14206	0,000	0,3085	1,4400
		027	,94375(*)	0,13839	0,000	0,3927	1,4948
		040	,80775(*)	0,13058	0,000	0,2874	1,3281
	008	002	-1,51450(*)	0,18377	0,000	-2,2514	-0,7776
		007	-,87425(*)	0,14206	0,000	-1,4400	-0,3085
		011	-1,26400(*)	0,28942	0,004	-2,4501	-0,0779
		020	-1,11850(*)	0,17013	0,000	-1,7984	-0,4386
		G51034A	-1,58550(*)	0,21143	0,000	-2,4394	-0,7316
	011	008	1,26400(*)	0,28942	0,004	0,0779	2,4501
		027	1,33350(*)	0,28764	0,002	0,1527	2,5143
		040	1,19750(*)	0,28396	0,007	0,0274	2,3676
	020	008	1,11850(*)	0,17013	0,000	0,4386	1,7984
		027	1,18800(*)	0,16707	0,000	0,5194	1,8566
		040	1,05200(*)	0,16066	0,000	0,4065	1,6975
	022	002	-1,16900(*)	0,22029	0,000	-2,0463	-0,2917
		G51034A	-1,24000(*)	0,24384	0,000	-2,2120	-0,2680
	027	002	-1,58400(*)	0,18095	0,000	-2,3109	-0,8571
		G51034A	-1,65500(*)	0,20898	0,000	-2,5007	-0,8093
	040	002	-1,44800(*)	0,17505	0,000	-2,1544	-0,7416
		007	-,80775(*)	0,13058	0,000	-1,3281	-0,2874
		011	-1,19750(*)	0,28396	0,007	-2,3676	-0,0274
		020	-1,05200(*)	0,16066	0,000	-1,6975	-0,4065
		G51034A	-1,51900(*)	0,20389	0,000	-2,3481	-0,6899
	G51034A	004	1,22975(*)	0,26301	0,001	0,1824	2,2771
		008	1,58550(*)	0,21143	0,000	0,7316	2,4394
		022	1,24000(*)	0,24384	0,000	0,2680	2,2120
		027	1,65500(*)	0,20898	0,000	0,8093	2,5007
		040	1,51900(*)	0,20389	0,000	0,6899	2,3481
P-xc	002	007	-2,57650(*)	0,52264	0,000	-4,6952	-0,4578
		G51034A	-2,30450(*)	0,56448	0,008	-4,5675	-0,0415
	004	008	2,76550(*)	0,66245	0,005	0,1183	5,4127
		040	2,74525(*)	0,58540	0,001	0,3683	5,1222
	007	002	2,57650(*)	0,52264	0,000	0,4578	4,6952
		008	2,67575(*)	0,46701	0,000	0,7934	4,5581
		020	1,80800(*)	0,32161	0,000	0,5269	3,0891
		022	1,71950(*)	0,37913	0,001	0,2060	3,2330
		036	2,25100(*)	0,46171	0,000	0,3911	4,1109
		040	2,65550(*)	0,34921	0,000	1,2645	4,0465
	008	004	-2,76550(*)	0,66245	0,005	-5,4127	-0,1183
		007	-2,67575(*)	0,46701	0,000	-4,5581	-0,7934
		G51034A	-2,40375(*)	0,51340	0,001	-4,4537	-0,3538
	020	007	-1,80800(*)	0,32161	0,000	-3,0891	-0,5269
	022	007	-1,71950(*)	0,37913	0,001	-3,2330	-0,2060
	036	007	-2,25100(*)	0,46171	0,000	-4,1109	-0,3911
	040	004	-2,74525(*)	0,58540	0,001	-5,1222	-0,3683
		007	-2,65550(*)	0,34921	0,000	-4,0465	-1,2645
		G51034A	-2,38350(*)	0,40919	0,000	-4,0167	-0,7503
	G51034A	002	2,30450(*)	0,56448	0,008	0,0415	4,5675
		008	2,40375(*)	0,51340	0,001	0,3538	4,4537
		040	2,38350(*)	0,40919	0,000	0,7503	4,0167
P-p.m	004	040	-3,25025(*)	0,78691	0,008	-6,4462	7,5100
	040	004	3,25025(*)	0,78691	0,008	0,0543	6,4462
P-p.ad	002	007	3,65100(*)	0,34608	0,000	2,2710	5,0310
		011	2,72125(*)	0,31478	0,000	1,4678	3,9747
		G51034A	2,34925(*)	0,36251	0,000	0,9016	3,7969
	004	007	3,30550(*)	0,51340	0,000	1,2377	5,3733
		011	2,37575(*)	0,49284	0,001	0,3769	4,3746
	007	002	-3,65100(*)	0,34608	0,000	-5,0310	-2,2710
		004	-3,30550(*)	0,51340	0,000	-5,3733	-1,2377
		020	-2,91575(*)	0,49035	0,000	-4,8862	-0,9453
		022	-4,26975(*)	0,63155	0,000	-6,8401	-1,6994
		040	-4,44825(*)	0,50795	0,000	-6,4930	-2,4035
	011	002	-2,72125(*)	0,31478	0,000	-3,9747	-1,4678

