

## VARIACIÓN DE CARACTERES EPIDÉRMICO-FOLIARES DE *ÁGAVE SALMIANA* SUBSP. *SALMIANA* (ASPARAGACEAE) EN EL CENTRO DE MÉXICO

## VARIATION OF EPIDERMAL-FOLIAR CHARACTERS OF *ÁGAVE SALMIANA* SUBSP. *SALMIANA* (ASPARAGACEAE) IN THE CENTER OF MEXICO

LORENA E. CHÁVEZ-GÜITRÓN<sup>1</sup>, FLORENCIA DEL C. SALINAS-PÉREZ<sup>1</sup>, EDGAR A. PÉREZ-SALINAS<sup>1</sup>, JAVIER CABALLERO<sup>2</sup>, ALEJANDRO VALLEJO-ZAMORA<sup>2</sup> Y ESTELA SANDOVAL-ZAPOTITLA<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Universidad Tecnológica de Tecámac, Estado de México, México.

<sup>2</sup> Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

esz@ib.unam.mx

### Resumen

**Antecedentes:** *Agave salmiana* tiene dos subespecies con gran variación morfológica. *Agave salmiana* subsp. *salmiana* es nativa de zonas áridas del centro y sur de México, con importancia alimenticia, cultural y económica, pero se desconoce el nivel de variación fenotípica de sus caracteres epidérmicos.

**Pregunta:** ¿Cuál es el grado de variación anatómica intra e interpoblacional en los caracteres epidérmicos, particularmente en el margen, la región intermedia y la vena media de la hoja?

**Métodos:** Se compararon muestras de epidermis, de tres regiones de las hojas, de cinco individuos de tres localidades del Estado de México. Se montaron como preparaciones semipermanentes; se compararon estadísticamente catorce parámetros en los tres niveles asignados.

**Resultados:** Se encontraron diferencias significativas entre las regiones de la hoja en 57 %; mientras que entre individuos de cada localidad hay 21, 36 y 71 % respectivamente, y entre localidades 71 %. El intervalo de plasticidad fenotípica va de 14 a 100 %, la menor entre las regiones de las hojas y la mayor en la localidad de Teotihuacán. Se infiere la relación de esta variación con la procedencia de las plantas. Los análisis multivariados evidencian que seis caracteres epidérmicos distinguen significativamente a los individuos de las tres localidades, particularmente a los de Tecámac.

**Conclusión:** La variación en los caracteres epidérmicos es significativa a nivel intra e interpoblacional. Excepto entre las tres regiones de la hoja, la plasticidad fenotípica es alta entre los individuos de cada localidad y entre las tres localidades.

**Palabras clave:** *Agave salmiana*, análisis multivariados, epidermis, hoja.

### Abstract

**Background:** *Agave salmiana* has two subspecies with great morphological variation. *Agave salmiana* subsp. *salmiana* is native to arid areas of Central and Southern Mexico, with food, cultural and economic importance, but the level of phenotypic variation of its epidermal characteristics is unknown.

**Question:** What is the degree of anatomical variation intra and interpopulation in epidermal characters, particularly in the margin, the intermediate region and middle leaf?

**Methods:** Epidermis samples were compared, from three regions of leaves, from five individuals in three localities of the State of Mexico. These were mounted as semi-permanent preparations; fourteen parameters were statistically compared in the three levels assigned.

**Results:** There were significant differences between the regions of the leaf by 57 %; while among individuals of each locality there is 21, 36 and 71 % respectively, and among localities 71 %. Phenotypic plasticity interval goes from 14 to 100 %, the lowest among the regions of the leaves and the largest on Teotihuacan. The relationship of this variation with the origin of the plants can be inferred. Multivariate analysis demonstrate that six epidermal characteristics significantly distinguish individuals from the three towns, particularly those from Tecamac.

**Conclusion:** The variation in the epidermal characters is significant to both intra and interpopulation level. Except among three regions of leaf, phenotypic plasticity is high among individuals of each location and the three towns.

**Key words:** *Agave salmiana*, epidermis, leaf, multivariate analysis.

Los agaves (*Agave* L., Asparagaceae) son plantas de distribución tropical y subtropical, presentes en zonas de clima árido. Existen 273 especies en el Continente Americano. La República Mexicana es considerada el centro de origen del género *Agave* (Nobel 1988, García-Mendoza 2007, García-Herrera *et al.* 2010). El 75 % de las especies se encuentran en México y 55 % de éstas son endémicas (Granados 1993, Illsey *et al.* 2005). *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck, conocida como “maguey manso” o “maguey verde”, es endémica de México (Coahuila, Colima, Durango, Estado de México, Hidalgo, Puebla, San Luis Potosí, Tlaxcala y Zacatecas), desde los 1,000 hasta los 2,800 m snm, en ambientes templados y cálidos secos, con una precipitación que fluctúa entre 360 a 1,200 mm, (Gentry 1982, Granados 1993, Sánchez-Urdaneta *et al.* 2004).

Para Gentry (1982) las poblaciones cultivadas y silvestres de *A. salmiana* presentan plantas que pudieron originarse de una sola planta madre; sin embargo, tienen una amplia variabilidad morfológica que se refleja principalmente en la hoja. Taxonómicamente es una especie que aún no está totalmente delimitada, no solo por presentar una alta variación morfológica, sino también por tener una alta tasa de hibridación en condiciones naturales (Verduzco-Martínez *et al.* 2008, Aguilar-Juárez *et al.* 2014). Recientemente García-Mendoza (2011), consideró que *A. salmiana* sólo incluye dos subespecies: *A. salmiana* subsp. *salmiana* y *A. salmiana* subsp. *tehuacanensis* (Karw. ex Salm-Dyck) García-Mend. La primera se caracteriza por incluir plantas más grandes, masivas, con mayor número de hojas, con margen recto a ondulado y dientes más pequeños, las inflorescencias, son más altas y robustas, con ramas más largas, hasta de cuarto orden. Existen múltiples formas obtenidas del cruzamiento entre las subespecies, pero no se registran estudios que profundicen en el conocimiento del grado de variación morfológica entre ellas.

*Agave salmiana* subsp. *salmiana* se conoce de los estados de Durango, Coahuila y Oaxaca (García-Mendoza 2011) y a lo largo de su área de distribución se observa una alta variación morfológica. Este es el caso entre los individuos que crecen en distintas localidades de la Región de Teotihuacán en el Estado de México, esto se ha observado inclusive entre individuos que crecen en una misma localidad.

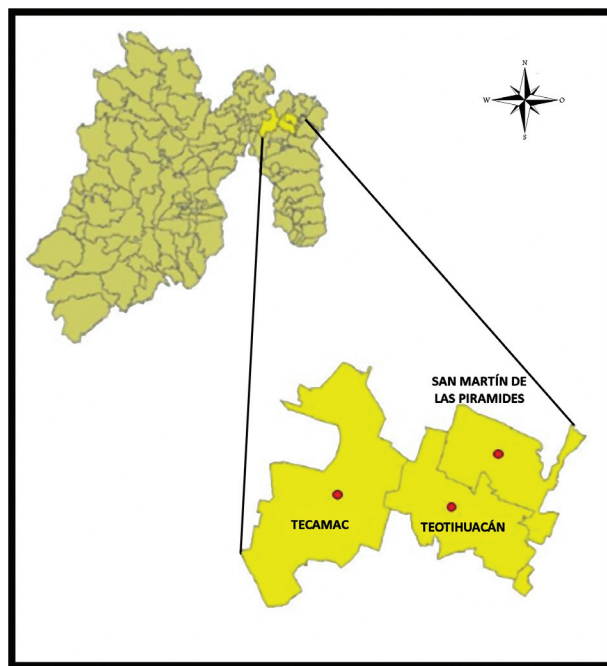
Diversos estudios han mostrado la utilidad de los estudios anatómicos en el conocimiento de la variación infraespecífica en plantas y su relación con el ambiente (Ackerly *et al.* 2002, McDonald *et al.* 2003, Reyes *et al.* 2005, Martínez-Quezada *et al.* 2016, Jiménez-Noriega *et al.* 2017, Martínez-Valverde 2019, Sandoval-Zapotitla *et al.* 2019). Este enfoque a la fecha no ha sido abordado para el género *Agave* y sólo algunos estudios reportan aspectos generales de su anatomía foliar, donde se ha descrito la cutícula y superficie foliar de unas pocas especies (Gentry & Sauck 1978, Willmer & Pallas 1983, Nobel 1988). En otras especies, como *Agave tequilana* F.A.C. Weber, Hernández-Valencia *et al.* (2003) mencionan datos de caracteres epidérmicos; para el caso de *Agave angustifolia* Haw y *A. tequilana*, Sánchez-Galindo (2010), analiza el tejido fundamental, vascular y dérmico. A pesar de que la hoja es el órgano de la planta más sensible a las con-

diciones ambientales (Trewavas 2003, Mencuccini 2003), el análisis de los patrones de variación anatómica puede tener gran importancia taxonómica. En el caso de orquídeas y crasuláceas, la epidermis ha permitido diferenciar variedades, como en *Vanilla planifolia* Andrews (Martínez-Quezada *et al.* 2016), o morfotipos, como en *Echeveria gigantea* Rose & J.A. Purpus (Sandoval-Zapotitla *et al.* 2019).

Tomando como estudio de caso las poblaciones de *Agave salmiana* subsp. *salmiana* que se encuentran en la parte norte del Estado de México, el presente estudio se plantea las siguientes preguntas: ¿Qué variación existe en los caracteres epidérmico-foliales en *Agave salmiana* subsp. *salmiana*? ¿Qué patrones de variación se pueden encontrar? ¿Los caracteres anatómicos son variables en las distintas regiones a lo ancho de la hoja? y finalmente, ¿Existe variación intra e interpoblacional significativa en estos caracteres? Conocer los caracteres epidérmicos, permitirá dar respuesta a las interrogantes planteadas. En este trabajo se describe la anatomía foliar de la epidermis de *Agave salmiana* subsp. *salmiana*, y se analizan los patrones de variación de los caracteres epidérmico-foliales en tres regiones de la hoja de individuos provenientes de tres poblaciones del Estado de México.

