



Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca

División de Estudios de Posgrado e Investigación

GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Dasyilirion* spp. EN CONDICIONES DE LABORATORIO

TESIS QUE PRESENTA:

Adriana Ortiz López

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS

DIRECTOR:

Dr. Vicente Arturo Velasco Velasco

CODIRECTOR:

Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez

Ex Hacienda de Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca.
Agosto de 2023.





Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca

División de Estudios de Posgrado e Investigación

GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Dasyliirion* spp. EN CONDICIONES DE LABORATORIO

TESIS QUE PRESENTA:

Adriana Ortiz López

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMA

DIRECTOR:

Dr. Vicente Arturo Velasco Velasco

CODIRECTOR:

Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez



Ex Hacienda de Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca.
Agosto de 2023.

La presente tesis titulada: **Germinación de semillas de *Dasyliirion* spp. en condiciones de laboratorio**, fue realizada bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS

DIRECTOR:

DR. VICENTE ARTURO VELASCO VELASCO



CODIRECTOR

DR. GABINO ALBERTO MARTÍNEZ GUTIÉRREZ



ASESOR:

DRA. GISELA VIRGINIA CAMPOS ANGELES



ASESOR:

DR. GERARDO RODRÍGUEZ ORTIZ



	Nombre de la Información Documentada: Formato Autorización del comité para entrega de tesis.	Código: ITVO-AC-PR-08-02
	Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.2.1, 8.2.2, 8.2.3, 8.5.2	Revisión: 1
	Página 1 de 1	

EXPEDIENTE: 20DIT0009G
OFICIO No. DEPI/0511/23
 Nazareno Xoxocotlán, Oaxaca, 28 de junio del 2023

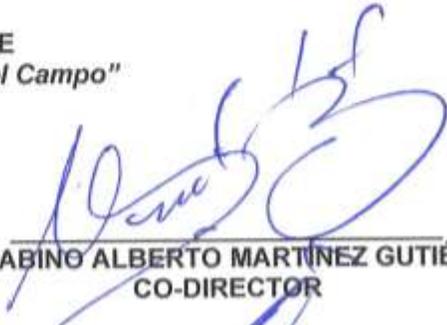
C. ADRIANA ORTIZ LÓPEZ
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS
P R E S E N T E

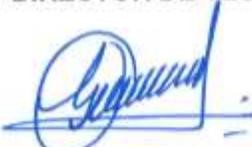
Los que suscriben, miembros de su Comité Tutorial, le comunicamos que hemos revisado el contenido de su tesis "GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Dasyllirion* spp. EN CONDICIONES DE LABORATORIO". Por lo que con base en los lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México se le otorga la **AUTORIZACIÓN** para que proceda a la entrega del documento final de la misma, impresa y en formato digital (PDF); para continuar con su trámite y asignarle la fecha de su examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento nos permitimos reconocer su esfuerzo y felicitarle por el logro de su documento de tesis.

ATENTAMENTE
"Ciencia y Tecnología para el Campo"


 DR. VICENTE ARTURO VELASCO VELASCO
 DIRECTOR DE TESIS


 DR. GABINO ALBERTO MARTÍNEZ GUTIÉRREZ
 CO-DIRECTOR


 DRA. GISELA V. CAMPOS ANGELES
 ASESORA


 DR. GERARDO RODRÍGUEZ ORTIZ
 ASESOR


 DR. GUSTAVO OMAR DIAZ ZORRILLA
 JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



	Nombre de la Información Documentada: Formato Autorización de DEPI para entrega de Tesis.	Código: ITVO-AC-PR-08-03
	Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.2.1, 8.2.2, 8.2.3, 8.5.2	Revisión: 1
		Página 1 de 1

Nazareno Xoxocotlán, Oaxaca, **30/junio/2023**

OFICIO No. DEPI/533/2023

C. ADRIANA ORTIZ LÓPEZ
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS
P R E S E N T E

Con base en los Lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México, respecto a la presentación del examen de grado, me es muy grato comunicarle que esta División de Estudios de Posgrado e Investigación a mi cargo, **AUTORIZA** la entrega del documento final de su tesis en formato digital (PDF) titulada: **"GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Dasyllirion* spp. EN CONDICIONES DE LABORATORIO"**.

Cuyo contenido ha sido revisado y aprobado por su Comité Tutorial y cumple en lo general con el formato establecido para este documento, como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias en Productividad en Agroecosistemas.

Sin más por el momento le felicito cordialmente por el logro de esta meta y le reitero el respaldo institucional de su Alma Mater.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®

"Ciencia y Tecnología para el  EDUCACIÓN




INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL VALLE DE OAXACA

DR. GUSTAVO OMAR DÍAZ ZORRILLA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

La presente tesis se llevó a cabo con el apoyo del Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), a través del número de becario 108100, con el tema de investigación: Germinación de semillas de *Dasyllirion* spp. en condiciones de laboratorio.

DEDICATORIA...

A la vida por darme una segunda oportunidad.

AGRADECIMIENTO...

A mis padres y hermanas por jamás perder la fe en mí...

A mis asesores:

Gracias Dr. Vicente Velasco por darme una oportunidad y siempre creer en mí, gracias Dra. Gisela Campos por compartir su conocimiento, apoyo incondicional y amistad, gracias Dr. Gerardo por nunca negarse a apoyarme, y gracias Dr. Gabino por su apoyo e interés en el tema de investigación...

A mis amig@s que siempre estuvieron al pendiente y me apoyaron en la elaboración de esta investigación; a mi herman`'s CSJ, por involucrarme en esta aventura y ser mi ejemplo para no rendirme...misión cumplida.

A mis compañeros por apoyarme en cualquier duda...

A la persona que jamás soltó mi mano...

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN.....	v
SUMMARY.....	1
CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 Objetivo general.....	4
1.1.1 Objetivos específicos.....	4
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 Origen y distribución de <i>Dasyllirion</i> spp.	5
2.2 Descripción de <i>Dasyllirion</i> spp.	6
2.2.1 Características taxonómicas.....	6
2.2.2 Morfología y anatomía de la semilla.....	6
2.3 Usos e importancia de la especie	7
2.4 Latencia física	8
2.5 Germinación	10
2.6 Longevidad de las semillas	11
CAPITULO III Morfología de los frutos de <i>Dasyllirion</i> spp. procedentes de la Mixteca oaxaqueña.....	13
3.1 Resumen	13
3.2 Abstract	14
3.3 Introducción	15
3.4 Materiales y métodos	16
3.4.1 Material vegetal.....	16
3.4.2 Características morfológicas de la inflorescencia.....	17

3.4.3 Características morfológicas en frutos.....	18
3.5 Análisis estadístico	19
3.6 Resultados y discusión	19
3.6.1 Morfología de la inflorescencia.....	20
3.6.2 Descripción del color y textura en frutos.....	23
3.6.3 Características morfológicas de los frutos	24
3.6.4 Producción de frutos por plantas	25
3.8 Conclusión.....	27
3.9 Bibliografía.....	28
CAPÍTULO IV Potencial germinativo de <i>Dasyllirion</i> spp. como respuesta a regímenes térmicos pregerminativos.....	34
4.1 Resumen.....	34
4.2 Abstract	35
4.3 Introducción	36
4.4 Materiales y métodos.....	38
4.4.1 Recolección del escapeo floral	38
4.4.2 Evaluación de calidad de semillas	38
4.4.3 Métodos de secado en fruto y extracción de las semillas	40
4.4.4 Germinación de semillas.....	41
4.4.5 Variables a evaluar en germinación.....	41
4.5 Análisis estadístico.....	42
4.6 Resultados y discusión	43
4.6.1 Calidad de semilla.....	43
4.6.2 Indicadores de vigor.....	45
4.6.3 Efecto de los factores	46
4.6.4 Respuesta del régimen térmico en la germinación de semillas procedentes de San Jerónimo	48
4.7 Conclusión.....	51
4.8 Bibliografía.....	52
CAPITULO V CONCLUSIONES GENERALES	57
CAPITULO VI RECOMENDACIONES	59
CAPÍTULO VII BIBLIOGRAFÍA GENERAL.....	60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Localización de los sitios de recolección de las plantas de <i>Dasyilirion</i> (spp) donantes de semilla.....	17
2	Características morfológicas en los escapos florales de plantas de <i>Dasyilirion</i> (spp.) recolectadas en dos localidades de la Mixteca Oaxaqueña.....	20
3	Correlación entre las variables morfológicas de la inflorescencia de plantas de <i>Dasyilirion</i> (spp.) recolectadas en dos localidades de la Mixteca Oaxaqueña.....	21
4	Identificación del color y la textura de los frutos de plantas de cucharilla (<i>Dasyilirion</i> spp.).....	24
5	Características morfológicas de los frutos recolectados en la Mixteca oaxaqueña	25
6	Producción de frutos con semilla y sin semilla de plantas de cucharilla (<i>Dasyilirion</i> spp.) recolectados en la Mixteca oaxaqueña...	26
7	Indicadores de calidad de semillas procedentes de la Mixteca oaxaqueña.....	45
8	Resumen del análisis de varianza para indicadores de vigor en semillas de <i>Dasyilirion</i>	45
9	Indicadores de vigor en semillas de <i>Dasyilirion</i> agrupadas en función de los factores, sitio de recolección, temperatura y método de secado.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Medición de la inflorescencia (área de los fascículos racimosos) de plantas de <i>Dasyllirion</i> (spp.) recolectadas.....	18
2	Semilla y fruto trialado de cucharilla (<i>Dasyllirion</i>).....	19
3	Modelos de las variables de la inflorescencia que mostraron $r > 0.7$	22
4	Curvas de germinación de semillas de <i>Dasyllirion</i> (spp.) procedentes de San Jerónimo.....	50

