



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

**Composición química y ornamentación de la cutícula en 16
especies de *Yucca* (Asparagaceae, Agavoideae) con
distribución septentrional**

T E S I S
que para obtener el título de
B I Ó L O G O
p r e s e n t a
CRISTIAN ARTURO HERNÁNDEZ HURTADO

Director de tesis:

Dr. Jorge Reyes Rivera

Asesores:

Dr. Jorge Alberto Gutiérrez Gallegos

M. en C. Héctor Serrano Casas



CIUDAD DE MÉXICO

2023



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.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

A la **DGAPA** por el apoyo al proyecto **PAPIIT IN214318**.

Agradezco a la máxima casa de estudios, la **Universidad Nacional Autónoma de México** por permitirme realizar mi formación profesional y a la **Facultad de Estudios Superiores Zaragoza** por brindarme lo necesario para concluir mis estudios de licenciatura en la carrera de biología.

Al **Herbario Desert Botanical Garden** en Phoenix, Arizona, por ceder parte de su material vegetal al **Herbario FEZA**, lo que facilitó el desarrollo de este y otros trabajos.

Al laboratorio de fitoquímica, del **COLPOS Montecillo (SAGARPA)**, en particular al **Dr. Marcos Soto Hernández** y al **Mtro. Rubén San Miguel Chávez** por brindarnos el espacio, el equipo y las facilidades necesarias para realizar el análisis ATR-FTIR.

Al **Laboratorio Múltiple de la UMIEZ (no. 7, 2° piso)**, en particular a la **Dra. Sandra Salazar Aguilar**, por el apoyo técnico, la atención brindada y por recibirnos con toda amabilidad y profesionalismo.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Al **Dr. Eloy Solano Camacho†** por haberme aceptado como parte de su unidad de investigación. Gracias por todos los valores, las experiencias, el conocimiento y las risas. Por haber asesorado este estudio, aunque no pudo verlo concluido ni tuvimos oportunidad de despedirnos, espero que donde esté, se sienta orgulloso del crecimiento y los logros de todos sus estudiantes y compañeros.

A mi tutor, el **Dr. Jorge Reyes Rivera**, por incorporarme a su línea de investigación y por aceptar dirigir este trabajo, por su valiosa dedicación personal y académica durante el proceso. Por sus enseñanzas y su compromiso de principio a fin en el proyecto. Agradezco su apoyo y paciencia, los años de trabajo dedicados y los conocimientos en las técnicas microscópicas y bioquímicas que adquirí bajo su dirección.

A la **Mtra. María Magdalena Ayala Hernández**, por la recolecta e identificación del material vegetal que hizo posible desarrollar esta investigación; por su profundo conocimiento sobre las yucas y la sistemática vegetal; gracias por supervisar constantemente este proyecto y por su disponibilidad y apoyo para continuar trabajando en futuras publicaciones.

A **Karen Clary**, al curador del herbario **Andrew Salywon** y al curador de colecciones vivientes **Raúl Puente**, del equipo del Desert Botanical Garden, por la recolecta, identificación y resguardo de los ejemplares que proveyeron las muestras foliares usadas en el laboratorio.

A los profesores **Dr. Jorge Alberto Gutiérrez Gallegos**, **Mtro. Héctor Serrano Casas**, **Mtro. Ramiro Ríos Gómez** y **Mtro. Faustino López Barrera** por su confianza y tutoría constante, por sus asesorías y consejos. De la misma forma agradezco a todos los profesores y profesoras de la **Unidad de Investigación en Sistemática Vegetal y Suelo** (Lab 8, 2° piso de la UMIEZ).

A los profesores de botánica **Mtra. Sonia Rojas Chávez**, **Dr. Carlos Castillejos Cruz** y **Dra. Ana María Soriano Martínez**, quienes me inculcaron la pasión por este campo de estudio y me brindaron los conocimientos necesarios para incursionar en la sistemática vegetal.

DEDICATORIAS

A la memoria de todas aquellas personalidades de la botánica y la ciencia en México que ya no están con nosotros, en particular al **Dr. Eloy Solano Camacho†**, **Dr. Jerzy Rzedowski Rotter†**, **Dra. Graciela Calderón Díaz Barriga†** y **Dra. Helia Bravo Hollist†**, por sentar las bases de la sistemática vegetal y la florística en nuestro país.

A mis compañeros de la Unidad, **Kevin, Itzel, Luis y Rafa**, que siempre tuvieron disposición para resolver mis dudas e inquietudes. A **Chayan, Erick, Eduardo, Sebastián y Viry**, por el tiempo que compartimos en el laboratorio y el herbario.

Dedico este trabajo especialmente a mis padres **José Guadalupe Hernández López** y **Virginia Hurtado González** que, con mucho amor y esfuerzo, hicieron posible. Son la razón de haber llegado hasta aquí y mi motivación para continuar, gracias a su gran cariño y apoyo.

A **Dany** que, con mucho amor y empatía, ha sido mi compañera y mi inspiración, porque a su lado siempre son vacaciones.

A **Zai** por estar bien chistosa, por ser mi amiga desde el primer día de clases hasta 7 años después y seguramente hasta ser viejitos, sé que vas a ser una gran bióloga.

A **Mari**, por compartir el flow, los panditas, la confianza y la amistad 4e, por poder ser los mismos sin importar el tiempo y espacio que compartimos.

A **Andy L**, la mejor genetista que siempre sale a jugar en sus ratos muertos.

A **Robert, Brandon, Andy A, Carlos, Aramiz, Sören** y a todas mis antigüedades del tronco, por las experiencias, las prácticas de campo, la alquimia, las fiestas y el perreo.

CONTENIDO

I	RESUMEN	1
II	INTRODUCCIÓN.....	2
III	ANTECEDENTES	3
	3.1 Descripción e historia taxonómica del género <i>Yucca</i> L.....	3
	3.2 Los caracteres epidérmicos en la sistemática vegetal	5
	3.3 Importancia biológica y taxonómica de la cutícula	7
	3.4 Estudios microscópicos de la cutícula.....	9
	3.5 Composición de la cutícula y sus aplicaciones en la sistemática	11
	3.6 Contexto evolutivo y filogenético de la biosíntesis de la cutícula.....	14
IV	JUSTIFICACIÓN	15
V	OBJETIVO.....	16
VI	HIPÓTESIS.....	16
VII	MÉTODO.....	16
	7.1 Origen y procesamiento del material vegetal	16
	7.2 Aislamiento de la cutícula.....	16
	7.3 Análisis estructural por CLSM.....	17
	7.4 Análisis químico por ATR-FTIR	19
VIII	RESULTADOS.....	20
	8.1 Morfología de las cutículas foliares de <i>Yucca</i> : CLSM	20
	8.1.1 <i>Yucca baccata</i>	22
	8.1.2 <i>Yucca baileyi</i>	23
	8.1.3 <i>Yucca brevifolia</i>	23
	8.1.4 <i>Yucca campestris</i>	23
	8.1.5 <i>Yucca constricta</i>	23
	8.1.6 <i>Yucca declinata</i>	25
	8.1.7 <i>Yucca filamentosa</i>	25
	8.1.8 <i>Yucca gloriosa</i>	25
	8.1.9 <i>Yucca harrimaniae</i>	25
	8.1.10 <i>Yucca kanabensis</i>	27
	8.1.11 <i>Yucca madrensis</i>	27
	8.1.12 <i>Yucca nana</i>	27

8.1.13 <i>Yucca necopina</i>	27
8.1.14 <i>Yucca pallida</i>	29
8.1.15 <i>Yucca rupicola</i>	29
8.1.16 <i>Yucca verdiensis</i>	29
8.2 Composición química de las cutículas foliares: ATR-FTIR	31
IX DISCUSIÓN	36
9.1 Autofluorescencia de la cutícula y su relación con el análisis estructural	36
9.2 Composición química de la cutícula	39
9.3 La cutícula foliar en relación con la sistemática de <i>Yucca</i>	40
X CONCLUSIONES	43
XI REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 1. Lista de especies de <i>Yucca</i> incluidas en el análisis estructural y químico de la cutícula foliar y de características externas de la epidermis.....	18
Cuadro 2. Características morfológicas en la cutícula foliar de las especies de <i>Yucca</i> estudiadas.....	21
Cuadro 3. Asignación de los picos principales en los espectros ATR-FTIR de la cutícula.....	33
Cuadro 4. Cuadro 4. Abundancias relativas de cada componente químico de la cutícula.....	34

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplares de <i>Yucca filifera</i> que conforman el estrato arbóreo en un matorral xerófilo. Localidad de La Mesa, Tecozautla, Hidalgo.....	3
Figura 2. Cutículas de <i>Yucca</i> con características particulares, vistas de perfil y paradermales de las caras exterior e interior.....	24
Figura 3. Cutículas de <i>Yucca</i> con presencia de papilas.....	26
Figura 4. Cutículas de <i>Yucca</i> con estomas paracíticos.....	28
Figura 5. Cutículas de <i>Yucca</i> con diferencias morfológicas en las superficies adaxial y abaxial.....	30
Figura 6. Espectros ATR-FTIR crudos obtenidos a partir de las cutículas en ambas superficies foliares de <i>Yucca</i>	32
Figura 7. Análisis de agrupamiento jerárquico (HCA) con base en las similitudes calculadas a partir de los espectros IR de la cutícula adaxial	35
Figura 8. Gráfica biplot obtenida del PCA con base en las abundancias relativas de cada pico asignado en los espectros IR de la cutícula adaxial	36

I RESUMEN

El género *Yucca* está conformado por unas 45 especies nativas de Norte y Centroamérica, que se caracterizan por sus hojas lanceoladas e inflorescencias racemosas con colores blanquecinos. Se han propuesto tres secciones de *Yucca*: *Chaenocarpa*, *Sarcocarpa* y *Clistocarpa*, sin embargo, la taxonomía del género es controversial y no se cuenta con estudios suficientes que analicen el valor sistemático de la anatomía y la composición química de la cutícula. En el presente trabajo se estudió la ornamentación de la cutícula foliar, los estomas y los derivados epidérmicos con Microscopía Confocal Láser de Barrido (CLSM) y su composición química por medio de Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier y Reflectancia Total Atenuada (ATR-FTIR) en 16 especies septentrionales de *Yucca*.

La mayoría de las cutículas son delgadas y poseen relieve irregular, se observaron estomas paracíticos y tetracíticos, la mitad de las especies presentan apéndices epidérmicos. En la ornamentación cuticular se presenta la mayor variación, las especies presentan cutícula estriada, rugosa, grumosa y lisa. De acuerdo con el análisis ATR-FTIR, el compuesto predominante de la cutícula es la cutina, mayormente asociada a ceras. También se observó una variedad de picos asignados a compuestos fenólicos, así como fracciones menores de polisacáridos; estos compuestos favorecen la autofluorescencia de la cutícula y facilitan los análisis microscópicos y espectroscópicos.

Algunas características que pueden contribuir en la delimitación de especies son: los tricomas en *Y. baccata*, los estomas hundidos en *Y. brevifolia*, las verrugas cuticulares en *Y. madrensis*, el grosor de la cutícula menor a 5 μm en *Y. necopina* y el relieve liso en *Y. verdiensis*. Por otro lado, aquellos caracteres que permiten agrupar a las especies son la presencia de papilas y la ornamentación rugosa para la sección *Sarcocarpa* y la composición química en la serie *Rupicolae*. Además, se discutió la nomenclatura de algunos taxones en la serie *Elatae*. Los caracteres anatómicos y bioquímicos de la cutícula también pueden estar relacionados con la ecología y la distribución de las especies.

II INTRODUCCIÓN

La cutícula vegetal es una capa extracelular que se localiza en la mayoría de los tejidos epidérmicos de las plantas (Heredia, 2003). Está compuesta principalmente por un poliéster insoluble llamado cutina y un conjunto de ceras (Domínguez *et al.*, 2009). Sus funciones principales son la protección contra la pérdida de agua, la radiación ultravioleta y la infección por patógenos. El estudio de los caracteres epidérmicos y la ornamentación de la cutícula han contribuido a generar descripciones que permiten distinguir especies en distintos grupos taxonómicos (Álvarez de Zayas, 1990; Falczuk *et al.*, 1996; Prada y Rolleri, 2003; Solano *et al.*, 2013; Solano *et al.*, 2017, Sánchez-Manzo, 2020).

El género *Yucca* L. (Asparagaceae, Agavoideae) se compone de aproximadamente 45 especies de plantas perennes, nativas del norte y centro de América (Chase *et al.*, 2009; Thiede, 2020). Su distribución comprende desde el sur de Canadá hasta Guatemala y está bien representado en las regiones áridas de México y del suroeste de Estados Unidos de América (Clary y Simpson, 1995). México posee más del 60% de las especies de *Yucca* y 50% de ellas son endémicas (García-Mendoza, 2011). Habitan principalmente en matorrales xerófilos en donde destacan por su importancia ecológica, evolutiva (Althoff *et al.*, 2012; Pellmyr, 2003) y etnobotánica (Hodgson, 2001; Patel, 2012; Vuncannon, 1999). La historia taxonómica de *Yucca* es compleja y en la actualidad no hay estudios suficientes para conocer si los caracteres anatómicos y la composición química de la cutícula pueden contribuir a la sistemática del género.

En el presente estudio se analizó la cutícula, los estomas y los derivados epidérmicos de la hoja en 16 especies de *Yucca* con distribución septentrional, mediante CLSM. Además, se investigó la composición química de la cutícula foliar por medio de ATR-FTIR con el objetivo de encontrar caracteres útiles que permitan delimitar las 16 especies.

III ANTECEDENTES

3.1 Descripción e historia taxonómica del género *Yucca* L.

Las yucas presentan una diversidad de formas: son plantas acaules o caulescentes, o bien, rosetófilas. Poseen tallos simples o ramificados (Figura 1). Hojas sésiles dispuestas en el ápice del tallo o de las ramas, lineares o linear-lanceoladas, con base ensanchada, rígidas, planas o convexas, coriáceas, margen entero, frecuentemente desintegrándose en fibras, ápice córneo. Inflorescencias racemosas, erectas o péndulas, con brácteas ascendentes o reflexas. Flores bisexuales, blanquecinas ocasionalmente 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, anteras basifijas; ovario súpero, columnar, sésil, 3-locular, verde o blanquecino, óvulos numerosos, estilo corto o ausente, 3 lóbulos estigmáticos. Frutos erectos, péndulos, capsulares o abayados, dehiscentes o indehiscentes; semillas prismáticas, planas, orbiculares o globulares, negras y opacas. La diversidad del género *Yucca* asciende a 40-45 especies, distribuidas naturalmente en México, Estados Unidos y Canadá (García-Mendoza, 2011).



Figura 1. Ejemplares de *Yucca filifera* que conforman el estrato arbóreo en un matorral xerófilo. Localidad de La Mesa, Tecozautla, Hidalgo.

El género *Yucca* fue descrito por Linneo (1753), quien lo incluyó en la clase VI Hexandria, orden I Monogynia. Más adelante, Jussieu (1789) propuso la familia Liliaceae e incorporó este género.

En el siglo XIX se publicaron las primeras clasificaciones subgenéricas de *Yucca* con base en caracteres morfológicos. Carrière (1859) subdividió el género en grupos artificiales según fueran especies caulescentes o acaules, con o sin márgenes foliares filíferos. Baker (1870) reconoció tres grupos con base en el tipo de margen: *Serrato-marginata*, *Filamentoso-marginata* e *Integro-marginata*.

Engelmann (1871) separó el género *Yucca* en dos grupos, *Euyucca* y *Hesperoyucca*. También subdividió *Euyucca* en las secciones: *Sarcocarpa*, *Clistocarpa* y *Chaenocarpa*. Trelease (1902) segregó *Yucca*, *sensu* Engelmann, en tres géneros independientes: *Hesperoyucca*, *Clistoyucca* y *Samuela*. Estos géneros fueron incluidos nuevamente en el género *Yucca* por McKelvey (1938), quien reconoció cuatro secciones: *Sarcocarpa*, *Clistocarpa*, *Chaenocarpa* y *Hesperoyucca*. McKelvey también reconoció series en *Sarcocarpa* y *Chaenocarpa*, pero varias de ellas fueron invalidadas posteriormente.

Hutchinson (1934, 1959) creó el orden Agavales y amplió la delimitación de Agavaceae a 19 géneros incluidos en seis tribus, proponiendo la tribu *Yuceae* representada por el género *Yucca*. Sin embargo, es frecuente encontrar que, en las clasificaciones publicadas en la segunda mitad del siglo XX, aún se incluye *Yucca* en Liliaceae (Smith y Ludwig, 1976; Huxman y Loik, 1997; Maragni *et al.*, 2000). Con base en principios del Código Internacional de Nomenclatura Botánica la sección *Sarcocarpa* fue renombrada como sección *Yucca* por Clary (1997); este autor posteriormente reconoció a *Hesperoyucca* como género distinto de *Yucca* (Clary, 2001).

Estudios recientes indican una relación cercana entre *Yucca*, *Agave*, *Camassia*, *Hesperaloe*, *Polianthes* y otros géneros de agaváceas (Bogler *et al.*, 2006; Archibald *et al.*, 2015; Heyduk *et al.*, 2016). En la actualidad también se reconocen tres subgéneros o secciones de *Yucca*: *Chaenocarpa* con frutos

capsulares, *Sarcocarpa* con bayas y *Clistocarpa* con cápsulas esponjosas (Heyduk *et al.*, 2016, Pellmyr *et al.*, 2007).

Muchos nombres registrados para algunas especies de *Yucca* tienen aplicación incierta; por ejemplo, *Yucca guatemalensis* Baker y *Yucca elephantipes* Regel ex Trel., se consideran como sinónimos de *Yucca gigantea* Lem. en las bases de datos especializadas (The Plant List, www.theplantlist.org; Plants Of The World Online, <https://powo.science.kew.org/>). Sin embargo, autores como Smith y Figuereido (2016), asignan éstos tres nombres a dos especies: *Yucca gigantea* y *Yucca guatemalensis*, siendo *Yucca elephantipes* equivalente a la última.