		004	-2,37575(*)	0,49284	0,001	-4,3746	-0,3769	
		020	-1,98600(*)	0,46879	0,005	-3,8825	-0,0895	
		022	-3,34000(*)	0,61495	0,000	-5,8592	-0,8208	
		040	-3,51850(*)	0,48716	0,000	-5,4931	-1,5439	
		020	007	2,91575(*)	0,49035	0,000	0,9453	4,8862
		011	1,98600(*)	0,46879	0,005	0,0895	3,8825	
		022	007	4,26975(*)	0,63155	0,000	1,6994	6,8401
		011	3,34000(*)	0,61495	0,000	0,8208	5,8592	
		G51034A	2,96800(*)	0,64070	0,001	0,3684	5,5676	
		040	007	4,44825(*)	0,50795	0,000	2,4035	6,4930
		011	3,51850(*)	0,48716	0,000	1,5439	5,4931	
		G51034A	3,14650(*)	0,51928	0,000	1,0619	5,2311	
		G51034A	002	-2,34925(*)	0,36251	0,000	-3,7969	-0,9016
		022	-2,96800(*)	0,64070	0,001	-5,5676	-0,3684	
		040	-3,14650(*)	0,51928	0,000	-5,2311	-1,0619	
	P-e.ad	002	004	-,42575(*)	0,08868	0,001	-0,7851	-0,0664
		022	-,24900(*)	0,05909	0,004	-0,4844	-0,0136	
		004	-,42575(*)	0,08868	0,001	0,0664	0,7851	
		011	-,39900(*)	0,08260	0,001	0,0583	0,7397	
		G51034A	-,42825(*)	0,08815	0,001	0,0706	0,7859	
		004	-,39900(*)	0,08260	0,001	-0,7397	-0,0583	
		022	-,22225(*)	0,04951	0,002	-0,4221	-0,0224	
		022	002	-,24900(*)	0,05909	0,004	0,0136	0,4844
		011	-,22225(*)	0,04951	0,002	0,0224	0,4221	
		G51034A	-,25150(*)	0,05829	0,003	0,0193	0,4837	
		G51034A	004	-,42825(*)	0,08815	0,001	-0,7859	-0,0706
		022	-,25150(*)	0,05829	0,003	-0,4837	-0,0193	
Nervio	N-e.ab	001	007	-,16775(*)	0,04005	0,005	0,0071	0,3284
		040	-,24400(*)	0,05387	0,001	-0,4592	-0,0288	
		002	007	-,20450(*)	0,03564	0,000	0,0623	0,3467
		040	-,20725(*)	0,05068	0,008	-0,4107	-0,0038	
		004	007	-,22050(*)	0,03824	0,000	0,0674	0,3736
		007	001	-,16775(*)	0,04005	0,005	-0,3284	-0,0071
		002	-,20450(*)	0,03564	0,000	-0,3467	-0,0623	
		004	-,22050(*)	0,03824	0,000	-0,3736	-0,0674	
		011	-,22775(*)	0,05060	0,002	-0,4331	-0,0224	
		022	-,15425(*)	0,03594	0,003	-0,2977	-0,0108	
		036	-,17225(*)	0,04194	0,007	-0,3408	-0,0037	
		040	-,41175(*)	0,04798	0,000	-0,6059	-0,2176	
		008	040	-,26850(*)	0,05635	0,001	-0,4931	-0,0439
		011	007	-,22775(*)	0,05060	0,002	0,0224	0,4331
		020	040	-,33650(*)	0,05719	0,000	-0,5644	-0,1086
		022	007	-,15425(*)	0,03594	0,003	0,0108	0,2977
		040	-,25750(*)	0,05089	0,000	-0,4617	-0,0533	
		027	040	-,28200(*)	0,05393	0,000	-0,4974	-0,0666
		036	007	-,17225(*)	0,04194	0,007	0,0037	0,3408
		040	-,23950(*)	0,05529	0,003	-0,4600	-0,0190	
		001	040	-,24400(*)	0,05387	0,001	0,0288	0,4592
		002	007	-,20725(*)	0,05068	0,008	0,0038	0,4107
		007	001	-,41175(*)	0,04798	0,000	0,2176	0,6059
		008	040	-,26850(*)	0,05635	0,001	0,4931	0,0439
		020	040	-,33650(*)	0,05719	0,000	0,1086	0,5644
		022	007	-,25750(*)	0,05089	0,000	0,0533	0,4617
		027	040	-,28200(*)	0,05393	0,000	0,0666	0,4974
		036	007	-,23950(*)	0,05529	0,003	0,0190	0,4600
		G51034A	040	-,26250(*)	0,05277	0,000	0,0514	0,4736
		G51034A	040	-,26250(*)	0,05277	0,000	-0,4736	-0,0514
	N-p.ab	001	004	3,08050(*)	0,39649	0,000	1,5015	4,6595
		008	2,37050(*)	0,35770	0,000	0,9439	3,7971	
		020	-3,25900(*)	0,50037	0,000	-5,2680	-1,2500	
		022	2,51625(*)	0,36568	0,000	1,0590	3,9735	
		036	3,71175(*)	0,29403	0,000	2,5077	4,9158	
		002	004	4,14375(*)	0,45695	0,000	2,3199	5,9676
		008	3,43375(*)	0,42373	0,000	1,7318	5,1357	
		020	-2,19575(*)	0,54952	0,010	-4,3869	-0,0046	
		022	3,57950(*)	0,43049	0,000	1,8534	5,3056	
		036	4,77500(*)	0,37155	0,000	3,2411	6,3089	
		001	-3,08050(*)	0,39649	0,000	-4,6595	-1,5015	
		002	-4,14375(*)	0,45695	0,000	-5,9676	-2,3199	
		007	-2,80900(*)	0,32290	0,000	-4,1169	-1,5011	
		011	-3,70775(*)	0,41460	0,000	-5,3589	-2,0566	
		020	-6,33950(*)	0,50741	0,000	-8,3736	-4,3054	
		027	-2,61600(*)	0,54859	0,001	-4,8237	-0,4083	
		040	-4,45775(*)	0,50503	0,000	-6,4819	-2,4336	
		G51034A	-2,98350(*)	0,32566	0,000	-4,3006	-1,6664	
		007	001	-0,27150	0,31172	1,000	-1,5319	0,9889
		004	2,80900(*)	0,32290	0,000	1,5011	4,1169	

