

Morfología y anatomía foliar de *Dasyilirion cedrosanum* en diferentes etapas de desarrollo*

Morphology and leaf anatomy of *Dasyilirion cedrosanum* at different stages of development

Nazario Francisco-Francisco, Hermila Trinidad García-Osuna[§], Adalberto Benavides-Mendoza, Agustín Hernández-Juárez y Francisca Ramírez Godina

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro- Departamento de Horticultura y Fitomejoramiento, Calzada Antonio Narro 1923, Colonia Buenavista, C. P. 25315 Saltillo, Coahuila, México. Tel: 01844 4 11 0203. (fafnaz@hotmail.com; hgosuna@hotmail.com; abenmen@gmail.com; chinoahj14@hotmail.com; godramf@gmail.com). [§]Autora para correspondencia: hgosuna@hotmail.com.

Resumen

En el presente trabajo se analizó la morfo-anatomía foliar de sotol *Dasyilirion cedrosanum* Trel., especie perenne del Norte de México y Sur de Estados Unidos de América. Esta especie es de gran importancia económica y social en las zonas áridas y semiáridas de México. El objetivo fue observar las diferencias en el desarrollo morfo-anatómico de la hoja a diferentes edades. Para el estudio morfológico se tomaron muestras de plantas de 6, 30, 60 y 84 meses de edad. Se colectaron porciones medias del eje longitudinal de las hojas en las edades previamente establecidas y se fijaron en FAA. Las muestras se procesaron con los métodos clásicos para la obtención de láminas permanentes. La epidermis foliar está formada por células unistratas de forma isodiamétrica, los estomas son de tipo paracítico, la densidad estomática, el índice estomático muestra valores entre 14.0–23.3% y la densidad de células estomáticas oscila entre 46.8–65, estomas mm⁻², las superficies adaxial y abaxial no exhiben dominancia una sobre otra. El parénquima en empalizada se incrementa hasta 62% con la edad; el mesofilo es isolateral con braquiesclereidas que se prolongan desde las bandas vasculares. Los haces vasculares son bandas de tres órdenes sobre la que existen cristales prismáticos.

Abstract

In this paper was analyzed the foliar morfo-anatomy of Sotol *Dasyilirion cedrosanum* Trel., perennial species northern Mexico and southern United States. This species is of great economic and social importance in arid and semiarid areas of Mexico. The objective was to observe the differences in morphological and anatomical leaf development at different ages. For morphological study plant samples 6, 30, 60 and 84 months of age they were taken. The middle portions of the longitudinal axis of leaves were collected at ages previously established and fixed in FAA. The samples were processed with conventional methods to obtain permanent slides. The leaf epidermis consists unistrate cells isodiametric form, the stomata are paracytic type, stomatal density, stomatal index shows values between 14.0–23.3% and stomatal cells density ranging from 46.8–65, stomata mm⁻², the adaxial and abaxial surfaces do not exhibit dominance over one another. The palisade parenchyma up to 62% increases with age; the mesophyll is isolateral with brachisclereids extending from vascular bands. The vascular bundles are bands of three orders on which there prismatic crystals.

Keywords: leaf, paracitic, stomata, stomatal density, stomatal index.

* Recibido: febrero de 2016
Aceptado: mayo de 2016

Palabras clave: densidad estomática, estomas, hoja, índice estomático, paracítico.

Introducción

Dasyilirion cedrosanum Trel., conocida comúnmente como "Sotol" es una planta perenne, dioica, policárpica y semicilíndrica que pertenece a la familia Asparagaceae (Trópicos.org). Es una especie con mayor presencia en la región noreste del país, principalmente en los estados de Chihuahua, Durango, Zacatecas y Coahuila. En Coahuila crece en matorral rosetófilo, el cual representó 6% de toda la vegetación del estado (Rzedowski y Rzedowski, 1990). Presenta una gran importancia comercial, destacándose en la elaboración de bebidas en la región noreste del país. Actualmente a los estados anteriormente mencionados se les ha otorgado la denominación de origen (Rodríguez-Gómez, 2007). Esto demanda un aseguramiento de la calidad del producto para los consumidores pero a la vez apunta hacia un aprovechamiento racional.

En los sistemas tradicionales de clasificación, el género *Dasyilirion* se ha colocado en familias diferentes, como las Agavaceae, Liliaceae y Dracaenaceae (Dahlgren *et al.*, 1985). Esto ha dependido del carácter taxonómico del estudio que se haya empleado, encontrándose similitud morfológica con varias especies de estas familias. Recientemente se le ubica en la familia Asparagaceae y subfamilia Nolinoideae (USDA, ARS, National Genetic Resources Program GRIN, 2013). El género *Dasyilirion* se compone de 16 especies, todas ellas con rasgos distintivos (Melgoza y Sierra, 2003). Uno de ellos es la forma de las hojas. Sobre esto, Bogler (1994) menciona que las hojas de las plantas de este género presentan algunas variaciones como la longitud y amplitud, la orientación de las espinas en el margen, la presencia o ausencia de cera epicuticular, así como la forma de su superficie foliar. La presencia de diferentes tipos de cristales en el mesófilo de las monocotiledóneas han demostrado ser de importancia taxonómica para distinguir entre algunas familias (Prychid y Rudall, 2000).

