

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Análisis Morfológicos e Histológico de Estructuras Florales y su Relación con la
Dioecia en Sotol (*Dasyllirion cedrosanum*)

Por:

RITA CELENY ROBLERO ROBLERO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Junio de 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Análisis Morfológicos e Histológico de Estructuras Florales y su Relación con la
Dioecia en Sotol (*Dasyllirion cedrosanum*)

Por:

RITA CELENY ROBLERO ROBLERO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

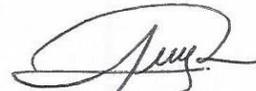
Aprobada



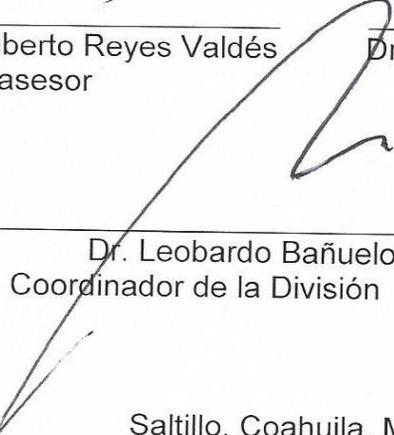
Dra. Francisca Ramírez Godina
Asesor Principal



Dr. Manuel Humberto Reyes Valdés
Coasesor



Dr. Juan Manuel Martínez Reyna
Coasesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México
Junio de 2014

A G R A D E C I M I E N T O S

A Mi Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”

Por brindarme la preparación profesional, y darme la oportunidad de desempeñarme como alumno en sus aulas.

A LA DOCTORA FRANCISCA RAMÍREZ GODINA

Por darme la oportunidad de realizar esta investigación, su apoyo moral y profesional para culminarlo. Y fungir excelentemente como asesora principal.

AL DOCTOR MANUEL HUMBERTO REYES VALDÉS

Por el apoyo, revisión y sugerencias en este trabajo de investigación.

AL DOCTOR JUAN MANUEL MARTÍNEZ REYNA

Por su disposición de enseñanzas, apoyo en revisión y sugerencias para llevar a cabo esta investigación.

A LA LABORATORISTA NORMA LETICIA PORTOS GAONA

Por la paciencia brindada en sus enseñanzas y el apoyo brindado para la realización del trabajo en el laboratorio.

AL INGENIERO HUMBERTO FLORES JARAMILLO

Por el apoyo incondicional, la paciencia y disposición en todo momento; y sobre todo su cariño brindado.

“Más gracias sean dadas a Dios, que nos da la victoria por medio de nuestro señor Jesucristo. Así que, hermanos míos amados, estad firmes y constantes, creciendo en la obra del señor siempre, sabiendo que vuestro trabajo en el señor no es en vano”.

1 CORINTIOS 15:27-58

DEDICATORIAS

A MIS PADRES: Sr. Román Roblero Morales

Sra. Hilda Martha Roblero Escobar

Por darme la oportunidad de cumplir mis sueños, a pesar de que implicaba alejarme de ellos, porque gracias a sus enseñanzas y consejos me permitieron afrontar la vida con tropiezos y con triunfos. Supieron inculcarme los valores que me hacen ser la persona que soy ahora y gracias por su cariño y por haberme dado la familia tan maravillosa que tengo. Agradezco a Dios por haberlos elegido a ustedes como mis padres y haberme criado en un ambiente de felicidad. LOS AMO.

A MIS HERMANAS (OS): Lubi, Ruly, Yandi, Leyner y Jhony

Porque desde pequeña me cuidaron y brindaron su apoyo, por darme una docena de sobrinos y agrandar nuestra familia que es la base de nuestro cariño y apoyo. Y siempre brindarme apoyo para terminar mis estudios.

A MIS CUÑADOS (AS): Francisco, Martin, Harly, Angélica y Nallely.

Por formar parte de mi familia y apoyar en todo momento a mis hermanas y hermanos y haberme regalado la dicha de ser tía.

A MIS SOBRINOS (AS): Francisco Gabriel, Leyner Didier, Román, Angélica, Romina, Alan Rodrigo, Camila, Claudia Denisse, Ángel Jesús, Jhony, Martin y M. Tovilla.

Por las sonrisas, alegrías y buenos recuerdos brindados, por ser conjuntamente con sus padres y mis padres la motivación para seguir adelante y no dejar decaerme ante los obstáculos.

¡MUCHAS GRACIAS Y QUE NUESTRO PADRE DIOS LOS BENDIGA!

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
HIPÓTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
1.1. SOTOL (<i>Dasyllirion cedrosanum</i>).....	4
1.1.1. Descripción botánica.....	4
1.1.2. Origen y distribución.....	6
1.1.3. Importancia socioeconómica del sotol.....	7
1.1.3.1. Licor de sotol.....	7
1.1.3.2. Producción de fibra.....	8
1.1.3.3. Forraje.....	8
1.1.3.4. Otros usos.....	9
1.2. MORFOLOGÍA DE LA FLOR DEL GENERO <i>Dasyllirion</i>	10
1.3. REPRODUCCIÓN DEL SOTOL.....	11
1.3.1. Reproducción sexual.....	11
1.3.2. Reproducción asexual.....	11
1.4. SEXUALIDAD EN PLANTAS.....	12
1.4.1. Hermafroditas.....	12
1.4.2. Plantas unisexuales.....	13
1.4.2.1. Monoicas.....	13
1.4.2.2. Dioicas.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
1.5. Descripción de las áreas de estudio.....	15
1.6. Muestreo, colecta de muestras botánicas.....	15

1.7. Variables analizadas.....	17
1.7.1. Morfología de la flor masculina y femenina del sotol.....	17
1.7.2. Análisis de viabilidad y tamaño de polen.....	17
1.7.3. Análisis histológico de flores masculinas y femeninas del sotol.....	19
1.8. Fijación.....	19
1.9. Deshidratación.....	19
1.10. Inclusión en parafina.....	20
1.11. Cortes al micrótomo.....	21
1.12. Montaje de tejidos en portaobjetos.....	21
1.13. Coloración.....	22
1.14. Análisis de imágenes.....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES.....	38
ANEXOS.....	39
LITERATURA CITADA.....	44

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pagina
1	Datos de colectas de flores de sotol de tres sitios ubicados en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.....	16
2	Fechas y alturas de muestras de la sección baja del escapo de planta macho (UA-1030) del sitio 1.....	17
3	Porcentaje de viabilidad y tamaño del polen de flores de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> de plantas macho localizadas en dos sitios de la UAAAN.....	28
4	Proporciones de crecimiento de pistilo/antera por día después de la 1ª muestra de la planta macho (UA-1030) del sitio 1.....	30
5	Media de proporciones pistilo/antera por día después de la 1ª muestra y sección del escapo de plantas macho y plantas hembra de sotol.....	33
6	Medidas de pistilo y anteras de la planta macho del sitio 1.....	39
7	Medidas de pistilo y anteras en planta macho (2010-25-2) y planta hembra (2010-23-2).....	40
8	Medidas de pistilo y anteras de planta macho (N7) y planta hembra (N8).....	40
9	Medias de proporciones pistilo antera en diferentes fechas y alturas del escapo de planta macho(2010-25-2) y planta hembra (2010-23-2).....	41
10	Medias de proporciones pistilo antera en diferentes fechas y alturas del escapo de planta macho (N7) y planta hembra (N8).....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pagina
1	Plantas de sotol. A1, A2, planta y escapo femenino, respectivamente; B1, B2, planta y escapo masculino, respectivamente.....	24
2	Flor Femenina de <i>Dasylirium cedrosanum</i> . Fascículo(a). Racimo y grupo floral (b, c). Flor (d). Corte transversal del gineceo (e). Estaminodio (f). Estaminodio (→). Semilla (g).....	25
3	Flor masculina de <i>Dasylirium cedrosanum</i> . Fascículo (a). Racimo y grupo floral (b,c).Flor(d). Pistilodio (→).....	26
4	Granos de pólen de <i>Dasylirium cedrosanum</i> . A) Viabilidad: Los teñidos se consideran viables, los constreñidos y sin color no viables. B) Tamaño: Diámetros de granos.40X.....	29
5	Fotos de cortes longitudinales de flores de planta macho UA-1030 a diferentes fechas de muestreo y aproximadamente a la misma altura del escapo: A) 3/06/2013 1.43 m, B) 5/06/2013 1.48 m, C) 7/06/2013 1.53 m, D) 10/06/2013 1.60 m, E) 12/06/2013 1.66 m, F) 14/06/2013 1.72 m. 2.5X.....	31
6	Cortes longitudinales de flores macho (1) planta 2010-25-2 del sitio 2 ,10X y flores hembra (2) planta 2010-23-2 del sitio 3,10X; Secciones bajas (A,C y F), medias(B,D y G) y altas (E y H) del escapo y sus fechas: A1, B1)23/05/2013 2.32m y 2.82m; A2, B2) 21/05/2013 2.17m y 2.23m.; C1, D1 y E1) 27/05/2013, 2.27m ,2.82m y 3 m.; C2, D2 y E2) 24/05/2013 2.61 m, 2.72m y 2.80 m.; F1, G1, H1) 3/06/2013 2.30 m, 2.83 m y 3.10 m; F2, G2, H2) 28/05/2013 2.85 m, 3.14m y 3.33m.....	35
7	Cortes longitudinales de flores macho (1) planta N7 del sitio 3, 2.5X y flores hembra (2) planta N8 del sitio 3, 2.5X; Secciones bajas (A,C y F), medias(B,D y G) y altas (E y H) del escapo y sus fechas: A1, B1)16/05/2013 1.26 m y 1.42 m; A2, B2) 21/05/2013 2.17 m y 2.43 m; C1, D1 y E1) 20/05/2013, 1.56 m ,1.71 m y 1.92 m.; C2, D2 y E2) 24/05/2013 2.40m, 2.64m y 2.90 m; F1, G1, H1) 22/05/2013 1.62m, 1.80m y 1.98m; F2, G2, H2) 28/05/2013 2.74 m, 3.11m y 3.26m.....	42

RESUMEN

El sotol (*Dasyliirion cedrosanum*), es una especie perenne del Norte de México y Sur de los Estados Unidos de América, se caracteriza por ser dioica, ya que existen plantas machos y hembras. El sotol es un producto de gran importancia económica y social en las zonas áridas y semiáridas de México. Sin embargo, se desconocen cómo y cuándo se establece la unisexualidad en sotol, por lo que se consideró necesario estudiar a nivel morfo-anatómico la estructura y desarrollo floral en plantas macho y hembra. Se evaluó la morfología de flores masculinas y femeninas, viabilidad y tamaño del polen por el método de tinción e histología de flores masculinas y femeninas por el método de la parafina; de plantas de sotol de tres sitios ubicados dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila. Se observó que la inflorescencia en sotol es una panícula racemosa con un raquis principal engrosado y leñoso en el que se insertan, en forma helicoidal, las ramificaciones racemosas llamados fascículos, protegidos por brácteas. Los porcentajes de viabilidad de polen fueron superiores al 90%, con tamaños de polen considerados medianos. Las mediciones en cortes longitudinales de pistilo y anteras, en machos mostraron que al inicio del muestreo la proporción longitud de pistilo/antera es de 1.39, cuatro días después de 0.65 y dos días posteriores disminuyó a 0.41, en la sección baja del escapo fue 1.01, sección media 0.72 y 0.39 en la sección alta del escapo, mostrando que la antera en las flores macho va adquiriendo tamaños mayores al pistilo. En las flores hembras el desarrollo pistilo/antera fue inverso a los machos, al inicio la proporción fue

1.59, tres días después 1.72 y posteriormente a los cuatro días 2.97, indicando que el pistilo en el tercer muestreo tiene casi el doble que la antera, en las secciones del escapo ocurrió lo mismo, sección baja 1.83, media 2.15 y alta 2.67, deduciendo que el pistilo en la flor hembra va aumentando en comparación con la antera. En ambos casos flor macho y hembra, conforme avanza el tiempo y la altura del escapo los órganos representativos de cada sexo van abarcando más espacio que el órgano contrario dentro de la flor, diferenciándose, ya sea como flor estaminada o flor pistilada, presentando órganos sexuales contrarios en forma rudimentaria e infértiles, llamados pistilodios y estaminodios. Los resultados permiten concluir que la unisexualidad en sotol no se establece desde la formación de los meristemas florales ya que flores estaminadas y pistiladas, inician como bisexuales y conforme avanza el desarrollo floral se convierten en unisexuales, quedando el pistilo o las anteras según corresponda en forma rudimentaria. Posiblemente la causa de la unisexualidad en sotol se deba a mecanismos genéticos, hormonales o ambientales que de alguna forma regulan el desarrollo de órganos sexuales.