	008	2,09900(*)	0,27387	0,000	0,9990	3,1990	
	020	-3,53050(*)	0,44433	0,000	-5,3558	-1,7052	
	022	2,24475(*)	0,28421	0,000	1,1011	3,3884	
	036	3,44025(*)	0,18306	0,000	2,7075	4,1730	
	008	-2,37050(*)	0,35770	0,000	-3,7971	-0,9439	
	002	-3,43375(*)	0,42373	0,000	-5,1357	-1,7318	
	007	-2,09900(*)	0,27387	0,000	-3,1990	-0,9990	
	011	-2,99775(*)	0,37767	0,000	-4,5068	-1,4887	
	020	-5,62950(*)	0,47771	0,000	-7,5601	-3,6989	
	036	1,34125(*)	0,25355	0,000	0,3097	2,3728	
	040	-3,74775(*)	0,47518	0,000	-5,6676	-1,8279	
	G51034A	-2,27350(*)	0,27712	0,000	-3,3851	-1,1619	
	011	3,70775(*)	0,41460	0,000	2,0566	5,3589	
	008	2,99775(*)	0,37767	0,000	1,4887	4,5068	
	020	-2,63175(*)	0,51484	0,000	-4,6928	-0,5707	
	022	3,14350(*)	0,38524	0,000	1,6060	4,6810	
	036	4,33900(*)	0,31803	0,000	3,0327	5,6453	
	001	3,25900(*)	0,50037	0,000	1,2500	5,2680	
	002	2,19575(*)	0,54952	0,010	0,0046	4,3869	
	004	6,33950(*)	0,50741	0,000	4,3054	8,3736	
	007	3,53050(*)	0,44433	0,000	1,7052	5,3558	
	008	5,62950(*)	0,47771	0,000	3,6989	7,5601	
	011	2,63175(*)	0,51484	0,000	0,5707	4,6928	
	022	5,77525(*)	0,48372	0,000	3,8243	7,7262	
	027	3,72350(*)	0,62778	0,000	1,2221	6,2249	
	036	6,97075(*)	0,43210	0,000	5,1799	8,7616	
	G51034A	3,35600(*)	0,44634	0,000	1,5248	5,1872	
	001	-2,51625(*)	0,36568	0,000	-3,9735	-1,0590	
	002	-3,57950(*)	0,43049	0,000	-5,3056	-1,8534	
	007	-2,24475(*)	0,28421	0,000	-3,3884	-1,1011	
	011	-3,14350(*)	0,38524	0,000	-4,6810	-1,6060	
	020	-5,77525(*)	0,48372	0,000	-7,7262	-3,8243	
	036	1,19550(*)	0,26469	0,002	0,1165	2,2745	
	040	-3,89350(*)	0,48121	0,000	-5,8338	-1,9532	
	G51034A	-2,41925(*)	0,28735	0,000	-3,5739	-1,2646	
	027	004	2,61600(*)	0,54859	0,001	0,4083	4,8237
	020	-3,72350(*)	0,62778	0,000	-6,2249	-1,2221	
	036	3,24725(*)	0,47978	0,000	1,2546	5,2399	
	036	001	-3,71175(*)	0,29403	0,000	-4,9158	-2,5077
	002	-4,77500(*)	0,37155	0,000	-6,3089	-3,2411	
	007	-3,44025(*)	0,18306	0,000	-4,1730	-2,7075	
	008	-1,34125(*)	0,25355	0,000	-2,3728	-0,3097	
	011	-4,33900(*)	0,31803	0,000	-5,6453	-3,0327	
	020	-6,97075(*)	0,43210	0,000	-8,7616	-5,1799	
	022	-1,19550(*)	0,26469	0,002	-2,2745	-0,1165	
	027	-3,24725(*)	0,47978	0,000	-5,2399	-1,2546	
	040	-5,08900(*)	0,42930	0,000	-6,8679	-3,3101	
	G51034A	-3,61475(*)	0,18789	0,000	-4,3678	-2,8617	
	040	004	4,45775(*)	0,50503	0,000	2,4336	6,4819
	008	3,74775(*)	0,47518	0,000	1,8279	5,6676	
	022	3,89350(*)	0,48121	0,000	1,9532	5,8338	
	036	5,08900(*)	0,42930	0,000	3,3101	6,8679	
	G51034A	004	2,98350(*)	0,32566	0,000	1,6664	4,3006
	008	2,27350(*)	0,27712	0,000	1,1619	3,3851	
	020	-3,35600(*)	0,44634	0,000	-5,1872	-1,5248	
	022	2,41925(*)	0,28735	0,000	1,2646	3,5739	
	036	3,61475(*)	0,18789	0,000	2,8617	4,3678	
N-ef	001	020	-1,22225(*)	0,20791	0,000	-2,0502	-0,3943
	022	-1,42575(*)	0,20515	0,000	-2,2428	-0,6087	
	036	-1,26775(*)	0,25119	0,000	-2,2723	-0,2632	
	002	001	1,43575(*)	0,25739	0,000	0,4053	2,4662
	004	1,09575(*)	0,23087	0,001	0,1565	2,0350	
	007	1,84200(*)	0,25580	0,000	0,8173	2,8667	
	011	1,34925(*)	0,24576	0,000	0,3603	2,3382	
	G51034A	1,31450(*)	0,24745	0,000	0,3197	2,3093	
	004	002	-1,09575(*)	0,23087	0,001	-2,0350	-0,1565
	007	,74625(*)	0,17629	0,005	0,0387	1,4538	
	020	-,88225(*)	0,17400	0,000	-1,5801	-0,1844	
	022	-1,08575(*)	0,17068	0,000	-1,7697	-0,4018	
	036	-,92775(*)	0,22393	0,008	-1,8374	-0,0181	
	007	002	-1,84200(*)	0,25580	0,000	-2,8667	-0,8173
	004	-,74625(*)	0,17629	0,005	-1,4538	-0,0387	
	020	-1,62850(*)	0,20594	0,000	-2,4486	-0,8084	
	022	-1,83200(*)	0,20315	0,000	-2,6410	-1,0230	
	036	-1,67400(*)	0,24957	0,000	-2,6726	-0,6754	
	040	-1,25900(*)	0,28394	0,002	-2,4022	-0,1158	
	008	022	-,99775(*)	0,21752	0,001	-1,8652	-0,1303
	011	002	-1,34925(*)	0,24576	0,000	-2,3382	-0,3603