Otro caso similar es el de *Yucca aloifolia*, especie ampliamente cultivada y nativa del sureste de Estados Unidos de América y del sur de México. Esta especie presenta características propias de plantas domesticadas, donde la propagación vegetativa se asocia a la ausencia de un polinizador endémico. Con base en esta característica, Pellmyr (2003) sugirió que la especie se originó a partir de cultivares de *Y. guatemalensis* desarrollados por culturas prehispánicas. Sin embargo, Clary (1997), muestra que *Yucca aloifolia* se relaciona filogenéticamente a *Y. gloriosa* y sugiere que estas especies evolucionaron de manera independiente en nichos ecológicos similares.

3.2 Los caracteres epidérmicos en la sistemática vegetal

La epidermis de la planta es un tejido que revela diversidad anatómica y funcional. En ambas superficies de las hojas se presenta una epidermis cubierta por una capa gruesa e impermeable llamada cutícula. Además de las células que constituyen la epidermis, se pueden encontrar las células oclusivas y acompañantes que forman los estomas, diferentes tipos de apéndices o tricomas y otros tipos celulares especializados (Evert y Eichhorn 2013). Estos caracteres epidérmicos han sido de utilidad para estudiar la sistemática de distintos grupos taxonómicos. Su importancia ha sido señalada por autores como Falczuk *et al.* (1996) quienes determinaron aquellos atributos diagnósticos para la determinación de especies herbáceas presentes en un pastizal natural de Argentina.

Algunos autores han estudiado la anatomía foliar y epidérmica en la sistemática de angiospermas. Baranova (1972) analizó la anatomía de los estomas y otras características epidérmicas para esclarecer las relaciones filogenéticas de Magnoliaceae y otras familias emparentadas. Las diferencias observadas en las familias corresponden a la morfología de los estomas, la cutícula y la presencia de tricomas. La cutícula de las Winteraceae se distingue de otras familias al presentar un engrosamiento que ocluye las aperturas estomáticas.

Respecto a las monocotiledóneas, Stebbins y Khush (1961) estudiaron los complejos estomáticos en 192 especies, pertenecientes a 49 familias. Determinaron la relación de su organización con la filogenia, resaltando su variabilidad en niveles taxonómicos superiores al de familia. Además, organizaron las familias en cuatro categorías según el número de células subsidiarias presentes en los estomas.

Otras características anatómicas también pueden ser estudiadas para diferenciar entre géneros y especies. Ortúñez y de la Fuente (2009) estudiaron la morfología de la epidermis del género *Festuca* (Poaceae) y reportan que la morfología de las células epidérmicas en la superficie abaxial de las láminas posee algunos de los caracteres con mayor importancia taxonómica.

En relación con la familia Asparagaceae, durante el siglo XX se realizaron algunos estudios sobre las características de la epidermis. Blunden *et al.* (1973) analizaron comparativamente la anatomía foliar de los géneros *Agave*, *Beschorneria*, *Doryanthes* y *Furcraea*; encontraron que en *Agave*, las diferencias anatómicas de la epidermis son suficientes para diferenciar entre especies. Asimismo, las células epidérmicas de *Furcraea* presentan un mayor tamaño y papilas con formas más regulares que las de *Agave*.

Álvarez de Zayas (1988) analizó la anatomía floral de las Agavaceae y observó diferencias entre taxones con base en el grosor de la pared de las células epidérmicas, la densidad del citoplasma, así como la presencia o ausencia de proyecciones como papilas o pelos.

Meng *et al.* (2016) hicieron una comparación de los caracteres morfológicos de la epidermis en 34 especies del género *Maianthemum*. Aquellos correspondientes a la forma y el patrón de las paredes celulares, presentaron una alta variación tanto en las especies, como en las superficies foliares adaxial y abaxial. Los autores mencionan que estas diferencias posiblemente se relacionan con la distribución geográfica y a las condiciones ambientales, así como las evidencias filogenéticas.

En años recientes Ali *et al.* (2020) analizaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) la epidermis de seis especies de *Polygonatum* de diferentes regiones de China. Ellos reportan una variación significativa en rasgos como el tipo y distribución de los estomas, la forma de las células epidérmicas, el patrón anticlinal de la pared celular y varios tipos de tricomas.

Vislobokov *et al.* (2021) analizaron los caracteres micromorfológicos en 69 especies del género *Aspidistra* mediante SEM. Encontraron que el relieve de la epidermis varía de plano a verrugoso y rugoso; la superficie adaxial carece de papilas en general y estas se presentan sólo en la superficie abaxial de algunas especies. Por ello, concluyeron que estos caracteres son de importancia taxonómica en *Aspidistra* y en conjunto con la estructura de los brotes permiten clasificar las especies en 13 grupos.

3.3 Importancia biológica y taxonómica de la cutícula

La cutícula es una capa que cubre la superficie externa de las células epidérmicas en los tallos, hojas y frutos no lignificados. La estructura y composición química de la cutícula varía en función de la especie, los órganos y las etapas de crecimiento, pero en general está compuesta por una matriz de cutina y un conjunto de ceras que pueden formar una capa sobre la matriz o estar embebidas dentro de ésta (Heredia-Guerrero, 2003). Las ceras cuticulares se mezclan con otros compuestos como, alcoholes, alcanos, ésteres y triterpenoides (Jetter *et al.*, 2006).

Las funciones de la cutícula son diversas, la principal es proteger los órganos contra la excesiva pérdida de agua y junto con los estomas forman las principales

estructuras encargadas de la transpiración en el cuerpo de la planta. La baja permeabilidad de la cutícula permite regular la pérdida de agua y solutos polares al ajustar la apertura de los estomas. El conjunto cutícula-estoma también es capaz de permitir o limitar el intercambio de gases a través de la interfaz planta-atmósfera, tales como dióxido de carbono, oxígeno, contaminantes inorgánicos y compuestos orgánicos volátiles como terpenos. Para los vapores orgánicos altamente liposolubles, así como metabolitos secundarios propios de la planta y algunos contaminantes de origen antropogénico, la cutícula es la ruta preferida de intercambio, aun cuando los estomas se encuentran abiertos (Riederer, 2006).

La cutícula también representa la primera defensa contra herbívoros y patógenos, no solo por su conformación que representa una barrera mecánica, sino también por desempeñar un papel activo en las interacciones planta-patógeno. La pared celular de las células epidérmicas forma un continuo con la cutícula que es esencial en la liberación de señales bioquímicas hacia el interior y exterior de las células, en respuesta a un agente infeccioso o a un estímulo hormonal. Durante la interacción, también se ve afectada la permeabilidad de la cutícula (Yeats y Rose, 2013; Ziv *et al.*, 2018).

La radiación ultravioleta puede inducir efectos deletéreos en las plantas, los cuales son disminuidos mediante distintas adaptaciones, como la inducción de ácidos flavonoides y fenólicos, así como la presencia de la cutícula en los órganos primarios. Solovchenko y Merzlyak (2003) estudiaron las propiedades ópticas de la cutícula de manzanas en relación con la protección ultravioleta. Ellos reportan que la transmitancia de luz no reflejada asciende hasta 14.2 - 35.7 % a 375 y 300 nm, lo que denota una reducción importante en la radiación ultravioleta que llega a las células subyacentes a la cutícula.

La formación de la cutícula es importante durante el desarrollo de la planta, pues funciona como agente separador durante el proceso ontogenético y está involucrada en la delimitación de los órganos (Burghardt y Riederer, 2006; Yeats y Rose, 2013); los mutantes con cutículas defectuosas presentan una mayor pérdida de agua y anomalías morfológicas como la fusión de órganos (Riederer, 2006).

3.4 Estudios microscópicos de la cutícula

Diversas técnicas microscópicas se han utilizado para analizar la ornamentación de la cutícula. Las técnicas más usadas en años anteriores fueron la microscopía de campo brillante, de luz polarizada y de fluorescencia. Considine y Knox (1979) utilizaron microscopía de campo brillante y polarización para analizar el desarrollo del sistema dermal en frutos de *Vitis vinífera* L. Ellos describieron dos etapas de desarrollo en donde pudieron observar cambios en la forma y dureza de la cutícula. Por otro lado, Pesacreta y Hasenstein (1999) estudiaron la cara interna de la cutícula foliar en *Cirsium horridulum* (Asteraceae) mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Describieron la cutícula como una capa hidrófoba, que se distribuye de manera continua en la epidermis y resaltan las diferencias morfológicas de las superficies adaxial y abaxial, así como las regiones que cubren las venas. Estos estudios proveen información sobre la complejidad y diversidad de la arquitectura cuticular, pero tienen limitaciones para conocer el relieve y la ornamentación en diferentes puntos de la cutícula. En años recientes, las técnicas microscópicas como la Microscopía Confocal Láser de Barrido (CLSM) han permitido generar imágenes en tercera dimensión y alta resolución (Buda *et al.*, 2009).

Existen diferentes mecanismos que poseen los microscopios confocales, pero todos siguen el mismo principio general: la luz pasa a través de una abertura y es enfocada en un área pequeña, después es reflejada y pasa a través de un segundo lente. Esta luz se enfoca en una segunda abertura, mientras que la luz fuera de foco se elimina (Javaloy *et al.*, 2005). A través de estas secciones se pueden reconstruir imágenes tridimensionales de una muestra con cierto espesor, con base en la densidad y opacidad óptica intrínseca de la cutícula (Dürrenberger *et al.*, 2001).

Es posible usar la microscopía confocal para estudiar no sólo la ornamentación de la cutícula, sino también aspectos de la anatomía externa de las células epidérmicas asociados al relieve de la cutícula. Por ejemplo, se puede observar la morfología externa y el contorno celular, la organización de las células

en los complejos estomáticos, la presencia y morfología de tricomas y papilas, así como el grado de penetración de la cutícula en los espacios intercelulares (Sánchez-Manzo 2020). Los estudios de la cutícula mediante CLSM permiten realizar descripciones morfológicas detalladas y frecuentemente se combinan con otras técnicas microscópicas o espectroscópicas para obtener una mayor cantidad de información de las muestras, o bien, para comprar las distintas técnicas.

Una de las primeras aplicaciones de CLSM al estudio de la cutícula fue realizada por Fernández *et al.* (1999). Los autores enfatizan el papel de los flavonoides y los compuestos fenólicos presentes en la cutícula, pues su autofluorescencia permite reconstruir la ornamentación a través del microscopio confocal. También, generaron imágenes de las cutículas foliares, obtenidas de diferentes especies frutales mediante aislamiento enzimático. En sus resultados se puede apreciar el espesor de las cutículas en el eje z, el relieve y la forma de las células. Por un lado, muestran distintos patrones de autofluorescencia en *Clivia miniata*, que posee un tipo de cutícula con baja intensidad ya que los compuestos fenólicos se encuentran restringidos, localizados cerca de las paredes celulares. Por el contrario, *Citrus aurantium* presenta estomas con una alta intensidad, dando lugar a una imagen más definida. En la cutícula de *Capsicum annuum*, existe fluorescencia baja en regiones situadas entre los bordes de las células y demuestran la presencia de compuestos fenólicos asociados a la cutina.

Buda *et al.* (2009) estudiaron el potencial de la microscopía confocal para analizar la cutícula vegetal utilizando frutos de *Solanum lycopersicum*; mostraron que el análisis tridimensional mediante CLSM permite una mayor comprensión de la ornamentación de la cutícula en comparación con imágenes obtenidas en dos dimensiones con el microscopio de campo brillante y fluorescencia. Las imágenes en 3D les permitieron observar una compleja topografía de la superficie interna de la cutícula en la interfase con las paredes celulares y un patrón de punteaduras en las paredes anticlinales de las células epidérmicas. Esto representa una ventaja sobre las técnicas microscópicas que generan imágenes bidimensionales, las cuales usualmente se obtienen de cortes paradermales y transversales y permiten

visualizar únicamente la cara externa y el perfil de la muestra, sin profundizar en detalles como el grado de penetración de la cutícula o su relieve general.

Nadiminti *et al.* (2015) aislaron cutículas de *Triticum aestivum*, *Zea mays* y *Lupinus angustifolius*, mismas que fueron analizadas con CLSM, SEM y microscopía de campo brillante y fluorescencia. Las imágenes obtenidas a través del microscopio confocal les permitieron observar la capa cuticular en general, así como las capas internas y externas. También observaron diferencias morfológicas en el material celulósico de las células epidérmicas. Sin embargo, reportaron una disminución significativa en la intensidad de fluorescencia en los planos ópticos más profundos de la muestra.

En los últimos años se han aplicado variantes de la microscopía confocal para estudiar otros aspectos de la cutícula, así como la presencia de agentes o materiales ajenos a esta. Li y Chen (2014) estudiaron la presencia y distribución del fenantreno, un contaminante que se puede alojar en las cutículas foliares. Estos autores lograron distinguir una acumulación de fenantreno en la parte media de la matriz cuticular, que se compone de lípidos poliméricos, hacia los cuales el contaminante presenta una gran afinidad.

Guo *et al.* (2021), implementaron un sistema que combina la microscopía confocal de alta resolución y la espectroscopía de fluorescencia vía fibra óptica de núcleo líquido. Con esta técnica observaron la distribución y retención de benzo(a)pireno en las cutículas foliares de tres especies de mangle. La retención de benzo(a)pireno fue notablemente mayor en la superficie abaxial. Esto contribuyó a entender los mecanismos de migración de los contaminantes en las plantas, debido al papel de la cutícula como primer mecanismo de barrera hacia el ambiente.

3.5 Composición química de la cutícula y sus aplicaciones en la sistemática

En el siglo XIX, la cutícula ya era considerada como una capa distinta a la epidermis; p. ej. Henslow (1831), la describió como una *membrana* fina, homogénea y continua que cubre las células epidérmicas. Después, von Mohl (1847), describió la cutícula

como una capa estratificada carente de polisacáridos, compuesta principalmente por una capa cuticular, una matriz lipídica y una capa de ceras cuticulares. En el siglo XX se caracterizaron algunos compuestos presentes en la cutícula y la cutina se consideró como el principal componente estructural de la cutícula (Kolattukudy, 1970).

En la actualidad, la cutícula es considerada como una capa sintetizada por las células epidérmicas, con una composición química heterogénea; posee una fracción adyacente a las paredes celulares, rica en polisacáridos como celulosa, hemicelulosas y pectinas que funcionan como sitio de anclaje a la pared celular. En una posición adyacente se encuentra una matriz compuesta principalmente de cutina, la cual representa del 40 al 80 % del peso de la cutícula. La cutina es un polímero insoluble de cadena larga, formada por ácidos grasos hidroxilados y epoxihidroxilados C₁₆ y C₁₈ esterificados (Samuels *et al.*, 2008). Otro componente importante de la cutícula son las ceras, que son mezclas de series homólogas de compuestos alifáticos de cadena larga, como alcanos, alcoholes, aldehídos, ácidos grasos y ésteres, en conjunto con cantidades variables de compuestos cíclicos como triterpenoides. Las ceras pueden formar una capa externa (ceras epicuticulares) o estar distribuidas a través de la cutícula (ceras intracuticulares). También es posible encontrar algunos compuestos fenólicos como el ácido cinámico y flavonoides (Heredia-Guerrero *et al.*, 2014).

Las cutículas de ciertas especies de monocotiledóneas, como *Agave americana* (Wattendorff y Holloway, 1982) y *Clivia miniata* (Schmidt y Schönherr, 1982), pueden contener cutan, un polímero inerte al igual que la cutina, pero se caracteriza por una red de cadenas de metileno y grupos carboxilo con uniones éter. El cutan puede sustituir a la cutina parcial o completamente y presenta una alta resistencia a la degradación y a los diferentes métodos químicos empleados para intentar caracterizar esta sustancia (Villena *et al.*, 1999).

Los compuestos químicos de la cutícula han sido estudiados mediante diversas técnicas como la cromatografía de gases, ionización de llama y espectrometría de masas, sin embargo, éstas presentan limitaciones en la

información que proporcionan respecto a la estructura molecular y a la presencia de grupos funcionales específicos. Otros métodos como la espectroscopía Raman e infrarroja (IR por sus siglas en inglés) tienen ventajas de ser técnicas no destructivas, accesibles, que mejoran el análisis químico y estructural (Heredia-Guerrero *et al.*, 2014).

La espectroscopía IR está basada en las vibraciones moleculares de los enlaces químicos que son inducidas por excitación mediante la absorción de radiación infrarroja (Heredia-Guerrero *et al.*, 2014). Los espectros IR puede ser obtenidos colocando las muestras directamente bajo la radiación infrarroja, o bien, pueden ponerse en contacto con un elemento de reflectancia intermedia con lo cual el haz se refleja varias veces y la superficie de la muestra interactúa con la onda evanescente, absorbiéndose la radiación en cada punto de reflexión (Heredia-Guerrero *et al.*, 2014); a esta variante se le conoce como Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier y Reflectancia Total Atenuada (ATR-FTIR).

La composición química de la cutícula, así como otras partes del cuerpo de la planta, han sido estudiadas bajo el enfoque de la sistemática vegetal para identificar perfiles o patrones químicos que sirvan como marcadores en diferentes niveles taxonómicos. Sin embargo, estos trabajos son escasos en comparación con aquellos que estudian los caracteres morfológicos, anatómicos o moleculares, además, han sido aplicados casi exclusivamente en el campo de la paleobotánica.

La capacidad de preservación que tienen los biopolímeros como la cutina tras un proceso de maceración natural, al compactarse el material vegetal en condiciones anaeróbicas que limitan la destrucción microbiológica, ha permitido estudiar los componentes de la cutícula con el fin de realizar caracterizaciones en vegetales fosilizados. Uno de los primeros trabajos en utilizar este enfoque fue el análisis taxonómico realizado por Niklas y Gensel (1977), quienes caracterizaron químicamente algunas plantas vasculares del Paleozoico correspondientes a 27 taxones. Autores como Lyons *et al.* (1995) y Zodrow y Mastalerz (2001) también incursionaron en este campo de estudio con sus propuestas taxonómicas para algunos helechos fósiles de Canadá.

