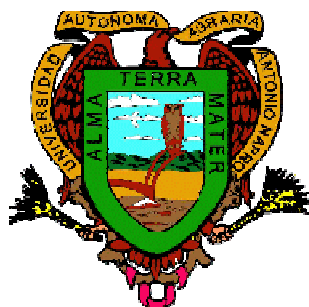


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISIÓN DE AGRONOMIA**

**DEPARTAMENTO DE BOTANICA**



**CARACTERIZACIÓN MORFOLOGICA, ANATOMICA E  
HISTOLOGICA DEL SOTOL (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.)**

**POR:**

**AGUSTÍN HERNÁNDEZ JUÁREZ**

**TESIS**

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:**

**Ingeniero en Agrobiología**

**Buenavista, Saltillo; Coahuila, México**

**Diciembre 2008**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"

DIVISION DE AGRONOMÍA

CARACTERIZACION MORFOLOGICA, ANATOMICA E HISTOLOGICA  
DEL SOTOL (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.)

POR:

AGUSTÍN HERNÁNDEZ JUÁREZ

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado examinador como requisito  
parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

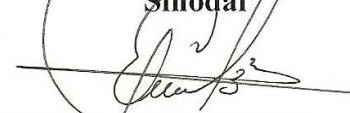
APROBADO POR:

Dr. Adalberto Benavides Mendoza  
Asesor Principal

  
M.C. Francisca Ramírez Godina  
Sinodal

  
Biol. Miguel Agustín Carranza Pérez  
Sinodal

  
M.C. Sofia Comparan Sánchez  
Sinodal

  
Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo  
Coordinador de la División de Agronomía

Buenavista, Saltillo; Coahuila, México. Diciembre 2008

## **AGRADECIMIENTOS**

### ***A MI MADRE***

Por todo el apoyo brindado para mi estancia, así como todo el apoyo moral, las preocupaciones y no solo durante esta carrera, si no en todo el camino transcurrido en esta vida que me diste, que con limitaciones y demás pero siempre estuviste ahí y quiero que sepas que este logro, también es tuyo.

Gracias Mama.

***Y HERMANOS:*** Por todo el apoyo brindado, que de alguna forma u otra contribuyo para que pudiera permanecer y culminar mis estudios profesionales, aunque jamás existirá una forma de agradecer, solo les digo que mis ideales, esfuerzos y logros también son suyos. De verdad muchas gracias.

***A AIDEE GONZALEZ RUIZ:*** Por todo el apoyo brindado en la realización de este trabajo, en el trabajo de campo y escrito, además de los momentos juntos y los dos regalos que me diste.

#### **AL Dr. ADALBERTO BENAVIDEZ MENDOZA**

Por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de investigación requisito para titularme, además del apoyo para la realización del mismo.

#### **A LA Dra. ROSA ELIA HERNÁNDEZ VALENCIA**

Gracias por todo el apoyo brindado para la realización de este trabajo, además de la confianza y amistad otorgada.

#### **A LA M.C. FRANCISCA RAMIREZ GODINA**

Gracias por el apoyo, las facilidades y la confianza brindada para la realización de este trabajo.

#### **AL BIOL. MIGUEL AGUSTIN CARRANZA PEREZ**

Por todo el apoyo y amistad brindada, tanto en el aula como fuera de ella, así como en la revisión del trabajo.

#### **A LA M.C. SOFÍA COMPARAN SANCHEZ**

Por todo el apoyo brindado durante el transcurso de la carrera y los conocimientos otorgados y el apoyo para este trabajo.

#### **A LA T.A. NORMA LETICIA PORTOS GAONA**

Por el apoyo en el laboratorio, parte esencial de esta investigación, que sin tu ayuda, este trabajo se hubiera retrasado, de verdad muchas gracias.

***A todos aquellos que participaron en esta investigación y a mis compañeros de la séptima generación de Ingeniero en Agrobiología.***

## DEDICATORIA

Este trabajo de investigación, fruto del esfuerzo y la dedicación, esta dedicado principalmente a dos personitas que ahora son la razón por la cual seguir adelante en esta vida de lucha, el motivo por el cual nunca volver atrás y por el cual en cada tropiezo me levanto más fuerte, por eso y por más es por ustedes y para ustedes:

### MIS HIJOS

*Austín Joseph Hernández González*  
y  
*Alessandra Elizabeth Hernández González*

En su momento, fijaran sus propios objetivos, para lograr sus metas, cualquiera que estas sean, lo importante es que con esfuerzo, humildad y dedicación el éxito esta asegurado.

### A MIS SOBRINOS

**Carlos, José, Efraín, Edy, Laura y Susy**

Espero que a su debido momento cada uno de ustedes tenga la oportunidad de experimentar esta etapa, que ahora culmino con esta investigación; solo les recuerdo; que cualquier camino que adopten, sea el que ustedes hayan elegido y que este trabajo les sirva de motivación para lograr sus objetivos.

Pero muy en especial dedico este trabajo a una persona que se nos adelanto en el camino, a pesar de ser duro y exigente, siempre me aconsejo y me enseño que para alcanzar nuestros objetivos, habría que luchar por ellos, que en la vida nada es gratis y que la satisfacción es plena cuando las cosas se hacen de manera correcta, gracias por enseñarme; de verdad donde quiera que se encuentre

GRACIAS.



**La verdadera sabiduría, esta en reconocer: la propia ignorancia.**

**Daría todo lo que se, por la mitad de lo que ignoro.**

## INDICE

|                                                                         |             |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>AGRADECIMIENTOS.....</b>                                             | <b>i</b>    |
| <b>DEDICATORIA.....</b>                                                 | <b>ii</b>   |
| <b>INDICE DE CONTENIDO.....</b>                                         | <b>iii</b>  |
| <b>INDICE DE CUADROS.....</b>                                           | <b>vi</b>   |
| <b>INDICE DE FIGURAS.....</b>                                           | <b>viii</b> |
| <b>RESUMEN.....</b>                                                     | <b>x</b>    |
| <b>1 INTRODUCCIÓN.....</b>                                              | <b>1</b>    |
| 1.1 Objetivo general.....                                               | 3           |
| 1.2 Objetivos específicos.....                                          | 3           |
| 1.3 Hipótesis.....                                                      | 3           |
| <b>2 REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>                                    | <b>4</b>    |
| 2.1 Aprovechamiento del genero <i>Dasyllirion</i> .....                 | 4           |
| 2.2 Clasificación y descripción del genero <i>Dasyllirion</i> .....     | 5           |
| 2.2.1 Clasificación taxonómica .....                                    | 5           |
| 2.2.2 Descripción Botánica.....                                         | 6           |
| 2.2.3 Descripción del <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel.....           | 8           |
| 2.3 Reproducción del sotol.....                                         | 9           |
| 2.3.1. _Reproducción sexual.....                                        | 9           |
| 2.3.2. _Reproducción asexual .....                                      | 10          |
| 2.4 Distribución geográfica, condiciones climáticas y edafológicas..... | 10          |
| 2.5 Descripción y desarrollo del sotol en el estado de Coahuila.....    | 11          |
| 2.6 Importancia económica del sotol.....                                | 12          |
| 2.6.1 Como alimento.....                                                | 12          |
| 2.6.2 Producción de Fibra.....                                          | 12          |
| 2.6.3 Como forraje.....                                                 | 13          |
| 2.6.4 Ornamental.....                                                   | 13          |
| 2.6.5 Otros usos.....                                                   | 13          |
| 2.7 Aprovechamiento del sotol como bebida alcohólica .....              | 14          |
| 2.8 Regulación de la bebida alcohólica “sotol” .....                    | 15          |
| 2.9 Caracterización anatómica e histológica.....                        | 17          |
| 2.9.1 Hoja.....                                                         | 17          |
| 2.9.2 Tejido epidérmico .....                                           | 18          |
| 2.9.2.1 Epidermis.....                                                  | 18          |
| 2.9.2.2 Superficie adaxial (Haz) .....                                  | 19          |
| 2.9.2.3 Superficie abaxial (Envés).....                                 | 20          |
| 2.9.2.4 Estomas .....                                                   | 20          |
| 2.9.3 Mesofilo .....                                                    | 21          |
| 2.9.3.1 Parênquima de empalizada .....                                  | 22          |

|                                                                                       |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.9.3.2. Parênquima esponjoso .....                                                   | 22        |
| 2.9.3.3 Esclerénquima .....                                                           | 23        |
| 2.9.3.3.1 Fibras.....                                                                 | 23        |
| 2.9.3.3.2 Esclereidas.....                                                            | 24        |
| 2.9.4 Sistema vascular.....                                                           | 24        |
| 2.9.4.1 Xilema.....                                                                   | 25        |
| 2.9.4.2 Floema.....                                                                   | 25        |
| <b>3 MATERIALES Y METODOS.....</b>                                                    | <b>27</b> |
| 3.1 Localización geográfica del trabajo .....                                         | 27        |
| 3.2 Materiales utilizados .....                                                       | 27        |
| 3.2.1 Material biológico.....                                                         | 27        |
| 3.2.2 Material y equipo de laboratorio .....                                          | 28        |
| 3.3 Metodología.....                                                                  | 29        |
| 3.3.1 Pre-tratamiento a las semillas.....                                             | 29        |
| 3.3.2 Desinfección y etiquetado de charolas almacigueras .....                        | 29        |
| 3.3.3 Preparación del sustrato.....                                                   | 29        |
| 3.3.4 Siembra.....                                                                    | 29        |
| 3.3.5. Transplante.....                                                               | 30        |
| 3.3.6. Riego.....                                                                     | 30        |
| 3.3.7. Manejo de la planta .....                                                      | 30        |
| 3.3.8. Condición ambiental de desarrollo de las plantas.....                          | 30        |
| 3.3.9 Preparación de muestras para evaluación de estomas y células<br>.tabloides..... | 31        |
| 3.3.10. Preparación de muestras para evaluación de tejidos histológicos.....          | 31        |
| 3.3.10.1. Fijación.....                                                               | 32        |
| 3.3.10.2. Deshidratación.....                                                         | 32        |
| 3.3.10.3. Infiltración e Inclusión en parafina .....                                  | 33        |
| 3.3.10.4. Cortes en micrótomo.....                                                    | 33        |
| 3.3.10.5. Coloración .....                                                            | 34        |
| 3.3.10.6. Selección de muestras para fotografía .....                                 | 35        |
| 3.3.10.7. Microfotografía .....                                                       | 35        |
| 3.4. Variables a evaluar .....                                                        | 35        |
| 3.4.1. _Morfológicas.....                                                             | 35        |
| 3.4.2. _Anatómicas.....                                                               | 35        |
| 3.4.3. _Histológicas.....                                                             | 36        |
| 3.5. Diseño experimental.....                                                         | 38        |
| <b>4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>                                                  | <b>39</b> |
| 4.1. Porcentaje de emergencia.....                                                    | 39        |
| 4.2. Longitud de coleóptilo.....                                                      | 41        |
| 4.3. Longitud de raíz y diámetro de la corona.....                                    | 43        |

|                                                            |           |
|------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.4. Longitud y numero de hojas.....                       | 44        |
| 4.5. Densidad Estomatica.....                              | 47        |
| 4.6. Densidad de células tabloides.....                    | 49        |
| 4.7. Índice estomatico Adaxial.....                        | 51        |
| 4.8. Características anatómicas de la epidermis.....       | 55        |
| 4.9. Características anatómicas del mesofilo.....          | 59        |
| 4.10. Características anatómicas del sistema vascular..... | 63        |
| <b>5 CONCLUSIONES.....</b>                                 | <b>68</b> |
| <b>6 LITERATURA CITADA .....</b>                           | <b>69</b> |

## INDICE DE CUADROS

| Cuadro |                                                                                                                                                                      | Pág. |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1      | Cronograma de actividades realizadas en el año 2007                                                                                                                  | 37   |
| 2      | Cronograma de actividades realizadas en el año 2008                                                                                                                  | 38   |
| 3      | Porcentaje y numero de emergencias de semillas de sotol a los 22 días después de la siembra.                                                                         | 39   |
| 4      | Promedios de longitud de coleóptilo de 100 plántulas de sotol a los 22 días después de la siembra                                                                    | 42   |
| 5      | Promedios de longitud de raíz y diámetro de la corona en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel.                                                        | 43   |
| 6      | Numero y longitud de hojas de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel. en 98 días de evaluación.                                                                          | 45   |
| 7      | Comparación de medias para la densidad estomatica adaxial y abaxial en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel. +- error estándar.                       | 47   |
| 8      | Comparación de medias para la densidad de células tabloides adaxial y abaxial en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel +- error estándar.              | 50   |
| 9      | Comparación de medias del índice estomatico adaxial y abaxial en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel +- error estándar.                              | 52   |
| 10     | Área promedio de células tabloides y ancho promedio de la epidermis en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel. en la superficie adaxial y abaxial.      | 56   |
| 11     | Distancia interestomatica en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel en la superficie adaxial y abaxial                                                  | 58   |
| 12     | Longitud y ancho del mesofilo, numero de estratos de parénquima abaxial, adaxial y en el centro del mesofilo en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel. | 59   |
| 13     | Área promedio del parénquima abaxial, adaxial y central en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel.                                                      | 61   |



|           |                                                                                                                              |           |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>14</b> | Numero promedio de haces vasculares por superficie foliar en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel.            | <b>63</b> |
| <b>15</b> | Área promedio del haz vascular en la superficie abaxial en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel.              | <b>65</b> |
| <b>16</b> | Área promedio del haz vascular en la superficie adaxial en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel.              | <b>65</b> |
| <b>17</b> | Área promedio del has vascular en la superficie central del mesofilo en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel. | <b>65</b> |

## INDICE DE FIGURAS

| Figura    |                                                                                                                                                         | Pág.      |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>  | Imagen de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> Trel.                                                                                                           | <b>9</b>  |
| <b>2</b>  | Porcentaje y numero de emergencia de semillas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> 22 días después de la siembra.                                           | <b>40</b> |
| <b>3</b>  | Promedios de longitud de coleóptilo de 100 plántulas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> 22 días después de la siembra.                                    | <b>42</b> |
| <b>4</b>  | Promedios de longitud de raíz de cuatro edades de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> Trel.                                                                   | <b>43</b> |
| <b>5</b>  | Promedios de diámetro de la corona de cuatro edades de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> Trel.                                                              | <b>44</b> |
| <b>6</b>  | Longitud de hojas en plántulas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> en 98 días de evaluación.                                                               | <b>46</b> |
| <b>7</b>  | Numero de hojas en plántulas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> Trel. en 98 días de evaluación.                                                           | <b>46</b> |
| <b>8</b>  | Comparación de medias para la densidad estomatica adaxial y abaxial en cuatro edades de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> Trel +- error estándar.           | <b>49</b> |
| <b>9</b>  | Comparación de medias para la densidad de células tabloides adaxial y abaxial en cuatro edades de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> Trel +- error estándar. | <b>51</b> |
| <b>10</b> | Comparación de medias del índice estomatico adaxial y abaxial en cuatro edades de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> Trel +- error estándar.                 | <b>53</b> |
| <b>11</b> | Área promedio de células tabloides adaxial y abaxial en cuatro edades de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> Trel.                                            | <b>56</b> |
| <b>12</b> | Ancho promedio de la epidermis adaxial y abaxial en cuatro edades de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> Trel.                                                | <b>57</b> |
| <b>13</b> | Distancia interestomatica adaxial y abaxial en cuatro edades de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> Trel                                                      | <b>58</b> |

|           |                                                                                                                                    |           |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>14</b> | Longitud y ancho del mesofilo de hoja de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> .                                                           | <b>59</b> |
| <b>15</b> | Área promedio del parénquima de hoja de cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel.                                       | <b>62</b> |
| <b>16</b> | Mesofilo de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel. de 7 años a 40 X                                                                   | <b>66</b> |
| <b>17</b> | Área promedio del haz vascular en la superficie abaxial, adaxial y central en cuatro edades de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel. | <b>67</b> |

## RESUMEN

El *Dasyilirion cedrosanum* Trel. actualmente es considerada una especie de prioridad nacional y basa su explotación en la recolección silvestre y es necesario su aprovechamiento sustentable para aminorar la presión sobre los ecosistemas naturales. La presente se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro con el objetivo de documentar la información descriptiva básica para la caracterización morfológica, anatómica e histológica del sotol. Para la caracterización morfológica se utilizaron 200 semillas que se germinaron y evaluaron en diferentes etapas hasta una edad de 0.6 años, se evaluó el porcentaje de emergencia durante 22 días con un promedio de 54%, la longitud de coleoptilo por un periodo de 22 días después de la siembra, se evaluaron 100 plántulas, se obtuvo una media alcanzada de 6.84 cm, lo que indicó que el coleoptilo es una estructura de reserva con lo que cuenta la planta para asegurar su sobrevivencia. Para la evaluación de la variable raíz y diámetro de la corona se sacrificaron y midieron 4 plantas en cada una de las cuatro edades y de estas se obtuvo una raíz de 25.97 cm máxima y diámetro de la corona de 3.17 cm y longitud y número de hojas por un lapso de 98 días, con un promedio de 5.33 hojas y una longitud alcanzada de 10.38 cm. Para la caracterización anatómica e histológica se evaluaron plantas de 0.6 años, 2.5 años, 5 años y 7 años en cinco plantas al azar. Se tomaron dos hojas de la parte central y de donde se obtuvo una impresión foliar de cada una de las hojas en la superficie abaxial y adaxial, se hizo el conteo de células tabloides y estomas para obtener la densidad estomática, densidad de células tabloides e índice estomático. Se encontró una densidad estomática baja de 55.01 estomas/mm<sup>2</sup> en la superficie adaxial y 51.70 estomas/mm<sup>2</sup> en la superficie abaxial y un índice estomático bajo de 20.47 estomas por cada cien células tabloides, por un 18.72 estomas por cada cien células tabloides en la superficie adaxial, una baja densidad estomática se ha correlacionado con tolerancia a la sequía, por lo que el bajo índice estomático del sotol, refleja la adaptación de la especie a las características propias del hábitat donde se desarrolla. Para la densidad de células tabloides se encontró en la superficie adaxial 246.45 células tabloides/mm<sup>2</sup> por 225.34 células tabloides/mm<sup>2</sup> en la superficie abaxial, donde se observa una relación directa con la densidad

estomatica. Para la caracterización histológica se tomaron dos hojas y se hizo un corte de la parte central, se encontró que la epidermis es uniestratificada, presenta células tabloides alargadas rectas en la vista frontal muy unidas a las células adyacentes del estoma en ambas superficies foliares, con presencia de estomas en ambas superficies, lo que indica que la lamina foliar es del tipo anfiestomatico y una distribución de estomas en hileras, el complejo estomatico conformado por cuatro células epidérmicas es del tipo tetracístico y cámara subestomática muy amplia que interrumpe el parénquima en empalizada, este tipo de complejo estomatico representa un nivel más alto de desarrollo y avance evolutivo, la anatomía del mesofilo es equilateral o equibilateral. La distribución de los haces vasculares se muestran con mayor numero promedio en la parte adaxial, concentrada en su mayor parte de xilema y en la superficie abaxial con mayor presencia de esclerénquima. Las características morfológicas, anatómicas e histológicas están fuertemente relacionadas con las condiciones ambientales del hábitat natural donde se desarrolla el sotol. Todas las variables estudiadas se relacionan con eficiencia hídrica y energética, mostrando el nivel evolutivo adaptativo de la planta.

**Palabras clave:** *Dasyllirion cedrosanum*, morfología, densidad estomatica, índice estomatico, células tabloides, haz vascular, mesofilo, parénquima, esclerénquima.

## 1. INTRODUCCIÓN

El Sotol (*Dasylirion cedrosanum* Trel.) perteneciente a la familia Nolinaceae, es una especie silvestre nativa de México (Cronquist, 1981), se le encuentra en regiones de clima árido y semiárido en el tipo de vegetación Matorral Xerófilo, que ocupa el 40 % de la superficie del país y por consiguiente es el mas vasto de todos los tipos de vegetación de México (Rzedowski, 1998 tomado de Arce *et. al.*, 2004a).

En México, las zonas áridas y semiáridas, cuyas condiciones climáticas y ecológicas permiten el crecimiento especies vegetales como el *Dasylirion cedrosanum* Trel., especie de mucha importancia para la población del norte de México por ser una fuente de ingresos; ya que es la materia prima para la elaboración de una bebida alcohólica regional obtenida por destilación, denominada “sotol”, que en los últimos años; debido al aumento en la demanda de bebidas tradicionales como el tequila y el mezcal, ha surgido el interés de producir a escala industrial el tradicional sotol, el cual ha incrementado su demanda en los estados de Chihuahua, Durango y Coahuila; sin embargo, esta actividad ha ocasionado en los últimos años una gran disminución de las áreas naturales de sotol (específicamente en los estados de Chihuahua y Durango), esto por la falta de un paquete tecnológico sustentable para su explotación, lo que ocasiona que su aprovechamiento sea en su hábitat natural y de una manera no controlada, originando como consecuencia la sobre explotación, ya que la extracción de plantas para la destilación por parte de la población rebasa la tasa de reproducción natural de la especie (Palma, 2000 y Vázquez, 2001).

Además, existe un gran desconocimiento técnico sobre el recurso que se pretende aprovechar, por lo cual, es de suma importancia desarrollar trabajos y líneas de investigación tendientes a generar metodologías validadas que permitan generar los criterios apropiados para dictar normas adecuadas para el manejo y aprovechamiento racional y sostenido de las poblaciones naturales del sotol (Cano, *et al.*, 2005); ya que constituye un recurso de creciente importancia económica por la diversidad de productos y usos que de el se derivan.

En la actualidad el sotol es considerado una especie de prioridad nacional, entre otras razones por la protección a la denominación de origen que se le ha otorgado al mezcal que con él se produce en los estados de Durango, Chihuahua y Coahuila (Olhagaray *et al.*, 2004), en esta forma se alterará lo menos posible el ecosistema donde se distribuye la especie, propiciando consecuentemente una producción sostenida del recurso, que garantice el abasto de materia prima a la industria que lo procese (Cano, *et. al.*, 2005).

Por estas razones, aspectos clave para el aprovechamiento sustentable de esta especie, es el desarrollo de investigaciones básicas como la caracterización morfológica, anatómica e histológica, lo que permite conocer la relación estructura-función de las variaciones morfológicas de acuerdo a su adaptación al medio ambiente y contribuir para poder establecer plantaciones a nivel comercial de manera sustentable, que impulsarán la implementación de una alternativa económica para el productor del semidesierto coahuilense, que permita el uso adecuado y la preservación ecológica de las poblaciones de sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel. ).

### **1.1. Objetivo General**

- Generar a partir de plantas de sotol, información descriptiva para la caracterización morfológica, anatómica e histológica de esta especie.

### **1.2. Objetivos Específicos**

- Determinar las características morfológicas del *Dasyllirion cedrosanum* Trel. a partir de la germinación hasta plántulas de 98 días de edad.
- Determinar las características anatómicas de la superficie foliar de *Dasyllirion cedrosanum* Trel. en plantas de 0.6 años, 2.5 años, 5 años y 7 años.
- Determinar las características histológicas del mesofilo y sistema vascular foliar del *Dasyllirion cedrosanum* Trel. en plantas de 0.6 años, 2.5 años, 5 años y 7 años.

### **1.3. Hipótesis**

La utilización de individuos de diferentes edades de *Dasyllirion*, permitirá la caracterización morfológica, anatómica e histológica de esta especie.



## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. Aprovechamiento del genero *Dasyllirion***

El genero *Dasyllirion* se distribuye en el Norte de México y Sur de los Estados Unidos, existen referencias que ha sido utilizado como fuente de alimento o medicina por los pobladores de regiones de estos dos países hace 7000 años (Bell y Castettler, 1941, tomado de Melgoza y Sierra, 2003).

Se han encontrado restos de la planta de sotol en la cueva de la Olla, en el municipio de Madera, estado de Chihuahua, cuya antigüedad data de la fase Buena Fe que va del 1060 al 1205 d.c. En Paquimé se encuentran vestigios de hornos sotoleros que datan del 205 al 1260 d.c., lo que indica que algunas de las tribus que habitaban lo que hoy es el estado de Chihuahua, como son los anasazis, los tarahumaras, los tobosos y los apaches lo utilizaban (IMPI; 2002)., los pobladores nativos utilizaron la parte central del tallo (la más tierna) o piñas para cocinarlas obteniendo un alimento similar al que se obtiene del maguey así como los Mezcaleros y los Chiricahuas. Los Apaches comían los tallos tiernos de las flores, también fue utilizado por los habitantes de las cuevas del Río Grande o Bravo y Río Pecos, estos usaban las hojas para hacer canastas, sombreros y sandalias, se sabe que los Lipanes lo cocinaban en pozos con piedras calientes, a manera de tatema y del centro ya cocido hacían una harina para preparar panecillos o tortas (SEMARNAT, 2001 e IMPI, 2002), los Pápagos y Tarahumaras no solo le daban uso alimenticio, también lo utilizaban ampliamente para la alimentación del ganado, debido a su alto porcentaje de carbohidratos, proteínas y fibras (Castellano y Vergara, 1983) y lo fermentaban para obtener una bebida alcohólica, que actualmente se destila en los estados de Chihuahua, Durango y Coahuila. Todavía en la actualidad se emplea minimamente en la construcción de techos para casas, utilizándose ampliamente para la alimentación del ganado y en la formación de barreras vivas, las cuales son efectivas en el control de la erosión del suelo (García,1979).

## 2.2. Clasificación y Descripción del género *Dasyilirion*

El género *Dasyilirion* ha sido ubicado en diferentes familias botánicas, tales como: Bromeliaceae (Endlicher, 1842, tomado de Melgoza y Sierra, 2003), Dracaeneae (Bentham, 1883 tomado de Melgoza y Sierra, 2003), Liliaceae (Standley, 1920, citado por Melgoza y Sierra, 2003), Amaryllidaceae, Agavaceae (Hutchinson, 1934; Cronquist, 1981, citados por Melgoza y Sierra, 2003) y Nolinaceae (Dahlgren *et al.*, 1985 tomado de Melgoza y Sierra, 2003). Sin embargo, no se había realizado un estudio filogenético para *Dasyilirion* y géneros cercanos, hasta el publicado por Bogler (1994-1995), en este último se analizó filogenéticamente al grupo Liliiflorae, que agrupa siete órdenes, 50 familias y 540 géneros; finalmente se ubicó al género *Dasyilirion* en la familia Nolinaceae, donde aparece más cercano al género *Nolina* y alejado del taxón *Yucca* y *Agave* (Melgoza y Sierra, 2003).

### 2.2.1. Clasificación Taxonómica

|                             |                      |
|-----------------------------|----------------------|
| <b><i>Reino</i></b>         | Plantae              |
| <b><i>Superdivisión</i></b> | Spermatophyta        |
| <b><i>División</i></b>      | Anthophyta           |
| <b><i>Clase</i></b>         | Liliopsida           |
| <b><i>Sub-clase</i></b>     | Liliidae             |
| <b><i>Orden</i></b>         | Liliales             |
| <b><i>Serie</i></b>         | Choripetalae         |
| <b><i>Familia</i></b>       | Nolinaceae           |
| <b><i>Genero</i></b>        | Dasyilirion          |
| <b><i>Especie</i></b>       | Cedrosanum Trelease. |

### 2.2.2. Descripción Botánica

El Genero *Dasyllirion* al que pertenece el “sotol” cuya palabra proviene del Náhuatl TZOTOLLIN (IMPI, 2002), que significa lirio grueso y succulento; es una planta dioica, perteneciente a la familia Nolinaceae. El nombre fue usado en botánica primeramente por Zuccarini, (1838), tomado de Ornelas (2004), en una publicación alemana. Casi todos los sotoles conocidos en Europa, inmediatamente después de su primera descripción, provenían de una colección hecha en Real del Monte, estado de Hidalgo por Reppert (Trelease, 1911 citado por Órnelas, 2004).

