

**ESTUDIO CROMOSÓMICO Y DE LA ESTRUCTURA DE LA PROPORCIÓN
DE SEXOS EN SOTOL (*Dasyilirion cedrosanum*)**

Juan de Dios Hernández Quintero

Tesis

Presentada Como Requisito Parcial

Para Obtener El Grado De:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
FITOMEJORAMIENTO**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre del 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

**ESTUDIO CROMOSÓMICO Y DE LA ESTRUCTURA DE LA PROPORCIÓN
DE SEXOS EN SOTOL (*Dasyllirion cedrosanum*)**

TESIS

PRESENTADA POR:

Juan de Dios Hernández Quintero

**Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como requisito parcial para obtener el grado de:**

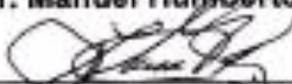
**MAESTRO EN CIENCIAS
EN FITOMEJORAMIENTO**

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal _____


Dr. Manuel Humberto Reyes Valdés

Asesor _____


Dra. Francisca Ramirez Godina

Asesor _____

Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor _____


M.C. Martha Gómez Martínez


DR. FERNANDO RUÍZ ZARATE
Subdirector de Posgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Diciembre de 2012

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera muy especial a mi asesor principal el Dr. M. Humberto Reyes Valdés por permitirme participar en su grupo de trabajo, enseñarme los valores que debe de tener un investigador, le agradezco también por sus atentas y rápidas respuestas a mis diferentes inquietudes surgidas durante el desarrollo de este trabajo, lo cual se refleja en los resultados obtenidos.

A mis asesores la Dra. Francisca Ramírez Godina, el Dr. Adalberto Benavides Mendoza, la M.C. Martha Gómez Martínez, por sus sugerencias, observaciones y por brindarme su tiempo en el presente trabajo lo cual les agradezco sinceramente.

Al Dr. José Espinoza Velázquez por sus consejos y sus exigentes clases las cuales me ayudaron a crecer como persona.

A Eva Arenas Hernández por permitirme ser su amigo, brindarme siempre su apoyo y compartir conmigo agradables paseos por la alameda que siempre recordaré.

A Juana Inés Rodríguez de León por ser una amiga que siempre me ha brindado su apoyo y honestidad. Gracias por brindarme tu confianza, te aprecio mucho.

A Rosendo Hernández Martínez un buen amigo y excelente persona.

A Yadhira del Carmen Ortiz Covarrubias gracias por permitirme participar en tu trabajo de investigación, por tu alegre compañía en los momentos de estrés, por tu confianza y sobre todo tu honestidad.

A Violeta Aspeitia Echegaray quien es una de las mejores personas que he conocido, gracias por brindarme apoyo al llegar a Saltillo y gracias sobre todo por estos ocho años de amistad.

A Livier Guizar Guzmán quien me permitió ser su amigo y me brindó su apoyo así como sus consejos.

A Dulce Victoria Mendoza Rodríguez por ser una persona atenta que siempre me brindó su apoyo en mi trabajo de investigación con una alegre sonrisa y comprensión. Gracias Dulce eres una gran persona y amiga.

A Miguel Ángel Rodríguez Armendáriz por haberme apoyado en el trabajo de campo.

Al CONACYT por el apoyo financiero otorgado al proyecto (CB-2010-01, 00000000154682) de investigación del cual derivo esta tesis.

A mis compañeros y personal docente del programa de Fitomejoramiento, que formaron parte de esta etapa de mi vida.

DEDICATORIA

A DIOS

Por permitirme llegar hasta este punto el haberme dado salud para lograr mis objetivos y por su apoyo incondicional para lograr terminar esta etapa de mi vida ya que sin él no lo hubiera logrado.

A MIS PADRES

Juan de Dios Hernández Bolaños y Dulce María Quintero Amezcua

Que han sido un apoyo en todo momento, por su amor, sus consejos, sus valores mostrando en todo momento ese interés por mi persona motivándome a seguir mis sueños.

A MIS HERMANOS

Cesar Octavio y José Alberto

Que siempre me han brindado de sus consejos, apoyo en este proceso y sobre todo por su cariño.

A MIS FAMILIARES

A mis abuelitas que me han brindado su cariño, comprensión pero sobre todo su amor y a todos aquellos que me apoyaron directa o indirectamente en la elaboración de mi tesis.

A MIS AMIGOS

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra profesión que con el paso del tiempo se ha fortalecido nuestra amistad con gratos recuerdo y experiencias que me han hecho crecer como persona sin ustedes no sería posible esto: Georgina García Zambrano, Marco Antonio Zúñiga Gómez, Edgar López García, Luis Antonio Corona González, Oscar Arturo Enciso Romero, Violeta Aspeitia Echeagaray, Livier Guizar Guzmán. Pero sobre todo a Diego Alberto Garnica Ibarra por haberme apoyado con sus consejos nunca lo voy a olvidar, te deseo lo mejor en la vida.

Finalmente a los maestros y compañeros que marcaron esta etapa de mi vida, que me ayudaron en asesorías y dudas presentadas en la elaboración de la tesis.

COMPENDIO

**Estudio cromosómico y de la estructura de la proporción de sexos en
sotol (*Dasyilirion cedrosanum*)**

POR:

JUAN DE DIOS HERNÁNDEZ QUINTERO

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN FITOMEJORAMIENTO**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COHAUILA. DICIEMBRE DE 2012**

Dr. Manuel Humberto Reyes Valdés -Asesor-

Palabras clave: *Dasyilirion cedrosanum*, dioico, cromosomas, meiosis, mitosis,
estudio poblacional.

RESUMEN

El sotol, *Dasyilirion* sp., es un género de plantas típicas del Desierto Chihuahuense, perenne y de un comportamiento sexual dioico. Juega un papel económico importante en los estados de Chihuahua, Coahuila y Durango. Es un componente mayor de varios ecosistemas desérticos, sin embargo ha sido poco estudiado desde el punto de vista biológico. En particular, se desconocen las bases de su dinámica reproductiva. En este trabajo se estudió la morfología y comportamiento de los cromosomas en la meiosis masculina y mitosis de *Dasyilirion cedrosanum*. El estudio cromosómico fue complementado mediante el estudio poblacional de frecuencias de machos y hembras en las localidades del estado de Coahuila: Buenavista, Cañón de San Lorenzo, San Miguel y General Cepeda, y en la localidad de Providencia del estado de Zacatecas. Para el estudio de meiosis se recolectaron botones masculinos, se fijaron y se prepararon para su análisis con colorante acetocarmín. Para la preparación de cromosomas mitóticos se utilizó una técnica basada en tratamiento enzimático con pectoliasa y celulasa, así como tinción con el mismo colorante. Los datos poblacionales de proporciones de sexos se analizaron con la prueba de z.

Ambos enfoques citológicos revelaron un número cromosómico somático $2n = 38$, consistente con lo reportado para *D. wheeleri* y *D. texanum*. El apareamiento cromosómico meiótico mostró un comportamiento diploide normal con prevalencia de anillos sobre cadenas bivalentes, típicamente sin presencia de anormalidades en el apareamiento. Las configuraciones bivalentes en todos los casos fueron simétricas. Los cromosomas mitóticos mostraron una

alta variación en morfología y tamaño dentro de las células. El número cromosómico encontrado en este estudio coincide con las anteriores observaciones para el género *Dasyllirion* lo cual apunta hacia un nivel de ploidía constante en el mismo. El apareamiento normal y simétrico en meiosis es a su vez indicativo de una producción de gametos balanceados, y sugiere la ausencia de una determinación sexual heteromórfica, por lo cual es poco probable que se puedan identificar morfológicamente cromosomas sexuales. La variación dentro del juego cromosómico en mitosis sugiere la posibilidad de construir un cariotipo para esta especie. En las poblaciones de General Cepeda y Providencia las proporciones de sexo masculino y femenino fueron significativamente diferente a las tasa 1:1, con un déficit de machos en ambas. No obstante, en el resto de los sitios la proporción estimada de machos fue también menor al 50%, con una proporción global de 26 %. Además, las proporciones de sexos presentaron un sesgo significativo hacia un exceso de hembras con respecto a una proporción 1:1 para dos localidades. Si el sotol presentara cromosomas sexuales, con determinación XY y sin distorsión en la segregación, se esperarían proporciones cercanas a 1:1, situación que no se presentó. Concordantemente, los datos citológicos no indican la presencia de cromosomas sexuales.

ABSTRACT

Sotol, *Dasyilirion sp.*, is a genus of plants typically present in the Chihuahuan Desert, perennial and with a dioecious sexual behavior. It plays an important economic role in the states of Chihuahua, Coahuila and Durango. It is a major component of several desert ecosystems, but has received little attention from the biological point of view. In particular, the basis of its reproductive dynamics are unknown. The chromosomal study was supplemented by the study of the population frequencies of males and females in several locations of Coahuila state: Buenavista, Cañón de San Lorenzo, San Miguel and General Cepeda, as well as Providencia, in the state of Zacatecas. For the study of meiosis, male flower buds were collected, fixed and prepared for analysis with an acetocarmine dye. For the preparation of mitotic chromosomes, we used a technique based on enzymatic treatment with pectolyase and cellulase, as well as staining with the mentioned dye. The sex proportions across locations were analyzed by the z-test.