3.6 Contexto evolutivo y filogenético de la biosíntesis de la cutícula

La síntesis de la cutícula fue una adquisición evolutiva de gran relevancia para las plantas terrestres, sobre todo para los colonizadores tempranos como los musgos. Las redes génicas que controlan la biosíntesis de la cutícula presentan elementos conservados por las plantas con semilla, que están asociados con la biosíntesis de lignina y suberina (Hugues *et al.*, 2017). La importancia del metabolismo fenólico, el cual es necesario para la síntesis de biopolímeros como la cutina, la suberina y la lignina, ha sido señalada por Renault *et al.* (2017), quienes sugieren que estos compuestos presentes en tejidos vegetales especializados pueden tener un “ancestro común” en los lípidos asociados a fenoles que posee el musgo *Physcomitrella patens* en su matriz cuticular. Lo anterior se plantea con base en la presencia de 4-coumaril-CoA, tanto en la ruta del ácido ascórbico en briofitas como en la ruta de la pentosa en angiospermas. De este modo, los biopolímeros vegetales tendrían una ruta biosintética que posee señal filogenética a lo largo de la evolución de los grandes grupos de plantas terrestres.

Respecto a los grupos de plantas vivientes, Herbin y Robins (1968) estudiaron el contenido de alcanos en las ceras cuticulares de 19 especies de *Agave* y los compararon con aquellos obtenidos previamente para el género *Aloe*. También determinaron los alcanos presentes en 16 especies de *Crassulaceae* y 19 de *Eucaliptus*, encontrando en todos los grupos una amplia variedad de patrones que permitieron observar diferencias entre las especies, pero no hacer una correlación con la subclasificación de éstas.

Fiasson *et al.* (1997) caracterizaron los flavonoides foliares presentes en 55 muestras representativas de 11 taxones de *Ranunculus*. Los patrones que observaron mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), estaban asociados principalmente con las condiciones de las diferentes regiones de Europa en donde se distribuyen las especies, más que con la taxonomía morfológica. Caso contrario es el trabajo de Almaraz-Abarca *et al.* (2009), quienes realizaron una comparación de los perfiles fenólicos correspondientes a los tejidos foliares de algunas especies de *Agave* utilizando Cromatografía Líquida de Alta Resolución con

Detector de Arreglo de Diodos (HPLC-DAD). Señalan que los flavonoides foliares son marcadores valiosos para discriminar entre *Agave durangensis*, *A. asperrima*, *A. wocomahi*, *A. shrevei* subsp. *shrevei*, y *A. shrevei* subsp. *matapensis*. Asimismo, Almaraz-Abarca *et al.* (2006) analizaron el contenido de flavonoides en tres especies de pinos (*Pinus leiophylla*, *P. chihuahuana* y *P. lumholtzii*) por cromatografía de capa fina y espectroscopía ultravioleta con el fin de distinguir una de otra. De este modo se planteó que *Pinus chihuahuana* debería ser reconocida como una especie distinta y no como una variedad de *Pinus leiophylla*.

IV JUSTIFICACIÓN

La problemática taxonómica en algunas especies de *Yucca* se ve agravada debido a la carencia de evidencia estructural y caracteres diagnósticos robustos. Por otro lado, la falta de filogenias que incluyan a la mayoría de las especies dificulta reconocer y rastrear los caracteres con relevancia taxonómica. De este modo surge la necesidad de estudiar la ornamentación de la cutícula foliar y los rasgos epidérmicos asociados para identificar posibles caracteres útiles en la sistemática del género. En este sentido, la ornamentación y la composición química de la cutícula pueden incluir atributos con importancia taxonómica que permitan delimitar especies en *Yucca*, así como en otras monocotiledóneas (Artabe y Archangelsky, 1992; Falczuk *et al.*, 1996; Troncoso *et al.*, 2002; Guevara *et al.*, 2011; Solano *et al.*, 2017). Actualmente los estudios taxonómicos basados en los componentes químicos y la ornamentación de la cutícula foliar en el género *Yucca* incluyen únicamente a las especies con distribución en la república mexicana, sin embargo, no se habían considerado las especies con distribución en el Norte de México y Sur de Estados Unidos de América. De forma complementaria al trabajo de Sánchez-Manzo (2020), aquí se estudiaron 16 especies de *Yucca* con distribución septentrional para evaluar la utilidad taxonómica de los compuestos químicos de la cutícula foliar mediante espectrometría infrarroja en conjunto con el análisis anatómico de la cutícula y los caracteres epidérmicos asociados mediante microscopía confocal.

V OBJETIVO

Describir y analizar la composición química y la ornamentación de la cutícula foliar en 16 especies de *Yucca* con distribución septentrional y reconocer caracteres con importancia taxonómica.

VI HIPÓTESIS

En especies de *Yucca* (Asparagaceae, Agavoideae) con distribución meridional se ha relacionado la composición química y la ornamentación de la cutícula foliar con la distribución geográfica y la taxonomía. Por lo tanto, el análisis químico y microscópico de la cutícula en especies del género *Yucca* con distribución septentrional permitirá reconocer aquellos atributos útiles en la sistemática de este grupo.

VII MÉTODO

7.1 Origen y procesamiento del material vegetal

Las plantas usadas en este trabajo fueron previamente recolectadas en el norte de la república mexicana y el sur de Estados Unidos de América; todos los ejemplares fueron determinados taxonómicamente por especialistas y depositados en diferentes herbarios. Se utilizaron muestras foliares pertenecientes a ejemplares adultos de 16 especies de *Yucca* con distribución septentrional (Cuadro 1). Las muestras fueron almacenadas en una solución de glicerina, alcohol etílico y agua (GAA, 2:1:1) hasta su procesamiento para los análisis químicos y microscópicos.

7.2 Aislamiento de la cutícula

Las muestras almacenadas en GAA se cortaron en secciones de 0.5 × 0.5 cm, cada uno de estos fragmentos fue separado paradermalmente con una navaja de disección. Ambas secciones, correspondientes a las superficies adaxial (haz) y abaxial (envés) de la hoja, se utilizaron para aislar enzimáticamente las cutículas siguiendo el método descrito por Orgell (1955) y Yamada *et al.* (1964). Cada

segmento se incubó a una temperatura de 20-30 °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 se lavaron varias veces con agua destilada hasta quedar libres de residuos celulares.

Las muestras cuticulares de cada especie fueron almacenadas en frascos individuales y etiquetados, agregando 3 mL de buffer de acetatos (pH=3.8). Una parte se utilizó para el análisis anatómico de la cutícula mediante microscopía confocal y la otra para estudiar la composición química, mediante espectrometría infrarroja. Todo el material se conservó en refrigeración a 3 °C hasta su observación y tratamiento.

7.3 Análisis estructural por Microscopia Confocal Laser de Barrido (CLSM)

Las cutículas fueron lavadas hasta eliminar el exceso de buffer de acetatos y se impregnaron con 1 mL de solución acuosa de Paraquat (10 µM), posteriormente se colocaron a 25 °C durante 24 h en una cámara con humedad relativa de 95%. Antes del análisis microscópico, las cutículas fueron lavadas con agua destilada hasta eliminar el exceso de Paraquat y después se impregnaron durante 5 min en 2 mL de reactivo de Fenton (solución acuosa de FeCl₃ 0.1 mM y H₂O₂ 10 mM; Fernández *et al.*, 1999). Enseguida se hicieron las observaciones en un microscopio confocal Leica, DMI8 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania), equipado con un sistema exploratorio SP8 MP a una longitud de onda de 522 y 640 nm. Los archivos correspondientes a las imágenes tridimensionales y secuencias de video se registraron en el formato nativo de Leica (*.lif). El manejo de ambos tipos de archivos fue realizado con el software Leica Application Suite X (LASX; Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania).

Con las imágenes y secuencias de video se registraron las siguientes características morfológicas para cada especie: grosor, relieve y ornamentación de la cutícula, forma de las células epidérmicas, tipo de complejo estomático, presencia de papilas, tricomas o verrugas.

Cuadro 1. Lista de especies de *Yucca* incluidas en el análisis estructural y químico de la cutícula foliar y de características externas de la epidermis. Se incluyen las secciones y series reconocidas por Clary y Simpson (1995), Etter y Kristen (1997-2023), Pellmyr et al. (2003) y Smith et al. (2008).

Espece / autor	Sección	Serie	No. de recolecta/rec olector	Hábitat	Estado
<i>Yucca baccata</i> Torr.	<i>Sarcocarpa</i>	<i>Baccatae</i>	1410-MAH	Bosque de pino	AZ
<i>Y. baileyi</i> Wooton & Standl.	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Elatae</i>	2008-0111-10*	Bosque de pino-encino; pastizales	AZ
<i>Y. brevifolia</i> Engelm.	<i>Clistocarpa</i>	<i>n/a</i>	1940-0478-021*	Matorral desértico	AZ
<i>Y. campestris</i> McKelvey	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Elatae</i>	1990-0335-10*	Matorral desértico	NM
<i>Y. constricta</i> Buckley	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Elatae</i>	2014-0820-01*	Matorral, pastizales	TX
<i>Y. declinata</i> Laferr.	<i>Sarcocarpa</i>	<i>Baccatae</i>	2018-0807-01*	Bosque abierto	SON
<i>Y. filamentosa</i> L.	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Elatae</i>	2018-0806-01*	Bosque de pino	MS
<i>Y. gloriosa</i> L.	<i>Sarcocarpa</i>	<i>Heteroyucca</i>	LM 5908	Dunas costeras	MS
<i>Y. harrimaniae</i> Trel.	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Elatae</i>	32431-WH	Matorral xerófilo	UT
<i>Y. kanabensis</i> McKelvey	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Elatae</i>	1994-0637-021*	Cañón desértico pino-enebro	AZ
<i>Y. madrensis</i> Gentry	<i>Sarcocarpa</i>	<i>Treculeanae</i>	5604-ESC	Bosque de pino-encino	SON
<i>Y. nana</i> Hochstätter	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Elatae</i>	32455-WH	Bosque de pino-enebro	UT
<i>Y. necopina</i> Shinnars	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Arkansanae</i>	2018-0883-10-1*	Pastizales	TX
<i>Y. pallida</i> McKelvey	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Rupicolae</i>	2014-0234-01*	Praderas	TX
<i>Y. rupicola</i> Scheele	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Rupicolae</i>	1979-0509-01* 1972-0149-14(R)*	Bosque de encino	TX
<i>Y. verdiensis</i> McKelvey	<i>Chaenocarpa</i>	<i>Elatae</i>	Sin número-KC	Bosque de pino	AZ

Abreviaturas: ESC, Eloy Solano Camacho; KC, Karen Clary; MAH, María Magdalena Ayala Hernández; MBG, Mercer Botanic Gardens; RP, Raúl Puente; WH, Wendy Hodgson. AZ, Arizona; NM, Nuevo México; TX, Texas; SON, Sonora; MS, Mississippi; UT, Utah.

*Desert Botanical Garden.

7.4 Análisis químico por Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier y Reflectancia Total Atenuada (ATR-FTIR)

En esta fase de la investigación las muestras fueron enjuagadas hasta eliminar el buffer de acetatos, 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. El análisis ATR-FTIR se realizó para cada segmento 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, USA), en un rango espectral de 650–4000 cm^{-1} , con una resolución de 4 cm^{-1} y la apodización Happ-Genzel. El manejo de los espectros obtenidos fue realizado con el software Origin Pro 2016, vb9.3.226 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

Los picos reconocidos en los espectros ATR-FTIR se asignaron a sus correspondientes grupos funcionales con base en la literatura existente (Ribeiro 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. Se promediaron un total de cinco replicas para cada segmento y posteriormente se calculó el área bajo la curva de los picos asignados a los componentes de la cutícula. La abundancia relativa de cada componente químico de la cutícula fue calculada considerando únicamente los picos asignados.

Las relaciones de similitud fueron evaluadas mediante análisis estadísticos multivariados, usando datos cuantitativos continuos correspondientes a las abundancias relativas de los picos asignados en los espectros promediados. Para ello, se realizaron análisis de componentes principales (PCA) y análisis de agrupamiento jerárquico aglomerativo (HCA), usando los parámetros por defecto, en el software Origin Pro 2016, vb9.3.226 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

VIII RESULTADOS

8.1 Morfología de las cutículas foliares de *Yucca*: CLSM

Utilizando CLSM se obtuvieron imágenes tridimensionales de las cutículas de ambas superficies foliares de las especies de *Yucca* estudiadas. Los archivos registrados corresponden a las superficies externas e internas de la cutícula, así como vistas laterales y secuencias de video. De este modo se describió el tipo de estomas, la presencia de tricomas y protuberancias epidérmicas como las papilas, la forma de las células epidérmicas, el grosor de la cutícula y su grado de penetración en los espacios intercelulares.

La cara exterior de las cutículas se utilizó para describir la ornamentación de la cutícula (p. ej. lisa, rugosa o estriada) y el relieve (plano o irregular), mientras que la cara interior sirvió para describir el tipo de estomas y la forma de las células de acuerdo con los contornos celulares (p. ej. poligonales, hexagonales o rectangulares). Para describir el grosor de la cutícula se utilizó el siguiente criterio: muy delgada <5 μm , delgada de 5 μm a 9 μm , moderadamente gruesa 10 a 19 μm , gruesa 20 a 25 μm , muy gruesa >25 μm .

El relieve es una característica complementaria a la ornamentación y describe la forma en que se acumula la cutícula sobre las células epidérmicas (Sánchez-Manzo 2020). En el contexto de la morfología cuticular, se hace referencia a un relieve plano cuando la cutícula es muy gruesa y forma una capa predominantemente llana, además, la superficie externa de las células no se aprecia bien definida. Por otro lado, el relieve irregular se presenta cuando la cutícula es delgada y se acumula uniformemente sobre la cara externa de las células epidérmicas, por lo que la morfología de la superficie externa de las células epidérmicas está bien definida y permite visualizar proyecciones epidérmicas como papilas y tricomas, entre otros derivados. Asimismo, el relieve de la cutícula es irregular cuando se deposita en forma de grumos, cuñas o escamas no homogéneas.

Cuadro 2. Características morfológicas en la cutícula foliar de las especies de *Yucca* estudiadas.

Especie	Forma de las células epidérmicas	Estomas	Relieve/ornamentación	Apéndices epidérmicos	Grosor
<i>Yucca baccata</i>	P/r	Tetracíticos	Irregular/rugosa	Tricomos y papilas	25 µm
<i>Y. baileyi</i>	P/r	Tetracíticos	Irregular/estriada	Papilas	5 µm
<i>Y. brevifolia</i>	HP/r	Hendidos	Irregular/estriada	-	15 µm
<i>Y. campestris</i>	RP/r	Tetracíticos	Irregular/ligeramente estriada	Papilas	5 µm
<i>Y. constricta</i>	RP/r	Paracíticos	Irregular/lisa	-	5 µm
<i>Y. declinata</i>	P/r,	Paracíticos	Irregular/rugosa (adaxial) y lisa (abaxial)	Papilas (adaxial)	5 µm
<i>Y. filamentosa</i>	R/r	Tetracíticos	Irregular/estriada	Papilas escasas	5 µm
<i>Y. gloriosa</i>	P/r	Paracíticos	Ligeramente irregular/predominantemente lisa	-	5 µm
<i>Y. harrimaniae</i>	P/r	Paracíticos	Irregular/estriada	-	5 µm
<i>Y. kanabensis</i>	P/s	Tetracíticos	Irregular/lisa	Papilas escasas	10 µm
<i>Y. madrensis</i>	P/r	Paracíticos	Irregular/rugosa	Papilas, verrugas cuticulares	10 µm
<i>Y. nana</i>	R/s	Paracíticos	Irregular/ligeramente estriada	-	15 µm
<i>Y. necopina</i>	P/r	Paracíticos	Irregular/rugosa	Papilas	10 µm
<i>Y. pallida</i>	HP/r	Paracíticos	Irregular/rugosa	Papilas	5 µm
<i>Y. rupicola</i>	RP/r	Tetracíticos	Irregular/ligeramente estriada (adaxial) a predominantemente lisa (abaxial)	Papilas dispersas	5 µm
<i>Y. verdiensis</i>	HP/r	Paracíticos	Predominantemente plano/grumosa	-	20 µm

Abreviaturas: P/r, Poligonales con paredes anticlinales rectas; HP/r, hexagonales a poligonales con las paredes anticlinales rectas; RP/r, rectangulares a poligonales con las paredes anticlinales rectas; R/r, rectangulares con las paredes anticlinales rectas; P/s, poligonales con las paredes anticlinales ligeramente sinuosas; R/s, rectangulares con las paredes anticlinales ligeramente sinuosas.

Las características registradas para cada especie se resumen en el Cuadro 2. Estas corresponden a la forma de las células, tipo de estomas según el número y disposición de las células subsidiarias, el relieve y la ornamentación de la cutícula, la presencia de tricomas o de apéndices epidérmicos como papilas, verrugas, así como el grosor de la cutícula. La mayoría de las especies presentaron

características similares en las cutículas de ambas superficies foliares, con excepción de *Y. declinata* y *Y. rupicola*. Para el resto de las especies se incluyeron las imágenes más representativas de las estructuras y rasgos que se describen a continuación.

En nueve de las 16 especies se registraron paredes anticlinales que denotan células epidérmicas con una variedad de formas poligonales, cuatro presentan células rectangulares y tres, células hexagonales. Los estomas son de tipo paracítico en nueve especies, y de tipo tetracítico en seis especies; en *Y. brevifolia* los estomas se encuentran hundidos. Por otra parte, la superficie cuticular es mayoritariamente irregular, con excepción de *Y. verdiensis*, que presenta relieve liso en casi toda la superficie.