El sotol es una planta perenne; caulescente; tronco de 1 a 1.5 m. de altura; hojas de 20 mm de ancho, ascendentes de hasta 1 m. de largo, ligeramente lanceolada, arrosetadas, adelgazadas hacia el apice y ensanchadas en la base, de color verde o glaucas, ligeramente quillado, rugosas, opacas; con espinas pequeñas y encorvadas en los bordes, generalmente separadas entre una y otra de 10 a 15 mm y de 2 a 5 mm de largo, amarillas, haciéndose rojas hacia arriba y con una púa terminal ligeramente pincelada, glaucas y quilla ligeramente aspera, que los asemeja a los agaves (SEMARNAT, 2001).

Presenta raíz fibrosa, aunque las hay pivotante, son poco profundas y ramificadas (primarias, secundarias y adventicias), de color café o parduzco, grisáceo y blanco amarillento dependiendo de la especie, las cuales surgen del tronco o cabeza, que es gruesa, carnosa y de tamaño regular (Velásquez, 1983).

El tamaño de la inflorescencia esta relacionado con el tamaño de la corona, varía desde un metro en plantas jóvenes hasta cinco o seis metros en la mayoría de las plantas adultas; aparecen en el centro de la corona, como un brote parecido a una lanza con bracteos densamente sobrepuestas. Las bracteos son algunas veces de color morado-verdoso en Coahuila. La floración no ha sido claramente definida, se estima que el ciclo de floración es de seis años. Probablemente esta ocurre como consecuencia a una asociación, una temporada lluviosa o con el acumulamiento de humedad de las estaciones de lluvias recibidas en los años anteriores. La cantidad de plantas que produce flores en un año varía enormemente de un año a otro. En

algunos años casi todas las plantas de sotol florecen, mientras que en otros años, unas cuantas producen flores (USDA, 1965 citado por Dzib, 2003).

Sus flores varían de acuerdo al tipo de planta, ya que existen plantas masculinas (estaminadas) y femeninas (pistiladas). Cuando la inflorescencia es estaminada, la flor se presenta de color amarillo brillante, debido a la dehiscencia del polen, lo cual permite verlas a una gran distancia. En la inflorescencia pistilada, cuando esta la flor completa, es muy estrecha, con las bracteadas de los fascículos sostenidos al tallo. La inflorescencia tiene un dominante color verde o púrpura. Las flores pistiladas presentan el periodo de floración mas corto y pueden ser mas rápidamente polinizadas.

El perianto es de 2 a 2.5 mm de largo; sépalos y pétalos finos, blanquecinos, las flores estaminadas continúan floreciendo por un periodo mas largo, tienen un receptáculo corto con seis petalos separados en dos verticilios, ahí se encuentran seis estambres con filamentos grabosos mas largos que el perianto, de filamento delgados, las flores pistiladas tienen un pedicelo claramente unido (García, 1952; SEMARNAT, 2001).

El ovario es supero tiene tres lóbulos y un lóculo simple. Hay usualmente seis pequeños óvulos, producidos en los lóculos, pero únicamente uno, o raramente dos, desarrollan semillas maduras. Las flores crecen en fascículos contractados de racimos parecidos a dedos formados en series a lo largo del eje de la inflorescencia. El fruto es pequeño estrechamente elíptico, de 4-5 por 7-9 mm, capsular, alado, con una semilla encerrada en la parte central y rara vez con mas semillas de 2 por 3.5 mm (García, 1952; SEMARNAT, 2001).

Las semillas son trígonoas, con tres lados, de color café-oro con una superficie mas o menos plana y rugosa (USDA, 1965 citado por Dzib, 2003), de testa dura y una cubierta impermeable que reduce su capacidad de imbibición la cual hace que presente dificultad para su germinación siendo tan solo del 8% (Nokes, 1986 tomado de Calderón, 2004), el sotol presenta dificultades en su germinación en forma natural y que requiere al menos entre tres a cuatro semanas, además en fase de plántula

frecuentemente es consumida por animales domésticos como cabras, caballos, vacas y animales silvestres como conejos, liebres, roedores y lagomorfos (Palma, 2000), de tal manera que la propagación y establecimiento presenta serias dificultades (SEMARNAT, 2001citado por Dzib, 2001).

En México existe una gran variedad de especies de *Dasyilirion*, de acuerdo a Trelease (1911), Bonson, Dorrow y Jhonstan (1944) y Velásquez (1983) citados por Palma (2000), en México se han identificado alrededor de 15-16 especies de sotol repartidas principalmente en terrenos pedregosos, cerriles, calizos y rocosos, con precipitaciones mínimas de 250 mm anuales y una máxima de 700 mm con inviernos secos y veranos suaves, de las cuales la mas importante es la especie *cedrosanum* por su diversidad de usos.

### **2.2.3. Descripción del *Dasyilirion cedrosanum* Trel.**

Sotol cenizo, con hojas, verde palido, glaucas, de 1.5-2.1 cm de ancho por 75-120 cm de largo, con las puntas ligeramente apinzeladas, glaucas, con la quilla ligeramente áspera, espinas gruesas mas de 90% curvadas hacia la base, distantes entre si de 10 a 15 mm y de 2 a 5 mm de largo, amarillas, rojizas hacia la punta; inflorescencia de 5 metros de altura; fascículos estaminados con 5-7 ramas sobre un eje central de 1.7-3 cm, ramas de 3-6 cm de largo; fascículos pistilados con 6-8 ramas sobre el eje central de 1-2 cm, 7-8 cm de largo; frutos elípticos de 4 a 5 mm por 7 a 9 mm, muesca de 1-1.5 mm; estilo y estigma comúnmente persistentes incluidos en la muesca; semillas de 2.6 mm de ancho por 3 mm de largo. Esta confinado al desierto chihuahuense, Durango, Coahuila y norte de Zacatecas. En Zacatecas es común en la región cedros y falda de los cerros; en Coahuila en la boca del cerro de la cruz a 20 Km. al sur de Ocampo; en el Aguaje del pajarito en el extremo occidental de la sierra de La Fragua; al norte del puerto colorado en la región de Monclova, en Castaños, Cuatrociénegas; en el puerto de San Lorenzo y en el rancho de la luz en la sierra de la Paila; la Angostura y en el cañón de San Lorenzo en Saltillo, en Parras de la Fuente, Ramos Arizpe y en el estado de Durango

(Bogler,1994; Villarreal, 2001, tomados de López, 2005; Johnston,1943; Melgoza y Sierra 2003).



Figura 1 Imagen de *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

### **2.3. Reproducción del sotol**

El sotol puede reproducirse en forma sexual y asexual:

**2.3.1. Reproducción sexual:** El sotol es una planta dioica, su reproducción es mediante polinización cruzada (alogama) principalmente por el viento. El método natural es por semilla, al hacer explosión las capsulas y espaciar las semillas alrededor de la planta, la producción de semillas en la planta no es la misma año con año y el porcentaje de germinación es muy bajo, ya que logran germinar un promedio de 10 plantas pequeñas por cada planta madre; y requieren un promedio de 12 a 15 años para tener el tamaño ideal para ser aprovechadas (Ortega y Villavicencio, s.f. citado por Calderón, 2004).

**2.3.2. Reproducción asexual:** En este método la reproducción es a partir de alguna parte vegetativa de la planta como yemas axilares, hojas, tallos, raíz.

## **2.4. Distribución geográfica, condiciones climáticas y edafológicas**

La zona de producción natural del sotol tiene una amplia distribución, comprende una ancha faja que abarca en términos generales la parte sur-occidental de los Estados Unidos (Texas, Nuevo México y Arizona) y en las zonas áridas de México, ubicada en la provincia fisiográfica denominada Meseta Central, zona fisiográfica donde se ubica la ecorregión Desierto Chihuahuense (Rivera, 1987), en altitudes de los 1,000 a 2,000 m.s.n.m., entre la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre Oriental, se distribuye en amplias extensiones de esta última. El altiplano Mexicano es compartido en su mayor parte por los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, y en menor proporción por Nuevo León, Zacatecas, San Luís Potosí, Oaxaca estados que cuentan con características fitogeográficas comunes (Zarate, 2003, citado por Arce *et. al.*, 2004b), además una porción mas pequeña de especies que prosperan en Queretaro, Hidalgo, Veracruz, y Puebla, estando todas estas áreas en regiones semidesérticas, en laderas montañosas y valles altos. Además, se encuentran estas especies en algunas regiones aisladas de otros estados de la republica (García, 1979 y Órnelas, 2004). Específicamente se desarrolla en un área de sierras sedimentarias marinas de calizas del cenozoico y del mesozoico, que se elevan en los extensos valles aluviales, con cuencas hidrológicas cerradas en su mayor parte, compartida por las tres entidades federativas de mayor presencia de poblaciones de sotol (IMPI, 2002), en suelos donde predominan los litosoles, regosoles, xerosoles, castañozem y rendzinas de textura media, ricos en carbonatos de calcio; en cuanto a los factores climáticos, la Meseta Central tiene un bajo contenido de humedad, de los tipos seco desértico (BW) y estepario (BS), el primero en los extensos valles y bolsones, y el segundo, menos seco, con prolongadas sequías, apto para el desarrollo de las plantas xerófilas, el clima es extremoso, con mucho calor en verano y heladas severas en invierno y cuenta con grandes periodos de luz solar que demanda esta especie (IMPI, 2002).

## 2.5 Descripción y desarrollo del sotol en el estado de Coahuila

El estado de Coahuila esta situado, en su mayor parte, en el oriente de una gran área climática denominada como Desierto Chihuahuense. Se caracteriza por poseer climas continentales, secos y muy secos, que van desde los semicálidos, los predominantes en los bolsones coahuilenses, hasta los templados de las partes mas altas y las mas septentrionales. Tres son las áreas en las que se puede dividir el estado de Coahuila por sus tipos de climas: el occidente muy seco; el centro y sur, en los que se asocian climas desde los muy secos y secos semicálidos de sus bolsones y valles, hasta los semisecos templados y los templados sub-húmedos de las cumbres serranas, con predominancia de climas secos y por último el noreste semiseco y seco con influencia marítima mas notoria (Órnelas, 2004), con una temperatura media anual de 20 a 22 °C., el rango altitudinal donde se localiza el sotol, se ubica entre los 1000 y 2000 m.s.n.m. y una precipitación anual de 300 a 400 mm, en el tipo de vegetación denominado matorral desértico rosetofilo (Rivera, 1987).

Dentro de las especies de sotol identificadas en Coahuila, algunos investigadores establecen solo 3 o 4, pero otros reportan hasta seis o siete especies. De cualquier manera, únicamente dos tienen características y propiedades para ser utilizados en la industria del alcohol: la especie *Dasyilirion cedrosanum* que es la más común en el estado, sobre todo en el centro y sur. También se le puede encontrar en la región de la laguna, donde crece *Dasyilirion duranguense*; de características similares para ser utilizada en la producción de bebidas alcohólicas (López, 2005).

De acuerdo a Bogler (1994) y Villarreal (2001) citados por López (2005), en Coahuila, otras especies que existen en el estado no tienen características adecuadas para la industria del alcohol, pues tanto la planta como la piña son más chicas, varias de ellas se desarrollan en zonas muy reducidas o muy específicas, lo que las pondría en riesgo de desaparecer si tuvieran un aprovechamiento intensivo como lo requiere una producción de licor de sotol.



Los sitios mas productivos de sotol que se han detectado en Coahuila se localizan en las sierras de la paila, alamitos, serranías del burro y sierras de los municipios de Ocampo y sierra Mojada. Además, existe una extensión bastante considerable de sotol que comprende la zona de los charcos de Figueroa (Municipio de Ocampo), que se extiende hacia el este y el sur hasta la sierra hermosa de Santa Rosa y el Puerto de Aura. De la hacienda de Carrizalejo, situada al norte de el Berrendo, Coahuila, se extiende otra zona de sotol, especie distinta que continúa hasta la Presita, al oeste del puerto del Aire. A 25 kilómetros al oriente de Castaños, Coahuila, costeando con la sierra Madre Oriental, se extiende una gran área de sotol que ocupa extensos lomeríos. En algunas de estas regiones se le ha explotado en “vinatas” y es probable que se trate de *Dasyllirion cedrosanum* (Trelease, 1911 citado por Órnelas, 2004).

## **2.6 Importancia económica del sotol**

### **2.6.1. Como alimento**

La parte central del tallo y mas tierna del bulbo lo usaron los nativos de Arizona como alimento, los apaches comían los tallos tiernos de las flores, fue usado por los habitantes de las cuevas de los ríos Bravo y Pecos, quienes hacían harina o la cocinaban, se sabe que los lipanes lo cocinaban en pozos con piedras calientes, a manera de tatema, del centro ya cocido hacían una harina para preparar panecillos o tortas, los Mezcaleros y los Chiricahuas, utilizaban el sotol en la misma forma que la planta del maguey comiendo las partes más tiernas. Los Apaches comían los tallos tiernos de las flores como una legumbre (IMPI, 2002).

### **2.6.2. Producción de fibra**

Las hojas de varias especies del género *Dasyllirion*, debido a las características que presentan sus fibras, se emplean para hacer petates, sombreros, canastas, escobas, sandalias, sopladeros de fuego y muchos otros objetos. Se ha encontrado también que la fibra de algunas especies de sotol presentan características para elaboración de papel (Molina, 1983, tomado de Palma, 2000).

### **2.6.3. Como forraje**

Las cabezas de varias especies de *Dasyllirion*, que incluyen las porciones centrales de las plantas, junto con las bases de las hojas, sirven de un buen alimento para el ganado en la época de sequía, aunque no muy rico en proteínas, su contenido en azúcares es suficiente para mantener el ganado vacuno (inclusive lechero) en buenas condiciones en periodos prolongados (García, 1979, citado por Palma, 2000), ya que el sotol tiene 77.7 del valor nutritivo que contiene la alfalfa (Rivera, 1987, citado por Palma, 2000). El bagazo del sotol ya procesado, generalmente se emplea como alimento de vacas y cabras (Velásquez, 1983, citado por Palma, 2000).

### **2.6.4. Ornamental**

Las porciones basales de las hojas de diversas especies de sotol, que por su forma peculiar reciben el nombre de “cucharitas”, se emplea para decorar interiores y exteriores en ranchos y pueblos, particularmente con motivo de fiestas religiosas. En algunos estados del norte de México se emplean plantas completas para decorar jardines de plazas, parques, casas, supermercados, etc., (Palma, 2000).

### **2.6.5. Otros usos**

Se emplea minimamente en la construcción de techos para casas (García, 1979), y en la formación de barreras vivas, las cuales son efectivas en el control de la erosión (Madrigal, 1988 citado por Dzib, 2003).

El aprovechamiento de esta especie permitiría ofrecer una opción más de desarrollo económico a los habitantes de la región norte y sur del estado con la creación de empresas dedicadas a su producción.

## **2.7. Aprovechamiento del sotol como bebida alcohólica**

Tradicionalmente en los estados de Chihuahua, Durango y Coahuila, estados dentro de la denominación de origen, se utiliza el *Dasyllirion* para fabricar un destilado conocido con el mismo nombre (Norma Oficial Mexicana, 2004).

El proceso de fermentación del Sotol se lleva varios días y debe destilarse gota por gota, a fin de producir la suavidad y sabor característico de este producto, que lo distingue como bebida de calidad, proceso en el que primero se jimen las hojas de la cabeza y se llevan a la cocción las piñas maduras obtenidas por 48 horas en hornos de cerámica blanca, posteriormente se pica la piña, mientras que prensas escurren el jugo, el cual se pone a fermentar por 72 horas en levadura de champaña en un alambique de doble columna —lo que implica doble destilación, que sirve para separar los azúcares de los alcoholes, logrando una mayor pureza— de donde se extrae el jugo del corazón del sotol ([www.forosmexico.com](http://www.forosmexico.com)). Así se elabora el sotol blanco: cuya graduación alcohólica comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución. (Norma Oficial Mexicana, 2004).

Este licor presenta características propias de acuerdo a la variedad de *Dasyllirion* (utilizándose con mayor frecuencia la especie *cedrosanum*), lo que permite su identificación y distinción con otras bebidas nacionales y extranjeras, además de que el sotol es un producto que no se elabora de manera masiva, sino que se elabora de manera artesanal ([www.forosmexico.com](http://www.forosmexico.com)).

(Ortega y Villavicencio s.f. citado por Dzib, 2003), mencionan que se extrae un promedio de 20 piñas o cabezas diarias de sotol, lo que significa una producción mensual de 600 piñas que es generalmente la capacidad de una vinata normal. Para producir un litro de vino se requiere dos piñas que, en promedio, cada una pesa aproximadamente 15 kg. requiriéndose de 12 a 15 días para la elaboración de la bebida alcohólica, generalmente se cuecen 300 cabezas aproximadamente, lográndose una producción de 150 litros por “quemada”, misma que se lleva a cabo cada 15 días, con lo cual se tiene una producción mensual de más o menos 3000 litros de sotol.

## **2.8. Regulación de la bebida alcohólica “Sotol”**

La tradición sotolera en el estado de Chihuahua se remonta a mas de 1000 años, al igual que el aprovechamiento de la planta del sotol, también es producida en el estado de Durango y Coahuila, ya que el genero *Dasyllirion* se reproduce de manera silvestre en todos los municipios de estas entidades federativas. Estas regiones comparten una provincia fisiográfica y condiciones fitogeográficas, así como una historia común, ya que en la época prehispánica, la meseta central estuvo habitada por gran cantidad de tribus (IMPI, 2002).

Durante la época colonial, los estados de Chihuahua, Durango y gran parte de Coahuila, formaron parte del reino de Vizcaya, por lo que fueron los mismos grupos de conquistadores y misioneros franciscanos que a partir de la segunda mitad del siglo XVI, XVII Y XVIII enseñaron a los indígenas los procesos de destilación en la elaboración de sotol, ya que con anterioridad el uso de sotol era con fines alimenticios, religiosos, medicinales o para elaborar cestería (IMPI, 2002).

La producción de sotol en el estado de Coahuila data del siglo XIX, cuando en la ciudad de Parras de la Fuente en 1908 se construye una vinata dedicándose por mas de 40 años a la producción y venta de sotol. Posteriormente se forman más empresas dedicadas a esta actividad en los años 1940, 1960 y 1982 (IMPI, 2002).

El 11 de enero del 2001 por escrito, se solicito formalmente al Instituto Mexicano de la propiedad Industrial, la declaración de Protección de la Designación Sotol como denominación de origen, por el gobierno de Chihuahua, documento que el instituto publicó en el diario oficial de la federación el día 29 de noviembre de 2001. Para el 14 de enero de 2002 se solicita al instituto que sea incluido al estado de Coahuila en la solicitud de declaratoria previamente presentada por el estado de Chihuahua. Posteriormente, por escrito presentado el 23 de enero de 2002, el instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, se solicito formalmente por el gobierno del estado de Durango, la adhesión a la solicitud por el gobierno de Chihuahua.

Los solicitantes fundamentaron su interés jurídico en ser las tres dependencias de los gobiernos estatales en procurar el mejoramiento de las industrias productoras de *Dasyllirion* y la destilación de la bebida alcohólica “sotol”, así como el fomento y el aprovechamiento integral de los recursos naturales y el impulso a las actividades económicas tradicionales, por lo que con fundamentos en los artículos 6 fracción III, 157,158,163, 164,165,166, Y 167 de la Ley de la Propiedad industrial, el Instituto Mexicano de la Protección Industrial (IMPI), procede a la publicación de Declaración de Protección de la Denominación de Origen “Sotol”, publicada en el Diario Oficial de la Federación el día 8 de agosto de 2002 (en lo sucesivo referida como la Declaración) y con la fracción XV del artículo 40 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, pero para realizar el aprovechamiento sustentable del sotol se establece la Norma Oficial Mexicana NOM-00-RECNAT-2002 que tiene por objeto establecer los procedimientos, criterios y especificaciones técnicas y administrativas, sustentada en la Ley Forestal publicada en el Diario Oficial de la Federación el 20 de mayo de 1997 y su reglamento publicado en el Diario Oficial de la Federación el 9 de septiembre de 1998 (IMPI, 2002). También se puede extraer el azúcar inulina que es valiosa en la industria farmacéutica (Ibave *et al.*, 2001 tomado de Melgoza y Sierra, 2003), por lo que el género *Dasyllirion* lo ubican como una prioridad de investigación nacional de acuerdo a la SEP-CONACYT, 2001 (Melgoza y Sierra, 2003).

## **2.9 Caracterización anatómica e histológica**

### **2.9.1 Hoja**

Las hojas son los órganos vegetativos laterales de la planta que brotan en los nudos del tallo y ramas de manera exogena, con crecimiento limitado, en las que se elaboran los alimentos que nutren a toda la planta. Están adaptadas para realizar funciones vitales como son fotosíntesis, respiración y transpiración (Fahn, 1974; González *et. al.* 2007), secundariamente las hojas pueden modificarse para almacenar agua o para otros propósitos ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).

La anatomía de la hoja es variable y depende tanto del grupo taxonómico, como de las modificaciones que pueda presentar en su tendencia de adaptación al medio (González *et. al.* 2007). Histológicamente la hoja esta compuesta de tres tipos de sistemas de tejidos:

El tejido epidérmico que cubre las superficies externas de las plantas, superior e inferior (adaxial y abaxial), está compuesto por células epidérmicas fuertemente unidas que secretan una capa formada por cutina y cera llamada cutícula que impide la pérdida de agua y varia en cuanto a numero de capas, forma, estructura, disposición de los estomas, tipos y distribución de tricomas y existencia de células especializadas (Fahn, 1974).

El Mesofilo es el tejido situado entre la epidermis adaxial y la abaxial, comprende la parte principal del cuerpo de la planta. Las células parenquimáticas (las más abundantes), colenquimáticas y esclerenquimáticas que constituyen los tejidos fundamentales ([www.gened.emc.maricopa.edu](http://www.gened.emc.maricopa.edu)).

El tejido vascular está compuesto por dos tejidos conductores: el xilema y el floema, transportan nutrientes, agua, hormonas y minerales dentro de la planta. El tejido vascular es complejo, incluye células del xilema, floema, parénquima, esclerénquima y se origina a partir del cambium ([www.gened.emc.maricopa.edu](http://www.gened.emc.maricopa.edu)).

Prácticamente todas las plantas tienen nervaduras para el soporte y la conducción y un tejido clorenquimático que contienen a los cloroplastos. Las nervaduras varían si observamos una hoja de monocotiledónea a una de dicotiledónea, una hoja típica dicotiledónea se compone de dos partes principales la lamina, que es extensa y delgada sostenida por una red diferente de nervaduras y el pecíolo una estructura fina, mientras que en monocotiledóneas las nervaduras van en un solo sentido sin formar red ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).

## **2.9.2 Tejido epidérmico**

### **2.9.2.1 Epidermis**

La epidermis es la capa de células más externa del cuerpo primario de la planta (Esau, 1976; Cronquist, 1984), consta de células que embonan fuertemente entre sí de color transparente, casi o prácticamente sin espacios intercelulares, excepto por un tipo de espacio intercelular denominado estoma (Cronquist, 1984).

En la mayoría de las espermatofitas la epidermis solo consta de una sola capa de células, pero en algunos vegetales por debajo de la capa mas superficial puede haber una o varias capas de células que anatómica y fisiológicamente son diferentes del tejido fundamental interno. En el primer caso a estas capas subepidérmicas se les llama hipodermis, y en el segundo caso el tejido formado se considera como un todo unido a la capa mas superficial, y al conjunto de todas las capas desde la mas superficial hasta la mas profunda se le denomina epidermis pluriestratificada (Fahn, 1974).

Las células epidérmicas típicas varían ampliamente, se describen comúnmente como células de forma tabular debido a su pequeña extensión en profundidad, vistas de frente, las células epidérmicas pueden ser casi isodiamétricas o bien alargadas. Las alargadas se encuentran a menudo sobre estructuras también alargadas, tales como tallos, peciolo, venas foliares y hojas como las de la mayoría de las monocotiledóneas (Esau, 1976).

Las membranas de la epidermis suelen ser delgadas en las plantas que requieren un hábitat moderadamente húmedo (plantas mesomórficas), y en las plantas acuáticas (plantas hidromórficas). En las plantas xeromórficas, es decir en las plantas adaptadas a climas áridos que pueden soportar ambientes secos, la cutícula puede ser tan espesa (membranas gruesas y lignificadas) que le da a las hojas una consistencia coriácea ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).

Vistas en su superficie, las células epidérmicas de las dicotiledóneas tienen contorno ondulado. En estas plantas estas células son largas como anchas pero en gramíneas y otras monocotiledóneas que tienen hojas largas y angostas, son alargadas en dirección del eje longitudinal de la hoja y de contorno regular. En sección transversal de la hoja se ve que la profundidad de las células es menor que su anchura o longitud (González *et. al.* 2007).

La epidermis está en contacto directo con el medio ambiente y debido a ello, esta sujeta a una serie de modificaciones estructurales causadas por diversos factores ambientales. La epidermis foliar comprende dos superficies (adaxial y abaxial) y se compone de varios tipos de células: células epidérmicas; células oclusivas de los estomas, que generalmente están acompañadas de células adjuntas; diversos tricomas, células cilicificadas y suberosas como en las gramíneas y células en forma de burbujas como en varias monocotiledóneas ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).

#### **2.9.2.2. Superficie Adaxial (Haz)**

En botánica se llama **haz** a la cara superior o cara adaxial del limbo de la hoja de una planta. Se diferencia del envés en que no posee estomas, tiene una cutícula algo más gruesa y posee menor abundancia de tricoma. Su color suele ser más oscuro que el del envés (como máximo pueden llegar a ser del mismo color), ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).



### 2.9.2.3. Superficie Abaxial (Envés)

En botánica se llama **envés** a la cara inferior de la lámina o limbo de la hoja de una planta. La epidermis del envés suele ser diferente de la del haz (la cara superior); casi siempre presenta una cutícula más fina, mayor densidad de estomas y, frecuentemente también, mayor abundancia de tricoma (pelos epidérmicos). Casi siempre es de color más claro que el haz ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).

### 2.9.2.4. Estomas

Los estomas son estructuras epidérmicas característicos de las hojas; que se encargan de controlar la transpiración en plantas y se presentan en una o ambas caras de la hoja, pero principalmente son más abundantes en la cara inferior (abaxial) de la hoja, constituyen una modificación del tejido epidérmico, se presentan como poro o abertura llamado ostiolo rodeadas por dos células oclusivas o células guarda que se abren cuando éstas aumentan o disminuyen por el movimiento del agua, que sigue al movimiento de iones potasio hacia adentro o hacia afuera de las células oclusivas, procedente de las células epidérmicas anexas, estas células mediante cambios de turgencia controlan el tamaño del poro u ostiolo regulando de forma activa el intercambio gaseoso, incluyendo al vapor de agua, hacia el interior y exterior de la hoja de la planta (Bidwell, 2002 ), este poro conduce al interior de un amplio espacio intercelular llamado cámara subestomatica que continua con los espacios intercelulares del mesofilo (Esau, 1976). En muchas especies las células oclusivas están rodeadas por dos o mas células adyacentes que parecen estar asociadas funcionalmente a ellas y se distinguen por su morfología de las otras células epidérmicas denominadas acompañantes, anexas o adjuntas.

En monocotiledóneas lo más común es que las células anexas sean dos, intensamente asociadas a las oclusivas, las cuales solo se dilatan en los polos, pues en el resto del perímetro celular la pared lo impide, de manera que no son reniformes sino alargadas y definen un ostiolo con forma más bien cuadrangular ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)). Las monocotiledóneas tienen mas o menos la misma cantidad

de estomas en el haz y en el envés, donde las células son alargadas en forma de auricular de teléfono ( Lira, 1994).

Por otro lado, la cantidad de estomas presentes en la superficie adaxial (haz) en comparación con la abaxial (envés) es característica distintiva de diferentes especies. Las plantas con mayor número de estomas en la superficie adaxial se conocen como epiestomáticas, las que tienen mayor número de estomas en la superficie abaxial son conocidas como hipoestomáticas y por último, si se presentan en ambas superficies, adaxial y abaxial, son anfiestomáticas (Flores-Vindas, 1999).