		020	-1,13575(*)	0,19333	0,000	-1,9061	-0,3654	
		022	-1,33925(*)	0,19035	0,000	-2,0975	-0,5810	
		036	-1,18125(*)	0,23926	0,000	-2,1427	-0,2198	
		020	001	1,22225(*)	0,20791	0,000	0,3943	2,0502
		004	,88225(*)	0,17400	0,000	0,1844	1,5801	
		007	1,62850(*)	0,20594	0,000	0,8084	2,4486	
		011	1,13575(*)	0,19333	0,000	0,3654	1,9061	
		G51034A	001	1,10100(*)	0,19547	0,000	0,3223	1,8797
		022	001	1,42575(*)	0,20515	0,000	0,6087	2,2428
		004	1,08575(*)	0,17068	0,000	0,4018	1,7697	
		007	1,83200(*)	0,20315	0,000	1,0230	2,6410	
		008	,99775(*)	0,21752	0,001	0,1303	1,8652	
		011	1,33925(*)	0,19035	0,000	0,5810	2,0975	
		G51034A	001	1,30450(*)	0,19252	0,000	0,5377	2,0713
		036	001	1,26775(*)	0,25119	0,000	0,2632	2,2723
		004	,92775(*)	0,22393	0,008	0,0181	1,8374	
		007	1,67400(*)	0,24957	0,000	0,6754	2,6726	
		011	1,18125(*)	0,23926	0,000	0,2198	2,1427	
		G51034A	001	1,14650(*)	0,24099	0,001	0,1789	2,1141
		040	007	1,25900(*)	0,28394	0,002	0,1158	2,4022
		G51034A	002	-1,31450(*)	0,24745	0,000	-2,3093	-0,3197
		020	-1,10100(*)	0,19547	0,000	-1,8797	-0,3223	
		022	-1,30450(*)	0,19252	0,000	-2,0713	-0,5377	
		036	-1,14650(*)	0,24099	0,001	-2,1141	-0,1789	
N-f		001	002	-1,73600(*)	0,30795	0,000	-2,9714	-0,5006
		036	-1,30550(*)	0,29960	0,003	-2,5115	-0,0995	
		002	001	1,73600(*)	0,30795	0,000	0,5006	2,9714
		007	1,20625(*)	0,25651	0,001	0,1842	2,2283	
		008	1,28000(*)	0,23021	0,000	0,3627	2,1973	
		011	1,76000(*)	0,25525	0,000	0,7431	2,7769	
		022	1,04650(*)	0,23492	0,002	0,1108	1,9822	
		027	1,53150(*)	0,25020	0,000	0,5350	2,5280	
		040	2,17350(*)	0,20291	0,000	1,3579	2,9891	
		004	011	,97200(*)	0,22316	0,003	0,0746	1,8694
		040	1,38550(*)	0,16070	0,000	0,7453	2,0257	
		007	002	-1,20625(*)	0,25651	0,001	-2,2283	-0,1842
		040	,96725(*)	0,21961	0,003	0,0810	1,8535	
		008	-1,28000(*)	0,23021	0,000	-2,1973	-0,3627	
		040	,89350(*)	0,18823	0,001	0,1397	1,6473	
		011	002	-1,76000(*)	0,25525	0,000	-2,7769	-0,7431
		004	-97200(*)	0,22316	0,003	-1,8694	-0,0746	
		036	-1,32950(*)	0,24511	0,000	-2,3074	-0,3516	
		G51034A	040	-1,14000(*)	0,28161	0,008	-2,2619	-0,0181
		020	1,18475(*)	0,26231	0,002	0,1167	2,2528	
		022	002	-1,04650(*)	0,23492	0,002	-1,9822	-0,1108
		040	1,12700(*)	0,19396	0,000	0,3491	1,9049	
		027	002	-1,53150(*)	0,25020	0,000	-2,5280	-0,5350
		036	-1,10100(*)	0,23985	0,001	-2,0573	-0,1447	
		036	001	1,30550(*)	0,29960	0,003	0,0995	2,5115
		011	1,32950(*)	0,24511	0,000	0,3516	2,3074	
		027	1,10100(*)	0,23985	0,001	0,1447	2,0573	
		040	1,74300(*)	0,19000	0,000	0,9817	2,5043	
		002	-2,17350(*)	0,20291	0,000	-2,9891	-1,3579	
		004	-1,38550(*)	0,16070	0,000	-2,0257	-0,7453	
		007	-,96725(*)	0,21961	0,003	-1,8535	-0,0810	
		008	-,89350(*)	0,18823	0,001	-1,6473	-0,1397	
		020	-1,18475(*)	0,26231	0,002	-2,2528	-0,1167	
		022	-1,12700(*)	0,19396	0,000	-1,9049	-0,3491	
		036	-1,74300(*)	0,19000	0,000	-2,5043	-0,9817	
		G51034A	001	-1,55350(*)	0,23522	0,000	-2,5061	-0,6009
		G51034A	011	1,14000(*)	0,28161	0,008	0,0181	2,2619
		040	1,55350(*)	0,23522	0,000	0,6009	2,5061	
N-xc		001	002	-2,11900(*)	0,39803	0,000	-3,7057	-0,5323
		002	001	2,11900(*)	0,39803	0,000	0,5323	3,7057
		004	1,48350(*)	0,35577	0,006	0,0531	2,9139	
		008	2,88825(*)	0,35241	0,000	1,4696	4,3069	
		020	2,42375(*)	0,38575	0,000	0,8839	3,9636	
		022	2,33300(*)	0,47369	0,000	0,4432	4,2228	
		027	3,60375(*)	0,47584	0,000	1,7051	5,5024	
		036	2,52800(*)	0,43964	0,000	0,7770	4,2790	
		004	002	-1,48350(*)	0,35577	0,006	-2,9139	-0,0531
		008	1,40475(*)	0,26349	0,000	0,3555	2,4540	
		027	2,12025(*)	0,41431	0,000	0,4415	3,7990	
		007	008	1,49475(*)	0,32279	0,001	0,2010	2,7885
		027	2,21025(*)	0,45433	0,000	0,3918	4,0287	
		008	002	-2,88825(*)	0,35241	0,000	-4,3069	-1,4696
		004	-1,40475(*)	0,26349	0,000	-2,4540	-0,3555	
		007	-1,49475(*)	0,32279	0,001	-2,7885	-0,2010	