## Materiales y métodos

Se recolectaron muestras de hojas de cinco individuos sanos, de entre 6 y 8 años de edad de *A. salmiana* subsp. *salmiana* de tres diferentes localidades: Tecamac, San Martín de las Pirámides y Teotihuacán, municipios ubicados en el sector II de Zumpango, Estado de México (Tabla 1, Figura 1). Las



**Figura 1.** Mapa de las localidades estudiadas en Teotihuacán, Estado de México.

**Tabla 1.** Datos generales de las muestras de *Agave salmiana* subsp. *salmiana* de Teotihuacán, Edo de México  $\pm$  desviación estándar.

Localidad	Altitud m snm	Procedencia de la planta	Edad de la planta (años)	Longitud de hoja	Ancho de hoja	Intervalo de temperatura anual (°C)	Precipitación media anual (mm)
Tecámac	2,238-2,359	Tecámac	6 a 8	1.48 $\pm$ 0.22	32.95 $\pm$ 4.01	6 - 31	636
San Martín de las Pirámides	2,238-2,925	Colegio de Posgraduados, Montecillo, Edo. Méx.	8	1.66 $\pm$ 0.05	30.6 $\pm$ 2.40	10 - 30	600
Teotihuacán	2,257-2,535	Veracruz (Perote) e Hidalgo (Santa María Tecajete)	8	1.61 $\pm$ 0.02	32.8 $\pm$ 3.04	6 - 31	586

plantas cultivadas en Tecámac son propias de esta localidad, mientras que las recolectadas en San Martín de las Pirámides proceden del Colegio de Posgraduados, Montecillo, Estado de México y las de Teotihuacán de Santa María Tecajete, Hidalgo (individuos 1, 2 y 3) y de Perote, Veracruz (individuos 4 y 5, Tabla 1).

Todas las muestras se obtuvieron de la zona media comprendida entre la base y el ápice de la hoja y se tomaron a partir de tres diferentes regiones: vena media, intermedia y margen (Figura 2A), para cada uno de los cinco individuos de las tres localidades, por lo que en total se examinaron 45 muestras. Estas se fijaron en campo con FAA (Formaldehído-Alcohol-Ácido acético), por un lapso de 48 horas en agitación (Agitador rotatorio LAB-LINE).

De cada muestra se extrajeron las epidermis adaxial y abaxial con restos de mesófilo aún adherido, se sumergieron en NaOH (hidróxido de sodio) al 20 % durante 20 min, se lavaron con agua corriente y se sumergieron en NaClO (hipoclorito de sodio) al 20 %, hasta que las muestras se tornaran blanquecinas; las epidermis se limpiaron para eliminar restos de tejido adherido y se montaron con gelatina glicerina como preparaciones temporales (Sandoval-Zapotitla *et al.* 2005). Se observaron en un fotomicroscopio Carl Zeiss-Axioskop donde se analizaron catorce parámetros cuantitativos, con veinte mediciones en cada uno de ellos, se registraron fotomicrografías con una cámara Point Grey, a partir de las cuales se realizaron medidas lineales y de área con el programa ImageJ v.1.48 (Schneider *et al.* 2014).

La determinación del índice estomático (IE) se realizó con un microscopio óptico Zeiss en un campo de 400X. El cálculo del IE se realizó a través de la ecuación sugerida por Salisbury (Willmer & Pallas 1973), la cual relaciona la cantidad de estomas por unidad de área foliar al número de células epidérmicas por la misma unidad de área. De este modo:

$$IE = (NE)/(CE + NE) \times 100$$

Donde NE = Número de estomas por campo de observación. CE = Número de células epidérmicas en el mismo campo de observación.

Otros términos, como la forma de células epidérmicas, tipo de pared anticlinal, rebordes cuticulares externos e internos, cámara supraestomática y subestomática, fueron tomados de Koch *et al.* (2009) y para el tipo de estomas de Wilkinson (1988). Con el propósito de conocer con detalle el nivel de variación de estos parámetros, se analizaron tres

niveles de comparación: el primer nivel fue entre tres regiones a lo ancho de la hoja, el segundo nivel entre los cinco individuos de cada localidad y el tercer nivel entre las tres localidades evaluadas.

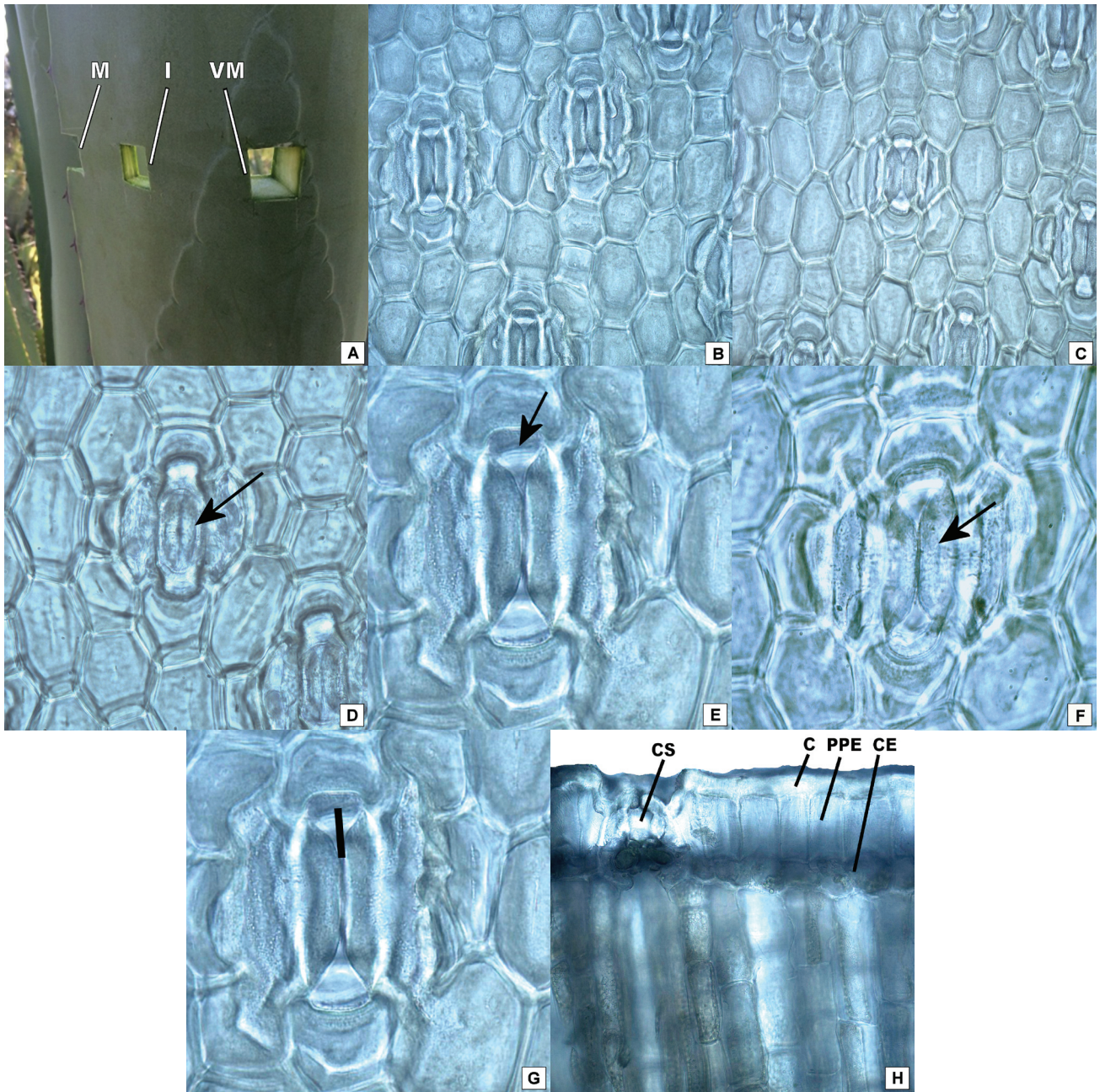
Con el propósito de saber si existen diferencias significativas en estos parámetros anatómicos, en la comparación entre las tres regiones de la hoja y entre los individuos de cada localidad, se realizó un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) a un nivel de significancia de 5 % ( $P \leq 0.05$ ). Cuando el análisis de la varianza fue significativo, se realizó la prueba de Tukey de comparación múltiple de las medias con el mismo nivel de significancia, estos análisis se realizaron con el programa JMP v.7 (SAS Institute Inc.). En los tres niveles de comparación se reportan los valores de media; como una medida estandarizada de variación, para cada carácter se calculó el índice de canalización microambiental (LS = Levene statistic  $P \leq 0.05$ ), el cual indirectamente indica el grado de plasticidad fenotípica (Hall *et al.* 2007).

Para conocer los patrones de variación en los caracteres anatómicos entre los individuos de las tres localidades, se compararon los 15 individuos con base en los 14 caracteres observados mediante un análisis de componentes principales. Para ello, se utilizó el programa NTSYS v. 2.2t (Rohlf 1998). Posteriormente se realizó un análisis de funciones discriminantes, mediante el programa IBM-SPSS v 23 (IBM 2015), para estimar la significancia de los grupos revelados por el análisis de componentes principales. Con la finalidad de conocer el nivel de significancia de la variación de los caracteres de mayor peso en los análisis multivariados, se realizó un análisis de varianza, una prueba de Tukey y se estimó el índice de canalización microambiental.

