



**Universidad Nacional Autónoma de México**

---

---

**Facultad de Estudios Superiores Zaragoza**

Ornamentación y composición química de la  
cutícula foliar de algunas especies de  
*Yucca* (Asparagaceae, Agavoideae)

**T E S I S**  
que para obtener el título de  
**B I Ó L O G A**  
p r e s e n t a:  
ANDREA SÁNCHEZ MANZO

Director

Dr. Eloy Solano Camacho

Asesor

Dr. Jorge Reyes Rivera



CIUDAD DE MÉXICO, MARZO DEL 2020



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Dedico este trabajo a mis padres, que me han  
apoyado de principio a fin, sin ellos no  
habría logrado llegar hasta aquí.*

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la máxima casa de estudios la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme las puertas y por formarme como profesional a través de sus aulas y profesores, y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por facilitarme el camino y por brindarme lo necesario para lograr mi cometido.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) por haber financiado parcialmente mi trabajo de investigación, facilitando la compra de reactivos y materiales, por medio del proyecto IN214318.

Al Dr. Eloy Solano Camacho por haberme aceptado en su equipo de investigación y haber confiado en mí. Agradezco su apoyo, paciencia, dedicación, consejos y conocimientos brindados a lo largo de este trabajo. También agradezco que, a pesar de las dificultades o cansancio, siempre mantiene su buen humor.

Al Dr. Jorge Reyes Rivera por toda la ayuda brindada, por sus conocimientos, consejos, por su paciencia y dedicación en este trabajo, además de las facilidades y herramientas que me otorgó. Sin su apoyo este trabajo no hubiera sido posible.

A la M. en C. María Magdalena Ayala Hernández por haberme inculcado el gusto por la botánica al transmitir de una manera tan apasionada y desinteresada sus conocimientos. Por su atención y disposición brindada a lo largo de esta investigación, gracias por sus consejos y aclaraciones.

Al M. en C. Héctor Serrano Casas por compartir conmigo sus conocimientos en anatomía, por sus observaciones y por brindarme su apoyo a lo largo de este trabajo.

A la M. en C. Florencia Becerril Cruz por sus observaciones, consejos y por animarme a seguir adelante con mi objetivo.

Al Dr. Marcos Soto Hernández y su equipo de trabajo por habernos abierto las puertas de su laboratorio, por prestarnos su equipo y estar al pendiente de nuestras necesidades.

A Adriana Caballero y Andrea Verde por ser tan amables, siempre resolver mis dudas y sacarme de apuros, gracias por compartir su información y conocimientos conmigo.

A Sofia, Vianey, Bryan y Judith por la amistad que me brindaron a lo largo de la carrera, por haber compartido conmigo momentos divertidos y estresantes, además de su apoyo y conocimiento. Gracias por hacer de la Universidad algo memorable. A Sac, Selene y Nayeli por unirse a esta aventura y compartir momentos conmigo.

A Sofia por estar a mi lado en todo momento, por el apoyo, comprensión, generosidad y cariño brindados. Gracias por seguir aquí a pesar de todas las dificultades, gracias por seguir confiando en mí.

A Karina, Toño y Lizeth por ser mis compañeros de vida, por todas las buenas aventuras y momentos inolvidables. Por todo su apoyo y cariño a lo largo de tantos años, y a Diana que, a pesar de su ausencia, sé que está ahí para apoyarme.

A mis padres por ser mi mayor soporte, por apoyarme en todas mis decisiones, por sus consejos y palabras de aliento, por facilitarme el camino, por hacer de mí una persona de provecho con buenos valores, por ser un buen ejemplo y por siempre estar ahí para animarme. A mis hermanos y a Jimmy por siempre estar a mi lado.

# Contenido

	<b>Págs.</b>
RESUMEN.....	1
I INTRODUCCIÓN.....	2
II ANTECEDENTES.....	3
III JUSTIFICACIÓN.....	10
IV OBJETIVO.....	10
V HIPÓTESIS.....	10
VI MATERIAL Y MÉTODO.....	11
VII RESULTADOS.....	16
7.1 Análisis por Microscopia Confocal Laser de Barrido (CLSM).....	16
7.1.1 <i>Yucca guatemalensis</i> .....	18
7.1.2 <i>Yucca jaliscensis</i> .....	19
7.1.3 <i>Yucca lacandonica</i> .....	20
7.1.4 <i>Yucca linearifolia</i> .....	21
7.1.5 <i>Yucca potosina</i> .....	22
7.1.6 <i>Yucca queretaroensis</i> .....	23
7.1.7 <i>Yucca rostrata</i> .....	24
7.1.8 <i>Yucca schidigera</i> .....	25
7.1.9 <i>Yucca thompsoniana</i> .....	26
7.1.10 <i>Yucca torreyi</i> .....	27
7.1.11 <i>Yucca whipplei</i> .....	28
7.2 Análisis de la composición química mediante ATR-FTIR.....	31
VIII DISCUSIÓN.....	35
8.1 Ornamentación de la cutícula foliar y características de la epidermis.....	35
8.2 Composición química de la cutícula.....	38
IX CONCLUSIONES.....	40
X BIBLIOGRAFÍA.....	41

## RESUMEN

Con el fin de registrar caracteres útiles para la delimitación taxonómica de 27 especies del género *Yucca*, se realizó un análisis anatómico de la cutícula foliar y de las características externas de la epidermis, por medio de microscopia láser confocal y análisis químico mediante espectrometría infrarroja con transformada de Fourier. Se usaron hojas maduras de individuos adultos recolectadas en México. La microscopia confocal permitió reconocer algunas características que diferencian a las especies: en la cutícula, el relieve y la ornamentación; en la epidermis, la presencia de papilas, el complejo estomático y la presencia de tricomas. En las especies de *Yucca* estudiadas, las papilas son raras, al igual que los tricomas, mientras que los estomas paracíticos y tetracíticos son comunes.

La espectrometría registró cuatro principales componentes: cutina, ceras, compuestos fenólicos y polisacáridos, estos componentes se presentan a lo largo de las especies estudiadas con algunas variaciones en la altura de los picos asignados. La cutina y las ceras estuvieron presentes en mayor porcentaje. Estas características y otras evidencias morfológicas y químicas contribuirán en la delimitación de las especies estudiadas.

# I INTRODUCCIÓN

La estructura de la cutícula ha sido analizada por varias técnicas microscópicas, como la microscopía electrónica de transmisión (Holloway 1994), de barrido (Hill y Dilcher 1990) y la confocal (Buda *et al.*, 2009). Esta última registra imágenes a través de un láser que hace un barrido de la muestra y las proyecta en un monitor en tercera dimensión permitiendo observar la localización precisa de determinados componentes celulares (Zobel y March, 1993). Por tanto, es útil para describir con mayor detalle el relieve y la ornamentación de la cutícula, así como las características de los derivados epidérmicos en las plantas. También se han utilizado métodos espectroscópicos para la caracterización química cualitativa de la cutícula de los vegetales (Fernández *et al.*, 2011; Heredia-Guerrero *et al.*, 2014).

La cutícula es una capa hidrofóbica compleja que cubre la superficie aérea de las plantas terrestres. Muy delicada en las plantas acuáticas sumergidas, donde tiene poca resistencia a la entrada de los gases, del agua y de las sales (Strasburger *et al.*, 1971). Está conformada principalmente de ceras y cutinas, cuya acumulación determina su grosor. Tiene diversas funciones: regula la transpiración del agua, protege del ataque de patógenos, brinda soporte mecánico, entre otras (Nawrath, 2006). Además, presenta diferentes tipos de ornamentación, relieve y composición química. Estas características incluyendo algunas otras de la epidermis, como el tipo de estomas o tricomas, se han usado para delimitar especies en diferentes familias de plantas, entre ellas, Agavaceae (Álvarez de Zayas, 1985, 1987, 1990; Solano *et al.*, 2013; Solano *et al.*, 2017). En éste estudio se analiza la cutícula, los estomas y derivados epidérmicos de 27 especies de *Yucca* mediante microscopia confocal y la composición química a través de espectrometría infrarroja, para registrar caracteres que en conjunto con otras evidencias permitan delimitar las especies de este género. Asimismo, se abordan las siguientes preguntas: ¿todas las especies de *Yucca* comparten las mismas características anatómicas de la cutícula, los estomas y los derivados epidérmicos?, ¿cuáles caracteres permiten separar las especies?, ¿la composición química difiere entre las especies?

## II ANTECEDENTES

La cutícula de las plantas se localiza sobre la epidermis de tallos herbáceos, hojas, flores y frutos, con excepción de las aperturas estomáticas (Pighin *et al.*, 2004; Bargel *et al.*, 2006). Tiene importancia funcional y ecológica por ser el primer tejido que interacciona con el ambiente (Kunst y Samuels, 2003). Es una capa continúa conformada por lípidos y sintetizada por las células epidérmicas. Está constituida por dos capas, una superior de ceras epicuticulares y otra inferior formada por cutina. Las ceras de la capa superior normalmente constituyen del 20 a 60 % de la masa cuticular (Heredia, 2003). Estas ceras son una mezcla compleja de compuestos alifáticos de cadenas lineales que contienen entre 20 y 40 carbonos. Sin embargo, también se han identificado ésteres de cera con cadenas que van desde 36 hasta 70 carbonos (Reina-Pinto y Yephremov, 2009). Los principales componentes químicos de las ceras son n-alcanos, ésteres, alcoholes, aldehídos, cetonas y ácidos grasos, de cadena larga o corta. Entre las ceras se han encontrado algunos metabolitos secundarios, como los triterpenoides y compuestos fenólicos; entre ellos, el ácido cumárico y ferúlico, flavonoides y fenilpropanoides. Además, polisacáridos, principalmente celulosa y pectina, y algunos polipéptidos (Kunst y Samuels, 2003; Leide *et al.*, 2011; Riederer, 2006).

La cutina, componente principal de la capa inferior, representa del 40 al 80 % del peso de la cutícula; está conformada por polímeros de cadena larga, insolubles, que contienen ácidos grasos C16 en mayor proporción y una fracción pequeña de ácidos C18, compuestos hidroxilados y epoxihidroxilados (Heredia, 2003; Bessire *et al.*, 2007). Debido a los enlaces covalentes entre sus monómeros, la cutina resiste daños mecánicos y forma la estructura básica de la cutícula. Además, la zona rica en polisacáridos, como celulosa, hemicelulosa y pectinas, representa el sitio de unión con la pared celular epidérmica externa (Heredia, 2003; Stark y Tian, 2006; Samuels *et al.*, 2008).

Las cutículas de algunas especies como *Agave americana* (Wattendorff y Holloway, 1982) y *Clivia miniata* (Schmidt y Schönherr, 1982) pueden contener

cutan. La naturaleza química del cutan genera un poco de controversia, debido en parte a su alta resistencia a la degradación y a los diferentes métodos químicos empleados para intentar caracterizar esta sustancia. Puede estar formado por variedades de polimetileno y polisacáridos unidos por enlaces no hidrolizables (Nip *et al.*, 1986), o exclusivamente por una red de cadenas polimetilénicas que contienen dobles enlaces y grupos carboxílicos libres unidos por enlaces éter (Villena *et al.*, 1999).

La cutícula desempeña funciones relacionadas con sus propiedades físicas, químicas, mecánicas y morfológicas, que permiten la supervivencia de las plantas. Entre ellas se pueden mencionar: la regulación de la transpiración, el mantenimiento del balance de agua y la difusión de gases (Kolattukudy, 1996; Veraverbeke *et al.*, 2003; Wagner *et al.*, 2003); ayuda a mantener limpia y seca la superficie de la planta o del fruto, ya que facilita el desprendimiento de gotas de agua, partículas de polvo y esporas (Jeffree, 2006; Samuels *et al.*, 2008); por sus propiedades anti-adhesivas, influye en las interacciones planta-insecto y ayuda a evitar la proliferación de patógenos (Commenil *et al.*, 1997; Müller, 2006); protege contra los rayos UV (Barnes *et al.*, 1996); proporciona soporte mecánico (Domínguez *et al.*, 2009) y participa de manera indirecta en la correcta formación de los órganos en las primeras fases de desarrollo de la planta, ya que impide la adhesión incontrolada de las células epidérmicas de los órganos en formación (Riederer, 2006; Leide *et al.*, 2011).

Knoche *et al.* (2004) y Rogiers *et al.* (2004) mencionan que la resistencia que ofrece la cutícula no depende específicamente de su grosor, sino de su composición química, principalmente de la presencia de lípidos cuticulares solubles y de las proporciones en que éstos se encuentran.

En estudios sobre la ornamentación y el relieve de la cutícula, Artabe y Archangelsky (1992) analizaron, mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y de transmisión (MET), la epidermis de *Mesodescolea plicata* y la compararon con *Stangeria eriopus* y *Stangeria paradoxa* (Cycadales) con el fin de establecer las relaciones entre ambos géneros. Señalaron que existen diferencias en la

ornamentación y el grosor de la cutícula entre *Mesodescolea* (5-6  $\mu\text{m}$ ), *S. eriopus* (8  $\mu\text{m}$ ) y *S. paradoxa* (4  $\mu\text{m}$ ), y que estos caracteres permiten su separación taxonómica.

Álvarez de Zayas (1987) menciona que los caracteres epidérmicos, principalmente los estomáticos, son útiles para la caracterización taxonómica y el estudio de las relaciones filogenéticas. Esto ha sido demostrado por diversos autores, entre los que destaca Falczuk *et al.* (1996) quienes estudiaron la epidermis foliar de 29 especies (26 dicotiledóneas y 3 pteridofitas) con el fin de determinar caracteres taxonómicos diagnósticos. Ellos mencionan que los caracteres de mayor utilidad fueron el contorno de las células epidérmicas, la presencia y tipos de tricomas, la ornamentación de la cutícula y el tipo de estomas determinado por la disposición de las células subsidiarias (Falczuk *et al.*, 1996).

Prada y Rolleri (2003) realizaron un estudio de morfología foliar comparada en especies del género *Isoetes*. Registraron las siguientes diferencias: la cutícula es lisa, sin cuñas cuticulares en *I. echinosporum*; someramente estriada, con estrías discontinuas y sin cuñas cuticulares en *I. brochonii*; estriada y sin cuñas cuticulares en *I. x hyckeyi*, *I. velatum* subsp. *velatum*, *I. longisssimum*, *I. velatum* subsp. *asturicense*; estriada y con cuñas cuticulares sobresalientes en *I. setaceum* e *I. lacustre*; plegada y verrugosa, con cuñas cuticulares prominentes en *I. durieui* e *I. histrix*.