Palabras claves: histología, unisexualidad, dioecia, flor estaminada, flor pistilada.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las plantas poseen flores perfectas, sin embargo un 10 % de las especies producen flores unisexuales en donde solo estambres o carpelos se desarrollan hasta la madurez, y pueden estar sobre una misma planta (monoecia) o en plantas separadas (dioecia) (Irish y Nelson, 1989). Para identificación de condiciones unisexual de las plantas se implementan estudios a nivel de estructuras y tejidos de la flor (Meagher, 2007).

Se han realizado revisiones morfológicas y estudios anatómicos de flores de *Smilax* determinando de esa manera la dioecia existente en esta planta (Acosta y Laurito, 2004). Para determinar si *Carica papaya* pasa por un estado bisexual y en qué momento ocurre la determinación sexual se estudió el desarrollo morfológico de las flores masculinas y femeninas de la planta y se observó que las flores estaminadas pasan por un estado bisexual en sus primeros estadios, pero al alcanzar la madurez sólo los estambres están bien diferenciados, mientras que el gineceo queda atrofiado, en contraste en flores pistiladas que no se observaron estambres atrofiados (Castro *et al.*, 2002)

El sotol las plantas de ambos sexos cuentan con una inflorescencia o escapo que suele ser muy alta (más de dos metros), con estambres en la parte superior para el caso de los machos, o pistilos en el caso de las hembras (plantas pistiladas y estaminadas) lo cual hace que la reproducción cruzada sea obligada (Tanurdzic y Banks, 2004). Se desconoce en absoluto el mecanismo de determinación sexual en el género *Dasyllirion*.

A la fecha no existe un método para diferenciar entre machos y hembras si la planta no está en floración o fructificación, No hay diferencias morfológicas en la parte vegetativa entre sexos y no se han detectado diferencias significativas en composición fisicoquímica y producción de alcohol en machos y hembras ni diferencias genéticas generales entre ellas (Cruz *et al.*, 2007).

El sotol es un producto forestal no maderable de gran importancia económica y social en las zonas áridas y semiáridas de México, se ha utilizado como forraje para ganado, la elaboración de diversos utensilios y aún más importante preparación de bebida; Su aprovechamiento representa una fuente de empleo y esta práctica ha sido tan intensa que hay algunas áreas donde prácticamente ya no existe. Su ciclo de formación de semillas dura cerca de seis años por causas desconocidas. Sin embargo la polinización suele ser una limitante, y aunque se considera que ocurre principalmente por la acción del viento, se desconocen a ciencia cierta las formas de transporte del polen. Si consideramos que para conocer el sexo de una planta de sotol esta tiene que ser adulta y además estar en la época y año de floración y reproducción, el espacio posible para determinación del sexo se ve bastante reducido.

Dado que se desconoce cómo y cuándo se establece la unisexualidad en sotol, consideramos necesario estudiar a nivel anatómico la estructura y desarrollo floral con la finalidad de dilucidar los mecanismos e identificación temprana de la dioecia en (*Dasyllirion cedrosanum*)

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el fenómeno de la dioecia en sotol (*Dasyilirion cedrosanum*), por medio de análisis histológico de flores de plantas macho y plantas hembra para dilucidar los mecanismos e identificación temprana de la dioecia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar tamaño de androceo y gineceo en plantas macho y hembra de tres poblaciones para establecer la presencia de algún tipo de diferenciación entre plantas pistiladas y estaminadas.
- 2.- Determinar la viabilidad estructuras y tamaño del polen
- 3.- Evaluar morfológicamente e histológicamente flores masculinas y femeninas en diferentes etapas de maduración para una identificación temprana.

HIPÓTESIS

Se presentarán diferencias histológicas en flores de plantas estaminadas y plantas pistiladas a diferentes alturas del escapo y fechas.

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. SOTOL (*Dasyilirion cedrosanum*)

El Sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.) es una especie de planta de la familia Asparagaceae (Zuccarini,1838); es una especie silvestre nativa de México, 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 más vasto de todos los tipos de vegetación de México (Arce *et. al.*, 2004a).

1.1.1. Descripción botánica

El Genero *Dasyilirion* al que pertenece el “sotol” cuya palabra proviene del Náhuatl TZOTOLLIN que significa lirio grueso y suculento, el nombre fue usado en botánica primeramente por Zuccarini (Ornelas 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 ápice 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 áspera, que los asemeja a los agaves (Velásquez, 1983).

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, la cual surge del tronco o cabeza, es gruesa, carnosa y de tamaño regular (Velásquez, 1983).

El tamaño de la inflorescencia está relacionado con el tamaño de la corona, varía desde un metro en plantas jóvenes hasta seis metros en la mayoría de las plantas adultas; aparecen en el centro de la corona, como un brote parecido a una lanza con brácteas sobrepuestas.

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 (citado por Dzib, 2003).

Las semillas son trígonoas, con tres lados, de color café-oro con una superficie más o menos plana y rugosa (Dzib, 2003), de testa dura y una cubierta impermeable que reduce su capacidad de imbibición la cual hace que presente dificultad para su germinación (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, vacas y animales silvestres (Palma, 2000), por lo tanto la propagación y establecimiento presenta serias dificultades.

1.1.2. Origen y distribución

El género *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 (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.

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 (López, 2005), 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.

1.1.3. Importancia socioeconómica del sotol

1.1.3.1. Licor de sotol

Tradicionalmente en los estados de Chihuahua, Durango y Coahuila, estados dentro de la denominación de origen, se utiliza el *Dasyliirion* para fabricar un destilado conocido con el mismo nombre. 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 gimen 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 (Molina, 1983). Así se elabora el sotol blanco: cuya graduación alcohólica comercial debe, en su caso, ajustarse con agua de dilución.

Este licor presenta características propias de acuerdo a la variedad de *Dasyliirion* (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 (Olhagaray, 2004).

(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.

1.1.3.2. 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 (Palma, 2000).

1.1.3.3. 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 en buenas condiciones en periodos prolongados (Palma, 2000),

ya que el sotol tiene 77.7 %del valor nutritivo que contiene la alfalfa. El bagazo del sotol ya procesado, generalmente se emplea como alimento de vacas y cabras.

1.1.3.4. Otros usos

Se emplea mínimamente 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. 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.

Los Mezcaleros 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).

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).

1.2. MORFOLOGÍA DE LA FLOR DEL GENERO *Dasyllirion*

El género *Dasyllirion* tiene flores pequeñas, funcionalmente unisexuales. Algunas plantas sólo tienen flores masculinas, otras sólo femeninas. En ambas plantas las flores se insertan en grupos de 2-3 en la panícula, tienen seis tépalos separados, elípticos u obovados

En la inflorescencia de flores estaminadas las anteras presenta color amarillo brillante lo que hace que sean visibles a una gran distancia. La flor estaminada presenta seis estambres con filamentos glabros y dorsifijos, y anteras dehiscentes. El polen en las anteras es dehiscente a la inflorescencia entera, de color amarillo. El gineceo de las flores estaminadas se reduce a un grupo pequeño no funcional en el centro de la flor. Puede segregar néctar, pero el gran atrayente en las flores estaminíferas parece ser el polen.

Las flores pistiladas tienen un pedicelo articulado claramente. En la mayoría de las especies la articulación es estrecha en forma de embudo que se desvanece gradualmente hacia fuera para cubrir una superficie coincidente en el receptáculo. A veces el pedicelo y empalme son cortos y en cuclillas.

En *Dasyllirion Texanum* el pedicelo es más delgado, cambia abruptamente hacia fuera en el empalme con el receptáculo. Con tépalos generalmente de color verde o a veces en color púrpura. Hay seis estambres reduce no funcionales o estaminidos enfrente de los tépalos, estos tienen aproximadamente 1mm de largo, filamentos y anteras pequeñas.

El ovario tiene tres lóbulos y un lóculo individual. Generalmente hay seis pequeños óvulo producido en el lóculo, pero sólo uno, o raramente dos, se convierten en semillas maduras (Bogler, 1994).

1.3. REPRODUCCIÓN DEL SOTOL

El sotol puede reproducirse en forma sexual y asexual:

1.3.1. 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 (Calderón, 2004).

1.3.2. Reproducción asexual

En este método la reproducción es a partir de alguna parte vegetativa de la planta como yemas axilares, hojas, tallos, raíz (Calderón, 2004).

1.4. SEXUALIDAD EN PLANTAS

Entre las plantas existe una gran diversidad de formas, en relación a la manera como se presentan los sexos dentro de los individuos, así como entre los individuos de una misma especie.

Encontramos, por ejemplo, especies en las que los sexos están separados y entonces algunos individuos son del sexo femenino y otros son del sexo masculino (Barret y Shore, 1987).

1.4.1. Hermafroditas

El hermafroditismo es un término de la biología y zoología, con el cual se designa a los organismos que poseen a la vez órganos reproductivos usualmente asociados a los dos sexos: macho y hembra. Es decir, se trata de un ser vivo con un aparato mixto capaz de producir gametos masculinos y femeninos.

Se cree que las plantas con flores evolucionaron de un antepasado común hermafrodita, y que el carácter dioico evolucionó a partir del carácter hermafrodita. El carácter hermafrodita es muy común entre las plantas con flores; aproximadamente el 70% de ellas son hermafroditas, mientras que sólo el 6/7% son dioicas y el 7% son monoicas. Aproximadamente el 7% de las especies muestran formas de ginodioicas o androdioicas, mientras que el 10% contiene tanto flores monosexuales y bisexuales (Eguiarte *et al.*, 1999).

Las flores femeninas en condiciones normales necesitan el polen de las masculinas o hermafroditas para producir fruta aunque en muchas ocasiones pueden desarrollarse partenocárpicamente. Las frutas más comerciales son sin embargo, las hermafroditas.

Es deseable por ello disponer en la plantación de plantas hermafroditas únicamente o mayor porcentaje de hermafroditas que de femeninas, con lo cual tendremos por un lado una adecuada polinización de las flores femeninas y por otro frutos hermafroditas que son los de mayor demanda en los mercados. Evidentemente las plantas masculinas también permiten polinizar las flores hermafroditas y femeninas.

1.4.2. Plantas unisexuales

Tienen estructuras reproductivas que funcionalmente es o masculina o femenina. En angiospermas esta condición es denominada imperfecta o incompleta (Eguiarte *et al.*, 1999).