El objetivo del presente trabajo es estudiar la morfología y la anatomía de las hojas de la especie *D. cedrosanum* en diferentes etapas de desarrollo con el propósito de identificar posibles cambios en el desarrollo morfo-anatómicos de la especie.

Introduction

Dasyilirion cedrosanum Trel., Commonly known as "Sotol" it is a semi-cylindrical perennial, dioecious, polycarpic and belongs to the Asparagaceae family (Trópicos.org). It is a species with greater presence in the northeast region of the country, mainly in the states of Chihuahua, Durango, Zacatecas and Coahuila. In Coahuila rosetophilous grows in scrubland, which represented 6% of all vegetation state (Rzedowski and Rzedowski, 1990). It has great commercial importance, standing out in the beverage industry in the northeastern region of the country. Currently the aforementioned states have been given the designation of origin (Rodríguez-Gómez, 2007). This requires an assurance of product quality to consumers but also points to a rational use.

In traditional classification systems, gender *Dasyilirion* has been placed in different families, including Agavaceae, Liliaceae and Dracaenaceae (Dahlgren *et al.*, 1985). This has depended on taxonomic nature of the study that has been used, being morphological similarity to several species of these families. It was recently placed in the family Asparagaceae and subfamily Nolinoideae (USDA, ARS, National Genetic Resources Program GRIN, 2013). The *Dasyilirion* genus consists of 16 species, all with distinctive features (Melgoza and Sierra 2003). One is the shape of the leaves. On this, Bogler (1994) mentions that the leaves of the plants of this genus have some variations such as the length and breadth, the orientation of the thorns in the margin, the presence or absence of epicuticular wax and the shape of its surface foliar. The presence of different types of crystals in the monocot mesophyll have proved taxonomic importance to distinguish between some families (Prychid and Rudall, 2000).

The aim of this work is to study the morphology and anatomy of the leaves of the species *D. cedrosanum* at different stages of development in order to identify possible changes in the morpho-anatomical development of the species.

Materials and methods

Anatomy of the leaf surface. The experiment was conducted at the University Autonomous Agrarian Antonio Narro. The plant material used consisted of Sotol plants (6, 30,

Materiales y métodos

Anatomía de la superficie foliar. El experimento se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. El material vegetal utilizado consistió en plantas de sotol de (6, 30, 60 y 84 meses de edad), ejemplares que fueron colectados del vivero botánico de la misma Universidad. Las variables estudiadas fueron; densidad estomática abaxial y adaxial, índice estomático abaxial y adaxial. Para el estudio de la anatomía foliar, se colectaron dos hojas erectas de la porción media del caudex de cuatro plantas de cada edad (6, 30, 60 y 84 meses), con el propósito de diferenciar el grado de desarrollo de los tejidos. De cada hoja se obtuvo una impresión de las superficies abaxial y adaxial, para ello se aplicó una película de esmalte transparente para uñas, sobre la superficie foliar con un pincel, después de que se secó la película, esta fue removida con un trozo de cinta adhesiva transparente, la cual se montó sobre un portaobjetos.

En cada impresión se observaron al azar cinco campos por hoja en un microscopio marca VistaVision con el objetivo 40 X, de cada observación se contó el número de estomas y de células epidérmicas. Con los datos obtenidos se estimó la densidad estomática y el índice estomático de la siguiente forma: $DE = \text{número de estomas} / 0.1589 \text{ mm}^2$ (área del campo visual) = estomas por mm^2 . Para determinar el índice estomático (IE) se utilizó la siguiente fórmula:

$$IE = DES / DEP + DES \times 100.$$

Donde: IE= índice estomático, DES= densidad estomática (estomas por mm^2), DEP= densidad de células epidérmicas ordinarias (células por mm^2) en la misma unidad de área.

La descripción morfológica se hizo de acuerdo con la terminología de Carpenter (2005).

Histología de tejidos epidérmicos, fundamentales y vasculares. Para el análisis de los tejidos se extrajeron secciones transversales y paradermales de la parte media de las hojas, en este apartado se estudiaron las siguientes variables: Grosor de cutícula (μm), tamaño de células epidérmicas (μm^2), estratos de parénquima- en empalizada, tamaño de parénquima en empalizada (μm^2), estratos de parénquima esponjoso, tamaño de parénquima esponjoso (μm^2), tamaño de esclereidas (μm^2), axis derecho-izquierdo del mesófilo (μm), axis abaxial-adaxial del mesófilo (μm), número de haces vasculares, elementos de vasos del xilema (μm^2), elementos de tubo del floema (μm^2).

60 and 84 months old), specimens were collected from botanical nursery at the same university. The variables studied were; abaxial and adaxial stomatal density, stomatal index abaxial and adaxial. To study the leaf anatomy two erect leaves of the middle portion of caudex four plants of each age (6, 30, 60 and 84 months), in order to differentiate the degree of development of tissues were collected. Each sheet an impression of the abaxial and adaxial surfaces for this purpose a film of transparent nail polish on the leaf surface with a brush was applied after the film was dried, it was removed with a piece of tape was obtained transparent adhesive, which is mounted on a slide.