Carpano *et al.* (2009) analizaron las características morfológicas y anatómicas de las hojas de cuatro especies de *Aloe*. Registraron a través de MEB que la cutícula de *A. vera* tiene verrugas y tubérculos, libres y fusionados, además de gránulos. En cambio, la cutícula de *A. saponaria* contiene gránulos densamente distribuidos y generalmente fusionados; *A. ciliaris* tiene costillas que forman un diseño reticuloide. Por otro lado, la cutícula de *A. arborescens*, está formada por gránulos, tubérculos, verrugas y costillas cortas, casi paralelas, estos elementos generalmente se fusionan entre sí, además de ceras en forma de escamas. Estos resultados demuestran que la ornamentación de la cutícula es variable entre

especies del mismo género, por tanto, puede considerarse como carácter útil en la delimitación taxonómica.

En relación con la familia Agavaceae, desde comienzos del siglo XX se ha estudiado la anatomía foliar en algunos de sus géneros. Por ejemplo, Müller (1909) hizo una importante contribución al conocimiento de la anatomía foliar de *Agave*, al usar caracteres estructurales foliares en la identificación de las especies. Por otro lado, para explicar las adaptaciones que presentan las agaváceas a condiciones de sequía severa, Roux-Lopex (1964) y McCledon (1908) estudiaron la epidermis foliar, la forma y grosor de la cutícula, así como el desarrollo de cámaras supraestomáticas y relacionaron estas características con el control de la pérdida de agua.

En años recientes, Solano *et al.* (2013) y Solano *et al.* (2017) estudiaron la anatomía foliar en *Polianthes* y *Manfreda*, respectivamente; con base en la ornamentación y grosor de la cutícula, así como de los caracteres de la epidermis, demostraron que estas evidencias son útiles en la separación de las especies. Los estudios foliares anatómicos mencionados anteriormente, indican que probablemente en *Yucca* se encontrarán caracteres taxonómicos de la cutícula y la epidermis que permitan delimitar a las especies de este género. El número de especies de *Yucca* varía en función de los diferentes criterios que los sistématas han utilizado en sus propuestas de clasificación: Espejo-Serna y López-Ferrari (1992) reconocen 35, Verhoek (1998) 48 y Pellmyr *et al.* (2007) de 35 a 40 especies.

Además, *Yucca* tiene importancia económica, la mayoría de sus especies arborescentes se cultivan en varias partes del mundo como plantas ornamentales por sus flores vistosas de color blanquecino. En el Altiplano Mexicano es común consumir como alimento las flores, los frutos y el pedúnculo floral; también las hojas se usan para techar casas y extraer fibras para elaborar diversos utensilios (McVaugh, 1989; García-Mendoza, 2011). Toda la planta contiene sapogeninas que están más concentradas en las semillas. Estos compuestos esteroideos son usados para la síntesis de cortisona, hormonas sexuales y píldoras anticonceptivas. Por la presencia de estos compuestos las hojas y raíces son utilizadas como sustituto del jabón (Granados-Sánchez y López-Ríos, 1998). Se ha señalado el uso de *Y. filifera*,

*Y. decipiens* y *Y. valida*, como recurso potencial para la obtención industrial de pastas celulósicas en la elaboración de papel (Matuda y Piña, 1980).

Con respecto a los estudios sobre la composición química mediante espectrometría infrarroja, Heredia-Guerrero *et al.* (2014) realizaron una revisión bibliográfica sobre los componentes químicos presentes en la cutícula vegetal y registraron cuatro compuestos principales: cutina, ceras, compuestos fenólicos y polisacáridos. Por otro lado, Guzmán-Delgado *et al.* (2016) realizaron un estudio sobre la composición química de la cutícula foliar de *Ficus elastica* (Moraceae). En el espectro registraron picos característicos de los constituyentes de las cutículas, los principales correspondieron a los polisacáridos y en menor medida a la cutina (3331- 3345  $\text{cm}^{-1}$ , vibraciones de tensión de los O-H). Además, encontraron compuestos alifáticos asignados a ceras, cutina y cutan (2918 y 2850  $\text{cm}^{-1}$  vibraciones de tensión asimétricas y simétricas de los grupos  $\text{CH}_2$ , respectivamente) y otras absorciones menores atribuidas a compuestos fenólicos y cutina (1650-1500  $\text{cm}^{-1}$  vibraciones de tensión de los C-C-C y C=C, entre otros; Guzmán-Delgado *et al.*, 2016). Del mismo modo, Fernández *et al.* (2011) estudiaron la composición química de la cutícula en el fruto de *Prunus persica* y registraron picos atribuidos a compuestos alifáticos, grupos funcionales de éster atribuidos a ceras y cutina, y enlaces glucosídicos típicos de los polisacáridos.

Las yucas son plantas rosetófilas, acaules o caulescentes; tallos simples o ramificados; hojas sésiles, dispuestas en el ápice del tallo o de las ramas, lineares, o lineares-lanceoladas, base ensanchada, planas o convexas, coriáceas, margen entero, córneo, frecuentemente desintegrándose en fibras, ápice en general córneo; inflorescencias racemosas, ramas laterales de primer o segundo orden, erectas o péndulas, bracteadas, brácteas ascendentes o reflejas, blanquecinas, pedúnculo corto o extendiéndose más allá de las hojas, pubescente o glabro; flores bisexuales, perigonio campanulado o globoso, blanquecinas, a veces con tintes verdosos, rojizos o purpúreos, pedicelos con una bractéola basal; tépalos 6, carnosos, libres o escasamente unidos en la base, planos o ligeramente cóncavos, los segmentos de la serie interna más anchos; estambres 6, insertos en la base de los tépalos,

filamentos claviformes, aplanados u oblongo-cilíndricos, carnosos, papilosos o lisos, anteras basifijas, dehiscencia introrsa; ovario súpero, columnar, sésil, trilocular, verde o blanquecino, óvulos numerosos, estilo corto o ausente, 3 lóbulos estigmáticos; frutos erectos o péndulos, capsulares o abayados, dehiscentes o indehiscentes; semillas prismáticas, planas, orbiculares o globulares, brillantes u opacas, color negro cuando maduran, con o sin ala marginal; endospermo ruminado (García-Mendoza, 2011; Matuda y Piña, 1980).

En México crecen alrededor de 30 especies de *Yucca*, las cuales, fueron agrupadas por Matuda y Piña (1980) en cuatro secciones y cinco series, con base en características anatómicas, fisiológicas y ecológicas (Cuadro 1). La mayoría se localizan en las zonas áridas y semiáridas con climas BS y BW, caracterizando el matorral desértico rosetófilo o izotal. Tan solo cuatro especies crecen en algunas regiones húmedas del centro y sur de México: *Y. treculeana*, *Y. aloifolia*, *Y. guatemalensis* y *Y. lacandonica*, ésta última es la única que tiene hábito epífita (Matuda y Piña, 1980).

De acuerdo a Ridaura (1980), las poblaciones con mayor densidad de plantas se localizan en dos regiones, la Península de Baja California, poblada principalmente por *Yucca valida*, que alcanza densidades de hasta 300 plantas/ha, y la región formada por los estados de México, Michoacán, Hidalgo, Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí, Nuevo León, Zacatecas y Coahuila, donde *Y. filifera* es la especie más abundante, existiendo zonas donde hay más de 300 plantas/ha. En algunas ocasiones esta especie se encuentra mezclada con *Y. torreyi*.

Cuadro 1. Sistemática de las especies mexicanas del género *Yucca* (*sensu* Matuda y Piña, 1980).

Sección	Serie	Especie
I. Sarcocarpa	1. Faxonianae	<i>Y. carnerosana</i>
	2. Baccatae	<i>Y. endlichiana</i>
		<i>Y. grandiflora</i>
	3. Treculeanae	<i>Y. treculeana</i>
		<i>Y. torreyi</i>
		<i>Y. schidigera</i>
		<i>Y. schottii</i>
		<i>Y. jaliscensis</i>
		<i>Y. periculosa</i>
		<i>Y. decipiens</i>
		<i>Y. valida</i>
		<i>Y. potosina</i>
		<i>Y. filifera</i>
		<i>Y. guatemalensis</i>
		<i>Y. aloifolia</i>
<i>Y. lacandonica</i>		
<i>Y. capensis</i>		
<i>Y. queretaroensis</i>		
<i>Y. mixtecana</i>		
<i>Y. linearifolia</i>		
III. Hesperoyucca		<i>Y. whipplei</i>
IV Chaenocarpa	1. Rupicolae	<i>Y. reverchoni</i>
		<i>Y. coahuilensis</i>
		<i>Y. rígida</i>
		<i>Y. rostrata</i>
		<i>Y. thompsoniana</i>
	2. Elatae	<i>Y. elata</i>

### III JUSTIFICACIÓN

México es el centro de diversidad de Agavoideae (Asparagaceae), dentro de esta subfamilia, *Yucca* es el segundo género con mayor riqueza de especies y 50 % de ellas son endémicas del territorio mexicano. A través del tiempo, la ubicación taxonómica del género y la delimitación de sus especies ha sido controvertida. Estudios previos realizados en otros géneros de Agavoideae, han demostrado que las características de la epidermis y la cutícula, como el relieve y la ornamentación, asociadas a la composición química, pueden presentar caracteres que permitan delimitar a las especies de este género.

### IV OBJETIVO

Analizar el relieve, la ornamentación y composición química de la cutícula foliar, además de la epidermis, de algunas especies de *Yucca*, así como reconocer caracteres útiles en la delimitación de sus especies.

### V HIPÓTESIS

En géneros taxonómicamente cercanos a *Yucca*, como *Polianthes* y *Manfreda* (Asparagaceae, Agavoideae), se ha demostrado que los caracteres de la cutícula son constantes entre individuos de la misma especie, pero varían según el taxón. Por lo tanto, el análisis de estos caracteres, mediante técnicas avanzadas de análisis químico y microscópico, permitirá reconocer aquellos que sean útiles en la delimitación de las especies de *Yucca*.

## VI MATERIAL Y MÉTODO

### Trabajo de campo

Se realizaron salidas al campo, en el área de distribución del género dentro de la República Mexicana, para recolectar muestras de tejido foliar de ejemplares adultos pertenecientes a 27 especies de *Yucca* (Cuadro 1). De la parte media a lo largo de la hoja madura, se cortaron porciones de aproximadamente 2 cm de largo. Las muestras se fijaron en una solución de formol, ácido acético glacial, alcohol etílico al 95 % y agua (FAA,10:5:50:35) y posteriormente se lavaron con agua hasta eliminar el olor del fijador. Para evitar el endurecimiento del tejido, se almacenaron en una solución de glicerina, alcohol etílico y agua (GAA, 2:1:1). Además, se herborizaron ejemplares como respaldo, éstos fueron depositados en las colecciones FEZA y MEXU.

### Aislamiento de la cutícula

Las muestras almacenadas en GAA se dividieron en porciones de 1.0 × 0.5 cm y para facilitar la acción de las enzimas, cada uno de estos fragmentos se separó paradermalmente. La sección correspondiente a la cara adaxial de la hoja se usó para estudiar el relieve, la ornamentación de la cutícula y las características externas de la epidermis. Las cutículas se aislaron enzimáticamente por quintuplicado siguiendo la metodología descrita por Orgell (1955) y Yamada *et al.* (1964). Cada segmento se incubó a una temperatura de 25 a 35 °C durante dos a cuatro semanas en una solución de pectinasa (2 %) y celulasa (0.2 %), ajustada a un pH de 3.8 con buffer de acetatos. Después de la incubación, las cutículas fueron lavadas varias veces con agua destilada hasta quedar libres de residuos celulares, posteriormente se secaron a temperatura ambiente.

## **Tratamientos cuticulares**

Las muestras cuticulares de cada especie se separaron en frascos individuales previamente etiquetados. Una parte se usó para el análisis anatómico de la cutícula mediante Microscopia Confocal Laser de Barrido (CLSM, por sus siglas en ingles), la otra para el análisis de la composición química mediante Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier y Reflección Total Atenuada (ATR-FTIR, por sus siglas en ingles). Todo el material se conservó en refrigeración, a 3 °C, hasta su observación y tratamiento.

## **Análisis microscópico**

Para el análisis por CLSM las cutículas aisladas fueron impregnadas con una solución acuosa de paraquat comercial (0.5 µL). Las cutículas se mantuvieron a 25 °C durante 24 h en una cámara con humedad relativa de 95 %, después se conservaron en refrigeración. Antes del análisis microscópico, las cutículas fueron enjuagadas con agua destilada hasta eliminar el paraquat y después se colocaron durante 5 min en 2 mL de reactivo de Fenton (solución acuosa de FeCl<sub>3</sub> 0.1 mM y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 mM; Fernández *et al.*, 1999). Enseguida se hicieron las observaciones de la cutícula en un microscopio confocal Leica, DMi8 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania), equipado con un sistema exploratorio SP8 MP (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania), a una longitud de onda de 522 y 640 nm. Se registraron imágenes tridimensionales y secuencias de video en el formato nativo de Leica (\*.lif). El manejo de ambos tipos de archivos se realizó con el software Leica Application Suite X (LASX; Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania).

## **Composición química**

Para el análisis por ATR-FTIR, las muestras se colocaron en un matraz de Kitasato y se mantuvieron en un congelador Thermo Scientific a -70 °C por 24 h. Posteriormente se secaron en un liofilizador modelo FreeZone 4.5 (Labconco Co., USA) hasta que estuvieron libres de humedad y después se conservaron en un

desecador de vidrio. El análisis de las muestras se realizó con un espectrómetro modelo FTIR Cary 630 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipado con una unidad ATR de diamante. Cada espectro se obtuvo utilizando el software MicroLab PC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Estados Unidos), en un rango espectral de 650–4000  $\text{cm}^{-1}$ , con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  y la apodización Happ-Genzel. Se promediaron un total de cinco muestras para cada especie. El manejo de los espectros obtenidos se realizó con el software Origin Pro 2016, vb9.3.226 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA). La asignación de los picos en los espectros ATR-FTIR se realizó con base en la literatura existente (da Luz, 2006; Heredia-Guerrero *et al.*, 2014, Reyes-Rivera y Terrazas 2017). Cada espectro fue corregido con respecto a la línea de base para eliminar la señal de ruido. Las cinco replicas fueron promediadas y posteriormente se calculó el área bajo la curva de los picos asignadas a los compuestos de la cutícula. La proporción de cada componente químico de la cutícula se calculó considerando únicamente los picos asignados.

Cuadro 2. Especies de *Yucca* incluidas en el análisis del relieve, la ornamentación y composición química de la cutícula foliar, así como las características externas de la epidermis.