Both cytological approaches revealed a somatic chromosome number $2n = 38$, consistent with the figure reported for *D. wheeleri* and *D. texanum*. The meiotic chromosome pairing showed a normal diploid behavior, with prevalence of ring and bivalents chains, typically without presence of abnormalities. Bivalent configurations in all cases were symmetrical. Mitotic chromosomes showed a high variation in morphology and size within the cells. The chromosome number found in this study is consistent with the previous findings for *Dasyilirion*, and points to a constant ploidy level across the genus. The normal and symmetric

meiotic pairing indicates a balanced production of gametes and suggests the absence of heteromorphic sex determination, and it is unlikely that sex chromosomes can be morphologically identified. The morphological variation within the set of chromosomes in mitosis suggests the possibility of constructing a karyotype for this species. In the populations of General Cepeda and Providencia, the male and female proportions were significantly different from the ratio 1:1, with a male deficit in both locations. However, in the remaining sites estimated proportion of males was also less than 50%, with an overall ratio of 26%. In addition, sex ratios were significantly different between locations. If *Sotol* presented sex chromosomes with an XY determination and non distorted segregation, proportions would be close to 1:1. Accordingly, no cytological data indicate the presence of sex chromosomes.

INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE CUADROS	viii
INDICE DE FIGURAS	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
Objetivo general	4
Objetivos específicos.....	4
Hipótesis	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Descripción de la especie	5
Dioecia	8
Estudio citológico	11
Estudio poblacional.....	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
Análisis Meiótico.....	15
Análisis Mitótico.....	17
Estudio Poblacional	18
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
Análisis Meiótico.....	21
Análisis Mitótico.....	25
Estudio Poblacional	27
V. CONCLUSIONES	37
VI. LITERATURA CITADA.....	38

INDICE DE CUADROS

Cuadro 4. 1 Valores medios de frecuencias de configuraciones en diacinesis de <i>D. cedrosanum</i> efectuado en plantas de sotol. RII = anillos bivalentes; CII = cadenas bivalentes.	22
---	-----------

Cuadro 4. 2 Resultados de las mediciones realizadas en micras a tres células en diacinesis y sus respectivas medias.....	24
Cuadro 4. 3 Resultados de las mediciones realizadas a una célula en metafase mitótica expresadas en micras.....	26
Cuadro 4. 4 Resultados de la identificación de sexos en las cinco poblaciones estudiadas. Arriba de la diagonal se anotan los valores absolutos, mientras que abajo de la diagonal se muestran los valores porcentuales.....	28
Cuadro 4. 5 Coordenadas de las cinco localidades estudiadas.	28

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. 1 Planta de sotol (<i>D. cedrosanum</i>). Foto: Yadhira del Carmen Ortiz Covarrubias, en Buenavista, Coahuila.....	6
---	----------

Figura 1. 2	Inflorescencias de sotol. A. Escapo hembra. B. Escapo macho. Foto: Yadhira del Carmen Ortiz Covarrubias, en Buenavista, Coahuila.....	7
Figura 4. 1	Microfotografías de células meióticas de <i>D. cedrosanum</i>. A. Célula en diacinesis con 19 configuraciones compuestas por 15 anillos y 4 cadenas. bivalentes. B. Célula en metafase I en la cual se observa un par de cromosomas univalentes.....	22
Figura 4. 2	Histograma de mediciones de cromosomas en diacinesis de <i>D. cedrosanum</i>.....	25
Figura 4. 3	Célula de <i>D. cedrosanum</i> en metafase mitótica	27
Figura 4. 4	Imagen satelital de la población ubicada en el Cañón de San Lorenzo, Coahuila. Los puntos rojos representan las plantas hembras y los puntos verdes los machos.	29
Figura 4. 5	Imagen satelital de la población ubicada San Miguel, Coahuila. Los puntos rojos representan las plantas hembras y los puntos verdes los machos.	30
Figura 4. 6	Imagen satelital de la población ubicada General Cepeda, Coahuila. Los puntos rojos representan las plantas hembras y los puntos verdes los machos.....	31
Figura 4. 7	Imagen satelital de la población ubicada en Saltillo, Coahuila. Los puntos rojos representan las plantas hembras y los puntos verdes los machos.	32
Figura 4. 8	Imagen satelital de la población ubicada en Providencia, Zacatecas. Los puntos rojos representan las plantas hembras y los puntos verdes los machos.....	33
Figura 4. 9	Comparación de proporción de machos por localidad. Las proporciones de machos fueron las siguientes: San Lorenzo (SL) 32%, San Miguel (SM) 46%, General Cepeda (GC) 11%, Buenavista (B) 43 % y Providencia (PR) 36%.....	34

I. INTRODUCCIÓN

El sotol (*Dasyliirion cedrosanum*) es una especie perenne del norte de México y sur de los Estados Unidos de América. Sus hojas son numerosas e irradian simétricamente desde el tallo, con 25 a 75 cm de longitud lineal, caídas o arqueadas; son relativamente amplias, flexibles y en forma de cuchara en el extremo inferior. El tallo es corto, en parte subterráneo, fibroso robusto, cubierto de hojas persistentes. En muchos casos una escoba larga de las hojas muertas ayuda a apuntalar a los tallos cortos que tienden a inclinarse con la edad. La raíz es gruesa, carnosa y se extiende desde la base del tallo engrosado. Sus flores son pequeñas, con brácteas membranosas y seis sépalos en forma ovoide con márgenes denticulados. En las flores masculinas hay seis estambres los cuales son rudimentarios en las flores pistiladas. El pistilo es corto, ligeramente ampliado en la punta y con tres estigmas lobulados.

El sotol es una planta dioica. Ambos sexos cuentan con una inflorescencia, comúnmente llamada escapo, donde se producen flores con estambres funcionales en los machos, o con pistilos funcionales en las hembras (Bogler, 1994; Cruz-Requena, 2007). Aunque la dioecia es una característica que se presenta en muchos grupos taxonómicos de plantas, poco se conoce sobre la base genética de este evento de reciente evolución y a diferencia de los

mamíferos donde los cromosomas sexuales han evolucionado independientemente hasta presentar formas heteromorfas, solo unas pocas especies dioicas contienen cromosomas sexuales citológicamente distinguibles, como en *Silene*, *Rumex* y *Humulus* (Giraldo et al., 2004; Negrutiu et al., 2001; Vyskot y Hobza, 2004). En el caso del sotol no se encontró información publicada sobre la presencia de cromosomas heteromórficos. Teniendo este panorama se propone la hipótesis de que el sotol presentara una determinación del sexo del tipo XY en sus poblaciones naturales presentando una frecuencia de machos y hembras cercanas a la proporción de 1:1.

El producto económicamente más importante del género *Dasyliirion* es la bebida llamada “sotol”, obtenida a partir de la fermentación del tallo o cabeza de la planta. El ingreso en México por ventas de sotol en el año 2005 era de alrededor de 19.5 millones de pesos, mientras que para el año 2008, se registraron 58.2 millones de pesos, lo cual representa un incremento de más del 300% (Olivas-García et al., 2010). Este crecimiento implica la necesidad de más materia prima, la cual proviene casi exclusivamente de poblaciones naturales. El desconocimiento del manejo sostenible de estas poblaciones y la carencia de elementos para determinar el sexo de las plantas antes de la floración están muy probablemente afectando el potencial reproductivo de las mismas. Sin embargo no se han determinado el grado de impacto sobre los ecosistemas originado por la explotación.

En cuanto a características citológicas, se reporta un número cromosómico diploide $2n = 38$ para *D. wheeleri* y *D. texanum* (Sato, 1935). Sin embargo no se encontraron trabajos publicados sobre el número cromosómico de *D. cedrosanum* ni en sobre el comportamiento meiótico del género. Este tipo de estudios son muy importante porque, además de su valor taxonómico, proveen de claves importantes sobre la genética de la reproducción y relaciones evolutivas entre los grupos de plantas. No se han encontrado trabajos publicados sobre estudios de proporción de sexos en poblaciones naturales de sotol lo cual hace suponer que este sería el primer trabajo sobre el tema en *D. cedrosanum*. Asimismo, a la fecha no se ha reportado su número cromosómico. Por esta razón que el objetivo de este trabajo fue estudiar el número cromosómico y el comportamiento meiótico, así como estudiar la proporción de sexos en poblaciones de *D. cedrosanum*.

OBJETIVOS

Objetivo general

Estudiar el número cromosómico y la proporción de sexos en poblaciones de *D. cedrosanum*.