## Resultados

*Descripción anatómica de epidermis foliar.* En vista superficial, las células de ambas epidermis son poligonales isodiamétricas y con área promedio de 3,713.86  $\mu\text{m}^2$  (intervalo: 3,225.7 - 4,202.02) en epidermis adaxial y de 3,704.85  $\mu\text{m}^2$  (intervalo: 3,306.82 - 4,102.88) en epidermis abaxial; la cutícula y las paredes periclinales externas son lisas, sin ornamentaciones en ambas superficies, las paredes anticlinales son rectas (Figura 2B, 2C), con grosor promedio de 5.79  $\mu\text{m}$  (intervalo: 5.31 - 6.27) y de 5.72  $\mu\text{m}$  (intervalo: 5.13 - 6.30) respectivamente. Presentan estomas en ambas epidermis, de tipo tetracítico, organizados en hileras paralelas al eje longitudinal de la hoja; índice estomático adaxial de 8.65 (inter-





**Figura 2.** *Agave salmiana* subsp. *salmiana*. **A.** Regiones analizadas de la hoja. **B-G.** Vista superficial de epidermis. **B.** Epidermis adaxial. **C.** Epidermis abaxial. **D.** Células oclusivas (flecha). **E.** Reborde cuticular polar (flecha). **F.** Borde cuticular lateral de estoma (flecha). **G.** Espacio cuticular polar (línea). Vista transversal de hoja. **H.** Epidermis monoestratificada, células epidérmicas con pared periclinal externa engrosada. CE = células epidérmicas, CS = cámara supraestomática, C = cutícula, I = intermedia, M = margen, PPE = pared periclinal externa, VM = vena media (B y C = X200, D y H = X400, E-G = X1000).

valo: 8.41 - 8.88) y abaxial de 7.90 (intervalo: 7.74 - 8.05); las células oclusivas (Figura 2D), en la superficie adaxial con longitud promedio de 51.66  $\mu\text{m}$  (intervalo: 46.59 - 56.73) y abaxiales de 52.35  $\mu\text{m}$  (intervalo: 47.03 - 57.67); cada célula oclusiva tiene rebordes cuticulares en cada polo del estoma (Figura 2E), cuyo ancho en la epidermis adaxial es de 9.80

$\mu\text{m}$  (intervalo: 9.53 - 10.07) y en la abaxial es de 9.41  $\mu\text{m}$  (intervalo: 9.08 - 9.73); además tiene bordes cuticulares laterales (Figura 2F), cuyo ancho es de 37.84  $\mu\text{m}$  (intervalo: 34.92 - 40.76) en epidermis adaxial y de 35.92  $\mu\text{m}$  (intervalo: 34.21 - 37.62) en epidermis abaxial; los estomas tienen un espacio cuticular polar evidente (Figura 2G), en la epidermis

adaxial este espacio tiene un ancho de 38.10  $\mu\text{m}$  (intervalo: 36.40 - 39.79) y en la abaxial es de 36.74  $\mu\text{m}$  (intervalo: 35.02 - 38.46).

En sección transversal la cutícula es lisa y gruesa, la epidermis es monoestratificada, con células oblongas y paredes periclinales externas celulósicas evidentemente engrosadas (Figura 2H). Los estomas se observan hundidos con respecto a la superficie, sin rebordes cuticulares internos; los rebordes cuticulares externos son prominentes y forman una cámara supraestomática. Se observa una cámara subestomática alargada que abarca varios estratos de células del mesofilo (Figura 2H).

*Análisis de varianza entre las tres regiones de la hoja.* El análisis de varianza mostró que el 57 % de los caracteres analizados tienen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ; Tabla 2) en al menos en una de las tres regiones de la hoja. Los caracteres que mostraron variación son: índice estomático en ambas epidermis (IEADA/IEABA), longitud de las células oclusivas adaxiales (LCOADA), grosor de pared anticlinal abaxial (GPAABA), ancho del borde cuticular lateral adaxial (ABCLADA), ancho del espacio cuticular polar abaxial (AECPABA) y área de las células epidérmicas en ambas epidermis (ACEADA/ACEABA). Sin embargo, de las tres regiones sólo se forman dos grupos en todos los casos; la parte intermedia de la hoja incluye dos caracteres con valores significativamente mayores en LCOADA y ACEADA, mientras que en el caso de GPAABA, las diferencias son significativas en el margen.

*Análisis de varianza entre individuos de la misma localidad.*

A partir de la comparación de las tres regiones de la hoja entre individuos de la localidad de Tecámac, se encontró variación significativa ( $P \leq 0.05$ ; Tabla 3) en cinco caracteres (35.7 %), al menos en uno de los cinco individuos analizados, estos son: LCOADA y en la epidermis abaxial (LCOABA), ancho del reborde cuticular polar abaxial (ARCPABA) y ACEADA/ACEABA. Excepto el ARCPABA con dos grupos homogéneos, en el resto de estos caracteres, la variación es mayor, ya que se forman tres grupos homogéneos.

En la variación entre individuos de San Martín de las Pirámides, se encontraron sólo tres caracteres (21.43 %) con variación significativa ( $P \leq 0.05$ ). Estos caracteres son: GPABA, AECPABA y ACEABA. En esta localidad la variación entre individuos es menor ya que sólo se formaron dos grupos (Tabla 4).

Entre individuos de la localidad de Teotihuacán (Tabla 5), hay diez caracteres (71.43 %) con variación significativa ( $P \leq 0.05$ ), al menos en alguno de sus individuos. De estos caracteres, la variación de seis es menor ya que sólo forman dos grupos, mientras que otras tres variables forman tres grupos; el ancho del espacio cuticular polar adaxial (AECPADA), mostró mayor variabilidad al formar cuatro grupos.

*Patrones de variación en los caracteres de la epidermis foliar entre las tres poblaciones estudiadas.* El análisis de componentes principales muestra diferencias importantes entre los individuos de las tres poblaciones comparadas. Como se observa en la Figura 3A, el primer componente principal,

**Tabla 2.** Promedio y LS (Levene statistic) de los parámetros epidérmicos de *A. salmiana* subs. *salmiana* en tres regiones diferentes de la hoja. Letras desiguales indican grupos distintos en la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Carácter	Marginal	LS	Intermedia	LS	Vena media	LS
IEADA	8.20 b	0.05	8.78 a	0.02	8.88 a	0.03
IEABA	7.25 b	0.09	8.28 a	0.05	8.19 a	0.04
LCOADA	50.02 b	0.03	53.44 a	0.04	51.13 b	0.01
LCOABA	51.90 a	0.01	53.17 a	0.02	51.46 a	0.01
GPAADA	5.81 a	0.02	5.59 a	0.02	5.66 a	0.01
GPAABA	5.86 a	0.05	5.50 b	0.01	5.27 b	0.05
ABCLADA	36.10 b	0.05	38.51 a	0.01	39.34 a	0.03
ABCLABA	35.00 a	0.01	36.03 a	0.01	35.44 a	0.00
ARCPADA	9.93 a	0.01	9.84 a	0.00	9.83 a	0.00
ARCPABA	9.56 a	0.02	9.27 a	0.01	9.23 a	0.01
AECPADA	38.25 a	0.01	38.33 a	0.01	37.22 a	0.02
AECPABA	38.17 a	0.04	36.96 a	0.01	34.76 b	0.05
ACEADA	3,636.06 b	0.01	3,822.46 a	0.04	3,520.85 b	0.04
ACEABA	3,678.39 a	0.02	3,776.45 a	0.05	3,329.62 b	0.08

IEADA = Índice estomático adaxial, IEABA = Índice estomático abaxial, LCOADA = Longitud de células oclusivas adaxial ( $\mu\text{m}$ ), LCOABA = Longitud de células oclusivas abaxial ( $\mu\text{m}$ ), GPAADA = Grosor de pared anticlinal adaxial ( $\mu\text{m}$ ), GPAABA = Grosor de pared anticlinal abaxial ( $\mu\text{m}$ ), ABCLADA = Ancho de borde cuticular lateral adaxial ( $\mu\text{m}$ ), ABCLABA = Ancho de borde cuticular lateral abaxial ( $\mu\text{m}$ ), ARCPADA = Ancho de reborde cuticular polar adaxial ( $\mu\text{m}$ ), ARCPABA = Ancho de reborde cuticular polar abaxial ( $\mu\text{m}$ ), AECPADA = Ancho de espacio cuticular polar adaxial ( $\mu\text{m}$ ), AECPABA = Ancho de espacio cuticular polar abaxial ( $\mu\text{m}$ ), ACEADA = Área de células epidérmicas adaxiales ( $\mu\text{m}^2$ ), ACEABA = Área de células epidérmicas abaxiales ( $\mu\text{m}^2$ ).