Espece	Número de recolecta/ recolector	Tipo de vegetación	Estado
<i>Yucca aloifolia</i>	5636 - ESC	Bosque tropical subcaducifolio	Oaxaca
<i>Y. capensis</i>	5880 - ESC	Bosque tropical caducifolio	Baja California Sur
<i>Y. carnerosana</i>	1869 - RRG	Matorral xerófilo	Tamaulipas
<i>Y. coahuilensis</i>	1881 - RRG	Matorral xerófilo	Coahuila
<i>Y. decipiens</i>	4960 - ESC	Matorral xerófilo	San Luis Potosí
<i>Y. elata</i>	1872 - RRG	Matorral xerófilo	Nuevo León
<i>Y. endlichiana</i>	1888 - RRG	Matorral xerófilo	Coahuila
<i>Y. filifera</i>	1866 - RRG	Matorral xerófilo	Tamaulipas
<i>Y. grandiflora</i>	5993 - ESC	Bosque de <i>Quercus-Juniperus</i>	Sonora
<i>Y. guatemalensis</i>	5637 - ESC	Bosque tropical caducifolio	Veracruz
<i>Y. jaliscensis</i>	AGM	Matorral xerófilo	Jalisco
<i>Y. lacandonica</i>	5640 - ESC	Bosque tropical subcaducifolio	Oaxaca
<i>Y. linearifolia</i>	1870 - RRG	Matorral xerófilo	Nuevo León
<i>Y. mixteca</i>	5587 - ESC	Matorral xerófilo	Puebla
<i>Y. periculosa</i>	5635 - ESC	Matorral xerófilo	Puebla
<i>Y. potosina</i>	4962 - ESC	Matorral xerófilo	San Luis Potosí
<i>Y. queretaroensis</i>	1856 - RRG	Matorral xerófilo	Querétaro
<i>Y. reverchonii</i>	1884 - RRG	Matorral xerófilo	Coahuila
<i>Y. rigida</i>	5596 - ESC	Matorral xerófilo	Coahuila
<i>Y. rostrata</i>	1887 - RRG	Matorral xerófilo	Coahuila
<i>Y. schidigera</i>	1851 - RRG	Matorral xerófilo	Baja California

Continuación del Cuadro 2

Especie	Número de recolecta/ recolector	Tipo de vegetación	Estado
<i>Y. schottii</i>	5606 - ESC	Bosque de encino-pino	Chihuahua
<i>Y. thompsoniana</i>	5602 - ESC	Matorral xerófilo	Chihuahua
<i>Y. torreyi</i>	4966 - ESC	Bosque tropical caducifolio	San Luis Potosí
<i>Y. treculeana</i>	1860 - RRG	Matorral xerófilo	San Luis Potosí
<i>Y. valida</i>	1837 - RRG	Matorral xerófilo	Baja California Sur
<i>Y. whipplei</i>	1849 - RRG	Matorral xerófilo	Baja California

Recolectores: AGM= Abisaí García Mendoza, ESC= Eloy Solano Camacho, RRG= Ramiro Ríos Gómez.

## VII RESULTADOS

### 7.1 Análisis por Microscopia Confocal Laser de Barrido (CLSM)

El análisis por CLSM permitió obtener imágenes tridimensionales de la cutícula con base en la fluorescencia nativa de sus componentes químicos. A diferencia de los estudios convencionales, donde se describe la cutícula desde un solo plano (usualmente transversal), el análisis tridimensional ayudó a describir detalles más específicos sobre las características morfológicas de la cutícula, así como de la organización celular de la epidermis y sus derivados. De este modo fue posible describir el tipo de estomas, la presencia de papilas o tricomas y el grosor de la cutícula, así como el grado de penetración en los espacios entre células epidérmicas contiguas.

La ornamentación de la cutícula fue descrita con base en su contorno externo; p. ej. lisa, rugosa o estriada (Fig. 1A-C). El contorno interno de la cutícula ayudó a describir la forma de las paredes celulares; p. ej. rectangulares, hexagonales o poligonales (Fig. 1D). Además, se evaluó el relieve cuticular; éste rasgo es complementario a la ornamentación ya que toma en cuenta el plano tridimensional y se describió de acuerdo a la forma en la que se acumula la cutícula. Relieve liso, cuando la cutícula es muy gruesa y forma una capa más o menos uniforme, además, el contorno externo de las células no se aprecia bien definido. Relieve irregular, cuando la cutícula es delgada y se acumula uniformemente sobre la cara externa de las células epidérmicas, en este caso, la morfología de la superficie externa de las células epidérmicas está bien definida (Fig. 1A, C).

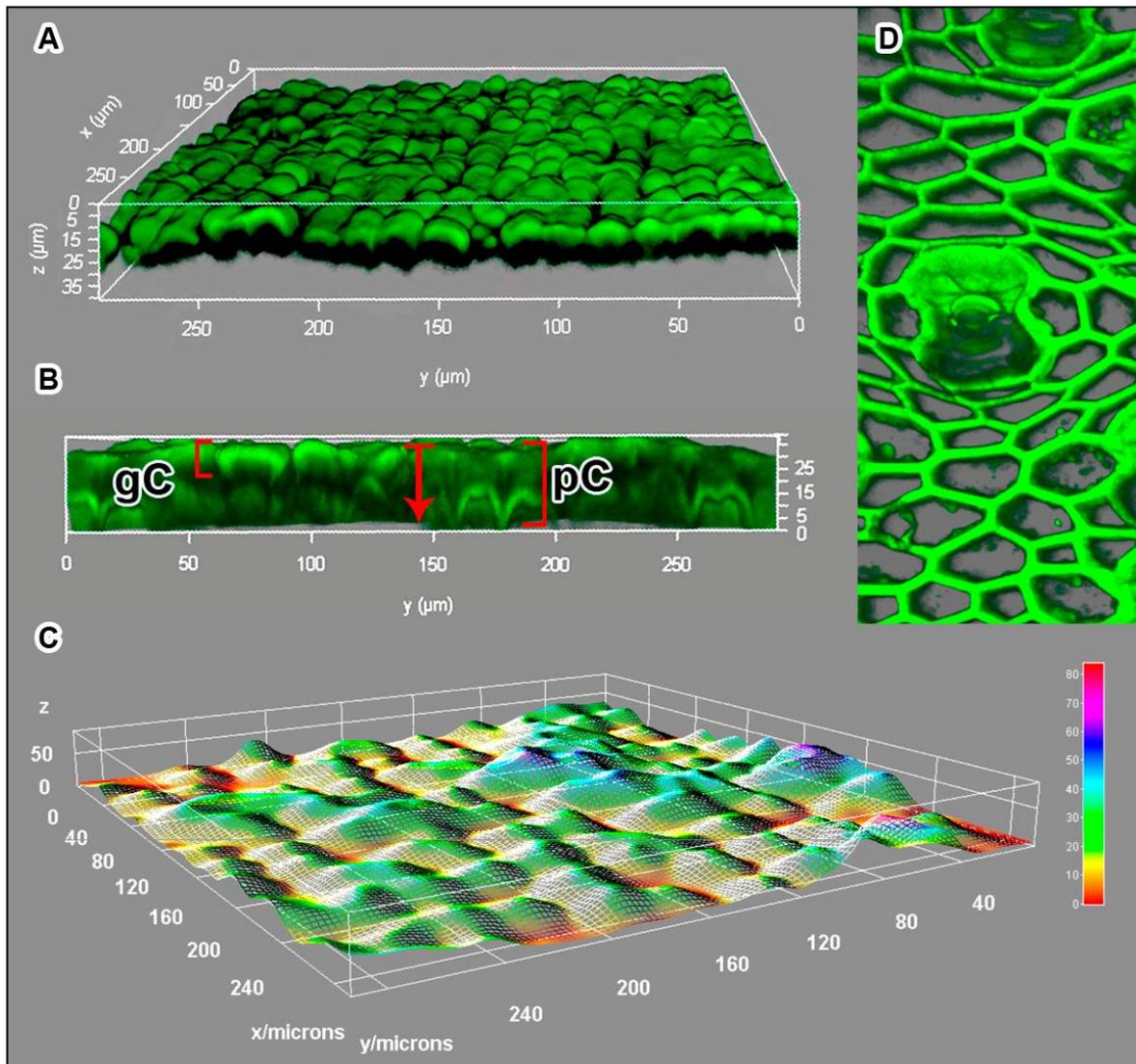


Figura 1. A) Contorno externo de la cutícula y B) vista de perfil en *Y. rostrata*; C) representación del relieve de la cutícula; D) contorno interno de la cutícula en *Y. carnerosana*. Abreviaturas: gC= grosor de la cutícula; pC= penetración de la cutícula.

### 7.1.1 *Yucca guatemalensis*

En vista de perfil, la cutícula es gruesa (15  $\mu\text{m}$ ), penetra hasta 35  $\mu\text{m}$  en los espacios intercelulares, presenta relieve liso y ornamentación escamosa (Fig. 2A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células hexagonales con paredes anticlinales rectas; estomas tetracíticos, células subsidiarias irregulares, más pequeñas que las células epidérmicas (Fig. 2B).

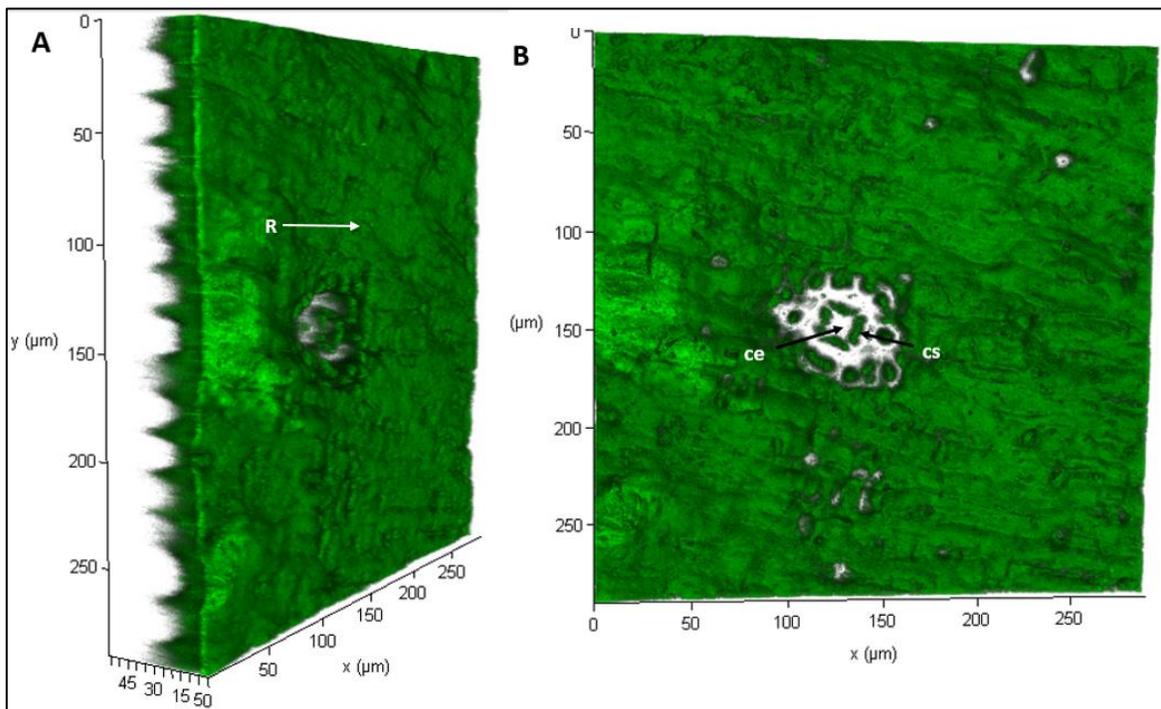


Figura 2. Cutícula foliar de *Yucca guatemalensis*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R=relieve (liso), ce= complejo estomático (tetracítico), cs= célula subsidiaria.

### 7.1.2 *Yucca jaliscensis*

En vista de perfil, la cutícula es delgada (5  $\mu\text{m}$ ), penetra menos de 5  $\mu\text{m}$  en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación estriada (Fig. 3A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas papilosas; el contorno interno denota células poligonales a rectangulares con paredes anticlinales rectas; estomas tetracíticos, células subsidiarias regulares, igual en tamaño a las células epidérmicas (Fig. 3B). *Y. mixtecana* y *Y. schottii* presentan características de la cutícula y de la epidermis similares a *Y. jaliscensis*, con las excepciones que se muestran en el Cuadro 3.

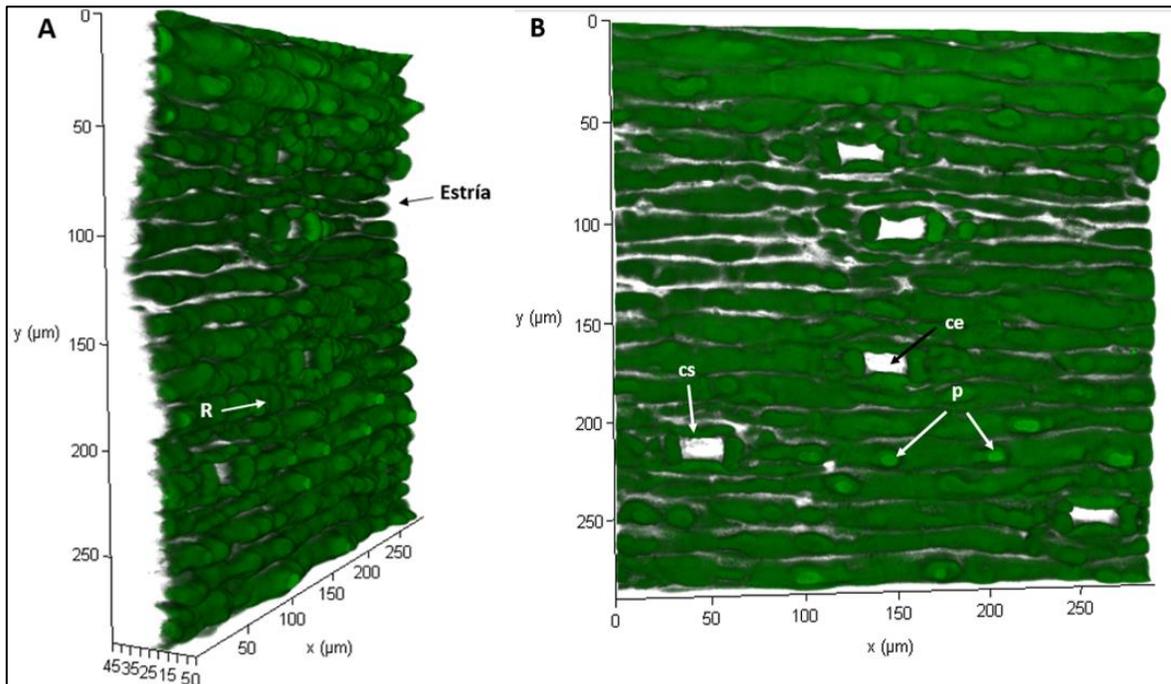


Figura 3: Cutícula foliar de *Yucca jaliscensis*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R=relieve (irregular), ce= complejo estomático (tetracítico), cs= célula subsidiaria, p=papilas.

