

Morfoanatomía de las plántulas de dos especies de lupinos graníferos: *Lupinus albus* y *L. angustifolius* (Fabaceae, Faboideae)

Morphoanatomy of seedlings of two species of grain lupines: *Lupinus albus* and *L. angustifolius* (Fabaceae, Faboideae)

D.O.I.: doi.org/10.30550/j.lil/2018.55.1/6

Seisededos, Lina^{1,2*}; Ana M. Planchuelo^{2*}

¹ Botánica Morfológica, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Pje. Félix Aldo Marrone 746, Ciudad Universitaria, Córdoba. Argentina.

² CREA-IMBIV-CONICET-UNC, Fac. de Ciencias Agropecuarias, C.C. 509, (5000) Córdoba, Argentina.

* Autor corresponsal: linaseisededos@gmail.com; aplanch@gmail.com

► **Resumen** — Se describe y compara la morfoanatomía de las plántulas de dos especies de lupinos graníferos (*Lupinus albus* L. y *L. angustifolius* L.). Para obtener las plántulas se sembraron 60 semillas por especie en terrinas con arena gruesa. A los 20 días de la siembra se seleccionaron 15 plántulas y se midieron los largos de hipocótilos, epicótilos, y largos y anchos de folíolos, que mostraron diferencias significativas, excepto en longitudes de los folíolos. Se realizaron preparados para microscopía óptica de epidermis y cortes transversales de raíz primaria, hipocótilo, epicótilo, peciolo y folíolo, que fueron analizados, diagramados y fotografiados. Ambas especies comparten la estructura diarca de raíz y las características de los folíolos anfiestomáticos, con estomas anomocíticos y con cara adaxial glabra. Las diferencias más notorias, son la presencia de una capa de colénquima laminar, un mayor número de haces vasculares en el hipocótilo y epicótilo de *L. angustifolius* y una vaina amilácea en el hipocótilo de *L. albus*. La forma cordada con lóbulos que emergen de un canal central en el peciolo de *L. angustifolius* reafirman similitudes morfológicas con *L. gibertianus*. Las mayores diferencias en los folíolos son el ancho y la estructura del mesofilo que es dorsiventral en *L. albus* e isobilateral en *L. angustifolius*. Se describe por primera vez para *Lupinus* la presencia de un epitricopodio en los tricomas tricolulares que cubren la cara abaxial de los folíolos. Las estructuras anatómicas fueron comparadas y discutidas con otras especies del género, con condiciones ambientales y modificaciones logradas por mejoramiento vegetal. Este trabajo sirve como base de conocimientos para futuras investigaciones sobre posibles relaciones entre los tejidos de sostén y de conducción y el comportamiento de las plantas ante la infestación de patógenos y estrés hídrico.

Palabras clave: anatomía vegetal; germinación; Leguminosae; lupines.

► **Abstract** — The morfoanatomy of seedlings of two cultivated grain lupines is described and compared (*Lupinus albus* L. and *L. angustifolius* L.). To obtain the seedlings, 60 seeds of each species were sown in terrines with a coarse sand substrate. After 20 days from sowing, 15 seedlings were selected and the lengths of hypocotyl, epycotyl were measured as well as, the length and width of leaflets, which showed significant differences except in the lengths

► Ref. bibliográfica: Seisededos, L., Planchuelo, A. M. (2018) Morfoanatomía de las plántulas de dos especies de lupinos graníferos: *Lupinus albus* y *L. angustifolius* (Fabaceae, Faboideae). Lilloa 55 (1): 67-80.



► Recibido: 11/04/18 – Aceptado: 24/05/18

► URL de la revista: <http://lilloa.lilloa.org.ar>

► Algunos derechos reservados. Esta obra está bajo una Licencia

Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

of the leaflets. Optical microscope slides were done for the epidermis and cross-sections of primary root, hypocotyl, epycotyl, petiole and leaflet, the sections were analyzed, illustrated and photographed. Both species share the same structure of diarch root, glabrous adaxial face and anfiomatics characteristics with anomocytic stomata in leaflets epidermal layers. The most noticeable differences between the species seedlings are the presence of a laminar collenchyma layer and the larger number of vascular bundles in the hypocotyl and epycotyl of *L. angustifolius* and a starchy layer sheath in the hypocotyl of *L. albus*. The cordate form and the two lobes emerging from a center channel in the petiole of *L. angustifolius*, reaffirm other morphological similarities with the species *L. gibertianus*. The major differences in the leaflets are the width and the structure of the mesophyll which is dorsiventral in *L. albus* and is isobilateral in *L. angustifolius*. The structure of an epitricopodium in tricellular trichomes are described for the first time for the genus *Lupinus*. The anatomical structures were compared and discussed with those of other species of the genus, with environmental conditions and with modifications by plant breeding. This work serves as a basic knowledge for further research to find if there are relationship between support tissues and transport system with the plant protection strategies against pathogen infections and water stress.

Key words: germination; lupins; Leguminosae; plant anatomy.

INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Lupinus* de origen europeo, conocidas vulgarmente con los nombres de lupinos, lupines, chochos o altramuces, se cultivan desde la antigüedad (Hort, 1916; Maurizio, 1932; Brehaut, 1933; Hedrick, 1972) como abono verde por ser mejoradoras de suelos arenosos y para la producción de granos de alto valor nutricional, para la alimentación humana y animal (Gladstones, 1974). En Sudamérica el chocho, tarwi o tarhui (*Lupinus mutabilis* Sweet) fue uno de los ingredientes en las dietas de los Incas y otras civilizaciones de las altiplanicies andinas de Perú, Bolivia y Ecuador (Antúnez de Mayolo, 1982; Jacobsen y Mujica, 2006; Tapia, 2015). En tiempos modernos, el cultivo de lupinos no prosperó al ritmo de otras leguminosas, por el sabor amargo y la toxicidad de los granos, debida a los contenidos de alcaloides quinolicidínicos, que obligan a realizar varios métodos de lavados (Mohr, 1988). El mejoramiento vegetal a través de los años, logró un sinnúmero de variedades dulces de las especies nativas de la Subregión Mediterránea (Planchuelo, 1994), entre ellas *Lupinus albus* L. (lupino blanco), *L. angustifolius* L. (lupino de hojas angostas) y *L. luteus* L. (lupino amarillo) y de la especie andina *L. mutabilis* Sweet (lupino andino, chocho o tarwi). Estas especies de lupinos se cultivan actualmente en varios países de climas templados fríos. Los granos

son usados en la alimentación humana con múltiples usos culinarios y las harinas para productos panificables y manufacturados (Planchuelo y Fuentes, 2005).

Los avances de las investigaciones sobre las especies de *Lupinus*, están plasmadas en los trabajos publicados en los Proceedings de las «International Lupin Conferences», cuyos tópicos considerados tratan sobre recursos genéticos, mejoramiento vegetal, composición química de plantas y semillas, aspectos agronómicos del cultivo, y nutrición humana y animal. La mayoría de los trabajos sobre características morfoanatómicas de *Lupinus* están incluidos en forma dispersa en los numerosos tratamientos de la familia Leguminosae y en los textos y manuales de Anatomía Vegetal como Metcalfe y Chalk (1950) y Esau (1982). Entre las publicaciones que tratan temas morfoanatómicos exclusivamente de *Lupinus* se pueden citar los de Compton (1912), Boas y Merckenschlager (1923); Holden y Chesters (1925), Dracup y Kirby (1996); Acuña y Planchuelo (1999); Golovchenko (2000); Briceño, Azócar, Fariñas y Rada (2000); Petrova (2002); Seisdedos y Planchuelo (2011, 2017) y Zamora-Natera y Terrazas (2012).