### **2.9.3 Mesofilo**

El mesofilo es el tejido de la lámina foliar, colocado entre ambas epidermis (abaxial y adaxial). Esta formado por un tipo especial de parénquima adaptado para efectuar con mayor efectividad la fotosíntesis. Entre los principales caracteres del mesofilo, esta la gran cantidad de cloroplastos que presentan sus células, así como constantes espacios intercelulares para una circulación efectiva de gases (Flores-Vindas, 1999).

Está formado por parénquima, un tejido de células vivas de morfología y fisiología variables, pero generalmente con membranas de forma poliédrica, pero también pueden ser estrelladas o muy. Constituye el llamado tejido fundamental, tanto en el aspecto morfológico como en el fisiológico, constituye la sustancia fundamental en la cual se hallan incluidos otros tejidos, especialmente el vascular.

Este tejido es asiento de las actividades esenciales de la planta, como son la fotosíntesis, respiración, secreción, excreción, la cicatrización y regeneración de las heridas, origen de ciertas estructuras adventicias, producción de sustancias nutritivas que permiten la vida de la planta y almacenamiento de agua u otros fluidos (Esau,1976), como las hojas carnosas de crasuláceas ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)). En la mayoría de las dicotiledóneas se presenta en el mesófilo dos tipos de parénquima: el de empalizada con un grosor de una o dos células en ordenación compacta y el esponjoso con grandes espacios aéreos que lo atraviesan en todas direcciones y en monocotiledóneas generalmente solo se presenta el esponjoso (Bidwell, 2002).

### **2.9.3.1 Parénquima de empalizada**

El parénquima de empalizada típico esta formado por células alargadas, dispuestas transversalmente a la superficie de la hoja en una o más capas, tienen apariencia tubular o redondeadas y separadas o solo ligeramente unidas unas con otras, se encuentran inmediatamente debajo de la epidermis, que puede ser uni o pluriestratificada, pero a veces puede existir una hipodermis entre la epidermis y el tejido en empalizada (Fahn, 1974).

En las plantas mesofitas el parénquima en empalizada se encuentra normalmente en la superficie adaxial de la hoja, sin embargo en algunas plantas, el parénquima en empalizada se encuentra solo en la cara abaxial de la hoja. En algunas plantas, incluyendo muchas especies xeromórficas, existe parénquima en empalizada en ambas caras de la hoja, como consecuencia de ello solo hay una delgada banda de parénquima esponjoso en la porción central del limbo foliar. Una hoja, en la que el parénquima en empalizada se encuentra solo en una cara y el parénquima esponjoso en la otra, se llama dorsiventral o bifacial. Cuando el parénquima en empalizada se encuentra en ambas caras de la hoja se dice que es equilateral, equibilateral o equifacial (Fahn, 1974, González *et. al.* 2007). Estas hojas pueden llegar a orientarse con sus márgenes en posición vertical, lo cual evita una excesiva transpiración, ya que la superficie expuesta a la luz es menor y ambas caras reciben la misma intensidad luminosa (González *et. al.* 2007).

### **2.9.3.2 Parénquima esponjoso**

Las células del parénquima esponjoso o lagunar tienen diferentes formas. Pueden parecerse a células del parénquima en empalizada o ser isodiamétricas, separadas entre sí por grandes espacios intercelulares, los cuales ocupan mayor volumen en el tejido que las mismas células. Estas células contienen también cloroplastos, pero generalmente en menor número que las del parénquima en empalizada y se localizan en la cara inferior o envés de la hoja (Fahn, 1974).

La estructura esponjosa o lagunar del mesófilo permite gran intercambio de gases entre el tejido fotosintético y el medio ambiente, ya que existe una continuidad entre los espacios intercelulares y las cámaras subestomáticas de los estomas. La hoja de monocotiledóneas carece de una capa de empalizada bien definida; esta formada principalmente de parénquima esponjoso con amplios espacios de aire (Bidwell, 2002).

### **2.9.3.3 Esclerénquima**

El colénquima puede lignificarse y las paredes de sus células pueden engrosarse, convirtiéndose, así en esclerénquima, falta en tallos y hojas de muchas monocotiledóneas donde el esclerenquima se desarrolla tempranamente (Fahn, 1974). El esclerénquima es un tejido compuesto por células con paredes secundarias engrosadas, lignificadas o no, cuya función principal es mecánica y a veces de protección. Las células del esclerénquima tienen propiedades elásticas, al contrario que las del colénquima que las tienen plásticas. Las células del esclerénquima pueden diferir en forma, estructura, origen y desarrollo. Existen muchas formas transicionales dentro de sus células y por ello es difícil clasificar los distintos tipos de esclerenquima. Comúnmente consta de fibras y esclereidas (Fahn, 1974).

#### **2.9.3.3.1 Fibras**

Son células alargadas que carecen de proplasto con pared celular secundaria gruesa y lignificada, se origina a partir de células meristematicas y están por ello determinadas desde su origen, se encuentran en diferentes partes del cuerpo vegetal, con mayor frecuencia forman bandas, redes o un cilindro hueco ininterrumpido, se localizan principalmente entre los tejidos fundamentales y los tejidos vasculares, comúnmente a nivel de floema en la hoja y tallo, se encuentra ya sea formando paquetes llamados haces o en forma individual aislado especialmente en la epidermis o en forma de idioblastos (Fahn, 1974).

#### **2.9.3.3.2 Esclereidas**

Son células de soporte no vivas cuando están diferenciadas, de diversos tamaños y formas; la pared celular es muy gruesa y surcada por punteaduras simples en dirección radial. Su forma es radial o isodiamétrica (del mismo diámetro), a las esclereidas cortas se les llama braquiesclereidas, se encuentran normalmente en el floema, el cortex, corteza de tallos y comunes en pulpa de fruta, las cuales pueden disponerse en grupos o en forma individual llamadas idioblastos; las esclereidas largas llamadas macroesclereidas, son de forma columnar, se localizan preferentemente en la testa de las semillas, como leguminosas (Fahn, 1974).

#### **2.9.4 Sistema vascular**

El sistema vascular de la hoja, tiene importancia fundamental para su morfología. En la mayoría de las dicotiledóneas existe un nervio medio y una serie de nervios laterales, formando una red vascular; el diámetro de los nervios va disminuyendo conforme se ramifican las mismas (nervación reticular) ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)). Por el contrario, la mayor parte de las monocotiledóneas presentan un conjunto de nervios paralelos de similar calibre o presentar tamaños distintos, alternando las venas mas grandes con las mas pequeñas, conectados lateralmente por nervios menores llamada nervación paralela ( Esau, 1976).

Los haces vasculares constituyen importantes órganos estructurales de los nervios de las hojas. Los nervios pueden estar formados por un haz vascular o por un conjunto de haces. Según el tamaño de los haces vasculares, existen diferenciaciones, tanto cualitativas como cuantitativas en cuanto a la composición histológica, ya que mientras los haces mayores presentan una cantidad de xilema y de floema similar al que existe en el pecíolo y una traza foliar, no ocurre así para los haces menores (Esau, 1976). Existen variaciones o modificaciones en la anatomía de acuerdo a el hábitat donde se desarrolla la planta, como es el caso de las plantas xeromorfas, que son de hábitat de clima seco o en extremo seco y caliente, muestran grandes modificaciones en su adaptación a la falta de agua, presentan gran cantidad

de esclerenquima, por su tipo de mesofilo pueden ser bifaciales o isolaterales, las paredes de las células epidérmicas están engrosadas; por lo general tienen hipodermis y sus estomas quedan hundidos, en ocasiones en criptas, que a su vez presentan tricomas para reducir aún más la transpiración (González *et. al.* 2007).

#### **2.9.4.1 Xilema**

Se trata de un tejido complejo de los vegetales superiores que conduce agua y sales inorgánicas en forma ascendente por toda la planta (circulan de las raíces a las hojas por el xilema) y proporciona también soporte mecánico. En las hojas, las flores y los tallos jóvenes, el xilema se presenta combinado con floema en forma de haces vasculares conductores ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).

El xilema puede contener tres tipos de células alargadas: traqueidas, elementos vasculares o vasos (tráqueas) y fibras. En la madurez, cuando desempeñan funciones de transporte, todas estas células están muertas. Las traqueidas son células alargadas con paredes gruesas caracterizadas por la presencia de zonas delgadas muy bien definidas llamadas punteaduras, se encuentran en gimnospermas. Los elementos vasculares o vasos son traqueidas especializadas cuyas paredes terminales están atravesadas por uno o varios poros; una serie vertical de elementos vasculares que forman un tubo continuo se llama vaso, tienen una pared celular secundaria, lignificada. Las fibras son traqueidas especializadas de pared muy engrosada que apenas realizan funciones de transporte y que sirven para aumentar la resistencia mecánica del xilema (Bidwell, 2002).

#### **2.9.4.2 Floema**

En las plantas superiores, el floema es un tejido vascular que conduce azúcares y otros nutrientes sintetizados desde los órganos que los producen hacia aquéllos en que se consumen y almacenan (en forma ascendente y descendente). Se localiza en dirección hacia al parénquima esponjoso en la hoja. El floema está organizado en haces vasculares, que son los filamentos longitudinales del tejido conductor, asociados con el tejido conductor de agua o xilema ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).

El floema consta de dos tipos de células conductoras: tubos cribosos, que son los elementos más característicos, y células anexas. Los tubos cribosos son células alargadas con las paredes de los extremos perforadas por numerosos poros diminutos; a través de ellos pueden pasar las sustancias disueltas. Estos elementos están conectados en series verticales. Las células están vivas cuando llegan a la madurez, pero los núcleos se desintegran antes de iniciar la función conductora. Las células anexas, más pequeñas, conservan los núcleos durante la madurez y también están vivas; se forman junto a los tubos cribosos y se cree que controlan el proceso de conducción (Bidwell, 2002).

### **3 MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1 Localización geográfica del trabajo de investigación**

La presente investigación se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Buenavista, Saltillo; Coahuila, México. Entre los 25° 22" latitud norte y 100° 05" longitud oeste, a una altitud de 1 743 m.s.n.m., con una precipitación media anual de 2985 mm y una temperatura promedio anual de 19.8 °C.

La investigación se realizó en dos partes, la parte morfológica que se realizó en el laboratorio de Fisiología y microtúnel del Departamento de Horticultura y la parte anatómica e histológica que se realizó en el laboratorio de Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento.

#### **3.2 Materiales utilizados**

##### **3.2.1 Material biológico**

- ❖ 200 Semillas de sotol silvestre
- ❖ Sotol de 2-3 años de edad
- ❖ Sotol de 5 años de edad
- ❖ Sotol de 7 años de edad



### 3.2.2 Material y equipo de laboratorio

| <b>Materiales</b>                    | <b>Reactivos y soluciones</b>                                                          | <b>Equipo</b>                                    |
|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Carbol                               | Adhesivo Haupt                                                                         | Estufa GCA Precisión Scientific THELCO modelo 18 |
| Captan Ultra                         | Agua destilada                                                                         | Aguja de disección                               |
| Brocha de 1 pulgada                  | Alcohol etílico absoluto I y II                                                        | Aspersor manual Trupper                          |
| Charola almaciguera de 200 cavidades | Alcohol etílico al 50%, 60%, 70%, 85% y 96%                                            | Criba pequeña                                    |
| Cinta skotch transparente            | Bálsamo de Canadá                                                                      | Frascos Coplin con capacidad para 8 portaobjetos |
| Esmalte transparente                 | Cloro comercial al 5 %                                                                 | Frascos de 14 ml.                                |
| Etiquetas adheribles                 | Colorante verde rápido                                                                 | Gradillas para portaobjetos                      |
| Macetas de un kilo                   | Eosina                                                                                 | Microscopio compuesto Carl Zeiss                 |
| Oxícloruro de cobre                  | Fertilizante triple "17"                                                               | Microscopio Vista visión con cámara pixera       |
| Parafina histológica                 | FAA: Formaldehído (5 ml), Ácido acético glacial (5 ml), alcohol etílico al 90% (90 ml) | Micrótomo de mano "820" Spencer American Optical |
| Plumón                               | Safranina                                                                              | Pinzas de disección                              |
| Regla                                | Solución douglas                                                                       | Porta objetos                                    |
| Sustrato peat moss                   | Xilol                                                                                  | Software Axion visión 4.5                        |
|                                      |                                                                                        | Vernier                                          |

### **3.3 Metodología**

#### **3.3.1 Pre-tratamiento a las semillas**

Antes de trabajar las semillas se les retiro la cubierta impermeable que cubre la semilla utilizando una criba manual, así como retirar cualquier impureza como tierra, como se utilizo semilla de una planta nativa silvestre y no se tiene un manejo, no hay peletización, la semilla esta desprotegida y lleva patógenos como hongos, se les aplico una solución acuosa con 1 gramo de captan (antifúngico) y cloro comercial al 5% y en la mezcla se colocaron las semillas por un tiempo de 15 minutos, posteriormente se enjuagaron y se dejaron listas para la siembra.

#### **3.3.2 Desinfección y etiquetado de charolas almacigueras**

Antes de realizar la siembra de las semillas se desinfectaron las charolas, utilizando agua, 1 gramo de captan ultra y cloro comercial al 5% bien mezclados y con un aspersor se roció la mezcla a las charolas almacigueras y se dejaron sin enjuagarlas y por ultimo se identifico las charolas con los datos correspondientes, como nombre y fecha para su identificación correcta.

#### **3.3.3 Preparación del sustrato**

El sustrato utilizado fue Peat moss, el cual se mezclo con agua y 1 gramo de captan ultra, para evitar posibles problemas de contaminación de algún patógeno y luego se prosiguió con el relleno de las charolas almacigueras para la siembra de las semillas.

#### **3.3.4 Siembra**

El 29 de mayo de 2007 con las semillas previamente tratadas y las charolas desinfectadas y etiquetadas se realizo la siembra de 200 semillas de sotol, las cuales tuvieron riego suficiente para evitar la deshidratación y una mala germinación.

### **3.3.5 Transplante**

El transplante se realizo el 22 de junio de 2007, 24 días después de la siembra en las charolas almaciguera, cuando la radícula era de mayor tamaño que la cavidad de la charola y exigía un cambio a un recipiente mas grande, se utilizaron macetas de un kilo aproximadamente y como sustrato peat moss, además se etiquetaron las macetas con los datos correspondientes, posteriormente se trasladaron al invernadero para seguir con las evaluaciones correspondientes.

### **3.3.6 Riego**

El riego se aplico diariamente durante la germinación de las semillas, de acuerdo a la necesidad de estas y así evitar la deshidratación y una mala germinación, ya transplantadas y trasladadas a el invernadero se siguió con los riegos, a partir del 22 de junio de 2007, 30 días después del transplante se sustituyo el agua para realizar los riegos con la aplicación diaria y de acuerdo a las necesidades de la planta con solución douglas.

### **3.3.7 Manejo de la planta**

Con el fin de evitar el ataca de algún patógeno como hongos se le aplico a las plantas una solucion de oxycloruro de cobre a razón de 2.0 grs. por litro el 17 de agosto de 2007, además se le asperjo dos días después captan ultra en dosis de 2.5 grs. por litro, ambas soluciones vía foliar y para fortalecer la planta se le aplico una fertilización con triple “17” vía sustrato el 1 de septiembre de 2007, además de repetirla 8 días después y así de acuerdo de las necesidades de la planta.

### **3.3.8 Condición ambiental de desarrollo de las plantas**

Las plantas de 0.6 años se obtuvieron mediante germinación de las semillas, se transplantaron a los 24 días después de la siembra en macetas de un kilo con sustrato peat moss y se mantuvieron en un microtunel del departamento de horticultura durante el proceso de evaluación morfológica, anatómica e histológica,

estas se mantuvieron bajo riego apropiado, se le realizaron aplicaciones de solución douglas y se le aplicó fertilización con triple "17".

Las plantas de 2.5 años, 5 años y 7 años se obtuvieron del vivero del departamento de botánica, las cuales se encontraban en bolsas de polietileno de 1 kilogramo aproximadamente, en suelo común y en condiciones bajo sombra natural.

### **3.3.9 Preparación de muestras para evaluación de estomas y células tabloides**

Para la evaluación de estomas y células tabloides se utilizaron plantas de 4 edades diferentes: 0.6 años, 2.5 años, 5 años y 7 años, la preparación de las muestras se realizó en el periodo de noviembre a diciembre de 2007.

De las plantas de 0.6 años se tomaron 5 plantas al azar, en cada una de ellas se tomaron las dos hojas siguientes al coleóptilo central, de la parte media de cada una se tomó una impresión de la superficie abaxial (envés) y adaxial (haz), utilizando esmalte transparente se recubrió la parte media de la hoja en las dos superficies foliares, inmediatamente que se secó, se colocó cinta skotch transparente y se le retiró con la impresión de la hoja y esta se colocó en un portaobjeto.

De las plantas de 2.5 años, 5 años y 7 años, se tomaron 5 plantas al azar por cada edad, en cada una de ellas se tomaron las dos hojas siguientes a la hoja número diez, de la parte media de cada una se tomó una impresión de la superficie abaxial (envés) y adaxial (haz), utilizando esmalte transparente se recubrió la parte media de la hoja en las dos superficies foliares, inmediatamente que se secó, se colocó cinta skotch transparente y se le retiró con la impresión de la hoja y esta se colocó en un portaobjetos.

### **3.3.10 Preparación de muestras para la evaluación de tejidos histológicos**

Para la evaluación histológica, se utilizaron plantas de 4 edades diferentes: 0.6 años, 2.5 años, 5 años y 7 años, la preparación de las muestras se realizó en el periodo de enero a febrero de 2008, se prepararon en una serie de etapas, como se menciona a continuación:

### **3.3.10.1 Fijación**

Primero se hicieron cortes transversales en las plantas de 0.6 años, se tomaron 5 plantas al azar, en cada una de ellas se tomaron las dos hojas siguientes al coleoptilo central y se corto en la parte media 2 cm de hoja y para conservar los tejidos con un mínimo de alteraciones se colocaron los cortes en un frasco con capacidad de 14 ml con fijador FAA (Formaldehído, Alcohol-Acido acético) y se conservaron a temperatura ambiente hasta realizar la deshidratación.

De las plantas de 2.5 años, 5 años y 7 años, se tomaron 5 plantas al azar por cada edad, en cada una de ellas se tomaron las dos hojas siguientes a la hoja numero diez y se corto en la parte media 2 cm. y se colocaron en un frasco con capacidad de 14 ml con fijador FAA (5 ml. de formaldehído, 90 ml. de alcohol etílico al 90% y 5 ml. de acido acético glacial), (Hernández, 1990) y se conservaron a temperatura ambiente hasta realizar la deshidratación.

El fijador tiene como efecto matar y fijar a los tejidos, o sea; detener el proceso de vida sin que se distorsionen dichos tejidos, además de hacerlos lo suficientemente firmes para su manejo. Este fijador se considera en la microtécnica como el preservativo estándar; es el más extensamente usado sobre cualquier otro fijador.

### **3.3.10.2 Deshidratación**

Con el propósito de quitar el agua de los tejidos fijados y endurecidos se pasaron los cortes por diferentes agentes deshidratantes de menor a mayor concentración, esto se hizo con intervalos de una hora en una serie de soluciones de alcohol etílico al 60%, 70%, 85% y al 96% más eosina; continuando con alcohol etílico absoluto, alcohol etílico absoluto mas xilol a diferentes concentraciones (3:1,1:1,1:3) y así el material quedó listo para el siguiente paso que es la infiltración e inclusión (Hernández, 1990).

### **3.3.10.3 Infiltración e inclusión en parafina**

Primero se colocaron los tejidos en un frasco con xilol puro, agregándole parafina, posteriormente se pasó el frasco a la estufa a 35 °C agregando parafina conforme se disolvía y así permanecieron por 24 horas, después se elevo la temperatura a 45 °C, después se cambio a parafina pura, en seguida se aumento la temperatura a 55 °C por 24 horas y paso final de la infiltración se agrego mas parafina y se elevo la temperatura a 60 °C por 24 horas y en cajitas de aluminio previamente hechas como moldes, se le agrego parafina, al tejido que quedó con la ayuda de una aguja de disección caliente se extrajeron y acomodaron en los moldes, se etiquetaron de acuerdo a las edades, posteriormente se dejaron solidificar para poder sacar posteriormente los cuadros de parafina con los tejidos dentro de los moldes de aluminio (Hernández, 1990).

### **3.3.10.4 Cortes en micrótomos**

Posteriormente se cortó un pedazo de parafina con el tejido y se montaron en la platina del micrótomos, la muestra se calentó para que se pegara perfectamente, ya que la parafina se fijo, se retiro la parafina sobrante y posteriormente se coloco el bloque en el micrótomos, se nivelo y se oriento hacia la cuchilla previamente limpia. El micrótomos se graduó a 15 micras de grosor y girando la manivela se obtuvo una tira larga de parafina con los cortes transversales (Hernández, 1990).

La tira de parafina obtenida en el micrótomos, se corto en cuatro partes, posteriormente se colocaron a baño maria (40 °C) por un lapso de 10 minutos, con el objetivo de que la muestra se extendiera, posteriormente en portaobjetos limpios se untó uniformemente adhesivo de Haupt (1gr. de gelatina, 15 cm<sup>3</sup> de glicerina, 2 grs. de metabisulfito de sodio por cada 100 cm<sup>3</sup> de agua destilada), luego con un gotero se le aplico al portaobjetos una gota de formalina y se coloco con una aguja de disección la tira de parafina con el tejido, paso siguiente se le retiro el exceso de agua y el adhesivo de los lados y en la parte de abajo del portaobjetos con un trapo limpio, ya listas las muestras en el portaobjetos se colocaron en gradillas, identificándolas de acuerdo a la edad correspondiente (Hernández, 1990).

### **3.3.10.5 Coloración**

Para esta etapa se prepararon una serie de reactivos en frascos Coplin con capacidad para ocho portaobjetos cada uno. Se colocaron las preparaciones de manera que el tejido quedara hacia la izquierda, esto para identificar la muestra, ya que al meterlas al alcohol y al estar todas orientadas al mismo lado al momento de tomarlas con las pinzas, no se maltrata el tejido de la preparación siguiente.

Con la ayuda de unas pinzas los tejidos se pasaron por el primer frasco que contenía xilol puro (se utiliza para quitar la parafina) por un lapso de 10 minutos, posteriormente se cambiaron a frascos con alcohol etílico absoluto al 96%, 85%, 70%, 60% y 50%, el siguiente paso fue enjuagar las preparaciones en agua destilada para ser pasadas por una solución de safranina (1 gr. de safranina por cada 100 cm<sup>3</sup> de agua destilada) durante 15 minutos, una vez cumplido este procedimiento, las preparaciones se pasaron por una serie de enjuagues: agua normal, agua destilada, alcohol etílico al 50%, 60%, 70%, 85% y 96%, respectivamente, dejándolas en cada frasco sólo unos segundos lo suficiente para enjuagarse; esto con el fin de volver a hidratar las preparaciones. Posteriormente las preparaciones fueron pasadas al colorante verde rápido (solución de verde rápido al 0.5% en 100 cm<sup>3</sup> de alcohol de 96°) por espacio de 5 a 7 segundos, después se enjuagaron en alcohol etílico de 96°, alcohol absoluto I y alcohol absoluto II; también se pasaron por una solución de carbol-xilol por 5 minutos y por ultimo se colocaron en xilol puro (con el fin de eliminar la parafina que haya quedado). Después de sacar las preparaciones del xilol, se escurrieron y se llevo a cabo el proceso de montaje, colocando a las muestras unas gotas de bálsamo de Canadá como sello o pegamento y un cubreobjetos. Se quitaron los excesos del bálsamo con una toalla de papel absorbente. Así las preparaciones se dejaron secar en las gradillas por espacio de una semana (Hernández, 1990).

#### **3.3.10.6 Selección de muestras para fotografía**

Ya listas las muestras, completamente montadas y secas se observaron al microscopio vista visión con cámara pixera y se hizo una selección de las mejores preparaciones, observando que los tejidos no estuvieran dañados y/o con exceso de colorante y que se apreciaran claramente para poderlas microfotografiar.

#### **3.3.10.7 Microfotografía**

Ya con las muestras previamente seleccionadas, utilizando un microscopio marca vista visión con cámara digital pixera adaptada y con apoyo del software Axion visión 4.5 se les tomo fotografías en aumentos de 5X, 40X y 100X, en las diferentes partes de la epidermis (estomas y células epidérmicas), en el mesofilo (parénquima, xilema, floema y esclerenquima).

### **3.4 Variables a evaluar**

#### **3.4.1 Morfológicas**

Las variables que se evaluaron fueron la emergencia (%), variable que se obtuvo con el conteo efectuado durante 22 días después de la siembra, la longitud de coleoptilo a partir de la siembra (29 de mayo) hasta el 20 de junio por un periodo de 22 días utilizando una regla en cm., longitud de las hojas con una regla en cm. y numero de hojas a partir de 22 días de edad durante el periodo del 22 de junio al 28 de septiembre en un lapso de 98 días, longitud de raíz utilizando una regla graduada en cm. y diámetro de la corona en plantas de 0.6 años, 2.5 años, 5 años y 7 años, utilizando un vernier.

#### **3.4.2 Anatómicas**

Las preparaciones de estomas y células tabloides fueron evaluados del 26 de enero de 2008 al 14 de abril de 2008, mediante la observación al microscopio (Carl Zeiss) con el objetivo 40X en cinco campos al azar, en los cuales se contaron estomas y células tabloides y así se determino la densidad estomatica (Numero de estomas entre el área en  $\text{mm}^2$ ), densidad de células tabloides (Numero de células tabloides



entre el área en mm<sup>2</sup>), e índice estomático (Densidad estomática entre la densidad de células tabloides por cien y el resultado se expresa en % (porcentaje), esto en las dos superficies (abaxial y adaxial), para las cuatro edades. Esto se obtuvo de la siguiente manera:

Diámetro del campo visual= Diámetro ocular/objetivo  
Radio=Diámetro del campo visual/2  
Radio<sup>2</sup> (3.1416)

El valor que se obtiene representa un décimo de un mm cuadrado y por regla de tres simple se obtiene el valor de estomas por mm cuadrado, lo que equivale a la frecuencia o densidad estomática por mm cuadrado, de la misma manera se obtuvo la densidad de células tabloides o epidérmicas. Para el índice estomático se dividió la densidad estomática entre el resultado de la suma de la densidad estomática y la densidad epidérmica o células tabloides y se multiplica por cien, como se muestra en la siguiente fórmula:

$$\text{Índice Estomático} = \frac{\text{D.E.}}{(\text{DE} + \text{DCT})} \times 100 = \%$$

Donde: D.E.= Densidad estomática y D.C.T.= Densidad de células tabloides, el resultado es el índice estomático, que es el número de estomas en relación al total de células tabloides.

### 3.4.3 Histológicas

Las preparaciones de los cortes en el portaobjetos fueron analizadas del 1 de septiembre hasta el 31 de octubre de 2008, utilizando un microscopio vista visión con cámara digital pixera y el software de medición Axion visión 4.5. Se midió con el objetivo 5X el ancho (distancia entre las dos superficies foliares) y largo (ancho de la hoja) del mesofilo en las cuatro edades (0.6 años, 2.5 años, 5 años y 7 años), en 5 campos al azar de 5 muestras; en el objetivo 40X se obtuvo el área de las células tabloides en la vista transversal en la superficie abaxial y adaxial en 5 campos al azar de 5 muestras en las cuatro edades; además se obtuvo el área del parénquima,

midiendo en 5 campos en la superficie adaxial, 5 campos en la abaxial y 5 campos en la parte central del mesofilo de 5 muestras en las cuatro edades; posteriormente se obtuvo el área del haz vascular, en el cual se midieron 5 haces en la parte adaxial, 5 haces en la abaxial y 5 haces en la parte central del mesofilo en las cuatro edades, para esto se obtuvo el área por separado a las partes del haz (área del floema, área del xilema y área del esclerénquima) y se sumaron las diferentes áreas y se obtuvo el área total del haz vascular y por último se realizó la descripción de la epidermis, en las dos superficies (haz y envés), los haces vasculares (xilema y floema), parénquima y esclerenquima.