### 7.1.3 *Yucca lacandonica*

En vista de perfil, la cutícula es delgada (5  $\mu\text{m}$ ), penetra menos de 5  $\mu\text{m}$  en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación lisa (Fig. 4A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas; estomas tetracíticos abundantes, células subsidiarias irregulares, más pequeñas que las epidérmicas (Fig. 4B). La cutícula de *Yucca capensis* presenta características similares a esta especie, con las excepciones que se muestran en el Cuadro 3.

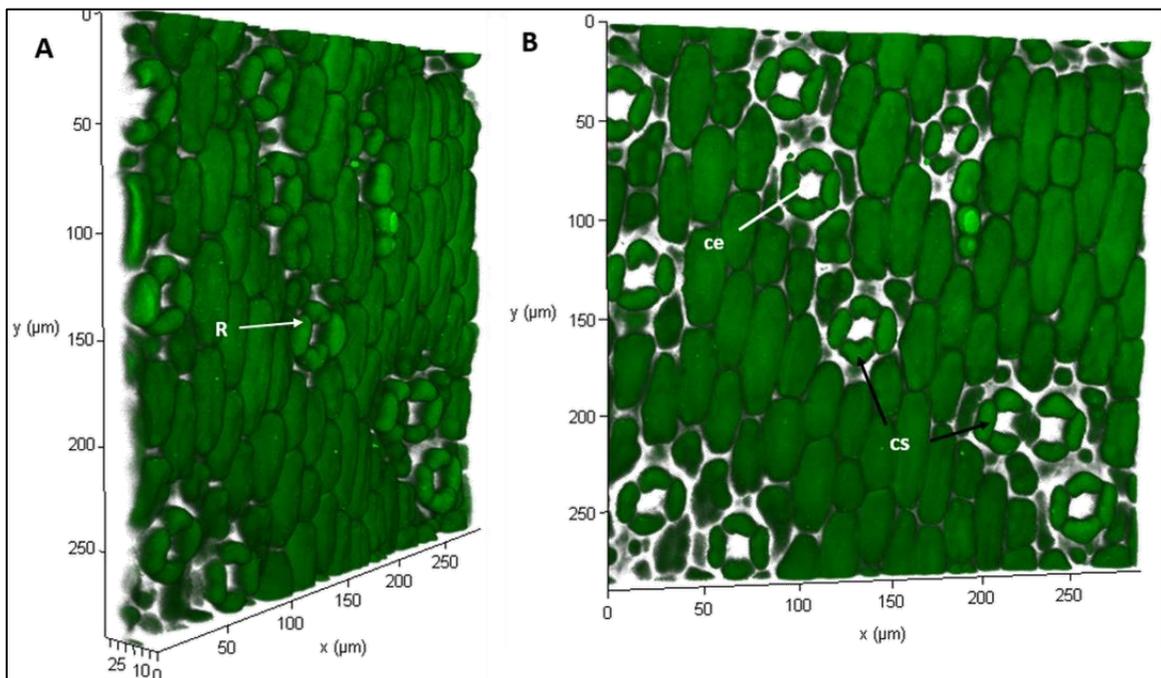


Figura 4. Cutícula foliar de *Yucca lacandonica*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R=relieve (irregular), ce= complejo estomático (tetracítico), cs=células subsidiarias.

#### 7.1.4 *Yucca linearifolia*

En vista de perfil, la cutícula es delgada (10  $\mu\text{m}$ ), no penetra profundamente en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación rugosa (Fig. 5A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas; estomas tetracíticos hendidos, células subsidiarias irregulares más pequeñas que las células epidérmicas (Fig. 5B).

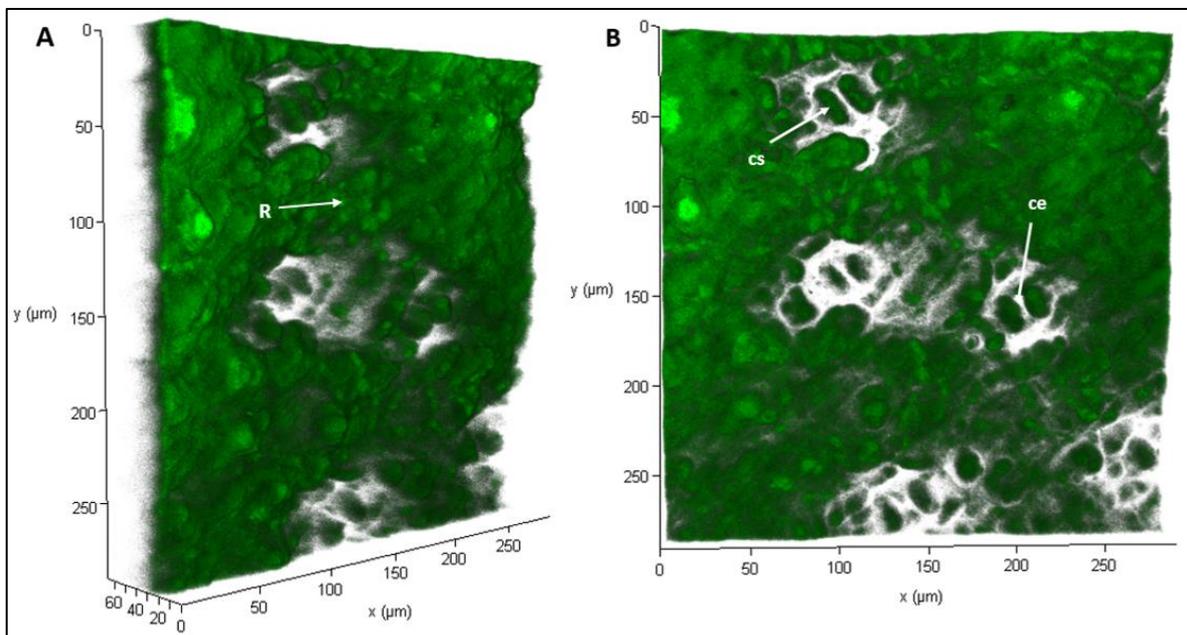


Figura 5. Cutícula foliar de *Yucca linearifolia*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R=relieve (irregular), ce=complejo estomático (tetracítico, hendido), cs=célula subsidiaria.

### 7.1.5 *Yucca potosina*

En vista de perfil, la cutícula es delgada (5  $\mu\text{m}$ ), penetra menos de 5  $\mu\text{m}$  en los espacios intercelulares, presenta relieve liso y sólo en las zonas adyacentes a los estomas es irregular; la ornamentación es lisa (Fig. 6A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células epidérmicas rectangulares con paredes anticlinales rectas; estomas hendidos, células subsidiarias irregulares (Fig. 6B). *Yucca coahuilensis*, *Y. decipiens*, *Y. grandiflora* y *Y. periculosa* presentan características de la cutícula y de la epidermis similares a esta especie, las diferencias entre ellas se muestran en el Cuadro 3.

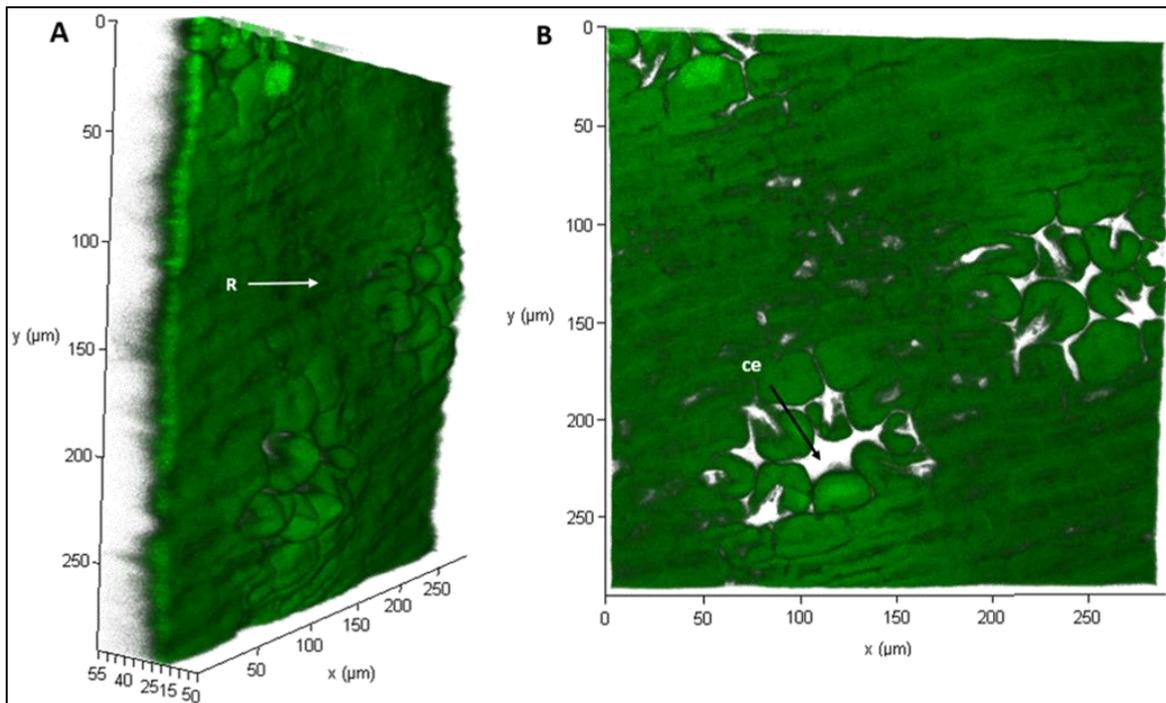


Figura 6. Cutícula foliar de *Yucca potosina*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R=relieve (predominantemente liso), ce=complejo estomático (hendidos).

### 7.1.6 *Yucca queretaroensis*

En vista de perfil, la cutícula es gruesa (20  $\mu\text{m}$ ), penetra aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación lisa (Fig. 7A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas papilosas, el contorno interno denota células poligonales a rectangulares con paredes anticlinales rectas a ligeramente sinuosas; estomas tetracíticos (Fig. 7B). *Yucca aloifolia*, *Y. elata*, *Y. endlichiana*, *Y. filifera* y *Y. treculeana*, presentan características de la cutícula y de la epidermis similares a esta especie, sus excepciones se muestran en el Cuadro 3.

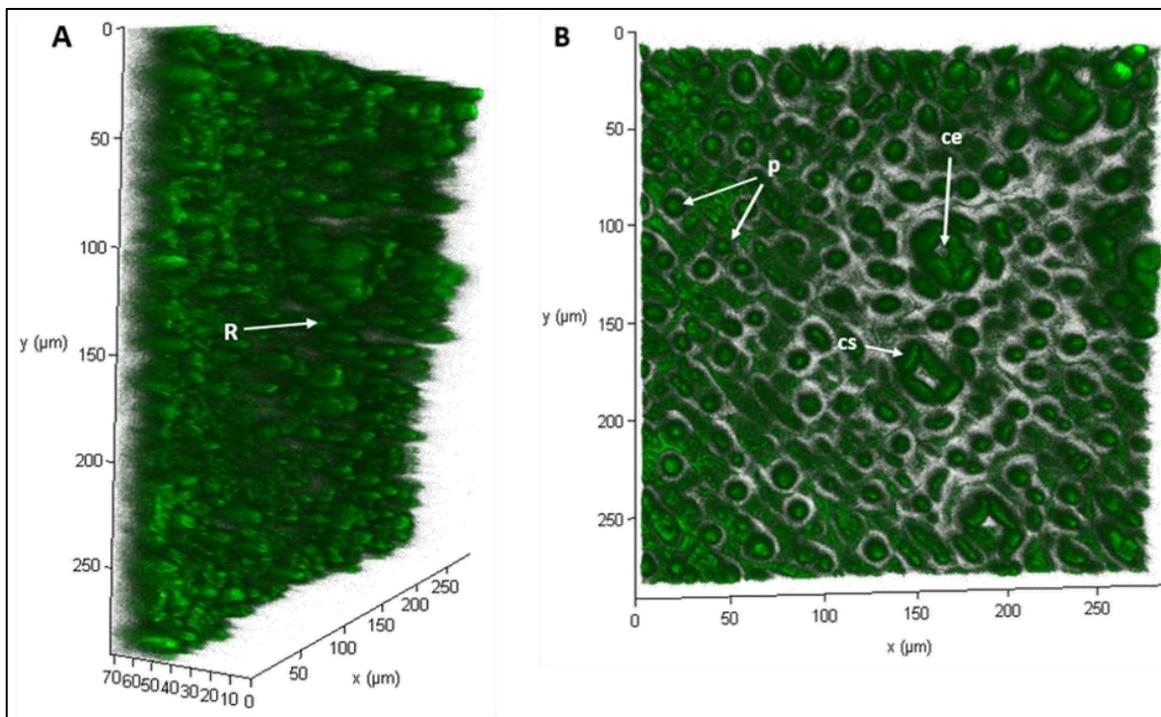


Figura 7. Cutícula foliar de *Yucca queretaroensis*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R=relieve (irregular), ce= complejo estomático (tetracítico), cs=célula subsidiaria p=papilas.

### 7.1.7 *Yucca rostrata*

En vista de perfil, la cutícula es delgada (5  $\mu\text{m}$ ), penetra menos de 5  $\mu\text{m}$  en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación lisa (Fig. 8A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas no papilosas, el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas; estomas paracíticos abundantes, células subsidiarias regulares de tamaño similar a las células epidérmicas (Fig. 8B). *Yucca carnerosana*, *Y. rigida* y *Y. reverchonii* presentan características de la cutícula y de la epidermis similares a esta especie, las diferencias entre ellas se muestran en el Cuadro 3.