In each print were observed at random five fields per leaf under a microscope VistaVision mark with the objective 40 X, each observation the number of stomata and epidermal cells were counted. With the data obtained stomatal density and stomatal index was estimated as follows: $DE = \text{number of stomata} / 0.1589 \text{ mm}^2$ (area of the visual field) = stomata per mm^2 . The following formula is used to determine the stomatal index (IE):

$$IE = DES / DEP + DES \times 100$$

Where: IE= stomatal index, DES= stomatal density (stomata per mm^2), DEP= density of ordinary epidermal cells (cells per mm^2) in the same unit area.

The morphological description was made according to the terminology Carpenter (2005).

Histology of epidermal, fundamental and vascular tissues. For analysis of tissues were extracted cross and paradermal sections of the middle part of the leaves, in this section the following variables were studied: Cuticle thickness (μm), epidermal cell size (μm^2), parenchymal layers of palisade, size of palisade parenchyma (μm^2), layers of spongy parenchyma, size of spongy parenchyma (μm^2), size sclereids (μm^2), axis right-left mesophyll (μm), axis abaxial-adaxial mesophyll (μm), number of vascular bundles, xylem vessel elements (μm^2), elements of the phloem tube (μm^2).

The handling of tissues was performed following the methodology proposed by Hernández (1990), first fixed in FAA (formaldehyde (36-40%) 5 ml, Ethyl alcohol (70%) 90 cc and glacial acetic acid 5 ml). which is achieved with stop cell tissue metabolism. After seven days, dehydrated at hourly intervals alcohol 60%, 70%, 85% and 96% and in mixtures absolute-xylol alcohol in proportions 3:1, 1:1 and 1:3 and they embedded in paraffin.

El manejo de los tejidos se realizó siguiendo la metodología propuesta por Hernández (1990), primero se fijaron en FAA (formaldehído (36-40%) 5 cc, Alcohol etílico al (70%) 90 cc y ácido acético glacial 5 cc), con el cual se consigue detener el metabolismo celular de los tejidos. Después de siete días, se deshidrataron a intervalos de una hora en alcohol al 60%, 70%, 85%, y 96% y en mezclas de alcohol absoluto-xilol en proporciones 3:1, 1:1 y 1:3 y se incluyeron en parafina.

Se obtuvieron cortes de 20 μm de grosor empleando un micrótopo de rotación y se adhirieron a un portaobjetos con el adhesivo de Haupt. Los tejidos se tiñeron con safranina y verde rápido de acuerdo a la metodología del mismo autor arriba mencionado. Para su observación al microscopio se tomaron 5 campos al azar en diferentes objetivos (5 X, 40 X y 100 X). Se utilizó un microscopio marca VistaVision con cámara digital integrada Pixera Wiender Pro. Las mediciones de las imágenes de los tejidos se realizaron con el software Axion Vision 4.6. La descripción de los caracteres anatómicos se hizo de acuerdo con la terminología de Evert (2006).

Resultados y discusión

Anatomía de la superficie foliar. De acuerdo con los tipos estomáticos de Prabhakar (2004), las estomas son anfiestomáticas de tipo paracítico. En las monocotiledóneas el tipo de estoma paracítico solo ha sido observada en especies de la familia Poaceae y Cyperaceae (Zarinkamar, 2006). Stebbins y Khush (1961) estudiaron los complejos estomáticos de 192 especies de monocotiledóneas, encontrando una correlación entre el número de células subsidiarias de las estomas con otras características de las plantas como el hábito de crecimiento de las plantas maduras y la distribución geográfica.

La densidad estomática de las superficies adaxial y abaxial oscila entre 46.8–65.0 estomas mm^{-2} y la densidad de células tabloides entre 163 y 339 mm^{-2} . El índice estomático muestra valores entre 14.0–23.3 (Cuadro 1). En la evaluación de las cuatro edades reveló que la densidad estomática es mayor en plantas de sotol de 7 años tanto en la superficie adaxial con 63.22 estomas mm^{-2} como abaxial con 60.22 estomas mm^{-2} y en menor cantidad las plantas de 2,5 años en la superficie adaxial con 41.44 estomas mm^{-2} y en abaxial con 39.2 estomas/ mm^2 . Para las superficies, la densidad estomática es ligeramente mayor en la superficie adaxial con un promedio

They cut 20 μm thick were obtained using a microtome rotation and adhered to a carrier with adhesive Haupt. The tissues were stained with safranin and fast green according to the abovementioned methodology same author. The microscopic observation were taken for five random fields in different objectives (5X, 40X and 100X). The microscope mark VistaVision was used with integrated digital camera Pixera Wiender Pro. The measurements of the images of tissues were performed with 4.6 Axion Vision software. The description of the anatomical characteristics was made according to the terminology Evert (2006).

Results and discussion

Anatomy of the leaf surface. According to stomatal types of Prabhakar (2004), the stomata are amphistomatic of paracytic type. In monocots the stoma paracytic type only has been observed in the species of Poaceae and Cyperaceae family (Zarinkamar, 2006). Stebbins and Khush (1961) studied the stomatal complex of 192 species of monocots, finding a correlation between the number of stomata subsidiary cells of other plant characteristics such as growth habit of mature plants and geographical distribution.