En Argentina no existen antecedentes de cultivos extensivos, salvo pequeñas superficies de *L. albus* destinadas a la industrialización de pickles, la comercialización de granos considerados medicinales y a la

producción de píldoras de usos terapéuticos para combatir el ácido úrico y el colesterol (Planchuelo, 2007).

El objetivo de este trabajo es dar a conocer la morfoanatomía de las plántulas de las dos principales especies de lupinos europeos (*Lupinus albus* y *L. angustifolius*), que fueron introducidas para estudios experimentales y como cultivos invierno-primaverales en los sistemas agrícolas de la pradera pampeana (Ravelo y Planchuelo, 1999, 2003, 2006, 2011; Ravelo, Planchuelo, Zanvetto, 1999; Ravelo, 2015; Ravelo, Zanvetto, Seisdedos, Maich, Sánchez, 2015).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas de los siguientes orígenes: para *Lupinus albus* la variedad Rex del fitomejorador von Baer de Temuco, Chile y para *L. angustifolius* la variedad Tango del Banco Nacional de Germoplasma de Polonia situado en «Wiatrowo Breeding Station», Polonia. Las muestras de semillas estuvieron almacenadas en contenedores a 5°C hasta el momento de la siembra. Para la germinación se tomaron 60 semillas al azar por especie, que fueron sembradas en tres repeticiones a razón de 20 semillas por terrinas de 20 x 30 cm, con un sustrato de arena comercial gruesa. Las terrinas fueron colocadas en una cámara de cultivo a 20° de temperatura, con un fotoperíodo de 8 h y con 16 h de oscuridad, según las recomendaciones del International Seed Testing Association (ISTA, 2012).

Se siguieron los mismos controles de humedad del sustrato con irrigación diaria de agua destilada, según las indicaciones de Planchuelo y Seisdedos (2015) para los ensayos en terrinas realizados con especies silvestres de *Lupinus*. A los 20 días de la siembra se seleccionaron 15 plántulas al azar (cinco de cada terrina) que fueron extraídas con un pan de sustrato. Las raíces se lavaron y se realizaron las mediciones de la elongación del hipocótilo, epicótilo y pecíolo con una regla flexible con precisión de 0,5 mm bajo lupa con 4x de aumento. Se seleccionó la tercera hoja y en el folíolo medio, se midió el largo y ancho

máximo (parte distal del folíolo oblanceolado). Esas mismas plántulas se utilizaron para los estudios realizados en material fresco y se eligió la más representativa de la muestra de cada especie para ilustrar gráficamente su morfología (Fig. 1). El resto de las plántulas se conservó en FAA (formaldehído, ácido acético, etanol 96°) para el análisis morfoanatómico de cortes transversales de los órganos de las plántulas.

Con las plántulas recién extraídas, se realizaron las extracciones de las epidermis de las caras adaxial y abaxial de los folíolos por diversas técnicas histológicas, de raspado y breve macerado con hipoclorito de sodio, técnica de peeling (D'Ambrogio de Argüeso, 1986) y de peeling modificado (Zarlavsky, 2014). Las epidermis fueron teñidas con safranina y montadas en gelatina-glicerina. Se tomaron fotografías con microscopio óptico.

Se realizaron preparados semipermanentes de cortes transversales de la raíz primaria, hipocótilo, epicótilo, pecíolo y de la zona media del folíolo central del tercer nomofilo siguiendo las técnicas de D'Ambrogio de Argüeso (1986). Los cortes se tiñeron con la doble coloración de azul astral para identificar la celulosa en las paredes primarias y con safranina para la identificación de la lignina en las paredes secundarias lignificadas (Schweingruber, 2007). Se utilizó una solución acuosa del reactivo de Lugol (yoduro de potasio) para la detección de almidón en los contenidos celulares.

Pequeños trozos de raíz primaria, hipocótilo, epicótilo, pecíolos y folíolos de las plántulas conservadas en FAA fueron deshidratados en una serie de concentraciones ascendentes de alcohol etílico/xilol, con la posterior inclusión en parafina (Johansen, 1940). Se realizaron cortes transversales de 12 a 14 μm de espesor con un micrótopo rotativo. Los cortes fueron teñidos con la doble coloración de azul astral y safranina y fueron montados con Bálsamo de Canadá sintético.

Los diagramas de los transcortes fueron realizados a escala mediante un tubo de dibujo adosado a un microscopio estereoscópico y la codificación de los tejidos es la

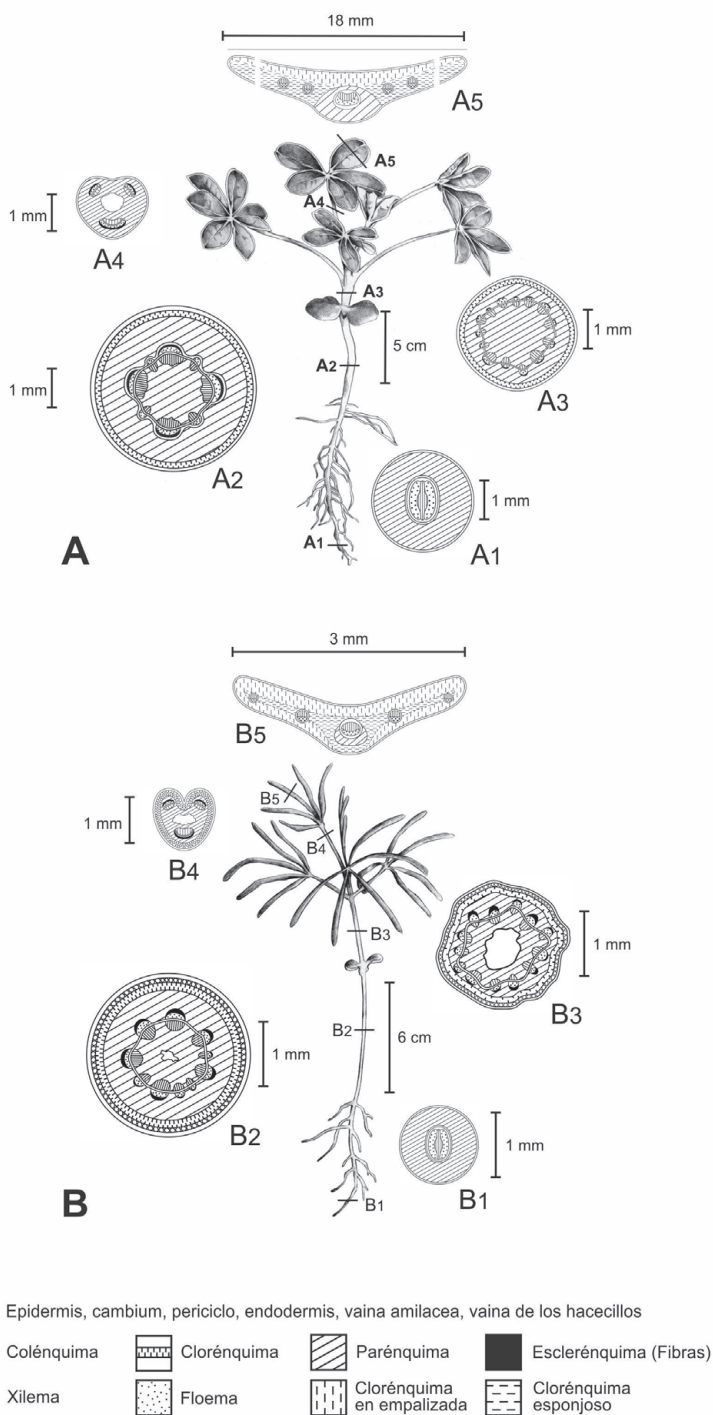


Fig. 1. Representación del estado de crecimiento promedio de las plántulas de *L. albus* (A) y *L. angustifolius* (B) a los 20 días después de la siembra y diagramas tisulares de las secciones transversales de los órganos según los patrones de Metcalfe & Chalk (1950), más esquemas especiales diseñados para el trabajo. A1, B1: Raíz primaria; A2, B2: Hipocótilo. A3, B3: Epicótilo. A4, B4: Pecíolo. A5, B5: Foliólo.

propuesta por Metcalfe y Chalk (1950) con el agregado de un diseño original para el clorénquima esponjoso de los folíolos. Para una mejor nitidez de los diagramas no se representaron los tricomas epidérmicos.