Objetivos específicos

1. Estudiar los cromosomas de *D. cedrosanum* en mitosis y meiosis
2. Analizar la estructura de la proporción de sexos en cinco localidades

Hipótesis

1. El número cromosómico de *D. cedrosanum* será consistente con las especies que han sido reportados dentro del género *Dasylyrion*.
2. El análisis meiótico presentara simetría en las configuraciones sugiriendo la ausencia de un posible heteromorfismo cromosómico en la determinación del sexo.
3. El estudio poblacional presentara una proporción sexual cercana 1:1 en las cinco poblaciones analizadas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Descripción de la especie

Reciben el nombre de sotol las especies del género *Dasyilirion*, muy comunes en regiones semidesérticas (Martínez, 1979). Es una planta silvestre de México que vive en lugares áridos principalmente del Desierto Chihuahuense. Planta perenne, semisuculenta, semicilíndrica, espinosa, policárpica, de media a robusta. Sus hojas son numerosas e irradian simétricamente desde el tallo (Figura 1), con 25 a 75 cm de longitud, caídas o arqueadas; son relativamente amplias, flexibles y en forma de cuchara en el extremo inferior, las hojas son lineales, grisáceas pálidas a verde pálido, comúnmente forman una roseta desde la base, con espinas en los bordes y una base ancha y una púa Terminal (Robles-Esparza y España-Montoya, 2008). El tallo es corto, en parte subterráneo, fibroso robusto, cubierto de hojas persistentes. En muchos casos una escoba larga de las hojas muertas ayuda a apuntalar a los tallos cortos que tienden a inclinarse con la edad. La raíz es gruesa y carnososa y se extiende desde la base del tallo engrosado. Frecuentemente el género *Dasyilirion* se propaga por semilla, aunque también produce vástagos a partir de la cauda, que es la región de la base del tallo (Bogler, 1998; Robles-Esparza y España-Montoya, 2008). El sotol es una planta longeva puede llegar a vivir más de 100

años y en jardines botánicos puede llegar a vivir hasta 150 años. El sotol prospera en suelos bien drenados y ya establecido normalmente necesita poca agua (Bogler, 1998). Bogler (1994) reportó que el género *Dasyilirion* pertenecía a la familia Nolinaceae, en la actualidad este género es ubicado en la familia Asparagaceae (WCSP, 2012).



Figura 1. 1 Planta de sotol (*D. cedrosanum*). Foto: Yadhira del Carmen Ortiz Covarrubias, en Buenavista, Coahuila.

El sotol se caracteriza por ser una planta dioica (Figura 1.1). Ambos sexos cuentan con un escapo o garrocha que puede ser muy alto, de 2 a 3.5 m, el cual emite flores pequeñas en panículas (Martinez, 1979; Robles-Esparza y España-Montoya, 2008). Sus flores son pequeñas, con brácteas membranosas y seis sépalos en forma ovoide con márgenes denticulados. Las semillas del género *Dasyilirion* son trigonas, tienen un color dorado, con una superficie más

o menos rugosa, y son claramente de tres lóbulos. El embrión es cilíndrico y recto y se localiza a lo largo del eje central de la semilla. La cubierta de la semilla, aunque delgada, aparentemente es muy resistente a la sequía y la semilla permanece viable durante años. La escarificación de la cubierta de la semilla promueve la captación de agua y la germinación. Durante la germinación del embrión emerge de la parte inferior de la semilla (Bogler, 1994).



Figura 1. 2 Inflorescencias de sotol. A. Escapo hembra. B. Escapo macho. Foto: Yadhira del Carmen Ortiz Covarrubias, en Buenavista, Coahuila.

Las especies del género *Dasyilirion* se desarrollan en áreas áridas y semiáridas de algunas regiones del sur al centro de Nuevo México y en el sur de Arizona (Bogler, 1994). En México prolifera en muchas zonas del Desierto Chihuahuense y en el estado de Zacatecas donde se encuentran abundantes poblaciones naturales, con presencia de *D. cedrosanum*. El sotol es nativo de zonas de pastizales y matorrales desérticos a una altura sobre el nivel del mar entre 1000 y 2000 metros (Robles-Esparza y España-Montoya, 2008).

Dioecia

Alrededor de 5% de las especies del reino vegetal son dioicas, y muchas de estas plantas son de valor comercial por la producción de frutos, tales como papaya y kiwi, o de semillas como el pistacho, nuez moscada, pimienta negra, por lo que se prefieren en altas proporciones en el cultivo (Parasnis et al., 2000; Ainsworth, 2000; Giraldo et al., 2004). Aunque la dioecia es una característica que se presenta en muchos grupos taxonómicos, poco se conoce sobre la base genética de este evento de reciente evolución y, a diferencia de los animales donde los cromosomas sexuales han evolucionado independientemente hasta presentar formas heteromórficas, solo unas pocas especies dioicas contienen cromosomas heteromórficos como *Silene*, *Rumex* y *Humulus* que permitan identificar su sexo citológicamente (Negrutiu et al., 2001; Vyskot y Hobza, 2004).

El sexo es otra de las claras diferenciaciones genéricas que se pueden hacer fácilmente para predecir el comportamiento de un grupo de individuos respecto a otros (p. ej. machos respecto a hembras, pero también machos frente a hermafroditas, etc.). Mucho se ha trabajado y se está trabajando al respecto y, sin embargo, queda mucho por hacer aún en este campo. El sotol nos brinda una oportunidad de generar nueva información que nos permita entender los caminos evolutivos de la dioecia. En cuanto a la evolución de la dioecia ha sido tradicionalmente explicada por dos hipótesis. La primera considera que el factor selectivo más importante es su función como mecanismo que evita la endogamia y la segunda sostiene que la selección sexual ha sido la fuerza

selectiva que ha conducido a la especialización sexual (Obeso y Retuerto, 2002).

Se ha reportado que los sistemas reproductivos tales como la dioecia y la monoecia son de origen secundario; se ha encontrado en individuos unisexuales vestigios de lo que pudo ser una flor hermafrodita indicando su origen por medio del hermafroditismo (Madriz, 1997). De esta manera las bases genéticas de la determinación del sexo así como su expresión pueden ser controladas por cromosomas sexuales (Lloyd, 1975; Madriz, 1997), mas sin embargo, el control genético de la expresión sexual no parece ser suficientemente fuerte para vencer totalmente los efectos y modificaciones de la expresión sexual por el ambiente (Lloyd, 1975). En el caso del sotol no hay estudios reportados sobre las proporciones de sexo en poblaciones naturales que esclarezcan el comportamiento de su expresión sexual bajo la presión del ambiente.

La evolución de la dioecia puede deberse a la presión selectiva que favorece a la polinización, también puede deberse a factores ecológicos como la asignación de recursos para las funciones masculinas y femeninas, selección sexual, dispersión de semillas, polinización y depredación. Las correlaciones son filogenéticas: la dioecia es más frecuente en plantas leñosas, con frutos carnosos dispersados por vertebrados frugívoros y poseen flores pequeñas e incospicuas, polinizadas por insectos no especializados o por viento. Los mecanismos involucran circunstancias ecológicas que favorecen a la dioecia a través de vías específicas como los modelos de selección sexual. Como se

aprecia el fenómeno evolutivo de la dioecia no se ha logrado entender por completo por lo cual es necesario estudios que aclaren los mecanismos que generan la dioecia en cada especie estudiada. Importancia del sotol.

El producto económicamente más importante del género *Dasyllirion* es la bebida llamada "sotol", obtenida a partir de la fermentación del tallo o cabeza de la planta. Cuenta con la denominación de origen para los estados de Chihuahua, Coahuila y Durango, México, y la creación de la norma NOM-159-SCFI-2004, con lo que hubo un incremento de producción y comercialización del sotol. Asimismo, se creó el Consejo Mexicano del Sotol, A.C. en el año 2006 (Olivas-García et al., 2010), el cual agrupa a alrededor de 128 socios. El ingreso por ventas de sotol en el año 2005 era de alrededor de 19.5 millones de pesos, mientras que para el año 2008, se registraron 58.2 millones de pesos producto de esta industria; esto, representa un incremento de más del 300% (Olivas-García et al., 2010).

En otros usos de la planta, los escapos florales de sotol son muy utilizados en construcción rústica de cercados, techos de casa-habitación y para corrales de animales, mientras las hojas son usadas para crear cestas artesanales y flores artificiales.

Estudio citológico

Los estudios citológicos en especies vegetales y animales han adquirido en las últimas décadas una extraordinaria importancia y desarrollo. Esto se debe a los enormes avances de la citogenética, ciencia que ha contribuido de forma extraordinaria a la comprensión y conocimiento de los mecanismos citológicos básicos de los procesos de diferenciación biológica y evolutiva de las especies. Los métodos citológicos para conteo y caracterización de cromosomas son una herramienta importante para los investigadores, ya que les proporciona información objetiva que puede ser utilizada para la identificación de especies, de la misma manera que el taxónomo puede emplear las estructuras florales, morfología de fruto, etc. Además, las relaciones de parentesco dentro de grupos naturales de especies, hoy día difícilmente pueden ser consideradas como bien establecidas y definidas desde el punto de vista evolutivo, si no se dispone de buenos datos citológicos que refuerzan las conclusiones basadas en criterios morfológicos (Pretel y Sañudo, 1978). Desde el punto de vista citológico el sotol representa una oportunidad de proporcionar información básica sobre su comportamiento y morfología cromosómica, ya que es un género poco estudiado.