**Cuadro 1** Cronograma de actividades realizadas durante el año 2007

| Mes                                     | Mayo | Junio | Julio | Agosto | Septiembre | Octubre | Noviembre | Diciembre |
|-----------------------------------------|------|-------|-------|--------|------------|---------|-----------|-----------|
| Actividad                               |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Pre-Tratamiento a las semillas          |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Desinfección de charolas almacigueras   |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Etiquetado de charolas almacigueras     |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Preparación de sustrato                 |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Siembra de las semillas                 |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Transplante                             |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Riego                                   |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Manejo de la planta                     |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Toma de datos Morfológicos              |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Obtención de plantas de 2.5, 5 y 7 años |      |       |       |        |            |         |           |           |
| Preparación de muestras anatómicas      |      |       |       |        |            |         |           |           |

**Cuadro 2** Cronograma de actividades realizadas durante el año 2008

| Mes                                          | Enero | Febrero | Marzo | Abril | Mayo | Junio | Julio | Agosto | Sept. | Oct. | Nov. |
|----------------------------------------------|-------|---------|-------|-------|------|-------|-------|--------|-------|------|------|
| Actividad                                    |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Preparación histológica<br>Fijación          |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Deshidratación                               |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Infiltración e<br>Inclusión en<br>Parafina   |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Cortes en<br>micrótomo                       |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Fijación de los<br>cortes al<br>portaobjetos |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Coloración                                   |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Selección de<br>muestras                     |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Microfotografía                              |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Evaluación<br>Morfológica                    |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Evaluación<br>Anatómica                      |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Evaluación<br>Histológica                    |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |
| Análisis de<br>resultados                    |       |         |       |       |      |       |       |        |       |      |      |

### 3.5 Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizo fue un completamente al azar con arreglo factorial de AXB donde el factor de variación A= 4 Edades y B= 2 superficies (Abaxial y Adaxial), con 5 repeticiones cada una, dando un total de 40 unidades, promedio de 400 campos estudiados al azar, para la densidad estomatica, densidad de células tabloides e índice estomatico, utilizando el software de diseños experimentales de Olivares (1994) de la UANL. Con los datos se realizo un análisis de varianza con prueba de medias Tukey a una  $P=0.05$ . También se calculo el error estándar de las medias de la densidad estomatica, densidad de células tabloides e índice estomatico para cada superficie foliar en cada una de las edades.

## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de analizar los resultados de las variables evaluadas, se presentan y discuten cada uno de ellos por separado, para darle mas claridad a los mismos, presentando primeramente los datos morfológicos, seguido de los anatómicos e histológicos.

### 4.1 Porcentaje de emergencia

De acuerdo a la evaluación hecha de 200 semillas que se sembraron para la investigación, se obtuvo lo siguiente: La semilla se sembró el 29 de mayo de 2007, el 7 de junio, a los 9 días después de la siembra comenzaron las emergencias con 2 para esa fecha, para el día 12 de junio, 14 días después de la siembra se contaba con 60 emergencias (30%), para el día 15 de junio, 17 días después de la siembra se contaba con 84 emergencias (45%), para el día 18 de junio, 20 días después de la siembra se contaba con 106 emergencias (53%), para el día 20 de junio, 22 días después de la siembra se contaba con 108 emergencias (54%), (cuadro 3 y figura 2).

**Cuadro 3** Porcentaje y numero de emergencias de semillas de sotol hasta 22 días después de la siembra.

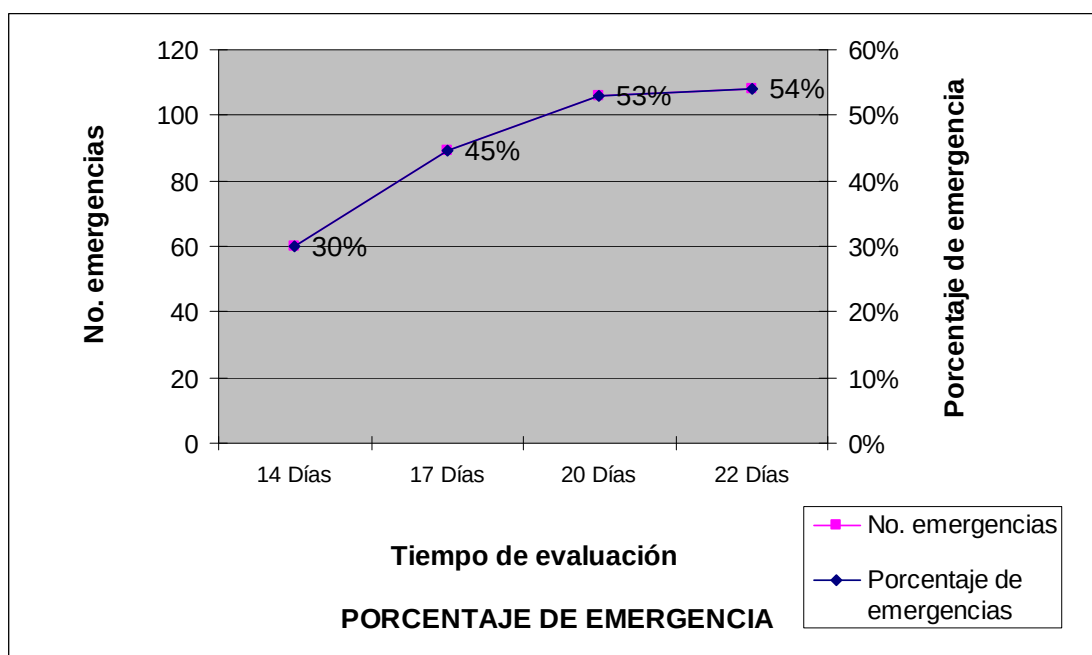
| Tiempo de evaluación | No. Emergencias | Porcentaje de emergencia |
|----------------------|-----------------|--------------------------|
| 14 Días              | 60              | 30%                      |
| 17 Días              | 89              | 45%                      |
| 20 Días              | 106             | 53%                      |
| 22 Días              | 108             | 54%                      |

Estos resultados indican un buen porcentaje de emergencia, tomando en cuenta lo mencionado por Palma (2000), que uno de los principales problemas que presenta la planta de sotol es su reproducción sexual en forma natural, ya que la producción de semillas en la planta no es la misma año con año y el porcentaje de germinación es muy bajo siendo tan solo del 8%, además Nokes (1986), tomado de Calderón (2004), reporta que el sotol presenta dificultades de germinación en forma natural y que requiere al menos entre tres a cuatro semanas

Sin embargo resultados de investigaciones como las de Arce *et. al.*, 2004a, en su trabajo de rompimiento de latencia en semillas de *Dasyllirion cedrosanum* de tres semanas de haber sido cosechadas mediante escarificación física y ácido sulfúrico, encontraron que utilizando ácido sulfúrico a 75 ppm se obtiene un 77% de germinación y ácido sulfúrico a 100 ppm con 74% de germinación ambas en un periodo de 16 días

Arce *et. al.*, 2004b, trabajo con pruebas de germinación en semillas de *Dasyllirion cedrosanum* utilizando extractos secos de *Agave lechuguilla* bajo condiciones de laboratorio, encontrando que con 0.05 mg. de extracto de raíz de lechuguilla, la semilla germino en un 96,8 % a los 20 días después de la siembra.

Palma (2000) quien trabajo con semillas de *Dasyllirion spp.* con un periodo de almacenamiento de dos años y utilizando concentraciones de ácido sulfúrico a 15%, menciona que la germinación se llega a incrementar hasta un 92% en un periodo de 12 días.



**Figura 2** Porcentaje y numero de emergencia de semillas de sotol durante 22 días después de la siembra.

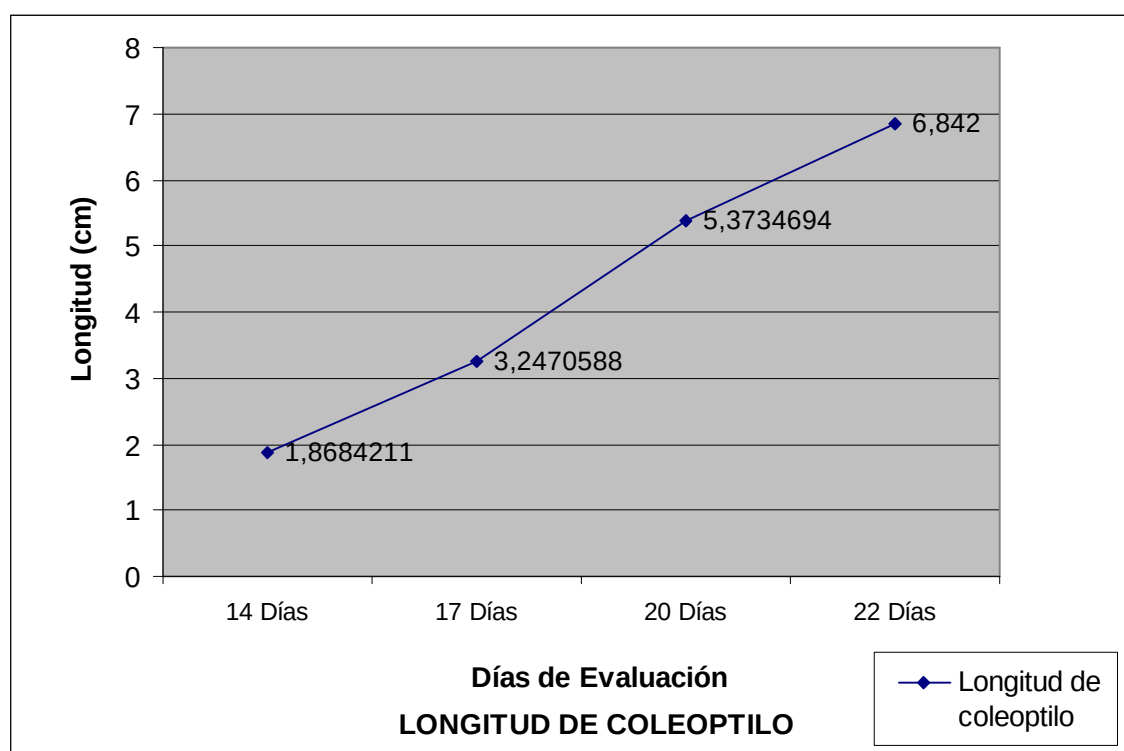
En esta investigación se tuvo buena emergencia comparado con la germinación natural de la especie, sin embargo no es la óptima, ya que en relación a trabajos analizados donde se trataron las semillas para romper su latencia, esta es baja, aunque para los objetivos de la investigación el número de emergencias fue suficiente.

## **4.2 Longitud de coleóptilo**

Para la medición de coleóptilo se evaluaron 100 plántulas. La Semilla se sembró el 29 de mayo de 2007, para el día 12 de junio, 14 días después de la siembra se hizo la primera evaluación de un total de 57 plántulas emergidas que se pudieron medir obteniéndose una media de longitud de coleóptilo de 1,87cm, para el día 15 de junio, 17 días después de la siembra se contaba con 85 emergencias obteniéndose una media de 3,25 cm de longitud en el coleóptilo, para el día 18 de junio, 20 días después de la siembra se contaba con 98 emergencias, obteniéndose una media de 5,37 cm de altura en el coleóptilo, para el día 20 de junio, 22 días después de la siembra se contaba con 100 emergencias con una media de 6,84 cm en la longitud de coleóptilo (cuadro 4 y figura 3), a este último dato de la longitud máxima alcanzada era visible en la plántula el inicio del decrecimiento de coleóptilo con marchitamiento de la parte apical del mismo, lo que ya no permitió su medición de manera correcta, este evento concuerda con la aparición de la primera hoja verdadera, lo que nos indica que el coleóptilo podría ser una estructura de reserva con lo que cuenta la planta para asegurar su sobrevivencia durante los primeros días después de la emergencia, previo a que las hojas comienzan a producir su propio alimento, debido a la poca información sobre este parámetro no es posible hacer una discusión mas extensa y correcta, ya que algunos autores lo consideran como la primera hoja verdadera, mientras que otros piensan que forma parte del cotiledón ( Eames, 1961; tomado de Fahn, 1974). Otros autores mencionan que representa un segundo cotiledon vestigial o parte de otros órganos embrionales ( Rth, 1955; Brown, 1960; Eames, 1961; Forrad y Haber, 1962; Negbi y Koller, 1962; tomado de Fahn, 1974).

**Cuadro 4** Promedios de longitud de coleóptilo de 100 plántulas de sotol a los 22 días después de la siembra.

| Tiempo de evaluación | No. Plántulas | Longitud de coleoptilo |
|----------------------|---------------|------------------------|
| 14 Días              | 57            | 1,87                   |
| 17 Días              | 85            | 3,25                   |
| 20 Días              | 98            | 5,37                   |
| 22 Días              | 100           | 6,84                   |



**Figura 3** Promedios de longitud de coleóptilo de 100 plántulas de sotol a los 22 días después de la siembra.

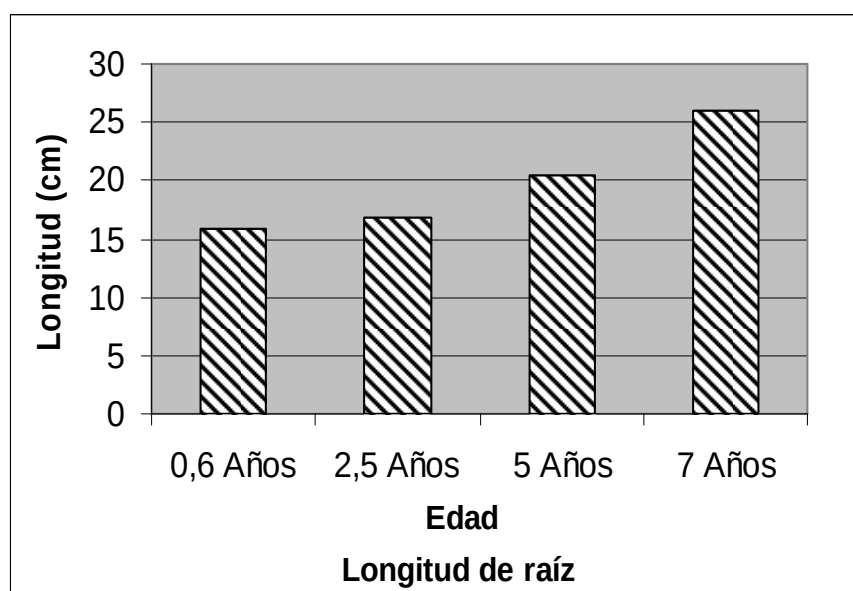
### 4.3 Longitud de raíz y diámetro de la corona

Para la evaluación de la variable raíz y diámetro de la corona se sacrificaron y midieron 4 plantas en cada una de las cuatro edades ( 0.6 años, 2.5 años, 5 años y 7 años) y de estas se obtuvieron los promedios.

**Cuadro 5** Promedios de longitud de raíz y diámetro de corona de cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

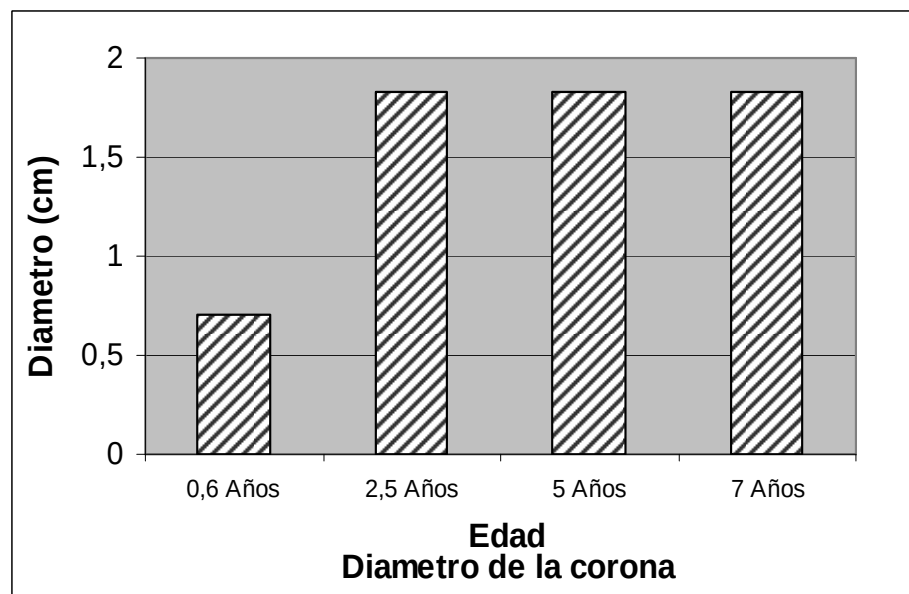
| Edad     | Longitud de raíz | Diámetro de la corona |
|----------|------------------|-----------------------|
| 0,6 Años | 15,85            | 0,7                   |
| 2,5 Años | 16,75            | 1,82                  |
| 5 Años   | 20,5             | 2,57                  |
| 7 Años   | 25,97            | 3,17                  |

Para la variable longitud de raíz, no se hace comparación de resultados, por la inexistencia de información. Solo se muestra la variación y tendencia que sigue la longitud en las diferentes edades ( Cuadro 5 y Figura 4)



**Figura 4** Promedios de longitud de raíz de cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel





**Figura 5** Promedios de diámetro de la corona de cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

Para la variable diámetro de corona, no se hace comparación debido a la falta de información, solo se muestra la tendencia que sigue esta variable en las cuatro edades (cuadro 5 y Figura 5).

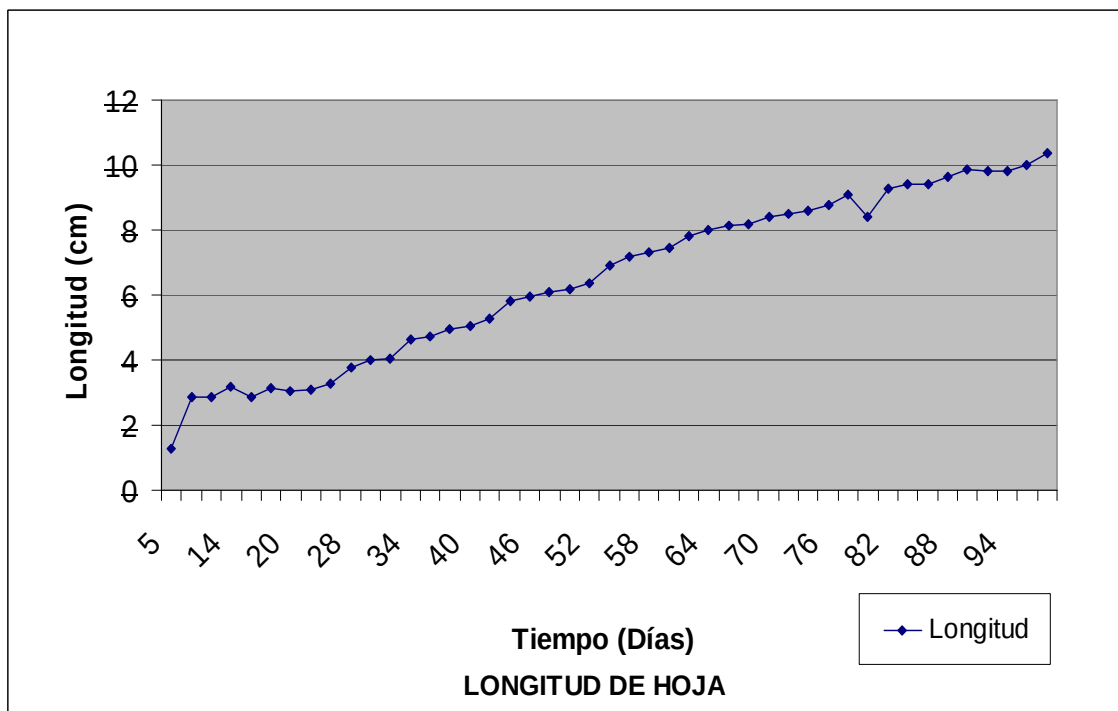
#### 4.4 Longitud y número de hojas

De acuerdo a la evaluación hecha se observó que la primera hoja verdadera emergió el 22 de junio de 2007, después de 24 días de haberse sembrado la semilla, aunque estaba recién emergida y no tenía un tamaño medible, fue hasta el día 27 de junio, 29 días después de la siembra y 5 días después de haberse transplante, que fueron medibles, para entonces la media de las tres primeras hojas verdaderas era de 1,27 cm. de longitud de hoja.

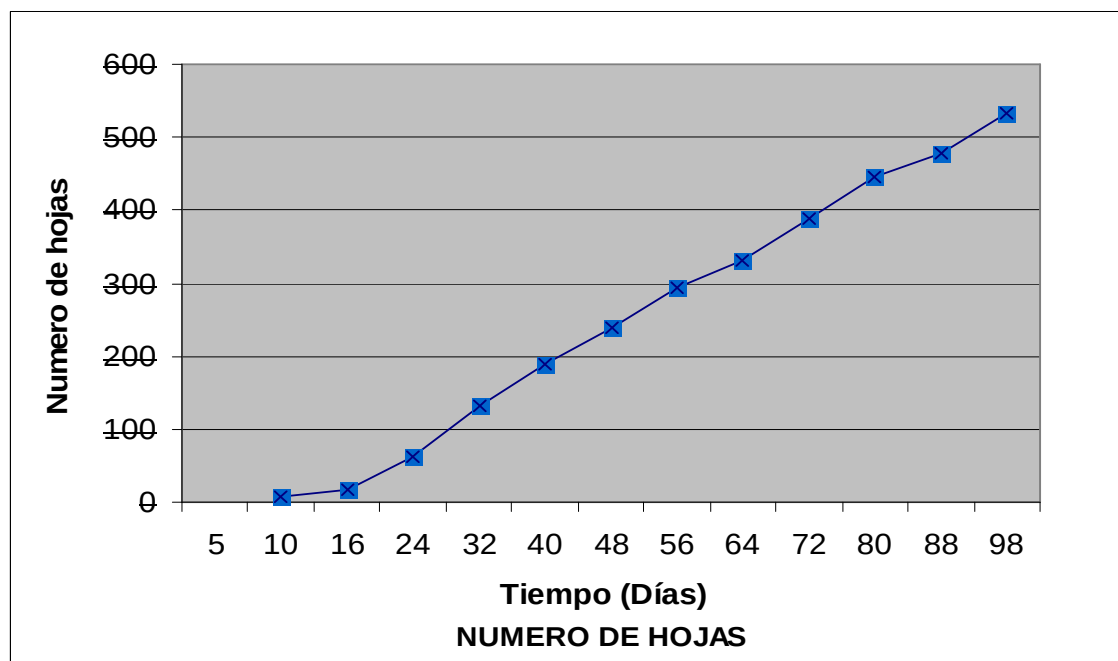
**Cuadro 6** Numero y longitud de hojas de *Dasyllirion cedrosanum* Trel durante 98 días de evaluación.

| <i>Tiempo (Días)</i> | <i>No. Hojas</i> | <i>Longitud</i> |
|----------------------|------------------|-----------------|
| 10                   | 7                | 2,84            |
| 16                   | 17               | 2,88            |
| 24                   | 63               | 3,07            |
| 32                   | 131              | 4,06            |
| 40                   | 189              | 5,02            |
| 48                   | 240              | 6,1             |
| 56                   | 294              | 7,19            |
| 64                   | 332              | 7,98            |
| 72                   | 389              | 8,52            |
| 80                   | 446              | 8,4             |
| 88                   | 478              | 9,65            |
| 98                   | 533              | 10,38           |
| promedio             | 5.33             |                 |

La evaluación del numero y longitud de hojas revelo el lento crecimiento de esta especie, pues el promedio de 100 plantas fue de 5.33 hojas con una longitud alcanzada de 10.38 cm, bastante bajo considerando que fueron 98 días de evaluación, probablemente es una característica de la planta debido a las condiciones donde se desarrolla y por lo que la especie tiene que eficientar su incremento en material vegetativo, acorde a la disponibilidad de absorción de nutrientes y disponibilidad de agua, quizás una característica propia de la adaptación de la especie.



**Figura 6** Longitud de hojas en plántulas de soto durante 98 días de evaluación.



**Figura 7** Numero de hojas en plántulas de soto durante 98 días de evaluación.

#### 4.5 Densidad estomatica

De acuerdo al análisis estadístico para la densidad estomatica en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel. revelo que la variable edad es significativa al 0.01, la variable superficie foliar no es significativa al igual que la interacción edad-superficie foliar. En la evaluación de las cuatro edades revelo que la densidad estomatica es mayor en plantas de sotol de 7 años tanto en la superficie adaxial con 63,22 estomas/mm<sup>2</sup> como abaxial con 60,22 estomas/mm<sup>2</sup> y en menor cantidad las plantas de 2,5 años en la superficie adaxial con 41,44 estomas/mm<sup>2</sup> y en abaxial con 39,2 estomas/mm<sup>2</sup>. Para la superficies, la densidad estomatica es ligeramente mayor en la superficie adaxial con un promedio de 55.015 estomas/mm<sup>2</sup> por 51.705 estomas/mm<sup>2</sup> en la superficie abaxial (cuadro 7 y figura 8).

Es importante señalar que la edad de 0.6 años, estuvo en condiciones ambientales diferentes al resto de las edades, lo que influyo en el resultado para esta edad, pero la tendencia que siguió la especie es bastante clara.

**Cuadro 7** Comparación de medias para la densidad estomatica adaxial y abaxial en cuatro edades de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.)  $\pm$  error estándar.

| Edad         | DENSIDAD ESTOMATICA (No. estomas/mm <sup>2</sup> ) |                |         |                |
|--------------|----------------------------------------------------|----------------|---------|----------------|
|              | Adaxial                                            | Error estándar | Abaxial | Error estándar |
| 0.6 Años     | 57,84                                              | 5,66           | 56,02   | 7,23           |
| 2,5 Años     | 41,44                                              | 14,11          | 39,2    | 8,06           |
| 5 Años       | 57,56                                              | 5,62           | 51,38   | 3,12           |
| 7 Años       | 63,22                                              | 6,55           | 60,22   | 4,32           |
| <b>Medía</b> | 55,015                                             | 7,98           | 51,705  | 5,68           |

**C.V.=28.15%**

**Media de Tukey al 0.05= 5,79**

La densidad estomatica en *Dasyllirion cedrosanum* es uniforme en ambas superficies foliares, el numero de estomas es ligeramente mayor en la superficie adaxial que en la correspondiente abaxial, lo que nos dice es que la superficie adaxial tiene una mayor capacidad fotosintética, lo cual de acuerdo a Ticha (1982), tomado de García y Madriz (1999), podría representar una característica favorable, ya que la presencia

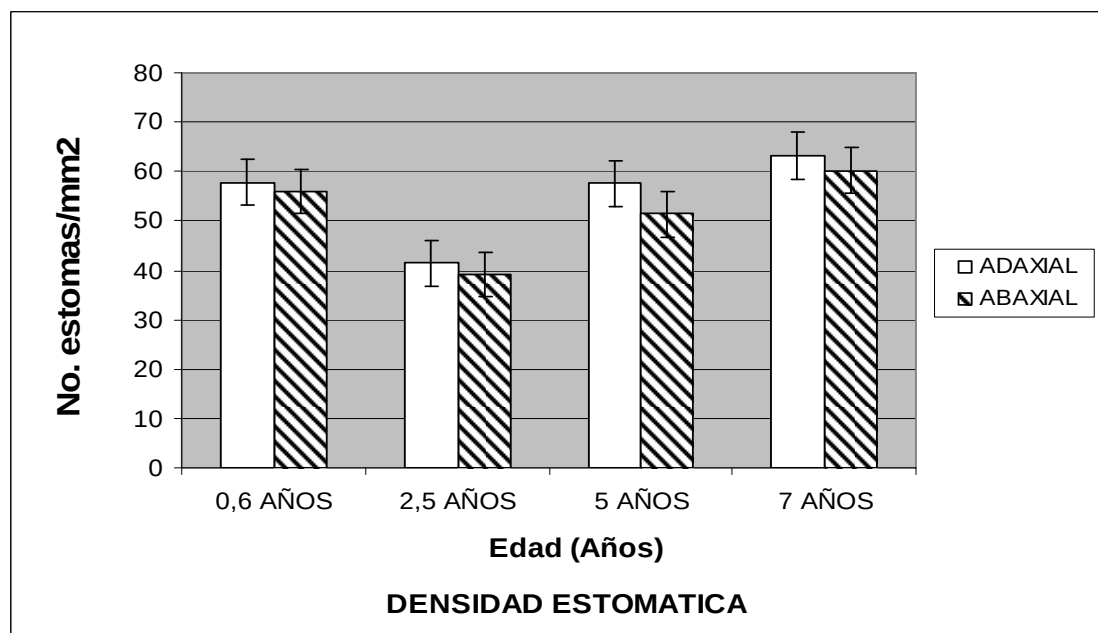
de una alta densidad de estomas por unidad de área de lámina se ha correlacionado con una mejor capacidad fotosintética.