RESUMEN

El género *Dasyllirion* está constituido por 24 especies, muchas de ellas endémicas de México. En la región de la Mixteca oaxaqueña se encuentra una planta denominada “cucharilla” (especie sin identificar), la cual se destaca por su importancia artesanal, alimenticia y ornamental; estos usos en gran medida han contribuido a la disminución de sus poblaciones naturales, aunado a su lento crecimiento y dificultad de reproducción. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar características morfológicas del fruto, como base para entender su proceso reproductivo de *Dasyllirion* spp. y evaluar el potencial germinativo como respuesta a dos regímenes térmicos aplicados al fruto. Se evaluaron ejemplares de la Mixteca oaxaqueña recolectadas en San Andrés (SA) y San Jerónimo (SJ) en el año 2022, y una muestra compuesta de frutos de Nochixtlán (Nx) en el 2021. Los mayores valores evaluados en longitud del escapo (3.33 m) e inflorescencia (2.0 m), número racimos (150), número de frutos por racimo (594) y planta (89100), frutos con (45798) y sin semilla (43392) y peso (673 g), se obtuvieron en plantas de SJ. Se usaron muestras de 100 frutos para evaluar el efecto del calor artificial (40°Cx35 min y 58°Cx4 min) aplicados por medio de una estufa de secado y arena, más una muestra en secado bajo sombra. Se alcanzó un porcentaje de germinación de 96 %, en 15 días, en la muestra de San Jerónimo con la temperatura de 58°Cx4 min en estufa. Estas temperaturas fueron eficientes para deshidratar y facilitar la remoción del pericarpio.

Palabras clave: cucharilla, fruto, latencia, sotel.

SUMMARY

The *Dasyliirion* genus is made up of 24 species, many of which are endemic to Mexico. In the Mixteca region of Oaxaca, there is a plant called "cucharilla" (unidentified species), which stands out for its importance as a handicraft, food, and ornamental plant; these uses have contributed to a great extent to the decrease of its natural populations, in addition to its slow growth and difficulty of reproduction. Therefore, the objective of this study was to determine morphological characteristics of the fruit, as a basis for understanding the reproductive process of *Dasyliirion* spp. and to evaluate the germination potential in response to two thermal regimes applied to the fruit. Specimens from the Oaxacan Mixteca collected in San Andrés (SA) and San Jerónimo (SJ) in 2022, and a sample composed of fruit from Nochixtlán (Nx) in 2021 were evaluated. The highest values evaluated for scape length (3.33 m) and inflorescence (2.0 m), number of bunches (150), number of fruits per bunch (594) and plant (89 100), fruits with (45 798) and without seed (43 392) and fruit weight (673 g), were obtained in SJ plants. Samples of 100 fruits were used to evaluate the effect of artificial heat (40°Cx35 min and 58°Cx4 min) applied by means of a drying oven and sand, plus a sample in shade drying. A germination percentage of 96 % was achieved in 15 days in seeds from San Jeronimo with a temperature of 58°Cx4 min in a drying oven. The application of artificial heat under these temperatures is efficient to dehydrate and facilitate the removal of the pericarp.

Keywords: cucharilla, fruit, latency, sotol.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La familia Asparagácea prolifera en zonas montañosas áridas y semiáridas que van desde el sur de Estados Unidos de América hasta Oaxaca, México; el género *Dasyllirion*, es uno de sus representantes, y se reconocen 24 especies, todas presentes en México y la mayoría son endémicas (CONABIO, 2022; Rodríguez Trejo et al., 2019; Reyes-Valdes et al., 2012). Esta planta es principalmente reconocida por su importancia económica, debido a que en los estados del norte de México se destila para la obtención de una bebida alcohólica llamada “Sotol”, nombre que surge por el nombre común de la planta (Profepa, 2020; SADER, 2015; Hernández-Quintero et al., 2015). En la Mixteca oaxaqueña sus usos ancestrales y algunos actuales están más enfocados al aprovechamiento de la base de sus hojas, para la elaboración de flores artesanales y como cucharas naturales en el pozole mixteco; que es un complemento de la tradicional barbacoa de la región. Además, de ser utilizadas como material decorativo en las festividades religiosas. Aunado a lo anterior, en varias localidades principalmente marginadas de la Mixteca, las inflorescencias masculinas, se usan como alimento

humano o forraje animal y en muchas más como plantas de ornato en jardinería. Diversos autores, han reportado su uso medicinal, para elaborar cestería, como material de construcción, fibra, sandalias y producción de harina empleada en la elaboración de panecillos (Profepa, 2020; Duarte y Martínez, 2019; SADER, 2015). Esta planta se caracteriza por ser dioica y de polinización anemófila (viento), lo cual propicia un alto polimorfismo (Grivet et al., 2009; Pinales-Quero et al., 2017; Bogler, 1994). Las características de sus frutos (duros e indehiscente), hacen suponer que han desarrollado latencia como estrategia adaptativa ante diversas variaciones extremas, lo cual dificulta y retrasa su germinación, es por eso, que su remoción incrementa la germinación (Nathan et al., 2008; Rodríguez-Trejo et al., 2019).

Así mismo, la producción de una gran cantidad de semillas de bajo peso surge como estrategia de sobrevivencia, lo cual beneficia su dispersión y capacidad adaptativa en el medio natural, aunado a su latencia, ambas influyen en su capacidad de colonización, adaptación y especialización para evitar la extinción (Rubio et al., 2017; Leslie et al., 2017; Paulsen et al., 2013). Su reproducción es principalmente por semillas y los factores extremos del ambiente donde crecen la impulsan para sobrevivir (Rodríguez-Trejo et al., 2019). El proceso germinativo en las semillas abarca una serie de eventos que son controlados por factores abióticos, e implica la transición de un embrión en estado latente a uno metabólicamente activo, el cual debe atravesar la estructura del endospermo hasta sobresalir por la cubierta de la semilla, completando así el proceso (Bai et al., 2017).

La situación de las poblaciones silvestres de especies del género *Dasyllirion* es preocupante, debido a que tres de ellas se encuentran incluidas en la NOM-059-

SEMARNAT (2010), en la categoría de “amenazadas” y una más sujeta a “protección especial”. Por lo que la extracción de plantas de poblaciones silvestres, sin regulación y sin el manejo adecuado, aunado a su lento crecimiento para alcanzar su madurez (8-25 años), puede ocasionar la extinción local de la especie a corto plazo (CONAFOR, 2018; SADER, 2015).

1.1 Objetivo general

Analizar los caracteres morfológicos del fruto y evaluar diferentes tratamientos pregerminativos de la semilla de *Dasyllirion* spp. bajo regímenes térmicos y de esta manera contribuir a su conocimiento y manejo sustentable de este recurso natural en la Mixteca oaxaqueña.

1.1.1 Objetivos específicos

- Analizar los caracteres morfológicos del fruto de *Dasyllirion* ssp, recolectadas de tres localidades de la Mixteca oaxaqueña, como base para entender el proceso reproductivo de la especie.
- Evaluar el potencial germinativo de *Dasyllirion* spp. recolectadas en tres sitios de la Mixteca oaxaqueña, como respuesta a dos regímenes térmicos pregerminativos al fruto, en condiciones de laboratorio.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Origen y distribución de *Dasyllirion* spp.