		011	-1,67250(*)	0,30132	0,000	-2,8766	-0,4684
		040	-1,81600(*)	0,27134	0,000	-2,8969	-0,7351
		G51034A	-1,33775(*)	0,32207	0,006	-2,6285	-0,0470
		011	1,67250(*)	0,30132	0,000	0,4684	2,8766
		027	2,38800(*)	0,43934	0,000	0,6236	4,1524
		020	-2,42375(*)	0,38575	0,000	-3,9636	-0,8839
		040	-1,35150(*)	0,31342	0,003	-2,6017	-0,1013
		022	-2,33300(*)	0,47369	0,000	-4,2228	-0,4432
		027	-3,60375(*)	0,47584	0,000	-5,5024	-1,7051
		004	-2,12025(*)	0,41431	0,000	-3,7990	-0,4415
		007	-2,21025(*)	0,45433	0,000	-4,0287	-0,3918
		011	-2,38800(*)	0,43934	0,000	-4,1524	-0,6236
		040	-2,53150(*)	0,41935	0,000	-4,2269	-0,8361
		G51034A	-2,05325(*)	0,45382	0,002	-3,8698	-0,2367
		036	-2,52800(*)	0,43964	0,000	-4,2790	-0,7770
		040	1,81600(*)	0,27134	0,000	0,7351	2,8969
		020	1,35150(*)	0,31342	0,003	0,1013	2,6017
		027	2,53150(*)	0,41935	0,000	0,8361	4,2269
		G51034A	1,33775(*)	0,32207	0,006	0,0470	2,6285
		027	2,05325(*)	0,45382	0,002	0,2367	3,8698
N-p.ad	002	004	-3,73525(*)	0,53518	0,000	-5,8665	-1,6040
		007	-5,29975(*)	0,53008	0,000	-7,4109	-3,1886
		008	-5,10350(*)	0,53273	0,000	-7,2251	-2,9819
		011	-3,72200(*)	0,74105	0,000	-6,7052	-0,7388
		022	-5,74150(*)	0,87959	0,000	-9,3134	-2,1696
		027	-6,18875(*)	0,61943	0,000	-8,6619	-3,7156
		036	-4,15675(*)	0,48910	0,000	-6,1100	-2,2035
		G51034A	-3,08250(*)	0,54912	0,000	-5,2692	-0,8958
		004	3,73525(*)	0,53518	0,000	1,6040	5,8665
		020	2,43500(*)	0,58679	0,006	0,0937	4,7763
		027	-2,45350(*)	0,61141	0,009	-4,8966	-0,0104
		040	2,95650(*)	0,48607	0,000	1,0181	4,8949
		007	5,29975(*)	0,53008	0,000	3,1886	7,4109
		020	3,99950(*)	0,58215	0,000	1,6758	6,3232
		040	4,52100(*)	0,48045	0,000	2,6056	6,4364
		G51034A	2,21725(*)	0,53500	0,006	0,0863	4,3482
		008	5,10350(*)	0,53273	0,000	2,9819	7,2251
		020	3,80325(*)	0,58456	0,000	1,4705	6,1360
		040	4,32475(*)	0,48337	0,000	2,3974	6,2521
		011	3,72200(*)	0,74105	0,000	0,7388	6,7052
		040	2,94325(*)	0,70640	0,007	0,0764	5,8101
		020	-2,43500(*)	0,58679	0,006	-4,7763	-0,0937
		007	-3,99950(*)	0,58215	0,000	-6,3232	-1,6758
		008	-3,80325(*)	0,58456	0,000	-6,1360	-1,4705
		022	-4,44125(*)	0,91191	0,001	-8,1203	-0,7622
		027	-4,88850(*)	0,66453	0,000	-7,5353	-2,2417
		036	-2,85650(*)	0,54509	0,000	-5,0438	-0,6692
		022	5,74150(*)	0,87959	0,000	2,1696	9,3134
		020	4,44125(*)	0,91191	0,001	0,7622	8,1203
		040	4,96275(*)	0,85060	0,000	1,4814	8,4441
		027	6,18875(*)	0,61943	0,000	3,7156	8,6619
		004	2,45350(*)	0,61141	0,009	0,0104	4,8966
		020	4,88850(*)	0,66453	0,000	2,2417	7,5353
		040	5,41000(*)	0,57753	0,000	3,0901	7,7299
		G51034A	3,10625(*)	0,62365	0,000	0,6172	5,5953
		036	4,15675(*)	0,48910	0,000	2,2035	6,1100
		020	2,85650(*)	0,54509	0,000	0,6692	5,0438
		040	3,37800(*)	0,43481	0,000	1,6464	5,1096
		004	-2,95650(*)	0,48607	0,000	-4,8949	-1,0181
		007	-4,52100(*)	0,48045	0,000	-6,4364	-2,6056
		008	-4,32475(*)	0,48337	0,000	-6,2521	-2,3974
		011	-2,94325(*)	0,70640	0,007	-5,8101	-0,0764
		022	-4,96275(*)	0,85060	0,000	-8,4441	-1,4814
		027	-5,41000(*)	0,57753	0,000	-7,7299	-3,0901
		036	-3,37800(*)	0,43481	0,000	-5,1096	-1,6464
		G51034A	-2,30375(*)	0,50138	0,001	-4,3052	-0,3023
		007	-2,21725(*)	0,53500	0,006	-4,3482	-0,0863
		002	3,08250(*)	0,54912	0,000	0,8958	5,2692
		027	-3,10625(*)	0,62365	0,000	-5,5953	-0,6172
		040	2,30375(*)	0,50138	0,001	0,3023	4,3052
N-e.ad	002	007	,29225(*)	0,06262	0,001	0,0412	0,5433
		004	-3,5325(*)	0,07273	0,000	-0,6430	-0,0635
		G51034A	-3,8175(*)	0,06973	0,000	-0,6594	-0,1041
		007	-2,9225(*)	0,06262	0,001	-0,5433	-0,0412
		011	-5,52425(*)	0,06421	0,000	-0,7819	-0,2666
		036	-3,21000(*)	0,06392	0,000	-0,5775	-0,0645
		040	-4,09000(*)	0,06272	0,000	-0,6604	-0,1576
		G51034A	-5,5275(*)	0,06079	0,000	-0,7961	-0,3094