Comparando la densidad estomatica del sotol con otras especies, como el manzano; donde se han encontrado valores superiores a 1000 estomas/mm<sup>2</sup> (Rodríguez *et. al.* 2002, tomado de Hernández, 2005), en avena, trigo, maíz, alfalfa y tomate la densidad estomatica para la superficie adaxial oscila entre 25 y 169 estomas/mm<sup>2</sup> y en la superficie abaxial los valores fluctúan de 23 a 203 estomas/mm<sup>2</sup> (Rojas y Rovalo, 1985); en *Allium sativum* L. se registran valores de 113 estomas/mm<sup>2</sup> en la superficie adaxial y 112 estomas/mm<sup>2</sup> en la superficie abaxial (Verdugo, *et.al.* 1999); para el *Triticum aestivum* los rangos se registran de 84 a 132 estomas/mm<sup>2</sup> en la superficie adaxial y 74 a 95 estomas/mm<sup>2</sup> en la superficie abaxial (Benavides *et.al.*, 2003, citado por Hernández, 2005), en plantas de maíz bajo estrés por NaCl, se encontraron promedio de 148.6 estomas/mm<sup>2</sup> para la densidad estomatica adaxial y 276.2 para la abaxial (Benavides *et. al.* 2005). Esau (1972), tomado de Cañizares *et. al.* (2003) establece un rango de 100 a 300 estomas/mm<sup>2</sup> en las angiospermas; Napp (1974), tomado de Cañizares *et. al.* (2003), estima para hojas de diferentes especies valores de 1 a 2.000 estomas/mm<sup>2</sup> y Leegod (1993), tomado de Cañizares *et. al.* (2003), determinó para el envés de las hojas de plantas C3, de 40 a 300 estomas/mm<sup>2</sup>.

Esta comparación de resultados muestra que el *Dasyilirion cedrosanum* presenta baja densidad estomatica, característica señalada por Rubino *et.al.* (1989) y Thakur (1990), tomado de Cañizares *et.al.*, (2003), donde señalan que la baja de la cantidad de estomas por mm<sup>2</sup> incrementa la resistencia estomatica de la planta y de esta manera evita un exceso de transpiración y se hace mención que la densidad estomatica esta fuertemente influenciada por diversas condiciones estresantes como condiciones de sequía y altas concentraciones salinas, por lo que esta es muy variable (Salas *et.al.*, 2001; Bethke y Drew, 1992; Rubino *et.al.*, 1989, citados por Cañizares, *et.al.*, 2003).

De acuerdo a Schoettle y Rochelle (2000), tomado de Hernández (2005), menciona que la disminución en la densidad estomatica e índice estomatico es una respuesta

de aclimatación para restringir la pérdida de agua y Richardson *et. al.* (2001), tomado de Hernández (2005), menciona que una baja frecuencia estomatica se ha correlacionado con tolerancia a la sequía, por lo que la baja densidad estomatica del sotol, refleja la adaptación de la especie a las características propias del hábitat donde se desarrolla.



**Figura 8** Comparación de medias para la densidad estomatica adaxial y abaxial en cuatro edades de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.)  $\pm$  error estándar. La edad de 0.6 años estuvo en condiciones ambientales diferentes al resto de las edades.

#### 4.6 Densidad de células tabloides

De acuerdo al análisis estadístico para la densidad de células tabloides en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel. revelo que la variable edad es significativa al 0.05 y 0.01, la variable superficie foliar no es significativa e igual que la interacción edad-superficie foliar. En la evaluación de las cuatro edades revelo que la densidad de células tabloides es mayor en plantas de sotol de 0.6 años tanto en la superficie adaxial con 326.58 células tabloides/mm<sup>2</sup> como en la superficie abaxial con 351.94 células tabloides/mm<sup>2</sup> y en menor cantidad las plantas de 2.5 años en la superficie adaxial con 200.04 células tabloides/mm<sup>2</sup> y en la superficie abaxial con 169.18

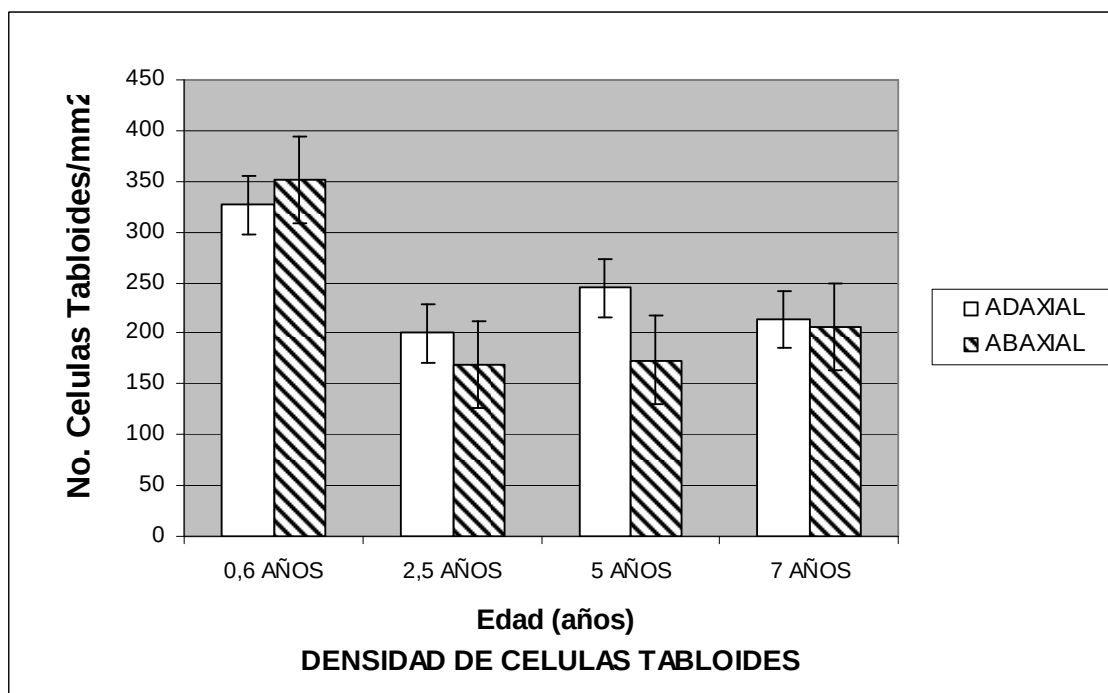
células tabloides/mm<sup>2</sup>. Para la superficies, la densidad de células tabloides es mayor en la superficie adaxial con un promedio de 246.455 células tabloides/mm<sup>2</sup> por 225.345 células tabloides/mm<sup>2</sup> en la superficie abaxial (cuadro 8 y figura 9). Es importante señalar que la edad de 0.6 años, estuvo en condiciones ambientales diferentes al resto de las edades, lo que influyo en el resultado para esta edad, pero la tendencia que siguió la especie es bastante clara.

**Cuadro 8** Comparación de medias de la densidad de células tabloides adaxial y abaxial en cuatro edades de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.)  $\pm$  error estándar.

| <b>DENSIDAD CÉLULAS TABLOIDES (No.células tabloides/mm2)</b> |                |                                      |                |                       |
|--------------------------------------------------------------|----------------|--------------------------------------|----------------|-----------------------|
| <b>Edad</b>                                                  | <b>Adaxial</b> | <b>Error estándar</b>                | <b>Abaxial</b> | <b>Error estándar</b> |
| 0.6 Años                                                     | 326,58         | 15,02                                | 351,84         | 23,07                 |
| 2,5 Años                                                     | 200,04         | 43,28                                | 169,18         | 24,47                 |
| 5 Años                                                       | 244,9          | 15,04                                | 173,68         | 11,33                 |
| 7 Años                                                       | 214,3          | 30,35                                | 206,68         | 31,52                 |
| <b>Medía</b>                                                 | 246,45         | 25,92                                | 225,34         | 22,60                 |
| <b>C.V.=22.23%</b>                                           |                | <b>Media de Tukey al 0.05= 63,51</b> |                |                       |

Esta variable es poco estudiada, por lo que no hay muchos resultados comparativos. Lo poco que se encontró fue en plantas de maíz bajo estrés salino por NaCl, se encontraron 1176.0 células tabloides/mm<sup>2</sup> para la superficie adaxial y 1453.4 para la superficie abaxial (Benavides, *et. al.* 2005). Esto indica que en comparación, el sotol tiene una densidad de células tabloides baja.

Sin embargo se observa una relación directa con la densidad estomatica, ya que en el estudio de las cuatro edades, a medida que la densidad estomatica aumenta, la densidad de células tabloides disminuye, esto ocurre a través del crecimiento de la planta, lo que nos indica que el numero de células tabloides y numero de estomas para esta especie no es la misma año con año, si no que van variando en relación directa uno con el otro.



**Figura 9** Comparación de medias de la densidad de células tabloides adaxial y abaxial en cuatro edades de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.)  $\pm$  error estándar. La edad de 0.6 años estuvo en condiciones ambientales diferentes al resto de las edades.

#### 4.7 Índice estomático

En la evaluación del índice estomático en la superficie foliar adaxial y abaxial para las cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel., revelo que la variable edad es significativa al 0.05 y 0.01, la variable superficie foliar no es significativa al igual que la interacción edad-superficie foliar. La evaluación de las cuatro edades revelo que el índice estomático es mayor en plantas de sotol de 7 años tanto en la superficie abaxial con un 25.36 estomas por cada cien células tabloides como en adaxial con un 23.87 estomas por cada cien células tabloides y en menor cantidad las plantas de 0.6 años en la superficie abaxial con un 13.82 estomas por cada cien células tabloides y en la superficie adaxial con un 15.31 estomas por cada cien células tabloides. Para la superficies, el índice estomático es ligeramente mayor en la superficie abaxial con un promedio de 20.47 estomas por cada cien células tabloides,



por un 18.72 estomas por cada cien células tabloides en la superficie adaxial (cuadro 9 y figura 10)

Es importante señalar que la edad de 0.6 años, estuvo en condiciones ambientales diferentes al resto de las edades, lo que influyo en el resultado para esta edad, pero la tendencia que siguió la especie es bastante clara.

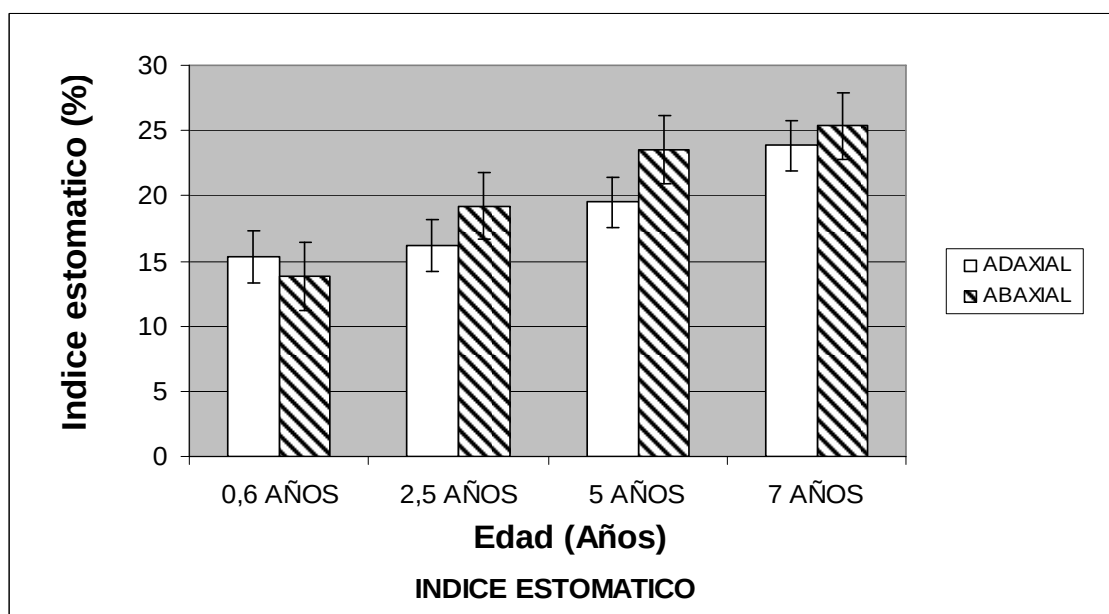
**Cuadro 9** Comparación de medias del índice estomático adaxial y abaxial en cuatro edades de sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.)  $\pm$  error estándar. La edad de 0.6 años estuvo en condiciones ambientales diferentes al resto de las edades.

| INDICE ESTOMATICO (No. estomas/No. células tabloides) |         |                                     |         |                |
|-------------------------------------------------------|---------|-------------------------------------|---------|----------------|
| Edad                                                  | Adaxial | Error estándar                      | Abaxial | Error estándar |
| 0.6 Años                                              | 15,31   | 1,26                                | 13,82   | 1,12           |
| 2,5 Años                                              | 16,17   | 2,47                                | 19,186  | 4,27           |
| 5 Años                                                | 19,52   | 1,34                                | 23,514  | 1,78           |
| 7 Años                                                | 23,87   | 2,41                                | 25,364  | 2,77           |
| <b>Medía</b>                                          | 18,72   | 1,87                                | 20,47   | 2,49           |
| <b>C.V.=24.38%</b>                                    |         | <b>Media de Tukey al 0.05= 5,79</b> |         |                |

El índice estomático en *Dasyilirion cedrosanum* es ligeramente mayor en la superficie abaxial, que la correspondiente adaxial. Verdugo *et al.* (1999), en su investigación encontró en una variedad de ajo que las hojas con mayores valores de índice estomático presentan los mayores valores de densidad estomática. Esta situación no se presentó de esta manera en el *Dasyilirion cedrosanum*, ya que la mayor densidad estomática se presentó en la superficie adaxial y el mayor índice estomático lo presentó la superficie abaxial.

Esta variable no es común para su estudio, por lo que hay muy poca literatura, se presentan algunas especies como *Allium sativum* con valores de 39.64 en la superficie adaxial y 39.65 en la superficie abaxial (Verdugo *et.al.* 1999), en *Capsicum annum* se reportan rangos de 13 a 18 para la superficie adaxial y 27 a 38 para la superficie abaxial (Benavides *et. al.*, 2002), en algodón el índice estomático fue mayor en la superficie abaxial con 18.4 y 14.4 en la superficie adaxial (Bondada y

Oosterhuis, 2000, citado por Hernández, 2003), en plantas de maíz bajo condiciones de estrés por NaCl, encontrón valores de 11.22 % y 15.98 % para las superficies adaxial y abaxial, respectivamente (Benavides, *et. al.* 2005), comparados los resultados obtenidos de *Dasyilirion cedrosanum* con los mencionados anteriormente, el sotol presenta un índice estomático bajo, considerando que hay especies que presentan un índice estomático mucho mas alto.



**Figura 10** Comparación de medias del índice estomático adaxial y abaxial en cuatro edades de sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.)  $\pm$  error estándar. La edad de 0.6 años en condiciones ambientales diferentes al resto de las edades.

Tanto la densidad estomática como el índice estomático pueden estar influenciados por las condiciones ambientales y nutricionales (Esau, 1972; Wilkinson, 1979; Roth *et. al.*, 1986, citado por Cañizares, *et. al.* 2003).

Schoch *et al.* (1980), citado por Cañizares *et. al.* (2003), confirmaron que el índice estomático es una función total de la radiación recibida y de las variaciones que experimenta durante los días precedentes a la diferenciación de los estomas de la hoja. De acuerdo a Weng y Chen (1998), tomado de Verdugo *et. al.*, (1999), la densidad estomática se relaciona positivamente con la mayor capacidad fotosintética

en la planta de arroz, por lo cual debería esperarse mayor productividad en aquellas especies que presentaron la mayor cantidad de estomas por unidad de área foliar.

Sin embargo de acuerdo a Schoettle y Rochelle (2000), tomado de Hernández (2005), menciona que la disminución en la densidad estomatica e índice estomatico es una respuesta de aclimatación para restringir la pérdida de agua, además Richardson *et. al.* (2001), tomado de Hernández (2005), menciona que una baja frecuencia estomatica se ha correlacionado con tolerancia a la sequía, por lo que el bajo índice estomatico del sotol, refleja la adaptación de la especie a las características propias del hábitat donde se desarrolla.

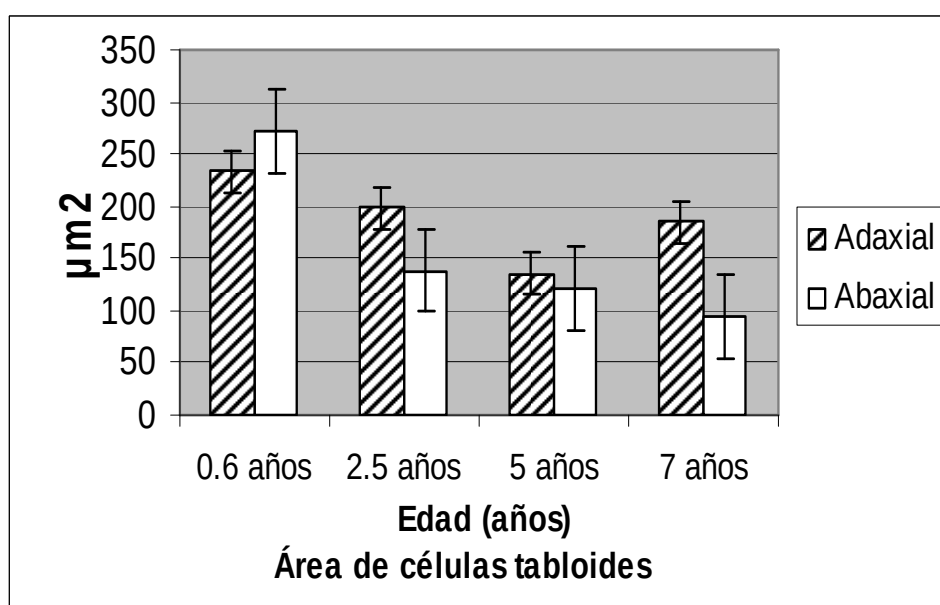
#### **4.8 Características anatómicas de la epidermis**

De acuerdo a la evaluación hecha y a los resultados obtenidos se encontró que la epidermis es típica de una sola célula de grosor tanto en la superficie adaxial como en la superficie abaxial, por lo que se considera que es uniestrata, el área promedio de las células tabloides es mayor en plantas de 0.6 años con  $272.27\mu\text{m}^2$  y menor área en las plantas de 7 años con  $93.58\mu\text{m}^2$ , ambos en la superficie abaxial; en la superficie adaxial es mayor en las plantas de 0.6 años con  $232.95\mu\text{m}^2$  y menor en las plantas de 5 años con  $135.9\mu\text{m}^2$ , para el ancho de la epidermis es mayor en las plantas de 2.5 años con  $28.57\mu\text{m}$ , en menor las de 5 años con  $26.75\mu\text{m}$ , ambos en la superficie adaxial, para la superficie abaxial las plantas de 0.6 años tienen el mayor promedio con  $25.93\mu\text{m}$  y en menor cantidad las plantas de 2.5 años con  $21.17\mu\text{m}$  (cuadro 10 y Apéndice J, K y L )

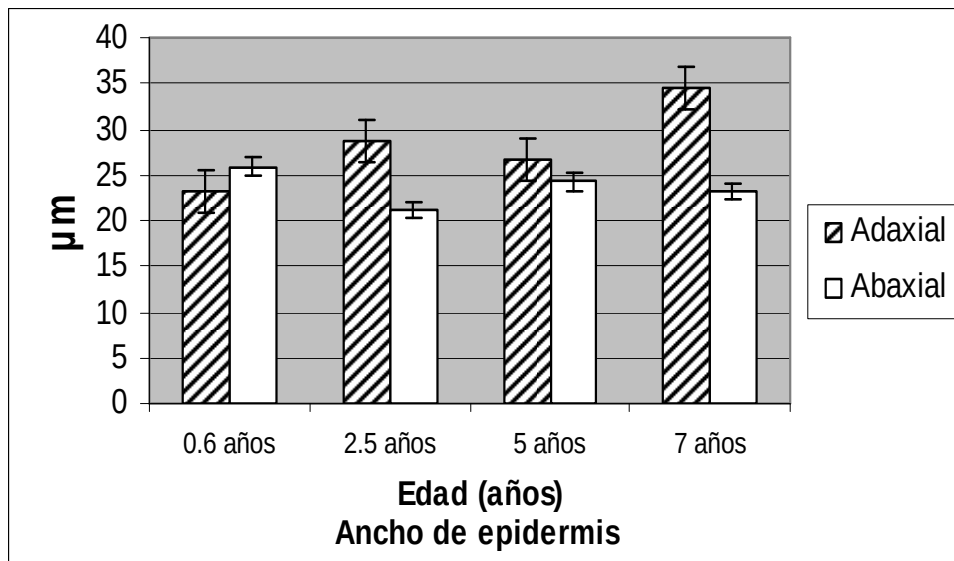
Presenta células tabloides alargadas rectas en la vista frontal muy unidas a las células adyacentes del estoma en ambas superficies foliares, lo que concuerda con Esau, (1976) que menciona que las células tabloides alargadas se encuentran a menudo sobre estructuras también alargadas, tales como tallos, peciolo, venas foliares y hojas como las de la mayoría de las monocotiledóneas, y en la vista transversal se muestran las células bastante visibles en forma redondeada y cutícula evidente, además de la presencia de cloroplastos no bien diferenciados sobre todo en la edad de 0.6 años y 2.5 años, en las edades de 5 años y 7 años ya no era tan visible la presencia de cloroplastos (Apéndice O).

**Cuadro 10** Área promedio de las células tabloides y ancho promedio de la epidermis en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel. en la superficie adaxial y abaxial.

| Edad     | Adaxial                                    |                                   | Abaxial                                    |                                   |
|----------|--------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------|
|          | Área células tabloides ( $\mu\text{m}^2$ ) | Ancho epidermis ( $\mu\text{m}$ ) | Área células tabloides ( $\mu\text{m}^2$ ) | Ancho epidermis ( $\mu\text{m}$ ) |
| 0.6 años | 232,95                                     | 23,25                             | 272,27                                     | 25,93                             |
| 2.5 años | 198,18                                     | 28,57                             | 138,53                                     | 21,17                             |
| 5 años   | 135,9                                      | 26,75                             | 121,50                                     | 24,23                             |
| 7 años   | 185,08                                     | 34,4                              | 93,58                                      | 23,17                             |
| Media    | 188,03                                     | 28,25                             | 156,47                                     | 23,63                             |



**Figura 11** Área promedio de células tabloides adaxial y abaxial en cuatro edades de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.)



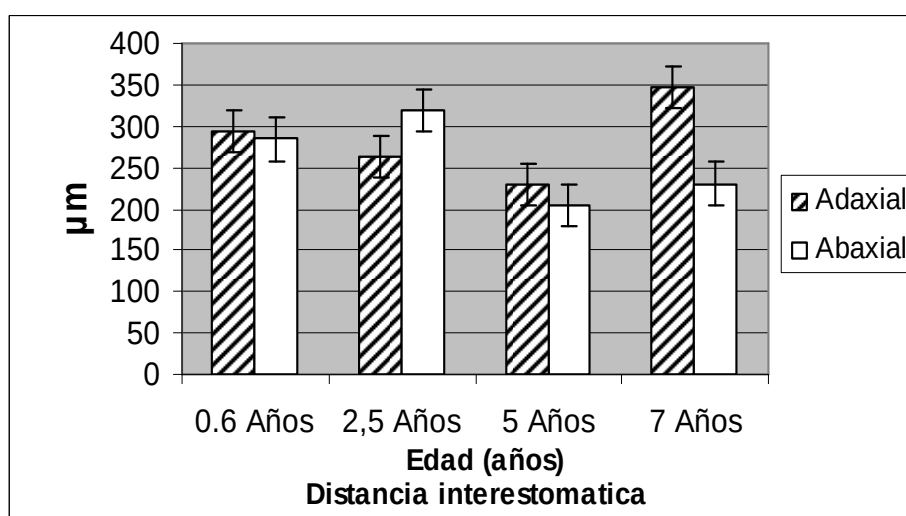
**Figura 12** Ancho promedio de la epidermis adaxial y abaxial en cuatro edades de sotol (*Dasylirion cedrosanum* Trel.)

La evaluación muestra la presencia de estomas en la superficie tanto adaxial como abaxial, lo que indica que la lamina foliar es del tipo anfiestomatico (Flores-Vindas, 1999), mas o menos la misma cantidad de estomas en las dos superficies, con un ligero numero mayor de estomas en la superficie adaxial.

En el estudio hecho se observo que presenta una organización o distribución de estomas en líneas o hileras, típica de las monocotiledóneas (Apéndice O), con una distancia mayor entre estomas de 347.98  $\mu\text{m}$  en la edad de 7 años en la superficie adaxial y menor en la de 5 años con 228.85  $\mu\text{m}$ , para la superficie abaxial la mayor distancia entre estomas la obtuvo la edad de 2.5 años con 318.23  $\mu\text{m}$  y en menor longitud en esta superficie es la de 5 años con 204.75  $\mu\text{m}$  (cuadro 11 y figura 13). En la vista frontal y transversal es visible las células adjuntas por encima del nivel de las células oclusivas y células tabloides. De acuerdo a Hernández (2005), las células oclusivas en la posición hundida favorece la minimización de la perdida del vapor de agua, como parte de una adaptación al medio ambiente (Apéndice O y P).

**Cuadro 11** Distancia interestomatica en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel. en la superficie adaxial y abaxial.

| Distancia interestomatica ( $\mu\text{m}$ ) |               |               |
|---------------------------------------------|---------------|---------------|
| Edad                                        | Adaxial       | Abaxial       |
| <b>0.6 Años</b>                             | <b>292.72</b> | <b>284.21</b> |
| <b>2,5 Años</b>                             | <b>263.80</b> | <b>318.23</b> |
| <b>5 Años</b>                               | <b>228.85</b> | <b>204.75</b> |
| <b>7 Años</b>                               | <b>347.98</b> | <b>230.75</b> |



**Figura 13** Distancia interestomatica adaxial y abaxial en cuatro edades de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.)