En la ornamentación cuticular es donde se presenta la mayor variación morfológica: seis especies tienen ornamentación de tipo estriado, cuatro de tipo rugoso, tres de tipo liso, una de tipo grumoso y en dos especies la ornamentación es de diferente tipo entre las superficies foliares: en *Y. declinata* es rugosa en el haz y lisa en el envés, mientras que en *Y. rupicola* es ligeramente estriada en el haz y predominantemente lisa en el envés. Los apéndices no se observaron en ocho especies, mientras que las restantes presentan papilas, verrugas o una combinación de tricomas y papilas. La mayoría de las cutículas son delgadas, en 10 especies se registra un grosor aproximado de 5 μm , únicamente seis especies superan los 10 μm .

8.1.1 *Yucca baccata*

En vista de perfil la cutícula es muy gruesa (25 μm), penetra hasta 20 μm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación rugosa (Figura 2A). En vista paradermal se observan células epidérmicas con papilas y tricomas, el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas; estomas tetracíticos con células subsidiarias irregulares, más pequeñas que las células epidérmicas (Figura 2B, C).

8.1.2 *Yucca baileyi*

De perfil la cutícula es delgada (5 μm), penetra hasta 15 μm en los espacios intercelulares, su relieve es irregular y su ornamentación estriada (Figura 3A). En vista paradermal se observan células epidérmicas con papilas, el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas; estomas tetracíticos con células subsidiarias regulares, de tamaño similar a las células epidérmicas (Figuras 3B, C).

8.1.3 *Yucca brevifolia*

En vista de perfil la cutícula es moderadamente gruesa (15 μm), penetra hasta 40 μm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación estriada (Figura 2D). En vista paradermal se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células hexagonales a poligonales con paredes anticlinales rectas. Complejos estomáticos hundidos, denotados por espacios sin fluorescencia (Figuras 2E, F).

8.1.4 *Yucca campestris*

La cutícula es delgada (5 μm), penetra hasta 15 μm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación ligeramente estriada (Figura 3D). En vista paradermal se observan células epidérmicas con papilas, el contorno interno denota células rectangulares a poligonales con paredes anticlinales rectas; estomas tetracíticos con células subsidiarias irregulares, de tamaño menor que las células epidérmicas (Figuras 3E, F).

8.1.5 *Yucca constricta*

En vista de perfil la cutícula es delgada (5 μm), penetra hasta 20 μm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación lisa (Figura 4A). En vista paradermal se observan células epidérmicas sin apéndices, el contorno interno denota células rectangulares a poligonales con paredes anticlinales rectas; estomas paracíticos con células subsidiarias regulares, de tamaño similar a las células epidérmicas (Figuras 4B, C).

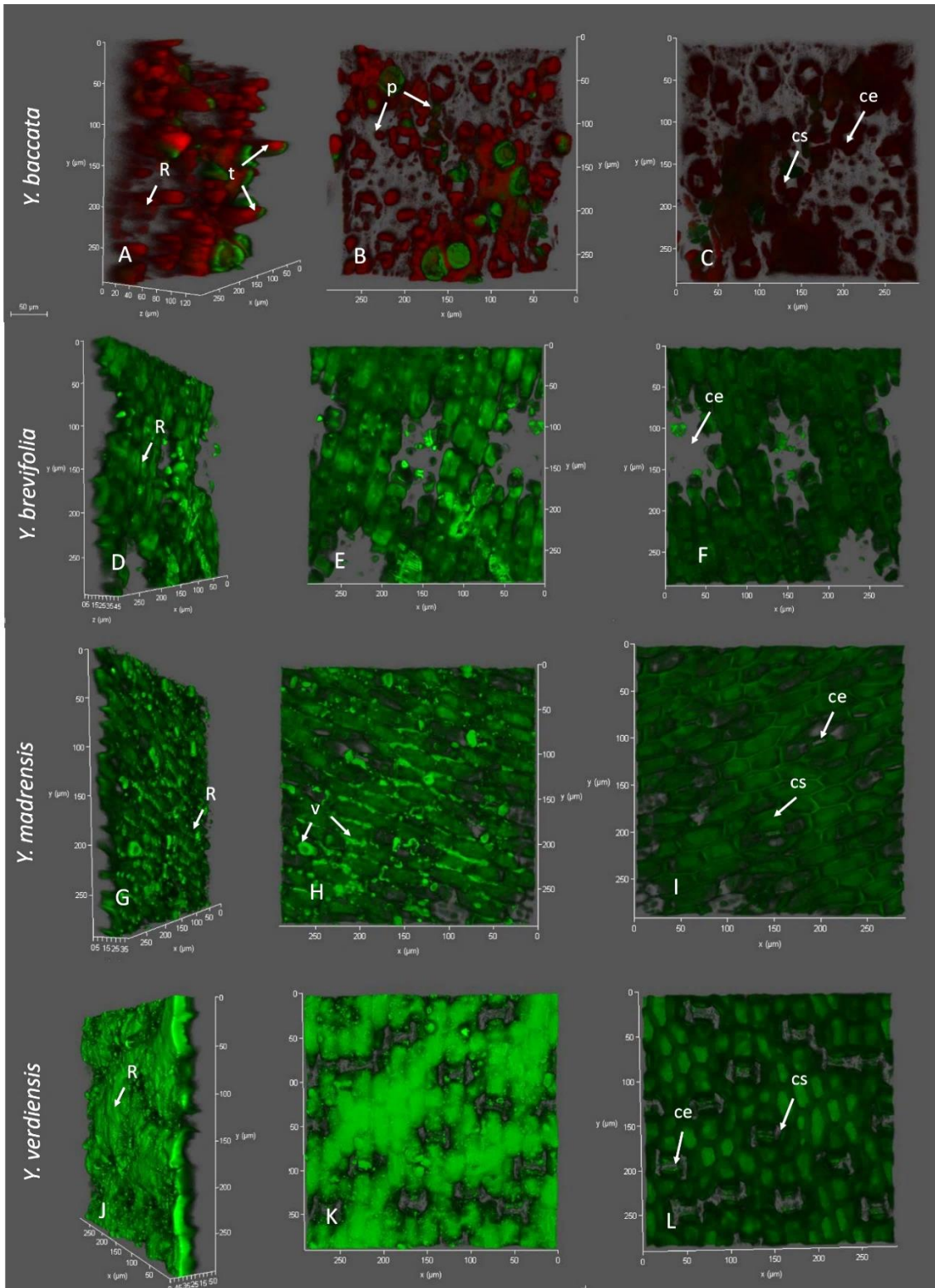


Figura 2. Cutículas de *Yucca* con características particulares, vistas de perfil y paradermales de las caras exterior e interior. R, relieve; t, tricomas; v, verrugas cuticulares; ce, complejo estomático (hendido en *Y. verdiensis*); co, células oclusivas; cs, células subsidiarias.

8.1.6 *Yucca declinata*

En vista de perfil la cutícula es delgada (5 μm), penetra hasta 20 μm en los espacios intercelulares, con relieve irregular en ambas superficies, ornamentación rugosa en la superficie adaxial y lisa en la abaxial (Figuras 5A, D). En vista paradermal las células epidérmicas de la cara adaxial tienen papilas (Figuras 5B, C). El contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas, de mayor tamaño en la cara abaxial (Figura 5F). Estomas paracíticos en el envés, células subsidiarias irregulares de tamaño menor a las células epidérmicas (Figura 5E).

8.1.7 *Yucca filamentosa*

De perfil, la cutícula es delgada (5 μm), penetra hasta 10 μm en los espacios intercelulares, con relieve irregular y ornamentación estriada (como también se observa en *Y. campestris*). En vista paradermal se observan células epidérmicas rectangulares y papilas escasas, el contorno interno denota células predominantemente rectangulares con paredes anticlinales rectas; estomas tetracíticos con células subsidiarias irregulares, más chicas que las células epidérmicas.

8.1.8 *Yucca gloriosa*

De perfil, la cutícula es delgada (5 μm), penetra hasta 15 μm en los espacios intercelulares, con relieve ligeramente irregular y ornamentación predominantemente lisa (Figura 4D). En vista paradermal se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas. Estomas paracíticos con células subsidiarias regulares, de tamaño similar a las células epidérmicas, en su lado más largo (Figuras 4E, F).

8.1.9 *Yucca harrimaniae*

En vista de perfil la cutícula es delgada (5 μm), penetra hasta 20 μm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación estriada (Figura 4G). En vista paradermal se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas. Estomas paracíticos con células subsidiarias irregulares, de tamaño menor que las células epidérmicas (Figuras 4H, I).

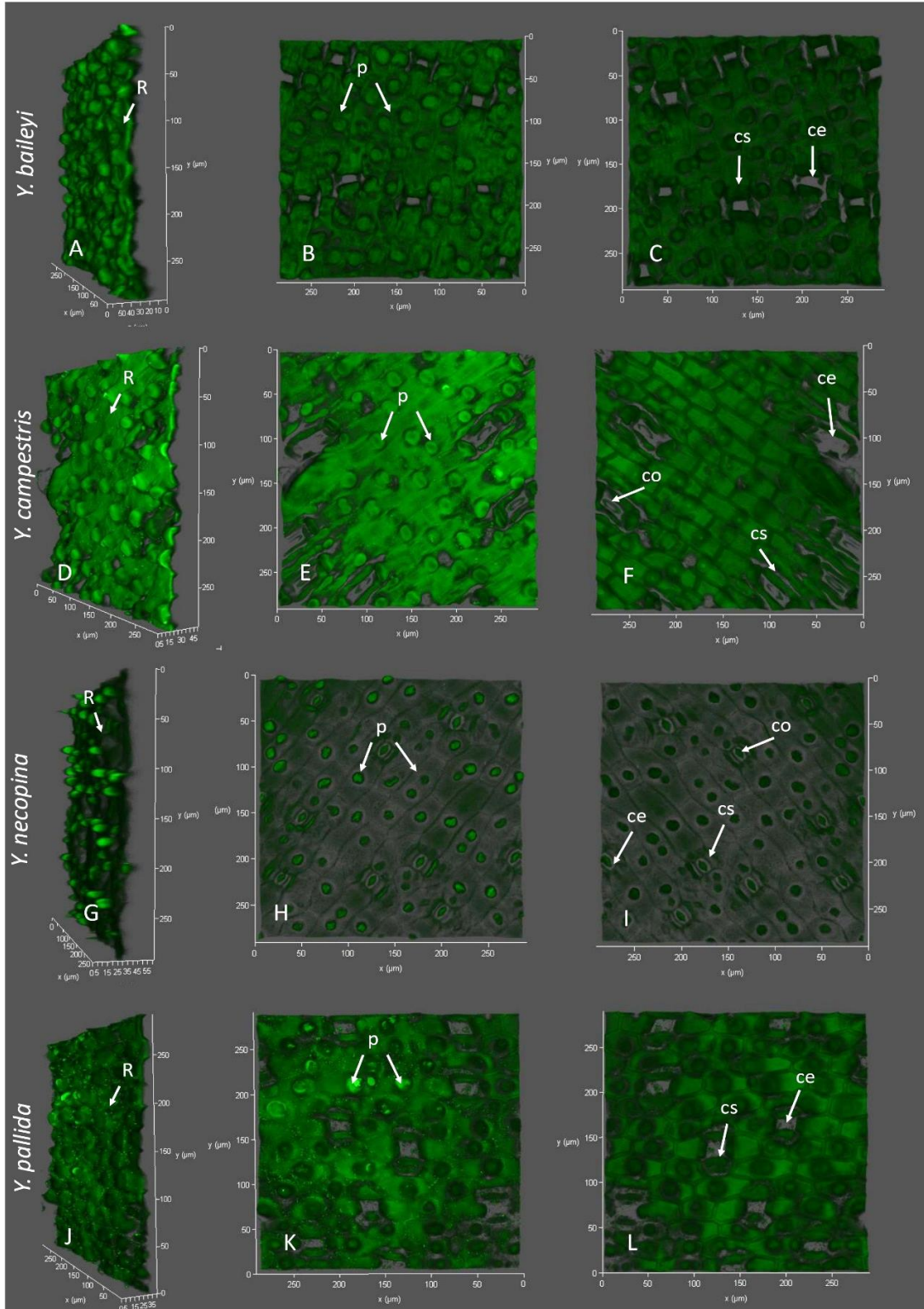


Figura 3. Cutículas de *Yucca* con presencia de papilas, vistas de perfil y paradermales de las caras exterior e interior. R, relieve; p, papilas; ce, complejo estomático; co, células oclusivas; cs, células subsidiarias.

8.1.10 *Yucca kanabensis*

En vista de perfil la cutícula es moderadamente gruesa (10 µm), penetra hasta 15 µm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación lisa (como también se observa en *Y. constricta*). En vista paradermal se observan células epidérmicas con escasas papilas, el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas ligeramente sinuosas. Estomas tetracíticos con células subsidiarias irregulares, más pequeñas que las células epidérmicas.

8.1.11 *Yucca madrensis*

De perfil, la cutícula es moderadamente gruesa (10 µm), penetra hasta 25 µm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación rugosa (Figura 2G). En vista paradermal se observan células epidérmicas con papilas, el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas. Estomas paracíticos con células subsidiarias regulares, de tamaño similar a las células epidérmicas (Figuras 2H, I).

8.1.12 *Yucca nana*

En vista de perfil la cutícula es gruesa (15 µm), penetra hasta 25 µm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación ligeramente estriada (Figura 4J). En vista paradermal se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células en su mayoría rectangulares a poligonales con paredes anticlinales ligeramente sinuosas. Estomas paracíticos con células subsidiarias regulares, de tamaño similar a las células epidérmicas (Figuras 4K, L).

8.1.13 *Yucca necopina*

El grosor de la cutícula es moderado (10 µm), penetra hasta 15 µm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación rugosa (Figura 3G). En vista paradermal se observan células epidérmicas con papilas, el contorno interno denota células poligonales con paredes anticlinales rectas. Estomas paracíticos con células subsidiarias irregulares, de tamaño menor a las células epidérmicas (Figuras 3H, I).

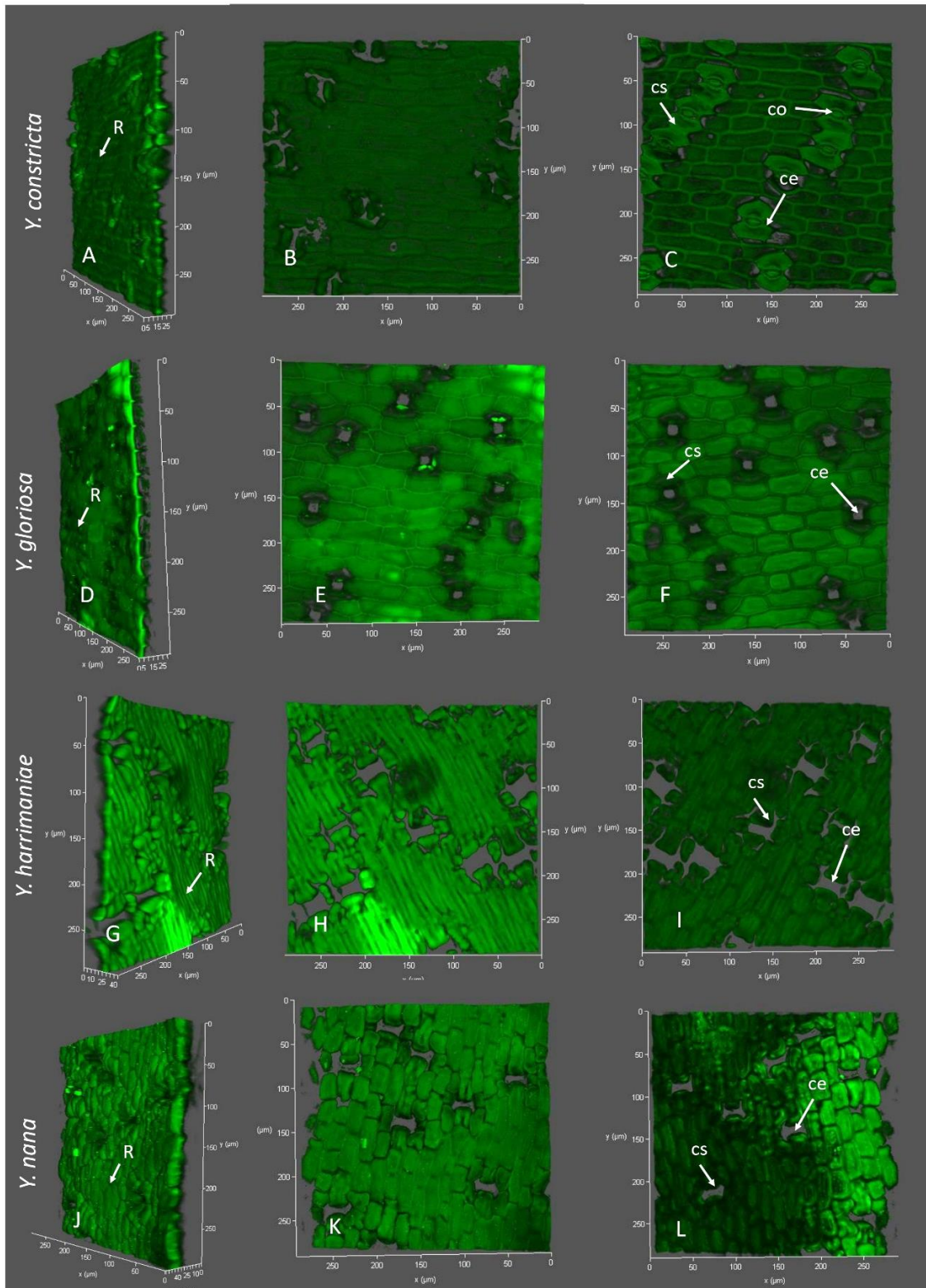


Figura 4. Cutículas de *Yucca* con estomas parásitos, vistas de perfil y paradermales de las caras exterior e interior. R, relieve; ce, complejo estomático; co, células oclusivas; cs, células subsidiarias.