El principio citológico de la constancia numérica y morfológica de los cromosomas de los organismos eucarióticos, proporciona al citólogo un criterio morfológico objetivo que puede ser utilizado con propósitos de identificación, esencialmente de la misma manera que el taxónomo puede emplear las

estructuras florales, morfología del fruto, etc (Pretel y Sañudo, 1978). En el caso del sotol los únicos reportes de números cromosómicos reportados han sido para *D. wheeleri* y *D. texanum* con un número diploide $2n = 38$ (Sato, 1935). Los estudios citológicos sobre *D. cedrosanum* pueden generar información importante sobre su tipo de reproducción, además nos permitirá saber si existen cromosomas heteromórficos.

En el género *Astragalus* se han realizado estudios citogenéticos derivado al interés de su complejidad taxonómica. Se compone de un elevado número de especies, que se han estimado de 1 500 (Pretel y Sañudo, 1978). En este género se revelo e la existencia de taxones con números cromosómicos diferentes: $n = 11, 12, 13, 14, 15, 22, 24$. Excepcionalmente se dan también algunos números altos como $n = 32$ y $n = 48$. Este género pone en manifiesto la posibilidad de que dentro de un mismo género se encuentre variación en el número cromosómico.

Estudio poblacional

Aunque es conveniente mencionar que no se ha determinado si los aprovechamientos de sotol han tenido algún impacto sobre las poblaciones de la planta, el interés de los productores y del Consejo Mexicano del Sotol, A.C. por asegurar de la sostenibilidad de la industria, motivaron que en coordinación con el INIFAP se emprendieran diversas acciones de investigación y desarrollo tecnológico para asegurar que no se impacte negativamente los ecosistemas y la perpetuidad de esta especie dioica y a la vez, se garantice el suministro de

materia prima de mayor calidad y a menor costo en el mediano plazo, a partir de poblaciones naturales y cultivadas (Olivas-García et al., 2010). Una forma de preservar las poblaciones de sotol es logrando diferenciar el sexo de las plantas tempranamente que nos permita proteger la explotación de las plantas hembras.

En el sureste de Coahuila se tiene la creencia general que las plantas hembras producen un mejor licor que las plantas macho, por lo cual las plantas hembras son cortadas con más frecuencia (Cruz-Requena, 2007). Por medio de un estudio de caracterización fisicoquímico, Cruz-Requena (2007) menciona que la composición de las plantas de sotol es similar independientemente del sexo y no hay bases bioquímicas para que se prefieran la plantas hembras en la elaboración del sotol. Demostrando de esta manera que mediante la caracterización fisicoquímica no es posible diferenciar los sexos.

En la especie *Ilex aquifolium* que es un árbol dioico también se ha estudiado el dimorfismo sexual. Se encontraron diferencias en los sexos en condiciones de baja luminosidad; la eficiencia de la fotosíntesis fue mayor en las plantas hembras, por el contrario las plantas macho son más eficientes en el uso del agua (Obeso y Retuerto, 2002).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis Meiótico

Para el estudio de cromosomas meióticos se recolectaron botones florales de plantas del sexo masculino en la localidad de Buenavista, Coahuila, en la latitud 25°20.947' N, longitud 101°1.669' W y altitud de 1786 metros, una zona con clima templado, semiseco. La recolección de los botones florales se realizó aproximadamente a las 9:00 am en los meses de marzo, abril y mayo. La recolección se llevó a cabo dividiendo en tres zonas del escapo, la parte de arriba (botones jóvenes), la zona intermedia y la zona baja de la inflorescencia donde se encuentran los botones maduros que presentaban un tamaño aproximado de 1.5 cm y un color blanco. Los botones florales seleccionados fueron fijados en una solución fijadora Farmer (etanol al 96°: ácido acético 3:1 v/v) por 24 horas. Con la finalidad de matar instantáneamente el tejido y fijar las fases de la división celular para su posterior análisis.

Para su preparación citológica los botones florales fueron colocados en portaobjetos donde se aislaron las anteras a las cuales se les colocó una gota de colorante carmín al 1% en ácido acético al 45% para teñir los cromosomas y se procedió al método de aplastado, para posteriormente aislar las células y eliminar el tejido de la cubierta y colocar un cubreobjetos. En seguida se colocó

la preparación en una plancha citológica para su calentamiento durante un minuto y se procedió a su aplastado manual.

Los meiocitos se analizaron en diacinesis. Se pudo apreciar que las preparaciones que se obtuvieron de anteras con un color amarillo claro tenían más probabilidad de contar con esas fases; en cambio si las anteras tenían un color amarillo oscuro, aumentaba la posibilidad de encontrar fases tardías y polen.

Se analizó el comportamiento cromosómico de células en diacinesis de la profase I, buscando identificar el número y el tipo de configuración formadas. También se identificó su apareamiento cromosómico y la posible presencia de cromosomas heteromórficos.

Se tomaron microfotografías a los meiocitos a través de un microscopio marca Vistavision acoplado con una cámara digital Pixera Winder Pro y un sistema de cómputo que tiene software para análisis de imágenes Axion Vision Rel. 4.5. Se seleccionaron las mejores fotos para este trabajo y se procedió al análisis cromosómico cualitativo y cuantitativo. Para la medición de los cromosomas se utilizó el software Axion Vision Rel. 4.5 y para su análisis estadístico se utilizó el lenguaje y ambiente para cómputo estadístico R (R Development Core Team, 2012).

Se revisaron botones florales de 40 plantas estaminadas y solamente se tuvo éxito en 16 plantas con células en diacinesis. De estas 16 plantas se analizaron 78 células en diacinesis. El análisis de configuraciones meióticas no fue posible

en metafase I debido a que los cromosomas tendían a la aglutinación en la placa ecuatorial, haciendo difícil la identificación de los tipos de apareamientos, por lo cual solamente se contabilizaron células en diacinesis.

Análisis Mitótico

El estudio de análisis en mitosis se realizó con 250 semillas que fueron recolectadas de cinco plantas ubicadas en la misma localidad. La técnica de preparación de cromosomas mitóticos se basó en el protocolo propuesto por Jewell e Islam (1994). La semilla fue esterilizada con hipoclorito de sodio al 1% y posteriormente se colocó en papel filtro humedecido dentro de una caja de Petri y se incubó en una cámara de crecimiento a 26 °C hasta obtener meristemos apicales de 1 cm de tamaño. Se cortaron las raíces cuando median aproximadamente 2 cm y los cortes se realizaron a distintos horarios, y se obtuvo un mayor éxito a las 9:30 de la mañana. Los meristemos fueron pretratados con 8-hidroxiquinoleína durante 3:30 horas a una temperatura de 24 a 26 °C para arrestar células en metafase, después fueron fijadas en una solución Farmer (de etanol al 96° y ácido acético 3:1 v/v) durante 24 horas. Posteriormente los ápices radiculares se sacaron del fijador y se enjuagaron 2 veces con agua destilada y se dejaron reposar 30 minutos. Una vez transcurrido ese tiempo se volvieron a enjuagar y se dejaron reposar 30 minutos de nueva cuenta. Transcurrido el tiempo de reposo se sometieron a hidrólisis con ácido clorhídrico 0.1 N durante 10 minutos. De nueva cuenta se enjuagaron 2 veces y se dejaron otra vez reposar en agua destilada durante 30 minutos. Se quitó el agua y se colocó en buffer de citratos durante 30 minutos. Este buffer fue

preparado diluyendo en 100 ml de agua destilada, 1.47 gr de citrato H₂O de sodio y 1.05 gr de ácido cítrico monohidratado y posteriormente se aforó a 500 ml. En seguida se trataron bajo incubación con las enzimas pectoliasa y celulasa en baño María a 37°C durante 50 minutos. La preparación de las enzimas consistió en diluir 0.5 gr de celulasa en 10 ml de buffer de citratos y 0.1 gr de pectoliasa diluida en 10 ml de buffer de citratos.

Después del tratamiento los meristemas fueron extendidos en portaobjetos. Los cromosomas fueron teñidos con colorante carmín al 1%, y fueron analizados en el microscopio acoplado a un sistema de cómputo con software para análisis de imágenes.

Estudio Poblacional

El estudio cromosómico fue complementado mediante el estudio poblacional de frecuencias de machos y hembras en las localidades del estado de Coahuila: Buenavista, Cañón de San Lorenzo, San Miguel y General Cepeda, y en la localidad de Providencia del estado de Zacatecas. Se seleccionaron poblaciones que contaran con escapos florales que permitieran su identificación sexual. Una vez seleccionadas las poblaciones se etiquetaron de plantas y se registró el sexo, número de cabezas, sus coordenadas con un GPS y número de escapos. Los datos fueron almacenados en una hoja de cálculo.

Los datos obtenidos de cada población fueron sometidos a la prueba estadística de z con la intención de comparar estadísticamente las proporciones de los sexos. Para esto se planteó que la hipótesis nula será que la proporción

poblacional de machos y hembras es 1:1. Si se rechaza la hipótesis nula esto representaría inconsistencia de proporciones entre localidades indicando la posibilidad de otro tipo de determinación del sexo, o bien la presencia de efectos ambientales.