Todos los datos de mediciones fueron sometidos a un análisis estadístico para verificar si las diferencias de las medias aritméticas eran o no significativas, mediante el test de Tukey con el Programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. CARACTERÍSTICAS DEL DESARROLLO DE LAS PLÁNTULAS

Si bien la germinación comienza luego de la imbibición de la semilla cuando la radícula rompe la cubierta seminal en la zona hilar opuesta a la lente (Perissé, Planchuelo, Aiuzzi, 2000); en las terrinas se hizo visible cuando parte del embrión afloró por encima del sustrato manteniendo una posición curva, porque los cotiledones eran empujados hacia arriba por el hipocótilo. En ambas especies la germinación es epigea, y perteneciente al tipo fanerocotilar según la clasificación de Duke y Polhill (1981) y de acuerdo a la clasificación de De Vogel, corresponden a los tipos morfológicos Sloanea, subtipo Sloanea (De Vogel, 1979, 1980) y al tipo Sophora según Ye (1983). La primera etapa del proceso de germinación es heterótrofa y los cotiledones reservantes proveen los nutrientes necesarios para el desarrollo de los primeros estadios de la plántula. A posteriori el hipocótilo se alarga manteniendo una posición curva hasta la emergencia de los cotiledones que retienen la cubierta seminal en forma de capuchón en su parte distal. Aproximadamente, a los 8 a 10 días después de la siembra, los cotiledones se liberan de la cubierta seminal, se separan entre sí, se expanden para dejar emerger al epicótilo y se tornan fotosintéticamente activos, dando comienzo a la etapa autótrofa.

El análisis cronológico del crecimiento de las plántulas mostró que las dos especies tienen un comportamiento similar. Luego de separados los cotiledones, aproximadamente

a los 15 a 18 días después de la siembra, el hipocótilo sigue creciendo mientras que el epicótilo se mantiene poco desarrollado, pero portando entre dos y tres hojas bien expandidas.

Ambas especies tuvieron un porcentaje de emergencia de plántulas normales del 100 % en todas las terrinas, lo que demuestra un buen estado sanitario de las semillas que está correlacionado con el vigor necesario para el establecimiento de la planta en sistemas de cultivo en concordancia con lo evaluado por (Perissé, Lovey, Planchuelo, 2006).

2. MORFOANATOMÍA DE LOS ÓRGANOS DE LAS PLÁNTULAS

La Fig. 1 muestra dibujos de plántulas de *Lupinus albus* y *L. angustifolius* que son representativas de un estado de crecimiento promedio de 20 días después de la siembra. Se muestran también los diagramas tisulares de los cortes transversales de raíz, hipocótilo, epicótilo, pecíolo y folíolo. Como se puede observar hay diferencias de tamaño y estructuras entre las plántulas; las de *L. angustifolius* tienen órganos de mayor longitud que las de *L. albus*, pero toda la arquitectura de la plántula de esta última especie es más robusta. Estas diferencias pueden continuar siendo evidentes hasta el estadio de roseta basal y ser atribuidas a los tamaños de las semillas tal como lo describe Huyghe (1993). En el diagrama del folíolo de *L. albus*, (Fig. 1 A5) se realizaron dos interrupciones en la lámina debido al ancho del folíolo, que si fuera dibujado en su totalidad superaría el espacio de toda la ilustración.

La Tabla 1 muestra los valores promedios y los errores estándares de las longitudes de los hipocótilos, epicótilos, pecíolos y largo y ancho máximo de los folíolos medios de la tercera hoja, de una muestra de 15 plántulas de cada especie, a los 20 días de la siembra. Como se puede observar hay diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en todos los valores de los órganos evaluados, excepto en las longitudes de los folíolos.

Tabla 1. Características de las longitudes de hipocótilo, epicótilo, pecíolo y largo y ancho de los folíolos (media \pm desvío estándar expresado en cm). Letras minúsculas diferentes indican que hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias involucradas (test de Tukey, $p \leq 0,05$).

Especie	Hipocótilo	Epicótilo	Pecíolo	Largo de folíolo	Ancho de folíolo
<i>Lupinus albus</i>	5,19 \pm 0,36 a	1,25 \pm 0,31 a	7,39 \pm 0,49 a	3,37 \pm 0,40 a	1,83 \pm 0,33 a
<i>Lupinus angustifolius</i>	6,95 \pm 0,21 b	3,61 \pm 0,39 b	3,53 \pm 0,59 b	3,81 \pm 0,63 a	0,35 \pm 0,07 b

2.1. Estructura de la raíz.— La observación de las raíces a los 20 días luego de la siembra evidencia que *L. albus* consta de una raíz primaria bien desarrollada con un buen sistema de raíces laterales, en cambio el sistema radicular de *L. angustifolius* es menos desarrollado, con pocas raíces laterales, tal como fue señalado por Clemens, White, Buirchell (1993) (Fig. 1 A y B). Las raíces laterales son mucho más delgadas que la raíz principal coincidiendo con la típica estructura de un sistema alorrizo de raíz pivotante (Dracup y Kirby, 1996). El mejor desarrollo radicular que presenta *L. albus* puede influir favorablemente en los rendimientos de granos como lo sugieren Del Canto, Osorio, Ruyayán, Lichtin, Maureira-Butler (2015).

Ambas especies tienen una estructura anatómica diarca que es típica de los lupinos anuales de grano y perennes silvestres (Compton, 1912; Boas y Merckenschlager, 1923; Holden y Chesters, 1925; Petrova, 2002), con el metaxilema central bien desarrollado, el protoxilema en los extremos y el floema que se encuentra a cada lado del xilema (Fig. 1. A1, B1 y Fig. 2A y B). El periciclo es una capa uniestratificada de células parenquimáticas, en posición externa al floema y forma un conjunto pluriestratificado frente a los polos del protoxilema. Por fuera del cilindro central está la endodermis con bandas de Caspary, que tiene tres capas en *L. albus* y dos capas en *L. angustifolius* coincidiendo exactamente con lo encontrado por (Petrova, 2002) (Fig. 1, A1 y B1. Fig. 2 B). El parénquima cortical, con células poliédricas y grandes espacios intercelulares y la rizodermis, son semejantes en ambas especies (Fig. 2 A).

2.2. Estructura del hipocótilo.— Como se puede observar en la Tabla 1 los hipocótilos de *L. albus*, son más cortos que los de *L. angustifolius*, pero la mayor elongación no está correlacionada con un buen desarrollo radicular, lo que podría sugerir un debilitamiento en la arquitectura de la plántula tal como lo señalan Dracup y Kirby (1996).