**Tabla 3.** Promedio y LS (Levene statistic), de los parámetros epidérmicos de *A. salmiana* subs. *salmiana* entre individuos de la localidad de Tecámac. Letras desiguales indican grupos distintos en la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Carácter	TEC1	LS	TEC2	LS	TEC3	LS	TEC4	LS	TEC5	LS
IEADA	7.70 b	0.09	8.73 a	0.04	8.53 a	0.02	8.75 a	0.04	8.25 ab	0.02
IEABA	7.08 a	0.09	7.89 a	0.02	7.76 a	0.00	7.60 a	0.02	8.34 a	0.07
LCOADA	48.03 c	0.18	55.20 b	0.03	58.66 a	0.03	60.37 a	0.06	61.25 a	0.07
LCOABA	51.29 d	0.12	56.58 c	0.02	58.58 bc	0.02	62.16 a	0.07	59.54 b	0.03
GPAADA	5.93 b	0.06	6.15 b	0.02	6.86 a	0.09	6.26 ab	0.00	6.13 b	0.02
GPAABA	6.23 a	0.01	6.26 a	0.00	6.54 a	0.04	6.39 a	0.02	6.05 a	0.04
ABCLADA	38.09 c	0.07	38.40 c	0.06	44.31 a	0.08	39.86 bc	0.02	43.11 ab	0.05
ABCLABA	38.47 a	0.02	38.29 a	0.02	36.00 a	0.04	37.70 a	0.00	37.57 a	0.00
ARCPADA	9.78 a	0.03	9.10 a	0.05	9.73 a	0.02	9.26 a	0.03	9.75 a	0.02
ARCPABA	10.21 a	0.11	8.87 b	0.02	8.95 b	0.01	8.52 b	0.06	8.79 b	0.03
AECPADADA	37.66 c	0.06	37.50 c	0.06	39.75 bc	0.00	42.98 a	0.08	40.85 ab	0.03
AECPABA	39.24 ab	0.02	36.72 bc	0.05	34.26 c	0.12	40.17 a	0.04	41.78 a	0.08
ACEADA	3,607.64 c	0.16	4,182.35 b	0.00	4,237.63 b	0.01	4,940.01 a	0.15	4,036.18 b	0.04
ACEABA	3,572.7 d	0.15	4,073.1 bc	0.03	4,300.45 b	0.02	4,620.84 a	0.09	3,935.17 c	0.07

el cual explica el 49.1 % de la variación, discrimina a todos los individuos de la localidad de Tecámac de los demás. Los caracteres con mayor peso que contribuyen a explicar estos agrupamientos son: LCOADA y la longitud de las células oclusivas abaxiales (LCOABA) con valores mayores a 56.73  $\mu\text{m}$  y 57.67  $\mu\text{m}$  respectivamente, el grosor de pared anticlinal adaxial (GPAADA) y GPAABA (> 6.27  $\mu\text{m}$  y 6.30  $\mu\text{m}$ ), además del ACEADA y ACEABA (> 4,202.02  $\mu\text{m}^2$  y 4,102.88  $\mu\text{m}^2$ ). El segundo componente principal explica el 16.3 % de la variación y separa en dos grupos a los individuos de la población de Tecámac. El primero de ellos situado en la parte

superior de la gráfica (TEC3, TEC4, TEC5), corresponde a los individuos que tienen valores mayores en el índice estomático (> 8.25 en IEADA y > 7.60 en IEABA) y ancho de borde cuticular lateral adaxial (> 39.86  $\mu\text{m}$ ). El grupo situado en la parte inferior (TEC1, TEC2), presenta valores menores en dichos caracteres. Los individuos de Teotihuacán y San Martín de las Pirámides se combinan en la parte positiva de la escala del primer componente principal; ambos con valores menores en los mismos caracteres mencionados (< 56.73  $\mu\text{m}$  en LCOADA, < 57.67  $\mu\text{m}$  en LCOABA, < 6.27  $\mu\text{m}$  en GPAADA y < 6.30  $\mu\text{m}$  en GPAABA). Se observa, sin

**Tabla 4.** Promedio y LS (Levene statistic), de los parámetros epidérmicos de *A. salmiana* subs. *salmiana* entre individuos de la localidad de San Martín de las Pirámides. Letras desiguales indican grupos distintos en la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Carácter	SM1	LS	SM2	LS	SM3	LS	SM4	LS	SM5	LS
IEADA	8.91 a	0.00	8.96 a	0.01	8.61 a	0.03	8.57 a	0.04	9.36 a	0.05
IEABA	7.85 a	0.03	8.30 a	0.03	8.23 a	0.02	7.68 a	0.05	8.21 a	0.02
LCOADA	47.70 a	0.02	45.25 a	0.03	46.62 a	0.00	47.62 a	0.02	45.66 a	0.02
LCOABA	52.5 a	0.10	46.37 a	0.01	46.33 a	0.01	45.79 a	0.03	44.08 a	0.07
GPAADA	5.30 ab	0.04	5.69 a	0.03	5.75 a	0.05	5.69 a	0.03	5.03 b	0.09
GPAABA	5.42 ab	0.04	5.84 a	0.11	5.35 ab	0.02	5.08 b	0.03	4.40 c	0.19
ABCLADA	33.71 c	0.14	37.61 bc	0.02	35.58 c	0.08	44.08 a	0.13	40.54 ab	0.05
ABCLABA	34.42 ab	0.01	33.98 b	0.01	33.51 b	0.02	37.16 a	0.08	32.00 b	0.07
ARCPADA	9.64 b	0.04	9.96 ab	0.01	9.34 b	0.08	11.18 a	0.10	10.23 ab	0.02
ARCPABA	9.55 a	0.03	9.38 a	0.01	8.66 a	0.07	9.53 a	0.03	9.23 a	0.00
AECPADADA	36.63 a	0.01	36.68 a	0.01	36.73 a	0.01	35.15 a	0.04	36.91 a	0.01
AECPABA	32.41 b	0.08	38.95 a	0.10	35.10 b	0.00	33.69 b	0.04	34.94 b	0.00
ACEADA	3716.42 a	0.05	3608.93 ab	0.02	3679.86 a	0.04	3353.22 bc	0.05	3278.02 c	0.08
ACEABA	3659.58 b	0.05	3956.66 a	0.12	3536.13 bc	0.01	3046.13 d	0.15	3248.33 cd	0.07



**Tabla 5.** Promedio y LS (Levene statistic), de los parámetros epidérmicos de *A. salmiana* subs. *salmiana* entre individuos de la localidad de Teotihuacán. TEO1, TEO2, TEO3 provienen de Santa María Tecajete, Hidalgo y TEO4, TEO5 de Perote, Veracruz. Letras desiguales indican grupos distintos en la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Carácter	TEO1	LS	TEO2	LS	TEO3	LS	TEO4	LS	TEO5	LS
IEADA	8.16 b	0.05	9.12 a	0.06	9.08 a	0.05	9.01 a	0.05	7.56 c	0.14
IEABA	7.49 c	0.06	8.79 a	0.10	8.05 bc	0.02	8.38 ab	0.05	6.91 d	0.15
LCOADA	50.73 ab	0.01	53.16 a	0.03	51.16 ab	0.00	53 a	0.03	48.54 b	0.06
LCOABA	55.20 a	0.06	51.95 b	0.00	51.08 b	0.02	50.41 b	0.03	50.83 b	0.02
GPAADA	4.96 c	0.07	4.80 c	0.11	5.55 b	0.04	4.94 c	0.07	6.28 a	0.15
GPAABA	4.56 c	0.12	4.82 bc	0.06	5.30 ab	0.03	5.45 a	0.06	5.47 a	0.06
ABCLADA	30.89 c	0.13	35.52 b	0.02	33.60 bc	0.04	34.80 b	0.00	39.65 a	0.12
ABCLABA	32.21 bc	0.08	37.72 a	0.08	31.29 c	0.11	34.85 ab	0.01	37.13 a	0.07
ARCPADA	9.03 b	0.11	9.74 b	0.03	9.19 b	0.09	9.72 b	0.03	12.38 a	0.19
ARCPABA	8.18 c	0.19	11.30 a	0.14	9.79 b	0.01	7.90 c	0.23	11.45 a	0.15
AECPADADA	28.26 d	0.33	36.31 c	0.04	40.09 b	0.06	40.32 b	0.07	43.20 a	0.13
AECPABA	28.88 c	0.26	36.84 b	0.01	37.73 ab	0.03	39.14 ab	0.07	39.59 a	0.08
ACEADA	2931.86 c	0.11	3175.06 bc	0.02	3503.48 a	0.07	3259.57 ab	0.00	3386.64 ab	0.04
ACEABA	2940.43 b	0.12	3336.29 a	0.01	3415.68 a	0.03	3383.96 a	0.02	3450.11 a	0.04

embargo, una tendencia de agrupamiento de los individuos de San Martín de las Pirámides en la escala positiva del segundo componente, donde los valores de índice estomático ( $> 8.58$  en IEADA y  $> 7.92$  en IEABA) y el ancho de borde cuticular lateral adaxial (de  $38.28 \mu\text{m}$ ) son mayores entre estas dos localidades.

El análisis de funciones discriminantes prueba la significancia de los agrupamientos mostrados por el de componentes principales, separando a los individuos de las tres poblaciones (Figura 3B). Además, muestra que las diferencias entre los individuos de las localidades son estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ; Tabla 6) y que no existe ningún error de clasificación o solapamiento entre poblaciones (Tabla 7). Como se observa en la figura 3B la primera función discriminante separa claramente a los individuos de Tecámac de los demás, mientras que la segunda función discriminante separa a los individuos de Teotihuacán de los de San Martín de las Pirámides. En ambos análisis los caracteres de mayor importancia para diferenciar las poblaciones son consistentes. En el análisis de varianza se encontró que los caracteres: largo de células oclusivas en ambas epidermis, área de células epidérmicas adaxiales y ancho del borde cuticular adaxial forman tres grupos, mientras que el grosor de la pared anticlinal en ambas epidermis y el área

de células epidérmicas abaxiales forman dos grupos y el índice estomático adaxial y abaxial forman un solo grupo (Tabla 8).