Para el análisis de los datos a cada población se realizó una prueba de dos colas sobre proporción de sexos proponiendo que la hipótesis nula será de una proporción de machos y hembras cercana a 1:1. Esto se evaluó a través de la prueba estadística de z la cual se define a continuación:

Nuestra hipótesis nula de la prueba de dos colas de la proporción de la población se expresa de la siguiente manera:

$$P = P_0$$

Donde P_0 es el valor hipotético de la proporción verdadera de la población.

La prueba de z se define en términos de la proporción de la muestra y el tamaño de la muestra como se muestra a continuación:

$$\approx = \frac{\bar{P} - P_0}{\sqrt{P_0(1 - P_0)}/n}$$

De esta manera la hipótesis nula de la prueba de dos colas se rechaza si $z \leq -z_{\alpha/2}$ o $z \geq z_{\alpha/2}$ donde $z_{\alpha/2}$ es del 100 $(1 - \alpha)$ percentil de la distribución estándar.

Para realizar la prueba de z se utilizó el lenguaje y ambiente para cómputo estadístico R. Aplicado la función de prop.test para calcular el valor de p directamente. A continuación se muestra el comando utilizado:

```
prop.test (x, n, p = 0,5, correct = FALSE)
```

Donde:

x es el número de machos

n es el tamaño de muestra

p es la proporción esperada de machos

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis Meiótico

En las 16 plantas analizadas se puso de manifiesto en la meiosis un comportamiento cromosómico diploide con apareamiento regular. Se observó típicamente durante la diacinesis la formación de 19 configuraciones bivalentes, igual a la mitad del número somático de cromosomas reportado para otras especies de *Dasyilirion*, por lo cual se mantiene la consistencia de número cromosómico $2n = 38$ dentro del género (Figura 3A). En el Cuadro 1 se presentan, los promedios de configuraciones meióticas bivalentes en 78 meiocitos analizados en diacinesis, donde se aprecia una prevalencia de los anillos bivalentes, así como la consistencia en el número de 19 configuraciones.

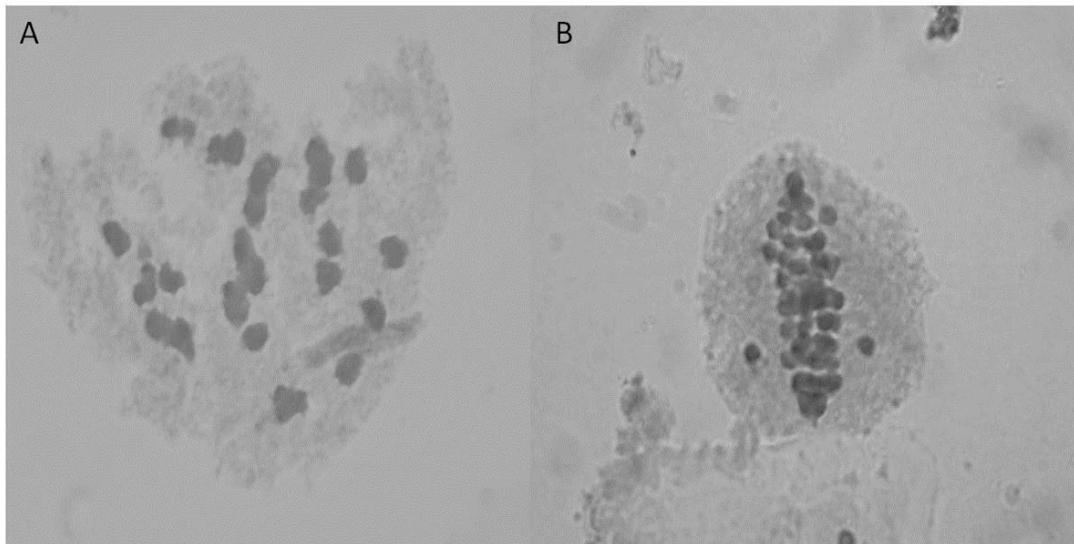


Figura 4. 1 Microfotografías de células meióticas de *D. cedrosanum*. A. Célula en diacinesis con 19 configuraciones compuestas por 15 anillos y 4 cadenas. bivalentes. B. Célula en metafase I en la cual se observa un par de cromosomas univalentes.

Cuadro 4. 1 Valores medios de frecuencias de configuraciones en diacinesis de *D. cedrosanum* efectuado en plantas de sotol. RII = anillos bivalentes; CII = cadenas bivalentes.

Planta	Meiocitos analizados	Configuraciones		Total
		RII	CII	
2011-32-1	5	14.5	4.4	19
2011-14-4	5	13.4	5.6	19
2011-21	10	16.5	2.5	19
2011-16-2	5	15.4	3.6	19
2011-39-2	5	14.6	3.8	19
2011-12-03	4	14	5	19
2011-2	5	14.8	4.2	19
2011-17-2	1	16	3	19
2011-8	5	16	3	19
2011-9	5	16.6	2.4	19
2011-26	5	15.8	3.2	19
2011-17-3	5	13.6	5.4	19
2011-15	5	16.8	2.2	19
2011-14-3	4	13.5	5.75	19
2011-17-1	5	16.6	2.4	19
2011-17-2	4	16.5	2.5	19
Total	78	15.3	3.7	19

Sobresale el hecho de que en todos los casos analizados de células en diacinesis se manifiesta una segregación balanceada, sin presencia de univalentes o multivalentes. Además, todos los apareamientos cromosómicos tuvieron una apariencia simétrica, lo que apunta hacia la ausencia de heteromorfismo cromosómico en la determinación del sexo. En raras ocasiones se observaron univalentes en metafase I (Figura 3B).

Los cromosomas meióticos presentaron un tamaño que osciló entre 3.22 μm y 8.9 μm a partir de mediciones tomadas a tres diferentes células (Cuadro 2). Las mediciones tomadas en cada célula se estandarizaron con su respectiva media. Posteriormente se agruparon y se visualizó su distribución con un histograma de frecuencias (Figura 4). Se observa una alta frecuencia de cromosomas pequeños (3 a 5 μm), seguida de una menor frecuencia de cromosomas medianos y grandes (mayor de 5 μm).

Cuadro 4. 2 Resultados de las mediciones realizadas en micras a tres células en diacinesis y sus respectivas medias.

Célula 1	Célula 2	Célula 3
3.87	4.48	3.47
4.49	4.7	4.59
4.23	4.01	7
4.07	4.41	6.49
4.07	3.27	5.65
3.69	7.23	5.04
3.77	7.85	4.17
3.49	4.98	4.14
3.22	7.08	5.04
6.14	3.72	8.9
5	4.5	4.11
3.3	3.81	3.18
3.72	3.93	3.62
4.34	3.62	3.93
6.64	3.74	4.16
3.58	3.99	3.49
3.61	4.91	5.26
4.41	3.69	4.2
4.05	3.65	4.32
4.1942	4.6089	4.7768

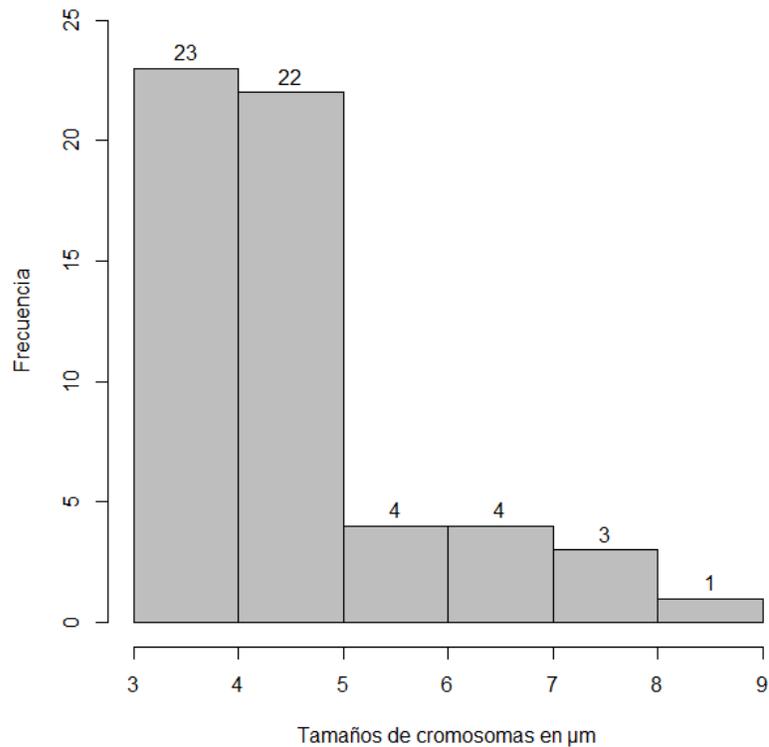


Figura 4. 2 Histograma de mediciones de cromosomas en diacinesis de *D. cedrosanum*.