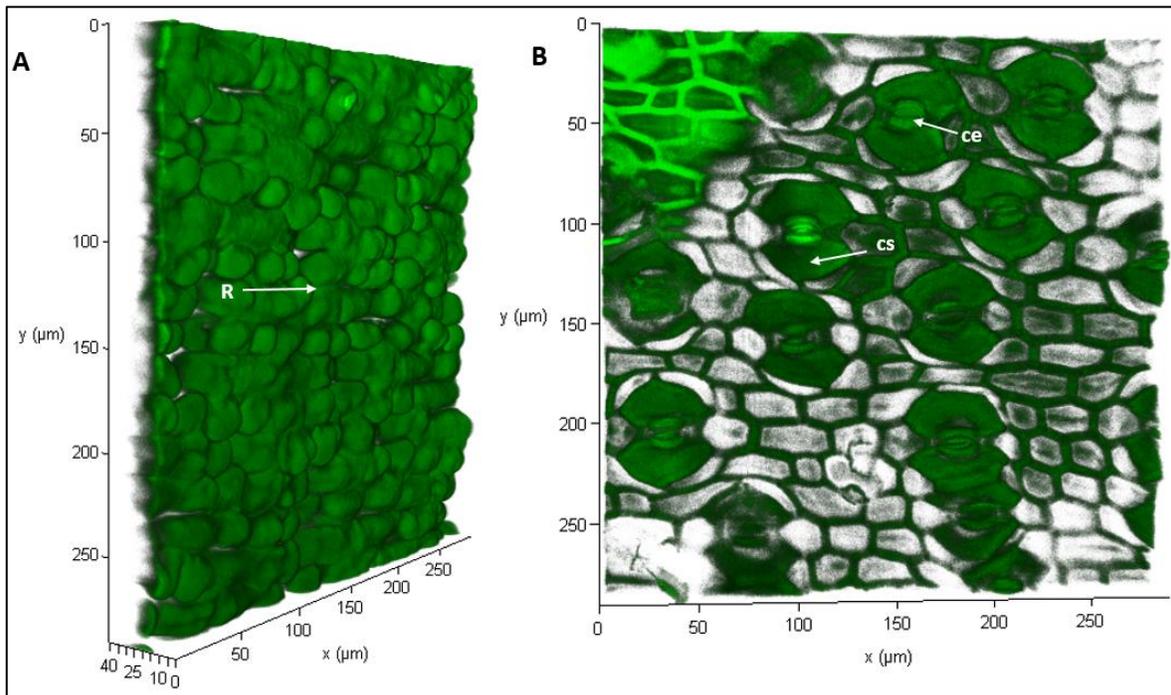


Figura 8. Cutícula foliar de *Yucca rostrata*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R= relieve (irregular), ce=complejo estomático (paracítico), cs=célula subsidiaria.

### 7.1.8 *Yucca schidigera*

En vista de perfil, la cutícula es gruesa (15  $\mu\text{m}$ ), penetra menos de 5  $\mu\text{m}$  en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular, ornamentación ligeramente estriada (Fig. 9A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células rectangulares con paredes anticlinales rectas a ligeramente sinuosas; estomas paracíticos, células subsidiarias irregulares más pequeñas que las células epidérmicas (Fig. 9B).

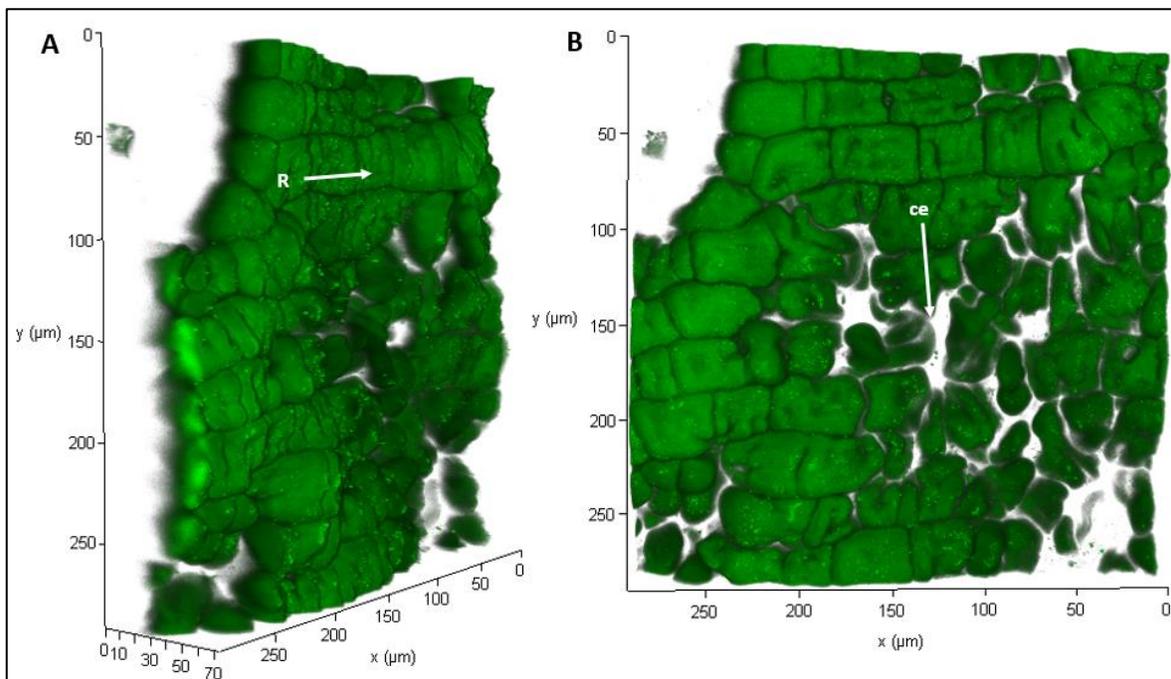


Figura 9. Cutícula foliar de *Yucca schidigera*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R=relieve (irregular), ce=complejo estomático (hendido).

### 7.1.9 *Yucca thompsoniana*

En vista de perfil, la cutícula es delgada ( $5\ \mu\text{m}$ ), penetra hasta  $5\ \mu\text{m}$  en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación lisa (Fig. 10A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células poligonales a más o menos rectangulares con paredes anticlinales rectas; estomas paracíticos (Fig. 10B).

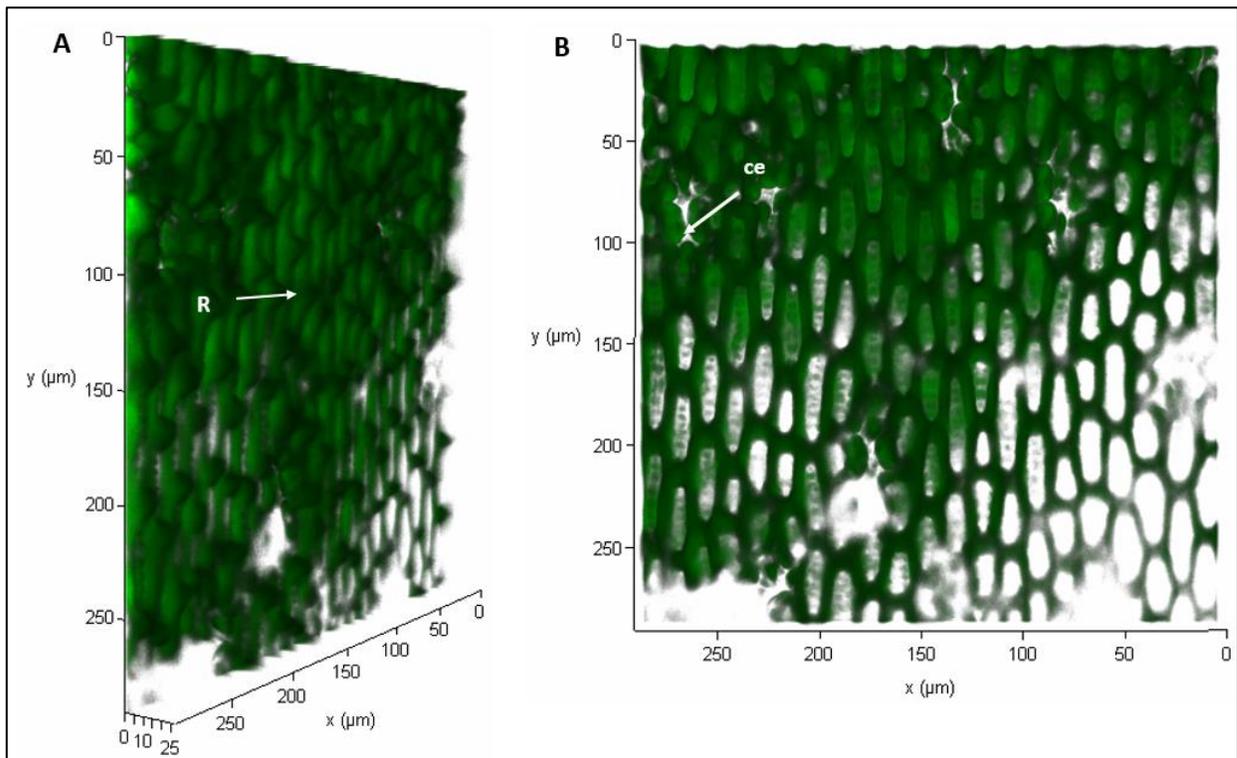


Figura 10. Cutícula foliar de *Yucca thompsoniana*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R=relieve (irregular), ce=complejo estomático (paracítico).

### 7.1.10 *Yucca torreyi*

En vista de perfil, la cutícula es gruesa (20  $\mu\text{m}$ ), penetra hasta 10  $\mu\text{m}$  en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación granulosa (Fig. 11A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas papilosas y tricomas que llegan a medir hasta 80  $\mu\text{m}$ , el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales ligeramente sinuosas; estomas tetracíticos, células subsidiarias irregulares (Fig. 11B).

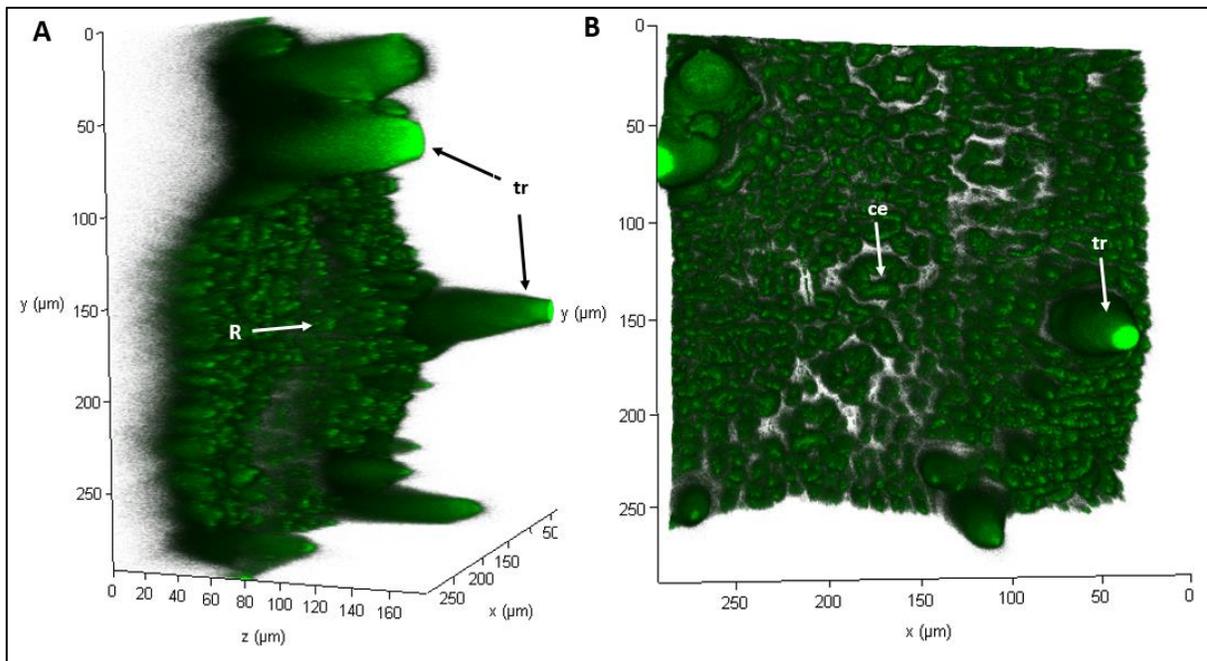


Figura 11. Cutícula foliar de *Yucca torreyi*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R=relieve (irregular), ce=complejo estomático (tetracítico), tr=tricomas.

### 7.1.11 *Yucca whipplei*

En vista de perfil, la cutícula es delgada (10  $\mu\text{m}$ ), penetra hasta 10  $\mu\text{m}$  en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación estriada (Fig. 12A). En vista paradermal, se observan células epidérmicas papilosas, el contorno interno denota células rectangulares con paredes anticlinales rectas; estomas paracíticos en las comisuras de las estrías (Fig. 12B).

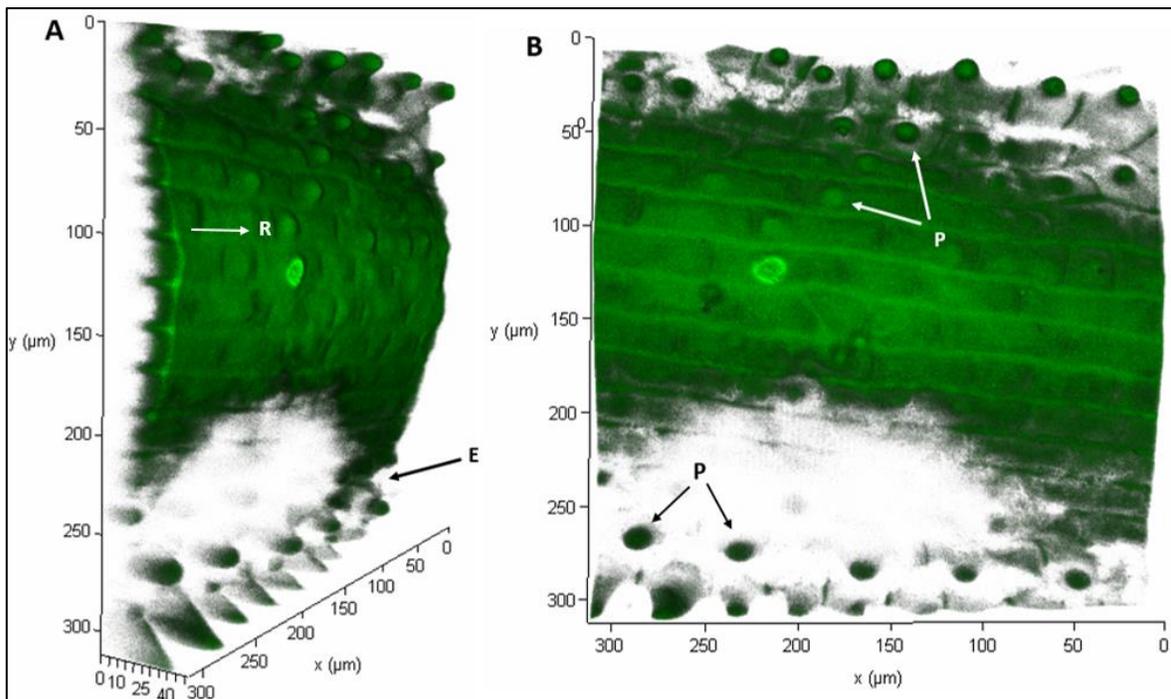


Figura 12. Cutícula foliar de *Yucca whipplei*, superficie foliar adaxial. A. Vista de perfil. B. Vista paradermal. R=relieve (irregular), E=estría, P=papilas.