Dasyllirion fue descrito por Zuccarini (1838), quien usó un espécimen masculino de *Dasyllirion graminifolium* (Bogler, 1994). Planta que prolifera en zonas montañosas áridas y semiáridas, que van desde el sur de Estados Unidos de América hasta Oaxaca, todas presentes en México y la mayoría de ellas endémicas (CONABIO, 2022; Rodríguez-Trejo et al., 2021; Reyes-Valdés et al., 2012). Con respecto al factor edáfico, generalmente se encuentra en suelos delgados, ricos en carbonato de calcio, bien drenados y aireados, con pendientes pronunciadas, en suelos aluviales y coluvial (desprendimiento por acción de la gravedad) (Estrada et al., 2019). En climas con grandes fluctuaciones de temperatura, con variaciones de más de 14 °C del mes más cálido (junio), hasta el más frío (enero), precipitación pluvial menores a 400 mm anuales en verano, con lluvias cortas de gran intensidad y presencia de sequías estacionales o canícula (CONAFOR. 2020).

2.2 Descripción de *Dasyilirion* spp.

2.2.1 Características taxonómicas

El género *Dasyilirion* ha pertenecido a familias diferentes, tal como las Agavaceae, Liliaceae y Dracaenaceae (Dahlgren et al., 1985). Recientemente se le ubica en el orden Asparagales, la familia Asparagaceae y subfamilia Nolinoideae (Trópicos, 2022). Esta plata silvestre presenta raíces superficiales, ramificadas, que emergen del tallo carnoso y grueso (1-1.5 m de altura), con hojas de hasta 20 mm de ancho y 1 m de largo, ligeramente apicales, verdosas, arqueadas, arrugadas y opacas, con espinas generalmente separadas de 10-15 mm. Sus frutos son triangulares, estrechamente ovalados, de 4-9 mm de largo, con semillas que miden de 2 a 3.5 mm (Comisión Nacional Forestal, 2018).

La inflorescencia es una estructura llamada escapo, y su rango de longitud va de 1 m en plantas jóvenes a 5-6 m en plantas adultas. Las inflorescencias estaminadas son de color amarillo (muy llamativo) debido a la presencia de polen, y las inflorescencias pistiladas son estrechas con brácteas moradas, dando un color que va de verde o morado. Se calcula que el ciclo de floración podría ser cada seis años, sin embargo, no está definido (Comisión Nacional Forestal, 2018); el tamaño de está, se encuentra relacionado con el tamaño de la corona (Francisco-Francisco et al., 2016).

2.2.2 Morfología y anatomía de la semilla

Las semillas que han desarrollado un nivel de latencia como una estrategia adaptativa ante variaciones ambientales extremas, por lo que no germinan inmediatamente hasta tener las condiciones ambientales y edáficas necesarias para su germinación como: temperatura, luz u oscuridad y humedad del suelo (Cano-Pineda et al., 2011; Francisco-Francisco et al., 2016; Baskin & Baskin, 2004). Las plantas femeninas de *Dasyilirion* en un año productivo pueden generar de 0.25 a 2.7 kg de semillas, las cuales caen de la inflorescencia por el viento, en promedio se pueden obtener 95,000 semillas kg⁻¹, y se encuentran en el interior de una capsula trialada (con tres lados), además, presentan un color café-oro, con una superficie más o menos plana y rugosa (Sierra-Tristán et al., 2008).

2.3 Usos e importancia de la especie

Su aprovechamiento forma parte de la cultura en las comunidades, ya que a partir de las porciones basales de la hoja de *Dasyilirion* se realiza la elaboración de arreglos florales en festividades y ofrendas religiosas, así como utensilios en la gastronomía regional. Específicamente en la Mixteca oaxaqueña, se destaca por la elaboración de arreglos decorativos en forma de flores para adornar áreas de bienvenida; así mismo, se elaboran cucharas, las cuales se ocupan como utensilios para las festividades, asimismo, se aprovecha su inflorescencia masculina como alimento para la elaboración de un platillo tradicional o como forraje para el ganado bovino o caprino, además, se usan de ornato en jardinería. También, en otros estados de México es conocido su uso artesanal (Haeckel, 2008; Reyes et al., 2012).

Aportan valiosos servicios ambientales, como protección al suelo y la fauna silvestre, además de alimento (Haeckel, 2008; Palacios-Romero et al., 2019). Es mayormente conocida como “sotol”, nombre que da origen a una bebida alcohólica con gran importancia económica en los estados del norte de México (Durango, Chihuahua y Coahuila) y con denominación de origen (IMPI, 2002; SADER, 2015). Se ha reportado otros usos como medicinal, fibra, para elaborar cestería, sandalias, como material de construcción y producción de harina empleada en la elaboración de panecillos (Profepa, 2020; Duarte y Alvarado, 2019; SADER, 2015; Hernández-Quintero et al., 2015).

2.4 Latencia física

La latencia de las semillas es una condición general en la que las semillas no pueden germinar incluso en condiciones ambientales favorables, es una parte importante ya que hace que la germinación se retrase hasta la temporada de crecimiento favorable para su crecimiento de las plantas, y está determinado por factores genéticos (Sami, Riaz, Zhou, Zhu & Zhou, 2019; Graeber, Nakabayashi, Miatton, Leubner-Metzger & Soppe, 2012). Las condiciones ambientales utilizadas para inducir la germinación y la morfología básica de la semilla pueden permitir la clasificación del tipo de latencia. Las semillas de las plantas de regiones áridas tienen varios mecanismos de latencia que les permiten germinar hasta que se presenten las condiciones ambientales favorables, como humedad y la temperatura (Baskin & Baskin, 2001). Se reconocen cinco tipos de latencia: fisiológica, morfológica, morfofisiológica, física, y una combinación de latencias física y fisiológica (Baskin & Baskin, 2004). La latencia física es una barrera física simple alrededor de la semilla, que evita el intercambio de gases y el paso del , las semillas que

se denominan "físicamente inactivas" (Penfield, 2017). Rodríguez-Trejo et al. (2019) reporta que *Dasyilirion (lucidum)* aumentó la germinación de 22.3 % a un 95.8 % debido a la eliminación manual del pericarpio, lo cual indica presencia de latencia física en la especie.

Una cubierta dura permite tener ventaja de sobrevivir en los suelos secos de zonas áridas, ya que sirve para protección ante la aridez y altas temperaturas (Arshad et al., 2019), además, esta involucrado para el establecimiento de las plántulas y la longevidad de las semillas en ambientes áridos (Hu, Wang y Wu, 2009). Este tipo cubiertas en las semillas también han evolucionado para la protección ante ataques microbianos, además extiende la longevidad de la semilla y la permanencia en los bancos de semillas del suelo e incluso es antidepredadores, o bien, es una protección ante los propagadores secundarios (agua, aves, roedores) (Paulsen et al., 2013). Las semillas de algunas especies de zona con fluctuaciones de temperatura ambiental, pueden permanecer inactivas durante meses después de haber sido enterradas en el suelo (Vazquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1982). Sin embargo, esto puede implicar una desventajas para su reproducción, debido a la disminución en la germinación en *Dasyilirion* sin remoción del recubrimiento (Rodríguez -Trejo et al., 2019a), es por eso que la remoción del pericarpio es parte fundamental para alcanzar una germinación significativa en esta especie (Paulsen et al., 2013).

La temperatura en los bancos de semillas del suelo es un factor importante para superar la latencia física, ya que las temperaturas altas y fluctuantes promueven la

destrucción de semillas impermeables (por ejemplo, en las leguminosas); aunque parece ser muy importante para la interrupción en este tipo de latencia, la respuesta a condiciones de temperatura naturales es poco conocida (Baskin, 2003); esto podría estar relacionado con las adaptaciones ecofisiológicas durante las condiciones de establecimiento de media ambiente en el que se desarrolla (Rojas-Aréchiga et al., 1998), se ha demostrado que la de la alta temperatura tiene un efecto significativamente positivo, al igual que el tiempo de exposición en la germinación de algunas especies (*Daboecia cantabrica* y *Genistella tridentata*) (Valbuena y Vera 2002).

2.5 Germinación

La semilla es el principal órgano reproductivo sexual de las plantas con un tejido de reserva que se encuentra en reposo y cubierto (testa), ya que deben resistir los cambios ambientales (Rajjou,2011); esta reserva debe satisfacer las necesidades metabólicas y energéticas del crecimiento de las plantas (Racca et al., 2022), el cual al pasar por un proceso de imbibición reactiva su metabolismo y proceso fisiológico (Doria, 2010; Lambers et al., 2008; Bidwell, 1979); dando inicio al proceso de germinación, en donde el embrión debe a travesar la estructura del endospermo hasta salir por la cubierta de la semilla, en donde este proceso culmina (Bai et al., 2017).

La propagación sexual es de gran importancia para la sucesión, regeneración, dispersión de las especies y variabilidad genética (Vázquez, García, Peña, Ramírez & Morales, 2011;Bidwell, 1979). A diferencia de la propagación asexual (agave), en la que se ha observado un bajo grado de variación entre plantas madre e hijas (Díaz-Martínez, Nava-

Cedillo, Guzmán-López, Escobar-Guzmán y Simpson, 2012). Esta variabilidad permite que las especies, como es el caso de las asparagáceas presenten tolerancia al estrés por calor, siendo un factor indispensable para el desarrollo de cultivares (Jimenez-Torres, Peña-Valdivia, Padilla-Chacon & Garcia-Nava, 2021).