Análisis Mitótico

El análisis de cromosomas en metafase mitótica se realizó para confirmar el número cromosómico observado en meiosis. En 25 células de cinco plantas diferentes se observó consistentemente número cromosómico $2n = 38$ (Figura 5), lo cual confirma los resultados del análisis meiótico. Los cromosomas en metafase mitótica revelaron una alta variación en morfología y tamaño dentro de las células, con tipos que variaron de submetacéntrico a subtlocéntrico. En el Cuadro 3 se muestran las mediciones ordenadas de menor a mayor de 38 cromosomas de una célula en metafase mitótica, donde se aprecia la variación

en los tamaños de los cromosomas. El más pequeño observado midió 1.45 μm y el más grande fue de 5.88 μm . Esta variación de tamaño hace factible la construcción de un cariotipo.

Cuadro 4. 3 Resultados de las mediciones realizadas a una célula en metafase mitótica expresadas en micras.

1.45	2.23
1.67	2.24
1.75	2.28
1.77	2.28
1.8	2.29
1.83	2.45
1.85	2.46
1.94	2.52
1.98	2.58
1.99	2.6
2.03	3.06
2.06	3.45
2.08	3.91
2.1	4.02
2.14	4.09
2.17	4.54
2.17	5.1
2.21	5.39
2.21	5.88

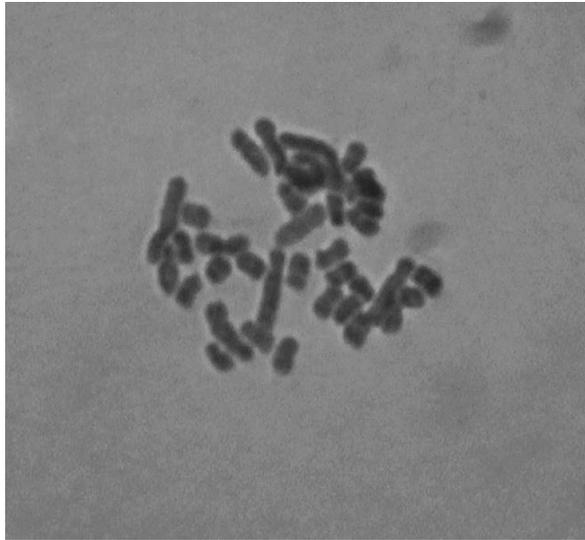


Figura 4. 3 Célula de *D. cedrosanum* en metafase mitótica

Estudio Poblacional

En el caso del estudio poblacional a cada población que fue seleccionada se etiquetaron y registraron los sexos de las plantas. En el Cuadro 4 se anotan los resultados del registro de los sexos de las 5 poblaciones y en el Cuadro 5 se muestran las coordenadas y altitudes de las localidades. Como se aprecia en los datos registrados hay una tendencia de menor cantidad de plantas macho con respecto a las hembras y tenemos un caso extremo que es la población de General Cepeda que cuenta con solo 8 plantas macho con respecto a las 66 hembras.

Cuadro 4. 4 Resultados de la identificación de sexos en las cinco poblaciones estudiadas. Arriba de la diagonal se anotan los valores absolutos, mientras que abajo de la diagonal se muestran los valores porcentuales.

	San Lorenzo	San Miguel	General Cepeda	Buenavista	Providencia	Totales
Machos	6/32	44/46	8/11	49/43	32/36	139/26
Hembras	13/68	52/54	66/89	66/57	66/74	387/74
Totales	19	96	74	115	89	526

Cuadro 4. 5 Coordenadas de las cinco localidades estudiadas.

Localidades	Latitud	Longitud	Altitud (m)
San Lorenzo	25°20.195´	100°59.158´	1966
San Miguel	25°35.581´	101°5.607´	1366
General Cepeda	25°19.696´	101°42.756´	1820
Buenavista	25°20.947´	101°1.669´	1786
Providencia	24°42.99´	101°30.116´	1970

La localidad del Cañón de San Lorenzo, Coah., se seleccionó por contar con una población de sotol poco accesible lo que nos daba motivos para pensar que no había sido alterada por los productores de sotol. Como se observa en el cuadro 4 fueron encontradas pocas plantas con escapos florales y fue menor el número de macho. En la Figura 6 se aprecia la zona que se escogió para el estudio así como también la ubicación de las plantas etiquetadas.

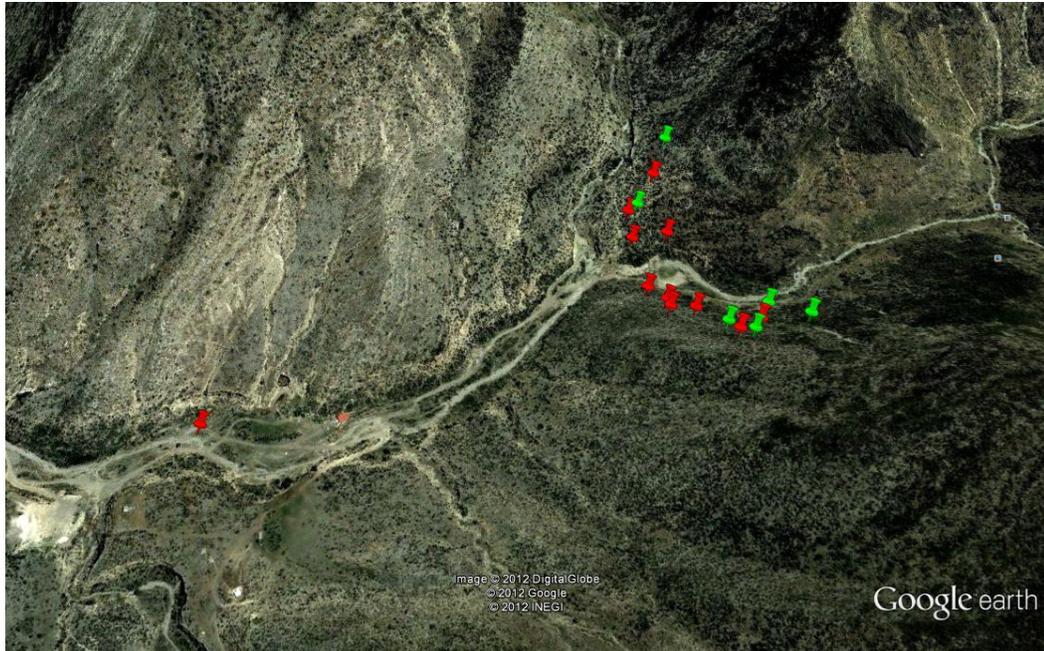


Figura 4. 4 Imagen satelital de la población ubicada en el Cañón de San Lorenzo, Coahuila. Los puntos rojos representan las plantas hembras y los puntos verdes los machos.

La población que se encuentra localizada en San Miguel, Coah., se caracterizó por lo homogénea de la distribución del sexo de las plantas y aunque en esta población también hubo una menor cantidad de machos con respecto a las hembras la diferencia fue solo de 8 plantas. En el momento de contabilizar los sexos de las plantas la población contaba con escapos florales recién emergidos. En la Figura 7 se observa la zona donde se etiquetaron las plantas.

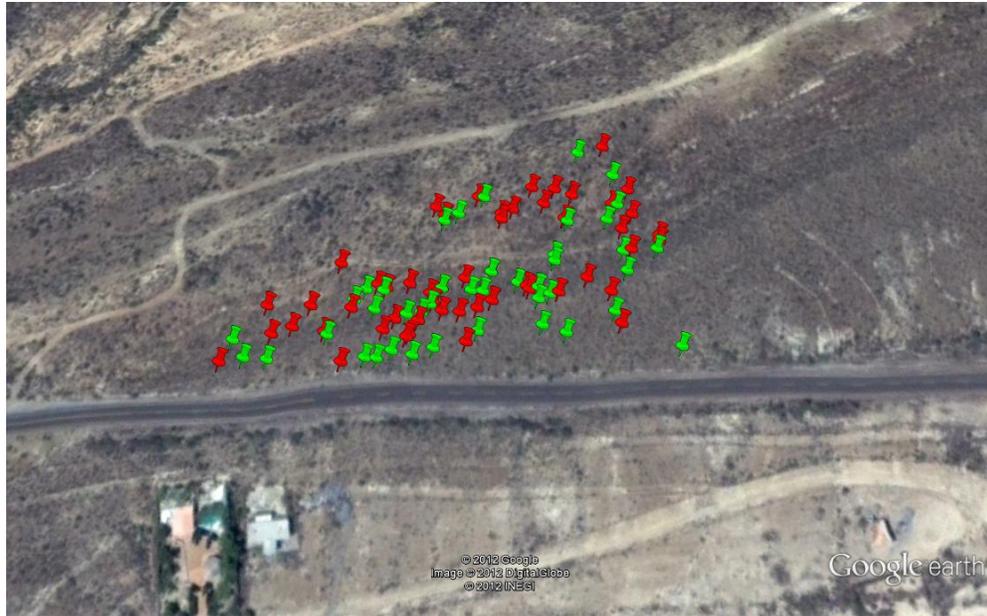


Figura 4. 5 Imagen satelital de la población ubicada San Miguel, Coahuila. Los puntos rojos representan las plantas hembras y los puntos verdes los machos.