El corte transversal del hipocótilo de *L. albus* (Fig. 1 A2) muestra una amplia médula central de células parenquimáticas, mientras que en *L. angustifolius* la parte central de la médula es hueca (Fig. 1 B2). El sistema vascular es similar en ambas especies y está representado por haces vasculares colaterales abiertos interconectados por un cambium inter-fascicular bien desarrollado. Cada haz vascular tiene un casquete de fibras que cubre al floema (Fig. 2C). Hacia afuera se encuentra el parénquima cortical que está rodeado por una capa de clorénquima que se hace visible en las plántulas que estuvieron expuestas a mayor cantidad de luz. Las características descritas coinciden con los análisis de los sistemas vasculares de plántulas de varias especies de *Lupinus* realizadas por Compton (1912) y Holden y Chesters (1925) y difieren de lo encontrado en *L. nanus* Douglas ex Benth., originaria de California (Holden y Chesters, 1925). En *L. angustifolius* se observa una capa de colénquima laminar en posición subepidérmica. La capa periférica en ambas especies es la epidermis uniestratificada. Las diferencias más notorias, son la presencia de la capa de colénquima laminar y el mayor número de haces vasculares en *L. angustifolius* (Fig. 1 B2 y Fig. 2 E) y una vaina uniestratificada amilácea, que fue identificada por reacción con lugol, en la zona basal del hipocótilo de

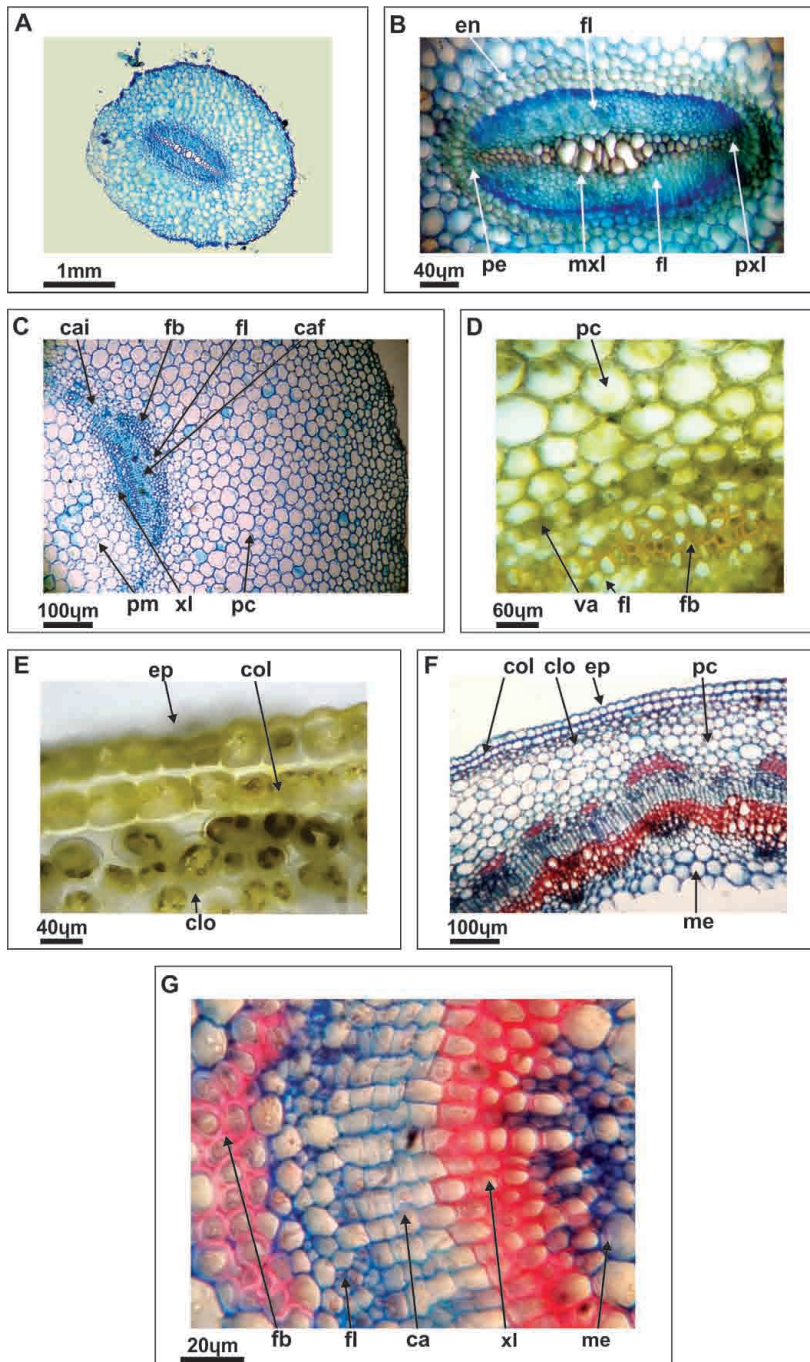


Fig. 2. Fotomicrografías de secciones transversales de raíz y tallo de plántulas. A-D). *L. albus*. E-G) *L. angustifolius*. A, B: Raíz primaria con detalle de cilindro central. C-E: Hipocótilo: Detalle de estela, médula y parénquima; detalle del parénquima y vaina amilácea; detalle de capa de colénquima. F, G: Epicótilo: Detalle de haces vasculares; detalle de un haz vascular. Referencias: ca, cambium; caf, cambium fascicular; cai, cambium interfascicular; clo, clo-rénquima; col, colénquima laminar; en, endodermis; ep, epidermis; fl, floema; fb, fibras; me, médula; mxl, metaxilema; pc, parénquima cortical; pe, periciclo; pm, parénquima medular; pxl, protoxilema; va, vaina amilácea; xl, xilema.

L. albus (Fig. 1 A2 y Fig. 2 D) tal como fue señalado por Acuña y Planchuelo (1999). La capa subepidérmica de colénquima contribuye a un sistema de sostén que le permite reforzar los tejidos del hipocótilo a *L. angustifolius* por ser de mayor elongación y menor diámetro que el de *L. albus*. Por otro lado, el almidón de la vaina amilácea, puede considerarse como un proveedor de nutrientes para una mayor formación de raíces laterales en *L. albus* con respecto a la plántula de *L. angustifolius*.

Falta comprobar si las diferencias estructurales entre ambas especies influyen en la resistencia al ataque del hongo *Rhizoctonia solani* cepa ZG3 que causa la enfermedad de la podredumbre del hipocótilo (Nelson y Delane, 1990).

2.3. Estructura del epicótilo.— El epicótilo de *L. albus* (Fig. 1 A3) muestra una amplia médula central de tejido parenquimático, mientras que en *L. angustifolius* la zona central es hueca. Los haces vasculares son iguales en su constitución pero de menor tamaño que los del hipocótilo (ver detalle en Fig. 2 G). Se graficó una capa de clorénquima que se observó en algunas plántulas que estaban más expuestas a la luz. El colénquima subepidérmico del hipocótilo también está presente en el epicótilo de *L. angustifolius* y está ausente en *L. albus* (Fig. 1 A3 y B3; Fig. 2 F y G).