## Discusión

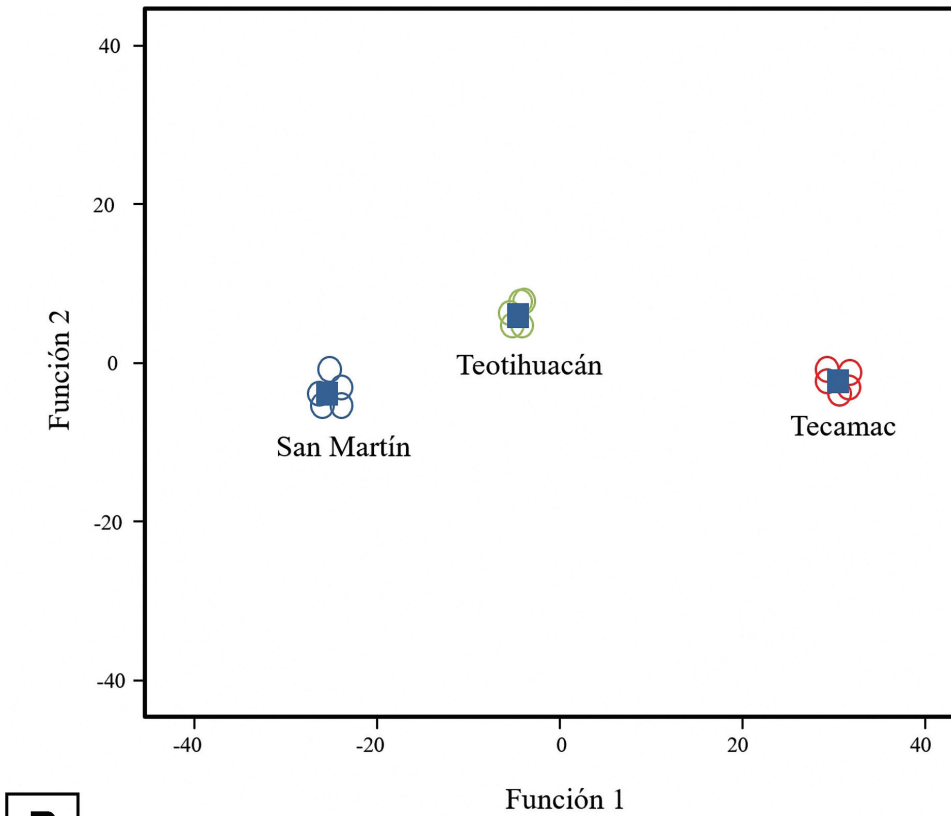
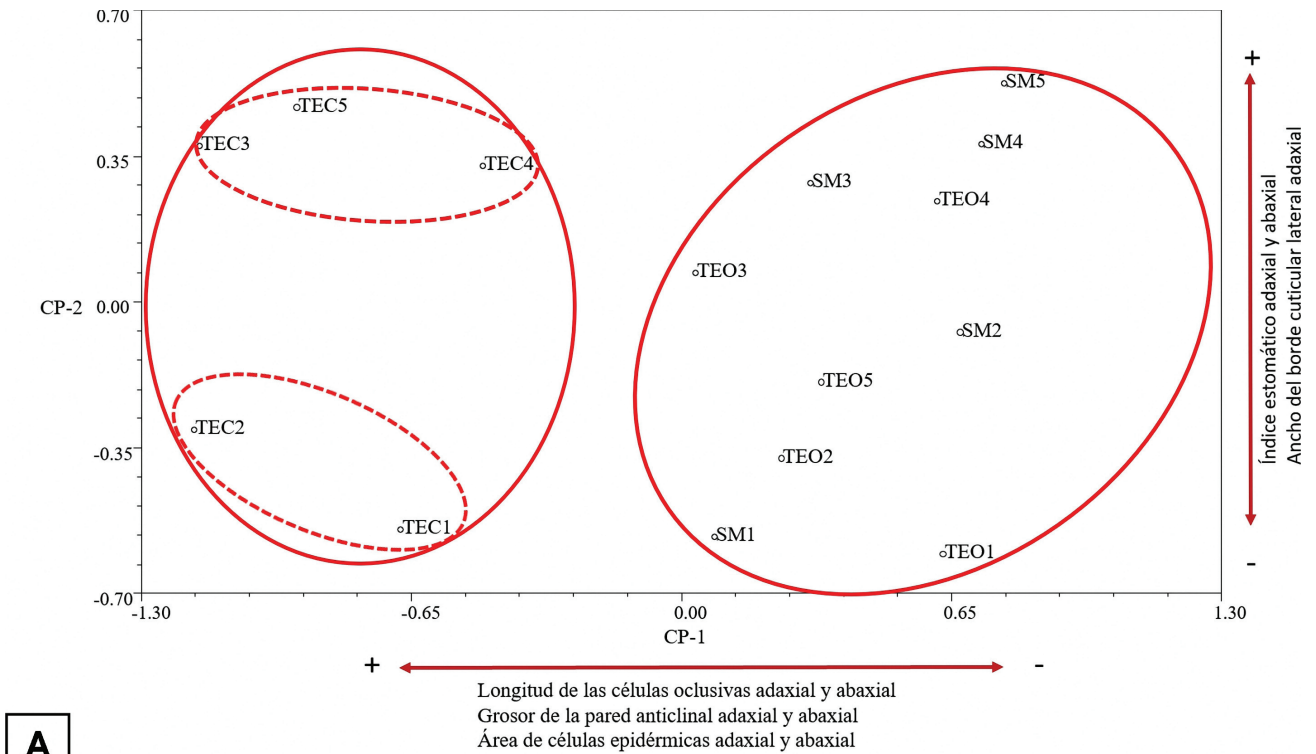
Se presenta la descripción anatómica de la epidermis foliar de *Agave salmiana* subsp. *salmiana*. En vista superficial las células epidérmicas son poligonales isodiamétricas con paredes anticlinales lineales, engrosadas y área celular promedio similar a lo establecido para *A. fourcroydes* Lem. (Sosa-del Castillo *et al.* 2014). En vista transversal, la cutícula de *A. salmiana* subsp. *salmiana*, como en otras especies de *Agave* que crecen en zonas áridas (Nobel 1988, Álvarez 1990), es lisa y gruesa. La epidermis es monoestratificada, como se presenta también para otros géneros de Asparagaceae (Álvarez 1990, Sosa-del Castillo *et al.* 2014), sus células tienen una pared periclinal externa sumamente engrosada y celuló-

**Tabla 6.** Significancia de las funciones discriminantes que separan los agrupamientos.

Contraste de las Funciones	Lambda de Wilks	Chi-cuadrado	gl	Significancia
1 a la 2	0.00	63.15	24	0.00
2	0.04	20.72	11	0.04

**Tabla 7.** Errores de clasificación encontrados por el análisis. Clasificados correctamente de los casos agrupados originales (%).

Grupo Original	Grupo de pertenencia pronosticado			
	Tecámac	San Martín	Teotihuacán	Total en el grupo
Tecámac	5	0	0	5
San Martín	0	5	0	5
Teotihuacán	0	0	5	5
Tecámac	100	0	0	100
San Martín	0	100	0	100
Teotihuacán	0	0	100	100



**Figura 3.** A. PCA: Proyección de los individuos de las tres poblaciones muestreadas (TEC = Tecamac; SM = San Martín de las Pirámides; TEO = Teotihuacán), de *Agave salmiana* subsp. *salmiana* en el espacio de los dos primeros componentes principales B. Agrupamiento de los individuos de las tres localidades comparadas de acuerdo al análisis de funciones discriminantes canónicas. Los rectángulos representan al individuo promedio de cada grupo.



**Tabla 8.** Promedio y LS (Levene statistic), de los nueve parámetros epidérmicos de *A. salmiana* subs. *salmiana* de mayor peso entre las tres localidades. Letras desiguales indican grupos distintos en la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Carácter	Tecámac	LS	San Martín de las Pirámides	LS	Teotihuacán	LS
IEADA	8.41 b	0.02	8.88 a	0.03	8.58 ab	0.00
IEABA	7.74 a	0.02	8.05 a	0.02	7.92 a	0.00
LCOADA	56.73 a	0.09	46.59 c	0.11	51.30 b	0.00
LCOABA	57.67 a	0.09	47.03 c	0.11	51.87 b	0.01
GPAADA	6.27 a	0.09	5.49 b	0.04	5.31 b	0.07
GPAABA	6.30 a	0.12	5.22 b	0.06	5.13 b	0.08
ABCLADA	40.76 a	0.07	38.28 b	0.01	34.92 c	0.09
ACEADA	4,202.02 a	0.13	3,525.7 b	0.04	3,253.91 c	0.12
ACEABA	4,102.88 a	0.12	3,377.19 b	0.06	3,306.82 b	0.09

sica, como se ha descrito para *Agave striata* Zucc., *Furcraea macdougalii* Matuda, *Hesperaloe nocturna* Gentry y *Yucca thompsoniana* Trel. Sin embargo, otras especies de *Agave*, como *A. bracteosa* S. Watson ex Engelm. y *A. ellemeeitana* K. Koch, no desarrollan engrosamiento en dichas paredes. En algunos géneros de Cactaceae que crecen en zonas áridas y semi-áridas de México, como *Coryphantha*, *Ferocactus* y *Mammillaria*, también se han observado paredes periclinales externas engrosadas (Gasson 1981, Loza-Cornejo & Terrazas 2003, Grego-Valencia *et al.* 2014).

Los patrones genéticos y ambientales o la edad de la planta determinan las diferencias entre el espesor, estructura de la cutícula y grosor de la pared periclinal externa de las células epidérmicas, además de otras estructuras internas de la hoja. Las altas temperaturas y el estrés hídrico promueven que las cutículas tengan un mayor grosor en las plantas que habitan en zonas áridas, ya que se modifica la estructura de los cordones de cera en la epidermis (Jordan *et al.* 1984, Mauseth 1988). Al igual que otras especies del mismo género, como *A. bracteosa* S. Watson ex Engelm., *A. ellemeeitana* y *A. striata* Zucc., los individuos de *A. salmiana* subsp. *salmiana*, presentan cutículas gruesas y estomas hundidos. Solo que esta última especie tiene paredes periclinales externas engrosadas, que junto con las abundantes fibras vasculares y no vasculares de paredes celulósicas reportadas anteriormente (Olvera & San Agustín 2017), confieren soporte mecánico y elasticidad a sus hojas que llegan a medir más de un metro de largo y 30 cm de ancho, permitiendo que se mantengan erguidas. Estas paredes engrosadas pueden favorecer el almacenamiento adicional de agua debido a su alto contenido de hemicelulosa y pectina (Mauseth 1988); no obstante, aunque es una ventaja adaptativa importante, no todas las especies de *Agave* la presentan, por lo que este carácter no distingue al género. La presencia de una cutícula y una pared periclinal externa engrosada, además de rebordes cuticulares externos prominentes, como se observó en el *A. salmiana* subsp. *salmiana*, son caracteres xeromórficos que desarrollan las plantas como una adaptación al severo déficit de agua (Álvarez 1990, Hernández-Valencia *et al.* 2003, Moreno 2009).