The stomatal density of adaxial and abaxial surfaces ranging from 46.8–65.0 stomata mm^{-2} and density between tabloids 163 and 339 cells mm^{-2} . Stomatal index shows values between 14.0–23.3 (Table 1). In the evaluation of the four ages revealed that the stomatal density is higher in plants Sotol of 7 years both in the adaxial surface with 63.22 stomata mm^{-2} with 60.22 abaxial stomata mm^{-2} and a lesser amount plants 2.5 years in the adaxial surface with 41.44 stomata mm^{-2} and abaxial with 39.2 stomata mm^{-2} . For surfaces, stomatal density is slightly higher in the adaxial surface with an average of 55.015 stomata mm^{-2} per 51.705 stomata mm^{-2} in the abaxial surface. In any case significant differences were observed between the two surfaces.

In assessing the stomatal index turns out to be low, aspect observed in other monocot species growing in arid areas, as is the case of the species *Urginea indica* has a 14-25 stomatal index, which is similar to *D. cedrosanum* (Liliaceae) (Kameshwari, 2011). The abaxial stomatal dominance is a common feature in several species of monocots and dicotyledonous with ambistomatal stomata (Croxdale, 2000); however, this difference *D. cedrosanum* not observed. The numerical difference of stomata on both surfaces, rather

de 55.015 estomas mm⁻² por 51.705 estomas mm⁻² en la superficie abaxial. En ningún caso se observaron diferencias significativas entre ambas superficies.

it has been linked to environmental factors such as CO₂ concentration, light intensity or the availability of water (Radoglou and Jarvis, 1990; Kouwenberg *et al.*, 2003).

Cuadro 1. Valores medios de la superficie foliar, tejidos epidérmicos, fundamental y vascular en hojas de sotol *Dasyliirion cedrosanum* Trel.

Table 1. Mean values of the leaf surface, epidermal tissues, fundamental and vascular Sotol sheets *Dasyliirion cedrosanum* Trel.

Característica	Superficie	Edad (meses)			
		6	30	60	84
Superficie foliar					
Densidad estomática (Núm. mm ⁻²)	Ad	†65 ± 5	54.4 ± 30.4	55.2 ± 3.8	62.5 ± 3
	Ab	46.8 ± 9.9	49.2 ± 9.5	52.5 ± 3.3	61.6 ± 1.6
Índice estomático Núm./c. tabulares (%)	Ad	17.1 ± 0.5	19.6 ± 1.3	17.6 ± 0.6	23.3 ± 1.4
	Ab	14.0 ± 0.6	18.5 ± 5.9	21.1 ± 1.9	21.5 ± 1.7
Tejido Epidérmico					
Grosor de cutícula (µm)	Ad	19.6 ± 1.3	22.9 ± 0.2	23.3 ± 1	41 ± 0.8
	Ab	27.2 ± 2.3	19.9 ± 1.5	21.5 ± 1.1	20.4 ± 0.6
Tamaño de células epidérmicas (µm ²)	Ad	145.0 ± 36.0	113 ± 11	100 ± 19	217 ± 15
	Ab	295.0 ± 27.0	114 ± 23	98.0 ± 2	72 ± 5.7
Tejido fundamental					
Estratos de parénquima- en empalizada	Ad	2.9 ± 1.1	6 ± 0.9	6 ± 1	5.6 ± 0.9
	Ab	2.6 ± 0.5	5.8 ± 0.3	6 ± 1.3	5.9 ± 0.3
Tamaño de parénquima en empalizada (µm ²)	Ad	576 ± 130	699 ± 70	674 ± 103	929 ± 101
	Ab	677 ± 60	679 ± 123	531 ± 140	708 ± 58
Estratos de parénquimaesponjoso	Ad	10.5 ± 0.3	9.8 ± 0.2	10.1 ± 0.3	11.8 ± 0.4
	Ab	1421 ± 98	1117 ± 19	1237 ± 187	1346 ± 188
Tamaño de parénquimaesponjoso (µm ²)	Ad	71.6 ± 0.9	99.9 ± 25	75.6 ± 3.4	87.6 ± 5.5
	Ab	103 ± 5.3	94.5 ± 5.2	103 ± 1.1	90.8 ± 16
Axis derecho-izquierdo del mesófilo (µm)		2310 ± 10	3166 ± 38	5731 ± 297	6857 ± 182
Axis abaxial-adaxial del mesófilo (µm)		778 ± 37	756 ± 114	753 ± 96	831 ± 49
Tejido vascular					
Número de haces vasculares	Ad	2 ± 0.2	7.1 ± 0.4	14.3 ± 0.8	20.4 ± 0.8
	Ab	3 ± 0.2	6.2 ± 0.4	20.3 ± 0.8	19.6 ± 0.8
Elementos de vasos del xilema (µm ²)	Ad	106 ± 8.2	231 ± 101	237 ± 33	229 ± 12
	Ab	61.4 ± 10	51.8 ± 6.9	44.6 ± 7.2	35 ± 9.8
Elementos de tubo del floema (µm ²)	Ad	19.7 ± 2.3	42.1 ± 3.8	40.4 ± 3.6	50.4 ± 1.7
	Ab	26.3 ± 2.3	25.5 ± 4	31.2 ± 4.4	30.5 ± 1.7

†Medias. *desviación estándar. Ad= adaxial; Ab= abaxial.

Al evaluar el índice estomático resulta ser bajo, aspecto observado en otras especies de monocotiledóneas que crecen en zonas áridas, como es el caso de la especie *Urginea indica* que presenta un índice estomático de 14-25, por lo que es similar a *D. cedrosanum* (Liliaceae) (Kameshwari, 2011). La dominancia estomática abaxial es una característica común en varias especies de dicotiledóneas y monocotiledóneas con estomas ambiestomáticos (Croxdale, 2000); sin embargo, en

Furthermore, there is evidence suggesting that depending on the composition of the epidermal wax, stomatal index may increase in one of the two surfaces (Holroyd *et al.*, 2002).