1.4.2.1. Monoicas

Los individuos que producen flores de ambos sexos a la vez se llaman monoicos simultáneos o sincrónicos. Individuos que sólo poseen flores de un único sexo a la vez son llamados monoicos consecutivos; "protoándricos" son los individuos que funcionan primero como masculinos y luego cambian a femeninas; "protóginos" son los individuos que funcionan primero como femeninos y luego cambian a masculinos (Campbell y Waser, 1987).

1.4.2.2. Dioicas

Poseen unidades reproductivas monosexuales (flores, conos de conífera, o estructuras funcionales equivalentes) que se manifiestan en diferentes individuos; del griego "dos casas". Dado que muchas coníferas dioicas poseen una tendencia a ser monoicas (o sea, una planta femenina, puede a veces producir una pequeña cantidad de conos masculinos o viceversa), estas especies son llamada subdioicas (Nettancourt, 1997).

En terminología angiosperma, diclinous ("dos camas") incluye a todas las especies con flores monosexuales, particularmente aquellas que poseen solo flores monosexuales.

Ginoicas - solo tiene estructuras reproductivas femeninas; la planta "femenina".

Androicas - solo tiene estructuras reproductivas masculinas.

Ginomonocicas - tiene estructuras hermafroditas y femeninas.

Andromonocicas - tiene estructuras hermafroditas y masculinas.

Subandroicas - planta que mayoritariamente posee flores masculinas, con unas pocas flores femeninas o hermafroditas.

Subginoicas - planta que mayoritariamente posee flores femeninas, con unas pocas flores masculinas o hermafroditas.

Polígamas- las estructuras masculinas, femeninas, y hermafroditas se manifiestan todas en la misma planta.

MATERIALES Y MÉTODOS

1.5. Descripción de las áreas de estudio

El presente trabajo se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México entre los $25^{\circ} 22''$ latitud norte y $100^{\circ} 05''$ longitud oeste, a una altitud de 1743 m.s.n.m. en el Laboratorio de Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento en el área histológica.

1.6. Muestreo, colecta de muestras botánicas.

Se colectaron fascículos de escapos inmaduros en floración de 6 plantas silvestres de sotol *Dasyilirion cedrosanum* ubicadas en tres sitios diferentes del campus de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; (Cuadro 1) La colecta se realizó a diferentes fechas y alturas del escapo de plantas machos y plantas hembras de cada lugar, diferenciados en cada sitio; Sitio 1: Jardín Edificio Zonas Áridas, Sitio 2: Jardín Botánico y Sitio 3: Área al sureste del edificio administrativo

Cuadro 1.- Datos de colectas de flores de sotol de tres sitios ubicados en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Clave de las plantas	Sexo	Ubicación	Fecha de la toma de muestra	Sección del escapo	Altura sección en el escapo (M)		
2010-25-2-1A	Macho	SITIO 2	23/05/2013	Baja	2.32		
2010-25-2-2A				Media	2.82		
2010-25-2-3A				Alta			
2010-25-2-1B					27/05/2013	Baja	2.27
2010-25-2-2B						Media	2.82
2010-25-2-3B						Alta	3.00
2010-25-2-1C					3/06/2013	Baja	2.30
2010-25-2-2C						Media	2.83
2010-25-2-3C						Alta	3.10
N8-1 ^a	Hembra	SITIO 3	21/05/2013	Baja	2.17		
N8-2 ^a				Media	2.43		
N8-3 ^a				Alta	2.68		
N8-1B					24/05/2013	Baja	2.40
N8-2B						Media	2.64
N8-3B						Alta	2.90
N8-1C					28/05/2013	Baja	2.74
N8-2C						Media	3.11
N8-3C						Alta	3.26
2010-23-2-1A	Hembra	SITIO 3	21/05/2013	Baja	2.17		
2010-23-2-2A				Media	2.23		
2010-23-2-1B						24/05/2013	Baja
2010-23-2-2B					Media		2.72
2010-23-2-3B					Alta		2.80
2010-23-2-1C					28/05/2013	Baja	2.86
2010-23-2-2C						Media	3.14
2010-23-2-3C						Alta	3.33
N7-1 ^a			Macho	SITIO 3	16/05/2013	Baja	1.26
N7-2 ^a	Media	1.42					
N7-1B						20/05/2013	Baja
N7-2B					Media		1.71
N7-3B					Alta		1.92
N7-1C					22/05/2013	Baja	1.62
N7-2C						Media	1.80
N7-3C						Alta	1.98

Adicionalmente se tomaron muestras de una planta macho (UA-1030) cada dos días (excepto entre el 7 de junio del 2013 y el 10 de junio del 2013 que fueron tres días) en la sección baja del escapo (Cuadro 2).

Cuadro 2.- Fechas y alturas de las muestras de la sección baja del escapo de planta macho (UA-1030) del sitio 1.

Clave	Sexo	Ubicación	Fecha de la toma de muestra	Medias de la posición en el escapo
UA-1030	Macho	Sitio 1	3-junio-2013	1.43 m
			5-junio-2013	1.48 m
			7-junio-2013	1.53 m
			10-junio-2013	1.60 m
			12-junio-2013	1.66 m
			14-junio-2013	1.72 m

1.7. Variables analizadas

1.7.1. Morfología de la flor masculina y femenina del sotol

Para el estudio de la morfología floral se utilizaron plantas silvestres de *D. cedrosanum* provenientes del sitio 1, 2 y 3 de los terrenos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Para ello se colectaron, ambas, flores estaminadas y pistiladas, se analizaron y fotografiaron en un microscopio estereoscópico con cámara digital Cannon adaptada.

1.7.2. Análisis de viabilidad y tamaño de polen

Se tomaron 5 plantas machos maduras, de las que se colectaron tres racimos de fascículos por planta, se colocaron en bolsas de papel estraza y se llevaron al laboratorio para su análisis.

Se utilizó la técnica de la tinción con carmín acético 1% de la siguiente forma: primero se disolvieron 45 ml de ácido acético puro en 55 ml de agua destilada y se vertieron en un matraz, con limaduras de hierro y se mantuvieron

en ebullición durante cuatro minutos, se añadió 1 gr de carmín por 100ml de disolución, se continuó con la ebullición por 1 minuto y se filtró.

En seguida los fascículos se colocaron en cajas de Petri para extraer el polen, se impregnó un pincel con polen y se sacudió sobre un portaobjetos procurando que la distribución fuera uniforme, se depositó una gota de colorante acetocarmin al 1%, encima se colocó un cubreobjetos y después de 5 a 10 segundos se procedió a la observación al microscopio.

Los granos de polen redondeados y coloreados de rojo se consideraron viables y los constreñidos y sin teñir, no viables (Stone *et al.*, 1995), los conteos de polen se efectuaron en dos campos del microscopio por preparación, se contabilizó el número de granos de polen viables e inviables y se estimó el porcentaje de viabilidad (Barcelos *et al.*, 2004; Soares *et al.*, 2008). Los resultados de viabilidad se expresaron en porcentaje de polen teñido, debido a que los no teñidos se consideraron inviables.

Para estimar la variable tamaño de polen se midió el diámetro (μm) de tres granos de polen por campo en cada planta, se midieron un total de 24 granos de polen por planta. Todas las observaciones se hicieron con el objetivo 40X en un microscopio compuesto Carl Zeiss con cámara digital Pixera Winder Pro y un software de medición AxionVision versión 4.8.

1.7.3. Análisis histológico de flores masculinas y femeninas del sotol

Se midió la parte baja, media y superior del escapo de cada planta y aproximadamente a la misma medida se tomaron los fascículos en tres fechas diferentes, cuidando de que los racimos de los fascículos se colectaran completos. Para el análisis histológico se utilizó el fascículo más grande del racimo, esto con la finalidad de realizar cortes en el micrótopo de flores de tamaños uniformes, y así poder visualizar en los tejidos el desarrollo de las estructuras florales hasta su madurez y diferenciación del sexo en las plantas de sotol. Se utilizó la técnica de la parafina de la siguiente forma:

1.8. Fijación

Para conservar los tejidos con un mínimo de alteraciones se procedió a la fijación, colocando en este caso fascículos completos de plantas macho y hembra de sotol, en frasco de vidrio con capacidad de 14 ml con fijador Formaldehído Ácido Acético Glacial (FAA), 5 ml de formaldehído, 5 ml de ácido acético glacial y 90 ml de alcohol etílico al 70%. En el que permanecerán como mínimo por 8 días.

1.9. Deshidratación

Después de la fijación hay que quitar el agua de los tejidos para esto se pasarán por diferentes agentes deshidratantes, soluciones de alcohol etílico al 50, 60, 70, 85 y 96 % más colorante eosina para diferenciarlos; continuando con alcohol etílico absoluto I, alcohol etílico absoluto II, alcohol etílico absoluto

más xilol en proporciones de 3:1, alcohol etílico absoluto más xilol en proporciones de 1:1, alcohol etílico absoluto más xilol en proporciones de 1:3, xilol puro I y xilol puro II, en esta serie de soluciones permanecerán por intervalos de dos horas en cada una.

1.10. Inclusión en parafina

Para la inclusión, primero se hicieron los moldes con ayuda de un pedazo de madera de 6 x 4 x 2.5 cm.; se cortaron pedazos de aluminio con medidas de 9 x 11 cm, se centró el molde en el aluminio y se doblaron las orillas y se sujetaron con cinta skotch transparente para que quedaran selladas las orillas del molde, se retiró el molde de madera y el molde de inclusión quedó listo.

Después de la deshidratación los tejidos se colocarán en frascos con xilol, posteriormente se pasarán a estufa a 30 °C, agregando parafina y ahí permanecen por 24 horas a la misma temperatura, después se cambian a 45 °C agregando parafina hasta saturar, en seguida se sube la temperatura a 55°C y la mezcla xilol y parafina se decanta y al tejido que quede se le agrega parafina pura derretida y se vacía a moldes de aluminio, en donde con una aguja de disección caliente se acomodan los tejidos en forma transversal o longitudinal, se colocaron etiquetas con el correspondiente material y fecha de colecta, posteriormente se dejan solidificar para sacar los cuadros de parafina con los tejidos, se utilizó una estufa GCA precisión scientific THELCO modelo 18

1.11. Cortes al micrótopo

Posteriormente se procedió al seccionamiento para esto se eliminó el exceso de parafina dándole forma con ayuda de una navaja , se cortó el pedazo de parafina que contenía el tejido tratando de que el tejido no se rompa y quede para su fácil seccionamiento, después se montaron en la platina del micrótopo de mano “820” Spencer American Optical, se niveló y se orientó hacia la cuchilla previamente limpia, el micrótopo se graduó a 20 micras de grosor y se giró la manivela para obtener una tira larga de parafina con los cortes longitudinales, los tejidos salieron en secuencia .

1.12. Montaje de tejidos en portaobjetos

La tira de parafina obtenida, se cortó en varias partes, posteriormente en portaobjetos limpios se untó uniformemente adhesivo Haupt (1g de gelatina, 15 ml de glicerina, 2g de metabisulfito de sodio por cada 100 ml de agua destilada); luego con un gotero se le aplicó unas gotas de agua destilada y se colocó con ayuda de una aguja de disección la tira de parafina con el tejido se le dio calor en una lámpara de alcohol tratando de que quedara bien adherido y extendido el tejido.

Se le retiró el exceso de agua con un trapo, ya listas las muestras en el portaobjetos se colocaron en gradillas, identificándolas de acuerdo al tratamiento, alturas y fechas correspondientes.