La germinación completa la dispersión de semillas y, por lo tanto, determina dónde y cuándo y cómo crecen las plantas (Penfield, 2017), que en conjunto con el vigor son las características más importantes relacionadas con la calidad fisiológica de las semillas; el segundo depende de una serie de características, que van desde su genética, madurez, condición ambiental en su crecimiento, tamaño, peso, deterioro, envejecimiento y sanidad (Morales-Santos et al., 2017), aunado a un buen vigor y tamaño del embrión de la semilla, ya que debe tener la capacidad de reanudar la actividad metabólica de manera coordinada y continua (Lin et al., 2022; Rajjou, et al., 2012).

2.6 Longevidad de las semillas

La longevidad es la capacidad de las semillas de permanecer viable, sobre todo durante el almacenamiento en condiciones de baja humedad, lo cual es un factor importante para mantener su viabilidad; debido a la reducción de sus procesos metabólicos, consecuencia del bajo contenido de agua y oxígeno, es decir, se pueden mantener suspendidas hasta que obtengan las condiciones favorables para la germinación (Lambers et al., 2008; Pellizzaro et al., 2020). El tiempo de longevidad está influenciado por la estructura, su potencial genético o ambiental que se adquiere durante su maduración (Probert et al., 2009).

La viabilidad de una semilla depende de muchos factores, sin embargo, la humedad es de gran importancia en la longevidad, con base a esto se clasifican en tres grupos (FAO, 2019): semillas ortodoxas, pueden soportar un contenido de humedad del 5-10 %, prolongando su vida en almacenamiento con baja humedad y temperatura controlada, lo cual beneficia su conservación *ex situ*. Esta particularidad está altamente relacionada a ambientes áridos y cálidos, lo que les permite permanecer largos periodos sin humedad, gracias a los intervalos irregulares de lluvias (Probert et al., 2009; Pellizzaro et al., 2020).

A diferencia de las semillas recalcitrantes las cuales son de corta duración, no pueden contener menos del 20-30 % de humedad y son susceptibles al almacenamiento prolongado. Característico de especies (guanábana, cacao, chayote, entre otras) que se desarrollan en ambientes tropicales húmedos; y por ultimo las semillas intermedias, no se ajustan plenamente a ninguna de las dos categorías anteriores, ya que tienen una tolerancia limitada al secado y a temperaturas de congelación (FAO, 2019). El conocimiento de esta información es fundamental para asegurar la protección del germoplasma de cultivos y especies silvestres (Pellizzaro et al., 2020).

CAPITULO III

Morfología de los frutos de *Dasyllirion* spp. procedentes de la Mixteca oaxaqueña

Morphology of *Dasyllirion* spp. fruit from Mixteca oaxaqueña

3.1 Resumen

La especie *Dasyllirion* ssp. tiene importancia para las zonas áridas y semiáridas, con diversos usos. Se requieren estudios del crecimiento, la reproducción, la fisiología de las plantas y otros aspectos que permitan examinar a la especie. Por tal motivo, el objetivo de esta investigación fue analizar caracteres morfológicos de frutos de *Dasyllirion* spp. (especie sin identificar), de la Mixteca oaxaqueña, como base para su proceso reproductivo. Se recolectaron escapos florales femeninos en San Andrés (SA), en San Jerónimo (SJ) y en Nochixtlán (Nx). Los ejes florales (tallo floral) midieron de 1.64 a 3.11 m y la inflorescencia midió de 0.99 a 1.38 m; el número de racimos por inflorescencia varió de 79 a 91 unidades y se cuantificó entre 48 y 365 frutos por racimo. Las plantas de SA mostraron 10 640 frutos por escapo y las de SJ mostraron 46 733; el color predominante fue rojo púrpura. El peso de 1000 frutos fluctuó de 0.69 a 2.22 g; el número

de frutos kg^{-1} fue de 9 504 a 146 563, el número de frutos dependió de su peso, esto es, a mayor número de frutos menor peso; los frutos presentaron de 5.1 a 6.8 mm de diámetro polar y de 3.2 a 4.7 mm de diámetro ecuatorial; coeficiente de forma de 0.6 a 0.7 mm. La variabilidad morfológica observada, con base a la literatura, es atribuido a las condiciones ambientales en las que crecieron, su comportamiento sexual dioico y su polinización libre y cruzada.

Palabras clave: cucharilla, eje floral, inflorescencia, pericarpio, sotol.

3.2 Abstract

Dasyilirion spp. is important for arid and semi-arid zones, with diverse uses. Studies of growth, reproduction, plant physiology and other aspects are required to examine the species. For this reason, the objective of this research was to analyze morphological characters of fruits of *Dasyilirion* spp. (unidentified species), from the Oaxacan Mixteca, as a basis for its reproductive process. Female flower spikes were collected in San Andrés (SA), San Jerónimo (SJ) and Nochixtlán (Nx). The floral axes (flower stalk) measured from 1.64 to 3.11 m and the inflorescence measured from 0.99 to 1.38 m; the number of racemes per inflorescence varied from 79 to 91 units and between 48 and 365 fruits per raceme were quantified. SA plants showed 10 640 fruits per scape and SJ plants showed 46 733; the predominant color was purplish red. The weight of 1000 fruits ranged from 0.69 to 2.22 g; the number of fruits kg^{-1} was from 9 504 to 146 563, the number of fruits depended on weight, that is, the greater the number of fruits the lesser the weight; the fruits presented from 5.1 to 6.8 mm of polar diameter and from 3.2 to 4.7 mm of equatorial diameter; shape coefficient from 0.6 to 0.7 mm. The morphological variability observed,

based on the literature, is attributed to the environmental conditions in which they grew, their dioecious sexual behavior and their free and cross pollination.

Keywords: cucharilla, floral axis, inflorescence, pericarp, sotol.

3.3 Introducción

En la Mixteca oaxaqueña existe una planta conocida comúnmente como cucharilla, atribuido a que la parte basal de sus hojas que se insertan en el tallo tiene forma de cuchara, se utilizan como adorno en diversas festividades religiosas. Pertenece al género *Dasyllirion* y su hábitat árido y semiárido presenta periodos de sequias, lluvias intensas, vientos, altas temperaturas y cambios bruscos ambientales (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2022). Esta planta tiene importancia ecológica, artesanal, comestible y económica en las zonas donde crecen (Haeckel, 2008; Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2015; Duarte y Alvarado, 2019; Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, 2020). El género *Dasyllirion*, se caracteriza por presentar una gran variabilidad intraespecífica, tanto en las características de la inflorescencia como del fruto, las diferencias morfológicas en los individuos son atribuidas a la posible existencia de plantas híbridas (Sierra-Tristán y Mendoza-Castillo, 2005). Las semillas de este género están contenidas dentro de una estructura llamada pericarpio (capsula trivalva), cubierta que impide la germinación (Rodríguez-Trejo, García, Quiahua & Reyes, 2019), por lo cual se convierte en una forma de latencia (Paulsen et al., 2013), de manera que la semilla viable no germina aun en condiciones favorables, estas características que presentan las semillas determinan las condiciones para la germinación (Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006).

Las características anatómicas de las plantas se adaptan a los factores ambientales, las especies heteromórficas han desarrollado adaptaciones para su dispersión y latencia (Novoplansky, 2019; Seale & Nakayama, 2020). Las semillas con pericarpio han evolucionado para protección ante diversos factores externos (Paulsen et al., 2013). La plasticidad de los frutos está relacionada con la respuesta a la temperatura y la supervivencia en suelos con pendientes y pedregosos, así mismo, es su protección para resistir a los agentes de dispersión (gravedad, agua, viento o animales) (Nathan et al., 2008; Pinales-Quero et al., 2017; Arshad et al., 2019). La capacidad y el tipo de dispersión que presenta una especie en sus semillas, es uno de los factores que determina la estructura y la dinámica de población, ya que es un proceso físico en el que las semillas o frutos se mueven de un lugar a otro, asimismo, está ligada con el tipo de latencia que pueden presentar (Seale & Nakayama, 2020).