Moreover, the stomata occur differently in different environments (Qiang *et al.*, 2003). A recurring modification of plants is in the distribution and stomatal frequency, which have been used as taxonomic characters below the family

D. cedrosanum no se observa esta diferencia. La diferencia numérica de las estomas en ambas superficies, más bien ha sido relacionada con factores ambientales como la concentración de CO₂, intensidad lumínica o la disponibilidad de agua (Radoglou y Jarvis, 1990; Kouwenberg *et al.*, 2003). Además, hay evidencia que sugiere que dependiendo de la composición de la cera epidérmica, el índice estomático puede aumentar en alguna de las dos superficies (Holroyd *et al.*, 2002).

Por otra parte, los estomas ocurren de manera diversa en los diferentes ambientes (Qiang *et al.*, 2003). Una modificación recurrente de las plantas es en la distribución y frecuencia estomática, los cuales han sido usadas como caracteres taxonómicos por debajo del nivel de familia en angiospermas, así como en su filogenia (Mukherjee *et al.*, 2000). Dentro de la familia Asparagaceae, la subfamilia Nolinoideae ha sido poco estudiada en su anatomía, y menos aún en el género *Dasylyrion* (Bogler, 1944). Como resultado de algunos estudios filogenéticos publicados y con base en evidencias morfológicas y moleculares, *Dasylyrion* ha sido ubicado como subfamilia Nolinoideae dentro de Asparagaceae (APG III, 2009).

Las células subsidiarias, se disponen en forma de placas columnares, se encuentran dispuestas en los extremos del axis y costados de la apertura estomática, dando un aspecto de cuadro. Las estomas se encuentran dispuestas en filas paralelas al eje longitudinal de la hoja en conjuntos de tres a seis estomas en la parte media de la hoja. Las células tabloides son alargadas poligonales orientadas de la misma manera que los estomas (Figura 1A). La epidermis es glauca. Este color es producido por la presencia de cera epicuticular, la cual se orienta en forma paralela, disposición denominada "tipo convalaria" (Barthlot *et al.*, 1998). Presenta papilas sobresalientes, agrupadas y alineadas junto con las estomas que la ubican a un nivel inferior.

Las células epidérmicas abaxial y adaxial, vistas en sección transversal, son unistratas e isodiamétricas con paredes primarias lisas tanto en la epidermis adaxial como abaxial. Presentan en promedio una cutícula de mayor grosor en el lado adaxial (Cuadro 1). Solo las células epidérmicas de la superficie adaxial en plantas de 84 meses de edad, son significativamente más grandes, mientras que en la superficie abaxial se muestra lo contrario. Las células guarda de las estomas se muestran hundidas abajo del nivel de las células epidérmicas (Figura 1B).

level in angiosperms, as well as its phylogeny (Mukherjee *et al.*, 2000). Within the Asparagaceae family, subfamily nolinoideae has been little studied in their anatomy, and even less in the genus *Dasylyrion* (Bogler, 1944). As a result of some phylogenetic studies published and based on morphological and molecular evidence, *Dasylyrion* has been placed as a subfamily nolinoideae within Asparagaceae (APG III, 2009).

The subsidiary cells are arranged in columnar form of plates, they are arranged at the ends and sides of the axis of the stomatal opening, giving a frame. Stomata are arranged in parallel rows to the longitudinal axis of the sheet in three to six sets stomata in the middle of the sheet. The cells are elongated tabloids polygonal oriented in the same way that the stomata (Figure 1A). The epidermis is glaucous. This color is produced by the presence of epicuticular wax, which is oriented in parallel, arrangement called "Convallaria type" (Barthlot *et al.*, 1998). It presents outstanding buds, clustered and aligned with the stomata which places at a lower level.

And adaxial epidermal cells abaxial, cross-sectional views, are unistrate isodiametric with primary walls and smooth both in the epidermis abaxial and adaxial. They have on average a cuticle thicker in adaxial side (Table 1). Only epidermal cells of plants adaxial surface 84 months old, are significantly larger, while the abaxial surface shown otherwise. The stomata guard cells is sunken below the level of epidermal cells (Figure 1B).

The mesophyll is isolateral (Figure 1C, D). The cells palisade parenchyma are of prismatic shape, and observed multilayered are developed to both surfaces. The spongy parenchyma cells form shows isodiametric. The number of layers of spongy parenchyma increases as the plant is older; adaxial side showed greater number of strata (Table 1). In plants 30, 60 and 84 months mesophyll fibrous tissue has a size between 71-103 µm, similar in all ages. These fibers are associated with vascular bands, taking the form of "Y" or inverted in abaxial and adaxial rows respectively (Figure 1E, F), which extend towards the epidermis as beams. Furthermore, in the mesophyll it is possible to observe the presence of crystals or prismatic type styloid cuboidal shape, which are solitary in the parenchyma cells and close to the vascular bundles sclerenchymatous (Figure 1F).