Cuadro 3. Características anatómicas en la cutícula foliar de las especies de *Yucca* estudiadas.

Especie	Contorno células epidérmicas	Estomas	Relieve/ Ornamentación	Tricomas	Grosor
<i>Yucca aloifolia</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas	Tetracíticos	Irregular/ estriada	-	10 µm
<i>Y. capensis</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas	Paracíticos	Irregular/ lisa	-	10 µm
<i>Y. carnerosana</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas	Paracíticos	Irregular/ lisa	-	5 µm
<i>Y. coahuilensis</i>	Rectangulares con paredes anticlinales rectas	Paracíticos	Liso/ lisa	-	5 µm
<i>Y. decipiens</i>	Hexagonales con paredes anticlinales rectas	No se observó	Liso/ lisa	-	5 µm
<i>Y. elata</i>	Poligonales, con paredes anticlinales rectas	Paracíticos	Irregular lisa	-	10 µm
<i>Y. endlichiana</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas a sinuosas	Tetracíticos	Irregular/ lisa	-	25 µm
<i>Y. filifera</i>	Poligonales a más o menos rectangulares, con paredes anticlinales rectas a ligeramente sinuosas	Paracíticos	Irregular/ lisa	-	20 µm
<i>Y. grandiflora</i>	Rectangulares con paredes anticlinales rectas	Paracíticos hendidos	Liso/ lisa	-	10 µm
<i>Y. guatemalensis</i>	Hexagonales con paredes anticlinales rectas	Tetracíticos	Liso/ escamosa	-	15 µm
<i>Y. jaliscensis</i>	Poligonales a rectangulares con paredes anticlinales rectas	Tetracíticos	Irregular/ estriada	Papilas	5 µm
<i>Y. lacandonica</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas	Tetracíticos	Irregular/ lisa	-	5 µm
<i>Y. linearifolia</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas	Tetracíticos hendidos	Irregular/ rugosa	-	10 µm
<i>Y. mixteca</i>	Rectangulares con paredes anticlinales rectas	Paracíticos	Liso/ lisa	-	10 µm
<i>Y. periculosa</i>	Hexagonales con paredes anticlinales rectas	Tetracíticos	Liso/ lisa	-	5 µm
<i>Y. potosina</i>	Rectangulares con paredes anticlinales rectas	Hendidos	Liso/ lisa	-	5 µm
<i>Y. queretaroensis</i>	Poligonales a rectangulares con paredes anticlinales rectas, ligeramente sinuosas	Tetracíticos	Irregular/ lisa	Papilas	20 µm
<i>Y. reverchonii</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas	Paracíticos	Irregular/ estriada	-	15 µm
<i>Y. rigida</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas	Paracíticos	Liso/ lisa	-	10 µm
<i>Y. rostrata</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas	Paracíticos	Irregular/ lisa	-	5 µm

Continuación del Cuadro 3

Especie	Contorno células epidérmicas	Estomas	Relieve/ Ornamentación	Tricomas	Grosor
<i>Y. schidigera</i>	Rectangulares con paredes anticlinales rectas a ligeramente sinuosas	Paracíticos	Irregular/ ligeramente estriada	-	15 µm
<i>Y. schottii</i>	Rectangulares con paredes anticlinales ligeramente sinuosas	Tetracíticos	Irregular/ lisa	Papilas	10 µm
<i>Y. thompsoniana</i>	Poligonales a más o menos rectangulares, con paredes anticlinales rectas	Paracíticos	Irregular/ lisa	-	5 µm
<i>Y. torreyi</i>	Poligonales paredes anticlinales ligeramente sinuosas	Tetracíticos	Irregular/ rugosa	Tricomas y papilas	20 µm
<i>Y. treculeana</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas a ligeramente sinuosas	Paracíticos	Irregular/ lisa	-	15 µm
<i>Y. valida</i>	Poligonales con paredes anticlinales rectas	No se observó	Irregular/ ligeramente estriada	-	10 µm
<i>Y. whipplei</i>	Rectangulares con paredes anticlinales rectas	Paracíticos	Irregular/ estriada	Papilas	10 µm

## 7.2 Análisis de la composición química mediante ATR-FTIR

El análisis de las cutículas aisladas de las especies de *Yucca*, mediante ATR-FTIR, permitió identificar varios picos que proveen información sobre la naturaleza de los grupos funcionales, así como la proporción de los compuestos químicos que las conforman. En el Cuadro 4 se resumen los picos asignados a los principales componentes químicos de la cutícula y en la Figura 13 se muestran los espectros ATR-FTIR obtenidos para cada especie.

En todas las especies se registraron cuatro picos principales: dos picos altos en 2915 y 2848  $\text{cm}^{-1}$  asignados respectivamente a las vibraciones de tensión, asimétricas y simétricas de los  $\text{CH}_2$  (Cuadro 4). Además, los picos alrededor de 1460  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a la vibración de tipo tijera de los  $\text{CH}_2$ , así como un pico en 718  $\text{cm}^{-1}$ , asignado a una vibración de balanceo de los  $\text{CH}_2$ . Estos picos fueron atribuidos al material alifático presente en la cutina y ceras de la cutícula. Por otro lado, se registraron dos picos menos frecuentes entre las especies, ambos asignados a las vibraciones de tensión de los C-C en los compuestos aromáticos, uno en 1516  $\text{cm}^{-1}$  y otro en 1543  $\text{cm}^{-1}$  (conjugadas con las vibraciones de tensión de los C=C).

Cuadro 4. Grupos funcionales y compuestos químicos obtenidos de los espectros ATR-FTIR en las cutículas foliares aisladas de *Yucca*, también registrados por otros autores.

Asignaciones	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Compuestos	Referencias
$\nu_a(\text{CH}_2)$	2915	cutina, ceras	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014) Guzmán-Delgado <i>et al.</i> (2016)
$\nu_s(\text{CH}_2)$	2848	cutina, ceras	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014) Guzmán-Delgado <i>et al.</i> (2016)
$\nu(\text{C=O})$ éster	1731	cutina	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014), Fernández <i>et al.</i> (2011), Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2016)
$\nu(\text{C=O}\cdots\text{H})$ éster	1718	cutina	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
$\gamma(\text{C-H})$ aromático	1654	compuestos fenólicos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
$\nu(\text{C=C})$ ácido fenólico	1634-1637	compuestos fenólicos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
$\nu(\text{C-C})$ aromático (conjugado con C=C)	1543	compuestos fenólicos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
$\nu(\text{C-C})$ aromático	1510-1523	compuestos fenólicos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
$\delta(\text{CH}_2)$ tijereteo	1459-1463	cutina, ceras	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
$\delta(\text{CH}_2)$ aleteo y torsión	1366-1376	cutina, ceras, polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014), Lupoi <i>et al.</i> (2015)
$\delta(\text{CH}_2)$ tijereteo	1315-1319	celulosa, polisacáridos	Pinar <i>et al.</i> (2014), Lupoi <i>et al.</i> (2015)
$\delta(\text{OH})$	1258-1268	cutina, polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
$\delta(\text{OH})$	1241-1248	cutina, polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014), Guzmán-Delgado <i>et al.</i> (2016)
$\nu_a(\text{C-O-C})$ , éster	1161-1168	cutina	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014) Guzmán-Delgado <i>et al.</i> (2016)
$\nu_s(\text{C-O-C})$ , éster	1097-1104	cutina	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
$\nu(\text{C-O-C})$ , enlace glucosídico	1054-1064	polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014), Fernández <i>et al.</i> (2011)
$\nu(\text{C-O})$	953-956	cutina, polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
$\nu(\text{C-H})$	889-909	celulosa	Reyes-Rivera y Terrazas (2017)
$\gamma(\text{C-H})$ aromático	816-829	compuestos fenólicos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
$\delta(\text{CH}_2)$ balanceo	779	compuestos fenólicos	Foo (1981)

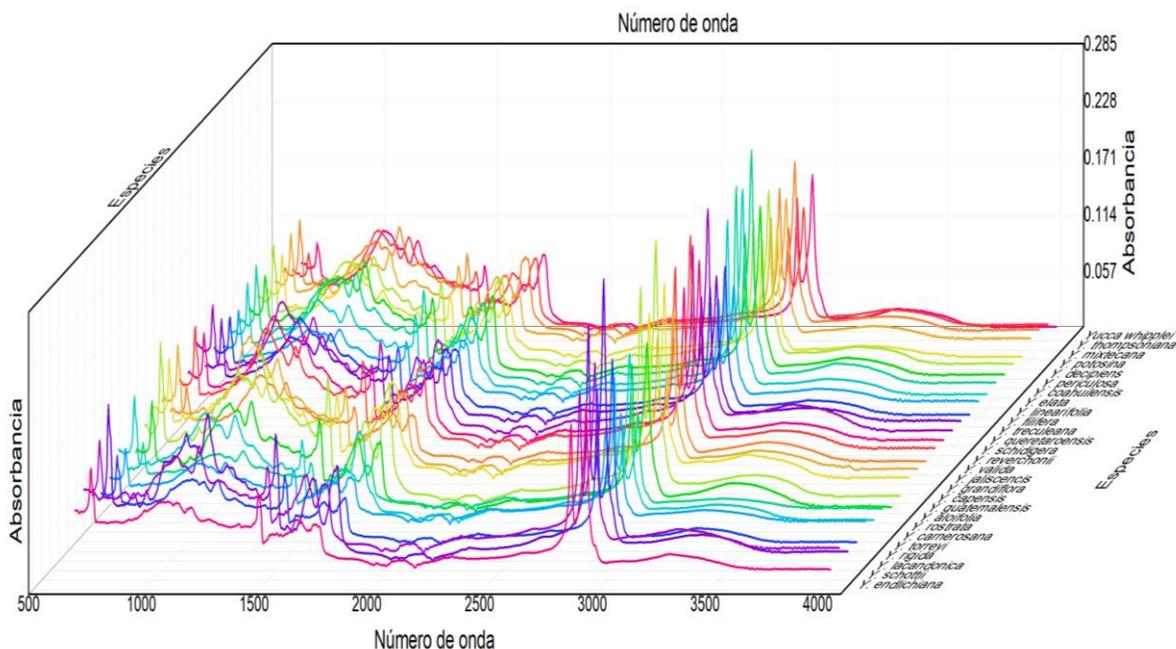


Figura 13. Espectros ATR-FTIR crudos, obtenidos para las especies estudiadas

En el Cuadro 5, se enlistan alfabéticamente las especies con el porcentaje respectivo de cada uno de los compuestos químicos obtenidos mediante el análisis por ATR-FTIR. Las especies que contienen los mayores porcentajes de cada compuesto son: de cutina y ceras, *Yucca carnerosana*; de cutina, *Y. rigida*; de compuestos fenólicos, *Y. capensis*; de cutina combinada con polisacáridos, *Y. grandiflora*; de celulosa, *Y. periculosa*; el mayor porcentaje de carbohidratos en *Y. decipiens*, *Y. guatemalensis*, *Y. lacandonica* y *Y. schottii*. Las especies con menores porcentajes son: de cutina y ceras, *Y. potosina*; de cutina y compuestos fenólicos, *Y. rigida*; de cutina combinada con polisacáridos, *Y. linearifolia*; menor porcentaje de polisacáridos, *Y. capensis*.

Cuadro 5. Proporciones de cada componente químico de la cutícula en las especies de *Yucca* estudiadas.

Especie	Porcentaje presente de cada compuesto <sup>a</sup>					
	Cutina y ceras	Cutina	Compuestos fenólicos	Cutina y polisacáridos	Polisacáridos	Celulosa
<i>Yucca aloifolia</i>	36	21	14	14	7	7
<i>Y. capensis</i>	31	12	31	6	6	12
<i>Y. carnerosana</i>	45	18	18	9	9	0
<i>Y. coahuilensis</i>	33	20	20	6	13	0
<i>Y. decipiens</i>	41	16	16	0	8	16
<i>Y. elata</i>	38	23	15	15	8	0
<i>Y. endlichiana</i>	36	21	21	14	7	0
<i>Y. filifera</i>	38	23	15	15	8	0
<i>Y. grandiflora</i>	38	15	15	23	8	0
<i>Y. guatemalensis</i>	38	15	15	15	8	8
<i>Y. jaliscensis</i>	40	20	20	10	10	0
<i>Y. lacandonica</i>	38	15	15	15	8	8
<i>Y. linearifolia</i>	45	18	27	0	9	0
<i>Y. mixteca</i>	38	15	15	15	15	0
<i>Y. periculosa</i>	38	23	15	8	8	8
<i>Y. potosina</i>	28	14	14	14	14	14
<i>Y. queretaroensis</i>	45	18	18	9	9	0
<i>Y. reverchonii</i>	38	23	23	8	8	0
<i>Y. rigida</i>	42	25	8	16	8	0
<i>Y. rostrata</i>	36	14	14	21	14	0
<i>Y. schidigera</i>	38	23	23	8	8	0
<i>Y. schottii</i>	36	16	16	16	16	0
<i>Y. thompsoniana</i>	36	21	28	7	7	0
<i>Y. torreyi</i>	36	14	28	14	7	0
<i>Y. treculeana</i>	42	17	25	8	8	0
<i>Y. valida</i>	45	18	18	9	9	0
<i>Y. whipplei</i>	38	23	23	8	8	0

<sup>a</sup> Las proporciones se expresan en porcentajes y fueron calculadas a partir de las asignaciones de los picos en los espectros de ATR-FTIR.

## VIII DISCUSIÓN

### 8.1 Ornamentación de la cutícula foliar y características de la epidermis

La CLSM es una herramienta útil para describir detalladamente la cutícula e inferir las características externas de las células epidérmicas, ya que permite hacer observaciones en dos y tres dimensiones. Gracias a la autofluorescencia de sus componentes químicos y su comportamiento de absorción y emisión molecular, se puede visualizar la distribución de los compuestos de la cutícula y su estructura macromolecular (Fernández *et al.*, 1999). Además, se han demostrado recientemente que la capacidad de la microscopía confocal para crear imágenes tridimensionales puede aportar información sobre la localización de compuestos fenólicos (Hutzler *et al.*, 1998).

En los análisis mediante CLSM se obtuvieron imágenes emitidas a dos longitudes de onda, 522 y 640 nm, causadas por la autofluorescencia de la cutícula foliar. Las cutículas de la mayoría de las plantas tienen una emisión intrínseca que se debe principalmente a la presencia del complejo biopolímero de flavonoides y ácidos cinámicos (Fernández *et al.*, 1999). Los flavonoides y ácidos cinámicos son una clase de compuestos fenólicos de bajo peso molecular que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Shirley, 1996; Tohge *et al.*, 2013). En los espectros de ATR-FTIR de las cutículas de *Yucca* se observaron cinco picos atribuidos a compuestos fenólicos (Cuadro 4), por lo tanto, gran parte de la fluorescencia observada mediante CLSM se debe a la presencia de fenoles.