		008	011	-3,4775(*)	0,06713	0,000	-0,6161	-0,0794
			G51034A	-3,7625(*)	0,06387	0,000	-0,6311	-0,1214
		004	004	,35325(*)	0,07273	0,000	0,0635	0,6430
			007	,52425(*)	0,06421	0,000	0,2666	0,7819
			008	,34775(*)	0,06713	0,000	0,0794	0,6161
			020	,32575(*)	0,08029	0,008	0,0058	0,6457
		020	011	-,32575(*)	0,08029	0,008	-0,6457	-0,0058
			G51034A	-,35425(*)	0,07758	0,001	-0,6637	-0,0448
			007	,32100(*)	0,06392	0,000	0,0645	0,5775
		036	007	,40900(*)	0,06272	0,000	0,1576	0,6604
		040						
			G51034A	,38175(*)	0,06973	0,000	0,1041	0,6594
			007	,55275(*)	0,06079	0,000	0,3094	0,7961
			008	,37625(*)	0,06387	0,000	0,1214	0,6311
			020	,35425(*)	0,07758	0,001	0,0448	0,6637
	N-l.pro	001	002	2,84675(*)	0,60787	0,001	0,3530	5,3405
		002	001	-2,84675(*)	0,60787	0,001	-5,3405	-0,3530
			004	-3,88125(*)	0,26408	0,000	-4,9369	-2,8256
			008	-3,68700(*)	0,38015	0,000	-5,2123	-2,1617
			036	-3,74850(*)	0,48213	0,000	-5,7065	-1,7905
			040	-2,41300(*)	0,40004	0,000	-4,0222	-0,8038
		004	002	3,88125(*)	0,26408	0,000	2,8256	4,9369
			007	2,90400(*)	0,48504	0,000	0,9101	4,8979
			011	3,09475(*)	0,44243	0,000	1,2823	4,9072
			020	3,52700(*)	0,33937	0,000	2,1536	4,9004
			G51034A	2,52225(*)	0,37901	0,000	0,9801	4,0644
		007	004	-2,90400(*)	0,48504	0,000	-4,8979	-0,9101
			008	-2,70975(*)	0,55681	0,000	-4,9413	-0,4782
			036	-2,77125(*)	0,63085	0,002	-5,2837	-0,2588
		008	002	3,68700(*)	0,38015	0,000	2,1617	5,2123
			007	2,70975(*)	0,55681	0,000	0,4782	4,9413
			011	2,90050(*)	0,52012	0,000	0,8222	4,9788
			020	3,33275(*)	0,43583	0,000	1,5970	5,0685
			G51034A	2,32800(*)	0,46736	0,000	0,4663	4,1897
		011	004	-3,09475(*)	0,44243	0,000	-4,9072	-1,2823
			008	-2,90050(*)	0,52012	0,000	-4,9788	-0,8222
			036	-2,96200(*)	0,59871	0,000	-5,3464	-0,5776
		020	004	-3,52700(*)	0,33937	0,000	-4,9004	-2,1536
			008	-3,33275(*)	0,43583	0,000	-5,0685	-1,5970
			036	-3,39425(*)	0,52715	0,000	-5,5068	-1,2817
			040	-2,05875(*)	0,45328	0,001	-3,8652	-0,2523
		036	002	3,74850(*)	0,48213	0,000	1,7905	5,7065
			007	2,77125(*)	0,63085	0,002	0,2588	5,2837
			011	2,96200(*)	0,59871	0,000	0,5776	5,3464
			020	3,39425(*)	0,52715	0,000	1,2817	5,5068
			G51034A	2,38950(*)	0,55350	0,003	0,1796	4,5994
		040	002	2,41300(*)	0,40004	0,000	0,8038	4,0222
			020	2,05875(*)	0,45328	0,001	0,2523	3,8652
			G51034A	-2,52225(*)	0,37901	0,000	-4,0644	-0,9801
			008	-2,32800(*)	0,46736	0,000	-4,1897	-0,4663
			036	-2,38950(*)	0,55350	0,003	-4,5994	-0,1796
Mesófilo	M-e.ad	001	011	3,34200(*)	0,57298	0,000	1,0452	5,6388
			027	2,67300(*)	0,61594	0,003	0,2164	5,1296
			036	2,85025(*)	0,62945	0,001	0,3417	5,3588
		004	011	2,26525(*)	0,45896	0,000	0,4376	4,0929
		011	001	-3,34200(*)	0,57298	0,000	-5,6388	-1,0452
			004	-2,26525(*)	0,45896	0,000	-4,0929	-0,4376
			040	-2,87825(*)	0,51745	0,000	-4,9437	-0,8128
		027	001	-2,67300(*)	0,61594	0,003	-5,1296	-0,2164
			036	-2,85025(*)	0,62945	0,001	-5,3588	-0,3417
			040	-2,38650(*)	0,57936	0,006	-4,6937	-0,0793
		040	011	2,87825(*)	0,51745	0,000	0,8128	4,9437
			036	2,38650(*)	0,57936	0,006	0,0793	4,6937
	M-pe	001	002	-6,27500(*)	1,49673	0,006	-12,3508	-0,1992
			004	-9,13175(*)	1,44518	0,000	-15,0463	-3,2172
			008	-7,35225(*)	1,50166	0,001	-13,4440	-1,2605
			011	-6,83200(*)	1,52402	0,002	-12,9973	-0,6667
		002	001	6,27500(*)	1,49673	0,006	0,1992	12,3508
			007	7,38100(*)	0,95521	0,000	3,5769	11,1851
			040	7,27350(*)	0,83618	0,000	3,9335	10,6135
		004	001	9,13175(*)	1,44518	0,000	3,2172	15,0463
			007	10,23775(*)	0,87223	0,000	6,7530	13,7225
			040	10,13025(*)	0,73997	0,000	7,1834	13,0771
		002	002	-7,38100(*)	0,95521	0,000	-11,1851	-3,5769
			004	-10,23775(*)	0,87223	0,000	-13,7225	-6,7530
			008	-8,45825(*)	0,96292	0,000	-12,2928	-4,6237
			011	-7,93800(*)	0,99743	0,000	-11,9102	-3,9658
			020	-6,21750(*)	1,12932	0,000	-10,7291	-1,7059
			022	-6,57625(*)	1,15920	0,000	-11,2121	-1,9404

		027	-7,27025(*)	1,27297	0,000	-12,3834	-2,1571	
		036	-6,73800(*)	1,35979	0,000	-12,2182	-1,2578	
	G51034A		-6,67125(*)	1,22203	0,000	-11,5700	-1,7725	
	008	001	7,35225(*)	1,50166	0,001	1,2605	13,4440	
		007	8,45825(*)	0,96292	0,000	4,6237	12,2928	
		040	8,35075(*)	0,84498	0,000	4,9743	11,7272	
	011	001	6,83200(*)	1,52402	0,002	0,6667	12,9973	
		007	7,93800(*)	0,99743	0,000	3,9658	11,9102	
		040	7,83050(*)	0,88410	0,000	4,2909	11,3701	
	020	007	6,21750(*)	1,12932	0,000	1,7059	10,7291	
		040	6,11000(*)	1,03060	0,000	1,9524	10,2676	
	022	007	6,57625(*)	1,15920	0,000	1,9404	11,2121	
		040	6,46875(*)	1,06326	0,000	2,1725	10,7650	
	027	007	7,27025(*)	1,27297	0,000	2,1571	12,3834	
		040	7,16275(*)	1,18626	0,000	2,3431	11,9824	
	036	007	6,73800(*)	1,35979	0,000	1,2578	12,2182	
		040	6,63050(*)	1,27898	0,000	1,4157	11,8453	
	040	002	-7,27350(*)	0,83618	0,000	-10,6135	-3,9335	
		004	-10,13025(*)	0,73997	0,000	-13,0771	-7,1834	
		008	-8,35075(*)	0,84498	0,000	-11,7272	-4,9743	
		011	-7,83050(*)	0,88410	0,000	-11,3701	-4,2909	
		020	-6,11000(*)	1,03060	0,000	-10,2676	-1,9524	
		022	-6,46875(*)	1,06326	0,000	-10,7650	-2,1725	
		027	-7,16275(*)	1,18626	0,000	-11,9824	-2,3431	
		036	-6,63050(*)	1,27898	0,000	-11,8453	-1,4157	
	G51034A		-6,56375(*)	1,13143	0,000	-11,1499	-1,9776	
	G51034A	007	6,67125(*)	1,22203	0,000	1,7725	11,5700	
		040	6,56375(*)	1,13143	0,000	1,9776	11,1499	
M-pl		001	007	-6,02400(*)	1,45754	0,008	-11,9270	-0,1210
		002	007	-7,69525(*)	0,95773	0,000	-11,5090	-3,8815
		011		-4,47025(*)	0,98807	0,001	-8,4053	-0,5352
		020		-4,41350(*)	1,06036	0,005	-8,6425	-0,1845
		036		-4,98775(*)	1,06307	0,001	-9,2279	-0,7476
		040		-6,55375(*)	0,94338	0,000	-10,3107	-2,7968
		004	007	-8,21575(*)	0,82452	0,000	-11,5177	-4,9138
		011		-4,99075(*)	0,85958	0,000	-8,4399	-1,5416
		020		-4,93400(*)	0,94178	0,000	-8,7305	-1,1375
		022		-4,49100(*)	0,97115	0,001	-8,4121	-0,5699
		027		-5,01675(*)	1,06058	0,001	-9,3182	-0,7153
		036		-5,50825(*)	0,94483	0,000	-9,3177	-1,6988
		040		-7,07425(*)	0,80781	0,000	-10,3064	-3,8421
		007	001	6,02400(*)	1,45754	0,008	0,1210	11,9270
			002	7,69525(*)	0,95773	0,000	3,8815	11,5090
			004	8,21575(*)	0,82452	0,000	4,9138	11,5177
			008	5,71425(*)	0,92039	0,000	2,0483	9,3802
	G51034A		6,75975(*)	1,29227	0,000	1,5584	11,9611	
		007	-5,71425(*)	0,92039	0,000	-9,3802	-2,0483	
		040	-4,57275(*)	0,90545	0,000	-8,1786	-0,9669	
	011	002	4,47025(*)	0,98807	0,001	0,5352	8,4053	
		004	4,99075(*)	0,85958	0,000	1,5416	8,4399	
	020	002	4,41350(*)	1,06036	0,005	0,1845	8,6425	
		004	4,93400(*)	0,94178	0,000	1,1375	8,7305	
		022	4,49100(*)	0,97115	0,001	0,5699	8,4121	
		027	5,01675(*)	1,06058	0,001	0,7153	9,3182	
	036	002	4,98775(*)	1,06307	0,001	0,7476	9,2279	
		004	5,50825(*)	0,94483	0,000	1,6988	9,3177	
	040	002	6,55375(*)	0,94338	0,000	2,7968	10,3107	
		004	7,07425(*)	0,80781	0,000	3,8421	10,3064	
		008	4,57275(*)	0,90545	0,000	0,9669	8,1786	
	G51034A		5,61825(*)	1,28167	0,003	0,4535	10,7830	
	G51034A	007	-6,75975(*)	1,29227	0,000	-11,9611	-1,5584	
		040	-5,61825(*)	1,28167	0,003	-10,7830	-0,4535	
M-e.ab		001	004	5,86300(*)	1,21682	0,001	0,8232	10,9028
			008	5,49600(*)	1,20608	0,003	0,4851	10,5069
			011	6,28825(*)	1,19874	0,000	1,2965	11,2800
			020	5,68225(*)	1,23123	0,002	0,6025	10,7620
			022	6,42200(*)	1,19323	0,000	1,4444	11,3996
			027	6,31550(*)	1,20938	0,000	1,2958	11,3352
			036	6,09825(*)	1,22429	0,001	1,0380	11,1585
		002	004	3,00125(*)	0,44878	0,000	1,2139	4,7886
			008	2,63425(*)	0,41879	0,000	0,9629	4,3056
			011	3,42650(*)	0,39717	0,000	1,8354	5,0176
			020	2,82050(*)	0,48651	0,000	0,8821	4,7589
			022	3,56025(*)	0,38022	0,000	2,0292	5,0913
			027	3,45375(*)	0,42821	0,000	1,7465	5,1610
			036	3,23650(*)	0,46866	0,000	1,3701	5,1029
		004	001	-5,86300(*)	1,21682	0,001	-10,9028	-0,8232
			002	-3,00125(*)	0,44878	0,000	-4,7886	-1,2139