2.4. Estructura del pecíolo.— El sistema vascular del pecíolo de ambas especies proviene de un nudo trilacunar que contiene tres haces vasculares bien diferenciados, dos pequeños y uno de mayor tamaño. En la zona central, el pecíolo presenta un espacio aéreo de origen lisígeno coincidiendo con lo observado por Zamora-Natera y Terrazas (2012). El corte transversal del pecíolo de *L. albus* (Fig. 1 A4, Fig. 3 A) tiene una pequeña escotadura poco profunda en la parte ventral a diferencia de *L. angustifolius* que presenta una forma cordada con dos lóbulos que emergen de un canal central (Fig. 1 B4, Fig. 3 B). Las características del pecíolo de *L. angustifolius*, reafirman otras similitudes morfológicas con la especie *L. gibertianus*

C.PSm., nativa de la Subregión Atlántica (Planchuelo, 1994), descritas por Planchuelo (1996) en un estudio comparativo entre especies de origen europeo y americano.

2.5. Estructura de los folíolos.— Como se puede observar en la Fig. 1, A y B todas las hojas son palmaticompuestas con folíolos que nacen de un punto común en la zona distal del pecíolo, en donde se juntan los pulvínulos que están en la base de cada uno de los folíolos. No hay una clara diferencia entre las hojas de las plántulas como para clasificarlas en protofilos y nomofilos, pero sí se evidenció que solo tienen cinco folíolos, mientras que en ambas especies las hojas de las plantas adultas tienen entre siete y nueve folíolos. Con respecto a los tamaños de los folíolos se pone en evidencia en la Fig. 1 (A5 y B5) y en la Tabla 1 que las diferencias más significativas están en los anchos, ya que los largos de los folíolos son aproximadamente iguales en ambas especies, mientras que el ancho de los folíolos de *L. albus* es aproximadamente seis veces mayor que el de los folíolos de *L. angustifolius*.

El corte transversal del folíolo de *L. albus* (Fig. 1 A4, Fig. 3 C) muestra una estructura de mesofilo de disposición dorsiventral con dos capas de clorénquima en empalizada hacia la cara adaxial, que se continúa a la altura de la nervadura media y cuatro capas de clorénquima esponjoso interrumpido por células parenquimáticas incoloras que rodean a la nervadura central y se extienden hasta la cara abaxial.

La estructura foliar de *L. angustifolius* (Fig. 1 B4, Fig. 3 D) es isobilateral con un clorénquima en empalizada de aproximadamente tres capas hacia la cara adaxial que se continúa a lo largo de todo el ancho del folíolo, un clorénquima esponjoso de poco espesor que se extiende a la altura de la nervadura media hacia la cara abaxial, y una o dos capas de clorénquima en empalizada hacia la cara abaxial, en donde las células están separadas por grandes espacios intercelulares. El hacecillo vascular de la nervadura central en ambas especies es colateral con xilema hacia la cara adaxial y floema

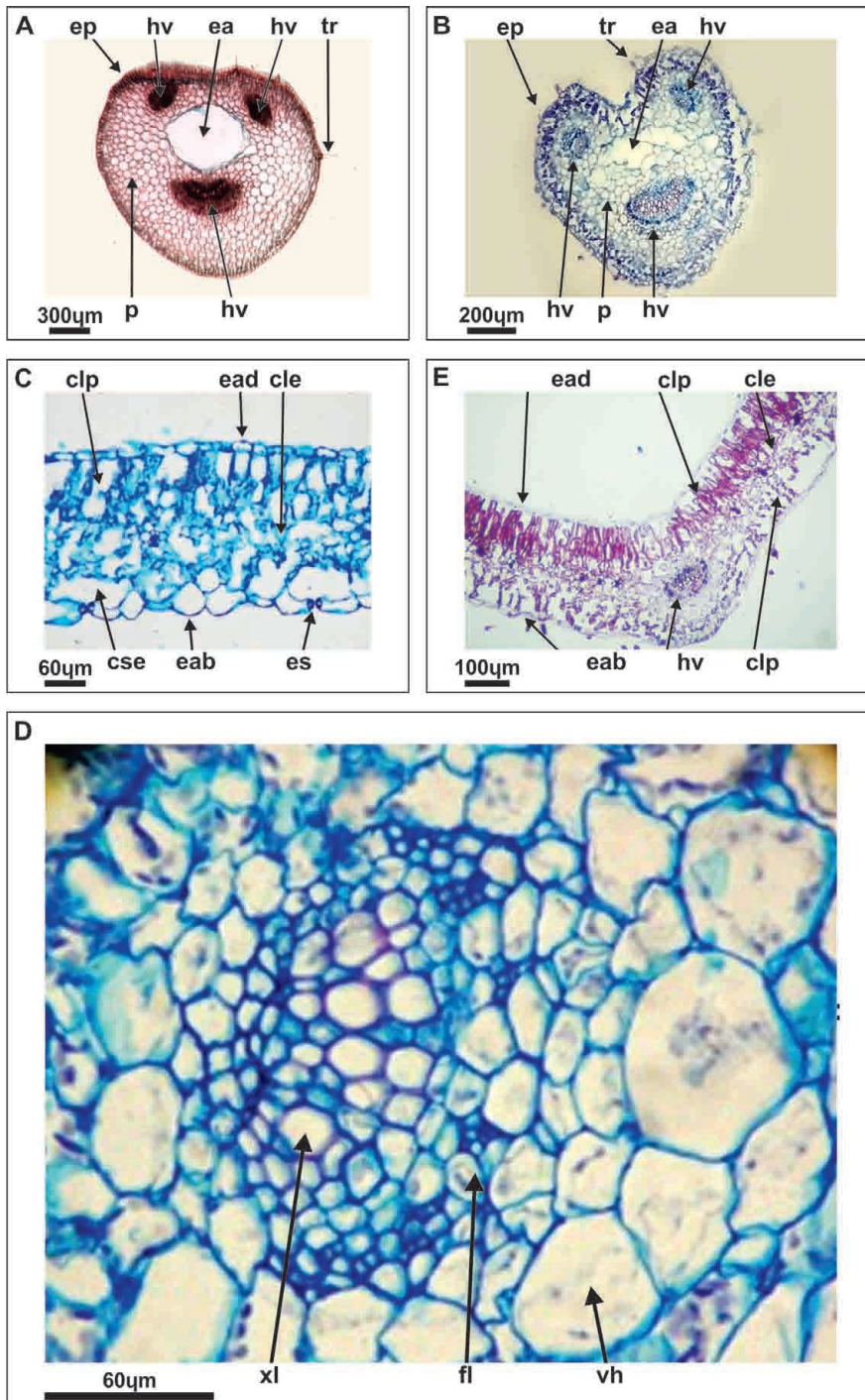


Fig. 3. Fotomicrografías de secciones transversales de hoja. A, C, D) *L. albus*. B, E) *L. angustifolius*. A, B: Pecíolo. C, E: Transcorte por lámina de folíolo. D: Transcorte mostrando un detalle del hacecillo medio. Referencias: cle, clorénquima esponjoso; clp, clorénquima en empalizada; cse, cámara subestomática; eab, epidermis abaxial, ead: epidermis adaxial; ea, espacio aéreo; ep, epidermis; es, estoma; fl, floema; hv, hacecillo vascular; p, parénquima; tr, tricoma; vh, vaina del haz; xl, xilema.

hacia la cara abaxial, posee grupos de fibras en relación al floema y está rodeado por una vaina de células parenquimáticas incoloras. Los hacecillos laterales son colaterales con pocos elementos conductores, sin fibras y también están rodeados de una vaina pequeña de células incoloras.