1.13. Coloración

Para la etapa de coloración se prepararon una serie de reactivos en frascos coplin con capacidad para ocho portaobjetos donde se colocaron las preparaciones de manera que el tejido quedara hacia la izquierda, esto para poder identificar la muestra; con la ayuda de unas pinzas las preparaciones se pasaron por el primer frasco que contiene xilol puro (para quitar la parafina) por un lapso de 10 minutos, posteriormente se enjuagaron con alcohol etílico absoluto al 96%,85%,70%, 60% y 50% y enjuague con agua destilada y después colocadas en una solución de safranina al 1% (1 g de safranina por cada 100 ml de agua destilada) durante 15 minutos; concluido este tiempo las preparaciones se pasaron por una serie de enjuagues: agua normal, agua destilada, alcohol etílico al 50%, 60%, 70%, 85% y 96% respectivamente .posteriormente las preparaciones se pasaron al colorante verde rápido al 0.5% (0.5 g en 100 ml de alcohol de 96%) por espacio de 5 a 7 segundos hasta que se tiñeron de rojo los tejidos diferenciados y de verde los no diferenciados, después se enjuagaron en alcohol etílico de 96%, alcohol absoluto y alcohol absoluto II, después en solución carbol-xilol 5 minutos para fijar los colores, por último se colocaron en xilol puro (con el fin de eliminar totalmente la parafina).

Después con ayuda de pinzas se sacaron las preparaciones del xilol y se colocó unas gotas de bálsamo de Canadá sobre el tejido y encima el cubreobjetos, tratando de cubrir toda la muestra y cuidando de que no se formaran burbujas evitando mover el cubreobjetos, se quitó el exceso de bálsamo con una toalla de papel absorbente. Se dejaron secar las preparaciones en las gradillas que se marcaron con los tratamientos, fechas y alturas correspondientes por espacio de una semana.

1.14. Análisis de imágenes

Se analizaron en promedio 9 fascículos por planta, de las cuales se elaboraron 7 preparaciones por fascículo con 6 cortes longitudinales, dando un total de 42 cortes por fascículos, con un número aproximado de 378 cortes por planta. Contando el número de plantas analizadas (6) tenemos que en total fueron 2268 cortes evaluados en esta investigación.

Se seleccionaron los tejidos donde se observaba mejor el desarrollo de los órganos florales a nivel histológico de plantas femeninas y masculinas. Se utilizó un microscopio Vista Visión con cámara digital Pixera Winder Pro y un software de medición AxionVision versión 4.8 con objetivos de 10 X y 2.5 X, para medir las longitudes de las anteras y pistilos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología de la flor masculina y femenina del sotol

Se analizaron plantas femeninas y masculinas. La inflorescencia estaminada, de color amarillo brillante y la pistilada de color verde con tonos púrpura, se encuentran ubicadas en un escapo floral. (Figura 1).



Figura 1. Plantas de sotol. A1, A2, planta y escapo femenino, respectivamente; B1, B2, planta y escapo masculino, respectivamente.

La inflorescencia de esta especie es similar, estructuralmente, en machos y hembras. Es una panícula racemosa con un raquis principal engrosado y leñoso en el que se insertan, en forma helicoidal, las ramificaciones racemosas llamados fascículos, que están protegidos por brácteas (Figura 1 A2, B2; Figura 2 a, y Figura 3 a). La longitud de los fascículos varía de acuerdo con la posición de la inflorescencia en el escapo, encontrando fascículos más numerosos y largos en la parte media.

En los racimos se insertan grupos de dos o tres flores, con madurez asíncrona (Figura 2 b, c y Figura 3 b, c). La floración, de las plantas de sotol analizadas, se presentó durante los meses de mayo y junio.

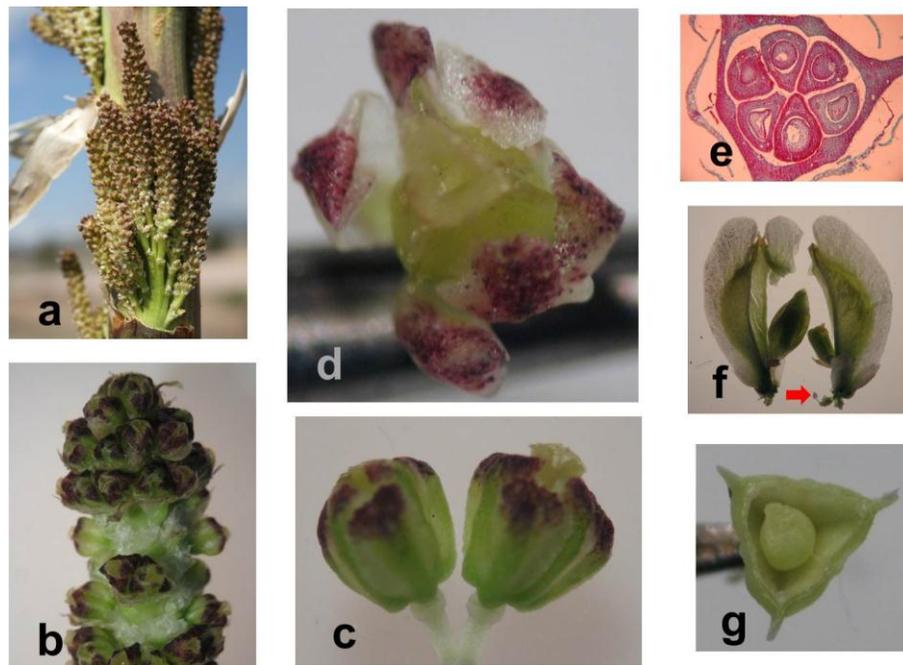


Figura 2. Flor Femenina de *Dasylium cedrosanum*. Fascículo (a). Racimo y grupo floral (b, c). Flor (d). Corte transversal del gineceo (e). Estaminodio (f). Estaminodio (➡). Semilla (g).

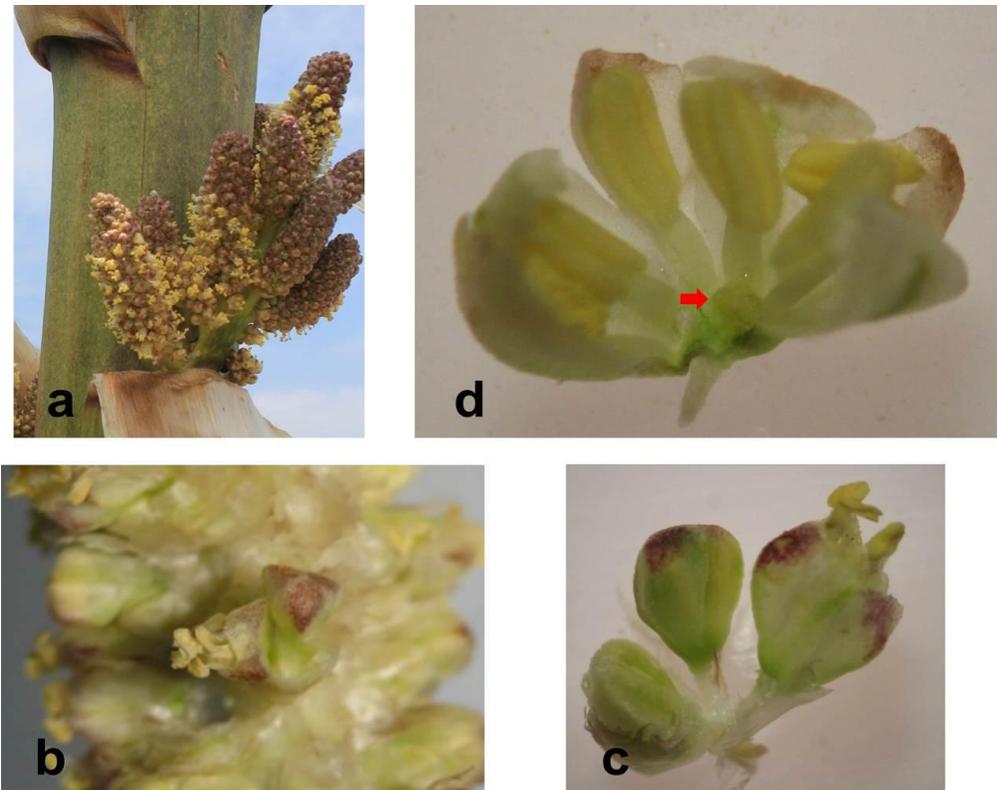


Figura 3. Flor masculina de *Dasylirium cedrosanum*. Fascículo (a). Racimo y grupo floral (b, c). Flor (d). Pistilodio (➡).

Ambas flores, masculina y femenina son actinomorfas, hipóginas con un perigonio de seis tépalos, en dos verticilos trímeros (Figura 2 d; Figura 3 d). Los tépalos son persistentes de tipo sepaloide, arqueados, elípticos y de color amarillo verdoso con tintes morados en el ápice.

Las flores pistiladas presentan un gineceo trígono, sincárpico, unilocular con tres lóbulos. El estilo y el estigma son cortos y persistentes (Figura 2 c), el ovario es súpero, con seis óvulos pequeños, dos por cada lóbulo (Figura 2 e) y en promedio sólo uno llega a desarrollarse en semilla madura (Figura 2 g).

Además en las flores femeninas se observa la presencia de seis estaminodios (Figura 2 f).

Las flores estaminadas tienen un androceo formado por seis estambres independientes con anteras dorsifijas y presentan un pistilodio (Figura 3 d). Estas descripciones coinciden con lo descrito del género *Dasyilirion* por (Bogler) 1994.

Análisis de viabilidad y tamaño de polen

Se encontraron altos porcentajes de viabilidad de polen en los 5 ejemplares machos analizadas (Cuadro 3); El rango de porcentajes de viabilidad de polen de dos plantas del (sitio 3) fue de 85.03% a 95.17, con un promedio de 90.10 % considerándose este porcentajes como aceptables. Difiriendo en un 11.92% entre el porcentaje más bajo y el más alto.

Mientras que en las tres plantas macho del (sitio 2) se obtuvo un promedio total de 91.6 % de viabilidad de polen. Al analizar los promedio de los dos sitios de colecta de polen se observa que existe un mínimo porcentaje de diferencia 1.50 %, concluyendo que todas las plantas presentaron viabilidad alta y que no hubo diferencias entre polen colectado de plantas de diferentes sitios. Se observó que más del 90 % de los granos de polen fueron redondeados y coloreados constituyendo la viabilidad la de polen, el porcentaje restante fueron granos de polen deformes y sin color considerados como no viables (Figura 4).

La determinación de la viabilidad del polen permite hacer estimaciones confiables de la fertilidad, además de utilizarse para el estudio de incompatibilidad en cruzamientos (González et al., 1992).

Estos resultados son similares a los obtenidos por Gehrke *et al* (2011) que encontró que el porcentaje promedio de viabilidad de polen de *Mangifera caesia* (el Mango Ataúlfo) reflejo un 90 %.

Estos son valores semejantes observados por varios autores desde Popenoe (1917), Mukeherjee (1985) y hasta Singh (1973), quienes manifestaron que el porcentaje de polen viable es generalmente $\geq 90\%$.

Cuadro 3.- Porcentaje de viabilidad y tamaño del polen de flores de *Dasyllirion cedrosanum* de plantas macho localizadas en dos sitios de la UAAAN.