	007	-2,53075(*)	0,41951	0,000	-4,2019	-0,8596
	040	-2,44300(*)	0,51094	0,001	-4,4851	-0,4009
	G51034A	-3,27175(*)	0,46319	0,000	-5,1173	-1,4262
	007	2,53075(*)	0,41951	0,000	0,8596	4,2019
	008	2,16375(*)	0,38725	0,000	0,6213	3,7062
	011	2,95600(*)	0,36376	0,000	1,5040	4,4080
	020	2,35000(*)	0,45965	0,000	0,5144	4,1856
	022	3,08975(*)	0,34518	0,000	1,7065	4,4730
	027	2,98325(*)	0,39742	0,000	1,4007	4,5658
	036	2,76600(*)	0,44071	0,000	1,0085	4,5235
	008	-5,49600(*)	1,20608	0,003	-10,5069	-0,4851
	002	-2,63425(*)	0,41879	0,000	-4,3056	-0,9629
	007	-2,16375(*)	0,38725	0,000	-3,7062	-0,6213
	040	-2,07600(*)	0,48481	0,004	-4,0232	-0,1288
	G51034A	-2,90475(*)	0,43419	0,000	-4,6399	-1,1696
	011	-6,28825(*)	1,19874	0,000	-11,2800	-1,2965
	002	-3,42650(*)	0,39717	0,000	-5,0176	-1,8354
	007	-2,95600(*)	0,36376	0,000	-4,4080	-1,5040
	040	-2,86825(*)	0,46626	0,000	-4,7512	-0,9853
	G51034A	-3,69700(*)	0,41338	0,000	-5,3562	-2,0378
	020	-5,68225(*)	1,23123	0,002	-10,7620	-0,6025
	002	-2,82050(*)	0,48651	0,000	-4,7589	-0,8821
	007	-2,35000(*)	0,45965	0,000	-4,1856	-0,5144
	040	-2,26225(*)	0,54438	0,005	-4,4315	-0,0930
	G51034A	-3,09100(*)	0,49983	0,000	-5,0816	-1,1004
	022	-6,42200(*)	1,19323	0,000	-11,3996	-1,4444
	002	-3,56025(*)	0,38022	0,000	-5,0913	-2,0292
	007	-3,08975(*)	0,34518	0,000	-4,4730	-1,7065
	040	-3,00200(*)	0,45191	0,000	-4,8377	-1,1663
	G51034A	-3,83075(*)	0,39712	0,000	-5,4334	-2,2281
	027	-6,31550(*)	1,20938	0,000	-11,3352	-1,2958
	002	-3,45375(*)	0,42821	0,000	-5,1610	-1,7465
	007	-2,98325(*)	0,39742	0,000	-4,5658	-1,4007
	040	-2,89550(*)	0,49297	0,000	-4,8718	-0,9192
	G51034A	-3,72425(*)	0,44329	0,000	-5,4935	-1,9550
	036	-6,09825(*)	1,22429	0,001	-11,1585	-1,0380
	002	-3,23650(*)	0,46866	0,000	-5,1029	-1,3701
	007	-2,76600(*)	0,44071	0,000	-4,5235	-1,0085
	040	-2,67825(*)	0,52849	0,000	-4,7864	-0,5701
	G51034A	-3,50700(*)	0,48248	0,000	-5,4283	-1,5857
	004	2,44300(*)	0,51094	0,001	0,4009	4,4851
	008	2,07600(*)	0,48481	0,004	0,1288	4,0232
	011	2,86825(*)	0,46626	0,000	0,9853	4,7512
	020	2,26225(*)	0,54438	0,005	0,0930	4,4315
	022	3,00200(*)	0,45191	0,000	1,1663	4,8377
	027	2,89550(*)	0,49297	0,000	0,9192	4,8718
	036	2,67825(*)	0,52849	0,000	0,5701	4,7864
	G51034A	3,27175(*)	0,46319	0,000	1,4262	5,1173
	008	2,90475(*)	0,43419	0,000	1,1696	4,6399
	011	3,69700(*)	0,41338	0,000	2,0378	5,3562
	020	3,09100(*)	0,49983	0,000	1,1004	5,0816
	022	3,83075(*)	0,39712	0,000	2,2281	5,4334
	027	3,72425(*)	0,44329	0,000	1,9550	5,4935
	036	3,50700(*)	0,48248	0,000	1,5857	5,4283

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel .01.