Las características anatómicas de la cutícula y las células epidérmicas son variables, como se ha reportado en otros géneros de Agavaceae (Álvarez de Zayas, 1990). En este estudio 23 de las 27 especies estudiadas se distribuyen en matorrales xerófilos o selvas bajas caducifolias, con clima seco, de esas, ocho tienen la cutícula gruesa (15-25  $\mu\text{m}$ ): *Yucca endlichiana*, *Y. filifera*, *Y. guatemalensis*, *Y. queretaroensis*, *Y. reverchonii*, *Y. torreyii*, *Y. schidigera* y *Y. treculeana*. En las 15 especies restantes es delgada (5-10  $\mu\text{m}$ ) a pesar de estar

expuestas a temperaturas altas. Sin embargo, algunas de estas especies presentan características que reducen la transpiración excesiva, como los estomas hendidos y cámaras subestomáticas en *Y. guatemalensis*, *Y. elata* y *Y. treculeana* (Álvarez de Zayas, 1987). Algunas de las especies con cutícula gruesa, además desarrollan tricomas, que permiten tolerar condiciones de estrés abiótico como alta radiación solar y sequía (Sepúlveda, 2013). Las cuatro especies restantes crecen y se desarrollan en otros tipos de vegetación con clima templado o tropical y tienen la cutícula delgada, entre ellas *Y. aloifolia*, *Y. lacandonica* (bosque tropical subcaducifolio), *Y. grandiflora* (bosque de *Quercus-Juniperus*) y *Y. schottii* (bosque de encino-pino).

El relieve de la cutícula foliar más común entre las especies de *Yucca* estudiadas es irregular, está presente en 18 de ellas, enseguida el liso en nueve. La ornamentación más común es lisa y la exhiben 18 especies, en seis es estriada, escamosa en *Y. guatemalensis*, por último, *Y. linearifolia* y *Y. torreyi* son rugosas. Esto concuerda con lo que reportaron Solano *et al.* (2017) para el género *Manfreda*, donde la cutícula puede ser lisa o estriada dependiendo de la especie.

Los complejos estomáticos observados son de dos tipos, paracíticos y tetracíticos, presentes en 14 y 10 especies, respectivamente. Esto concuerda con lo observado en géneros cercanos, como *Polianthes* (Solano *et al.*, 2013) y *Manfreda* (Solano *et al.*, 2017), donde predominan los estomas paracíticos. Además, Álvarez de Zayas (1990) indicó estomas tetracíticos en *Manfreda scabra* y menciona que los complejos estomáticos tetracíticos caracterizan a los géneros *Agave*, *Baschorneria*, *Clystoyuca*, *Furcrea*, *Hesperaloe*, *Hesperoyucca*, *Samuela* y *Yucca*. En *Y. decipiens*, *Y. potosina* y *Y. valida*, no se observaron los complejos estomáticos debido que se encuentran hendidos y esto dificulta la incidencia del láser; además, en ocasiones las células epidérmicas adyacentes a los estomas se distribuyen formando cúmulos que obstruyen parcial o totalmente la cavidad estomática (Figs. 6 y 9).

Las papilas y los tricomas se presentan en pocas especies, las primeras se localizan adyacentes a los estomas en *Yucca jaliscensis* (Fig. 3) y *Y. schottii*; en *Y.*

*queretaroensis* se observan uniformemente distribuidas en toda la lámina foliar (Fig. 7) y en *Y. whipplei* sobre los valles de la misma. Por otro lado, *Y. torreyi* presenta tricomas de diferentes tamaños (Fig. 11); Verhoek-Williams (1998) y Solano *et al.* (2013; 2017) señalaron que los tricomas son escasos en géneros de la familia Agavaceae y que este carácter es útil en la delimitación de especies.

En general, los contornos internos de la cutícula, correspondientes a la pared de las células epidérmicas, son poligonales con paredes anticlinales rectas, ocho especies presentan paredes anticlinales ligeramente sinuosas y tres, *Yucca decipiens*, *Y. guatemalensis* y *Y. periculosa*, son hexagonales con paredes anticlinales rectas (Cuadro 3).

Matuda y Piña (1980) dividieron a las especies mexicanas de *Yucca* en cuatro secciones y cinco series (Cuadro 1); en general las especies correspondientes a estas categorías subgenéricas comparten características similares de la cutícula en la epidermis, aunque algunas presentan caracteres que las distinguen. *Yucca coahuilensis* (sección Chaenocarpa, serie Rupicolae), es similar a *Y. decipiens*, *Y. periculosa*, *Y. potosina* (sección Sarcocarpa, serie Treculeanae) y a *Y. grandiflora* (sección Sarcocarpa, serie Baccatae). Del mismo modo, *Y. carnerosana* (sección Sarcocarpa, serie Faxonianae) comparte características con *Y. reverchonii*, *Y. rigida* y *Y. rostrata* pertenecientes a la sección Chaenocarpa, serie Rupicolae. Asimismo, *Yucca aloifolia*, *Y. filifera*, *Y. queretaroensis* y *Y. treculeana* (sección Sarcocarpa, serie Treculeanae), *Y. endlichiana* (sección Sarcocarpa, serie Baccatae) son similares a *Y. elata* (sección Chaenocarpa, serie Elatae). Por otro lado, *Y. whipplei* única especie de la sección *Hesperoyucca* (*sensu* Matuda y Piña, 1980), no comparte características cuticulares y epidérmicas con ninguna otra especie. Algunos autores como Bogler y Simpson (1995) y Clary (1997) señalaron, con base en caracteres moleculares, que es un clado independiente de otras agaváceas y propusieron que podría ser tratado como el género *Hesperoyucca* creado por Baker (1892), al elevar la sección *Hesperoyucca* de Engelmann (1871). Los resultados aquí obtenidos apoyan esta propuesta. *Yucca lacandonica* y *Y. capensis* son similares entre sí y pertenecen a la misma sección Sarcocarpa, serie Treculeanae.

## 8.2 Composición química de la cutícula

La espectrometría mediante ATR-FTIR es una técnica accesible, rápida, precisa y no destructiva que ha demostrado tener importantes ventajas en el análisis químico y estructural de la cutícula de las plantas (Heredia-Guerrero *et al.*, 2014). Ésta técnica permite la identificación de los grupos funcionales de un compuesto, cuando una determinada molécula absorbe radiación infrarroja, la vibración intramolecular, con frecuencia iguala a la radiación, enseguida aumenta en intensidad y genera señales con frecuencias que corresponden a la vibración de un enlace específico (CCIQS, 2019). La atenuación total de refracción (ATR) es una técnica de muestreo utilizada en espectrometría FTIR, la cual se produce cuando una radiación infrarroja entra en un cristal de atenuación total de refracción. El cristal está diseñado para permitir una reflexión interna total que crea una onda evanescente sobre la superficie del cristal. Esta onda se extiende a la muestra que se mantiene en contacto íntimo con el cristal, y de esta manera se registra el espectro infrarrojo de la muestra (CCIQS, 2019).

Los porcentajes más altos de los compuestos presentados en el Cuadro 4, corresponden a la combinación entre cutina y ceras, mayor al 28 % en todas las especies analizadas, estos son los componentes mayoritarios de la cutícula (Heredia-Guerrero, *et al.*, 2014). También se observaron picos específicos de cutina, cuyas proporciones varían entre 12 a 23 % en función de la especie. Fernández *et al.* (2011) registraron que la composición química de las cutículas aisladas de *Prunus persica* correspondió a 27 % de ceras, 20 % de cutina y 53 % de residuo insoluble que consiste en una mezcla de polisacáridos y cutan. En general, los picos más notorios corresponden a los grupos alifáticos de la cutina y las ceras, estos son dos picos, en 2848 y 2915  $\text{cm}^{-1}$ , ambos presentes en todas las especies. Los otros picos que estuvieron presentes en todas las especies y que corresponden a la cutina y ceras fueron, uno atribuido al estiramiento de los grupos éster (C-O-O; en 1158-1164  $\text{cm}^{-1}$ ) y algunos asignados a las vibraciones de los  $\text{CH}_2$  (vibración de balanceo, en 718  $\text{cm}^{-1}$ ; vibración de aleteo, 1372  $\text{cm}^{-1}$  y de torsión, en 1376  $\text{cm}^{-1}$ ; vibración de tijereteo, en 1459-1463  $\text{cm}^{-1}$ ). Los espectros de la cutina

aquí observados son acordes a los espectros descritos en la literatura, mismos que se caracterizan por su estructura química: un poliéster formado por ácidos grasos polihidroxilados (Heredia-Guerrero, *et al.*, 2014).

Los compuestos fenólicos estuvieron presentes en todas las especies, sin embargo, la intensidad de los picos dependió de la especie. El porcentaje de este compuesto va de 8 a 28 %. Los picos principales son aquellos asignados a las vibraciones de tensión de los ácidos fenólicos, en 1624 -1637  $\text{cm}^{-1}$ ; así como los picos alrededor de 829 y 1654  $\text{cm}^{-1}$ , asignados a las vibraciones de tensión fuera de plano de los C-H en los anillos aromáticos. Asimismo, dos picos, en 1510-1523 y 1543  $\text{cm}^{-1}$ , asignados a las vibraciones de tensión de los C-C y C=C de los anillos aromáticos. Estos dos últimos picos están presentes únicamente en 4 y 3 especies, respectivamente; sólo *Yucca endlichiana* y *Y. thompsoniana* presentan espectros con ambos picos.

En cuanto a los polisacáridos, se obtuvieron picos específicos de polisacáridos, que van de 6 a 18 %, y polisacáridos combinados con cutina, que van de 0 a 21 % entre las distintas especies. Se observó un pico importante, atribuido a la vibración de tensión de los C-O-C en los enlaces glucosídicos (1054  $\text{cm}^{-1}$ -1064  $\text{cm}^{-1}$ ) y cuatro picos combinados con cutina atribuidos a los grupos hidroxilo  $\delta(\text{OH})$  y  $\nu(\text{C-O})$ . Heredia-Guerrero *et al.* (2014) mencionan que aún hace falta una asignación completa de los espectros correspondientes a los polisacáridos de la cutícula vegetal. Normalmente, para las asignaciones de absorciones de polisacáridos, se han realizado comparaciones con picos típicos de celulosa pura o polisacáridos de pared celular. Por otro lado, hubo un par de picos (889-909  $\text{cm}^{-1}$  y 1315-1319  $\text{cm}^{-1}$ ) atribuidos a restos de celulosa.

## IX CONCLUSIONES

El análisis por Microscopia Confocal Laser de Barrido ayudó en la delimitación de especies y la conformación de grupos. Las diferencias anatómicas que se observaron dentro de las especies y que pueden ser consideradas importantes taxonómicamente son: el complejo estomático de dos tipos, paracítico, presente en 14 especies y tetracítico en 11 especies; el relieve liso o irregular, siendo el irregular el más común en 19 especies; la ornamentación de la cutícula dispuesta en cuatro formas diferentes, siendo la lisa la más común en 18 especies; la presencia de papilas en *Yucca jaliscensis*, *Y. schottii*, *Y. queretaroensis* y *Y. whipplei*. Y la presencia de tricomas en *Y. torreyi*. Los contornos internos de la cutícula, correspondientes a la pared de las células epidérmicas más comunes son poligonales con paredes anticlinales rectas en 10 especies, y los menos comunes son hexagonales con paredes anticlinales rectas, en tres especies.

Por otro lado, la información obtenida por ATR-FTIR nos permitió conocer aspectos específicos sobre la composición química de la cutícula foliar del género *Yucca*, siendo la cutina y las ceras los componentes mayoritarios. Los componentes químicos dentro de la cutícula de las especies no mostraron una heterogeneidad marcada y con la información disponible se pudo detectar diferencias en la altura y amplitud de los picos asignados a diferentes componentes químicos de la cutícula.

## X BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez de Zayas A. (1987). *Sistemática y Filogenia de la familia Agavaceae* Endlincher. Tesis doctoral. Facultad de Biología, Jardín Botánico Nacional. Universidad de la Habana. La Habana
- Álvarez de Zayas, A. (1985). El complejo estomático en la familia Agavaceae I. Desarrollo. *Feddes Repert*, 96, 693–704.
- Álvarez de Zayas, A. (1990). El complejo estomático en la familia Agavaceae II. Epidermis adulta. *Feddes Repert*, 101, 113-114.
- Artabe A. y Archangelsky S. (1992). Las cicadales Mesodescolea Archangelsky Eemend. Archangelsky y Petriella 1971 (Cretacico) y Stangeria Moore (actual) *Rev. Asoc. Paleontol. Argent.* 29, 2, 115-123
- Bargel, Koch, Cerman, Neinhuis (2006). Structure–function relationships of the plant cuticle and cuticular waxes a smart material. *Funct. Plant Biol.* 33, 893-910.
- Barnes, J., Percy, N. Paul, P., Jones, C., McLaughlin, P., Mullineaux y Creissen, A., (1996). The influence of UV-radiation on the physiochemical nature of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaf surface. *J. Exp. Bot.* 47, 99-109.
- Bessire M, Chassot, C., Jacquat, A., Humphry, M., Borel, S., MacDonaldComber, J., Pierre, J y Nawrath C. (2007). A permeable cuticle in Arabidopsis leads to a strong resistance to *Botrytis cinerea*. *EMBO J.* 26, 2158-2168.
- Bogler, D. J., y Simpson, B. B. (1995). A chloroplast DNA study of the Agavaceae. *Syst. Bot.* 20, 191-205.
- Bremer, B., Bremer, K., Chase, M., Fay, M., Reveal, L., Soltis, E., Soltis, P., Stevens, P., Anderberg, A. y Moore M. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* 161, 2, 105–121.