Clave Plantas	Sexo	Ubicación	% Viabilidad de Polen	Desviación Estándar	Tamaño de Polen (μm)	Desviación Estándar
N-4	Macho	Sitio 3	95.17	12.63	31.69	1.99
N-6	Macho	Sitio 3	85.03	10.01	26.54	1.77
Promedio :			90.10		29.11	
2010-7-2	Macho	Sitio 2	91.61	9.35	28.24	1.61
2011-5-1	Macho	Sitio 2	89.05	13.62	31.00	1.85
1004-2	Macho	Sitio 2	94.16	5.30	29.98	1.71
Promedio :			91.6		29.74	

En cuanto al tamaño del diámetro de polen en sotol (Figura 4); los valores resultaron de 26.54 μm a 31.69 μm , en plantas del (Sitio 3) teniendo como diferencia un 19.2% de tamaños y como promedio de la ubicación de 29.11 μm . (Cuadro 3).

Mientras que en el Sitio 2 las diferencias entre tamaños de diámetros de polen fueron de 19.2 %, 5.8% y 6.7% teniendo como promedio de tamaño de diámetro de la ubicación 29.11 μm ; Mostrando diferencia de 2.11% que equivale a 0.63 μm entre las dos ubicaciones.



Figura 4.- Granos de pólen de *Dasyllirion cedrosanum*. A) Viabilidad: Los teñidos se consideran viables, los constreñidos y sin color no viables. B) Tamaño: Diámetros de granos.40X

Se observó que los diámetros se mantenían en un mismo rango de tamaños, parecidos a los obtenidos por Muñoz *et al* (2006) quien obtuvo tamaños de polen entre rangos de 28 y 31 μm en *Lippia alba*, considerándolos como medianos según Vit *et al.* (2002), quienes analizaron el polen de *L. alba* con finalidad apícola, éste mide aproximadamente 30 μm de diámetro.

Desarrollo de la flor en una planta masculina de sotol

De acuerdo con las medidas de longitud de antera y pistilo realizadas en el estudio histológicas de cortes longitudinales de flores del macho UA-1030 del sitio 1 (Anexos, Cuadro 6). Se observó (Cuadro 4) que al inicio del desarrollo de la flor se tuvo la mayor proporción pistilo/antera (1.41) por lo que la longitud del pistilo fue mayor a la de la antera. A los dos días se observa que la antera empieza a crecer más rápidamente que el pistilo ya que se tiene una proporción de 0.954. A los siete días el pistilo tiene la mayor longitud (375.41 μm) pero, la proporción pistilo/antera continua reduciéndose debido al rápido crecimiento de las anteras. A partir de este día el pistilo empieza a reducir su longitud y la antera continua con su crecimiento normal hasta que a los 13 días se tiene la proporción más pequeña (0.263). Para este día sólo quedan reminiscencias del pistilo y se transforma en un pistilodio.

Cuadro 4.- Proporciones de crecimiento de pistilo-antera por día después de la 1ª muestra de la planta macho (UA-1030) del sitio 1.

SEXO	CLAVE	DÍAS DESPUÉS DE LA 1ª MUESTRA					
		0	2	4	7	9	13
MACHO	UA-1030	1.416	0.954	0.791	0.381	0.369	0.263

Se logró distinguir en orden cronológico (Figura 5), el tamaño que adquirieron las anteras por encima del pistilo, observándose que a la segunda fecha la diferencia entre anteras-pistilo empieza a ser más notoria presentando anteras bien desarrolladas que se van incrementando hasta la última fecha, quedando reminiscencias de pistilo, que son proporcionalmente muy pequeñas comparadas con las anteras.

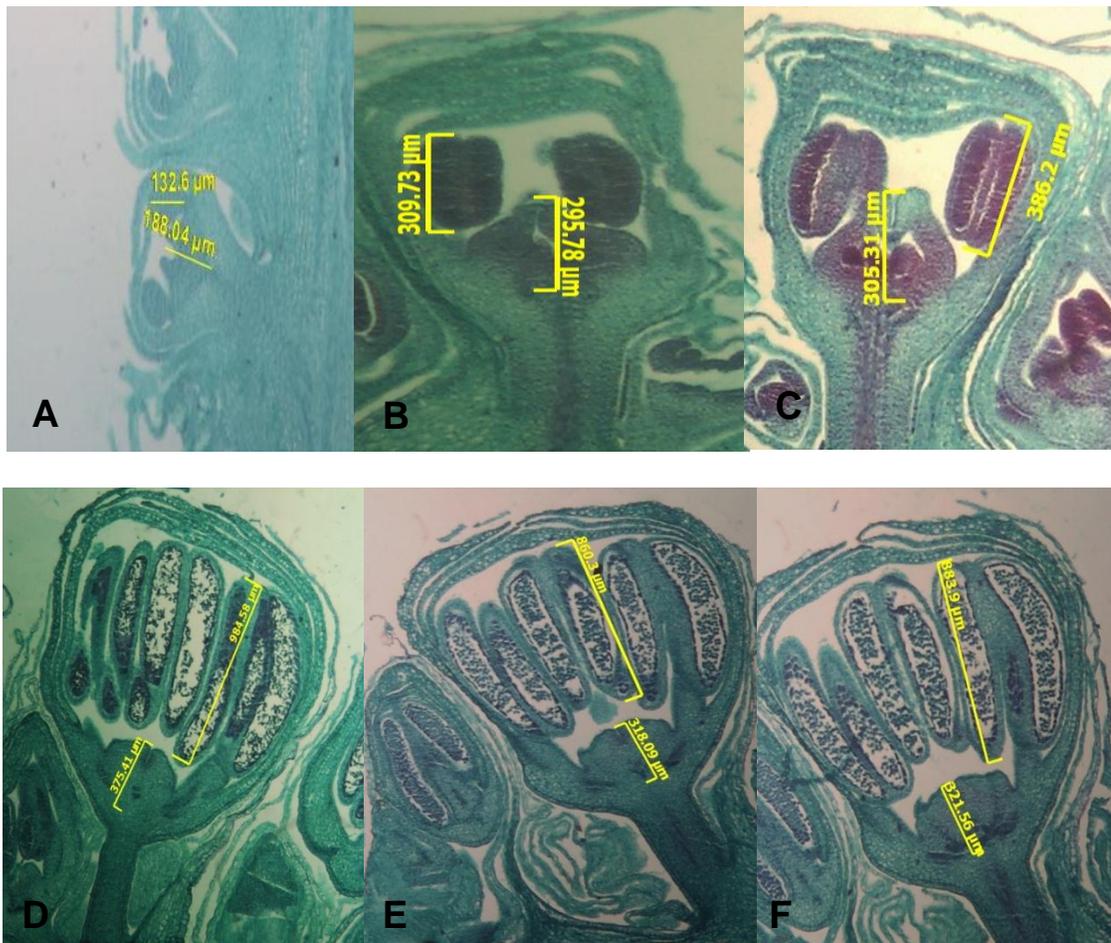


Figura 5.- Fotos de cortes longitudinales de flores de planta macho UA-1030 a diferentes fechas de muestreo y aproximadamente a la misma altura del escapo: A) 3/06/2013 1.43 m, B) 5/06/2013 1.48 m, C) 7/06/2013 1.53 m, D) 10/06/2013 1.60 m, E) 12/06/2013 1.66 m, F) 14/06/2013 1.72 m. 2.5 X.

Desarrollo comparativo de estructuras florales de plantas machos y plantas hembras

En el Cuadro 5 se presentan las medias de proporciones pistilo- antera con intervalos de días y secciones baja, media y alta del escapo de plantas macho y plantas hembras (Anexos, Cuadros 7, 8, 9 y 10).

En las plantas machos, al inicio del muestreo la proporción media de pistilo/antera es mayor (1.39) y en la sección baja es de 1.01, indicando que el pistilo tiene mayor tamaño que la antera, pero a partir del cuarto día la proporción pistilo/antera comienza a disminuir (0.65 a cuatro días), lo mismo ocurre en la sección media del escapo (0.72) dando a entender que la antera adquiere tamaños mayores al pistilo, 2 días después esta proporción disminuyó a 0.41 y a 0.39 en la sección alta. Estas proporciones fueron similares a las obtenidas en el estudio de la planta macho del Sitio 1. En las plantas hembras el comportamiento del desarrollo pistilo/antera fue inverso a las plantas machos, al inicio de muestreo la proporción fue 1.59 y de 0.83 en la sección baja, lo que indican que el tamaño del pistilo es mayor al tamaño de la antera; estas proporciones fueron aumentando conforme avanzaban los días y con la posición en el escapo (1.72 a tres días y 2.15 sección media), cuatro días después y en la sección alta del escapo, el tamaño en proporción del pistilo es más del doble a el tamaño de la antera (2.97 a siete días y 2.67 sección alta).

Cuadro 5.- Media de proporciones pistilo/antera por día después de la 1ª muestra y sección del escapo de plantas macho y plantas hembra de sotol.

SEXO	CLAVE	DÍAS DESPUÉS DE LA 1ª MUESTRA			MEDIAS SECCIÓN DEL ESCAPO		
		0	4	6	B*	M*	A*
MACHO	2010-25-2	1.3	0.55	0.4	0.83	0.72	0.42
MACHO	N7	1.48	0.76	0.42	1.19	0.73	0.37
MEDIA		1.39	0.65	0.41	1.01	0.72	0.39
		0	3	7	B*	M*	A*
HEMBRA	2010-23-2	1.56	1.57	3.23	1.82	2.19	2.74
HEMBRA	N8	1.63	1.88	2.72	1.85	2.11	2.6
MEDIA		1.59	1.72	2.97	1.83	2.15	2.67

*B=Baja, M=Media, A=Alta

En la (Figura 6) y (Anexos Figura7) se puede apreciar como la flor macho y la flor hembra en la primera fecha de muestreo y de la parte baja del escapo presenta pistilo y antera con un desarrollo similar, de manera que en esta etapa y posición del escapo no se distingue cuál sería flor macho o hembras (Figura 6 A1 Y B1).

En ambos casos flor macho y flor hembra, conforme avanza el tiempo y la altura del escapo los órganos representativos de cada sexo progresivamente van abarcando más espacio que el órgano contrario dentro de la flor estableciéndose ya sea como flor estaminada o flor pistilada, en conjunto con los órganos sexuales contrarios en forma rudimentaria e infértiles, llamados pistilodios y estaminodios (Figura 6, H1 y H2).

Estos resultados son similares a los descritos por Castro *et al.* (2002) quienes observaron en *Carica papaya* L. que las flores estaminadas pasan por un estado bisexual al inicio de su formación para luego detener el desarrollo del gineceo, en flores pistiladas de papaya no observaron un estado bisexual o estaminodios, contrario a lo observado en flores pistiladas de sotol.

En estudios similares en la especie *Mercurialis annua* Irish y Nelson (1989) mencionan de igual forma que no observaron órganos rudimentarios del sexo opuesto en ambas flores pistiladas y estaminadas. Sin embargo en *Silene latifolia*, Grant y Saedler, (1994) encontraron que en plantas estaminadas se observaba atrofiado el gineceo y que además la determinación sexual ocurría en el estado 7 del desarrollo morfológico de la flor.