La localidad que se encuentra General Cepeda, Coah., presentó la mayor diferencia entre plantas machos y hembras, y se caracterizó por ser la población con la menor cantidad de escapos florales masculinos. Una observación que se debe considera sobre esta población fue que en el momento que se registraron los sexos los escapos florales llevaban aproximadamente un año de haber emergido, lo cual podría ser la explicación a la menor cantidad de macho. En la Figura 8 se observa el sitio donde se etiquetaron las plantas.

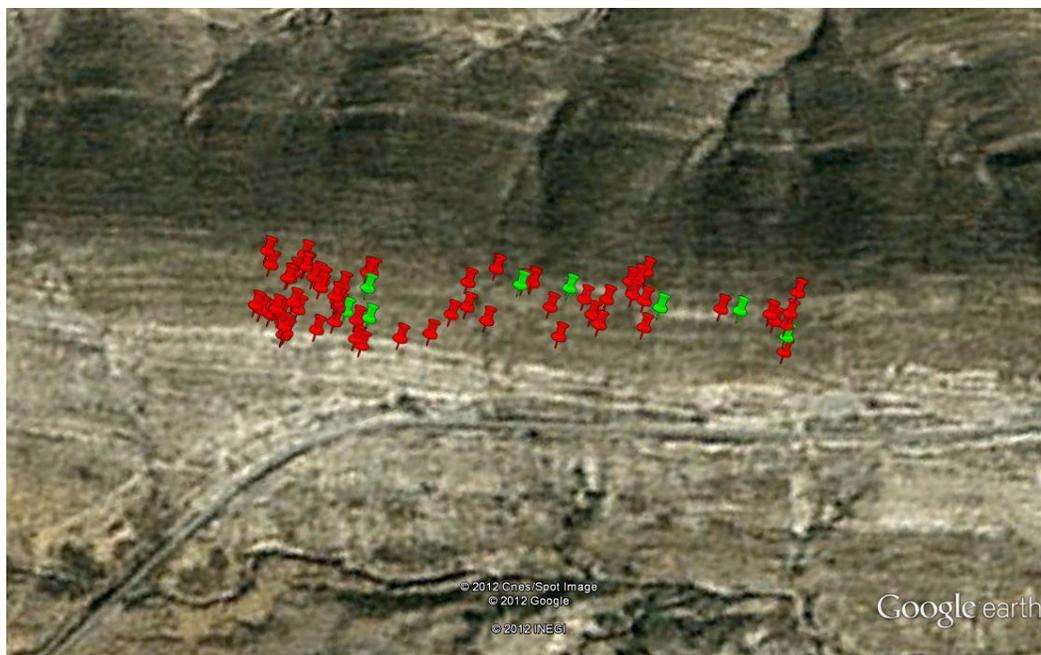


Figura 4. 6 Imagen satelital de la población ubicada General Cepeda, Coahuila. Los puntos rojos representan las plantas hembras y los puntos verdes los machos.

En la localidad ubicada en Buenavista, Coah., se encuentra la población a la que se le realizaron visitas más frecuentes, debido a esto se realizó en mejor momento la identificación del sexo de las plantas. También es la población con mayor número de plantas registradas y fue la que se monitoreó mejor evitando que fueran extraídas o dañadas las plantas. En la Figura 9 se aprecia la ubicación de las plantas etiquetadas.

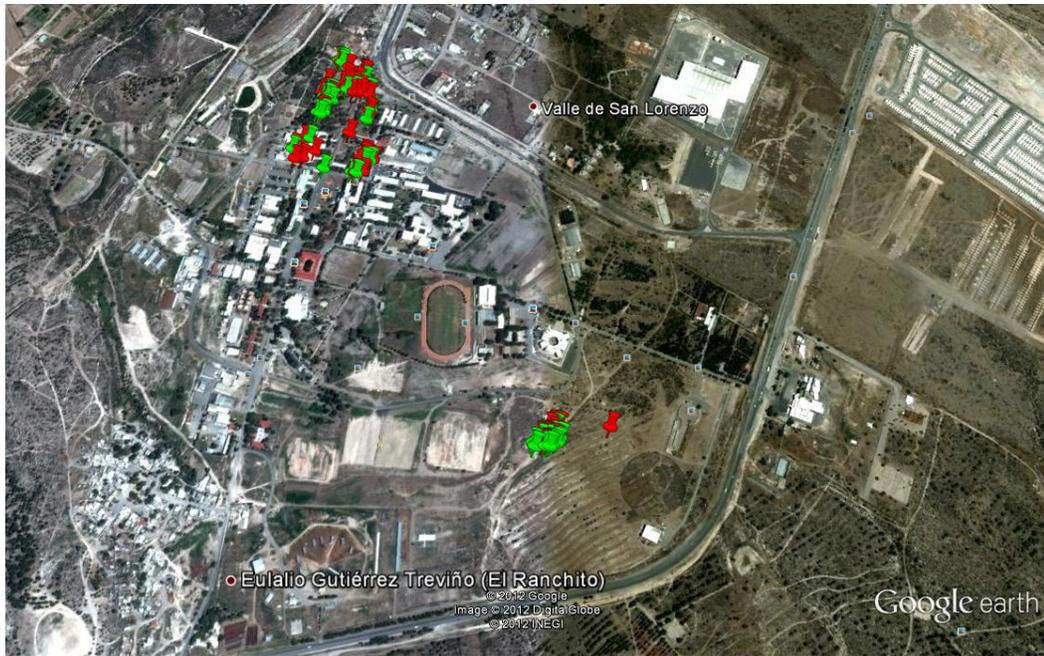


Figura 4. 7 Imagen satelital de la población ubicada en Saltillo, Coahuila. Los puntos rojos representan las plantas hembras y los puntos verdes los machos.

Por último la población de Providencia localidad en el estado de Zacatecas fue la segunda población con menor número de machos aunque presento una distribución de las plantas homogénea. Una de las características de esta población fue el hecho de que las inflorescencias de las plantas no eran de nuevas sino que del año anterior, observándose los escapos secos y en algunos casos caídos. En la Figura 10 se aprecia una foto satelital del lugar seleccionado y de las plantas etiquetadas.

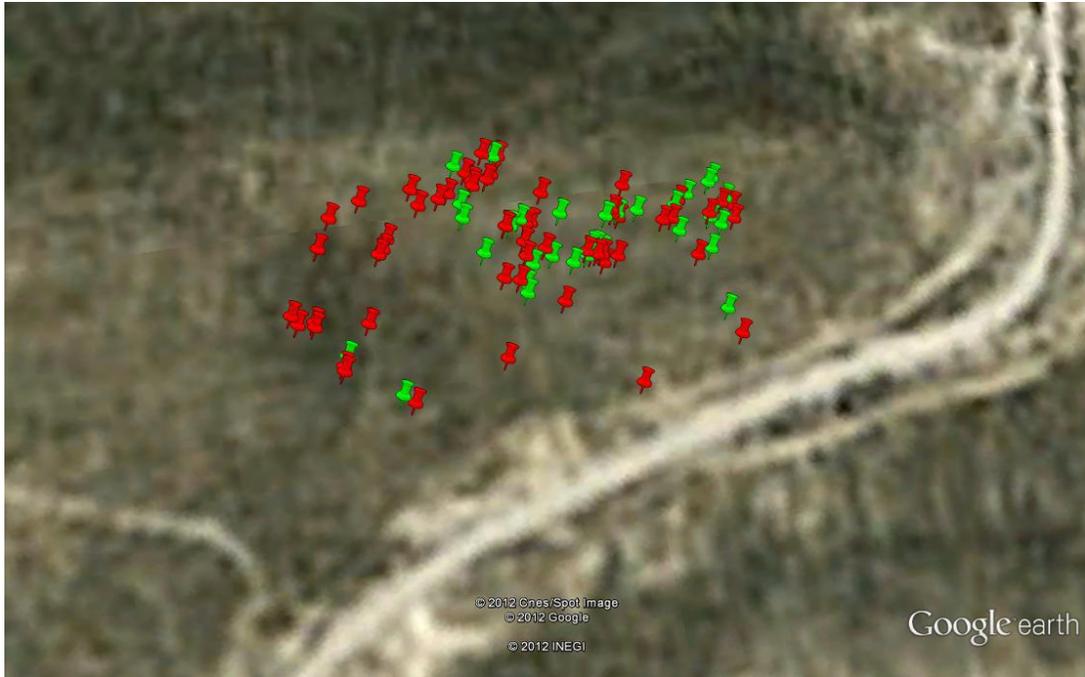


Figura 4. 8 Imagen satelital de la población ubicada en Providencia, Zacatecas. Los puntos rojos representan las plantas hembras y los puntos verdes los machos.

En la Figura 11 se realiza una comparación de los porcentajes de machos de cada localidad. Se aprecia que ninguna población tuvo un porcentaje mayor de plantas macho con respecto a las hembras. La población de San Miguel (MS) con un 45.8% de machos fue la más alta, seguida de la población de Buenavista (B) con un valor de 42.6%. En las poblaciones de San Lorenzo (SL) y Providencia (PR) se registraron porcentajes de machos de 31.5% y 35.9%, respectivamente, resultados ligeramente alejados de la proporción 1:1. En la población de General Cepeda (GC) como ya se mencionó obtuvo un porcentaje de machos muy bajo, con un valor de 10.8%, con lo cual se aleja mucho de la proporción 1:1 y de las otras poblaciones.