ANEXO L. Comparaciones múltiples (subconjuntos-Duncan) para la variable número de células en *P. dumosus* y *P. coccineus*.

Accesión (P-p.ab)	N	Subconjunto alfa		
		0,01		
		1	2	3
036	10	5,30		
G51034A	10	5,90	5,90	
001	10	6,40	6,40	
022	10	6,40	6,40	
040	10	6,60	6,60	6,60
004	10	6,70	6,70	
008	10	6,70	6,70	
007	10	6,90	6,90	
020	10	6,90	6,90	
011	10	7,00	7,00	
002	10	7,10	7,10	
027	10			7,80
Sig.		,011	,027	,024

Accesión (P-ef)	N	Subconjunto	
		0,01	
		1	2
007	10	3,10	
004	10	3,20	
002	10	3,30	3,30
036	10	3,30	3,30
G51034A	10	3,60	3,60
008	10	3,70	3,70
011	10	3,70	3,70
040	10	3,70	3,70
020	10	3,90	3,90
027	10	4,10	4,10
001	10		4,40
022	10		4,40
Sig.		,029	,015

Accesión (P-f)	N	Subconjunto	
		0,01	
		1	2
027	10	7,00	
011	10	7,30	
022	10	7,30	
036	10	7,30	
G51034A	10	7,30	
040	10	7,70	
007	10	7,80	
004	10	8,10	
008	10	8,20	
001	10	8,60	
020	10	9,10	9,10
002	10	10,70	
Sig.		,020	,037

Accesión (P-pm)	N	Subconjunto	
		0,01	
		1	2
036	10	14,80	
002	10	15,90	
007	10	17,10	17,10
004	10	18,20	18,20
027	10	18,20	18,20
001	10	18,40	18,40
020	10		20,80
040	10		21,00
008	10		21,30
G51034A	10		21,30
022	10		21,60
011	10		22,00
Sig.		,062	,013

Accesión (P-xc)	N	Subconjunto	
		0,01	
		1	2
011	10	6,30	
G51034A	10	7,10	7,10
036	10	7,20	7,20
040	10	7,20	7,20
001	10	7,60	7,60
007	10	7,60	7,60
027	10	7,60	7,60
022	10	7,70	7,70
004	10		8,00
002	10		8,10
008	10		8,20
020	10		8,40
Sig.		,020	,036

Accesión (P-p.ad)	N	Subconjunto	
		0,01	
		1	2
027	10	6,80	
G51034A	10	6,90	
036	10	7,30	
022	10	7,70	7,70
011	10	7,90	7,90
007	10	8,00	8,00
008	10	8,60	8,60
004	10	8,70	8,70
001	10	8,90	8,90
040	10		9,70
002	10		
020	10		
Sig.		,012	,015

Accesión (N-p.ab)	N	Subconjunto alfa		
		0,01		
		1	2	3
036	10	4,30		
004	10	5,20	5,20	
022	10	5,30	5,30	
011	10	5,70		
G51034A	10	5,70		
008	10	5,80		
007	10	6,10	6,10	
001	10	6,20	6,20	
002	10	6,40	6,40	
027	10	6,40	6,40	
040	10	6,40	6,40	
020	10		7,00	
Sig.		,021	,012	,053

Accesión (N-ef)	N	Subconjunto	
		0,01	
		1	2
G51034A	10	3,40	
011	10	3,60	
020	10	3,60	
027	10	3,70	
040	10	3,70	
001	10	3,80	
002	10	3,90	
007	10	3,90	
004	10	4,10	
008	10	4,20	
036	10	4,30	
022	10		5,70
Sig.		,016	1,000

Accesión (N-f)	N	Subconjunto	
		0,01	
		1	2
011	10	5,40	
G51034A	10	5,70	5,70
001	10	6,20	6,20
007	10	6,40	6,40
040	10	6,40	6,40
020	10	6,70	6,70
008	10	6,80	6,80
022	10	7,00	7,00
002	10	7,30	
004	10	7,30	
027	10	7,40	
036	10	7,40	
Sig.		,019	,015

Accesión (N-xc)	N	Subconjunto	
		0,01	
		1	2
036	10	4,90	
011	10	5,10	
004	10	5,20	
007	10	5,30	
008	10	5,30	
020	10	5,30	
027	10	5,30	
002	10	5,40	
001	10	5,60	5,60
022	10	5,60	5,60
G51034A	10	5,70	5,70
040	10		6,60
Sig.		,085	,017

Accesión (N-p.ad)	N	Subconjunto alfa			
		0,01			
		1	2	3	4
001	10	21,30			
002	10	22,30	22,30		
011	10		25,10	25,10	
020	10		26,10	26,10	26,10
036	10		26,10	26,10	
040	10		26,40	26,40	
G51034A	10		26,70	26,70	
004	10		27,30	27,30	
007	10		27,30	27,30	
008	10		27,70	27,70	
022	10		28,70	28,70	
027	10			29,40	
Sig.		,455	,038	,022	,037

Accesión (N-lpro)	N	Subconjunto alfa			
		0,01			
		1	2	3	4
036	10	10,10			
011	10	10,40	10,40		
001	10	10,80	10,80	10,80	
020	10	11,30	11,30	11,30	
002	10	11,80	11,80	11,80	11,80
G51034A	10	11,80	11,80	11,80	11,80
027	10	11,90	11,90	11,90	11,90
040	10	11,90	11,90	11,90	11,90
022	10	12,20	12,20	12,20	12,20
008	10		12,70	12,70	12,70
004	10		13,00	13,00	
007	10			14,10	
Sig.		,025	,013	,018	,012

Accesión (M-p.es)	N	Subconjunto alfa			
		0,05			0,01
		1	2	3	4
001	10	3,20			6,20
004	10	3,20			6,20
002	10	3,30	3,30		6,30
036	10	3,30	3,30		6,30
007	10	3,60	3,60	3,60	6,60
008	10	3,70	3,70	3,70	6,60
020	10	3,70	3,70	3,70	6,70
027	10	3,70	3,70	3,70	6,70
040	10		3,80	3,80	6,80
G51034A	10		3,80	3,80	6,80
011	10			3,90	6,80
022	10			3,90	6,90
Sig.		,078	,078	,296	,043

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10,000.