8.1.14 *Yucca pallida*

La cutícula es delgada (5 μm), penetra hasta 10 μm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación rugosa (Figura 3J). En vista paradermal se observan células epidérmicas con papilas, el contorno interno denota células hexagonales a poligonales con paredes anticlinales rectas. Estomas paracíticos con células subsidiarias regulares, de tamaño similar a las células epidérmicas (Figuras 3K, L).

8.1.15 *Yucca rupicola*

De perfil, la cutícula es delgada (5 μm), penetra hasta 15 μm en los espacios intercelulares, presenta relieve irregular y ornamentación ligeramente estriada en el haz a predominantemente lisa en el envés (Figuras 5G, J). En vista paradermal se observan algunas células epidérmicas con papilas en el envés (Figura 5K), el contorno interno denota células poligonales largas con paredes anticlinales rectas. Estomas tetracíticos con células subsidiarias regulares, de tamaño similar a las células epidérmicas (Figuras 5I, L).

8.1.16 *Yucca verdiensis*

En vista de perfil la cutícula es gruesa (20 μm), penetra hasta 30 μm en los espacios intercelulares, presenta relieve predominantemente plano y ornamentación grumosa (Figura 2J). En sección paradermal se observan células epidérmicas sin papilas, el contorno interno denota células hexagonales a poligonales con paredes anticlinales rectas. Estomas paracíticos con células subsidiarias regulares, de tamaño similar a las células epidérmicas (Figuras 2K, L).

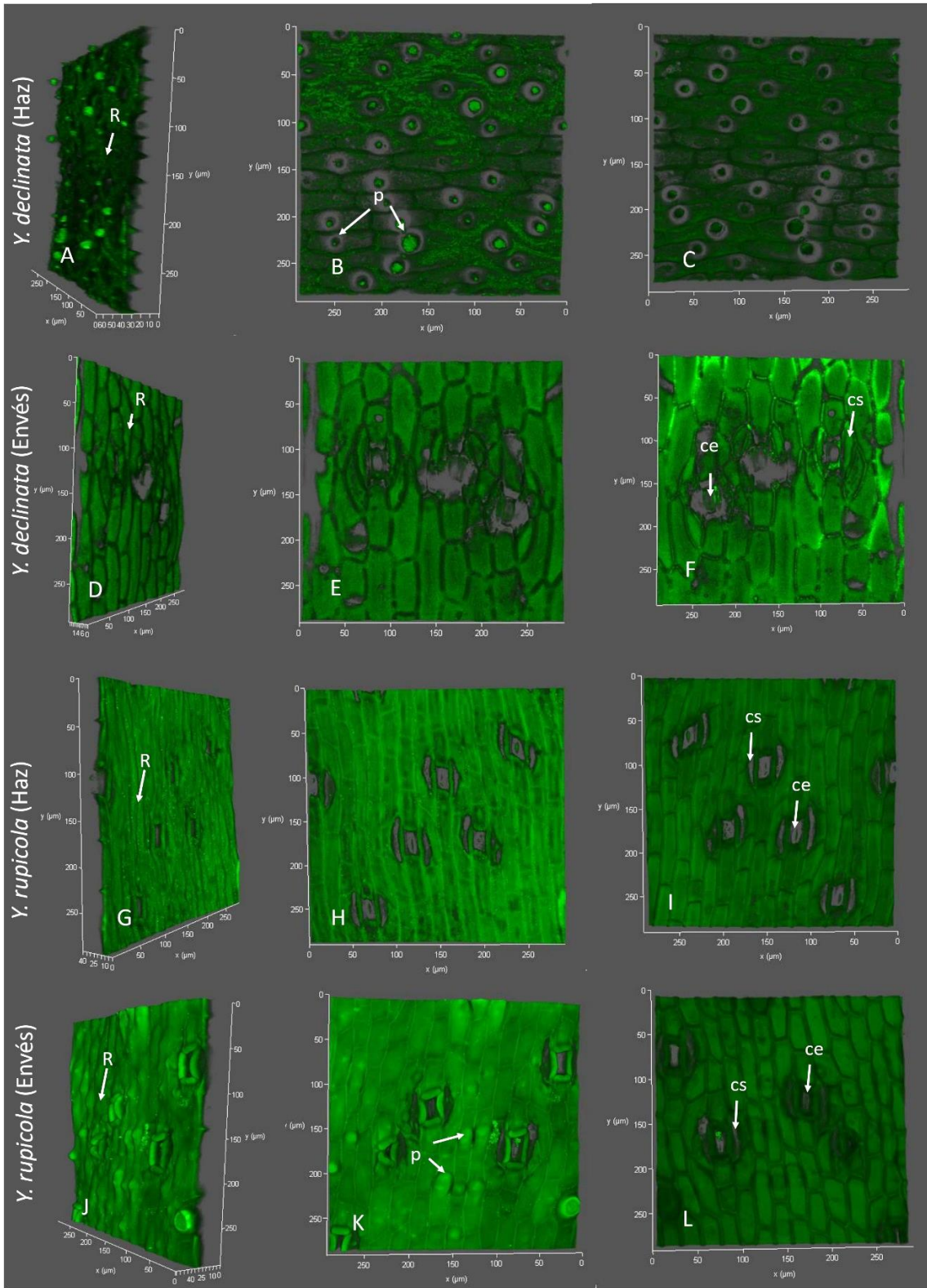


Figura 5. Cutículas de *Yucca* con diferencias morfológicas en las superficies adaxial y abaxial, vistas de perfil y paradermales de sus caras exterior e interior. R, relieve; ce, complejo estomático; cs, células subsidiarias; p, papilas.

8.2 Composición química de las cutículas foliares mediante ATR-FTIR

Los espectros ATR-FTIR obtenidos para las 16 especies de *Yucca* (Figura 6) permitieron identificar diversos picos correspondientes a grupos funcionales y enlaces químicos específicos. Los picos asignados a los principales componentes químicos de la cutícula en función al número de onda se presentan en el Cuadro 3.

En todas las especies se presentan dos picos principales con números de onda de 2,915 y 2,848 cm^{-1} que son asignados a las vibraciones de tensión simétrica y asimétrica de los CH_2 , respectivamente (Cuadro 3). Con frecuencia se presentó un pico en 1,460 cm^{-1} , asociado a la vibración de tipo tijera de los CH_2 . Dichos picos representan el material alifático presente en la cutina asociada a ceras de la cutícula. Además, se registraron en la mayoría de las especies dos picos en 1,718 y 1,731 cm^{-1} , los cuales se asignaron a los enlaces éster que forman uniones en los ácidos grasos a lo largo de la estructura de la cutina.

Adicionalmente, fue posible encontrar distintos picos que denotan la presencia de varios compuestos fenólicos en las cutículas de las especies estudiadas. Los principales picos se encuentran en: 1,634-1,637 cm^{-1} , asignado a los enlaces dobles carbono-carbono de los ácidos fenólicos; en 1,420-1,430 cm^{-1} , asignado a los enlaces carbono-hidrógeno aromáticos; en 1,030 cm^{-1} , correspondientes a la deformación en los enlaces simples carbono-oxígeno. Por último, se registraron los picos asignados a enlaces propios de los polisacáridos como la celulosa y la hemicelulosa, principalmente aquellos en 1,315-1,319 cm^{-1} y 1,158 cm^{-1} , asignados a las vibraciones de tijereteo de los CH_2 y de los enlaces glucosídicos, respectivamente.

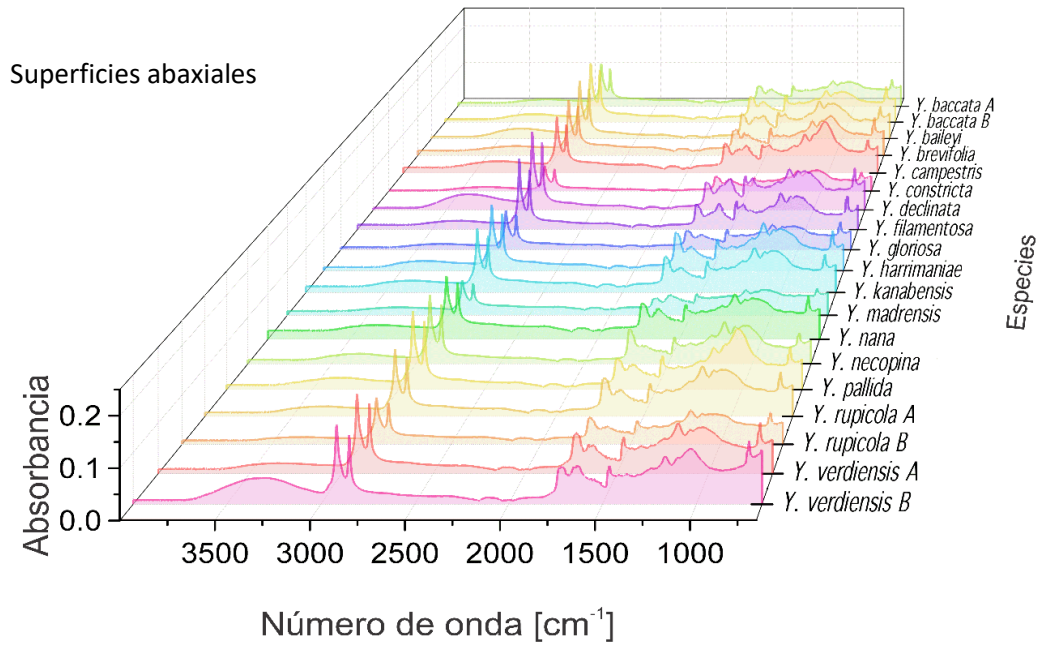
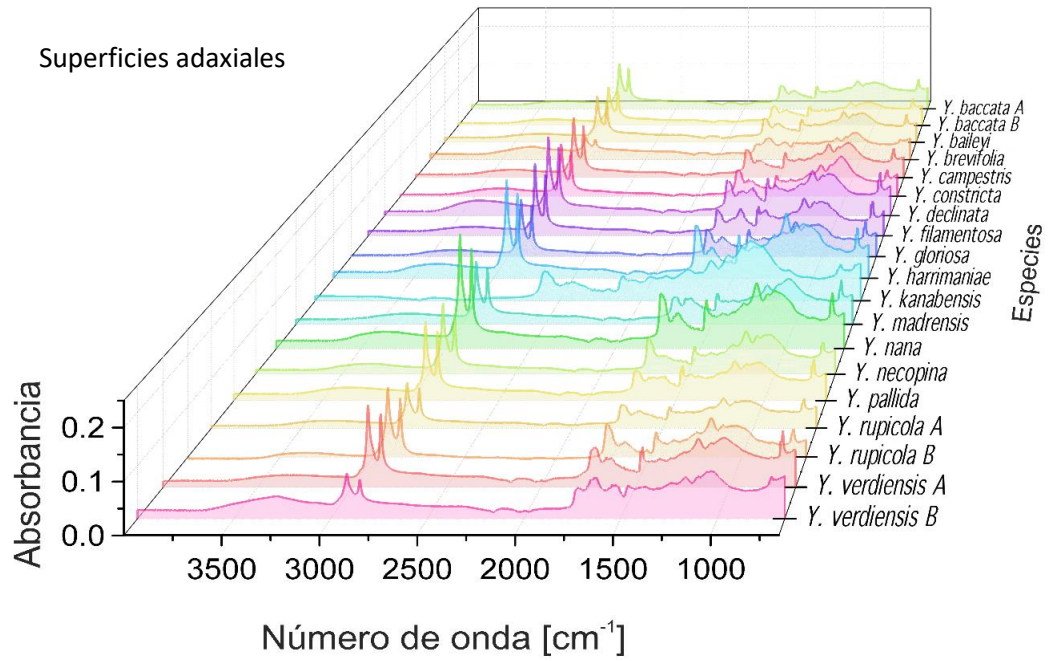


Figura 6. Espectros ATR-FTIR crudos obtenidos a partir de las cutículas en ambas superficies foliares de *Yucca*.

Cuadro 3. Asignación de los picos principales en los espectros ATR-FTIR de la cutícula.

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignaciones	Compuestos	Referencia
3,693-3,750	ν (O-H...O)	Cutina, polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014), Guzmán-Delgado <i>et al.</i> (2016)
3,568-3,577	ν H intramolecular	Compuestos fenólicos	Poletto <i>et al.</i> (2012), Popescu <i>et al.</i> (2009)
3,400-3,430	ν O-H	Compuestos fenólicos	Pandian <i>et al.</i> (2021), Pandi <i>et al.</i> (2021), Pang <i>et al.</i> (2021)
2,915	ν_a (CH ₂)	Cutina, ceras	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014), Guzmán-Delgado <i>et al.</i> (2016)
2,848	ν_s (CH ₂) en metil y metileno	Cutina, ceras	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014), Guzmán-Delgado <i>et al.</i> (2016)
1,731	ν (C=O) éster	Cutina	Fernández <i>et al.</i> (2011), Guzmán-Delgado <i>et al.</i> (2016)
1,718	ν (C=O...H) éster	Cutina	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
1,654	γ (C-H) aromático	Compuestos fenólicos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
1,610	(C=C) anillo aromático	Compuestos fenólicos	Toledano <i>et al.</i> (2010), Pandian <i>et al.</i> (2021)
1,543	ν (C-C) aromático (conjugado con C=C)	Compuestos fenólicos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
1,158	ν (C-O-C)	Celulosa y hemicelulosa	Pandey y Pitman (2003)
1,048	ν (C-O)	Celulosa y hemicelulosa	Pandey y Pitman (2003)
1,030	γ (C-O)	Compuestos fenólicos	Chen <i>et al.</i> (2010), Pang <i>et al.</i> (2021)
1,634-1,637	ν (C=C) ácido fenólico	Compuestos fenólicos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
1,510-1,523	ν (C-C) aromático	Compuestos fenólicos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
1,459-1,463	δ (CH ₂) tijereteo	Cutina, ceras	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
1,420-1,430	ν (C-H) aromático	Compuestos fenólicos	Poletto <i>et al.</i> (2012), Pandi <i>et al.</i> (2021)
1,366-1,376	δ (CH ₂) aleteo y torsión	Cutina, ceras, polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014), Lupoi <i>et al.</i> (2015)
1,315-1,319	δ (CH ₂) tijereteo	Celulosa, polisacáridos	Pinar <i>et al.</i> (2014), Lupoi <i>et al.</i> (2015)
1,258-1,268	δ (OH)	Cutina, polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
1,241-1,248	δ (OH)	Cutina, polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
1,161-1,168	ν_a (C-O-C), éster	Cutina	Guzmán-Delgado <i>et al.</i> (2016), Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
1,097-1,104	ν_s (C-O-C), éster	Cutina	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
1,054-1,064	ν (C-O-C), enlace glucosídico	Polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
953-956	ν (C-O)	Cutina, polisacáridos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
889-909	ν (C-H)	Celulosa	Reyes-Rivera y Terrazas (2017)
835-855	γ (C-H) aromático	Compuestos fenólicos	Xu <i>et al.</i> (2006), Toledano <i>et al.</i> (2010)
816-829	γ (C-H) aromático	Compuestos fenólicos	Heredia-Guerrero <i>et al.</i> (2014)
779	δ (CH ₂) balanceo	Compuestos fenólicos	Foo (1981)

Abreviaturas: ν , estiramiento; δ , flexión; γ , flexión fuera de plano; a , asimétrico; s , simétrico.

La abundancia relativa, expresada en porcentajes, se calculó con base en las asignaciones de los espectros ATR-FTIR para cada grupo funcional (Cuadro 4). Las especies que presentan los mayores porcentajes de cada compuesto son: *Yucca pallida* (cutina y ceras); *Y. necopina* (cutina); *Y. brevifolia* (compuestos fenólicos); *Y. kanabensis* (cutina asociada a polisacáridos); *Y. baileyi* (polisacáridos); *Y. madrensis* (celulosa). Las especies con menores porcentajes son: *Y. brevifolia* (cutina y cutina asociada a ceras); *Y. necopina* (compuestos fenólicos); *Y. declinata* (cutina y polisacáridos); *Y. pallida* (polisacáridos y celulosa).

Cuadro 4. Abundancias relativas de cada componente químico de la cutícula.

Especie	Porcentaje presente de cada compuesto*											
	Cutina y ceras		Cutina		Compuestos fenólicos		Cutina y polisacáridos		Polisacáridos y celulosa		Celulosa	
	H	E	H	E	H	E	H	E	H	E	H	E
<i>Yucca baccata</i>	53.5	56.3	21.2	20.7	18.1	15.6	4.2	4.1	1.8	0.7	1.2	2.9
<i>Y. baileyi</i>	53.1	43.4	22.4	23.3	20.9	16.8	3.6	3.6	0	12.7	0	0.1
<i>Y. brevifolia</i>	29.7	50.9	15.4	13.0	49.6	33.0	5.0	3.1	0.3	0	0	0
<i>Y. campestris</i>	48.7	50.7	21.5	26.3	25.9	17.2	3.6	5.9	0.2	0	0	0
<i>Y. constricta</i>	42.4	52.6	22.9	29.2	29.8	12.8	4.2	4.5	0.3	0.7	0.5	0.2
<i>Y. declinata</i>	55.2	55.5	23.6	24.4	12.6	13.3	3.8	0.8	4.7	5.9	0	0.1
<i>Y. filamentosa**</i>	55.8	-	25.3	-	14.1	-	4.6	-	0.3	-	0	-
<i>Y. gloriosa</i>	54.2	59.9	25.2	26.8	16.5	8.4	3.6	4.6	0.3	0.3	0.1	0
<i>Y. harrimaniae</i>	51.4	50.7	29.1	26.9	11.5	14.4	4.0	4.0	3.9	4.0	0	0
<i>Y. kanabensis</i>	37.9	50.0	19.5	25.8	33.2	15.0	7.0	4.5	1.3	0.6	1.1	4.0
<i>Y. madrensis</i>	57.5	54.2	21.7	12.8	16.0	12.6	4.2	6.8	0.5	7.7	0.1	5.9
<i>Y. nana</i>	50.8	49.6	24.1	24.8	18.0	18.1	3.0	3.3	4.1	4.2	0	0.1
<i>Y. necopina**</i>	53.9	-	30.6	-	10.4	-	4.8	-	0.3	-	0	-
<i>Y. pallida</i>	61.0	57.8	22.0	23.0	12.3	16.3	4.7	2.9	0	0	0	0
<i>Y. rupicola</i>	51.0	49.4	28.8	27.4	15.2	16.7	4.9	4.7	0.1	0.4	0	1.3
<i>Y. verdiensis</i>	41.3	50.4	20.6	23.0	33.1	22.7	4.6	3.5	0.2	0.2	0.1	0

Abreviaturas: H, Haz foliar o superficie adaxial; E, Envés foliar o superficie abaxial.