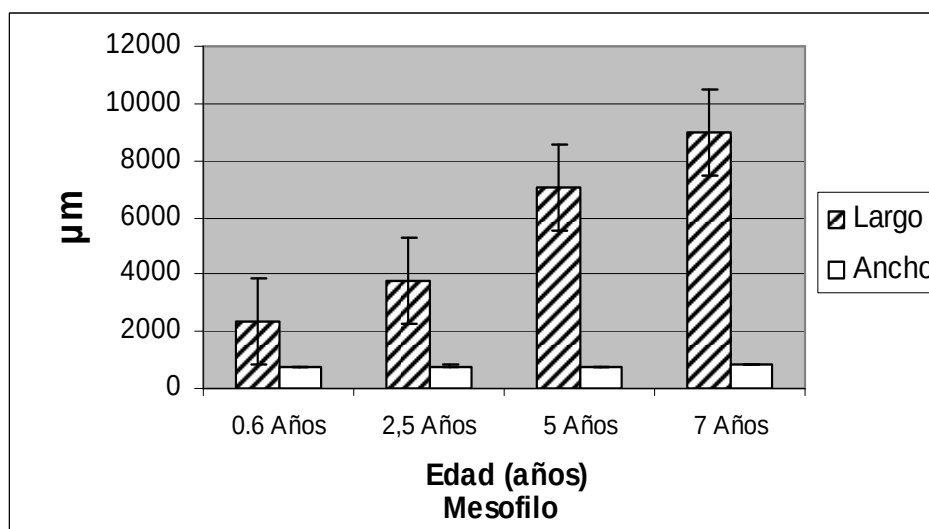
Lo que respecta al complejo estomatico, esta conformado por cuatro células epidérmicas adyacentes (2 células polares y 2 células laterales) asociadas a las células oclusivas, lo cual indica que esta morfología es del tipo tetracístico (Gentry y Sauck, 1978, tomado de Hernández, 2005) por la presencia de cuatro células epidérmicas que definen un ostiolo con forma cuadrangular-rectangular (Apéndice O y P), además es visible la cámara subestomática muy amplia que interrumpe el parénquima en empalizada. De acuerdo a Dickison, (1999), tomado de Hernández, (2005), indica que este tipo de complejo estomatico representa un nivel más alto de desarrollo y avance evolutivo, puesto que la más importante función de estas células es el almacenamiento de grandes cantidades de agua.

#### 4.9 Características anatómicas del mesofilo

La evaluación hecha nos revelo que la anatomía del mesofilo de *Dasyllirion cedrosanum* es bastante interesante, existe parénquima en empalizada en ambas caras de la hoja y una banda de parénquima esponjoso en la porción central del limbo foliar, por esta característica se dice que es equilateral o equibilateral (Fahn, 1974), (Apéndice Q).

**Cuadro 12** Longitud y ancho del mesofilo, numero de estratos de parénquima abaxial, adaxial y en el centro del mesofilo en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

| Edad     | Mesofilo ( $\mu\text{m}$ )        |                                             |                                      |                                      |                                        |
|----------|-----------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------|
|          | Longitud mesofilo<br>(Ancho hoja) | Ancho mesofilo<br>( $\text{I}$ superficies) | No. estratos<br>(Parénquima abaxial) | No. estratos<br>(Parénquima adaxial) | No. estratos<br>(Parénquima esponjoso) |
| 0.6 Años | 2364,49                           | 788,57                                      | 2,88                                 | 2,96                                 | 12,88                                  |
| 2,5 Años | 3742,24                           | 796,49                                      | 5,88                                 | 6,08                                 | 9,6                                    |
| 5 Años   | 7075,57                           | 782,30                                      | 6,32                                 | 6,84                                 | 10,24                                  |
| 7 Años   | 8962,97                           | 813,66                                      | 5,64                                 | 5,6                                  | 9,84                                   |
| Medía    | 5536,32                           | 795,25                                      | 5,18                                 | 5,37                                 | 10,64                                  |



**Figura 14** Longitud (ancho hoja) y ancho (distancia entre las superficies) del mesofilo de hoja de *Dasyllirion cedrosanum* Trel. de cuatro edades.



A medida que las plantas tienen una mayor edad, las características propias del mesofilo se van diferenciando más claramente (Apéndice R). En las plantas de 0.6 años el mesofilo tiene un largo promedio de 2364.49  $\mu\text{m}$  y un ancho de 788.57  $\mu\text{m}$ , el parénquima se presenta en empalizada en la superficie abaxial de 1-5 estratos y una media de 2.88 estratos, con un área promedio de 663.15  $\mu\text{m}^2$  y la superficie adaxial con 1-5 estratos y una media de 2.96 estratos, con un área promedio de 525.3368  $\mu\text{m}^2$  con presencia abundante de cloroplastos y el resto del mesofilo en la parte central, tipo esponjoso de 10-21 estratos y una media de 12.88 estratos con un área promedio de 1688.5508  $\mu\text{m}^2$  sin presencia de cloroplastos, para obtener un área promedio total del parénquima de 2877.04  $\mu\text{m}^2$  (cuadro 12 y 13).

En las plantas de 2.5 años el mesofilo tiene un largo promedio de 3742.24  $\mu\text{m}$  y un ancho de 796.49  $\mu\text{m}$ , el parénquima se presenta la misma distribución que en las plantas de 0.6 años, solo que el tipo empalizada ocupa un mayor espacio en el mesofilo, con un rango de estratos de 3-9 en la superficie abaxial y una media de 5.88 estratos con un área promedio de 604.79  $\mu\text{m}^2$  y en la superficie adaxial con 5-8 estratos y una media de 6.08 estratos con un área promedio de 790.86  $\mu\text{m}^2$ , con presencia de cloroplastos y el parénquima esponjoso en la parte central del mesofilo redujo su espacio con 6-14 estratos con una media de 9.6 estratos y un área promedio de 1260.02  $\mu\text{m}^2$ , sin presencia de cloroplastos, para obtener un área promedio total del parénquima de 2655.66  $\mu\text{m}^2$  (cuadro 11 y 12).

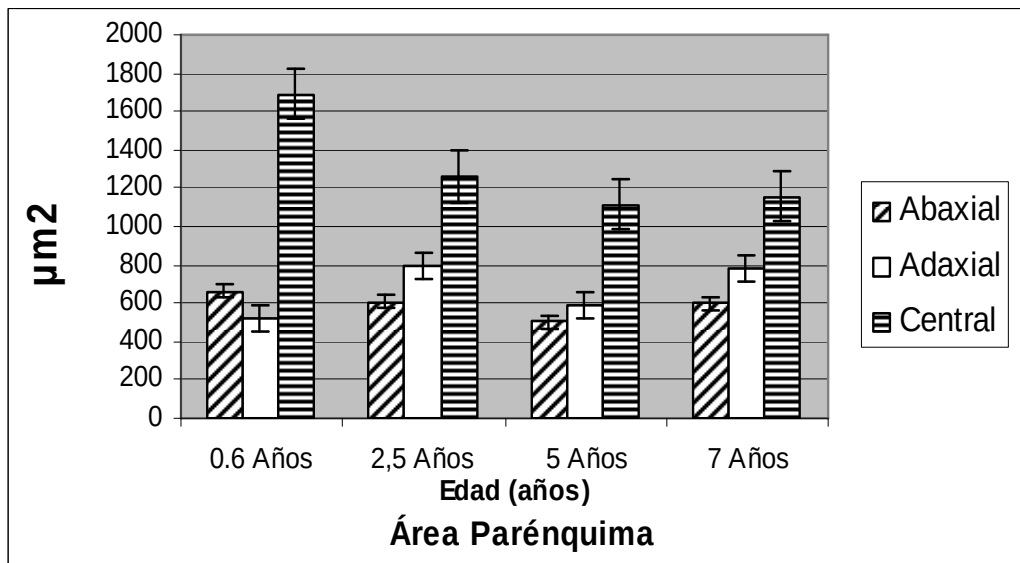
En las plantas de 5 años el mesofilo tiene un largo promedio de 7075.57  $\mu\text{m}$  y un ancho de 782.30  $\mu\text{m}$ , el parénquima se presenta tanto en la superficie adaxial y abaxial y es del tipo empalizada, solo que este ocupa un mayor espacio en el mesofilo que en las edades anteriores con un promedio en la superficie abaxial de 6.32 estratos, en un rango de 4-8 estratos y un área promedio de 503.46  $\mu\text{m}^2$  y en la superficie adaxial de 4-10 estratos con una media de 6.84 estratos y un área promedio de 583.26  $\mu\text{m}^2$  y en la parte central el de tipo esponjoso en menor cantidad con un rango de 4-18 estratos y una media de 10.24 estratos con un área promedio 1111.60  $\mu\text{m}^2$  para obtener un área promedio total del has vascular de 2198.32  $\mu\text{m}^2$  y

en las plantas de 7 años el mesofilo tiene un largo promedio de 8962.97  $\mu\text{m}$  y un ancho de 813.66  $\mu\text{m}$ , el parénquima con mayor espacio ocupado, se presenta en empalizada en la superficie abaxial con 4-7 estratos, con una media de 5.64 estratos y un área promedio de 597.01  $\mu\text{m}^2$  y la superficie adaxial con un rango de 4-8 estratos y una media de 5.6 estratos con un área promedio de 783.13  $\mu\text{m}^2$  y el tipo esponjoso en la parte central con 6-16 estratos y una media de 9.84 estratos con un área promedio de 1156.29  $\mu\text{m}^2$ ; para obtener un área promedio total del parénquima de 2536.34  $\mu\text{m}^2$ , además se encontró la presencia de cristales en ambos tipos de parénquimas, en la parte abaxial, adaxial y central y de presentar en el centro del mesofilo sobre el parénquima esponjoso una nervadura y venas de xilema (cuadro 12 y 13).

El análisis hecho del mesofilo mostró que a medida que la planta es de mayor edad, el mesofilo va aumentando su grosor, (cuadro 12), al igual que el parénquima en la superficie adaxial, situación contraria para el área del parénquima, que disminuyo ligeramente su área promedio en la superficie abaxial y central, con un ligero aumento en la edad de 7 años ( cuadro 12).

**Cuadro 13** Área promedio del parénquima abaxial, adaxial y central en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

| Edad            | Área del Parénquima ( $\mu\text{m}^2$ ) |               |                | Área total Parénquima |
|-----------------|-----------------------------------------|---------------|----------------|-----------------------|
|                 | Abaxial                                 | Adaxial       | Central        |                       |
| <b>0.6 Años</b> | <b>663,16</b>                           | <b>525,34</b> | <b>1688,55</b> | <b>2877,04</b>        |
| <b>2,5 Años</b> | <b>604,78</b>                           | <b>790,86</b> | <b>1260,02</b> | <b>2655,66</b>        |
| <b>5 Años</b>   | <b>503,46</b>                           | <b>583,26</b> | <b>1111,59</b> | <b>2198,32</b>        |
| <b>7 Años</b>   | <b>597,10</b>                           | <b>783,13</b> | <b>1156,21</b> | <b>2536,34</b>        |



**Figura 15** Área promedio del parénquima de hoja de cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

#### 4.10 Características anatómicas del sistema vascular

La evaluación hecha mostró una interesante organización del sistema vascular, en cuanto a numero de haces por superficie presentes en el mesofilo, en cada una de las cuatro edades ( Figura 16).

Las plantas evaluadas de 0.6 años muestran la distribución de los haces vasculares con un numero promedio mayor en la parte abaxial con 4, en la región central del mesofilo con un promedio de 3.36 haces y 2.2 haces en la parte adaxial. Las plantas de 2.5 años presenta un promedio mayor de haces en la superficie abaxial con 9.84, seguida de la superficie adaxial con 9.12 y en la parte central no se encontraron haces vasculares. Para las plantas evaluadas de 5 años el mayor promedio fue en la superficie abaxial con 25.56 haces presentes en el mesofilo, seguida de la superficie adaxial con 18.8 haces y la parte central en menor cantidad con 2.32 haces. En las plantas de 7 años el promedio mayor de haces vasculares se presento hacia la superficie adaxial con 29.84, seguido por la superficie abaxial ligeramente menor con 26.16 haces y en menor cantidad la parte central con 8.64 haces (cuadro 14)

**Cuadro 14** Numero promedio de haces vasculares por superficie foliar en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel. vista transversal a 40 X.

| Edad     | Numero de haces vasculares por superficie |         |         |
|----------|-------------------------------------------|---------|---------|
|          | Abaxial                                   | Adaxial | central |
| 0.6 Años | 4                                         | 2,2     | 3,36    |
| 2,5 Años | 9,84                                      | 9,12    | 0       |
| 5 Años   | 25,56                                     | 18,8    | 2,32    |
| 7 Años   | 26,16                                     | 29,84   | 8,64    |

La evaluación hecha con respecto al área de los haces vasculares en las cuatro edades lanzo el siguiente resultado.

A la edad de 0.6 años la distribución de los haces vasculares se encontró en la parte central del mesofilo con un área promedio de  $404.11 \mu\text{m}^2$ , la cual se concentro en su mayor parte en el xilema con una área promedio de  $216.03 \mu\text{m}^2$  , seguida del floema

con un área promedio de  $95.07 \mu\text{m}^2$  y esclerénquima con un área de  $93.0 \mu\text{m}^2$  (cuadro 17).

A la edad de 2.5 años los haces vasculares, con una distribución hacia la superficie adaxial con un área promedio de  $321.54 \mu\text{m}^2$ , concentrada en su mayor parte de xilema con un área promedio de  $165.82 \mu\text{m}^2$ , seguido de esclerénquima con un área de  $106.37 \mu\text{m}^2$  y en menor cantidad el floema con  $49.35 \mu\text{m}^2$  (cuadro 16), además es visible en el borde del mesofilo que da al medio ambiente una acumulación de esclerénquima

A la edad de 5 años los haces vasculares, seguían la tendencia de la distribución hacia la superficie adaxial con un área promedio de  $388.21 \mu\text{m}^2$ , concentrada en su mayor parte de xilema con un área promedio de  $232.03 \mu\text{m}^2$ , seguido de esclerénquima con un área de  $99.44 \mu\text{m}^2$  y en menor cantidad el floema con  $61.74 \mu\text{m}^2$  (cuadro 16), además es visible en el borde del mesofilo que da al medio ambiente una acumulación de esclerénquima y en la parte central del mesofilo se visualiza la nervadura central y venas del xilema.

A la edad de 7 años está totalmente diferenciado el mesofilo, la distribución de los haces vasculares es hacia la superficie adaxial con un área promedio de  $348.75 \mu\text{m}^2$ , concentrada en su mayor parte de xilema con un área promedio de  $199.41 \mu\text{m}^2$ , seguido de esclerénquima con un área de  $101.54 \mu\text{m}^2$  y en menor cantidad el floema con  $47.80 \mu\text{m}^2$  (cuadro 16), es visible en esta edad rodeando el haz vascular una vaina de parénquima, además es notorio en el borde del mesofilo que da al medio ambiente una acumulación de esclerénquima y en la parte central del mesofilo se visualiza una nervadura central y venas del xilema, además hay presencia de cristales incrustados en los haces vasculares, tanto abaxial, central y adaxial, específicamente en el esclerénquima.

**Cuadro 15** Área promedio del haz vascular en la superficie abaxial en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

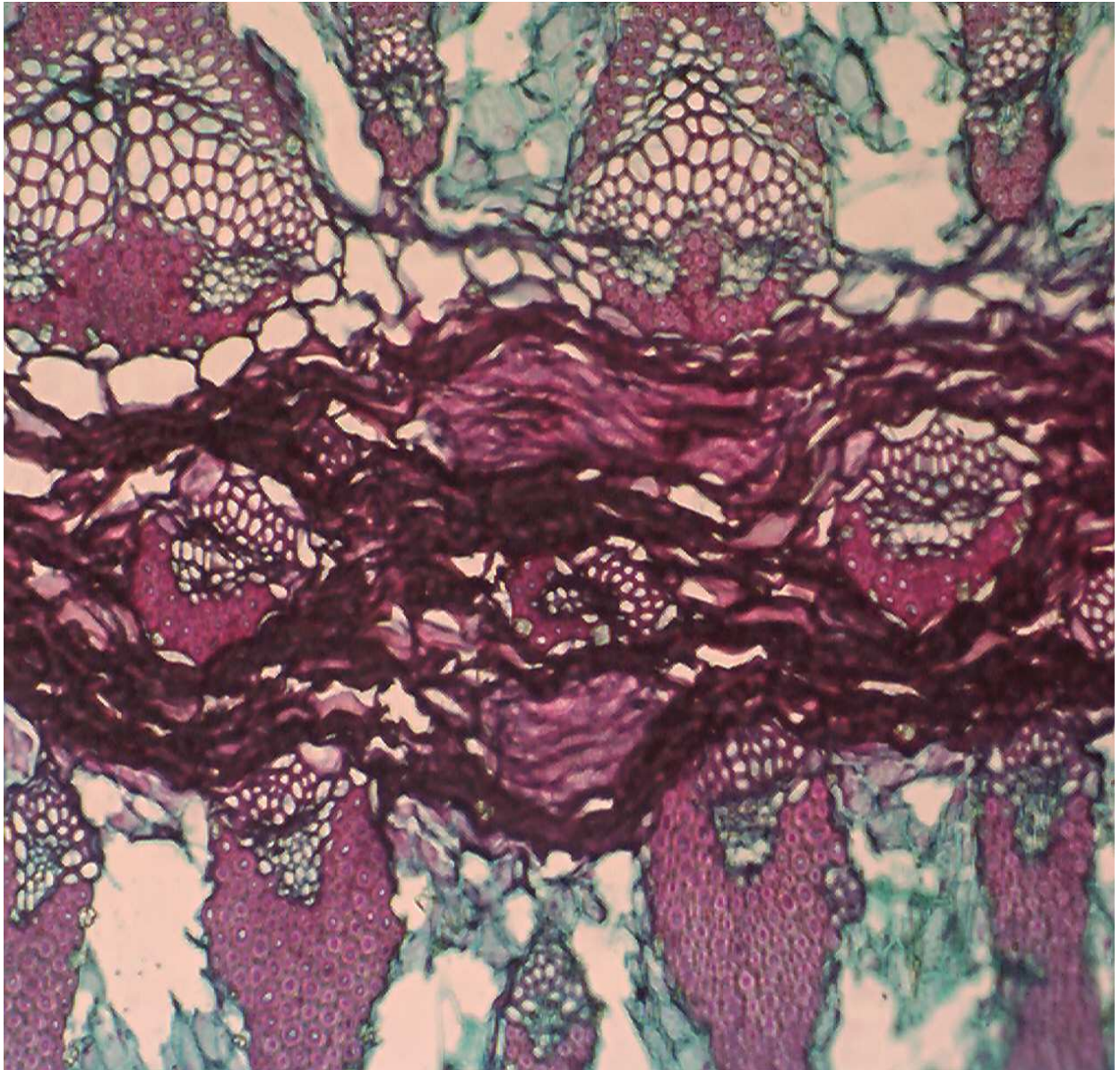
| No.      | Abaxial |        |               | Área total<br>Haz<br>Vascular |
|----------|---------|--------|---------------|-------------------------------|
|          | xilema  | floema | esclerénquima |                               |
| 0.6 Años | 102,32  | 52,12  | 112,44        | 266,88                        |
| 2,5 Años | 60,91   | 33,87  | 101,55        | 196,34                        |
| 5 Años   | 46,38   | 34,87  | 105,73        | 186,98                        |
| 7 Años   | 58,80   | 28,67  | 81,43         | 168,91                        |

**Cuadro 16** Área promedio del haz vascular en la superficie adaxial en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

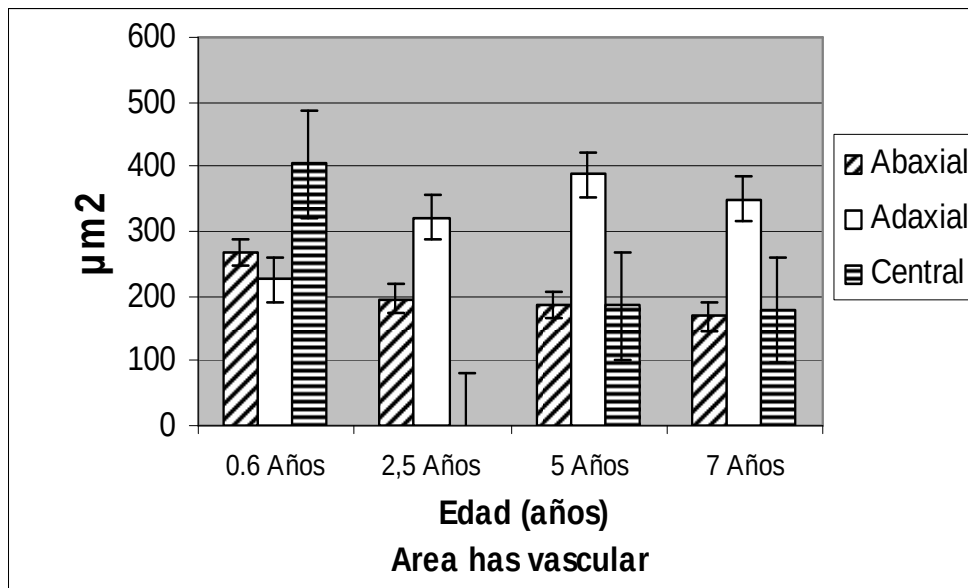
| No.      | Adaxial |        |               | Área total<br>Haz<br>Vascular |
|----------|---------|--------|---------------|-------------------------------|
|          | xilema  | floema | esclerénquima |                               |
| 0.6 Años | 107,95  | 27,58  | 90,43         | 225,96                        |
| 2,5 Años | 165,82  | 49,35  | 106,37        | 321,54                        |
| 5 Años   | 232,03  | 61,74  | 94,44         | 388,21                        |
| 7 Años   | 199,41  | 47,79  | 101,54        | 348,75                        |

**Cuadro 17** Área promedio del haz vascular en la superficie central del mesofilo en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

| Edad     | Central |        |               | Área total<br>Haz<br>Vascular |
|----------|---------|--------|---------------|-------------------------------|
|          | xilema  | floema | esclerénquima |                               |
| 0.6 Años | 216,03  | 95,07  | 93,00         | 404,11                        |
| 2,5 Años | 0       | 0      | 0             | 0                             |
| 5 Años   | 56,96   | 42,76  | 84,83         | 184,55                        |
| 7 Años   | 75,41   | 23,96  | 79,37         | 178,74                        |



**Figura 16** Mesofilo de *Dasyllirion cedrosanum* de 7 años a 40 X. Véase la mayor cantidad de xilema en la superficie adaxial (superior de la imagen) y la mayor cantidad de esclerénquima en la superficie abaxial (inferior de la imagen) y la parte central con una cantidad mas homogénea en los componentes del haz vascular.



**Figura 17** Área promedio del haz vascular en la superficie abaxial, adaxial y central en cuatro edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

Sin embargo se pudo analizar que el haz vascular en la superficie abaxial, a medida que la edad es mayor este disminuye su área promedio (cuadro 15), la misma situación para el haz vascular en la parte central, que a medida que la edad es mayor el haz disminuye su área promedio (cuadro.17), situación contraria para la superficie adaxial donde a medida que la edad es mayor, el área promedio del haz vascular también es mayor (cuadro 16).



## 5 CONCLUSIONES

La evaluación hecha en plantas de 4 edades de *Dasyllirion cedrosanum* Trel permitió la generación de información descriptiva para la caracterización morfológica, anatómica e histológica

- ❖ La semilla tuvo una buena emergencia, comparado con la germinación natural de la especie, sin embargo no es la óptima, ya que en relación a trabajos analizados, donde se trataron las semillas para romper la latencia, esta es baja.
- ❖ El *Dasyllirion cedrosanum* presenta baja densidad estomatica e índice estomatico, característica estratégica de adaptabilidad de la especie para evitar el exceso de transpiración en las condiciones naturales de su hábitat.
- ❖ Las características histológicas parecen fuertemente relacionadas con las condiciones ambientales del hábitat natural donde se desarrolla el *Dasyllirion cedrosanum*. Todas las variables estudiadas se relacionan con eficiencia hídrica, mostrando el nivel evolutivo adaptativo de la planta.
- ❖ Cabe mencionar que aunque no fue objeto de medición, las plantas de sotol de 0.6 años que se establecieron en condiciones ambientales favorables, tuvieron una reacción positivo a la aplicación de riego y fertilización, además de expresarse en la evaluación de resultados.
- ❖ Este trabajo de investigación al parecer documenta por primera ocasión las características morfológicas, anatómicas e histológicas de *Dasyllirion cedrosanum* Trel. Estos resultados revelan diferencias en las estructuras, en las diferentes edades, cabe mencionar que los resultados pueden ser mas claros si el rango de edad de las plantas es con una diferencia mayor entre cada una de ellas, esto debido a que la especie es de crecimiento lento y requiere un promedio de 12-15 años para su madurez.

## 6 LITERATURA CITADA

- Arce, G.L.; J. R. Valdez, O. A. Valdez, D. A. Gallegos y G. E. R. Calderón. 2004a. Rompimiento de latencia en semillas de sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel) mediante escarificación física y ácido sulfúrico. *Ciencia Forestal en México*, 29(95): 496-500
- Arce, G.L.; J. R. Valdez, O. A. Valdez, D. A. Gallegos y V. G. Padilla. 2004b. Pruebas de germinación en semillas de sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.) utilizando extractos secos de lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) bajo condiciones de laboratorio. *Ciencia Forestal en México*, 29(95): 492-495
- Benavides-Mendoza, A., R. V. Dávila-Salinas, F. Rincón-Sánchez, H. Ramírez, L.O. Fuentes Lara. 2005. Respuesta en la densidad estomática y de células tabulares de maíces bajo estrés por NaCl. Resultados de Proyectos de investigación 2004. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ISBN 968-844-041-8. P.p. 182-186.
- Benavides, M.A., H. R. Ramírez; T. V. Robledo; D. J. Hernández; M. G. Ramírez; T. E. Bacopulos; R. A. Sandoval y G. M. A. Bustamante. 2002. Seed treatment with salicylates modifies stomatal distribution, stomatal density, and the tolerance to cold stresses in pepper seedlings. Proceedings of the 16th International Pepper Conference, Tampico, Tamaulipas, México.
- Bidwell, R.G.S. 2002. Fisiología Vegetal. AGT Editor. Tercera Reimpresión. Mexico, D. F. 762 Págs.
- Calderón, G.E.R. 2004. Rompimiento de Latencia en Semillas de Sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.) mediante Escarificación Física y Química. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.

- Cano, P. A.; Q. D. Castillo; R. C. A. Berlanga; B. O. U. Martínez y G. E. E. Villavicencio. 2005. Informe Anual de Actividades. Desarrollo tecnológico para el manejo sustentable del sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) en el estado de Coahuila. INIFAP-CIRNE. Campo experimental Saltillo. Saltillo, Coahuila; Mexico.
- Cañizares, A; M. E. Sanabria; D. A. Rodríguez; y Y. Perozo. 2003. Características de los estomas, índice y densidad estomatica de las hojas de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) injertada sobre ocho patrones cítricos. *Revista Científica UDO Agrícola*. 3(1): 59-64
- Castellano, M. E. y G. J. J. Vergara. 1983. El sotol. Agricultura de zonas áridas. Chapingo, México.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. U.S.A. The New York Botanical Garden. 1243 Págs.
- Cronquist, A. 1984. Introducción a la Botánica. Editorial Continental. 7ª. Reimpresión. Mexico D.F. 828 Págs.
- Dzib, C. M. E. 2003. Rompimiento de latencia en semillas de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) utilizando algunos métodos de físicos y químicos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.
- Esau, K. 1976. Anatomía Vegetal. Editorial Omega, S.A. Barcelona, España. 763 Págs.
- Fahn, A. 1974. Anatomía Vegetal. H. Blume Ediciones. Madrid, España. 627 Págs.
- Flores-Vindas E. M. 1999. La planta: estructura y función. Libro Universitario Regional (EULAC/GTZ). Volumen I. Costa Rica y Alemania. 367 Págs.
- García, G. J. 1979. El Sotol. Seminario preparado en el curso de zonas áridas. Chapingo, Mexico.