El mesófilo es isolateral (Figura 1C, D). Las células del parénquima en empalizada son de forma prismática, se observa multiestratificada y están desarrolladas hacia ambas superficies. El parénquima esponjoso muestra células de forma isodiamétrica. El número de estratos del parénquima esponjoso aumenta conforme la planta tiene mayor edad; el lado adaxial mostró mayor número de estratos (Cuadro 1). En las plantas de 30, 60 y 84 meses el mesófilo presenta tejido fibroso de un tamaño entre 71-103 μm , similar en todas las edades. Estas fibras se asocian con las bandas vasculares, tomando la forma de "Y" o Y invertida en las filas abaxial y adaxial respectivamente (Figura 1E, F), las cuales se prolongan hacia la epidermis en forma de vigas. Además, en el mesófilo es posible observar la presencia de cristales del tipo estiloides o prismáticos de forma cuboidal, los cuales se encuentran solitarios en las células parenquimáticas y esclerenquimáticas cercanas a los haces vasculares (Figura 1F).

De varios rasgos que presentan las hojas de las plantas, los de la superficie foliar son quizá los más significativos desde el punto de vista sistemático y de la filogenia. La estructura de las ceras epicuticulares caracteriza a grandes grupos de monocotiledóneas. En éstos se ha observado en abundancia dos tipos de ceras, las que tienen forma de varillas agregadas en forma longitudinal y aquellas orientadas en forma de placas paralelas, estas últimas encontradas en la familia Nolinaceae (Chase *et al.*, 1995).

El mesófilo en *D. cedrosanum* presenta atribuciones que le permiten a la planta adaptarse en ambientes áridos. Por ejemplo, la disposición isolateral de las hojas permite a la especie ser capaz de grandes tasas fotosintéticas por unidad de biomasa en ambientes de alta luminosidad aún en ambientes semiáridos (Knight y Robert, 1994). La presencia de fibras también es auxiliar en el transporte de agua a través de los tejidos en empalizada (Rotondi *et al.*, 2003). Otra característica importante es la presencia cristales prismáticos de forma cuboidal el cual ha sido observado en otras especies pertenecientes a diferentes órdenes de monocotiledóneas como las Asparagales, Liliales y Pandanales. No se sabe con certeza la función que estos presentan en los tejidos, a menudo se menciona que su función es la de servir como depósito de desechos metabólicos los cuales podrían ser tóxicos para las células o tejidos (Prychid y Rudall, 1999); sin embargo, se ha reconocido que el tipo de cristal presente puede tomarse como un carácter taxonómico (Prychid y Rudall, 2000).

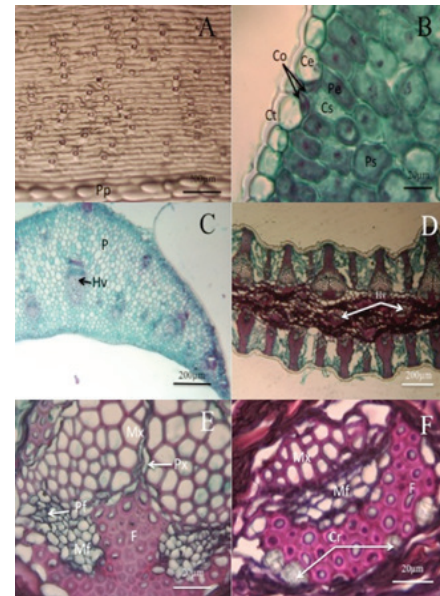


Figura 1. Anatomía foliar de *Dasyliirion cedrosanum*. A. Superficie adaxial a 10 X en plantas de 6 meses. B. Sección transversal a 40 X de la epidermis abaxial de plantas de 6 meses. C. Mesófilo a 5 X de plantas de 6 meses. D. Mesófilo a 5 X de plantas de 84 meses: E. Haz vascular de primer orden en mesófilo de plantas de 84 meses. F. Haz vascular de tercer orden en el mesófilo de plantas de 84 meses. C= cera; Cr= cristales; Pp= papilas; Ce= células epidérmicas; co= células oclusivas; Ce= células subsidiarias; Cs= cámara subestomática; Ct= Cutícula; P= parénquima; Pe= parénquima en empalizada; Ps= parénquima esponjoso; Hv= haz vascular; Mx= metaxilema; Mf= metafloema; Pf= protofloema obliterado; Px= protoxilema obliterado

Figure 1. Leaf anatomy of *Dasyliirion cedrosanum*. A. adaxial surface at 10 plants X in plants with 6 months. B. Cross section at 40 X of the abaxial epidermis in plant with 6 months. C. Mesophyll at 5 X of plant with 6 months. D. Mesophyll at 5 X of plant with 84 months: E. Face vascular first order plant mesophyll of plant with 84 months. F. Face vascular third order plant mesophyll of plant with 84 months. C= wax; Cr= crystals; Pp= papillae; Ce= epidermal cells; co= guard cells; Ce= subsidiary cells; C = substomatal camera; Ct= Cuticle; P= parenchyma; Pe= palisade parenchyma; Ps= spongy parenchyma; Hv= vascular bundle; Mx= metaxylem; Mf= metaphloem; Pf= obliterated protofloem; Px= obliterated protoxylem.