*Las proporciones se expresan en porcentajes y se calcularon en función de las asignaciones para los picos en los espectros ATR-FTIR.

**Para *Y. filamentosa* y *Y. necopina* se obtuvieron lecturas de ambas superficies foliares conjuntamente.

La similitud entre muestras fue calculada con base en la distancia euclidiana, usando las áreas bajo la curva de cada pico asignado en los espectros ATR-FTIR. Se realizó el análisis de agrupamiento jerárquico (HCA) para representar los grupos de especies más similares entre sí; los grupos formados por las 16 especies de *Yucca* se muestran en el dendrograma (Figura 7). Se observan dos grupos mayores (A^B con distancia mayor a 3), cada uno de estos, con dos subgrupos (C^D y E^F, respectivamente, con distancia mayor a 2). El Subgrupo C está formado por *Y. verdiensis*, *Y. kanabensis* y *Y. baccata*; el Subgrupo D incluye a *Y. constricta*, *Y. campestris*, *Y. brevifolia* y *Y. baileyi*. En el subgrupo E se incluyen *Y. rupicola*, *Y. pallida*, *Y. necopina* y *Y. madrensis*. El subgrupo F contiene a *Y. harrimaniae*, *Y. gloriosa*, *Y. filamentosa* y *Y. declinata*.

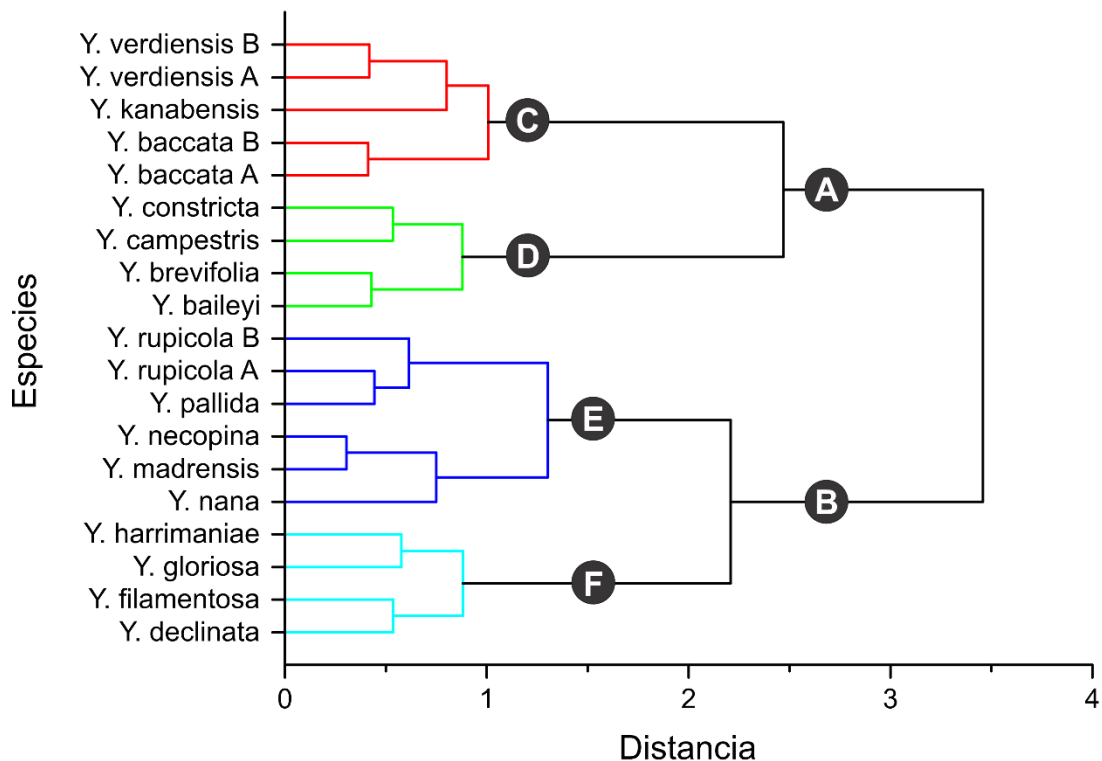


Figura 7. Análisis de agrupamiento jerárquico (HCA) con base en las similitudes calculadas a partir de los espectros ATR-FTIR de la cutícula adaxial.

En el análisis de componentes principales (PCA), la distribución espacial de las variables permitió recuperar los mismos grupos de especies que en el HCA. Por ejemplo, las especies del Grupo mayor A fueron

separadas del resto por la contribución negativa del PC1 (Figura 8); dentro de este grupo se puede observar que *Y. verdiensis*, *Y. kanabensis* y *Y. baccata* (Subgrupo C) se separan de las especies del Subgrupo D por una contribución positiva del PC2.

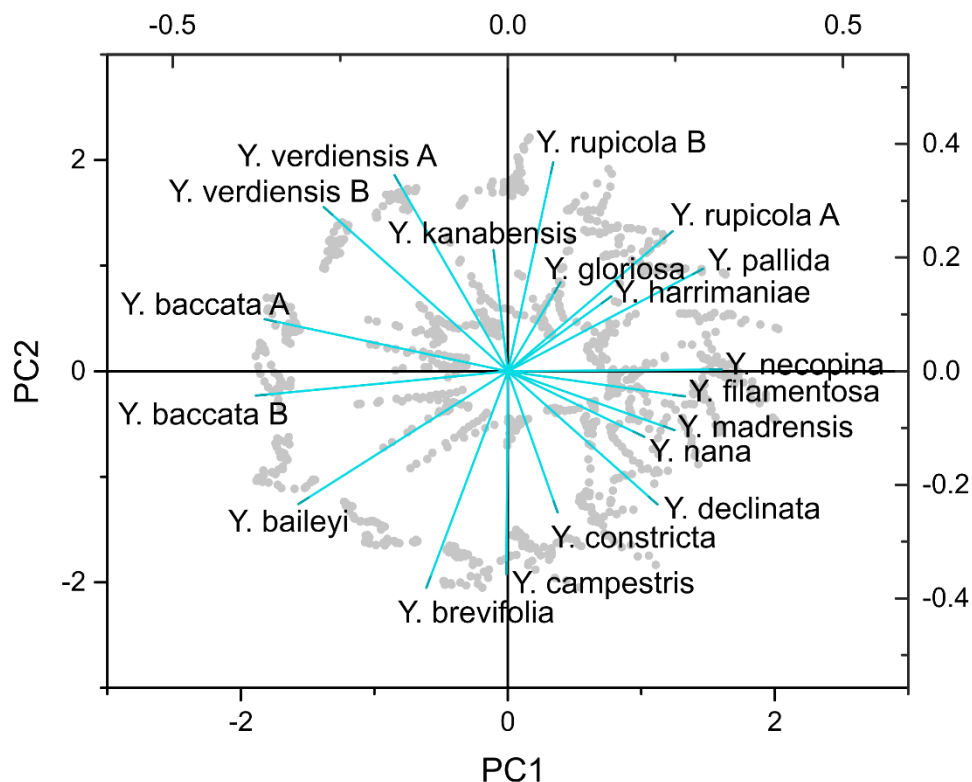


Figura 8. Gráfica biplot obtenida del PCA con base en las abundancias relativas de cada pico asignado en los espectros ATR-FTIR de la cutícula adaxial.

IX DISCUSIÓN

9.1 Autofluorescencia de la cutícula y su relación con el análisis estructural

La microscopía confocal es considerada como una herramienta útil para el análisis estructural en el campo de la botánica. Los tejidos vegetales contienen muchos compuestos fluorescentes como la clorofila, la lignina o la suberina (García-Plazaola *et al.*, 2015), lo que hace posible aplicar técnicas de fluorescencia para la

generación de imágenes (Donaldson, 2020). La autofluorescencia de la cutícula es atribuida a la cutina como componente principal, no obstante, ésta no es muy conspicua (Donaldson y Williams, 2018), por lo que la fluorescencia puede originarse debido a los ácidos fenólicos o flavonoides asociados a su estructura (Fernández *et al.*, 1999).

Las imágenes obtenidas por medio de CLSM revelaron una diversidad morfológica en las 16 especies de *Yucca*. Las longitudes de onda utilizadas en este estudio para visualizar de manera óptima las cutículas comprenden un rango de 491-580 nm. Fernández *et al.* (1999) reportan una excitación en 488 nm de las cutículas en hojas y frutos de distintas especies. Buda *et al.* (2009), por su parte, utilizaron longitudes de onda de 491-563 nm para visualizar las cutículas de *Solanum lycopersicum*. Los autores anteriormente citados resaltan el papel de los compuestos fenólicos como componentes autofluorescentes de la cutícula para estas longitudes de onda.

En el análisis FTIR las cutículas de *Yucca* registraron un total de 12 picos asignados a compuestos fenólicos (Cuadro 3). La fluorescencia intrínseca de la cutícula se debe principalmente a la presencia de flavonoides y ácidos cinámicos, que son compuestos fenólicos de bajo peso molecular con una amplia diversidad estructural y funcional, que además sirven como puntos de anclaje con las células epidérmicas (Fernández *et al.*, 1999). También fue posible detectar cuatro picos asignados a polisacáridos que se encuentran contenidos en la cutícula, tales como celulosa y hemicelulosa asociados a la lignina. Al igual que los fenoles, los polisacáridos tienen capacidad de autofluorescencia, que en la celulosa se ha atribuido a la asociación con fracciones de lignina y compuestos aromáticos, como lignanos, flavonoides y taninos (Albinsson *et al.*, 1999).

De las 16 especies de *Yucca* analizadas, la mayoría se distribuyen en las regiones áridas y subtropicales del norte de México y del sur y centro-sur de EUA, con excepción de tres especies: *Y. baccata*, cuya distribución comprende desde el sur de Nevada hasta el centro de México, *Y. filamentosa* y *Y. gloriosa*, que son exclusivas de las regiones templadas del Este de EUA

(<https://powo.science.kew.org>). En general, se pueden observar distintas adaptaciones que favorecen las funciones de la cutícula en condiciones de temperaturas altas y humedad escasa, como ocurre en los desiertos, matorrales y bosques subtropicales del norte de México y el sur de EUA. Un ejemplo son las cutículas gruesas que se observaron en las especies *Y. baccata*, *Y. brevifolia*, *Y. kanabensis*, *Y. nana* y *Y. verdiensis*, cuyos valores se encuentran en el rango de los 10-25 μm . Para el resto de las especies se registraron cutículas predominantemente delgadas ($\approx 5 \mu\text{m}$); no obstante, fue posible observar otras características asociadas, como el desarrollo de células epidérmicas largas, el desarrollo de apéndices y las células estomáticas hundidas, como también reporta Álvarez de Zayas (1990) para algunos ejemplares de *Yucca* y otros géneros relacionados.

La presencia de papilas prominentes, localizadas sobre cada célula epidérmica se observó en *Y. baileyi*, *Y. campestris*, *Y. necopina*, *Y. pallida* y en el haz de *Y. declinata*, en contraste con lo reportado por Sánchez-Manzo (2020), en donde solo se presentaron papilas en 5 de las 28 especies mexicanas de *Yucca*. La única especie septentrional en donde se observaron tricomas fue *Y. baccata*, los cuales representan una adaptación para la regulación hídrica y térmica de la lámina ante condiciones de estrés (Holmes y Keiller, 2002), pero además adquieren roles protectores y defensivos que desempeñan de forma dinámica al servir como sitios de acumulación de compuestos fenólicos (Karabourniotis *et al.*, 2020). En las imágenes obtenidas de las cutículas de *Y. baccata* (Figuras 2A-C) se hace evidente este fenómeno; para lograr una visualización completa de los componentes químicos se incluyó un segundo canal, con un rango de longitud entre 643-763 nm asociado al color rojo, que denota una heterogeneidad de compuestos en la cutícula, asociados a los tricomas y las papilas.

La mayoría de las especies presentaron estomas por debajo de la superficie epidérmica, lo que impidió en algunos casos observar las células oclusivas. En *Y. brevifolia* este desnivel se pronuncia en todo el complejo estomático. El tipo de estoma más frecuente fue el paracítico, esto concuerda con los resultados obtenidos por Sánchez-Manzo (2020) para el género *Yucca*, así como lo reportado por algunos

autores para otros géneros de Agavaceae, como *Polianthes* (Solano *et al.*, 2013) y *Manfreda* (Solano *et al.*, 2017).

9.2 Composición química de la cutícula

La espectrometría infrarroja utiliza la excitación de las vibraciones moleculares presentes en los enlaces químicos por medio de la absorción de luz, posteriormente la onda absorbida o reflejada y su intensidad se registran en forma de picos o bandas en el espectro (Heredia-Guerrero *et al.*, 2014). Los análisis ATR-FTIR pueden detectar una variedad de constituyentes orgánicos presentes en las superficies de las hojas. El análisis de los espectros puede tener aplicaciones en los estudios botánicos o ecológicos y se ha sugerido el potencial de esta técnica para la identificación de especies (Ribeiro da Luz, 2006). La caracterización de las cutículas foliares de *Yucca* por medio de ATR-FTIR ha provisto información significativa sobre la naturaleza química y la estructura de sus componentes.

Los picos asignados a las vibraciones de los enlaces en los grupos CH₂ fueron los de mayor área en los espectros de las 16 especies de *Yucca* (Figura 6). Estos corresponden a la fracción de cutina que contiene ceras y representan los principales componentes de la cutícula, también son los responsables de su rigidez estructural e impermeabilidad (España *et al.*, 2014). Los porcentajes obtenidos de cutina y ceras tienen una media de 51.2%, con un mínimo de 29.71% y un máximo de 60.97% (Cuadro 4). Estos pueden ser interpretados como valores altos en comparación con los reportados por Sánchez-Manzo (2020) en cutículas de yucas con distribución meridional, donde la fracción de cutina y ceras no supera el 50%.

Las siguientes regiones más representativas fueron específicas de la cutina, alcanzando porcentajes de entre 13 y 30%. Además, se presentaron en todas las especies dos picos con números de onda de 1,241-1,248 cm⁻¹ y 1,258-1,268 cm⁻¹, que corresponden a la fracción de cutina asociada a polisacáridos de las regiones cuticulares más cercanas a la pared celular de las células epidérmicas (Heredia-Guerrero *et al.*, 2014) y pueden representar de un 0.75 a un 7% de los compuestos asignados. Ribeiro da Luz (2006) menciona que el total de material poliésterico que

conforma la cutina, en cutículas de tomate, puede representar más del 80% del peso seco; Heredia-Guerrero *et al.* (2014), por otra parte, reporta que estos porcentajes pueden ir del 50 al 80%. Esto es similar a los resultados obtenidos en el presente trabajo: la media del total de las áreas para los picos asignados a cutina en el haz foliar de las 16 especies es de 76.67%, con un mínimo de 50.06% en *Y. brevifolia* y un máximo de 89.28% en *Y. necopina*.

Los compuestos fenólicos representan desde un 10% del área total asignada en *Y. necopina* hasta casi un 50% en *Y. brevifolia* (Cuadro 4). Los fenoles pueden encontrarse embebidos en la matriz cuticular al tener una estructura compleja y baja polaridad, o estar unidos covalentemente a la cutina y las ceras cuticulares vía enlaces éter o éster, como en el caso de los fenoles de bajo peso molecular. Estos compuestos contribuyen a las funciones de la cutícula, como la resistencia a la radiación, las interacciones planta-microorganismo/animal y la alelopatía, además, poseen propiedades antioxidantes, significancia taxonómica y le confieren rigidez y permeabilidad (Karabourniotis y Liakopoulos, 2005).

Los polisacáridos también contribuyen en gran medida a la capacidad de sorción de agua que posee la planta a través de la cutícula (Tredenick y Farquhar, 2021), su contribución puede ascender a un 67%, en contraste con la cutina y las ceras que representan un 33% (Chamel *et al.*, 1991), además, representan los sitios de anclaje entre la cutícula y la pared celular. López-Casado *et al.* (2007) mencionan que un 14-28% del peso seco de las cutículas está conformado por polisacáridos. No obstante, la mayoría de las especies de *Yucca* aquí estudiadas, con excepción de *Y. baileyi* y *Y. madrensis*, presentan una fracción menor al 10%, similar a la que reporta Sánchez-Manzo (2020) para las especies de distribución meridional.