Dada su importancia de la cucharilla, tanto ecológica, artesanal, medicinal, comestible y económica, se requiere de información técnica y científica que permita conocer a mayor detalle esta planta (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2015; Duarte y Alvarado, 2019; Reyes-Valdés, et al., 2019; Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, 2020). Por tal razón, el objetivo de este trabajo fue analizar caracteres morfológicos de los frutos de *Dasyllirion* spp. recolectados en tres sitios de la Mixteca oaxaqueña como base para su proceso reproductivo de la especie y evitar su extinción local a corto plazo.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Material vegetal

La recolección de inflorescencias de *Dasyllirion* (spp.), se realizó en localidades de la Región Mixteca Alta de Oaxaca (Cuadro 1), en San Andrés Lagunas (SA) y San Jerónimo Villa de Tamazulapam del progreso en el año del 2022, más una muestra compuesta de frutos de Asunción Nochixtlán (Nx) del año 2021, de las cuales no se obtuvieron datos de las inflorescencias. Las inflorescencias del 2022 se mantuvieron en bolsas de papel con aireación, de acuerdo a la planta progenitora y sitio de recolección para su posterior análisis.

Cuadro 1. Localización de los sitios de recolección de las plantas de *Dasyllirion* (spp.) donantes de semilla.

Localidad	Sitio	Planta	Coordenadas	Altitud (m)
San Andrés (SA)	S1	P1	17°34'21"N	2371
		P2	97°31'17"O	2396
		P3		2242
	S2	P4	17°34'21"N	2271
		P5	97°31'17"O	2286
San Jerónimo (SJ)	S3	P6	17°38'06"N	2230
		P7	97°32'37"O	2244
Nochixtlán (Nx)	S4	C8	17°27'26"N 97°13'30"O	2080

3.4.2 Características morfológicas de la inflorescencia

Se obtuvieron datos morfológicos de cada inflorescencia, recolectados en SA y SJ, para las siguientes variables: la longitud del eje floral, se midió desde la base de la planta hasta el ápice; la longitud de inflorescencia, desde el inicio de los fascículos racimosos hasta el ápice, ambas longitudes se midieron con un flexómetro (Truper gripper); número de racimos por planta, se realizó el conteo en cada inflorescencia; número de frutos por

racimo, de manera aleatoria se seleccionaron 10 racimos de cada inflorescencia para su conteo.



Figura 1. Medición de la inflorescencia (área de los fascículos racimosos) de plantas de *Dasyliirion* (spp.) recolectadas.

3.4.3 Características morfológicas en frutos

Una vez que se obtuvieron los datos de la inflorescencia se desprendieron los frutos, y se mantuvieron extendidos con aireación continúa a temperatura ambiente para la deshidratación del fruto. Se determinaron algunas características físicas y morfológicas de los frutos, según el sitio y progenitor. Color, la determinación del color del pericarpio se realizó a los dos días después del corte, en 100 frutos recolectados en SA y SJ, con base en la tabla de colores de la Carta Munsell (Munsell, 2012) para tejidos vegetales, para este dato se excluyó la muestra de Nx; textura, ésta se determinó al tacto. Se formaron 10 repeticiones de 100 frutos por planta, donde cada planta representó un tratamiento, cada grupo se pesó (g) en una balanza analítica (Sartorius con aproximación a 0.0001), y se contabilizaron los frutos con y sin semillas (vacío). De esta forma se

obtuvo el peso de 1000 frutos y el porcentaje de frutos con semilla y sin ella. Diámetro polar (DP, mm) y diámetro ecuatorial (DE, mm), estos valores se obtuvieron con un vernier digital (Steren) en 100 frutos por planta. Así mismo, con estos datos se estimó el coeficiente de forma: $CF=DE/DP$ (Rodríguez-Vásquez, Rodríguez-Ortiz, Enríquez-Del Valle, Velasco-Velasco & Ramírez-Sánchez, 2018), cuando los valores tienden a 1.0 la forma es circular, y los valores alejados de la unidad representan formas alargadas.



Figura 2. a) Semilla y b) fruto trialado de cucharilla (*Dasyllirion*).

3.5 Análisis estadístico

Los datos se analizaron con pruebas de comparación de medias (Tukey, ≤ 0.05) en el programa computacional Statistical Analysis System 9.4 (SAS, 2013). Se realizaron los análisis de correlación entre las variables morfológicas de las inflorescencias, y se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman.

3.6 Resultados y discusión

3.6.1 Morfología de la inflorescencia

Los ejes florales que presentaron las plantas de cucharilla (*Dasyilirion* spp.) midieron de 1.0 m a 3.67 m de longitud, y las inflorescencias racimosas de 0.52 m hasta 2.0 m; el número de racimos por planta fue de 32 a 150, y de 55 a 594 frutos por racimo, con un peso de 33 a 673 g de frutos por planta. Las inflorescencias recolectadas variaron en su capacidad para crecer y producir semillas en las siete muestras de la Mixteca (Cuadro 2). Debido a que los diferentes ambientes, durante el desarrollo de la semilla, provocan cambios en el rendimiento de la planta y la semilla, el sitio de recolección fue un factor determinante (He et al., 2014). El tipo de reproducción (asexual o sexual) en las plantas, hace referencia a su capacidad de colonización y el potencial de adaptación (Johnson, Smith & Rausher, 2010). Al ser una planta con comportamiento sexual dioico (masculinas y femeninas), de polinización libre (Reyes-Valdés, Benavides-Mendoza & Villarreal-Quintanilla, 2012; Hernández-Quintero, Reyes, Mendoza, Gómez y Rodríguez 2015), propicia un alto polimorfismo (Bogler, 1994; Grivet, Sebastiani, González-Martínez & Vendramin, 2009; Pinales-Quero et al., 2017).

Cuadro 2. Características morfológicas en los escapos florales de plantas de *Dasyilirion* (spp.) recolectadas en dos localidades de la Mixteca Oaxaqueña.

Localidad y planta	Longitud del eje floral (m)	Longitud de la inflorescencia (m)	No de racimos por planta	Frutos por racimo	Peso de frutos por planta (g)
San Andrés					
Planta 1	3.67	1.46	118	55	33
Planta 2	2.04	0.52	41	42	10
Planta 3	1.19	0.58	61	257	108
Planta 4	1.35	0.66	62	162	61
Planta 5	2.40	0.67	65	245	116
San Jerónimo					
Planta 6	2.90	0.72	32	137	46

Planta 7	3.33	2.00	150	594	673
----------	------	------	-----	-----	-----

Las características fenotípicas como la altura que presentan las plantas progenitoras, influyen para la dispersión natural de las semillas, ya que aumenta la distancia del área de dispersión (Augspurger, Franson, Cushman & Muller-Landau, 2016). El crecimiento de la población en conglomerados conocido en *Dasyilirion* puede estar relacionada con esta dispersión (CONAFOR, 2004), por ser mayormente anemocoria (viento) (Bogler, 1994; Grivet et al., 2009; Pinales-Quero et al., 2017), y barocoria (gravedad) (Rodríguez Trejo et al; 2019). La correlación de las variables morfológicas mostró que la longitud de la inflorescencia se incrementó cuando aumentó la longitud del eje floral. También, presentaron mayor número de racimos por planta y número de frutos por racimo, y como consecuencia, un incremento del peso de frutos por planta (Cuadro 2). La correlación de las variables morfológicas mostró que la longitud de la inflorescencia se incrementó cuando aumentó la longitud del eje floral. También, presentaron mayor número de racimos por planta y número de frutos por racimo, y como consecuencia, un incremento del peso de frutos por planta (Cuadro 3).

Cuadro 3. Correlación entre las variables morfológicas de la inflorescencia de plantas de *Dasyilirion* (spp.) recolectadas en dos localidades de la Mixteca oaxaqueña.

	Longitud de la inflorescencia	No de racimos por planta	No de frutos por racimo	Peso de frutos por planta
Longitud del eje floral	0.752*	0.597 ^{ns}	0.166 ^{ns}	0.359 ^{ns}
Longitud de la inflorescencia		0.950**	0.631 ^{ns}	0.790*
No de racimos por planta			0.636 ^{ns}	0.758*
No de frutos por racimo				0.955**

ns= valores no significativos (>0.05); *valores significativos (≤ 0.05), **valores altamente significativos (≤ 0.01).

Se obtuvieron modelos de regresión de las variables que mostraron $r > 0.7$, así como los coeficientes de determinación (R^2). Estos modelos son polinómicos y lineales con $R^2 > 0.9$, a excepción de la correlación de longitud del eje floral con longitud de la inflorescencia donde $R^2 > 0.7$. A partir de estos modelos se estima las variables Y en función de las variables X (Figura 3).