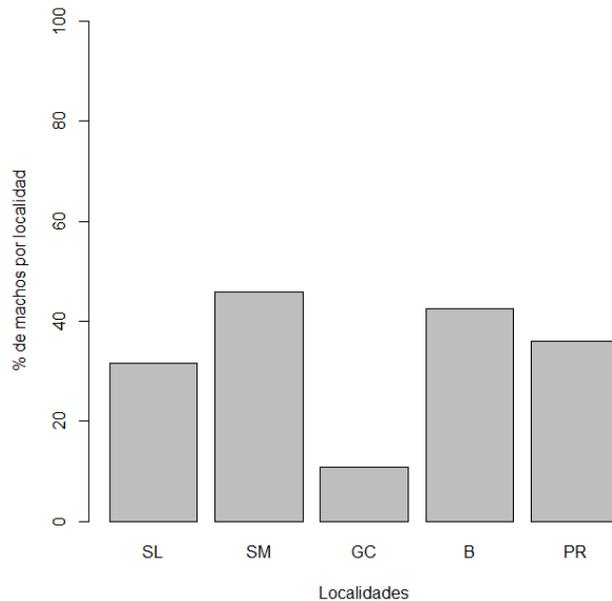


Figura 4. 9 Comparación de proporción de machos por localidad. Las proporciones de machos fueron las siguientes: San Lorenzo (SL) 32%, San Miguel (SM) 46%, General Cepeda (GC) 11%, Buenavista (B) 43 % y Providencia (PR) 36%.

En la localidad del cañón de San Lorenzo la prueba de z arrojó un valor $p = 0.1083$, con lo cual no se rechaza la proporción de sexos 1:1. En el caso de la localidad de San Miguel la prueba estadística dió un valor de p de 0.4142 por lo cual tampoco se rechaza la hipótesis nula. Para la localidad de General Cepeda hay argumentos para rechazar la proporción 1:1, ya que la prueba estadística presentó un valor de p de 1.558×10^{-11} muy por debajo de nuestro valor de alfa de 0.05. En el caso de la población de Buenavista no se rechaza la hipótesis nula, ya que la prueba estadística dio un resultado de $p = 0.1129$. Por último en, la localidad de Providencia se rechaza la proporción 1:1 con valor de $p = 0.008049$.

Por último se agruparon las poblaciones de San Miguel y Saltillo para realizar la prueba de z. Se seleccionaron estas poblaciones debido a que en las plantas macho contaban con polen y las plantas hembras con semillas, por lo tanto sus escapos eran jóvenes. Para el agrupamiento de las dos poblaciones la prueba de z nos dio un valor de p de 0.09849 superior al valor de alfa por tanto nuestra hipótesis nula no se rechaza.

El hecho de que no en todas las poblaciones se aprobara la hipótesis nula sugiere diferentes explicaciones posibles:

1. El mecanismo genético de la determinación del sexo en sotol no es del tipo XY como el observado en mamíferos placentarios y dípteros, así como en algunas plantas.
2. Aunque la determinación sea genética con proporciones esperadas 1:1, existe un mecanismo de selección que origina un sesgo en la proporción de sexos en plantas adultas.
3. La expresión sexual está influenciada por variables ambientales endógenas y exógenas.
4. Hay error en los conteos cuando los escapos no son jóvenes, debido a una permanencia diferencial de los escapos secos entre plantas.
5. Aparición más temprana de escapos en plantas estaminadas, con desaparición prematura de los mismos.

La desviación en la proporción sexual en dos de las cinco poblaciones junto con la proporción estimada de machos del conjunto de todas las poblaciones fue menor al 50% esto nos permite suponer la presencia de algún mecanismo genético que favorezca a la mayor cantidad de plantas hembra provocando proporciones lejanas a 1:1 como fue la proporción global de hembras del 74 %. Es conveniente mencionar que en dos poblaciones fueron tomados los datos con escapos florales que florecieron un año antes por lo que esto podría haber sesgado los resultados a favor de las hembras. Para descartar otras posibilidades se recomienda en futuros estudios realizar la toma de datos cuando las poblaciones tienen escapos jóvenes y fácilmente diferenciables, también se aconseja tomar registro de las variables ambientales como radiación solar, humedad relativa, etc. que nos permita relacionar las variables ambientales con los sexos.

V. CONCLUSIONES

Los análisis mitóticos y meióticos revelan un número cromosómico $2n = 38$ para la especie *Dasyllirion cedrosanum*, el cual es consistente con las observaciones previas en otras dos especies del mismo género. El apareamiento normal bivalente observado en la mayoría de las células analizadas indica que es una especie con una segregación cromosómica regular tipo diploide. La simetría de las configuraciones sugiere la ausencia de un posible heteromorfismo cromosómico en la determinación del sexo. En las células en metafase mitótica se observó una gran variación en tamaño y posición del centrómero entre cromosomas, por lo cual es factible la construcción de un ideotipo cromosómico del sotol en estudios posteriores.

El estudio poblacional presentó sesgo significativo hacia un exceso de hembras con respecto a una proporción 1:1 para dos localidades. No obstante, en el resto de los sitios la proporción estimada de machos fue también menor al 50%, con una proporción global de 26 %. Se postula la presencia de algún mecanismo genético, selectivo o ambiental que sesga las frecuencias de sexos.

VI. LITERATURA CITADA

- Ainsworth, C. 2000. Boys and Girls Come Out to Play: The Molecular Biology of Dioecious Plants. *Ann. Bot-London*. 86:211–221.
- Bogler, D. J. 1998. Three new species of *Dasyilirion* (*Nolinaceae*) from Mexico and a clarification of the *D. longissimum* complex. *Brittonia*.50:71–86.
- Bogler, D. J. 1994. Taxonomy and phylogeny of *Dasyilirion* (*Nolinaceae*). PhD. Dissertation. University of Texas. Austin. USA. 583 pp.
- Cruz-Requena, M. 2007. Caracterización fisicoquímica de las plantas de diferente sexo del sotol. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Morelia, Michoacán, México.
- Giraldo, C. I., L. Reginfo, E. Aguilar, D. Gaviria y A. H. Alegria. 2004. Determinación del sexo en borojo (*Borojoa patinol*, *Cuatrecasas*) mediante marcadores moleculares. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 6:9-14.
- Lloyd, B. Y. D. G. 1975. Breeding systems in *Cotula* L. III Dioecious populations. *New Phytol.* 74: 09–123.

- Jewell, D. C. y M. N. Islam-Faridi. 1994. Details of a technique for somatic chromosome preparation and C-banding of maize. In: Freeling M. y V. Walbot (eds.). The maize handbook. Springer-Verlag. Berlin, Germany. pp. 484-493.
- Madriz, R. 1997. Biología reproductiva de *Coccoloba uvifera* (*Polygonaceae*) una especie polígamo-dioica. Rev. Biol. Trop. 44:105–115.
- Martínez, M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México: Fondo de Cultura Económica.
- Negrutiu, I., B. Vyskot, N. Barbacar, S. Georgiev y F. Moneger. 2001. Dioecious plants. A key to the early events of sex chromosome evolution. Plant. Physiol. 127: 1418-1424.
- Obeso, J. R. y R. Retuerto. 2002. Dimorfismo sexual en el acebo, *Ilex aquifolium*: ¿coste de la reproducción, selección sexual o diferenciación fisiológica? Rev. Chil. Hist. Nat. 75: 67–77.
- Olivas-García, J. M., J. A. Anchondo-Najera, J. Hernández-Salas, C. Lujan-Álvarez, J. M. Baca-Venegas y J. Chanco-Soletto. 2010. La industria del sotol en Chihuahua: hacia el uso sustentable de un importante recurso natural. VII Simposio Internacional sobre la Flora Silvestre en Zonas Áridas. Hermosillo, Sonora, México. 268 pp.

- Parasnis, A. S., V. S. Gupta, S. A. Tamhankar y P. K. Ranjekar. 2000. A highly reliable sex diagnostic PCR assay for mass screening of papaya seedlings. *Mol. Breeding*. 6:337–344.
- Pretel, A., y A. Sañudo. 1978. Estudios cariologicos en especies españolas del genero *Astragalus*. Número y comportamiento de los cromosomas durante la meiosis. *Lagascalía* 8:25–38.
- Robles-Esparza, A., y J. L. España-Montoya. 2008. Biomasa y forraje, distribución espacial y abundancia de la planta de sotol (*Dasyilirion sp.*) En el ejido el Jazmín, Mazapil, Zacatecas, México. *Rev. Invest, Cient.* 4: 1–9.
- Sato, D. 1935. Analysis of karyotypes in *Yucca*, *Agave* and the related genera with special reference to the phylogenetic significance. *Jpn. J. Genet.* 11:272-277.
- Vyskot, B. y R. Hobza. 2004. Gender in plants: sex chromosomes are emerging from the fog. *Trends in Genetics*. 20: 432–438.
- World Checklist of Selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://apps.kew.org/wcsp/> Retrieved 2012-12-02.