9.3 La cutícula foliar en relación con la sistemática de *Yucca*

Para las caracterizaciones morfológicas y bioquímicas de las cutículas de *Yucca*, se propuso analizar las similitudes o diferencias en relación con las clasificaciones taxonómicas subgenéricas y descripciones específicas reportadas en la literatura. Respecto a la sección *Clistocarpa*, representada únicamente por *Y. brevifolia*, se

pueden resaltar los complejos estomáticos hundidos en conjunto con una cutícula relativamente gruesa. En la sección *Sarcocarpa*, representada por cuatro especies, se observa que *Y. baccata*, *Y. declinata*, *Y. madrensis* poseen similitudes morfológicas, como una variedad de protuberancias donde se presentan papilas, tricomas y verrugas cuticulares, así como el relieve irregular y la ornamentación rugosa. *Y. gloriosa*, por su parte, se asemeja más con otras especies de *Sarcocarpa* como *Y. carnerosana*, que presenta cutículas delgadas, sin proyecciones y estomas paracíticos (Sánchez-Manzo, 2020).

En la sección *Chaenocarpa* se localizan el resto de las especies estudiadas. La serie *Elatae* se encuentra bien representada por ocho especies, las cuales revelan una diversidad morfológica en los contornos celulares, los complejos estomáticos, la ornamentación y el grosor de la cutícula. Únicamente *Y. baileyi* y *Y. campestris* presentan papilas y también comparten la mayoría de sus características. En la serie *Elatae* también es donde se encuentran los ejemplares que son importantes contrastar en este apartado, debido a que tienen asignada una nomenclatura que hace posible encontrar sinónimos y algunas controversias taxonómicas, según los autores o bases de datos que se consultaron. Por ejemplo, *Yucca constricta* Buckley se considera sinónimo de *Yucca elata* (Engelm.) Engelm en Tropicos (<https://www.tropicos.org>), en las cutículas de *Y. constricta* se presentan paredes anticlinales que denotan células epidérmicas largas con forma rectangular, así como un grosor de la matriz cuticular de 5 µm, en contraste con lo reportado por Sánchez-Manzo (2020) para *Y. elata* que posee células epidérmicas con formas poligonales regulares y un grosor en el orden de los 10 µm. Además, *Y. constricta* guarda similitudes en su composición química con *Y. baileyi*, ambas agrupadas en el Subgrupo D por el HCA (Figura 7). Estos resultados son acordes a las hipótesis filogenéticas de Clary y Simpson (1995) y Smith *et al.* (2008), en donde *Y. constricta* y *Y. elata* aparecen como especies diferentes que se encuentran estrechamente relacionadas entre sí, al igual que con *Y. baileyi*.

Un caso más generalizado es la sinonimia de *Yucca nana* Hochstätter, con respecto a *Yucca harrimaniae* Trel., de acuerdo con bases de datos digitales

(<https://powo.science.kew.org/>; <http://www.theplantlist.org/>). *Yucca nana* como especie tampoco está representada en las filogenias de *Yucca* previamente citadas. En los especímenes analizados se pueden observar diferencias en la forma de los contornos celulares de la epidermis, la ornamentación y en el grosor de sus cutículas. Estas especies poseen diferencias en la composición química de las cutículas con base en los espectros ATR-FTIR (Figura 6) y no se agrupan en el HCA ni en el PCA (Figuras 7 y 8). Por lo anterior, se sugiere profundizar en la sistemática de ambos taxones para esclarecer sus relaciones filogenéticas y poder confirmar si corresponden a una misma especie o a dos especies distintas, o bien, considerar la existencia de una o más variedades o formas de *Y. harrimaniae*.

Por último, *Yucca verdiensis* McKelvey, actualmente se encuentra en las bases de datos digitales como sinónimo de *Yucca elata* var. *verdiensis* (McKelvey) Reveal. Esta nomenclatura se puede sustentar por la morfología cuticular, debido a que presenta un grosor mayor a 15 μm , que le confiere la particularidad de poseer ornamentación rugosa y un relieve liso que impide observar los contornos celulares en la cara exterior. Por otra parte, *Y. elata* presenta cutículas más delgadas, con relieve irregular y ornamentación lisa (Sánchez-Manzo, 2020).

La serie *Rupicolae* es un grupo monofilético perteneciente a la sección *Chaenocarpa* y está conformado por unas seis especies que evolucionaron desde el altiplano central mexicano hasta el norte de Texas (Pellmyr *et al.*, 2007). En este trabajo se consideraron las especies *Y. pallida* y *Y. rupicola*, las cuales no poseen cutículas con semejanzas anatómicas evidentes más allá del relieve irregular, sin embargo, poseen una gran similitud en su composición química, de acuerdo con los análisis HCA y PCA realizados con las abundancias relativas obtenidas del análisis ATR-FTIR (Figuras 7 y 8), así como antecedentes bibliográficos que establecen su cercanía biogeográfica y evolutiva (Pellmyr *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2008).

Finalmente, *Yucca necopina* es una especie perteneciente a la sección *Chaenocarpa*, más restringida que el resto y actualmente solo se conoce por distribuirse en el estado de Texas. Su posición taxonómica en *Chaenocarpa* es incierta, y es posible que se localice en la serie *Arkansanae* (Etter y Kristen, 1997-

2023). En las imágenes obtenidas con CLSM se observó que fue la única especie en presentar cutícula muy delgada, menor a 5 μm y con zonas sin fluorescencia, así como las células epidérmicas de menor tamaño y complejos estomáticos muy superficiales. Esta especie también comparte algunas características con *Y. pallida*, como los estomas paracíticos, el relieve irregular y la presencia de papilas, ambas especies se distribuyen en el estado de Texas, comúnmente en los pastizales de las regiones templadas y subtropicales.

Con base en los resultados observados en este trabajo y los antecedentes para el género *Yucca*, se considera altamente probable que varias de las características anatómicas y bioquímicas de la cutícula foliar estén relacionadas con la taxonomía y la distribución de sus especies. La composición química de la cutícula también puede variar entre individuos de la misma especie, por lo que resulta conveniente aumentar el número de ejemplares estudiados para poder utilizar los espectros ATR-FTIR de las cutículas foliares como criterio de delimitación.

X CONCLUSIONES

La microscopía confocal (CLSM) y la espectrometría infrarroja (ATR-FTIR) son herramientas que permitieron estudiar una variedad de caracteres en el análisis estructural y de composición química de la cutícula foliar, de este modo fue posible reconocer los atributos que pueden tener importancia taxonómica dentro del género *Yucca*. Aquellos que son exclusivos para algunas especies y que pueden contribuir a la delimitación de estas son: los tricomas en *Y. baccata*, que presentan fluorescencia con dos longitudes de onda distintas; los complejos estomáticos hundidos y la acumulación de compuestos fenólicos en *Y. brevifolia*; las verrugas cuticulares en *Y. madrensis*; el relieve liso y la ornamentación grumosa en *Y. verdiensis* y la presencia de papilas únicamente en el haz foliar de *Y. declinata*. Respecto a las diferencias anatómicas que pueden contribuir a la agrupación de las especies resaltan los complejos estomáticos de dos tipos, paracíticos en nueve

especies y tetracíticos en seis; las protuberancias papilosas, presentes en siete especies y la ornamentación, que presenta cuatro variantes, siendo más común la de tipo estriada, presente en seis especies.

La espectrometría infrarroja permitió analizar los grupos funcionales de los componentes cuticulares por medio de la radiación electromagnética que pueden absorber sus enlaces químicos. En el análisis ATR-FTIR se obtuvieron espectros que permitieron caracterizar los componentes de las cutículas, así como sus abundancias relativas. La cutina y las ceras que se encuentran en la matriz cuticular son los compuestos mayoritarios. Por otra parte, las fracciones de compuestos fenólicos y polisacáridos mostraron la mayor variabilidad. Los análisis estadísticos mostraron que los individuos de la misma especie aparecen el mismo grupo o en subgrupos cercanos como consecuencia de la alta similitud en la composición química de sus cutículas. Además, se recuperan algunos agrupamientos de especies que concuerdan con las filogenias de *Yucca* publicadas anteriormente por otros autores; por ejemplo, el grupo formado por las especies de la serie *Rupicola*.

XI REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albinsson, B. Li, S.M., Lundquist, K. & Stomberg, R. (1999). The origin of lignin fluorescence. *J Mol Struct*, 508, 19–27. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(98\)00913-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(98)00913-2)
- Ali, M., Bahadur, S., Hussain, A., Saeed, S., Khuram, I., Ullah, M., ... & Akhtar, N. (2020). Foliar epidermal micromorphology and its taxonomic significance in *Polygonatum* (Asparagaceae) using scanning electron microscopy. *Microscopy Research and Technique* 1–10. <https://doi.org/10.1002/jemt.23529>
- Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E. A., Hernández-Vargas, V., Ortega-Chávez, M., Orea-Lara, G., Cifuentes-Díaz de Leon, A., Ávila-Reyes, J.A. & Muñiz-Martínez, R. (2009). Profiling of Phenolic Compounds of Somatic and Reproductive Tissues of *Agave durangensis* Gentry (Agavaceae). *American*

- Journal of Applied Sciences*, 6(6), 1076–1085. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2009.1076.1085>
- Almaraz-Abarca, N., González-Elizondo, M.S., Tena-Flores, J. A., Antonio Ávila-Reyes, J.A., Herrera-Corral, J. & Naranjo-Jiménez, N. (2006). Foliar flavonoids distinguish *Pinus leiophylla* and *Pinus chihuauana* (Coniferales: Pinaceae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 119(3), 426–436. [https://doi.org/10.2988/0006-324x\(2006\)119\[426:ffdpla\]2.0.co;2](https://doi.org/10.2988/0006-324x(2006)119[426:ffdpla]2.0.co;2)
- Althoff, D. M., Segraves, K. A., Smith, C. I., Leebens-Mack, J., & Pellmyr, O. (2012). Geographic isolation trumps coevolution as a driver of yucca and yucca moth diversification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(3), 898–906. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.11.024>
- Álvarez de Zayas, A. (1988). Morfología y anatomía floral de las agavaceae. *Revista Del Jardín Botánico Nacional*, (3), 37–57. <http://www.jstor.org/stable/42597563>
- Álvarez de Zayas, A. (1990). El complejo estomático en la familia Agavaceae II. Epidermis adulta. *Feddes Repertorium*, 101, 113–114. <https://doi.org/10.1002/fedr.19901010304>
- Archibald, J. K., Kephart, S. R., Theiss, K. E., Petrosky, A. L., & Culley, T. M. (2015). Multilocus phylogenetic inference in subfamily Chlorogaloideae and related genera of Agavaceae – Informing questions in taxonomy at multiple ranks. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 84, 266–283. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.12.014>
- Artabe, A.E. & Archangelski, S. (1992). Las Cycadales *Mesodescolea* Archangelsky Eemend. Archangelsky y Petriella 1971 (Cretacico) y *Stangeria* Moore (actual). *Asociación Paleontológica Argentina*, 29(2), 115–123. [Ameghiniana - Google Libros](#)
- Baker, J. G. (1870). The known forms of *Yucca*—1. *The Gardeners' chronicle and agricultural gazette*, 1870, 828. <https://www.biodiversitylibrary.org/page/26127668#page/846/mode/2up>

- Baranova, M. (1972). Systematic Anatomy of the Leaf Epidermis in the Magnoliaceae and Some Related Families. *Taxon*, 21(4), 447.
<https://doi.org/10.2307/1219106>
- Blunden, G., Yi, Y. & Jewers, K. (1973). The comparative leaf anatomy of *Agave*, *Beschorneria*, *Doryanthes* and *Furcraea* species (Agavaceae: Agaveae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 66(2), 157–179. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1973.tb02167.x>
- Bogler, D.J., Pires, J.C. & Francisco-Ortega, J. (2006). Phylogeny of Agavaceae Based on *ndhF*, *rbcL*, and its Sequences. *Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany*, 22(1), 313–328.
<https://doi.org/10.5642/aliso.20062201.26>
- Buda, G.J., Isaacson, T., Matas, A.J., Paolillo, D.J. & Rose J.K.C. (2009). Three-dimensional imaging of plant cuticle architecture using confocal scanning laser microscopy. *The Plant Journal*, 60(2), 378–385. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03960.x>
- Burghardt, M. & Riederer, M. (2006). Cuticular transpiration. En M Riederer y C Müller (Eds.), *Biology of the Plant Cuticle, Annual Plant Reviews*, 23 (pp. 292–311). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470988718.ch9>
- Carrière, E. A. (1859). Essai d'une classification des diverses espèces et variétés du genre *Yucca*. *Revue horticole* (Paris), 1859, 385–391.
<http://biodiversitylibrary.org/page/49745660>
- Chamel, A., Pineri, M. & Escoubes, M. (1991). Quantitative determination of water sorption by plant cuticles. *Plant Cell Environ*, 14, 87–95.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb01374.x>
- Chase, M.W., Reveal, J.L. & Fay, M.F. (2009). A subfamilial classification for the expanded asparagalean families Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 132–136.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00999.x>

- Chen, H., Ferrari, C., Angiuli, M., Yao, J., Raspi, C. & Bramanti, E. (2010). Qualitative and quantitative analysis of wood samples by Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 772–778. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.05.052>
- Clary, K. H. (1997). Phylogeny, character evolution, and biogeography of *Yucca* L. (Agavaceae) as inferred from plant morphology and sequences of the internal transcribed space (ITS) region of the nuclear ribosomal DNA. Ph.D. dissertation. University of Texas. Austin, USA.
- Clary, K. H. (2001). The genus *Hesperoyucca* (Agavaceae) in the western United States and Mexico: new nomenclatural combinations. *SIDA, Contributions to Botany*, 19(4), 839–847. <https://www.jstor.org/stable/41967935>
- Clary, K.H. & Simpson, B.B. (1995). Systematics and character evolution of the genus *Yucca* L. (Agavaceae): Evidence from morphology and molecular analyses. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 56, 77–88. <https://doi.org/10.17129/botsci.1466>
- Considine, J.A. & Knox, R.B. (1979). Development and histochemistry of the cells, cell walls, and cuticle of the dermal system of fruit of the grape *Vitis vinifera* L. *Protoplasma*, 99, 347–365. <https://doi.org/10.1007/BF01275807>
- Domínguez, E., España, L., López-Casado, G., Cuartero, J., & Heredia, A. (2009). Biomechanics of isolated tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit cuticles during ripening: the role of flavonoids. *Functional Plant Biology*, 36(7), 613–620. <https://doi.org/10.1071/FP09039>
- Donaldson, L. (2020). Autofluorescence in Plants. *Molecules*, 25, 2393. <https://doi.org/10.3390/molecules25102393>
- Donaldson, L. & Williams, N. (2018). Imaging and Spectroscopy of Natural Fluorophores in Pine Needles. *Plants*, 7, 10. <https://doi.org/10.3390/plants7010010>

- Dürrenberger, M.B., Handschin, S., Conde-Petit, B. & Escher, F. (2001). Visualization of Food Structure by Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM). *LWT - Food Science and Technology*, 34, 11–17.
<https://doi.org/10.1006/fstl.2000.0739>
- Engelmann, G. (1871). *Yucca and Agave* [additions]. En: Watson, S. (Ed.), *United States Geological Exploration of the Fortieth Parallel* (pp. 496–497). Clarence King Botany US Government Printing Office.
<https://www.biodiversitylibrary.org/page/6207964#page/584/mode/2up>
- Etter, J. & Kristen, M. (1997-2023). *Yucca Group accordig to Subgenus and Section*. Recuperado el 25 de febrero de 2023 de:
https://www.agavaceae.com/botanik/pflanzen/botgattungs_groups_en.asp?bgt=am&genus=YUCCA&gnr=230
- España, L., Heredia-Guerrero, J. A., Segado, P., Benítez, J. J., Heredia, A. & Domínguez, E. (2014). Biomechanical properties of the tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit cuticle during development are modulated by changes in the relative amounts of its components. *New Phytologist*, 202(3), 790–802.
<https://doi.org/10.1111/nph.12727>
- Evert, R.F. & Eichhorn, S.E. (2013). *Raven Biology of Plants*. W.H. Freeman and Company Publishers.
- Falczuk, V., Rosati, V.R. & Cabido, M. (1996). Caracteres epidérmicos foliares de valor diagnóstico para identificar especies vegetales de Pampa de Achala (Córdoba, Argentina). *Agriscientia*, 13, 41–58.
<https://doi.org/10.31047/1668.298x.v13.n0.2481>
- Fernández, S., Osorio, S. & Heredia, A. (1999). Monitoring and visualising plant cuticles by confocal laser scanning microscopy. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37(10), 789–794. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)86692-9](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)86692-9)
- Fiasson, J. L., Gluchoff-Fiasson, K. & Dahlgren, G. (1997). Flavonoid patterns in European *Ranunculus L.* subgenus *Batrachium* (Ranunculaceae). *Biochemical*

- Systematics and Ecology*, 25(4), 327–333. [https://doi.org/10.1016/s0305-1978\(97\)00021-5](https://doi.org/10.1016/s0305-1978(97)00021-5)
- Foo, L. Y. (1981). Proanthocyanidins: gross chemical structures by infrared spectra. *Phytochemistry*, 20, 1397–1402
- García-Mendoza, A.J. (2011). Agavaceae. Fascículo 88. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. [F88_Agav.pdf \(unam.mx\)](#)
- García-Plazaola, J. I., Fernández-Marín, B., Duke, S. O., Hernández, A., López-Arbeloa, F. & Becerril, J. M. (2015). Autofluorescence: Biological functions and technical applications. *Plant Science*, 236, 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.03.0>
- Guevara, L.I., Stauffer, F.W. & Jáuregui, D.J. (2011). Anatomía comparativa de la lámina foliar y sistemática en la subtribu neotropical Mauritiinae (Arecaceae, Calamoideae). *Brittonia*, 63(3), 379–395. <https://doi.org/10.1007/s12228-010-9176-7>
- Guo, S., Wei, C., Zhu, Y. & Zhang, Y. (2021). The distribution and retained amount of benzo[a]pyrene at the micro-zones of mangrove leaf cuticles: Results from a novel analytical method. *Environmental Pollution*, 287, 117589. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117589>
- Guzmán-Delgado, P., Graça, J., Cabral, V., Gil, L. & Fernández, V. (2016). The presence of cutan limits the interpretation of cuticular chemistry and structure: *Ficus elastica* leaf as an example. *Physiologia Plantarum*, 157(2), 205–220. <https://doi.org/10.1111/ppl.12414>
- Henslow, J. S. (1831). On the examination of a hybrid *Digitalis*. *Transactions of the Cambridge Philosophical Society*, 4, 257–278.
- Herbin, G. A. & Robins, P. A. (1968). Studies on plant cuticular waxes—II. *Phytochemistry*, 7(2), 257–268. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)86323-2](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)86323-2)