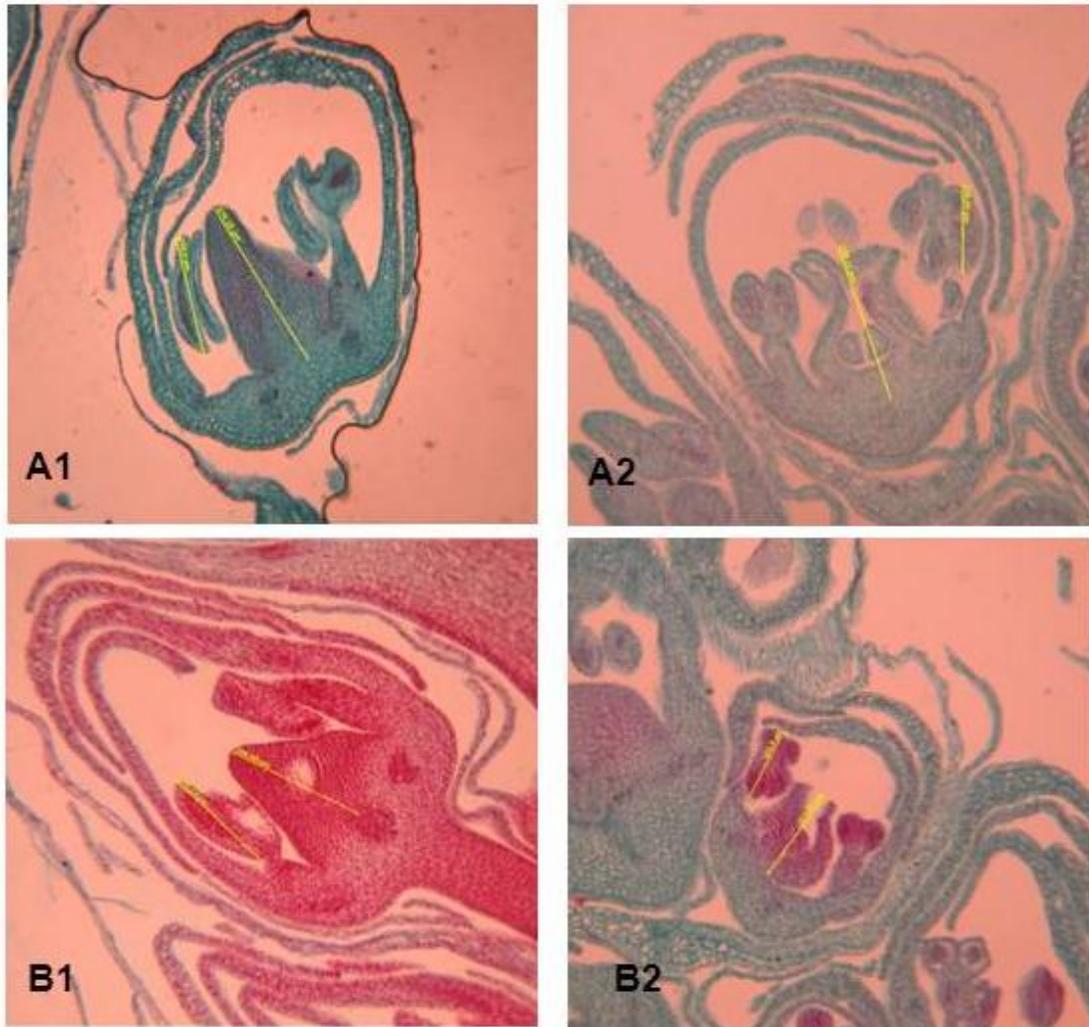
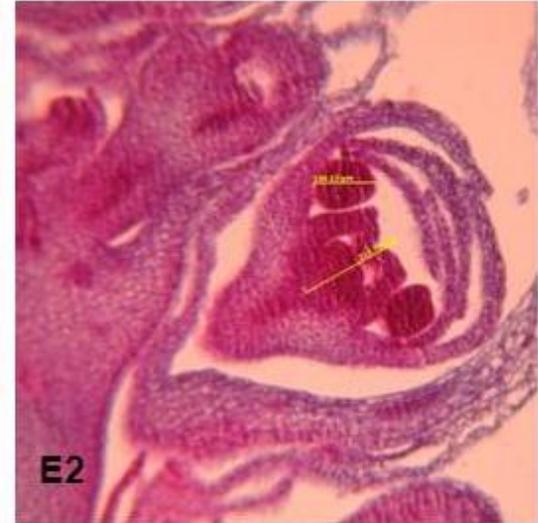
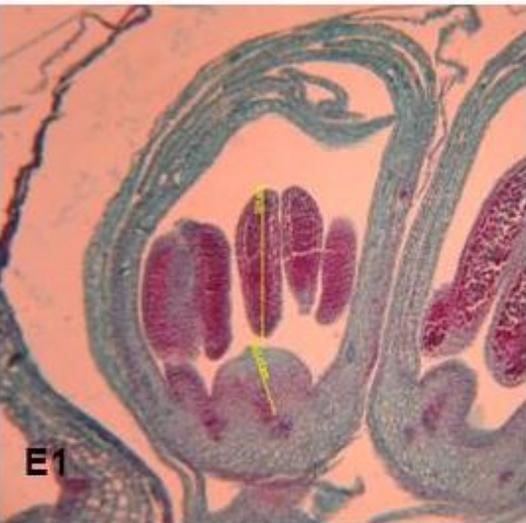
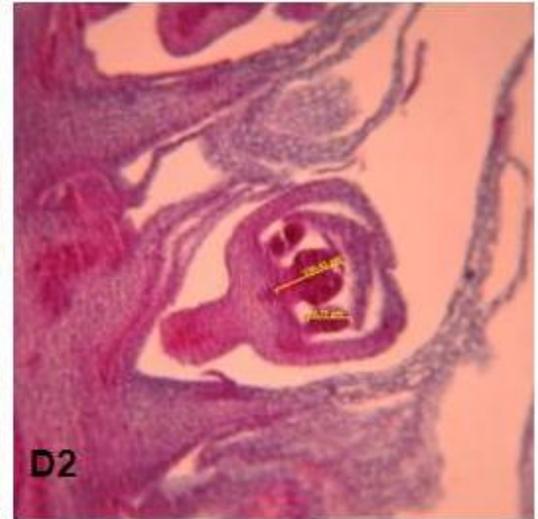
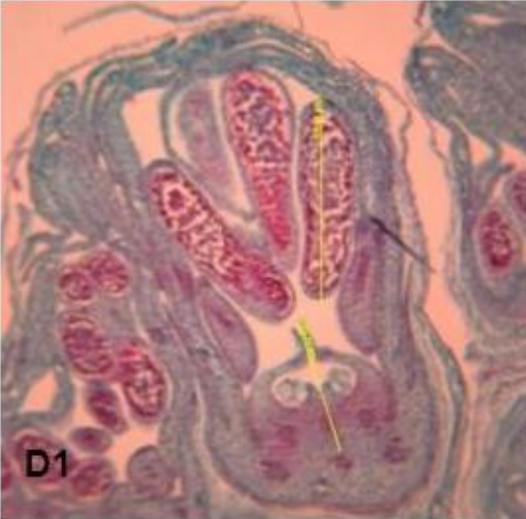
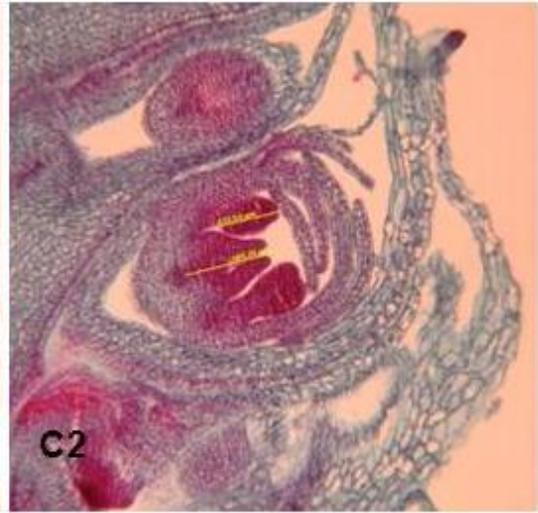
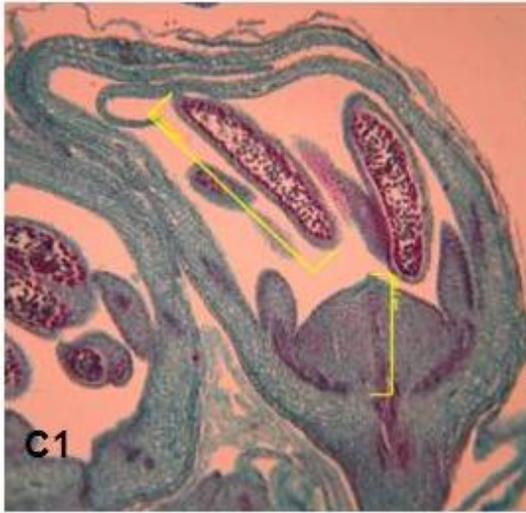
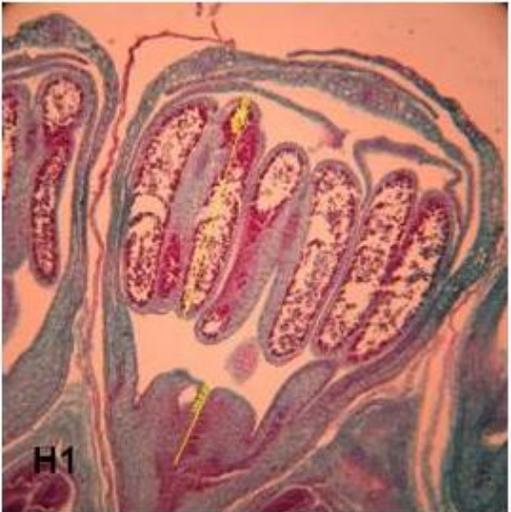
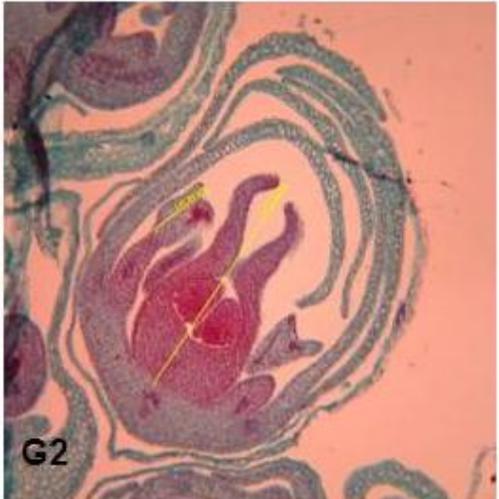
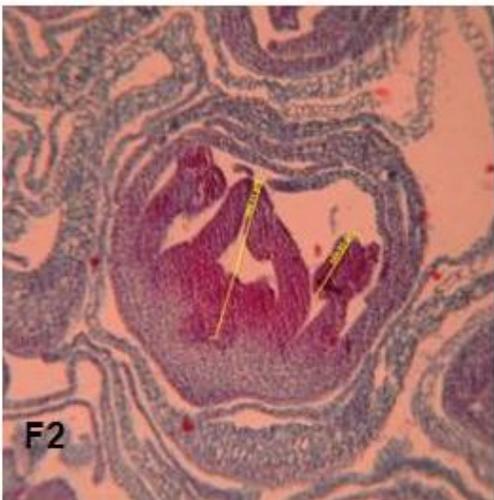


Figura 2.- Cortes longitudinales de flores macho (1) planta 2010-25-2 del sitio 2 ,10X y flores hembra (2) planta 2010-23-2 del sitio 3,10X; Secciones bajas (A,C y F), medias(B,D y G) y altas (E y H) del escapo y sus fechas: A1, B1)23/05/2013 2.32m y 2.82m; A2, B2) 21/05/2013 2.17 m y 2.23 m.; C1, D1 y E1) 27/05/2013, 2.27 m ,2.82 m y 3 m.; C2, D2 y E2) 24/05/2013 2.61 m, 2.72 m y 2.80 m.; F1, G1, H1) 3/06/2013 2.30 m, 2.83 m y 3.10 m.; F2, G2, H2) 28/05/2013 2.85 m, 3.14 m y 3.33 m.