- García M. y Madriz P. 1999. Anatomía foliar comparada de cinco genotipos de fríjol mungo, *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 1999, 16: 610-620
- García, S. A. 1952. Comparación de sotol y alfalfa en la alimentación de vacas lecheras. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.
- González, E. A. ; P. E. Cedillo y G. L. Díaz. 2007. Morfología y anatomía de las plantas con flores. Ed. Universidad Autónoma Chapingo. Mexico D.F. 273 Págs.
- Hernández, S. M. 1990. Manual de Laboratorio: Citología y Citogenética. Editorial Trillas: UAAAN. México. 105 Págs.
- Hernández, V.R.E.M. 2005. Micromorfología de la epidermis foliar de plantas sanas y enfermas de Agave tequilaza Weber. Tesis de doctorado en ciencias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.
- Norma Oficial Mexicana. 2004. (NOM-159-SCFI-2004). Bebidas Alcohólicas-Sotol-Especificaciones y Métodos de Prueba. 29 Págs.
- <http://gened.emc.maricopa.edu/Bio/BIO181/BIOBK/BioBookTOC.html>
- <http://es.wikipedia.org/> la enciclopedia libre.mht
- <http://foros.forosmexico.com/archive/index.php?t-866.html>
- Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI). 2002. Declaración de Protección a la Denominación de origen sotol. 5 Págs.
- Johnston, I.M. 1943. Plantas de Coahuila, este de Coahuila y regiones adyacentes de Zacatecas y Durango. *Journal of the Arnold Arboretum*. Vol. XXIV. 241 Págs.

- Lira, S. R. H. 1994. Fisiología Vegetal. Editorial Trillas: UAAAN. México, D.F. 237 Págs.
- López, B. L. A. 2005. El sotol en Coahuila, potencialidades y limitaciones en: Bebidas y regiones: Historia e impacto de la cultura etílica en México. Contreras D. C. y Ortega, I. Ed. Plaza y Valdés, CoEd. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro: Universidad Autónoma de Yucatán: Consejo para la Cultura y las Artes de Nuevo León. Mexico. 173 Págs. en <http://books.google.com.mx/books?isbn=970722388X>.
- Melgoza, C. A. y T. J. S. Sierra. 2003. Contribución al conocimiento y distribución de las especies de *Dasyilirion* spp. (Sotol) en Chihuahua, México. *Rev. Ciencia Forestal en México*, 93 (28): 25-40
- Molina, G. J. D. 1983. Recursos agrícolas de zonas áridas y semiáridas de México. Ed. Colegio de postgraduados. Chapingo, Mexico. 159 Págs.
- Olhagaray, R.E.C., Esparza, CH. G. y Vega, S. F. 2004. Producción y comercialización de licores de sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.) en Durango, Mexico. *Rev. Ciencia Forestal en Mexico*. 95 (29):83-84
- Olivares, S. E. 1994. Paquete de diseños experimentales Facultad de la Universidad Autónoma de Nuevo León. FAUANL. Versión 2.5 Facultad de Agronomía. UANL. Marín, N. L.
- Órnelas, I. P. 2004. Monografía del sotol. Monografía de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.
- Palma, E. J. I. 2000. Bases para la propagación de sotol (*Dasyilirion* spp) vía in Vitro y por semilla. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales. Secretaría de investigación y postgrado. Universidad Autónoma de Chihuahua. Cd. Delicias, Chihuahua; México.

- Rivera, Q. J. R. 1987. Aprovechamiento de Candelilla, Orégano y sotol en la comarca lagunera. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Cd. Lerdo, Durango; México.
- Rojas, G.M. y Rovalo M.M. 1985. Fisiología vegetal aplicada. 3ª. edición. McGraw-Hill de México, S.A. de C.V. México, D.F. 298 Págs.
- SEMARNAT. 2001. SEMARNAT.gob.mx/pfnm3/fichas/dasyilirioncedrosanum.Html 2001
- Vázquez, S. Q. 2001. Combinación y concentración de reguladores de crecimiento para el enraizamiento de sotol (*Dasyilirion leiophyllum* Engelm. Ex Trelease) in vitro. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales. Universidad Autónoma de Chihuahua. Cd. Delicias, Chihuahua; México.
- Velásquez, C. R. 1983. El Sotol. Agricultura de zonas áridas. Chapingo, México.
- Verdugo O. V.; D. A. Rojas.; L. R. A De León.; B. C. Zambrano.; S. R. Barrios.; E. N. León.; B. B. Ríos y A. M. Benavides. 1999. Estimación del índice estomático y la frecuencia estomática en 4 variedades de ajo (*Allium sativum* L.). En: [http://www.herbario.com.br/dataherb%20\\_rev\\_disc\\_univ\\_2\\_4/indiceestomatho.htm](http://www.herbario.com.br/dataherb%20_rev_disc_univ_2_4/indiceestomatho.htm)

# APÉNDICE

**A. Densidad de células tabloides, densidad estomatica e índice estomatico en sotol de 0.6 años.**

| EDAD<br>0,6 AÑOS | DENSIDA EPIDERMICA |         | DENSIDAD ESTOMATICA |         | INDICE ESTOMATICO |             |
|------------------|--------------------|---------|---------------------|---------|-------------------|-------------|
|                  | ADAXIAL            | ABAXIAL | ADAXIAL             | ABAXIAL | ADAXIAL           | ABAXIAL     |
| PLANTA 1         | 364,5              | 401,4   | 71,1                | 67,7    | 16,5074168        | 14,134038   |
| PLANTA 2         | 351                | 277     | 64,5                | 41,4    | 17,3032694        | 13,3552253  |
| PLANTA 3         | 319,4              | 351,9   | 61,1                | 58,4    | 17,5377685        | 14,54314    |
| PLANTA 4         | 300,5              | 356,1   | 48,8                | 71,8    | 13,08876          | 16,63797    |
| PLANTA 5         | 297,5              | 372,8   | 43,7                | 40,8    | 12,11244          | 10,4428345  |
| Promedio         | 326,58             | 351,84  | 57,84               | 56,02   | 15,30993094       | 13,82264156 |

**B. Densidad de células tabloides, densidad estomatica e índice estomatico en sotol de 2.5 años.**

| EDAD<br>2,5 AÑOS | DENSIDAD EPIDERMICA |         | DENSIDAD ESTOMATICA |         | INDICE ESTOMATICO |             |
|------------------|---------------------|---------|---------------------|---------|-------------------|-------------|
|                  | ADAXIAL             | ABAXIAL | ADAXIAL             | ABAXIAL | ADAXIAL           | ABAXIAL     |
| PLANTA 1         | 239                 | 189,4   | 28                  | 50,9    | 9,797149808       | 21,22447168 |
| PLANTA 2         | 165                 | 239,6   | 44,7                | 39      | 19,53510087       | 11,69187694 |
| PLANTA 3         | 120,3               | 168,1   | 16                  | 17,1    | 12,10035195       | 9,710163379 |
| PLANTA 4         | 143,1               | 114,4   | 30                  | 31,1    | 18,37187416       | 22,74774934 |
| PLANTA 5         | 332,8               | 134,4   | 88,5                | 57,9    | 21,07815078       | 30,55516139 |
| Promedio         | 200,04              | 169,18  | 41,44               | 39,2    | 16,17652551       | 19,18588455 |

**C. Densidad de células tabloides, densidad estomatica e índice estomatico en sotol de 5 años.**

| EDAD<br>5 AÑOS | DENSIDAD EPIDERMICA |         | DENSIDAD ESTOMATICA |         | INDICE ESTOMATICO |             |
|----------------|---------------------|---------|---------------------|---------|-------------------|-------------|
|                | ADAXIAL             | ABAXIAL | ADAXIAL             | ABAXIAL | ADAXIAL           | ABAXIAL     |
| PLANTA 1       | 224,7               | 151,9   | 46,3                | 56,4    | 17,19643812       | 27,61210122 |
| PLANTA 2       | 204,8               | 168     | 59,6                | 41,8    | 22,87961388       | 19,88725234 |
| PLANTA 3       | 251                 | 164,5   | 54                  | 57,5    | 18,39195665       | 26,54198726 |
| PLANTA 4       | 265                 | 211,9   | 52,1                | 50,3    | 17,23522394       | 20,09043097 |
| PLANTA 5       | 279                 | 172,1   | 75,8                | 50,9    | 21,89213023       | 23,4394391  |
| Promedio       | 244,9               | 173,68  | 57,56               | 51,38   | 19,51907256       | 23,51424218 |

**D. Densidad de células tabloides, densidad estomatica e índice estomatico en sotol de 7 años.**

| EDAD<br>7 AÑOS | DENSIDAD EPIDERMICA |         | DENSIDAD ESTOMATICA |         | INDICE ESTOMATICO |             |
|----------------|---------------------|---------|---------------------|---------|-------------------|-------------|
|                | ADAXIAL             | ABAXIAL | ADAXIAL             | ABAXIAL | ADAXIAL           | ABAXIAL     |
| PLANTA 1       | 145,1               | 229,1   | 65,5                | 63,5    | 31,25886981       | 23,58307073 |
| PLANTA 2       | 193,1               | 259,2   | 59,5                | 69,9    | 24,72821583       | 20,3970361  |
| PLANTA 3       | 208,8               | 265     | 46                  | 46,3    | 18,14230845       | 20,69828043 |
| PLANTA 4       | 311,6               | 126,8   | 82,5                | 60,3    | 23,4095637        | 33,12210303 |
| PLANTA 5       | 212,9               | 153,3   | 62,6                | 61,1    | 21,79773462       | 29,02001453 |
| Promedio       | 214,3               | 206,68  | 63,22               | 60,22   | 23,86733848       | 25,36410096 |



### E. Análisis de varianza para índice estomático en cuatro edades de sotol

| Fuente de Variación | Grados de Libertad | Suma de cuadrados    | Cuadrados Medios              | F calculada | F tabular 0.05 | F tabular 0.01 |
|---------------------|--------------------|----------------------|-------------------------------|-------------|----------------|----------------|
| A                   | 3                  | 578,65               | 192,88                        | 8,45        | *2,9           | *4,46          |
| B                   | 1                  | 30,73                | 30,73                         | 1,35        | ns4,15         | ns7,5          |
| AB                  | 3                  | 42,99                | 14,33                         | 0,63        | ns2,9          | ns4,46         |
| Error               | 32                 | 730,33               | 22,82                         |             |                |                |
| Total               | 39                 | 1382,70              |                               |             |                |                |
| C.V.=24.38%         | A= Edad            | B= Superficie Foliar | Media de Tukey al 0.05 = 5.79 |             |                |                |

#### F. Análisis de varianza para densidad de células tabloides en cuatro edades de soto|

[illegible]

### G. Análisis de varianza para densidad estomatica en cuatro edades de sotol

[illegible]

**H. Área del parénquima en la superficie abaxial, adaxial y parte central del mesofilo en cuatro edades de sotol, unidad de medición ( $\mu\text{m}^2$ )**

| Edad     | Área del Parénquima |          |           | Área total<br>Parénquima |
|----------|---------------------|----------|-----------|--------------------------|
|          | Abaxial             | Adaxial  | Central   |                          |
| 0.6 Años |                     |          |           |                          |
| 1        | 628,294             | 638,494  | 1343,282  | 2610,07                  |
| 2        | 720,416             | 369,936  | 1382,328  | 2472,68                  |
| 3        | 713,402             | 561      | 1566,854  | 2841,256                 |
| 4        | 679,57              | 381,842  | 1405,056  | 2466,468                 |
| 5        | 574,098             | 675,412  | 2745,234  | 3994,744                 |
| Promedio | 663,156             | 525,3368 | 1688,5508 | 2877,0436                |
| 2,5 Años |                     |          |           |                          |
| 1        | 530,032             | 893,206  | 1111,736  | 2534,974                 |
| 2        | 635,798             | 697,994  | 1506,172  | 2839,964                 |
| 3        | 620,666             | 827,716  | 1277,282  | 2725,664                 |
| 4        | 606,112             | 814,104  | 977,094   | 2397,31                  |
| 5        | 631,312             | 721,262  | 1427,838  | 2780,412                 |
| Promedio | 604,784             | 790,8564 | 1260,0244 | 2655,6648                |
| 5 Años   |                     |          |           |                          |
| 1        | 827,132             | 626,33   | 1711,036  | 3164,498                 |
| 2        | 431,426             | 786,394  | 1029,454  | 2247,274                 |
| 3        | 476,594             | 472,924  | 1408,118  | 2357,636                 |
| 4        | 414,272             | 613,588  | 694,586   | 1722,446                 |
| 5        | 367,886             | 417,078  | 714,784   | 1499,748                 |
| Promedio | 503,462             | 583,2628 | 1111,5956 | 2198,3204                |
| 7 Años   |                     |          |           |                          |
| 1        | 555,602             | 948,618  | 1366,716  | 2870,936                 |
| 2        | 414,506             | 856,322  | 690,876   | 1961,704                 |
| 3        | 598,084             | 785,08   | 1178,21   | 2561,374                 |
| 4        | 761,658             | 615,41   | 1061,96   | 2439,028                 |
| 5        | 655,196             | 710,21   | 1483,282  | 2848,688                 |
| Promedio | 597,0092            | 783,128  | 1156,2088 | 2536,346                 |

**I. Área de células tabloides ( $\mu\text{m}^2$ ) y ancho de la epidermis ( $\mu\text{m}$ ) en cuatro edades de sotol en el corte transversal**

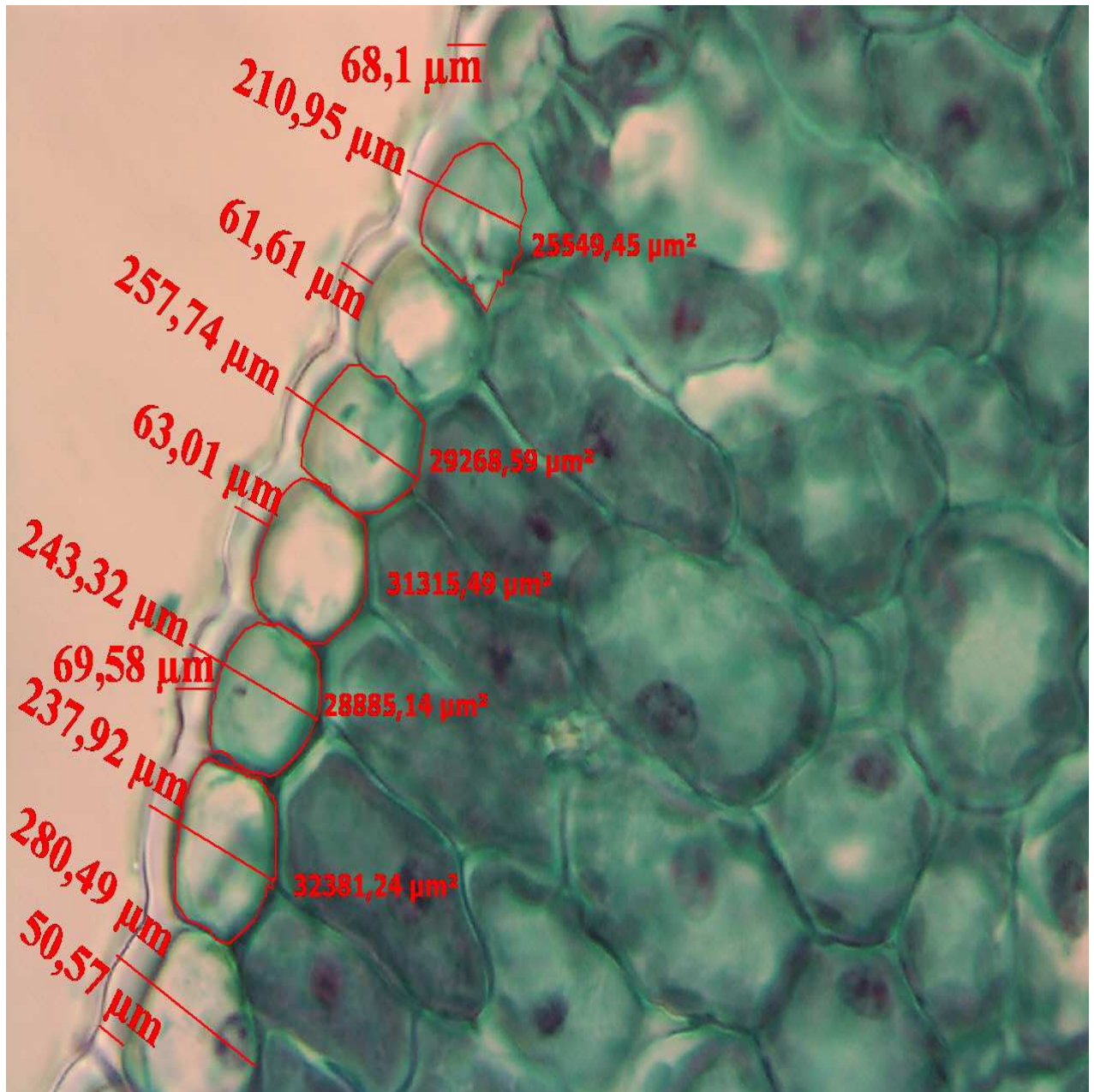
| Edad            | Adaxial                |                 | Abaxial                |                 |
|-----------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
|                 | Área células tabloides | Ancho epidermis | Área células tabloides | Ancho epidermis |
| <b>0.6 Años</b> |                        |                 |                        |                 |
| 1               | 373,654                | 27,666          | 325,384                | 30,218          |
| 2               | 294,255                | 29,884          | 259,454                | 23,406          |
| 3               | 166,108                | 19,742          | 371,442                | 30,02           |
| 4               | 163,776                | 18,712          | 112,634                | 19,196          |
| 5               | 166,944                | 20,272          | 292,419                | 26,812          |
| <b>Promedio</b> | <b>232,9474</b>        | <b>23,2552</b>  | <b>272,2666</b>        | <b>25,9304</b>  |
| <b>2,5 Años</b> |                        |                 |                        |                 |
| 1               | 162,754                | 28,726          | 113,282                | 19,312          |
| 2               | 130,646                | 23,222          | 162,898                | 23,772          |
| 3               | 391,888                | 44,324          | 132,596                | 21,882          |
| 4               | 183,54                 | 24,252          | 130,496                | 20,638          |
| 5               | 122,086                | 22,35           | 153,358                | 20,254          |
| <b>Promedio</b> | <b>198,1828</b>        | <b>28,5748</b>  | <b>138,526</b>         | <b>21,1716</b>  |
| <b>5 Años</b>   |                        |                 |                        |                 |
| 1               | 104,502                | 25,864          | 149,836                | 28,95           |
| 2               | 112,608                | 23,792          | 152,132                | 26,302          |
| 3               | 250,306                | 29,508          | 89,316                 | 20,542          |
| 4               | 151,77                 | 33,558          | 99,752                 | 22,048          |
| 5               | 60,314                 | 21,052          | 116,488                | 23,336          |
| <b>Promedio</b> | <b>135,9</b>           | <b>26,7548</b>  | <b>121,5048</b>        | <b>24,2356</b>  |
| <b>7 Años</b>   |                        |                 |                        |                 |
| 1               | 119,076                | 26,306          | 144,984                | 26,194          |
| 2               | 164,322                | 36,426          | 61,892                 | 21,728          |
| 3               | 171,924                | 34,366          | 88,33                  | 23,334          |
| 4               | 196,098                | 36,188          | 93,142                 | 22,276          |
| 5               | 273,97                 | 38,714          | 79,53                  | 22,34           |
| <b>Promedio</b> | <b>185,078</b>         | <b>34,4</b>     | <b>93,5756</b>         | <b>23,1744</b>  |

**J. Área del has vascular en la superficie abaxial, adaxial y parte central del mesofilo en cuatro edades de sotol, unidad de medición micras cuadradas ( $\mu\text{m}^2$ )**

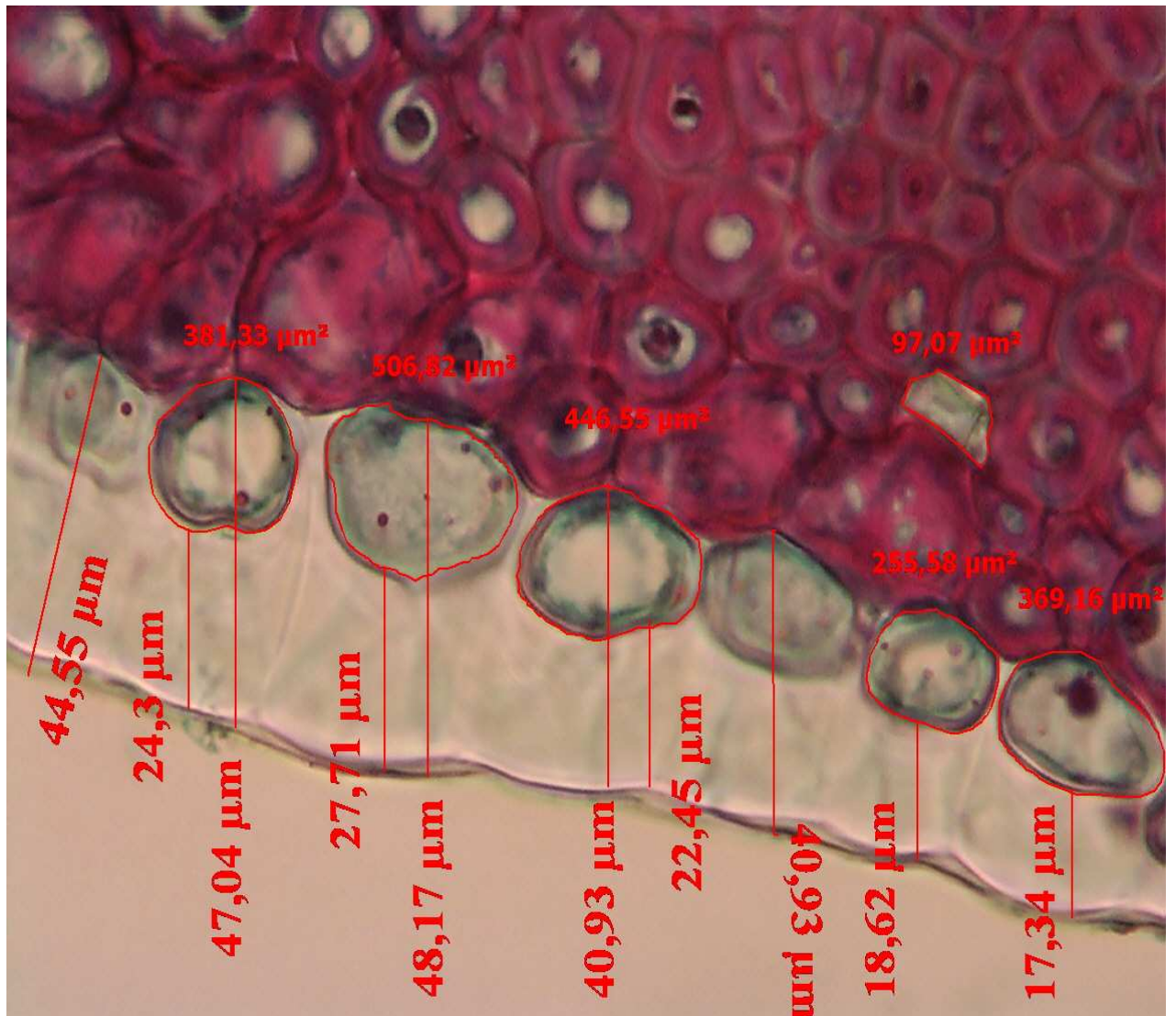
| Edad            | Abaxial |        |            | Adaxial |        |            | Central |        |            |
|-----------------|---------|--------|------------|---------|--------|------------|---------|--------|------------|
|                 | Xilema  | Floema | colénquima | Xilema  | Floema | colénquima | Xilema  | Floema | colénquima |
| <b>0.6 Años</b> |         |        |            |         |        |            |         |        |            |
| 1               | 86,66   | 40,24  | 106,99     | 114,67  | 40,76  | 76,20      | 180,67  | 56,85  | 89,54      |
| 2               | 138,18  | 120,19 | 124,316    | 141,88  | 21,92  | 79,19      | 253,05  | 46,44  | 95,47      |
| 3               | 52,50   | 35,51  | 81,14      | 88,92   | 29,31  | 81,04      | 207,69  | 99,72  | 60,21      |
| 4               | 64,13   | 24,51  | 79,65      | 104,96  | 22,86  | 130,48     | 212,63  | 92,00  | 84,27      |
| 5               | 170,13  | 40,16  | 170,10     | 89,32   | 23,06  | 85,24      | 226,11  | 180,35 | 135,53     |
| <b>Promedio</b> | 102,32  | 52,12  | 112,44     | 107,95  | 27,58  | 90,43      | 216,03  | 95,07  | 93,00      |
| <b>2,5 Años</b> |         |        |            |         |        |            |         |        |            |
| 1               | 56,55   | 24,24  | 138,97     | 294,89  | 66,37  | 117,75     | 0       | 0      | 0          |
| 2               | 56,49   | 40,19  | 98,08      | 81,05   | 44,67  | 78,46      | 0       | 0      | 0          |
| 3               | 57,84   | 40,74  | 83,04      | 68,96   | 50,11  | 145,14     | 0       | 0      | 0          |
| 4               | 74,21   | 26,56  | 95,29      | 177,13  | 52,29  | 84,49      | 0       | 0      | 0          |
| 5               | 59,46   | 37,62  | 92,39      | 207,07  | 33,34  | 106,01     | 0       | 0      | 0          |
| <b>Promedio</b> | 60,91   | 33,87  | 101,55     | 165,82  | 49,35  | 106,37     | 0       | 0      | 0          |
| <b>5 Años</b>   |         |        |            |         |        |            |         |        |            |
| 1               | 47,11   | 41,15  | 107,25     | 257,35  | 46,78  | 113,65     | 59,16   | 41,09  | 113,02     |
| 2               | 41,29   | 27,59  | 137,57     | 217,65  | 35,56  | 88,69      | 54,62   | 51,56  | 75,61      |
| 3               | 47,81   | 37,08  | 88,8       | 227,23  | 143,62 | 73,26      | 57,73   | 34,52  | 69,17      |
| 4               | 43,59   | 34,23  | 101,13     | 209,16  | 38,06  | 100,16     | 48,68   | 48,64  | 70,94      |
| 5               | 52,09   | 34,29  | 93,89      | 248,74  | 44,71  | 96,42      | 64,62   | 37,96  | 95,39      |
| <b>Promedio</b> | 46,38   | 34,87  | 105,73     | 232,03  | 61,74  | 94,44      | 56,96   | 42,76  | 84,83      |
| <b>7 Años</b>   |         |        |            |         |        |            |         |        |            |
| 1               | 75,54   | 39,24  | 90,96      | 233,66  | 42,1   | 89,25      | 86,01   | 21,46  | 98,05      |
| 2               | 33,89   | 33,14  | 88,8       | 190,01  | 100,41 | 73,16      | 69,95   | 30,62  | 85,37      |
| 3               | 34,75   | 21,70  | 92,65      | 190,50  | 30,00  | 136,21     | 64,08   | 20,36  | 64,64      |
| 4               | 34,06   | 21,10  | 64,43      | 229,74  | 36,57  | 101,51     | 70,92   | 20,69  | 69,20      |
| 5               | 115,76  | 28,16  | 70,34      | 153,13  | 29,88  | 107,58     | 86,09   | 26,69  | 79,57      |
| <b>Promedio</b> | 58,80   | 28,67  | 81,43      | 199,41  | 47,79  | 101,54     | 75,41   | 23,96  | 79,37      |