Como en otras monocotiledóneas, los estomas en *Agave salmiana* subsp. *salmiana* son de tipo tetracítico. A pesar de

que se ha mencionado que la familia Asparagaceae carece de células subsidiarias (Stebbins & Khush 1961), algunos géneros pueden tener dos o hasta cuatro células subsidiarias, como fue reportado por Álvarez (1990) quien menciona que en las Asparagaceae existen diferentes grados de organización del complejo estomático, siendo mucho más complejo en aquellos géneros con hojas xeromórficas si se comparan con los de hojas herbáceas. El complejo estomático es un carácter con valor taxonómico ya que muestra gran constancia a nivel de género (Stebbins & Khush 1961), a través de esta investigación se confirmó que también es constante a nivel de la subespecie estudiada.

Los estomas descritos están presentes en ambas epidermis y organizados en hileras paralelas al eje longitudinal de la hoja, como fue descrito para la mayoría de los géneros de la familia Asparagaceae (Álvarez 1990) y para otras especies de *Agave* (Blunden *et al.* 1973, Gentry & Sauck 1978, Hernández-Valencia *et al.* 2003, Sosa-del Castillo *et al.* 2014); la presencia de estomas en ambas epidermis ha sido considerada como un carácter xeromórfico en otras plantas (Roth 1992). Esta condición anfiestomática parece incrementar el valor de conductancia en la capa limitrofe de la hoja y confiere ventajas en ambientes donde la tasa fotosintética está limitada (Branco-Camargo & Marengo 2012); algunos autores mencionan que además de aumentar la captación de CO<sub>2</sub>, incrementa la tasa de transpiración, lo que propicia una considerable disminución de la temperatura interna en la hoja (Willmer & Fricker 1996, Taiz & Zeiger 2010).

En otras especies con estomas en ambas epidermis, como en *Dasyllirion cedrosanum* Trel., llegan a presentar mayor número en la superficie adaxial que en la abaxial (Hernández-Juárez 2008). Para *A. salmiana* subsp. *salmiana* también el índice estomático adaxial es mayor. Tichá (1982) encontró que una alta densidad de estomas por unidad de área está relacionada con una mejor capacidad fotosintética, esto hace suponer que la mayor capacidad fotosintética de *A. salmiana* subsp. *salmiana* se encuentra en la superficie adaxial. Por otro lado, varios autores han observado que, en hojas de otras especies, la densidad estomática puede variar dentro de la especie debido al genotipo, intensidad solar,

humedad, CO<sub>2</sub> atmosférico y edad de la planta (*Gossypium hirsutum* L., Kakami *et al.* 2003, *Dasyllirion cedrosanum* Trel., Hernández-Juárez 2008), por lo que se considera que es un carácter altamente sensible a condiciones ambientales (Kürschner *et al.* 1998, Barrientos-Priego *et al.* 2003). No obstante, los resultados del presente estudio indican que en *A. salmiana* subsp. *salmiana* el índice estomático se mantiene constante independientemente de las diferentes condiciones ambientales de las tres localidades analizadas.

La ubicación de los estomas respecto al resto de las células epidérmicas es variable dentro de las Asparagaceae, ya sea que se encuentren al mismo nivel que el resto de las células epidérmicas, como en algunas especies de *Beschorneria*, en criptas como en *Hesperaloe* o hundidos. En algunos casos se ha observado que si bien los estomas están hundidos, permanecen a nivel del resto de las células epidérmicas como en *Agave ellemeetiana* y *A. striata*, ya que las paredes periclinales externas de las células epidérmicas están muy engrosadas. En otros casos los estomas pueden estar por debajo del resto de la epidermis como en *A. tequilana* (Hernández-Valencia *et al.* 2003), *A. bracteosa*, *Beschorneria calcicola* (García-Mendoza 1998) y *Furcraea macdougallii*. En *A. salmiana* subsp. *salmiana* los rebordes cuticulares externos forman una cámara supraestomática, misma que es descrita para *A. tequilana* (Hernández-Valencia *et al.* 2003), así como para otros géneros de Asparagaceae (Álvarez 1990).

Stebbins & Khush (1961), reconocen que existe una correlación entre el tamaño de las células epidérmicas (CE) y el de las células oclusivas (CO), estos autores plantean que las especies con mayor número de células subsidiarias (4 a 6) tienen una baja relación CE/CO, donde las células epidérmicas son más pequeñas que las células oclusivas; no obstante que *A. salmiana* subsp. *salmiana* tiene cuatro células subsidiarias, esta relación tiene un valor de uno, ya que las células epidérmicas son del mismo tamaño que las oclusivas.

Las plantas CAM presentan estomas pequeños, generalmente encriptados en ambas superficies, además de cutículas gruesas y bajas frecuencias estomáticas que contribuyen a reducir la pérdida de agua (Sharkey 1993). Si bien las hojas de *A. salmiana* subsp. *salmiana* con anatomía foliar típica de las plantas CAM, conservan una cutícula gruesa, estomas hundidos presentes en ambas superficies y una cámara supraestomática, tienen un índice estomático alto y células oclusivas muy grandes.

A excepción de la cutícula, los individuos de Tecámac tienen valores mayores en el grosor de la pared periclinal externa de las células epidérmicas, como también fue observado por Olvera & San Agustín (2017). Estos ejemplares tienen hojas más anchas que pueden demandar un mayor soporte interno, lo que explica el mayor grosor de su pared; esta característica también está presente en otras especies de *Agave* y otros géneros de la misma familia (Nobel 1988, Álvarez 1990).

Las plantas de San Martín de las Pirámides proceden del Colegio de Posgraduados en Montecillo, Estado de México, mientras que las de Teotihuacán proceden de Veracruz e Hidalgo. No obstante, de tener un origen geográfico distinto, comparten valores similares (35.71 %), en el

grosor de la pared anticlinal de ambas epidermis, el ancho del borde cuticular lateral abaxial, el ancho del espacio cuticular polar adaxial y el área de las células epidérmicas abaxiales.

A partir de lo observado en *A. salmiana* subsp. *salmiana* y de acuerdo con lo planteado para otras especies de *Agave* (Álvarez 1990), se propone que las principales tendencias adaptativas de su epidermis foliar hacia ambientes xéricos, son el desarrollo de un complejo estomático tetracítico, altos valores de índice estomático, tamaño similar entre las células oclusivas y las restantes células epidérmicas, baja relación superficie/volumen foliar, paredes anticlinales gruesas, mayor espesor de cutícula, pared periclinal externa muy engrosada, células oclusivas hundidas y presencia de una cámara supraestomática. Estos caracteres son considerados como xeromórficos por Gentry & Sauck (1978), Álvarez (1990), Nilsen & Orcutt (1996) y Aasaman *et al.* (2001).

*Variación anatómica entre las regiones de la hoja.* Existen pocos estudios sobre la variación de los caracteres epidérmicos a lo ancho de la hoja. Para *A. salmiana* subsp. *salmiana*, se observó que el 57 % de los caracteres muestran diferencias significativas y que están relacionadas con el tamaño de las células epidérmicas, la abundancia de los estomas y otros parámetros asociados al estoma. La variación en la abundancia de los estomas observada en *A. salmiana* subsp. *salmiana* se ha encontrado en otras especies. En el estudio de Toral (2010), realizado en *Sequoia sempervirens* Endl., se reportó que la abundancia de estomas varía dependiendo de las distintas regiones de la hoja, así como de su posición dentro de la copa de los árboles.

Este estudio hace evidente la existencia de plasticidad fenotípica significativa en dos de los caracteres epidérmicos de las tres regiones de la hoja. A nivel del margen, el índice estomático abaxial, así como el área de las células epidérmicas abaxiales en la vena media, reflejaron un valor bajo de canalización microambiental ( $LS > 0.05$ ) y, por lo tanto, una alta plasticidad fenotípica, por lo que se propone que sólo se seleccione la región intermedia de la hoja con el propósito de estandarizar el muestreo en futuros estudios comparativos, evitando así otros parámetros que estén afectando la comparación de las variables analizadas.

*Variación entre individuos de la misma localidad.* Con el propósito de entender el nivel de variación entre individuos de una misma localidad, se realizó un análisis de varianza entre cinco individuos de cada una de las tres localidades incluidas. Para la localidad de Tecámac se encontró que sólo cinco caracteres son variables y están relacionados con la longitud de las células oclusivas y el tamaño de las células epidérmicas en ambas epidermis, donde la variación en estos parámetros es amplia entre los individuos de esta localidad. Se pone en evidencia que once de los caracteres analizados (78.57 %), tienen valores de  $LS > 0.05$ , una canalización microambiental baja por lo que tienen una plasticidad fenotípica significativa, donde al menos dos individuos por carácter presentan estos valores (Tabla 3). Aun cuando estas plantas son las únicas nativas de la región, el nivel de plas-

tividad fenotípica en su epidermis es evidente. Para explicar esto habría que analizar el manejo agronómico, así como las condiciones microclimáticas y de suelo en las que los individuos crecen.