CONCLUSIONES

Los porcentajes de viabilidad de polen en sotol fueron superiores a 90%, y no se encontró diferencia entre los sitios de colecta.

La inflorescencia es una panícula racemosa con un raquis principal engrosado y leñoso en el que se insertan, en forma helicoidal, las ramificaciones racemosas llamados fascículos, que están protegidos por brácteas.

El desarrollo del pistilo en las flores pistiladas, y de las anteras en las flores estaminadas es gradual y ascendente de acuerdo a la posición de los fascículos en el escapo y conforme las fechas de colecta.

En las flores estaminadas y pistiladas en sus primeros estadios se observa un desarrollo normal de los órganos reproductores anteras y pistilo (Fase bisexual), pero al alcanzar la madurez, en las flores masculinas sólo las anteras están bien desarrolladas, mientras que el pistilo queda atrofiado formando un pistilodio y en contraste en las flores femeninas el pistilo presenta un desarrollo normal y las anteras quedan atrofiadas formando seis estaminodios.

ANEXOS

Cuadro 6.- Medidas de pistilo y anteras de la planta macho del sitio 1.

MACHO UA-1030	
03/06/2013	1.43 M
PISTILO μm	188.05
ANTERA μm	132.74
05/06/2013	1.48
PISTILO μm	295.78
ANTERA μm	309.73
07/06/2013	1.53 M
PISTILO μm	305.31
ANTERA μm	386.2
10/06/2013	1.60 M
PISTILO μm	375.41
ANTERA μm	984.58
12/06/2013	1.66 M
PISTILO μm	318.09
ANTERA μm	860.3
14/06/2013	1.72 M
PISTILO μm	321.56
ANTERA μm	883.9

Cuadro 7.- Medidas de pistilo y anteras en planta macho (2010-25-2) y planta hembra (2010-23-2).

MACHO (2010-25-2)							
Fecha/Sección	Pistilo µm	Antera µm	Pistilo µm	Antera µm	Pistilo µm	Antera µm	Media Fecha
Escapo	B		M		A		
23-may-13	379.25	259.4	296.09	259.14			298.47
27-may-13	264.2	488.55	283.74	428.41	155.22	325	324.18
03-jun-13	257.66	511.82	171.4	472.74	190.4	506.09	351.69
Media Sección	300.37	419.92	751.3	386.76	172.81	415.54	

HEMBRA (2010-23-2)							
Fecha/Sección	Pistilo µm	Antera µm	Pistilo µm	Antera µm	Pistilo µm	Antera µm	Media Fecha
Escapo	B		M		A		
21-may-13	349.11	190.34	213.2	164.4			229.27
24-may-13	185.25	132.14	150.4	89.77	213.75	130.12	150.24
28-may-13	360.11	160.51	527.3	145.84	524.55	136.46	309.14
Media Sección	298.15	160.99	297.05	133.33	369.15	133.29	

Cuadro 8.- Medidas de pistilo y anteras de planta macho (N7) y planta hembra (N8).

MACHO N7							
Fecha\Sección	Pistilo µm	Antera µm	Pistilo µm	Antera µm	Pistilo µm	Antera µm	Media Fecha
Escapo	B		M		A		
16-May-13	394	214.6	253.43	221.01			215.50
20-May-13	226.01	176.99	322.16	508.08	219.38	564.16	336.13
22-May-13	233.31	488.52	237.47	534.49	218.27	591.99	384.00
Media Sección	284.44	293.37	271.02	421.19	218.82	578.07	

HEMBRA N8							
Fecha\Sección	Pistilo µm	Antera µm	Pistilo µm	Antera µm	Pistilo µm	Antera µm	Media Fecha
Escapo	B		M		A		
21-May-13	248.14	191.1	223.71	112.83			193.94
24-May-13	306.95	172.57	319.14	167.22	330.09	165.81	243.63
28-May-13	654.76	262.89	610.91	248.74	550.64	170.53	416.41
Media Sección	403.28	208.85	384.58	176.26	440.36	168.17	

Cuadro 9.- Medias de proporciones pistilo antera en diferentes fechas y alturas del escapo de planta macho (2010-25-2) y planta hembra (2010-23-2).

MACHO 2010-25-2					
Fecha/Sección Escapo	B	M	A	Suma	Media Fecha
23-may-13	1.46	1.14		2.6	1.3
27-may-13	0.54	0.66	0.47	1.67	0.55
03-jun-13	0.5	0.36	0.37	1.23	0.4
Suma	2.5	2.16	0.84		
Media Sección	0.83	0.72	0.42		
HEMBRA 2010-23-2					
Fecha/Sección Escapo	B	M	A	Suma	Media Fecha
21-may-13	1.83	1.29		3.12	1.56
24-may-13	1.4	1.67	1.64	4.71	1.57
28-may-13	2.24	3.61	3.84	9.69	3.23
Suma	5.47	6.57	5.48		
Media Sección	1.82	2.19	2.74		

Cuadro 10.- Medias de proporciones pistilo antera en diferentes fechas y alturas del escapo de planta macho (N7) y planta hembra (N8).

MACHO N7					
Fecha/Sección Escapo	B	M	A	Suma	Media Fecha
16-May-13	1.83	1.14		2.97	1.48
20-May-13	1.27	0.63	0.38	2.28	0.76
22-May-13	0.47	0.44	0.36	1.27	0.42
Suma	3.57	2.21	0.74		
Media Sección	1.19	0.73	0.37		
HEMBRA N8					
Fecha/Sección Escapo	B	M	A	Suma	Media Fecha
21-May-13	1.29	1.98		3.27	1.63
24-May-13	1.77	1.9	1.99	5.66	1.88
28-May-13	2.49	2.45	3.22	8.16	2.72
Suma	5.55	6.33	5.21		
Media Sección	1.85	2.11	2.6		

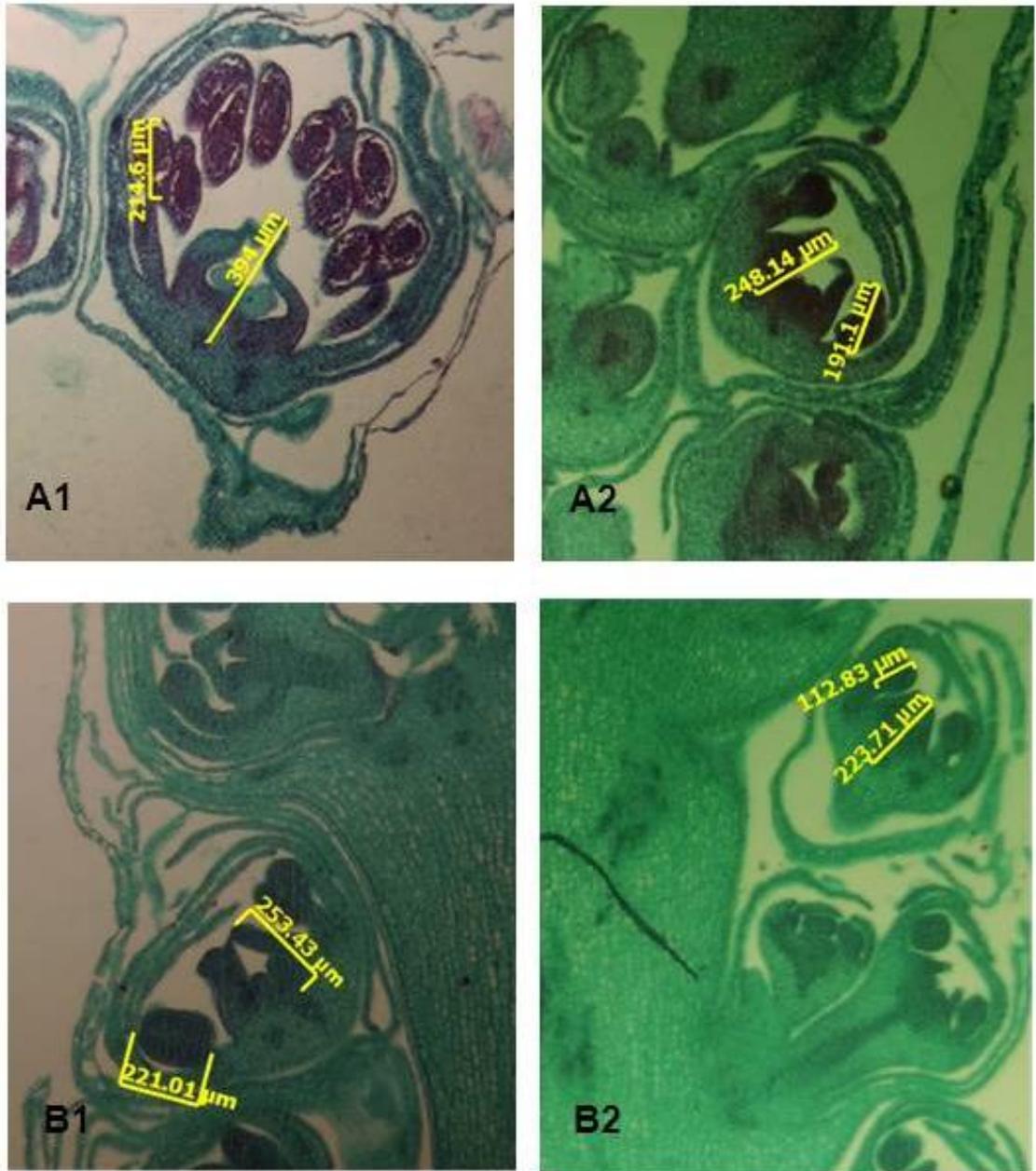
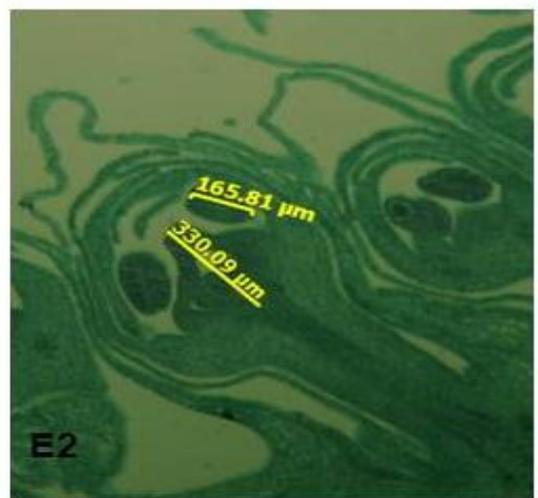
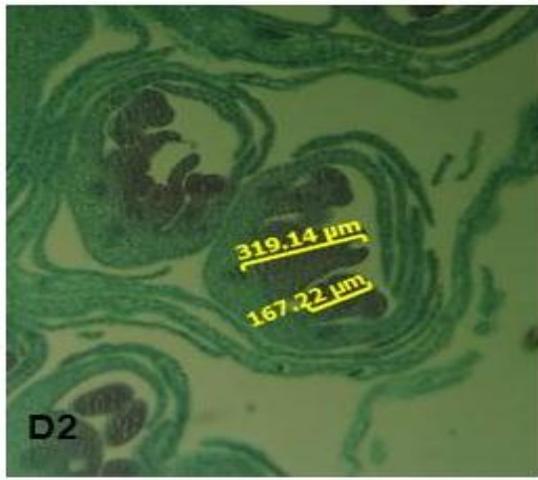
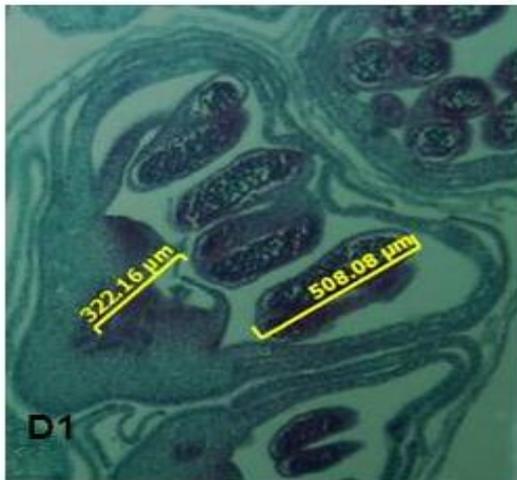
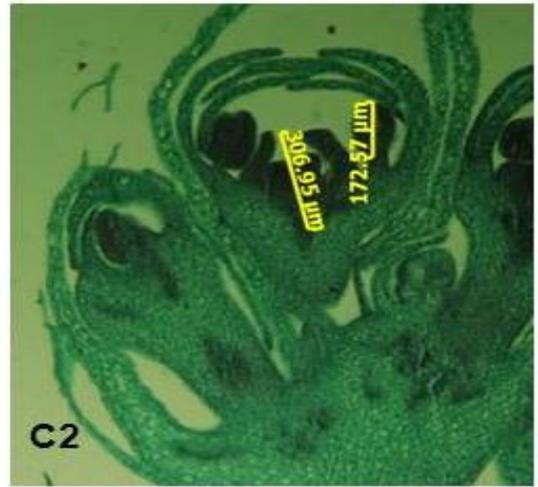
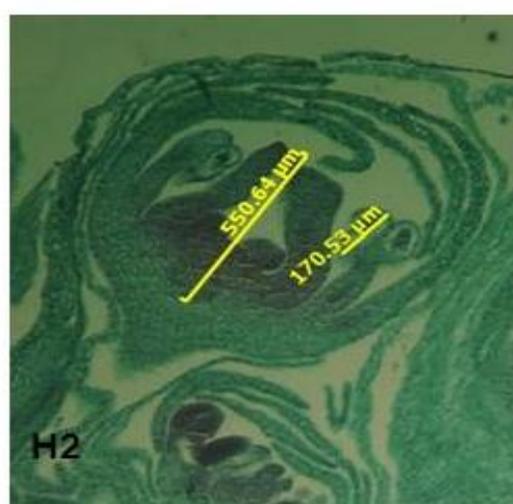
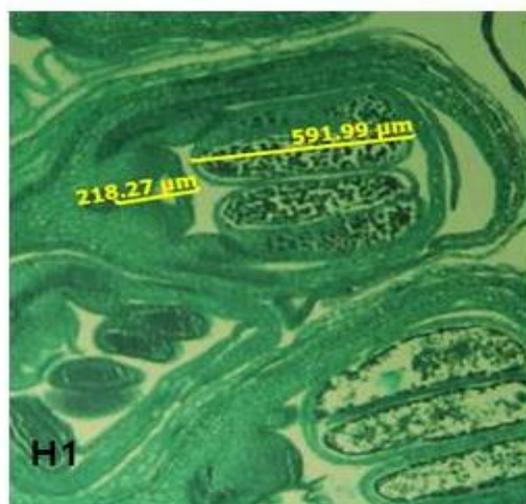
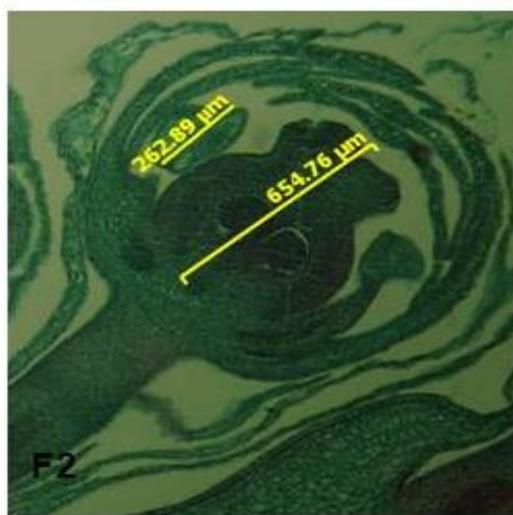
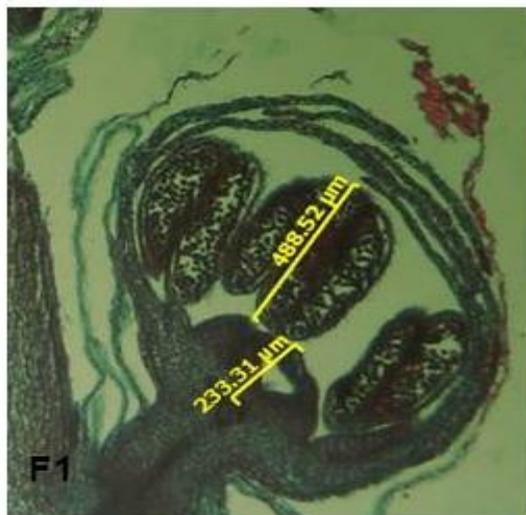