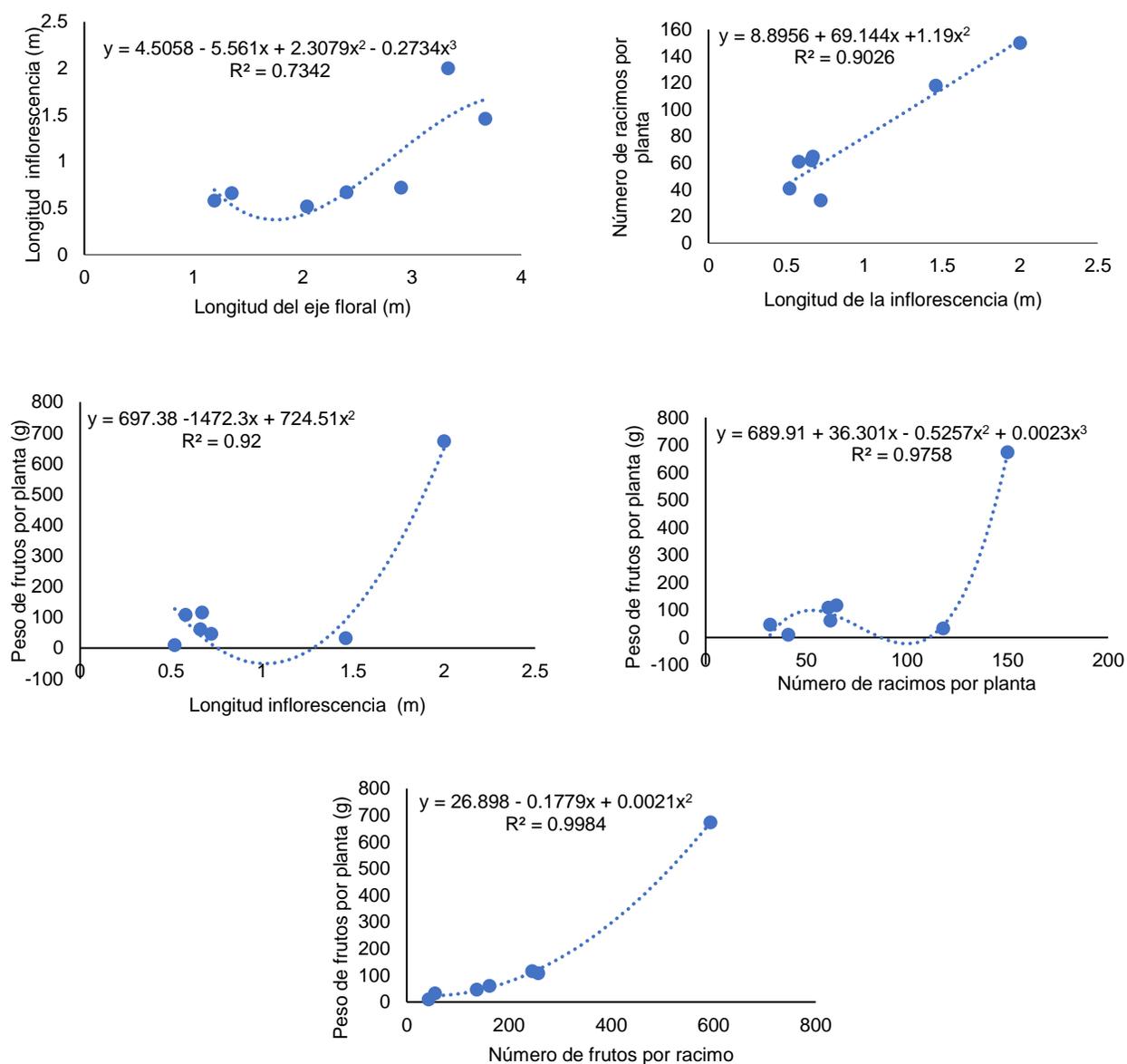


Figura 3. Modelos de las variables de la inflorescencia que mostraron $r > 0.7$

3.6.2 Descripción del color y textura en frutos

El color rojo púrpura predominó en 67% de los frutos, y el color verde amarillento en 33%, cada uno con ligeras variaciones en claridad y pureza (Cuadro 4). El color rojo coincide con lo reportado con Rodríguez-Trejo, García, Quiahua y Reyes (2021) en *Dasyllirion lucidum*. La acumulación de pigmentos en los frutos determina el color. Las antocianinas y flavonoides se les atribuye el predominio del color rosa, el púrpura o el azul; además, el polimorfismo de color puede estar asociada con la diversidad ambiental, tolerancia al estrés, una mejor tolerancia al frío y a patógenos fúngicos; los tallos y flores más pigmentados, están más expuestas a condiciones estresantes que las plantas con menor capacidad para sintetizar antocianinas, debido a que se desempeñan favorablemente en condiciones de sequía (Warren & Mackenzie, 2001; Sudheeran et al., 2020). Los carotenoides son responsables de los pigmentos amarillos, anaranjados y rojos en frutas y verduras (Meléndez-Martínez, Vicario y Heredia, 2004), también juegan diferentes papeles en la fotoprotección, el crecimiento, la arquitectura de la planta y la tolerancia al estrés y patógenos (Moreno & Al-Babili, 2023). Las plantas han desarrollado un mecanismo para inhibir factores externos extremos (Eshel et al., 2022), por lo que es probable que exista la acumulación de alguno de estos pigmentos en las bracteas y frutos de *Dasyllirion*. Las inflorescencias presentaron frutos trialados de textura lisa al tacto y plasticidad, la cual, suele ser una respuesta a la temperatura, supervivencia a suelos con pendientes y pedregosos, y es una protección para su dispersión (gravedad, agua, viento o animales) (Nathan et al., 2008; Pinales-Quero et al., 2017; Arshad et al., 2019).

Cuadro 4. Identificación del color y textura de los frutos de plantas de cucharilla (*Dasyliirion* spp.).

Localidad y planta	Color	Interpretación	Frutos (%)	Textura
San Andrés				
Planta 1	2.5GY 5/8	Verde amarillento 2.5 Claridad 5/pureza 8	60	Lisa
	5RP 3/2	Rojo purpura 5 Claridad 3/pureza 2	40	Lisa
Planta 2	5RP 3/8	Rojo purpura 5 Claridad 3/pureza 8	50	Lisa
	5RP 3/4	Rojo-purpura 5 Claridad 3/pureza 4	50	Lisa
Planta 3	2.5GY 5/8	Verde amarillento 2.5 Claridad 5/pureza 8	70	Lisa
	5RP 3/8	Rojo purpura 5 Claridad 3/pureza 8	30	Lisa
Planta 4	2.5GY 5/8	Verde amarillento 2.5 Claridad 5/pureza 8	50	Lisa
	5RP 3/2	Rojo purpura 5 Claridad 3/pureza 2	50	Lisa
Planta 5	2.5GY 8/6	Verde amarillento 2.5 Claridad 8/pureza 6	100	Lisa
San Jerónimo				
Planta 6	5RP 3/2	Rojo purpura 5 Claridad 3/pureza 2	100	Lisa
Planta 7	2.5GY 8/6	Verde amarillento 2.5 Claridad 8/pureza 6	53	Lisa
	5RP 3/2	Rojo purpura 5 Claridad 3/pureza 2	47	Lisa

3.6.3 Características morfológicas de los frutos

Los resultados de la prueba de comparación de medias mostraron diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$) para todos los parámetros analizados; el peso de 1000 frutos, que fueron de 0.6 g a 2.2 g, e influyó en el número de frutos kg^{-1} , el cual fue de 146 563 a 46

420, respectivamente, con una media de 84 777 frutos kg^{-1} (Cuadro 5). El tamaño promedio de los frutos fue de 5.1 a 6.8 mm de diámetro polar, lo cual representó lo largo del fruto, y de 3.2 a 4.8 mm de diámetro ecuatorial. Las plantas de Nx obtuvieron el mayor diámetro polar y diámetro ecuatorial, estas fueron estadísticamente superiores a las medias de SA y SJ, es decir, fueron los frutos de mayor tamaño. Estos resultados permitieron estimar el coeficiente de forma de los frutos, que tendieron a la forma esférica. Tanto la estructura, forma, tamaño y peso e incluso la elasticidad que presentan los frutos, tienen el objetivo de facilitar la dispersión de las semillas, y dependiendo de la forma aumenta el rango de distribución, lo cual puede tener un efecto adaptativo positivo en la distribución y de los riesgos asociados (Yang et al., 2021; Ya-Fei, Shan-Heng, Ying-Sha & Jia 2021; Gan, Guo, Zhang, Wang & Huang,2022).

Cuadro 5. Características morfológicas de los frutos recolectados en la Mixteca oaxaqueña.