En San Martín de las Pirámides sólo tres caracteres son significativamente diferentes entre sus individuos y con un nivel de variación menor. Por otro lado, diez de los caracteres (71 %), tienen valores  $LS > 0.05$ , es decir baja canalización microambiental y alta plasticidad fenotípica (Tabla 4), lo cual pudiera deberse a la distinta procedencia de las plantas (Colegio de Posgraduados, del Estado de México), a las condiciones microclimáticas y de suelo en donde crecen, o al manejo agronómico que reciben.

En Teotihuacán se encontró una gran variación entre los individuos, ya que diez de los parámetros son significativamente diferentes, así mismo también se encontró que los catorce caracteres analizados tienen valores de  $LS > 0.05$ , al menos para uno de sus individuos (Tabla 5), denotando una amplia plasticidad fenotípica, acentuada en el grosor de la pared anticlinal en ambas epidermis, el ancho del borde cuticular lateral abaxial, el ancho del reborde cuticular polar abaxial y el ancho del espacio cuticular polar adaxial. Es probable que la amplia variación en estos caracteres entre los individuos sea atribuida a que éstos proceden originalmente de distintas localidades (Tabla 1), o de las condiciones microclimáticas y del suelo; aspectos que no se evaluaron en este trabajo.

**Variación entre localidades.** Los resultados de los análisis de componentes principales y de funciones discriminantes apoyan claramente la hipótesis de la existencia de una variación anatómica significativa en la epidermis foliar entre las tres localidades comparadas, particularmente en nueve de los 14 caracteres epidérmicos observados. Si bien, el índice estomático en ambas epidermis tiene gran peso en el segundo componente principal, para distinguir entre los individuos de Tecámac, al comparar las tres localidades, este presenta valores de  $LS < 0.05$ , revelando una clara canalización microambiental. Los siete caracteres restantes que en el análisis de componentes principales resultaron tener mayor peso en la separación de los grupos, en su mayoría tienen valores de  $LS > 0.05$ , lo que indica una plasticidad fenotípica significativa, particularmente en el caso de Tecámac. De estos siete caracteres, en San Martín de las Pirámides solo cuatro (LCOADA/LCOABA, GPAABA y ACEABA) y cinco en Teotihuacán (GPAADA/GPAABA, ABCLADA y ACEADA/ACEABA), enfatizan su gran variación fenotípica en el tamaño de estomas, grosor de pared anticlinal, ancho del borde cuticular lateral y tamaño de células epidérmicas en *Agave salmiana* subsp. *salmiana* de estas dos localidades particulares.

En todos los niveles de comparación estudiados existe variación significativa en más de 20 % de los caracteres epidérmicos de la hoja de *A. salmiana* subsp. *salmiana*. Los agrupamientos resultantes de los análisis multivariados separan notoriamente a los individuos de las tres localidades y muestra que las diferencias entre los individuos de estas localidades son estadísticamente significativas. La alta

variación interpoblacional observada puede deberse tanto a la plasticidad fenotípica como a la diferenciación genética adaptativa entre y dentro de las poblaciones de *A. salmiana* subsp. *salmiana* en la zona de estudio.

Debido a que la hoja es el órgano más sensible a las condiciones externas, su estructura interna refleja el efecto del estrés hídrico y otros factores ambientales (Nilsen & Orcutt 1996, Nevo *et al.* 2000, Guerfel *et al.* 2009). Distintos autores consideran que la correlación entre la variación de los caracteres anatómicos y la variación ambiental es resultado de la plasticidad fenotípica o de diferenciación genética adaptativa entre y dentro de las poblaciones donde se agrupan las especies (Balaguer *et al.* 2001, Bruschi *et al.* 2003, Hovenden & Vander-Schoor 2006). El elevado porcentaje de plasticidad fenotípica observada en las hojas de *A. salmiana* subsp. *salmiana*, puede indicar la posible relación que tienen los caracteres anatómico-foliares con las condiciones ambientales donde crece esta planta, por lo que sería interesante indagar acerca de esta posible interacción.

En conclusión, *A. salmiana* subsp. *salmiana* comparte varios caracteres epidérmicos con otras especies del mismo género y de otros géneros de la misma familia, particularmente con las especies que habitan zonas secas cuyos caracteres, como el grosor de cutícula y de la pared periclinal externa, la ubicación de los estomas y el nivel de los mismos, se consideran xeromórficos y que favorecen la economía del agua. La variación entre regiones de la hoja es mayor a 55 % y los parámetros variables son: la abundancia de estomas, longitud de las células oclusivas adaxiales, grosor de la pared anticlinal abaxial, ancho del borde cuticular lateral adaxial, ancho del espacio cuticular polar abaxial y área de las células epidérmicas en ambas epidermis; la región intermedia de la hoja muestra valores mayores en siete de los caracteres.

Entre los individuos de cada una de las tres localidades, los de San Martín de las Pirámides poseen una menor variación explicada; sin embargo, al comparar las tres localidades hay una variación en los caracteres epidérmicos mayor a 70 % entre ellas. Las regiones de la hoja tienen la menor plasticidad fenotípica de los caracteres epidérmicos; no obstante, a nivel de individuos de cada una de las localidades y entre las tres localidades, el porcentaje de plasticidad fenotípica en los 14 caracteres analizados es mayor a 70 %. A partir de las localidades estudiadas, se establece que los caracteres: índice estomático, ancho de reborde cuticular polar y ancho de espacio cuticular polar en ambas superficies, cuyo valor de canalización microambiental es significativo, podrían ser útiles para distinguir a *Agave salmiana* subsp. *salmiana* y tener algún valor taxonómico, sin embargo, se requieren analizar estos mismos parámetros en otras subespecies.

### Agradecimientos

Los autores agradecemos a la Ingeniera Laura Camarillo Romero y a los productores de la región de Teotihuacán del Estado de México por la aportación de los materiales biológicos. Al Dr. Abisai García-Mendoza por su apoyo en la redefinición taxonómica de *Agave salmiana* subsp. *salmiana*.

## Literatura citada

- Aasaman K, Sober A, Rahi M. 2001. Leaf anatomical characteristic associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Australian Journal of Plant Physiology* **28**: 765-774.  
DOI: <https://doi.org/10.1071/PP00157>
- Ackerly D, Knight CA, Weiss S, Barton K, Starmer K. 2002. Leaf size, specific leaf area and microhabitat distribution of chaparral woody plants: contrasting patterns in species level and community level analyses. *Oecologia*. **130**: 449-457.  
DOI: <http://doi.org/10.1007/s004420100805>
- Aguilar-Juárez B, Enriquez-del Valle JR, Rodríguez-Ortiz, Granados-Sánchez D, Martínez-Cerecero B 2014. El estado actual de *Agave salmiana* y *Agave mapisaga* del Valle de México. *Revista Mexicana de Agrosistemas* **2**: 106-120-93.
- Álvarez A. 1990. El complejo estomático en la familia Agavaceae II. Epidermis adulta. *Feddes Repertorium* **101**: 113-134. DOI: <http://doi.org/10.1002/fedr.19901010304>
- Balaguer L, Martínez-Ferrari E, Valladares F, Pérez-Corona ME, Baquedano FJ, Castillo FJ, Manrique E. 2001. Population divergence in the plasticity of the response of *Quercus coccifera* to the light environment. *Functional Ecology* **15**: 124-135.  
DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2001.00505.x>
- Barrientos-Priego A, Borys M, Trejo C, López-López L. 2003. Índice y densidad estomática foliar en plántulas de tres razas de aguacatero. *Revista Fitotecnia Mexicana* **26**: 285-290.
- Blunden G, Yi Y, Jewers K. 1973. The comparative leaf anatomy of *Agave*, *Beschorneria*, *Doryanthes* and *Furcraea* species (Asparagaceae: Agaveae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **66**: 157-179.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1973.tb02167.x>
- Branco-Camargo MA, Marengo RA. 2012. Growth, leaf and stomatal traits of Crabwood (*Carapa guianensis* Aubl.) in Central Amazonia. *Revista Arvore, Vicoso-MG* **36**: 7-16.
- Bruschi P, Grossoni P, Busotti F. 2003. Within and among-tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt) Liebl. Natural Populations *Trees* **17**: 164-72.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-002-0218-y>
- García-Herrera EJ, Méndez-Gallegos SJ, Talavera-Magaña D. 2010. El género *Agave* spp. en México: principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. *Revista Salud Pública y Nutrición*, **5**: 109-129.
- García-Mendoza AJ. 1998 *Con sabor a Maguey. Guía de la Colección Nacional de Agavaceas y Nolináceas del Jardín Botánico*, Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN: 968-7365-07-2
- García-Mendoza AJ. 2007. Los agaves de México. *Ciencias* **87**: 14-23.
- García-Mendoza AJ. 2011. Flora del valle de Tehuacán Cuicatlán, Fascículo 88. Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN 978-607-02-2566-6
- Gasson P. 1981. Epidermal anatomy of some North American globular cacti. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain* **43**: 101-108.
- Gentry HS, Sauck, J. 1978. Research Gate. Obtenido de The stomatal complex in Agave. Groups: deserticolae, campaniflorae y umbelliflorae. *Proceedings of the California Academy of Sciences*. **41**: 371-87.
- Gentry HS. 1982. *Agaves of Continental North America*. Tucson, AZ: The University of Arizona Press ISBN 978-0-8165-2395-5
- Granados SD. 1993. *Los Agaves en México*. México: Universidad Autónoma Chapingo. ISBN: 968-884-225-7
- Grego-Valencia D, Terrazas T, Vázquez-Sánchez M, Arias S. 2014. *Ferocactus* (Cactaceae) epidermis: its systematic value. *Journal of the Torrey Botanical Society* **141**: 313-325.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3159/TORREY-D-1-00023.1>
- Guerfel M, Baccouri O, Boujnah, D, Chaibi W, Zarrouk M. 2009. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae* **119**: 257-263.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.08.006>
- Hall MC, Dworkin I, Ungerer MC, Purugganan M. 2007. Genetics of microenvironmental canalization in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**: 13717- 13722.  
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0701936104>
- Hernández-Valencia R, López-Franco R, Benavides-Mendoza A. 2003. Micromorphology of the foliar epidermis of *Agave tequilana* Weber. *Agrofaz* **3**: 387-396
- Hernández-Juárez A. 2008. *Caracterización morfológica, anatómica e histológica del sotol (Dasylirion cedrosanum Trel.)* BSc. Thesis. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Hovenden MJ, Vander-Schoor JK. 2006. The response of leaf morphology to irradiance depends on altitude of origin in *Nothofagus cunninghamii*. *New Phytologist* **169**: 291-297.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01585.x>
- IBM. 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp. SAS Institute Inc.
- Illsey GC, Gómez AT, Rivera MG, Morales MM, García BJ, Ojeda SA, Calzada RM, Mancilla SN. 2005. Conservación *in situ* y manejo campesino de magueyes mezcaleros. Grupo de Estudios Ambientales AC. Ciudad de México: Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. V028.
- Jiménez-Noriega P, Terrazas T, López-Mata L, Sánchez-González A, Vibrans H. 2017. Anatomical variation of five plant along an elevation gradient in Mexico City basin within the Trans-Mexican Volcanic Belt, Mexico. *Journal of Mountain Science* **14**: 2182-2199.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11629-017-4442-8>
- Jordan WR, Shouse PJ, Blum A, Miller FR, Monk RL. 1984. Environmental Physiology of Sorghum. II. Epicuticular Wax Load and Cuticular Transpiration 1. *Crop Science* **24**: 1168-1173. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400060038x>
- Kakami V, Reddy K, Zhao D, Mohammed A. 2003. Efectos de radiación ultravioleta-B en algodón (*Gossypium hirsutum* L.) morfología y anatomía. inglés) *Annals of Botany* **91**: 817-826. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcg086>
- Koch K, Bhushan B, Barthlott W. 2009. Multifunctional surface structures of plants: An inspiration for biomimetics. *Progress in Materials Science* **54**: 137-178.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2008.07.003>