Figura 7.- Cortes longitudinales de flores macho (1) planta N7 del sitio 3 , 2.5X y flores hembra (2) planta N8 del sitio 3, 2.5X; Secciones bajas (A,C y F), medias (B,D y G) y altas (E y H) del escapo y sus fechas: A1, B1)16/05/2013 1.26 m y 1.42 m; A2, B2) 21/05/2013 2.17 m y 2.43 m; C1, D1 y E1) 20/05/2013, 1.56 m ,1.71 m y 1.92 m.; C2, D2 y E2) 24/05/2013 2.40 m, 2.64 m y 2.90m.; F1, G1, H1) 22/05/2013 1.62m, 1.80 m y 1.98m; F2, G2, H2) 28/05/2013 2.74m, 3.11 m y 3.26m.



Continuación



LITERATURA CITADA

- Acosta, L.; Laurito, J. 2004. Estudio morfológico de *Smilax* l. (*smilacaceae*) en Costa Rica, con implicaciones sistemáticas. *LANKE STERIANA* 4(1): 5-36
- 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 (*Dasyllirion cedrosanum* Trel) mediante escarificación física y ácido sulfúrico. *Ciencia Forestal en México*, 29(95): 496-500
- Barcelos CM, Kaltchuk SE, Mundstock EC, Bodanese ZMH. 2004. Initial segmentation patterns of microspores and pollen viability in soybean cultured anthers: indication of chromosome doubling. *Braz. Arch. Biol. Techn.* 47:703-712.
- Barret, S.C. y J.S. Shore. 1987. Variation and evolution of breeding systems in the *Turnera ulmifolia* L. complex (Turneraceae). *Evolution* 41:340-354.
- Bogler D.J. 1994. Taxonomy and phylogeny of *Dasyllirion* (Nolinaceae). Ph. D. Dissertation. The University of Texas at Austin. 583 p.
- Calderón, G.E.R. 2004. Rompimiento de Latencia en Semillas de Sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) mediante Escarificación Física y Química. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.

- Campbell, D.R. and N.M. Waser. 1987. The evolution of plant mating systems: multilocus simulations of pollen dispersal. *American Naturalist* 129: 593-609.
- Castellano, M. E. y G. J. J. Vergara. 1983. El sotol. Agricultura de zonas áridas. Chapingo, México. 56-60
- Castro, L.; Ruiz, O.; Vielma, M.; Briseño, A. 2002. Determinación sexual en Carica papaya. *Pitteria*, 31.pp 25-32.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. U.S.A. The New York Botanical Garden. 1243 p.
- Cruz, M.; Rodríguez, R.; Aguilar, C.; Garza, H.; Aguilera, A. 2007. Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Investigación en Alimentos. Saltillo, Coahuila, México. 2 pp.
- Dzib, C. M. E. 2003. Rompimiento de latencia en semillas de sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.) utilizando algunos métodos de físicos y químicos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 18 pp.
- Eguiarte L. E., J. Núñez-Farfán, C. Domínguez y C. Cordero. 1999. Biología evolutiva de la Reproducción de las plantas. La Evolución Biológica. *Ciencias revista de difusión de la Facultad de Ciencias*, Instituto de Ecología, UNAM y CONABIO. 50pp. México, D.F.
- García, G. J. 1979. El Sotol. Aprovechamiento de recursos de zonas áridas. Chapingo, Mexico. 36pp.

- González ME, Estévez A, Rodríguez T. Álvarez M. 1992. Estudio de la fertilidad del polen en especies de papa. *Cultivos Tropicales* 13(1):70-73.
- Grant, S., Saedler, H. 1994. Developmental differences between male and female flower in the Dioecious plant *Silene latifolia*. *The Plant journal* 6(4),471-480. Germany.
- Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI). 2002. Declaración de Protección a la Denominación de origen sotol. 5 Págs.
- Irish, E.; Nelson. 1989 . Sex Determination in Monoecious and Dioecious Plants. *The Plant Cell*. Vol. 1. 737-744.
- Kubitzki, K. 1998. The Families and genera of vascular plants. Vols. III and IV. Springer-Verlag. Berlin. 738 pp.
- 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
- Meagher, T. 2007. Linking the Evolution of Gender Variation to Floral Development. *Annals of Botany* .100: 165–176.
- Melgoza, C. A. y T. J. S. Sierra. 2003. Contribución al conocimiento y distribución de las especies de *Dasyllirion* 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.
- Mukherjee SK. 1985. Systematic and ecogeographic studies of crop gene pools: *Mangifera indica* L. Roma: International Board for Plant Genetic Resources - IBPGR. 86 p.
- Muñoz M., Caetano C, Vallejo F. C. Sánchez M. 2006. Comportamiento meiótico y descripción morfológica del polen de *Lippia alba*. Verbenaceae [Tesis de maestría]. Palmira, Colombia:Universidad Nacional de Colombia. 44 p.
- Nettancourt D. 1997. Incompatibility in Angiosperms. *Sex Plant Reproduction* 10:185–199.
- 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
- Órnelas, I. P. 2004. Monografía del sotol. Monografía de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 45-53
- 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.
- Popenoe W. 1917. The pollination of the mango. US Dept Agr, Bur Plant Ind, Bull 542:1-20.

- Singh UR, Singh AP (1973) Studies on morphology and viability of pollen grains of mango *Punjab Hort. J.* 13: 237-246.
- Soares TL, Oliveira SS, Pereira CCMA, Almeida SSJ, Silva SA, Morais LLS, Hilo SE, Nunes JO. 2008. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. *Crop. Breed. Appl. Biot.* 8:111-118.
- Stone JL, Thomson JD, Dent ASJ. 1995. Assessment of pollen viability in Hang-pollination experiments: A Review. *American Journal of Botany* 82(9): 1186-1197.
- Tanurdzic, M.; Banks, A. 2004. Sex-Determining Mechanisms in Land Plants. *The Plant Cell.* Vol. 16 .61–71.
- Velásquez, C. R. 1983. El Sotol. Agricultura de zonas áridas. Chapingo, México. 35- 40 p.
- Vit, P.; Silva, B.; Meléndez, P. 2002. *Lippia alba* N.E. Br. Ficha botánica de interés apícola en Venezuela, No. 2 Cidrón. *Rev Fac Farm Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.* Vol. 43.
- Zuccarini J.G. 1838. *Dasyilirion graminifolium*. *Allgemeine Gartenzeitung* 6(33): 258. 1838.