Several features that have the leaves of plants, the leaf area are perhaps the most significant from the point of view systematic and phylogeny. The structure of epicuticular

Los haces vasculares, se encuentran organizados en bandas, posicionadas en tres filas arqueadas paralelas a la curvatura del mesófilo, reconocidas como fila adaxial, central y abaxial. En particular el arreglo de cada banda en estas plantas puede ser categorizada de manera similar a las de las plantas crasas. Esto debido a la disposición diferente del xilema y floema en cada una de ellas dependiendo de su tamaño (Cutler *et al.*, 2007). Así por ejemplo, las más grandes representan las de primer orden (Hv1), con la diferencia de que el conjunto de vasos del metaxilema es separado en la parte media por protoxilemas obliterados. El conjunto floemático en estas bandas se dispone hacia el polo abaxial (haz colateral) separada por una viga de células esclerenquimáticas, los cuáles a la vez junto con el xilema encierran al conjunto floemático (Figura 1E).

Se encuentra también las de segundo orden (Hv2), en el que no existe protoxilema obliterado y el conjunto floemático sigue dividido por esclerénquimas. Y las de tercer orden (Hv3), en la que además de no existir protoxilema, se observa que el conjunto floemático no se encuentra dividido por tejido esclerenquimatoso (Figura 1F). La cantidad de haces vasculares es mayor por el lado adaxial y aumenta conforme la planta crece (Cuadro 1). El tamaño es similar en todas las edades. Los elementos de vaso presentan perforación simple, con paredes engrosadas.

Por otra parte, el arreglo del tejido vascular observada en esta especie ha sido interpretado como una adaptación a la rápida toma de agua durante breves períodos de disponibilidad hídrica (Carlquist y Schneider, 2006).

Conclusión

Dasyllirion cedrosanum es una especie que en su anatomía foliar presenta varias características similares a otras especies del mismo género. Las variables densidad estomática, índice estomático y densidad de células epidérmicas no exhiben diferencias entre edades. El parénquima en empalizada se incrementa con la edad. En este estudio resaltan algunas características morfológicas de las hojas en la que el arreglo de los tejidos del mesófilo podría ser característico de la especie.

waxes characterizes large groups of monocots. In these has been observed in abundance two types of waxes, which have added rodlike longitudinally oriented and those in the form of parallel plates, the latter found in the family Nolinaceae (Chase *et al.*, 1995).

The mesophyll in *D. cedrosanum* has powers that allow the plant to adapt in arid environments. For example, the ipsilateral leaf arrangement allows the species to be able to large photosynthetic rates per unit biomass in high brightness environments even in semiarid environments (Knight and Robert, 1994). The presence of fibers also aid in the transport of water through palisade tissues (Rotondi *et al.*, 2003). Another important feature is the presence of prismatic crystals cuboidal form which has been observed in other species belonging to different orders of monocots as Asparagales, Liliales and Pandanales. It is not known with certainty the role they present in tissues, often mentioned that their function is to serve as a repository of metabolic waste which could be toxic to cells or tissues (Prychid and Rudall, 1999); however, it has been recognized that this type of glass can be taken as a taxonomic character (Prychid and Rudall, 2000).

The vascular bundles, are organized in bands, arcuate positioned in three rows parallel to the curvature mesophyll recognized as adaxial row, central and abaxial. In particular the arrangement of each band in these plants can be categorized similar to the manner succulents. This is due to the different arrangement of xylem and phloem in each depending on their size (Cutler *et al.*, 2007). For example, the larger representing the first order (Hv1), with the difference that the set of vessels metaxylem is separated in the middle by protoxylem obliterated. The phloem set in these bands are available to the abaxial pole (side beam) separated by a beam sclerenchymatous cells, which together with the xylem phloem enclose the whole (Figure 1E).

It is also the second order (Hv2), wherein there is obliterated and phloem protoxylem whole is divided by sclerenchyma. And the third order (Hv3), in which besides the absence protoxylem, shows that the phloem set is not divided by sclerenchymatous tissue (Figure 1F). The amount of vascular bundles is enhanced by the adaxial side and increases as the plant grows (Table 1). The size is similar in all ages. The vessel elements have simple perforation, with thickened walls.