- Kürschner W, Stulen I, Wagner F, Kuiper P. 1998. Comparison of palaeobotanical observations with experimental data on the leaf anatomy of durmast oak (*Quercus petraea*) (Fagaceae) in response to environmental changes. *Annals of Botany* **81**: 657-664. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0605>
- Loza-Cornejo S, Terrazas, T. 2003. Epidermal and hypodermal characteristics in North American Cactoideae (Cactaceae). *Journal of Plant Research* **116**: 27-35. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10265-002-0066-2>
- McDonald P, Fonseca C, Overton J, Westoby M. 2003. Leaf-size divergence along rainfall and soil-nutrient gradients: is the method of size reduction common among clades? *Functional Ecology* **17**: 50-57. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2003.00698.x>
- Martínez-Quezada DM, Sandoval-Zapotitla E, Solís-De la Cruz J, Velázquez-Vázquez DE, Herrera-Cabrera EB. 2016. Caracterización anatómica y análisis de variación de epidermis foliar y caulinar entre dos genotipos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. *Agroproductividad* **249**: 26-33.
- Martínez-Valverde MF. 2019. *Variación morfológica en hojas de Guatteria amplifolia (Annonaceae) en México*. MSc. Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mauseth JD. 1988. *Plant Anatomy*. Benjamin/Cummings. Menlo Park, CA. 660 pp. ISBN: 9780805345704.
- Mencuccini M. 2003. The ecological significance of long-distance water transport: short-term regulation, long-term acclimation and the hydraulic costs of stature across plant life forms. *Plant Cell Environ* **26**: 163-182. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.00991.x>
- Moreno LPF. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana* **27**: 179-191.
- Nevo E, Pavlek T, Beharav A, Bolshakova MA, Martyn GI, Musatenko LI, Sytnik KM. 2000. Drought and light anatomical adaptative leaf strategies in three woody species caused by microclimatic selection at "Evolution Canyon" Israel. *Israel Journal of Plant Sciences* **48**: 33-46. DOI: <http://doi.org/10.1560/RNPF-9HJE-8J3L-B5F1>
- Nilsen ET, Orcutt DM. 1996. *Physiology of plants under stress. Abiotic factors*. New York: John Wiley and Sons. ISBN-10: 0471031526; ISBN-13: 978-0471031529
- Nobel SP. 1988. *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. ISBN: 0-521-54334-7; ISBN-13: 978-0521343220
- Olvera SA, San Agustín CLS. 2017. Descripción anatómica foliar del *Agave salmiana* var. *salmiana* de la localidad de Teotihuacán. Biotechnology Engineering Thesis. Universidad Tecnológica de Tecámac.
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* **9**: 671-675. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Reyes HVJ, Hernández JJ, López UJ, Vaquera HH. 2005. Variación morfológica y anatómica en poblaciones mexicanas de *Pseudotsuga* (Pinaceae). *Acta Botánica Mexicana* **70**: 47-67. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm70.2005.987>
- Rohlf JF. 1998. *NTSYS-pc, Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Versión 2.2. User Guide*. New York, USA. Applied Biostatistics. Inc. ISBN: 0-925031-31-3
- Roth I. 1992. *Leaf structure: coastal vegetation and mangroves of Venezuela*. Gebüder Bomtraeger, Berlín: Lubrecht & Cramer Ltd. ISBN: 97834431402205
- Sánchez-Galindo LM. 2010. *Estudio de la morfo estructura de dos variedades mexicanas de agave (Agave angustifolia Haw y Agave tequilana Weber), caracterizadas mediante microscopía óptica, tratamiento digital de imágenes y conceptos de dimensión fractal*. Industrial Production Engineering Thesis. Universidad de la Sabana.
- Sánchez-Urdaneta AB, Peña-Valdivia CB, Aguirre JR, Trejo C, Cárdenas E. 2004. Efectos del potencial de agua en el crecimiento radical de plántulas de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck. *Interciencia* **29**: 626-631.
- Sandoval-Zapotitla E, Rojas A, Guzmán C, Carmona L, Ponce M, León C, Loyola C, Vallejo A, Medina A. 2005. *Técnicas Aplicadas al Estudio de la Anatomía Vegetal*. Cuadernos del Instituto de Biología 38. Ciudad de México: Instituto de Biología, UNAM. ISBN: 970-32-3131-4; 9789703231317
- Sandoval-Zapotitla E, Martínez-Quezada DM, Reyes-Santiago J, Islas-Luna MA, and Rosas U. 2019. Leaf morpho-anatomical diversity in *Echeveria gigantea* (Crassulaceae). *Botanical Sciences* **97**: 218-235. DOI: <http://dx.doi.org/10.17129/botsci.2028>
- Sharkey T. 1993. Fotosíntesis. In: Azcon-Bieto BJ, Talón M, eds, *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. España: Editorial McGraw-Hill, pp. 81-85. ISBN: 9788448600334
- Sosa-del Castillo M, García-Alemán S, Pérez-Hernández Y, Abreu-Cruz E, González-Oramas O. 2014. Caracterización de la lámina foliar de plantas de *Agave fourcroydes* Lem. Obtenidas por propagación asexual. *Biotechnología Vegetal* **14**: 37-44.
- Stebbins GL, Khush GS. 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**: 51-59. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1961.tb11604.x>
- Taiz L, Zeiger E. 2010. *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates, Inc. ISBN-10: 0878938664; ISBN-13: 978-0878938667
- Tichá I. 1982. Photosynthetic characteristics during ontogenesis of leaves. 7. Stomata density and sizes. *Photosynthetica* **16**: 375-341.
- Toral MA, Manríquez R, Navarro-Cerrillo D, Tersí, Naulin. 2010. Características de los estomas, densidad e índice estomático en secuoya (*Sequoia sempervirens*) y su variación en diferentes plantaciones de Chile. *Bosque* **31**: 157-164. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002010000200009>
- Trewavas A. 2003. Aspects of Plant Intelligence. *Annals of Botany* **92**: 1-20. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcg101>
- Verduzco-Martínez J, Predo-Rojas CI, Mercado-Hernández R. 2008. Caracterización e identificación taxonómica del maguey. Nuevo León, México: VII Simposium-Taller "Producción y Aprovechamiento del Nopal en el Noreste de México".
- Willmer CM, Pallas JE. 1973. A survey of stomatal movements and associated potassium fluxes in the plant kingdom. *Canadian Journal of Botany* **51**: 37-42. DOI: <http://doi.org/10.1139/b73-006>

- Willmer CM, Fricker M. 1996. *Stomata*. London: Chapman and Hall. ISBN-10: 940104256X; ISBN 978-94-011-0579-8
- Wilkinson H. 1988. Stomata: In Metcalfe CR, Chalk L, eds. *Anatomy of Dicotyledons: Vol 1: Systematic Anatomy of the Leaf and Stem, with a brief History*. Oxford, UK: Claredon Press, 97-117. ISBN: 0-19-854253-4

---

**Editor de sección:** Silvia Aguilar Rodríguez

**Contribución de los autores:** ESZ (<http://orcid.org/0000-0001-8905-9102>), LCG (<http://orcid.org/0000-0002-4562-7902>) y FSP: concibieron el estudio. EAPS, LCG y FSP: Realizaron el trabajo de campo. ESZ, EAPS: Procesaron las muestras, tomaron y analizaron los datos. JCN: realizó el análisis multivariado. AVZ: Diseñó y editó imágenes. Todos los autores contribuyeron a la escritura del manuscrito.