- Heredia-Guerrero, J.A. (2003). Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1620, 1–7. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(02\)00510-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(02)00510-X)
- Heredia-Guerrero, J.A., Benítez, J.J., Domínguez, E., Bayer, I.S., Cingolani, R., Athanassiou, A. & Heredia, A. (2014). Infrared and Raman spectroscopic features of plant cuticles: a review. *Frontiers in plant science*, 5, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00305>
- Heyduk, K., McKain, M.R., Lalani, F. & Leebens-Mack, J. (2016). Evolution of a CAM anatomy predates the origins of Crassulacean acid metabolism in the Agavoideae (Asparagaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 105, 102–113. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.08.018>
- Hodgson, W.C. (2001). Food plants of the Sonoran Desert. University of Arizona Press. <https://doi.org/10.2307/972099>
- Holmes, M. G. & Keiller, D. R. (2002). Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in the ultraviolet and photosynthetic wavebands: a comparison of a range of species. *Plant, Cell & Environment*, 25(1), 85–93. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00779.x>
- Hugues, R. Alber, A., Horst, N.A., Basilio-Lopes, A., Fich, E.A., Kriegshauser, L., Wiedemann, G., Ullmann, P., Herrgott, L., Erhardt, M., Pineau, E., Ehling, J., Schmitt, M., Rose, J.K.C., Reski, R. & Werck-Reichhart, D. (2017). A phenol-enriched cuticle is ancestral to lignin evolution in land plants. *Nature communications*, 8, 14713. <https://doi.org/10.1038/ncomms14713>
- Hutchinson, J. (1934). The families of flowering plants Vol. II Mococtyledons. *Indian Forester*, 60(12), 858–859.
- Hutchinson, J. (1959). *The families of flowering plants Vol. II Monocotyledons* 2nd Edition. Oxford University Press. <https://archive.org/details/in.ernet.dli.2015.217781/page/n167/mode/2up>

- Huxman, T. E. & Loik, M. E. (1997). Reproductive Patterns of two Varieties of *Yucca whipplei* (Liliaceae) with Different Life Histories. *International Journal of Plant Sciences*, 158(6), 778–784. <https://doi.org/10.1086/297490>
- Javaloy, J., Vidal, M.T., Ruiz-Moreno, J.M. & Alió, J.L. (2005). Microscopía confocal de la córnea en la cirugía fotorrefractiva. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, 80(9), 497–510. <https://doi.org/10.4321/S0365-66912005000900003>
- Jetter, R., Kunst, L. & Samuels, A.L. (2006). Composition of plant cuticular waxes. En M Riederer y C Müller (Eds.), *Biology of the Plant Cuticle, Annual Plant Reviews*, 23 (pp. 145–181). Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9780470988718.ch4>
- Jussieu, L. de A. (1789). *Genera Plantarum*. Parisiis: apud viduam Herissant et Theophilum Barrois. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.284>
- Karabourniotis, G. & Liakopoulos, G. (2005). Phenolic compounds in plant cuticles: physiological and ecological aspects. *Advances in plant physiology*, 8, 33–47.
- Karabourniotis, G., Liakopoulos, G., Nikolopoulos, D., & Bresta, P. (2020). Protective and defensive roles of non-glandular trichomes against multiple stresses: structure–function coordination. *Journal of Forestry Research*, 31(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11676-019-01034-4>
- Kolattukudy, P. E. (1970). Biosynthesis of a lipid polymer, cutin: the structural component of plant cuticle. *Biochem. Biophys. Res.* 41, 299–305. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(70\)90503-6](https://doi.org/10.1016/0006-291X(70)90503-6)
- Li, Q. & Chen, B. (2014). Organic Pollutant Clustered in the Plant Cuticular Membranes: Visualizing the Distribution of Phenanthrene in Leaf Cuticle Using Two-Photon Confocal Scanning Laser Microscopy. *Environmental Science & Technology*, 48(9), 4774–4781. <https://doi.org/10.1021/es404976c>
- Linné, C.V. & Lars S. (1753). *Species Plantarum*. Impensis Laurentii Salvii. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.669>

- López-Casado, G., Matas, A. J., Domínguez, E., Cuartero, J. & Heredia, A. (2007). Biomechanics of isolated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit cuticles: the role of the cutin matrix and polysaccharides. *J. Exp. Bot*, 58, 3875–3883.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erm233>
- Lupoi, J. S., Singh, S., Parthasarathi, R., Simmons, B. A. & Henry, R. J. (2015). Recent innovations in analytical methods for the qualitative and quantitative assessment of lignin. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 49, 871–906 <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.09>
- Lyons, P. C., Orem, W. H., Mastalerz, M., Zodrow, E. L., Vieth-Redemann, A. & Bustin, R. M. (1995). ¹³C NMR, micro-FTIR and fluorescence spectra, and pyrolysis-gas chromatograms of coalified foliage of late Carboniferous medullosan seed ferns, Nova Scotia, Canada: Implications for coalification and chemotaxonomy. *International Journal of Coal Geology*, 27(2-4), 227–248. [https://doi.org/10.1016/0166-5162\(94\)00024-t](https://doi.org/10.1016/0166-5162(94)00024-t)
- Mattonai, M., Licursi, D., Antonetti, C., Raspolli Galletti, A. M., & Ribechini, E. (2017). Py-GC/MS and HPLC-DAD characterization of hazelnut shell and cuticle: Insights into possible re-evaluation of waste biomass. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 127, 321–328.
<https://doi.org/10.1016/j.jaap.2017.07.019>
- Maragni, L. A., Knapp, A. K. & McAllister, C. A. (2000). Patterns and determinants of potential carbon gain in the C3 evergreen *Yucca glauca* (Liliaceae) in a C4 grassland. *American Journal of Botany*, 87(2), 230–236.
<https://doi.org/10.2307/2656910>
- Meng, Y., Wang, J.-J., & Nie, Z.-L. (2016). Comparative morphology of leaf epidermis in 34 species of *Maianthemum* (Asparagaceae, Polygonateae) and their systematic significance. *Phytotaxa*, 275(2), 81–96.
<https://doi:10.11646/phytotaxa.275.2.1>
- McKelvey, S. D. (1938). *Yuccas of the Southwestern United States. Part I*. Arnold Arboretum of Harvard University.

- Nadiminti, P.P., Rookes, J.E., Boyd, B.J. & Cahill D.M. (2015). Confocal laser scanning microscopy elucidation of the micromorphology of the leaf cuticle and analysis of its chemical composition. *Protoplasma* 252, 1475–1486.
<https://doi.org/10.1007/s00709-015-0777-6>
- Niklas, K.J. & Gensel, P.G. (1977). Chemotaxonomy of some Paleozoic vascular plants. Part II: Chemical characterization of major plant groups. *Brittonia*, 29, 100–111. <https://doi.org/10.2307/2805747>
- Orgell, W. H. (1955). The isolation of plant cuticle whit pectic enzymes. *Plant Physiology*, 30, 78–80. <https://doi.org/10.1104/pp.30.1.78>
- Ortúñez, E., & de la Fuente, V. (2009). Epidermal micromorphology of the genus *Festuca* L. (Poaceae) in the Iberian Peninsula. *Plant Systematics and Evolution*, 284(3-4), 201–218. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0248-7>
- Pandi, A., Gowthaman, M. K. & Kamini, N. R. (2021). Pulp bio-bleaching using a stable and scalable laccase from *Peroneutypa scoparia*. *Wood Science and Technology*, 55(5), 1509–1525. <https://doi.org/10.1007/s00226-021-01312-7>
- Pandian, B., Ramalingam, S., Sreeram, K. J. & Rao, J. R. (2021). Natural pigment: Preparation of brown pigment from lignin biomass for coloring application. *Dyes and Pigments*, 195, 109704.
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109704>
- Pandey, K. & Pitman, A. (2003). FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52(3), 151–160. [https://doi.org/10.1016/s0964-8305\(03\)00052-0](https://doi.org/10.1016/s0964-8305(03)00052-0)
- Pang, Y., Sun, Y., Luo, Y., Zhou, M., Qiu, X., Yi, C. & Lou, H. (2021). Preparation of novel all-lignin microcapsules via interfacial cross-linking of pickering emulsion. *Industrial Crops and Products*, 167, 113468. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113468>

Patel, S. (2012). *Yucca*: A medicinally significant genus with manifold therapeutic attributes. *Natural Products and Bioprospecting*, 2, 231–234.

<https://doi.org/10.1007/s13659-012-0090-4>

Pellmyr, O. (2003). Yuccas, Yucca Moths, and Coevolution: A Review. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 90(1), 35–55. <https://doi.org/10.2307/3298524>

Pellmyr, O., Segraves, K.A., Althoff, D.M., Balcázar-Lara, M. & Leebens-Mack, J. (2007). The phylogeny of yuccas. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(2), 493–501. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.12.015>

Pesacreta, T.C. & Hasenstein, K.H. (1999). The internal cuticle of *Cirsium horridulum* (Asteraceae) leaves. *American Journal of Botany*, 86, 923–928.

<https://doi.org/10.2307/2656608>

Pinar Gokdemir, F., Ece Yuzbasioglu, V., Keskin, B., Ozdemir, O. & Kutlu, K. (2014). Formation Of TiO₂ Thin Films By A Modified Sol-gel Route And Characterization Of Structural, Optical And Electrochromic Properties. *Advanced Materials Letters*, 5(7), 367–371. doi:

<https://doi.org/10.5185/amlett.2014.amwc.1007>

Prada, C. & Rolleri, C.H. (2003). Caracteres diagnósticos foliares en taxones ibéricos de *Isoetes* L. (Isoetaceae, Pteridophyta). *Anales Jardín Botánico de Madrid*, 60(2), 371–386.

Poletto, M., Zattera, A. J. & Santana, R. M. (2012). Structural differences between wood species: evidence from chemical composition, FTIR spectroscopy, and thermogravimetric analysis. *Journal of Applied Polymer Science*, 126(S1), E337–E344. <https://doi.org/10.1002/app.36991>

Popescu, C. M., Singurel, G., Popescu, M. C., Vasile, C., Argyropoulos, D. S. & Willför, S. (2009). Vibrational spectroscopy and X-ray diffraction methods to establish the differences between hardwood and softwood. *Carbohydrate Polymers*, 77(4), 851-857. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.03.011>

- Renault, H., Alber, A., Horst, N. A., Basilio Lopes, A., Fich, E. A., Kriegshauser, L., ... Werck-Reichhart, D. (2017). A phenol-enriched cuticle is ancestral to lignin evolution in land plants. *Nature Communications*, 8, 14713.
<https://doi.org/10.1038/ncomms14713>
- Reyes-Rivera, J. & Terrazas, T. (2017) Lignin Analysis by HPLC and FTIR. En: de Lucas M & Etchells J (Eds.), *Xylem. Methods in Molecular Biology*, vol 1544 (pp. 193–211). Humana Press New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6722-3_14
- Reyes-Rivera, J., Solano, E., Terrazas, T., Soto-Hernández, M., Arias, S., Almanza-Arjona, Y.C. & Polindara-García, L.A. (2020). Classification of lignocellulosic matrix of spines in Cactaceae by Py-GC/MS combined with omic tools and multivariate analysis: A chemotaxonomic approach. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 148, 104796.
<https://doi.org/10.1016/j.jaap.2020.104796>
- Ribeiro da Luz, B. (2006). Attenuated total reflectance spectroscopy of plant leaves: A tool for ecological and botanical studies. *New Phytologist*, 172, 305–318. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01823.x>
- Riederer, M. (2006). Introduction: biology of the plant cuticle. En M. Riederer & C. Müller (Eds.), *Biology of the plant cuticle* (pp. 1–11). Blackwell Publishing Ltd.
- Samuels, L., Kunst, L. & Jetter, R. (2008). Sealing plant surfaces: cuticular wax formation by epidermal cells. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 683707.
- Sánchez-Manzo, A. (2020). Ornamentación y composición química de la cutícula foliar de *Yucca* (Asparagaceae, Agavoideae). Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. TESIUNAM.
- 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, 380–384. <https://doi.org/10.1007/BF00397478>

- Smith, C. I., Pellmyr, O., Althoff, D. M., Balcazar-Lara, M., Leebens-Mack, J., & Segraves, K. A. (2008). Pattern and timing of diversification in *Yucca* (Agavaceae): specialized pollination does not escalate rates of diversification. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1632), 249–258. <https://doi.org/doi:10.1098/rspb.2007.1405>
- Smith, G.F. & Figueredo, E. (2016). Widely cultivated, large-growing yuccas: notes on *Yucca elephantipes* Regel ex Trel., *Yucca gigantea* Lem., and *Yucca guatemalensis* Baker (Agavaceae). *Bradleya*, 34, 28–37. <https://doi.org/10.25223/brad.n34.2016.a18>
- Smith, S.D. & Ludwig, J.A. (1976). Reproductive and Vegetative Growth Patterns in *Yucca elata* Engelm. (Liliaceae). *The Southwestern Naturalist*, 21(2), 177–184. <https://doi.org/10.2307/3669953>
- Solano, E., Terrazas, T. & Gónzales-Becerril, A. (2013). Comparative anatomy of the stem, leaf and inflorescence basal axis of *Polianthes* L. (Asparagaceae, Agavoideae) species. *Feddes Repertorium*, 124, 105–115. <https://doi.org/10.1002/fedr.201300017>
- Solano, E., Terrazas, T., Reyes-Rivera, J. & Serrano-Casas, H. (2017). Anatomía comparativa de raíz, tallo, hoja y base del pedúnculo de *Manfreda* (Asparagaceae: Agavoideae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88, 899–911. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.019>
- Solovchenko, A. & Merzlyak, M. (2003). Optical properties and contribution of cuticle to UV protection in plants: experiments with apple fruit. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2(8), 861. <https://doi.org/10.1039/b302478d>
- Stebbins, G. L. & Khush, G. S. (1961). Variation in the organization of the stomatal complex in the leaf epidermis of Monocotyledons and its bearing on their phylogeny. *American Journal of Botany*, 48(1), 51–59. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1961.tb11604.x>

- Thiede, J. (2020) *Yucca* AGAVACEAE. En: U Eggli y R Nyffeler (Eds.), *Monocotyledons. Illustrated Handbook of Succulent Plants* (pp. 363–421). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-56486-8_109
- Toledano, A., Serrano, L., Garcia, A., Mondragon, I. & Labidi, J. (2010). Comparative study of lignin fractionation by ultrafiltration and selective precipitation. *Chemical Engineering Journal*, 157(1), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.10.056>
- Tredenick, E. C. & Farquhar, G. D. (2021). Dynamics of moisture diffusion and adsorption in plant cuticles including the role of cellulose. *Nature Communications*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25225-y>
- Trelease, W. (1902). The *Yuccae*. *Missouri Botanical Garden Annual Report*, 13, 27–133. <https://doi.org/10.2307/2400121>
- Troncoso, A., Suárez, M., de la Cruz, R. & Palma-Heldt, S. (2002). Paleoflora de la Formación Ligorio Márquez (XI Región, Chile) en su localidad tipo: sistemática, edad e implicancias paleoclimáticas. *Revista Geológica de Chile*, 29(1), 113–135. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-02082002000100007>
- Villena, J.F., Domínguez, E., Stewart, D. & Heredia, A. (1999). Characterization and biosynthesis of non-degradable polymers in plant cuticles. *Planta*, 208(2), 181–187. <https://doi.org/10.1007/s004250050548>
- Vislobokov, N. A., Fu, L. F., Wei, Y. G. & Nuraliev, M. S. (2021). Leaf epidermal micromorphology in *Aspidistra* (Asparagaceae): diversity and taxonomic significance. *PhytoKeys*, 185, 65–86. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.185.72259>
- von Mohl, H. (1847). Untersuchungen der Frage: bildet die cellulose die grundlage sammtlicher vegetabilischen membranen. *Botanische Zeitung*, 5, 497–505.
- Vuncannon, D.H. (1999). *Joshua Tree. The story behind the scenery*. KC Publications.

- Wattendorff, J. & 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.
<https://doi.org/10.1007/BF00951453>
- Xu, F., Sun, J.-X., Sun, R., Fowler, P. & Baird, M. S. (2006). Comparative study of organosolv lignins from wheat straw. *Industrial Crops and Products*, 23(2), 180–193. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2005.05.008>
- Yamada, Y., Wittwer, S. H. & Bukovac, M. J. (1964). Penetration of ions through isolated cuticles. *Plant Physiology*, 39, 28–32.
<https://doi.org/10.1104/pp.39.1.28>
- Yeats, T. H. & Rose, J. K. C. (2013). The formation and function of plant cuticles. *Plant Physiology*, 163, 5–20. <https://doi.org/10.1104/pp.113.222737>
- Ziv, C., Zhao, Z., Gao, Y. G., & Xia, Y. (2018). Multifunctional Roles of Plant Cuticle During Plant-Pathogen Interactions. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi:10.3389/fpls.2018.01088>
- Zodrow, E.L. & Mastalerz, M. (2001). Chemotaxonomy for naturally macerated tree-fern cuticles (Medullosales and Marattiales), Carboniferous Sydney and Mabou Sub-Basins, Nova Scotia, Canada. *International Journal of Coal Geology*, 47, 255–275. [https://doi.org/10.1016/S0166-5162\(01\)00045-3](https://doi.org/10.1016/S0166-5162(01)00045-3)