Literatura citada

- Anónimo. 2002. JMP User's Guide, Versión 5.0.1 SAS Institute Inc., Cary.
- Barthlott, W.; Neinhuis, C.; Cutler, D.; Ditsch, F.; Meusel, I.; Theisen, I. and Wilhelm, H. 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Bot. J. Linnean Soc.* 126:237-260.
- Bogler, D. J. 1994. Taxonomy and phylogeny of *Dasyilirion* (Nolinaceae). Ph.D. Dissertation, Faculty of The University of Texas, Austin, Texas. 583 p.
- Bogler, D. J. 1998. Three new species of *Dasyilirion* (Nolinaceae) from Mexico and a clarification of the *D. longissimum* complex. *Brittonia*. 50(1):71-86.
- Carlquist, S. and Schneider, E. L. 2006. Origins and nature of vessels in monocotyledons: 8. Orchidaceae. *Am. J. B.* 93: 963-971.
- Carpenter, K. J. 2005. Stomatal architecture and evolution in basal angiosperms. *Am. J. B.* 92:1595-1615.
- Chase, M. W.; Stevenson, S. W.; Wilkin, P. and Rudall, P. J. 1995. Monocot systematics: a combined analysis. In: Rudall, P. J.; Cribb, P. J. and Cutler, D.; Humphries, F. Eds. *Monocotyledons: systematics and evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew. 685-730 pp.
- Croxdale, J. L. 2000. Stomatal patterning in angiosperms. *Am. J. B.* 87:1069-1080.
- Cutler, D. F.; Botha, T. and Stevenson, D. W. 2008. *Plant anatomy: an applied approach*, Blackwell Publishing, Oxford. 312 p.
- Dahlgren, R. M. T.; Clifford, H. T. and Yeo, P. F. 1985. *The Families of the Monocotyledons: Structure, Evolution and Taxonomy*, Springer-Verlag, Berlín. 23-43 pp.
- Evert, R. F. 2006. *Esau's plant anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body: their structure, function and development*, Hoboken. 3rd. Ed. Wiley-Interscience. 624 p.
- Hernández, S. M. 1990. *Manual de laboratorio: citología y citogenética*. Editorial Trillas: UAAAN. México. 105 p.
- Holroyd, G. H.; Heltherington, A. M. and Gray, J. E. 2002. A role for the cuticular waxes in the environmental control of stomatal development. *New Phytologist*. 153:433-439.
- Kameshwari, M. N. S. 2011. Epidermal micromorphology in populations of *Urginea indica* Kunth. (Liliaceae). *International Journal of Environmental Science and Technology*. 35: 3816-3824.
- Knight, B. W. and Robert, A. W. 1994. Palisade Mesophyll cell expansion during leaf development in *Zinnia elegans* (Asteraceae). *American Journal of Botany*. 81:609-615.
- Kouwenberg, L. L. R.; McElwain, J. C.; Kurschner, W. M.; Wagner, F.; Beerling, D. J.; Mayle, F. E. and Visscher, H. 2003. Stomatal frequency adjustment of four conifer species to historical changes in atmospheric CO₂. *Am. J. Bot.* 90: 610-619.
- Kubitzki, K. 1998. *The families and genera of vascular plants*. Springer-Verlag, Berlín. 125-129 pp.
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linnean Soc.* 161:105-121.
- Melgoza, C. A. y Sierra, J. S. 2003. Contribución al conocimiento y distribución de las especies de *Dasyilirion* spp. (sotol) en Chihuahua, México. *Ciencia Forestal en México*. 28(93):25-40.
- Mukherjee, K. K.; Roy, M.; Saha, P.K. and Ganguly, S. N. 2000. Surface morphology of tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Phytomorphology*. 50:125-131.
- Prabhakar, M. 2004. Structure, delimitation, nomenclature and classification of stomata. *Acta Botanica Sinica-English Edition*. 46(2):242-252.
- Moreover, the arrangement of vascular tissue observed in this species has been interpreted as an adaptation to rapid water intake for short periods of water availability (Carlquist and Schneider, 2006).

Conclusion

Dasyilirion cedrosanum is a species that has several foliar anatomy similar to other species of the same genus characteristics. The variables stomatal density, stomatal index and density of epidermal cells do not exhibit differences between ages. The palisade parenchyma increases with age. In this study highlights some morphological characteristics of leaves in which the arrangement of mesophyll tissues could be characteristic of the species.

End of the English version



- Prychid, C. J. and Rudall, P. J. 1999. Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and systematics. *Ann. Bot.* 84 (6):725-739.
- Prychid, C. J. and Rudall, P. J. 2000. Distribution of calcium oxalate crystals in monocotyledons. In: Wilson, K. L. and Morrison D. A. Eds. *Monocotyledons: Systematics and Evolution*. CSIRO, Collingwood. 159-162 pp.
- Qiang, W.; Wang, X. L.; Chen, T.; Feng, H. Y.; An, L. S.; He, Y. Q. and Wang, G. 2003. Variation in stomatal density and carbon isotope values in *Picea crassifolia* at different altitudes in Qilian Mountains. *Trees*. 17:28-262.
- Radoglou, K. M. and Jarvis, P. G. 1990. Effects of CO₂ enrichment on four poplar clones. II. Leaf surface properties. *Ann. Bot.* 65:627-632.
- Rodríguez-Gomez, G. 2007. La denominación de origen del tequila: Pugnas de poder y la construcción de la especificidad sociocultural del agave azul. *Nueva Antropología*. 67:141-171.
- Rotondi, A.; Rossi, F.; Asunis, C. and Cesaraccio, C. 2003. Leaf xeromorphic adaptations of some plants of a coastal Mediterranean machia ecosystem. *J. Mediterranean Ecol.* 4:25-35.
- Rzedowski, J. and Rzedowski, G.C. 1990. *Flora fanerogámica del valle de México*. Instituto de Ecología. A. C., Pátzcuaro, Michoacán. México. 674 p.
- Stebbins, G. L. and Khush, G. S. 1961. Variation in the organization of the stomatal complex in the leaf epidermis of monocotyledons and its bearing on their phylogeny. *Am. J. Bot.* 48:51-59.
- Thompson, J. D. and Brunet, J. 1990. Hypothesis for the evolution of dioecy in seed plants. *Trends in Ecology and Evolution*. 5:11-16.
- USDA. ARS, National Genetic Resources Program Germplasm Resources Information Network (GRIN) [Online database]. National Germplasm Resource Laboratory, Beltsville, Maryland.
- Zarinkamar, F. 2006. Density, size and distribution of stomata in different monocotyledons. *Pak. J. Biol. Sci.* 9:1650-1659.