Planta/ localidad	Características físicas y morfológicas				
	Peso de 1000 frutos (g)	Frutos kg^{-1}	Diámetro polar (mm)	Diámetro ecuatorial (mm)	Coefficiente de forma
P1SA	1.1±0.06 d	95041±8271 c	6.7±0.65 ab	3.7±0.65 cbd	0.63±0.12 b
P2SA	1.0±0.03 d	99173±3036 c	5.6±0.07 abc	4.1±3.88 b	0.74±0.82 b
P3SA	1.9±0.10 ab	53116±2727 de	6.1±0.06 abc	3.9±0.05 cb	0.6±0.008 ab
P4SA	0.6±0.01 e	146563±399 a	5.1±0.06 c	3.7±0.04 cbd	0.73±0.01 ab
P5SA	1.5±0.03 c	64946±1461 d	5.4±0.06 bc	3.3±0.04 cd	0.60±0.00 b
P6SJ	2.2±0.13 a	46420±2768 e	5.3±0.08 c	3.4±0.04 c	0.65±0.01 ab
P7SJ	1.8±0.06 b	53485±1919 de	5.2±0.06 c	3.2±0.04 d	0.63±0.01 b
C8Nx	0.8±0.00 de	119476±131 b	6.8±0.55 a	4.8±0.05 a	0.77±0.01 a

Letras distintas en la misma columna representan diferencias significativas (Tukey, $\leq 0,05$). La media se acompaña \pm error estándar. Los valores son promedios de 100 frutos.

3.6.4 Producción de frutos por plantas

Se encontraron inflorescencias que presentaban entre 1% y 79% de frutos con semillas, siendo el complemento del 99% y 21% de frutos sin semillas (Cuadro 6). El proceso de polinización puede diferir dependiendo del clima, características y topografía del lugar (Aboulaich et al., 2013; Frisk et al., 2023). Es probable que *Dasyilirion*, al proliferar en zonas áridas, las condiciones climáticas desfavorables (CONABIO, 2022), son una amenaza para su reproducción sexual, debido a que interfieren para la maduración o dispersión del polen, las sequías frecuentes e intensas y las altas temperaturas, aumentan la esterilidad del polen por causa de daño celular (Alonso, Herrera, & Ashman 2012, Huang et al., 2015; Najeeb, Tan, Sarwar & Ali, 2019; Schermer et al., 2020). Para una fecundación exitosa se requiere polen funcional (Hormaza & Herrero, 1995; Carrizo-García, Nepi & Pacini, 2017), y debido a que las estructuras reproductivas, especialmente el polen, son altamente sensibles a los cambios drásticos del ambiente (Bykova, Limousin, Ourcival & Chuine, 2018), puede ser uno de los muchos factores que influyan en el porcentaje de frutos vacíos que presentaron las inflorescencias recolectadas. Sin embargo, se desconoce si tiene algún otro tipo de polinización, debido a que las flores masculinas son más vistosas (amarillo intenso), lo que es una característica para los polinizadores, ya que son parte de los atrayentes visuales (Renoult, Valido, Jordano & Schaefer, 2014; Wessinger, 2021).

Cuadro 6. Producción de frutos con semilla y sin semilla de plantas de cucharilla (*Dasyilirion* spp.) recolectados en la Mixteca oaxaqueña.

Localidad y planta	Frutos con semillas (%)	Frutos sin semillas (%)	No de frutos por planta (total)	No de frutos con semillas por planta	No de frutos sin semilla por planta
San Andrés (SA)					
Planta 1	5.0	95.0	6466	323	6143
Planta 2	10.0	90.0	1734	173	1561

Planta 3	17.0	83.0	15671	2664	13007
Planta 4	1.0	99.0	10019	100	9919
Planta 5	29.0	71.0	15951	4626	11325
San Jerónimo (SJ)					
Planta 6	79.0	21.0	4381	3461	920
Planta 7	51.3	48.7	89100	45708	43392
Nochixtlán (Nx)	45.0	55.0	-	-	-

Las plantas obtuvieron entre 100 a 47 423 número de frutos llenos por inflorescencia, comparado con lo que reporta Rodríguez-Trejo et al. (2019) de 2 600 semillas por inflorescencia. La gran cantidad de producción de frutos, se justifican como una estrategia reproductiva, lo cual beneficia su dispersión y capacidad adaptativa para su propagación natural, aunado a su latencia (por el fruto) (Rubio et al., 2017; Leslie, Beaulieu & Mathews, 2017). Esta última, está relacionado con la competencia (Paulsen et al., 2013; Huss & Gierlinger, 2021), el desarrollo, y la dispersión de las semillas, (Nathan et al., 2008) y juega un papel de control ante climas desfavorables y competencia alta (Volis & Bohrer, 2013) entre la planta madre y sus plántulas, coordinando la emergencia de estas, asegurando las condiciones ambientales favorables para su crecimiento (Finch-Savage & Footitt, 2017; Smith & Weller, 2020).

3.8 Conclusión

Los resultados de la morfología de los frutos y la variación de las inflorescencias mostraron variaciones dentro y entre plantas, y con los otros orígenes de semillas, respectivamente. La planta de cucharilla (*Dasyllirion* spp.) recolectada en San Jerónimo presentó características superiores de inflorescencia, con eje floral de 3.33 m de longitud y 2.0 m en la inflorescencia, 150 racimos y 594 frutos por racimo, mostrando 89 085

frutos, los cuales pesaron 673 g, con 45 019 frutos con semilla y, por lo tanto, un 50% sin semilla. La correlación de las variables morfológicas mostró que la longitud de la inflorescencia se incrementó cuando aumentó la longitud del eje floral y, además, presentaron mayor número de racimos por planta, y mayor número de frutos por racimo, como consecuencia un incremento del peso de frutos por planta. El color predominante fue el rojo púrpura (67%), y verde amarillento (33%). Presentaron textura lisa al tacto en todas las variantes evaluadas y tendieron a una forma esférica. Los frutos de mayor tamaño fueron los procedentes de Nx, seguidos de SJ y por último los de SA; además, estos últimos presentaron menor peso (0.6 g) y como consecuencia, el mayor número de fruto kg^{-1} (146 563); los frutos procedentes de SJ fueron los más pesados (2.2 g), obteniendo el menor número de fruto kg^{-1} (46 420).

3.9 Bibliografía

- Aboulaich, N., Achmakh, L., Bouziane, H., Trigo, M. M., Recio, M., Kadiri, M., Cabezudo, B., Riadi, H. & Kazzaz, M. (2013). Effect of meteorological parameters on Poaceae pollen in the atmosphere of Tetouan (NW Morocco). *International Journal of Biometeorology*, 57(2), 197–205. <https://doi.org/10.1007/s00484-012-0566-2>
- Alonso, C., Herrera, C. M. & Ashman, T. L. (2012). A piece of the puzzle: A method for comparing pollination quality and quantity across multiple species and reproductive events. *New Phytologist*, 193(2), 532–542. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03932.x>
- Arshad, W., Sperber, K., Steinbrecher, T., Nichols, B., Jansen, V. A. A., Leubner-Metzger, G. & Mummenhoff, K. (2019). Dispersal biophysics and adaptive significance of dimorphic diaspores in the annual *Aethionema arabicum* (Brassicaceae). *New Phytologist*, 221(3), 1434–1446. <https://doi.org/10.1111/nph.15490>
- Augspurger, C. K., Franson, S. E., Cushman, K. C. & Muller-Landau, H. C. (2016). Intraspecific variation in seed dispersal of a Neotropical tree and its relationship to

fruit and tree traits. *Ecology and Evolution*, 6(4), 1128–1142.
<https://doi.org/10.1002/ece3.1905>

Bogler, D. J. (1994). Taxonomy and phylogeny of *Dasyilirion* (Nolinaceae). *Doctoral dissertation, University of Texas at Austin, Austin, USA*. pp.583.

Bykova, O., Limousin, J. M., Ourcival, J. M. & Chuine, I. (2018). Water deficit disrupts male gametophyte development in *Quercus ilex*. *Plant Biology*, 20(3), 450–455.
<https://doi.org/10.1111/plb.12692>

Carrizo-García, C., Nepi, M. & Pacini, E. (2017). It is a matter of timing: asynchrony during pollen development and its consequences on pollen performance in angiosperms—a review. *Protoplasma*, 254(1), 57–73. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-0950-6>

Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) (2004). Inventario nacional forestal y de suelos. <https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Inventario-Nacional-Forestal-y-de-Suelos.Pdf>

CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). (2022). taxa_EncicloVida. <https://enciclovida.mx/>

Duarte, M. J. y Alvarado, A. (2019). El manual del sotol. *Editorial. Mixlab, Chihuahua, Chihuahua*. 42 p.