- Buda, G. J., Isaacson, T., Matas, A., Paolillo, D. y Rose K. (2009). Three-dimensional imaging of plant cuticle architecture using confocal scanning laser microscopy. *Plant J.* 60, 378-385.
- Carpano, S., Castro, M. y Spegazzini E. (2008). Caracterización morfoanatómica comparativa entre *Aloe vera* (L.) Burm. F., *Aloe arborescens* Mill., *Aloe saponaria* Haw. y *Aloe ciliaris* Haw. (Aloeaceae) *Rev. Bras. Farmacogn.* 19, 269-275.
- Casado, C. y Heredia, A. (2001). Ultrastructure of the cuticle during growth of the grape berry (*Vitis vinifera* L.). *Physiol. Plant.* 111, 220-224.
- Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable (CCIQS). (2019). Responsable: M. en C. Lizbeth Triana Cruz. Instituto de Química, UNAM. Recuperado el 30 diciembre, 2019 en: <http://www.cciqs.unam.mx/>
- Chase, M., Christenhusz, M., Fay, J., Byng, W., Judd, S., Soltis, E., Mabberley, A. N. Sennikov, P., Soltis y Stevens, P., (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV, *Bot. J. Linn. Soc.* 181, 1, 1-20.
- Clary, K. H. (1997). Phylogeny, character evolution, and biogeography of *Yucca* L. (Agavaceae) as inferred from plant morphology and sequences of the internal transcribed spacer (ITS) region of the nuclear ribosomal DNA. Austin: The University of Texas.
- Commenil, P., Brunet, L. y Audran, J. (1997). The development of the grape berry cuticle in relation to susceptibility to bunch rot disease. *J. Exp. Bot.* 48, 1599-1607.
- da Luz, B. R. (2006). Attenuated total reflectance spectroscopy of plant leaves: A tool for ecological and botanical studies. *New Phytol.* 172, 305–318
- Domínguez, E., España, G., López-Casado, Cuartero, Heredia, A. (2009). Biomechanics of isolated tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit cuticles during ripening: the role of flavonoids. *Funct. Plant Biol.* 36, 613-620.

- Eguiarte, E. (1995). Hutchinson (Agavales) vs. Huber y Dahlgren (Asparagales): análisis moleculares sobre la filogenia y evolución de la familia Agavaceae *sensu* Hutchinson dentro de las monocotiledóneas. *Bol. Soc. Bot. México*. 56, 54-56.
- Espejo, A. y López-Ferrari, A. R. (1992). Las Monocotiledóneas mexicanas, una sinopsis florística. 1. Lista de referencia. Parte 1. Agavaceae, Alismaceae, Alliaceae, Alstroemeriaceae y Amaryllidaceae. *Consejo Nacional de la Flora de México, A.C. y Universidad Autónoma Metropolitana*. México, D.F. 38-43.
- Falczuk, V. Rosati V. y Cabido M. (1996) Caracteres epidérmicos foliares de valor diagnóstico para identificar especies vegetales de Pampa de Achala (Córdoba, Argentina) *Agriscientia*. 13, 41-58
- Fernández, S., Osorio, S., Heredia, A. (1999). Monitoring and visualising plant cuticles by confocal laser scanning microscopy. *Plant Physiol. Biochem.* 37, 10, 789-794.
- Fernández, V., Khayet, M., Montero-Pardo, Heredia-Guerrero, Liakopoulos, G., Karabourniotis, G., del Río, V., Dominguez, E., Tacchini, I., Nerín, C., Val J. y Heredia, A. (2011). New Insights into the Properties of Pubescent Surfaces: Peach Fruit as a Model. *Plant. physiol.* 156, 4.
- Foo, L. (1981). Proanthocyanidins: Gross chemical structures by infrared spectra. *Phytochem.* 20,6, 1897
- García-Mendoza, A. (1998). Una nueva especie de *Yucca* (Agavaceae) de Oaxaca y Puebla, México. *Acta Bot. Mex.* 42, 1-5.
- García-Mendoza, A. J. (2011). Agavaceae. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 88. Jardín Botánico Instituto de Biología, UNAM. México.
- García-Mendoza, A. J., Ordóñez, M. de J., y Briones-Salas, M. (2004). Biodiversidad de Oaxaca. *Redacta*. México. 605 pp.
- García-Mendoza, A. y Galván, R. (1995). Riqueza de las familias Agavaceae y Nolinaceae en México. *Bol. Soc. Bot. México*. 56, 7-24.

- Granados-Sánchez, D. y López-Ríos, F. (1998). *Yucca* “Izote” del desierto. *Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 4, 1, 179-192.
- Guillot, O. D. y Van Der Meer, P. (2008). El género *Yucca* L. en España. Monografías de la revista *Bouteloua*, 2. Valencia. 124 pp.
- Guzmán-Delgado, Garca J, Cabral V, Gil L y Fernández V. (2016). The presence of cutan limits the interpretation of cuticular chemistry and structure: *Ficus elastica* leaf as an example. *Physiol. Plant*. 157, 205-220
- Heredia, A. (2003). Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochim. Biophys. Acta*. 1620. 1–7.
- Heredia-Guerrero, J., Benítez, J.J., Domínguez, E., Bayer, I., Cingolani, R., Athanassiou, A. y Heredia, A. (2014). Infrared and Raman spectroscopic features of plant cuticles: a review. *Front. Plant Sci*. 5, 14.
- Hill, C. y Dilcher D. (1990). Scanning electron microscopy of the internal ultrastructure of plant cuticles. Scanning electron microscopy in taxonomy and functional morphology. *Systematics Association Special*. 41, 95–124.
- Holloway J. (1994). Plant cuticles: physicochemical characteristics and biosynthesis. *Air pollution and the leaf cuticle*. 1–13.
- Hutzler P., Fischbach R., Heller W., Jungblut T.P., Reuber S., Schmitz R., Veit M., Weissenböck G., Schnitzler J.P. (1998). Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy, *J. Exp. Bot*. 49, 953–965
- Jeffree, C. (1996). Structure and ontogeny of plant cuticles. In: *Plant Cuticles: An Integrated Functional Approach*. G. Kerstiens (ed). Oxford: *Bios Scientific Publishers*. pp: 33-82.
- Jeffree, E. (2006). The fine structure of the plant cuticle. *Biology of the Plant Cuticle*. Julius-vonSachs-Institut, für Biowissenschaften Universität Würzburg, Germany. 11-110.

- Jetter, R. y Schäffer, S. (2001). Chemical composition of the *Prunus laurocerasus* leaf surface dynamic changes of the epicuticular wax film during leaf development. *Plant Physiol.* 126, 1725-1737.
- Kolattukudy, P. (1996). Biosynthetic pathways of cutin and waxes, and their sensitivity to environmental stresses. In: Plant Cuticles. G. Kerstiens (ed). Oxford: *BIOS Scientific Publishers*. 83-108.
- Knoche S. Peschel, M., Hinz, M. y Bukovac (2001) Studies on water transport through the sweet cherry fruit surface: II. Conductance of the cuticle in relation to fruit development. *Planta* 213, 927- 936.
- Kunst L, Samuels, L. (2003). Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Prog. Lipid Res.* 42, 51-80
- Leide, J., Hildebrandt, U., Vogg, G y Riederer, M. (2011). The positional sterile (ps) mutation affects cuticular transpiration and wax biosynthesis of tomato fruits. *J. Plant Physiol.* 168, 871-877
- Lupoi, J., Singh, S., Parthasarathi, R., Simmons, B. A. y Henry, R. J. (2015). Recent innovations in analytical methods for the qualitative and quantitative assessment of lignin. *Renewable and Sustainable Energy Review*, 49, 871-906
- Matuda, E. y Piña, I. (1980). *Las plantas mexicanas del género Yucca. Colección miscelánea del estado de México*. Toluca. 145 pp.
- McCledon J. (1908). On xerophytic adaptations of leaf structure in *Yucca*, *Agave* and *Nolina*. *American Naturalis.* 42, 306-308.
- McVaugh, R. (1989). Flora Novo-Galiciana. Volume 15. Bromeliaceae to Dioscoreaceae. The University of Michigan Herbarium. *Ann Arbor*. 398 pp.
- Müller, C. (1909). Beiträge zur vergleichenden Anatomie der Blätter der Gattung *Agave* und ihrer Verwertung für die Unterscheidung der Arten. *Bot. Ziet.* 67, 93-139.

- Müller, C. (2006). Plant–insect interactions on cuticular surfaces: In: *Biology of the Plant Cuticle*. Julius-vonSachs-Institut, für Biowissenschaften Universität Würzburg, Germany. 398-417.
- Nawrath, C. (2006). Unraveling the complex network of cuticular structure and function. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 9, 281-287.
- Nip, M., Tegelaar, E., Leeuw, J., Scheneck, P. y Holloway, P. (1986). A new non-saponifiable highly aliphatic and resistant biopolymer in plant cuticles. 73, 579-585.
- Orgell, W. H. (1955). The isolation of plant cuticle whit pectic enzymes. *Plant Physiol.* 30, 78-80
- Pellmyr, O., Sagreves, K., Althoff, D., Balcázar-Lara, M. y Leebens-Mack, J. (2007). The phylogeny of yuccas. *Mol. Phylogenet. Evol.* 43, 493-501.
- Pighin J., Zheng, H., Balakshin, L., Goodman, I., Western, T., Jetter, R., Kunst, L. y Samuels, L. (2004). Plant cuticular lipid export requires an ABC transporter. *Science* 306,702-704.
- Pinar D., Sertac O. y Feride S. (2015). Phylogeny of cultivated and wild wheat species using ATR-FTIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 135, 757-76
- Prada C. y Rolleri C. (2003). Caracteres diagnósticos foliares en táxones ibéricos de *Isoetes* L. (Isoetaceae, pteridophyta) *Anales del Jardín Botánico de Madrid.* 60, 2, 371-386.
- Reina-Pinto, J. y Yephremov, A. (2009). Surface lipids and plant defenses. *Plant Physiol. Biochem.* 47, 540-549
- Reyes-Rivera J., Terrazas T. (2017). Lignin Analysis by HPLC and FTIR. In: de Lucas M., Etchhells J. (eds) *Xylem. Methods in Molecular Biology*, vol. 1544. Humana Press, New York, NY

- Reyes-Rivera. J. (2007). Anatomía de la hoja del género *Manfreda* Salisb. (Agavaceae). Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México.
- Ridaura, S. V. (1980). *Yucca*. 2da. Parte. *Desierto y Ciencia* 2, 4-9.
- Riederer, M. (2006). Introduction: biology of the plant cuticle: In: *Biology of the Plant Cuticle*. M Riederer, C Müller (eds). Julius-vonSachs-Institut, für Biowissenschaften Universität Würzburg, Germany. 1-8.
- Rocha, M., Good-Ávila, S., Molina-Freaner, F., Arita, H., Castillo, A., García-Mendoza, A., SilvaMontellano, A., Gaut, B., Souza, V. y Eguiarte, E. (2006). Pollination Biology and Adaptive Radiation of Agavaceae, with Special Emphasis on the Genus *Agave*. *Aliso: A J. Syst. Evol. Bot.* 22, 1, 329-244.
- Rogiers, S., Hatfield, J., Gunta, V., White, R. y Keller, M. (2004). Grapeberry cv. Shiraz epicuticular wax and transpiration during ripening and preharvest weight loss. *Amer. J. Enol. Vitic.* 55, 121-127.
- Roux-Lopez, J. (1964). Estudio morfológico de la epidermis de algunas xerofitas mexicanas. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias UNAM. México, D.F.
- Samuels L, Kunst, L. y Jetter, R. (2008). Sealing plant surfaces: cuticular wax formation by epidermal cells. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 683-707.
- Schmidt, H. y Schönherr, J. (1982). Development of plant cuticles: occurrence and role of non-ester bonds in cutin of *Clivia miniata* Reg. leaves. *Planta* 156, 4,380-4
- Schönherr, J., Bukovac, M.J. (1973). Ion exchange properties of isolated tomato fruit cuticular membrane: Exchange capacity, nature of fixed charges and cation selectivity. *Planta*. 109, 73-93.
- Sepúlveda C., (2013). Evaluación de la función de los tricomas de *Astrophytum myriostigma* (Cactaceae) Tesis. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica

- Shirley B.W. (1996). Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. *Trend Plans Sci.* 1, 281-377.
- Solano, E., Terrazas, T. y Gónzales-Becerril. (2013). Comparative anatomy of the stem, leaf and inflorescence basal axis of *Polianthes L.* (Asparagaceae, Agavoideae) species. *Feddes. Repert.* 124, 105-115.
- Solano, E., Terrazas, T., Reyes-Rivera, J. y Serrano-Casas, H. (2017). Anatomía comparativa de raíz, tallo, hoja y base del pedúnculo de *Manfreda* (Asparagaceae: Agavoideae). *Rev. Mex. Biodivers.* 88, 899-911.
- Stark, R. y Tian, S. (2006). The cutin biopolymer matrix: In: *Biology of the Plant Cuticle.* Julius-von-SachsInstitut, für Biowissenschaften Universität Würzburg, Germany. pp: 126-141.
- Strasburger, E., Noll F., Scheneck H, Schimper A. (1971) *Lehrbuch der Botanik für Hochschulen.* 30 edición. Stuttgart.
- Tafolla-Arellano, C., González-León, A., Tiznado-Hernández, M., Zacarías, L. y Báez-Sañudo, R. (2013). Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. *Rev. Fitotec. Mex.* 36, 1,3-12.
- Tohge, T., Watanabe, M., Hoefgen, R., & Fernie, A. R. (2013). The evolution of phenylpropanoid metabolism in the green lineage. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 48(2), 123–152.
- Urban, M. A., Barclay, S. R., Sivaguru, M. y Punyasena, S. W. (2016). Cuticle and Subsurface Ornamentation of Intact Plant Leaf Epidermis under Confocal and Superresolution Microscopy. *Microscopy Research and Technique.* 12 pp.
- Verardo, G., Pagani, E., Geatti, P. y Martinuzzi, P. (2003). A thorough study of the surface wax of apple fruits. *Analyt. Bioanaly. Chem.* 376, 659-667
- Veraverbeke E., Verboven, P. y Nicolaï, B. (2003). Prediction of moisture loss across the cuticle of apple (*Malus sylvestri* subsp. *Mitis* (Wallr)) during

storage. Part 1. Model development and determination of diffusion coefficients. *Postharv. Biol. Technol.* 30,75-88.

Verhoek-Williams, S. (1998). Agavaceae. The families and genera of vascular plants monocotyledons Liliales (except Orchidaceae). Kubitski (ed.). Springer Verlag Berlin. 3, 60-70

Villena, J., Domínguez, E., Stewart, D. (1999). Characterization and biosynthesis of non-degradable polymers in plant cuticles. *Planta* 208, 181–187.

Wagner P, R Fürstner, W Barthlott, C Neinhuis. (2003). Quantitative assessment to the structural basis of water repellency in natural and technical surfaces. *J. Exp. Bot.* 54,1-9.

Wattendorff, J., y Holloway, P. (1984). Periclinal penetration of potassium permanganate into mature cuticular membranes of Agave and Clivia leaves: new implications for plant cuticle development. *Planta.* 161,1-11.

Yamada, Y., Wittwer, S. H., Bukovac, M. J. (1964). Penetration of ions through isolated cuticles. *Plant Physiol. Plant physiol.* 39, 28-32.

Zobel, A.M. y March, R.E. (1993). Autofluorescence reveals different histological localizations of furanocoumarins in fruits of some umbelliferae y leguminosae. *Ann. Bot.* 71, 251-255.