La epidermis adaxial de los folíolos de ambas especies es glabra con células de paredes poliédricas irregulares de contornos levemente ondulados (Fig. 4 A1, B1), en cambio la abaxial es pilosa, con tricomas adpresos, simples, tricelulares, formados por una célula basal globosa de mayor tamaño que las células epidérmicas, un epitricopodio de paredes engrosadas que se tiñen con safranina y una célula apical acicular (Fig. 4 C). Estas características de los tricomas se describen por primera vez para el género *Lupinus* y es una ampliación de las señaladas por Golovchenko (2000); Briceño *et al.* (2000); Seisdedos y Planchuelo (2011, 2017); Zamora-Natera y Terrazas (2012).

En *L. albus*, en vista superficial se observan entre nueve y diez células pentagonales que se disponen en forma radial en la base de los tricomas (Fig. 4. A2), mientras que en *L. angustifolius* las células que rodean a los tricomas son de forma irregular (Fig. 4 B2). Estos tipos de distribución de las células en la base de los tricomas fueron descritas por Seisdedos y Planchuelo (2011) y Zamora-Natera y Terrazas (2012), y según Stenglein, Arambarri, Colares, Novoa, Vizcaino (2003) pueden contribuir a la sistemática de los diferentes grupos taxonómicos de Fabaceae.

Los folíolos de ambas especies son anfistomáticos y presentan mayormente estomas anomocíticos comunes en otros géneros de Fabaceae (Taia, 2004; Freire *et al.*, 2005) sin embargo, también se encontraron en ambas especies algunos estomas anisocíticos con tres células auxiliares lo que demuestra que este carácter de la epidermis no tiene un gran valor taxonómico. Los estomas están levemente hundidos en relación al nivel de las células epidérmicas en concordancia con lo observado por Golovchenko (2000), Seisdedos y Planchuelo (2011) y Zamora-Natera y Terrazas (2012).

Las características foliares observadas muestran que si bien los folíolos tienen la cara adaxial glabra y expuesta a las condiciones ambientales, las hojas tienen la posibilidad de plegar los folíolos para reducir el área expuesta a la radiación directa del sol, variando el turgor de las células de los pulvínulos tal como lo describen Jaramillo-Pérez, Quintanar-Isaías, Fraile-Ortega, Martínez-Bernal, Sepúlveda-Sánchez (2015) en las hojas compuestas de *Alvaradoa amorphoides* Liebm. El plegamiento de los folíolos le permite a la planta reducir la superficie de las hojas y los tricomas de la cara abaxial generan una protección que evita la plena exposición de la epidermis y disminuye los efectos del movimiento del aire que seca la superficie (Jones, 1992; Ely y Torres, 2003; Yabuki, 2004). Estas características junto con los estomas levemente hundidos evitan el sobrecalentamiento que genera la atmósfera desecante (Medlyn *et al.*, 2001). Lo anteriormente expuesto fue observado durante el curso del crecimiento de las plántulas lo que demuestra una estrategia de control termohídrico de la plántula.

Las grandes diferencias en el ancho y estructura de los folíolos entre *L. albus* y *L. angustifolius* son típicas de las especies y se manifiestan desde los primeros primordios foliares hasta las hojas de la planta adulta, y según los estudios de Cowling, Buirchell, Tapia (1998), pueden estar relacionadas con los distintos tipos de domesticación de las especies.

CONCLUSIONES

Las diferencias morfoanatómicas encontradas entre las dos especies de *Lupinus*, descritas en estado de plántula muestran caracteres que pueden considerarse importantes en la estructura de la planta adulta como quedó manifiesto en el desarrollo del sistema radical en *Lupinus albus* respecto a *L. angustifolius*.

Este trabajo contribuye a identificar los tejidos normales de las especies en los estadios iniciales del desarrollo de la planta y sirve como base para futuras investigaciones

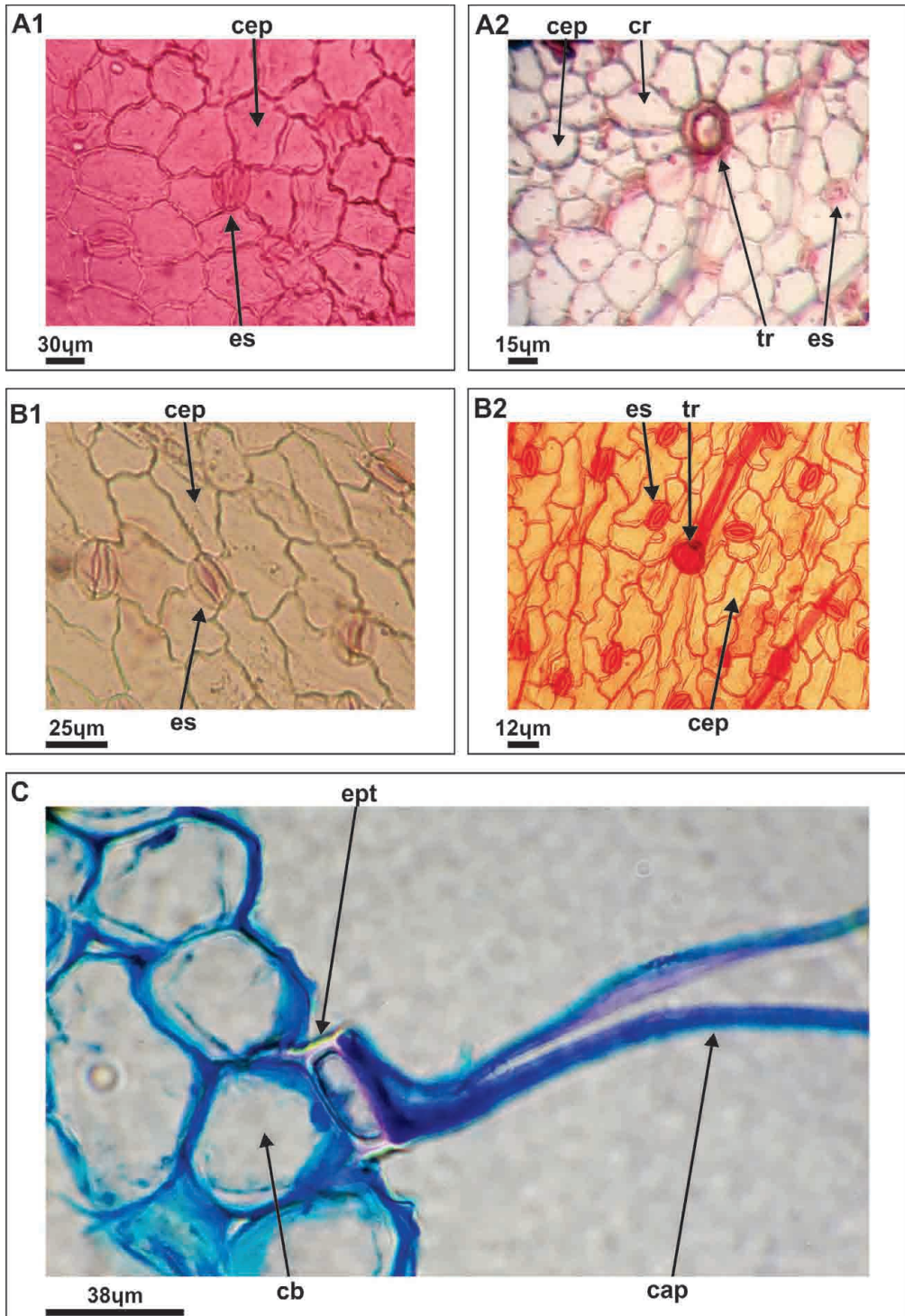


Fig. 4. Fotomicrografías de epidermis en vista superficial. A) *L. albus*. B) *L. angustifolius*. A1, B1: Epidermis adaxial. A2, B2: Epidermis abaxial. Referencias: cep, célula epidérmica; es, estoma; cr células radiales. C) Corte transversal del folíolo mostrando la epidermis y un tricoma tricelular. Referencias: cap, célula apical; cb célula basal; ept, epitricopodium.