**K. Largo y ancho del mesofilo en cuatro edades de sotol, unidad de medición micras ( $\mu\text{m}$ )**

| Edad              | 0,6 años       |                | 2,5 años       |                | 5 años         |                | 7 años         |                |
|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Numero repetición | Largo mesofilo | Ancho mesofilo | Largo mesofilo | Ancho mesofilo | Largo mesofilo | Ancho mesofilo | Largo mesofilo | Ancho mesofilo |
| 1                 | 1878,25        | 967            | 3234,08        | 731,48         | 8435,1         | 888,2          | 12779,1        | 754,29         |
| 2                 | 2172,9         | 848,21         | 3511,66        | 727,85         | 8315,74        | 786,21         | 12589,8        | 743,71         |
| 3                 | 1382,05        | 932,73         | 4385,02        | 861,83         | 6431,88        | 632            | 12700,3        | 734,36         |
| 4                 | 3026,22        | 763,35         | 3044,2         | 793,94         | 6265,08        | 537,4          | 12524,8        | 757,43         |
| 5                 | 2250,28        | 746,02         | 2680,5         | 773,32         | 10435,9        | 749,02         | 9470,02        | 811,7          |
| 6                 | 2307,18        | 784,77         | 4272,4         | 952,35         | 10451,7        | 858,56         | 11950,8        | 752,09         |
| 7                 | 2310,57        | 790,96         | 4714,82        | 712,32         | 14758          | 881,85         | 12559,9        | 780,27         |
| 8                 | 2199,26        | 835,95         | 4364,26        | 864,97         | 12615,4        | 835,28         | 13235,3        | 760,95         |
| 9                 | 2151,16        | 740,71         | 4400,08        | 852,02         | 7508,92        | 860,5          | 9454,92        | 867,53         |
| 10                | 2375,8         | 838,23         | 4185,28        | 904,48         | 5904,02        | 756,12         | 7437,82        | 830,32         |
| 11                | 2471,92        | 766,46         | 4810,38        | 895,97         | 3847,38        | 769,37         | 7683,26        | 903,13         |
| 12                | 2653,64        | 715,44         | 7712,36        | 931,96         | 6908,26        | 923,07         | 11252,1        | 859,44         |
| 13                | 2950,22        | 723,58         | 6030,08        | 885,29         | 8459,02        | 756,75         | 4653,9         | 788,43         |
| 14                | 2401,96        | 717,58         | 3198,45        | 953,72         | 8066,84        | 788,73         | 6771,34        | 832,67         |
| 15                | 4068,38        | 658,08         | 2554,66        | 665,27         | 6885,3         | 891,93         | 7026,96        | 799,81         |
| 16                | 2153,26        | 826,83         | 2130,51        | 717,41         | 4285,56        | 612,17         | 8021,12        | 859,38         |
| 17                | 2057,98        | 874,31         | 2347,83        | 705,17         | 4797,6         | 690,12         | 7508,18        | 743,03         |
| 18                | 1867,02        | 728,98         | 2340,21        | 830,06         | 4878,2         | 711,15         | 7597,66        | 828,22         |
| 19                | 2299,98        | 754,26         | 4846,32        | 741,72         | 4536,1         | 675,25         | 6565,08        | 894,37         |
| 20                | 2307,26        | 835,6          | 5389,08        | 863,32         | 5200,06        | 712,47         | 7008,5         | 809,79         |
| 21                | 2412,04        | 740,82         | 1456,45        | 541,56         | 5867,6         | 731,87         | 8511,28        | 844,26         |
| 22                | 2340,76        | 773,67         | 1967,14        | 668,28         | 5242,66        | 879,82         | 6587,96        | 923,87         |
| 23                | 3026,04        | 751,5          | 5489,16        | 858,07         | 5148,06        | 872,82         | 6121,68        | 837,94         |
| 24                | 1718,9         | 843,25         | 2511,63        | 767,71         | 5664,36        | 777,47         | 6890,3         | 665,8          |
| 25                | 2329,14        | 756,03         | 1979,55        | 712,18         | 5980,54        | 979,18         | 7172           | 958,55         |
| <b>Total</b>      | <b>59112,2</b> | <b>19714,4</b> | <b>93556,1</b> | <b>19912,3</b> | <b>176889</b>  | <b>19557,3</b> | <b>224074</b>  | <b>20341,3</b> |
| <b>Promedio</b>   | <b>2364,49</b> | <b>788,576</b> | <b>3742,24</b> | <b>796,494</b> | <b>7075,57</b> | <b>782,292</b> | <b>8962,97</b> | <b>813,654</b> |

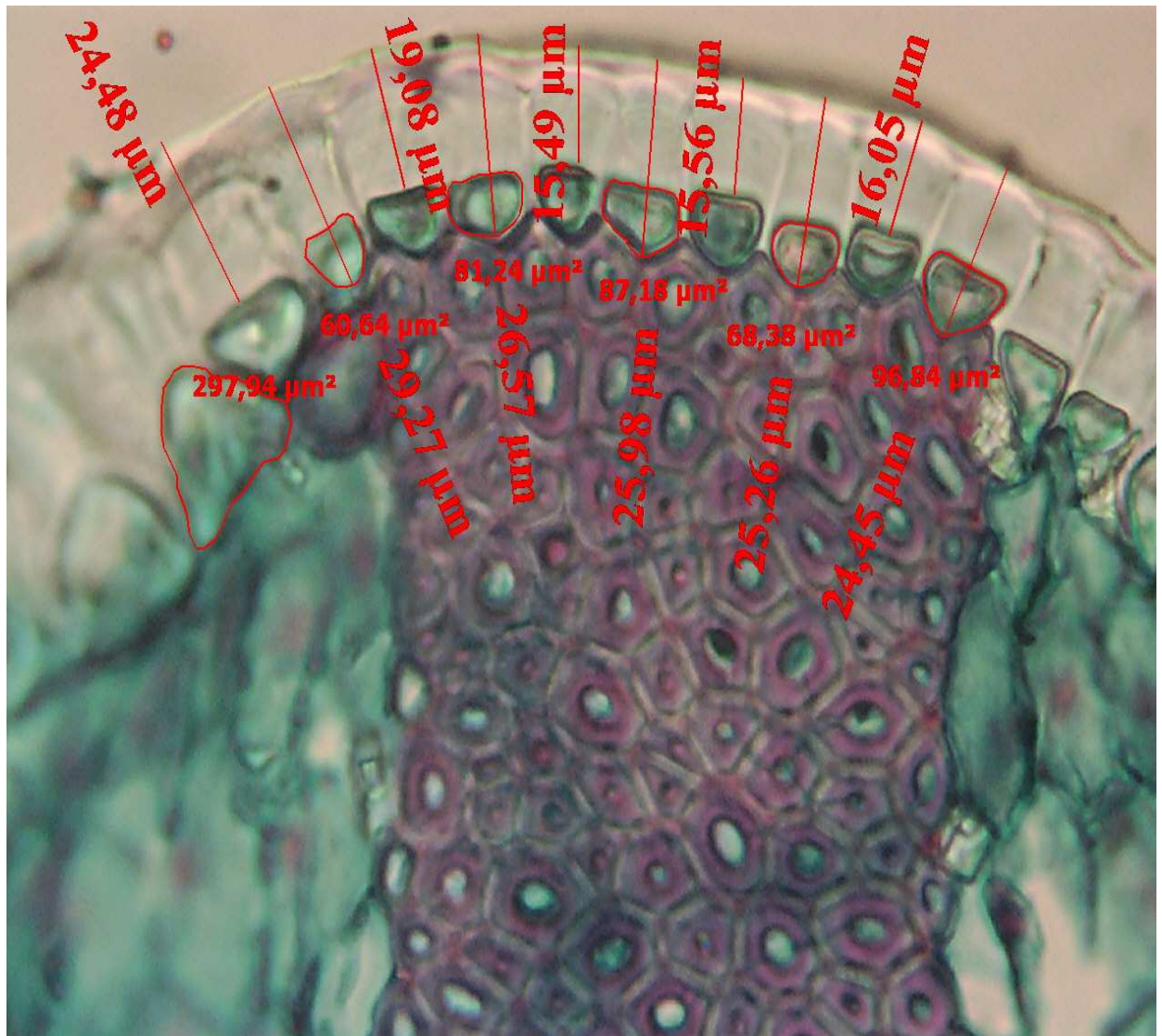


L. Evaluación del área de células tabloides y ancho de la epidermis abaxial de *Dasyliiron cedrosanum* de 0.6 años. Corte transversal, a 40 X.



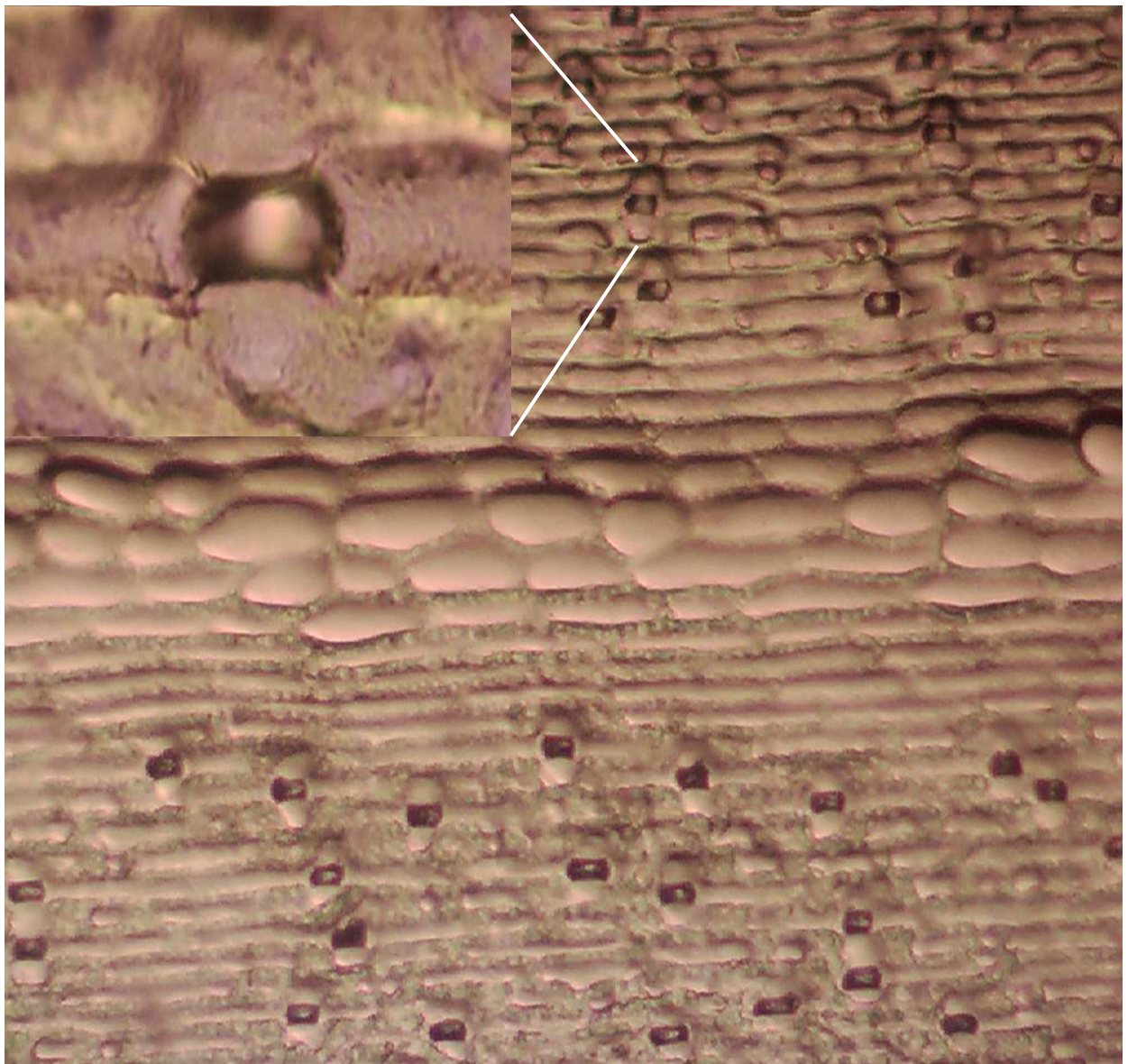
M. Epidermis abaxial de *Dasyilirion cedrosanum* de 2.5 años. Corte transversal, a 40 X. Evaluación del área de células tabloides y ancho de la epidermis.



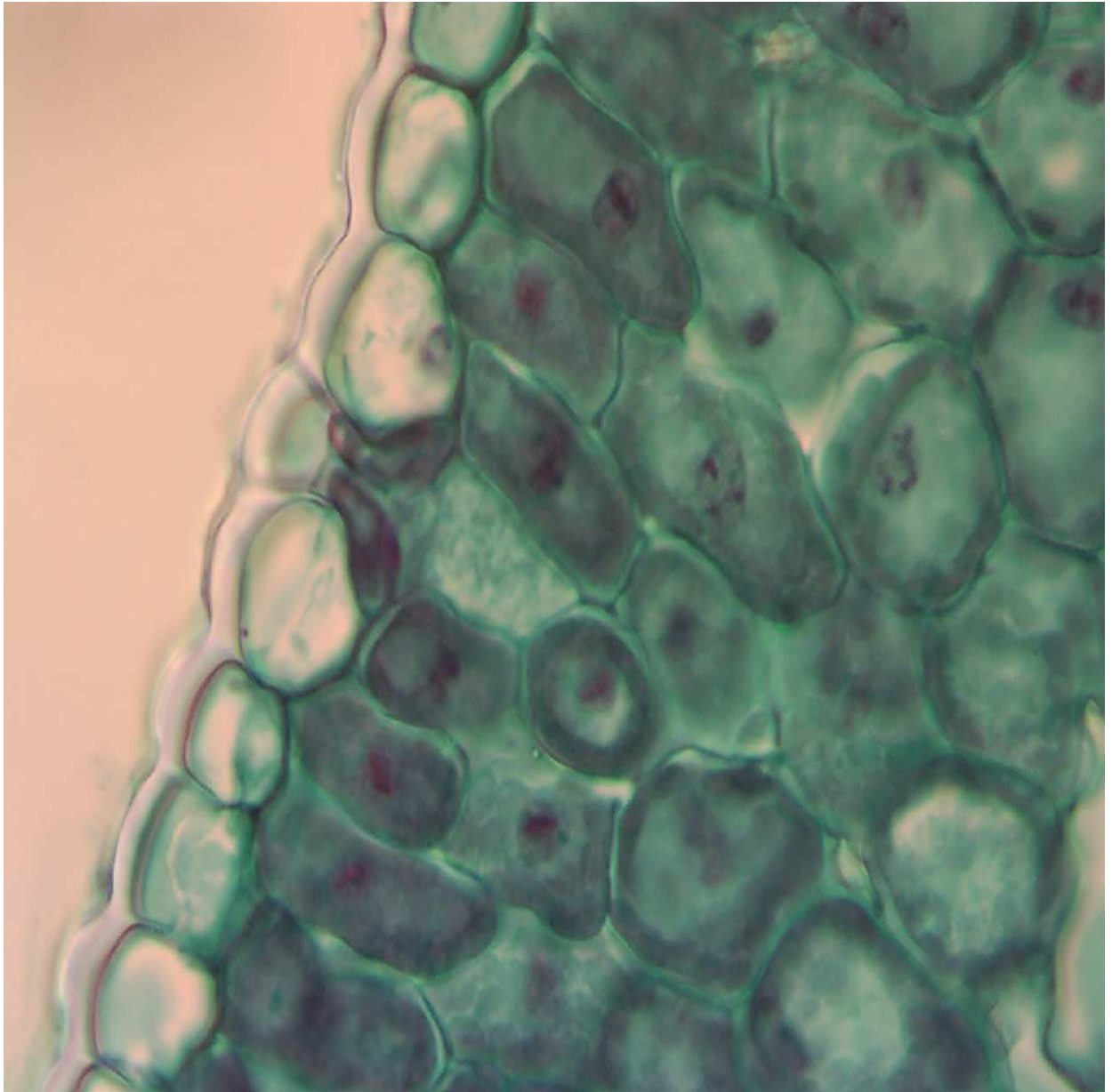


N. Epidermis adaxial de *Dasyvirion cedrosanum* de 7 años. Corte transversal, a 40 X. Evaluación del área de células tabloides y ancho de la epidermis.



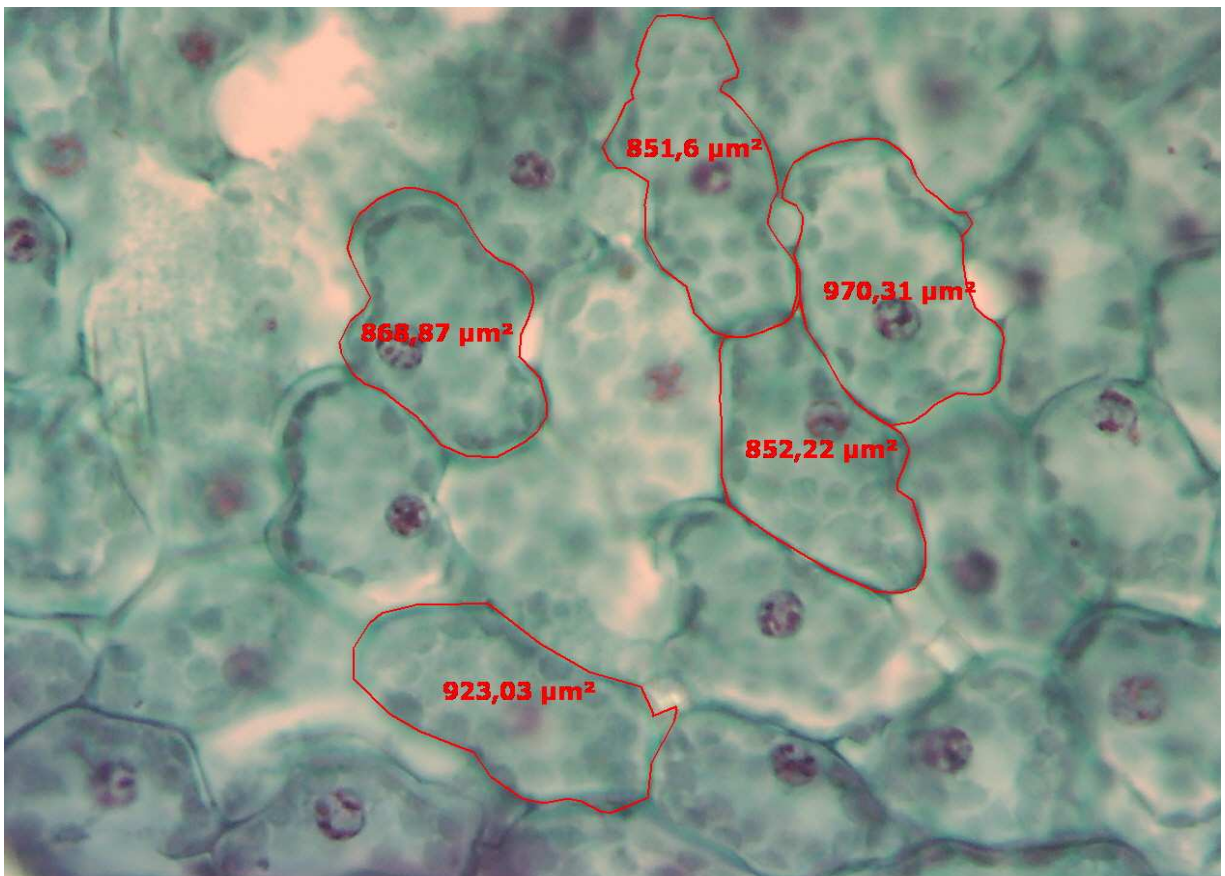
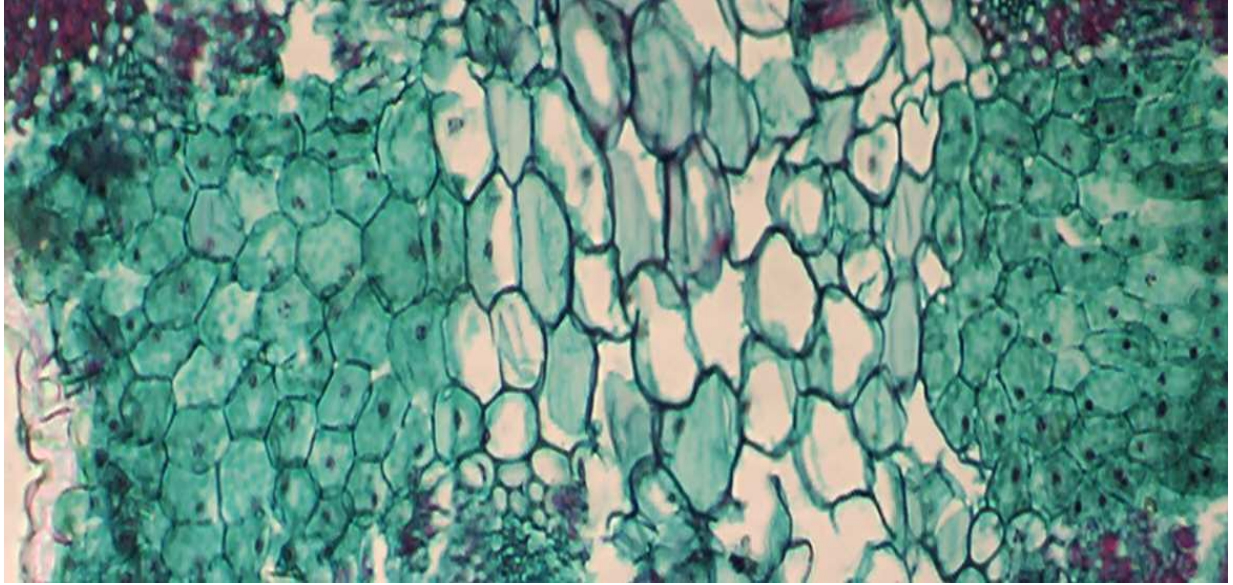


O. Epidermis abaxial de *Dasyvirion cedrosanum* de 0.6 años. Vista superficial a 10 X. véase las cuatro células adyacentes y la distribución en hileras.



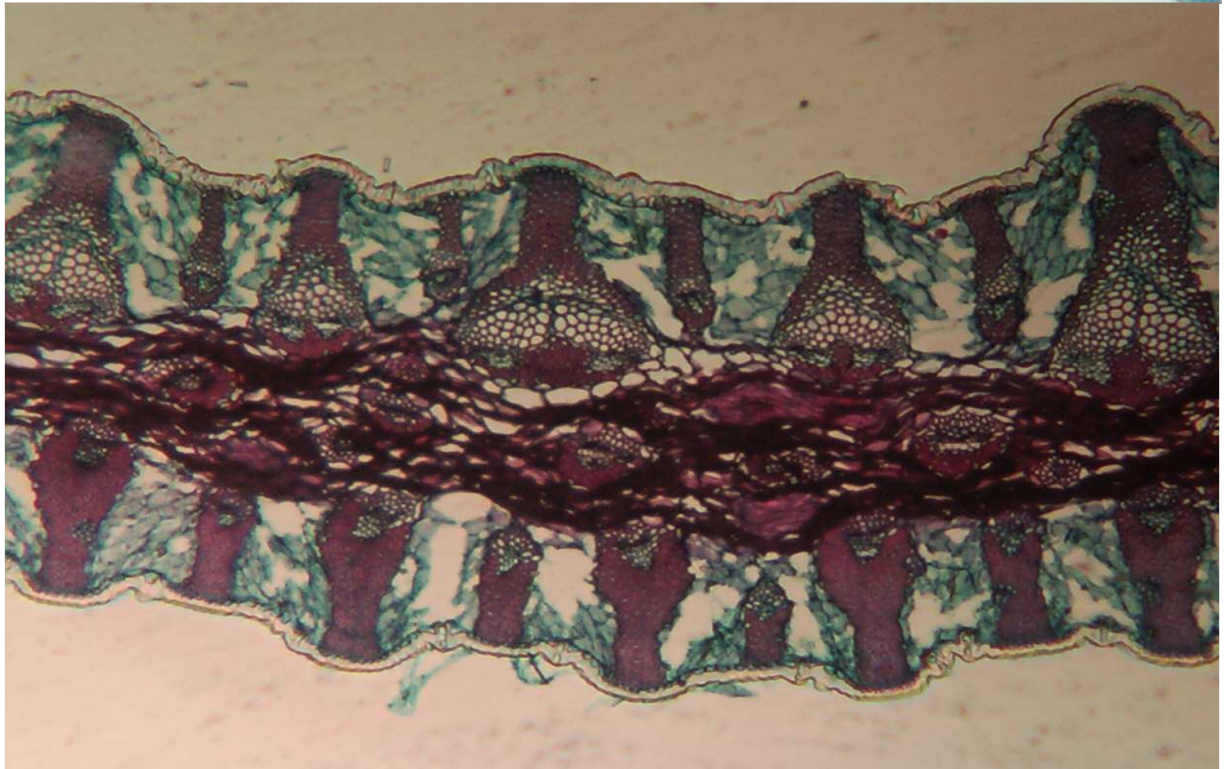
**P. Epidermis abaxial de *Dasyllirion cedrosanum* de 0.6 años. corte transversal, a 40 X. véase las células oclusivas por debajo de las adyacentes y nótese la amplitud de la cámara subestomatica.**





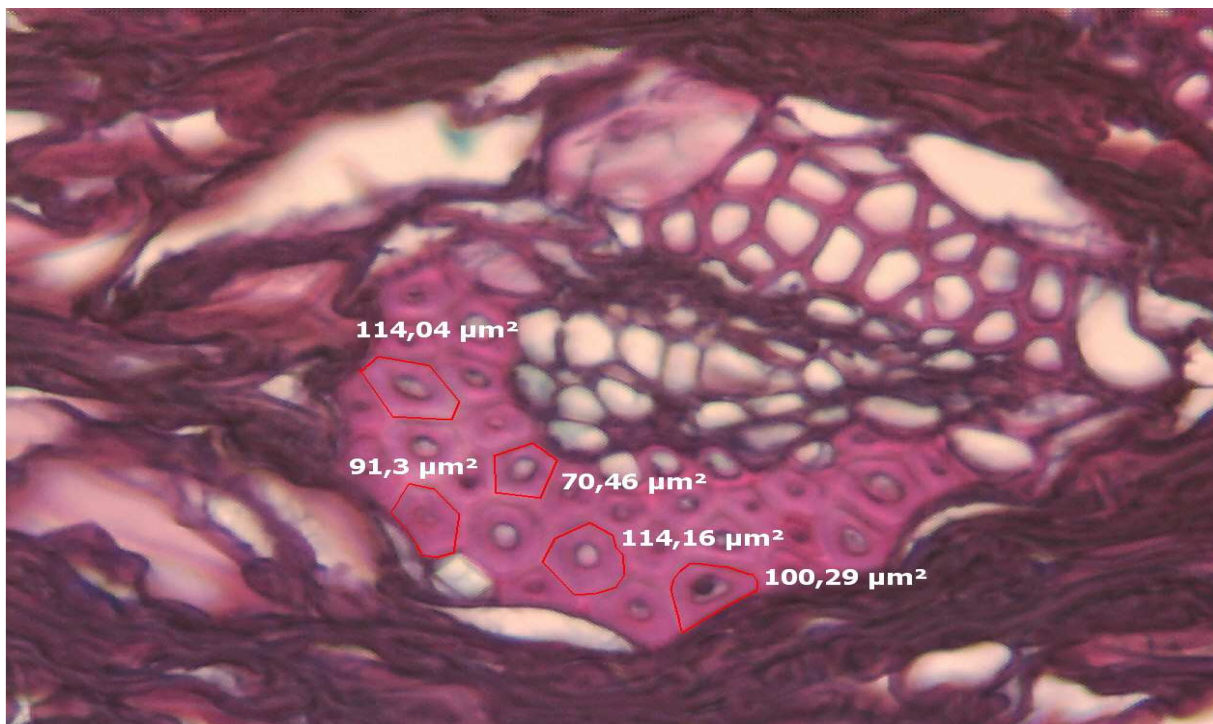
Q. Imagen superior. Mesofilo de *Dasyllirion cedrosanum* de 7 años, corte transversal a 40 X. véase el parénquima abaxial (izq.), parénquima central y parénquima adaxial (derecha). Imagen inferior. Parénquima adaxial de 2.5 años a 40 X.





R. Imagen superior. Mesofilo de *Dasyvirion cedrosanum* de 0.6 años, corte transversal a 5 X. Imagen inferior. Mesofilo de *Dasyvirion cedrosanum* de 7 años, corte transversal a 5 X.





S. Imagen superior. Haz vascular del mesofilo central de *Dasyilirion cedrosanum* de 7 años, corte transversal a 40 X. imagen inferior. Haz vascular del mesofilo adaxial de *dasyilirion cedrosanum* de 7 años, corte transversal a 40 X.