sobre plántulas de otras especies de *Lupinus*. Se considera que los resultados pueden servir de soporte a los programas de mejoramiento vegetal y como patrones tisulares para determinar si existen relaciones entre los tejidos de conducción y de sostén y el comportamiento de las plantas ante el estrés hídrico y la infestación de patógenos.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen al Dr. Prof. Bogdan Wolko del Intitute of Plant Genetics de la Polish Academy of Science de Polonia y al Ing. Agr. y Fitomejorador Erik von Baer de «Semillas Baer» localizada en Gorbea, Provincia de Cautín en la Región de la Araucanía, Chile, por la gentileza de facilitar la obtención de las muestras de semillas con las que se realizaron los ensayos. Nuestro especial agradecimiento al diseñador Alejandro Barbeito por su apoyo en la confección de las ilustraciones de este trabajo y al personal de la biblioteca de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba, por su apoyo en facilitar las referencias bibliográficas solicitadas. Esta investigación fue subsidiada por la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, N. y Planchuelo, A. M. (1999). Comparative morphology of lupin seedling. In: G. Hill (Ed.), *A crop for the Next Century. Proceeding International Lupin Conference*. (pp. 386-393) Christchurch: Lincoln University.
- Antúnez de Mayolo, S. (1982). Tarwi in Ancient Peru. In: R. Gross & E. S. Bunting (Eds.), *Agricultural and Nutritional Aspects of Lupines. Proceedings I International Lupin Conference, 1980* (pp. 2-11). Lima-Cuzco: International Lupin Association.
- Boas, F. y Merckenschlager, F. (1923). Die Lupine als Objekt der Pflanzenforschung. Morphologie, Anatomie, Physiologie und Pathologie der gelben Lupine: Berlin, Germany: Paul Parey.
- Brehaut, E. (1933). [Trad.] Cato, the Censor, on farming. New York, USA: Columbia University Press.
- Briceño, B., Azócar, A., Fariñas, M., y Rada, F. (2000). Características anatómicas de dos especies de *Lupinus* L. de los Andes venezolanos. *Pittieria* 1 (29-30): 21-35.
- Clemens, J. C., White, P. F. y Buirchell, B. J. (1993). The root morphology of *Lupinus angustifolius* in relation to other *Lupinus* species. *Australian Journal of Agricultural Research* 44: 1367-1375.
- Compton, R. H. (1912). An Investigation of the seedling structure in the Leguminosae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 41: 1-122.
- Cowling, W. A., Buirchell, B. J. y Tapia, M. E. (1998). Lupin. *Lupinus* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. *International Plant Genetic Resources Institute* 23: 1-105.
- D'Ambrógio de Argüeso, A. (1986). Manual de técnicas en histología vegetal. Buenos Aires, Argentina: Ed. Hemisferio Sur.
- Del Canto, G., Osorio, C., Rupayan, A., Lichtin, N. y Maureira-Butler, I. (2015). Assessing root variability, growth, morphology, and metabolite content, in a diverse germplasm collection of yellow lupin (*Lupinus luteus*, L.). In: J. Capraro, M. Duranti, C. Magni, A. Scarafoni (Eds.), *Developing Lupin Crop into a Major and Sustainable Food and Feed Source* (p. 42) Genoa: International Lupin Association.
- De Vogel, E. F. (1979). Morphological types in dicot seedlings, with reference to their origin. *Bulletin de la Société Botanique de France* 126. *Actualités Botaniques* 3: 173-182.
- De Vogel, E. F. (1980). Seedling of Dicotyledons: structure, development, types. Wageningen, Netherlands: Centre for Agricultural Publishing and Documentation
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. y Robledo, C. W. (2012). Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Recuperado de <http://www.infostat.com.ar>.
- Dracup, M. y Kirby, E. J. M. (1996). Lupin Development Guide. Nedlands, Western Australia: University Western Australia Press.
- Duke, J. A. y Polhill, R. M. (1981). Seedlings of Leguminosae. In: R. M. Polhill & P. H. Raven (Eds.), *Advances in Legume Systematics Part 2* (pp. 941-949). Kew, England: Royal Botanical Garden.

- Ely, F. y Torres, F. (2003). Adaptaciones anatómico-estructurales foliares de *Chaetolepis lindeniana* (Naud.) Triana a lo largo de un gradiente altitudinal en el Páramo del Parque Nacional Sierra Nevada de Mérida (Venezuela). *Plant 3* (2): 101-115.
- Esau, K. (1982). Anatomía de las plantas con semilla. Buenos Aires, Argentina: Ed. Hemisferio Sur S. A.
- Freire, S. E., Arambarri, A. M., Bayón, N. D., Sancho, G., Urtubey, E., Monti, C., Novoa, M. C., y Colares, M. N. (2005). Epidermal characteristics of toxic plants for cattle from the Salado river basin (Buenos Aires, Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 40: 241-281.
- Gladstones, J. S. (1974). Lupins of the Mediterranean Region and Africa. Department of Agriculture and Food, Western Australia. *Technical Bulletin* 26: 1- 48.
- Golovchenko, O. V. (2000). The morphology of the epidermis in some lupin species. In: E. van Santen, M. Wink, S. Weissmann, P. Röemer (Eds.), *Lupin, an Ancient Crop for the New Millenium* (p. 269). Canterbury: International Lupin Association.
- Hedrick, U. P. (1972). Sturtevant's edible plants of the World. New York, USA: Dover Publications, Inc.
- Holden, H. S. y Chesters, A. E. (1925). The seedling anatomy of some species of *Botanical Journal of the Linnean Society* 47: 41-53.
- Hort, A. (1916). Greek and English text of Theophrastus's Enquiry into Plants (De Historia Plantarum). New York, USA: Heinemann & G. P. Putnam's Sons.
- Huyghe, C. (1993). Growth of white lupin seedlings during the rosette stage as affected by seed size. *Agronomie* 13: 145-153.
- International Rules for Seed Testing [ISTA]. (2012). Zurich, Switzerland. International Seed Testing Association.
- Jacobsen, S. y Mujica, A. (2006). El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres. En: M. Moraes R., B. Ollgaard, L. P. Kvist, F. Borchsenius y H. Balslev (Eds.), *Botánica Económica de los Andes* (pp. 458-482). La Paz: Universidad Mayor de San Andrés.
- Jaramillo-Pérez, A. T., Quintanar-Isaías, A., Fraile-Ortega, M. E., Martínez-Bernal, A. y Sepúlveda-Sánchez, J. D. (2015). Morfoanatomía foliar de *Alvaradoa amorphoides* Liebm. del estado de Morelos, México. *Polibotánica* 40: 79-98.
- Johansen, D. A. (1940). Plant Microtechnique. New York, USA: McGraw-Hill Co.
- Jones, H. G. (1992). Plants and microclimate, a quantitative approach to environmental plant physiology. New York, USA: Cambridge University Press.
- Maurizio, A. (1932). Histoire de L' Alimentation Végétale depuis la Préhistoire Jusq' à nos Jours. Paris, France: Bibliothèque Scientifique.
- Medlyn, B. E., Barton, C. V. M., Broadmeadow, M. S. J., Ceulemans, R., De Angelis, P., Forstreuter, M., Freeman, M., Jackson, S. B., Kellomäki, A., Laitat, E., Rey, A., Roberntz, P., Sigurdsson, B. D., Strassmeyer, J., Wang, K., Curtis, P. S. y Jarvis, P. G. (2001). Stomatal Conductance of Forest Species after Long-Term Exposure to Elevated CO2 Concentration: A Synthesis. *New Phytologist* 149: 247-264.
- Metcalf, C. R. y Chalk, L. (1950). Anatomy of the Dicotyledons, Vol 2. Oxford, England: Oxford & Clarendon Press.
- Mohr, U. (1988). An Alternativa Debittering Process for *L. mutabilis*. In: W. Swiecicki, K. Swiecicki, A. Micke (Eds.), *Proceedings of V International Lupin Conference* (pp. 701-705). Poznan: International Lupin Association.
- Nelson, P. y Delane, R. (1990). Producing lupins in Western Australia. *Department of Agriculture, Western Australia. Bulletin* 4179 (161/30): 1-94.
- Perissé, P., Lovey R. J. y Planchuelo, A. M. (2006). Seed vigour tests as tools for prediction field emergence in white lupin (*Lupinus albus* L.). In: E. van Santen & G. D. Hill (Eds.), *Where Old and New World Lupins Meet* (pp. 28-31). Guadalajara: International Lupin Association.
- Perissé, P., Planchuelo, A. M. y Aiazzi, M. (2000). Germination water requirements for *Lupinus albus* and *L. angustifolius*. In: E. van Santen, M. Wink, S. Weissmann, P. Röemer P. (Eds.), *Lupin, an Ancient Crop for the New Millenium* (pp. 352-354). Klink-Müritz: International Lupin Association.
- Petrova, M. V. (2002). Anatomic structure. In: B. S. Kurlovich (Ed.), *Lupins: Geography, Classification, Genetic Resources and Breeding* (pp. 183-203). St. Petersburg, Rusia: Publishing house «Intan».
- Planchuelo, A. M. (1994). Wild lupins distribution and its implication as germplasm resources. In: J.M. Neves Martins, M.L. Beirao Da Costa (Eds.), *Advances in Lupin Research* (pp. 65-69). Évora: International Lupin Association.

- Planchuelo, A. M. (1996). Relationship between South American and European species of *Lupinus*. In: B. Pickergill & M. Lock (Eds.), *Advances in Legume Systematics, Legumes of Economic Importance* (pp. 109-116). Kew: Royal Botanical Garden.
- Planchuelo, A. M. (2007). Evaluación de los usos medicinales de las semillas de lupino blanco (*Lupinus albus* L.). *Boletín Latino del Caribe Plantas Medicinales Aromáticas* 6 (5): 213-215.
- Planchuelo, A. M. y Fuentes, E. (2005). El tarwi o chocho: Una de las principales fuentes de proteína vegetal de las comunidades indígenas de los Andes Centrales. *Revista Argentina de Antropología Biológica* 7 (1): 159.
- Planchuelo, A. M. y Seisdedos, L. (2015). Germination of wild lupinus with ornamental features. In: J. Capraro, M. Duranti, C. Magni, A. Scafaroni (Eds.), *Developing lupin crop into a major and sustainable food and feed source* (p. 24). Milán: International Lupin Association.
- Ravelo, A. C. (2015). Lupin and soybean global cropping evolution: lessons learned worldwide and in Argentina. In: J. Capraro, M. Duranti, C. Magni, A. Scafaroni (Eds.), *Developing Lupin Crop Into a Major and Sustainable Food and Feed Source* (p. 18). Milán: International Lupin Association.
- Ravelo, A. C. y Planchuelo, A. M. (1999). Estimating growth stages in white lupin (*Lupinus albus* L.) In: G. Hill (Ed.), *A crop for the Next Century* (pp. 60-63). Christchurch: Lincoln University.
- Ravelo, A. C. y Planchuelo, A. M. (2003). Aptitud agroecológica de la pradera pampeana argentina para el cultivo del lupino blanco (*Lupinus albus* L.). *AgriScientia* 20: 35-44.
- Ravelo, A. C. y Planchuelo, A. M. (2006). Evaluation of agroecological conditions for selected cultivars of white lupin (*Lupinus albus* L.) in Argentina. In: E. van Santen & G. Hill (Eds.), *Where Old and New World Lupins Meet* (pp. 9-14). Guadalajara: International Lupin Association.
- Ravelo, A. C. y Planchuelo, A. M. (2011). Rainfall and temperature changes and drought occurrences redefine lupin crop zones in Argentina. In: B. Naganowska, P. Kachlicki & B. Wolko (Eds.), *Lupin crops an opportunity for today, a promise for the future* (pp.136-140). Poznan: International Lupin Association.
- Ravelo, A. C., Planchuelo, A. M., y Zanvetton, R. (1999). Zonificación agroecológica del lupino blanco (*Lupinus albus* L.) para la Provincia de Córdoba (Argentina). *Revista de la Facultad de Agronomía* 19 (3): 243-450.
- Ravelo, A. C., Zanvetton, R., Seisdedos, L., Maich, R. y Sánchez, M. (2015). Field assessment of narrow leaf lupin (*Lupinus angustifolius* L.) in Córdoba. In: J. Capraro, M. Duranti, C. Magni, A. Scafaroni (Eds.), *Developing lupin crop into a major and sustainable food and feed source* (p. 119). Milan: International Lupin Association.
- Seisdedos, L. y Planchuelo, A. M. (2011). Morphological studies of leaflets epidermis as a contribution for understanding *Lupinus* taxonomy and phylogeny. In: B. Naganowska, P. Kachlicki & B. Wolko (Eds.), *Lupin crops, an opportunity for today a promise for the future* (p. 33). Poznan: International Lupin Association.
- Seisdedos, L. y Planchuelo, A. M. (2017). Características foliares de cinco especies de *Lupinus* nativas de los valles interandinos. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 52 (Supl.): 30.
- Schweingruber, F. H. (2007). Wood Structure and Environment. Berlin-Heidelberg, Alemania: Springer.
- Stenglein, S. A., Arambarri, A., Colares, M. N., Novoa, M. C. y Vizcaino, C. E. (2003). Leaf epidermal characteristics of *Lotus* subgenus *Acmispon* (Fabaceae: Loteae) and numerical taxonomic evaluation. *Canadian Journal of Botany* 81: 933-944.
- Taia, K. W. (2004). Leaf characters within tribe *Trifolieae* (family Leguminosae). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7: 1463-1472.
- Tapia, M. E. (2015). El tarwi, lupino Andino. Tarwi, tauri o chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet). Lima, Perú: Fondo Italo Peruano.
- Yabuki, K. (2004). Photosynthetic Rate and Dynamic Environment. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Ye, N. (1983). Studies on the seedling types of dicotyledonous plants (Magnoliophyta, Magnoliopsida). *Phytologia* 54: 161-189.
- Zamora-Natera, J. F. y Terrazas, T. (2012). Anatomía foliar y del peciolo de cuatro especies de *Lupinus* (Fabaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 83: 687-697.
- Zarlavsky, G. E. (2014). Histología vegetal. Técnicas simples y complejas. Buenos Aires, Argentina: Sociedad Argentina de Botánica.