Eshel, G., Duppen, N., Wang, G., Oh, D. H., Kazachkova, Y., Herzyk, P., Amtmann, A., Gordon, M., Chalifa-Caspi, V., Oscar, M. A., Bar-David, S., Marshall-Colon, A., Dassanayake, M. & Barak, S. (2022). Positive selection and heat-response transcriptomes reveal adaptive features of the Brassicaceae desert model, *Anastatica hierochuntica*. *New Phytologist*, 236(3), 1006–1026.
<https://doi.org/10.1111/nph.18411>

Finch-Savage, W. E. & Footitt, S. (2017). Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. *Journal of Experimental Botany*. 68(4), 843–856. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw477>

Finch-Savage, W. E. & Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, 171(3), 501–523. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x>

Frisk, C. A., Apangu, G. P., Petch, G. M., Creer, S., Hanson, M., Adams-Groom, B. & Skjøth, C. A. (2023). Microscale pollen release and dispersal patterns in flowering grass populations. *Science of the Total Environment*, (880),163345.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163345>

Gan, S. R., Guo, J. C., Zhang, Y. X., Wang, X. F. & Huang, L. J. (2022). “Phoenix in Flight”: an unique fruit morphology ensures wind dispersal of seeds of the phoenix

tree (*Firmiana simplex* (L.) W. Wight). *BMC Plant Biology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03494-z>

Grivet, D., Sebastiani, F., González-Martínez, S. C. & Vendramin, G. G. (2009). Patterns of polymorphism resulting from long-range colonization in the Mediterranean conifer *Aleppo pine*. *New Phytologist*, 184(4), 1016–1028. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03015.x>

Haeckel, I. B. (2008). The “Arco Floral”: ethnobotany of *Tillandsia* and *Dasyllirion* spp. in a Mexican religious adornment. *Economic Botany*, 62(1), 90-95.

He, H., De Souza Vidigal, D., Basten Snoek, L., Schnabel, S., Nijveen, H., Hilhorst, H. & Bentsink, L. (2014). Interaction between parental environment and genotype affects plant and seed performance in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 65(22), 6603–6615. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru378>

Hernández-Quintero, J. D., Reyes-Valdés, M. H., Mendoza-Rodríguez, D. V., Gómez-Martínez, M. y Rodríguez-Herrera, R. (2015). Estudio de los cromosomas mitóticos y meióticos del sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.). *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 84, 107–112.

Hormaza, J. I. & Herrero, M. (1995). El polen como individuo interactivo. *Unidad de Fruticultura*, 7, 5-18.

Huang, H., Ye, R., Qi, M., Li, X., Miller, D. R., Stewart, C. N., Dubois, D. W. & Wang, J. (2015). Wind-mediated horseweed (*Conyza canadensis*) gene flow: Pollen emission, dispersion, and deposition. *Ecology and Evolution*, 5(13), 2646–2658. <https://doi.org/10.1002/ece3.1540>

Huss, J. C. & Gierlinger, N. (2021). Functional packaging of seeds. *New Phytologist*, 230(6), 2154–2163. <https://doi.org/10.1111/nph.17299>

Johnson, M. T. J., Smith, S. D. & Rausher, M. D. (2010). Effects of plant sex on range distributions and allocation to reproduction. *New Phytologist*, 186(3), 769–779. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03201.x>

Leslie, A. B., Beaulieu, J. M. & Mathews, S. (2017). Variation in seed size is structured by dispersal syndrome and cone morphology in conifers and other nonflowering seed plants. *New Phytologist*, 216(2), 429–437. <https://doi.org/10.1111/nph.14456>

Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M. y Heredia, F. J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54(2), 209-215. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200011&lng=es&tlng=es.

- Melgoza Castillo, A. y Sierra Tristán, J. S. (2020). Contribución al conocimiento y distribución de las especies de *Dasyilirion* spp. (Sotol) en Chihuahua, México. *Revista Mexicana De Ciencias Forestales*, 28(93), 25–40.
- Moreno, J. C. & Al-Babili, S. (2023). ¿Are carotenoids the true colors of crop improvement? *New Phytologist*, 237(6), 1946–1950. <https://doi.org/10.1111/nph.18660>
- Munsell. (2012). Munsell planta tissue color Book with genuine Munsell color chips. 4300 44th Street. Grand Rapids MI 49512.
- Najeeb, U., Tan, D. K. Y., Sarwar, M. & Ali, S. (2019). Adaptation of crops to warmer climates: Morphological and physiological mechanisms. *In Sustainable Solutions for Food Security: Combating Climate Change by Adaptation*, 38(6), 1011–1022. <https://doi.org/10.1111/pce.12474>
- Nathan, R., Schurr, F. M., Spiegel, O., Steinitz, O., Trakhtenbrot, A. & Tsoar, A. (2008). Mechanisms of long-distance seed dispersal. *Trends in Ecology and Evolution*, 23 (11), 638–647. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.08.003>
- Novoplansky, A. (2019). What plant roots know?. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, (92), 126–133). <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.03.00>
- Paulsen, T. R., Colville, L., Kranner, I., Daws, M. I., Högestedt, G., Vandvik, V. & Thompson, K. (2013). Physical dormancy in seeds: A game of hide and seek? *New Phytologist*, 198(2), 496–503. <https://doi.org/10.1111/nph.12191>
- Pinales-Quero, I., González-Vázquez, V. M., Castillo, F.-R., Aguilar, C. N., Reyes-Valdés, M. H. & Rodríguez-Herrera, R. (2017). Genetic diversity of sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.) at different elevations. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 4(11), 201. <https://doi.org/10.19136/era.a4n11.941>
- Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA) (2020). El sotol y la pata de elefante, especies protegidas por la ley. <https://www.gob.mx/profepa/articulos/el-sotol-y-la-pata-de-elefante-especies-protegidas-por-la-ley?idiom=es#:~:text=Ha%20sido%20utilizada%20desde%20hace,con%20tronco%20elevado%20o%20recostado>.
- Renoult, J. P., Valido, A., Jordano, P. & Schaefer, H. M. (2014). Adaptation of flower and fruit colours to multiple, distinct mutualists. *New Phytologist*, 201(2), 678–686. <https://doi.org/10.1111/nph.12539>
- Reyes-Valdés, M. H., Benavides-Mendoza, A. & Villarreal-Quintanilla, J. A. (2012). Biología e importancia del sotol (*Dasyilirion* spp.). Parte I: sistemática, genética y reproducción. *Planta*, 7, 11-13. <https://www.researchgate.net/publication/257139619>

- Reyes-Valdés, H., M., Palacios, R., Rivas-Martínez, E. N., Robledo-Olivo, A., Antonio-Bautista, A., Valdés-Dávila, C. M., Villarreal-Quintanilla, J. Á. & Benavides-Mendoza, A. (2019). The Sustainability of Mexican Traditional Beverage Sotol: Ecological, Historical, and Technical Issues. *Processing and Sustainability of Beverages*, 103–137. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815259-1.00004-5>
- Rodríguez-Trejo, D. A. E., García-Pascual., E., Quiahua-Barrera, L. y Reyes- Valdovinos, E.Y. (2021). *Dasyllirion lucidum* Rose (Aspagaseae). In: Rodríguez-Trejo, D. A. (Coord.). Semillas de Especies Forestales. *División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de Méx.* pp. 88-94.
- Rodríguez-Trejo, D. A., García Pascual, E., Quiahua Barrera, L. y Reyes Valdovinos, E. Y. (2019). Germinación de semillas de *Dasyllirion lucidum* Rose y *Beaucarnea gracilis* Lemaire de matorral xerófilo. *Entreciencias: Diálogos En La Sociedad Del Conocimiento*, 7(20). <https://doi.org/10.22201/enesl.20078064e.2019.20.68365>
- Rodríguez-Vásquez, M. E., Rodríguez-Ortiz, G., Enríquez-Del Valle, J. R., Velasco-Velasco, V. A. & Ramírez-Sánchez, S. E. (2017). Caracterización y escarificación de semillas de *Bursera glabrifolia* Kunth colectadas de diferentes árboles semilleros. *CIENCIA Ergo-Sum*, 25(2), 1–16.
- Rubio de Casas, R., Willis, C. G., Pearse, W. D., Baskin, C. C., Baskin, J. M. & Cavender-Bares, J. (2017). Global biogeography of seed dormancy is determined by seasonality and seed size: a case study in the legumes. *New Phytologist*, 214(4), 1527–1536. <https://doi.org/10.1111/nph.14498>
- SAS Software de Análisis Estadístico. (2013). Manual de usuario Estadísticas Versión 9.4. Instituto SAS Inc., Cary.
- Schermer, É., Bel-Venner, M. C., Gaillard, J. M., Dray, S., Boulanger, V., Le Roncé, I., Oliver, G., Chuine, I., Delzon, S. & Venner, S. (2020). Flower phenology as a disruptor of the fruiting dynamics in temperate oak species. *New Phytologist*, 225(3), 1181–1192. <https://doi.org/10.1111/nph.16224>
- Seale, M. & Nakayama, N. (2020). From passive to informed: mechanical mechanisms of seed dispersal. *New Phytologist*, 225(2), 653–658. <https://doi.org/10.1111/nph.16110>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2015). Sotol, bebida célebre del desierto. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/sotol-bebida-celebre-del-desierto-orgullodemexico>
- Sierra-Tristán, J. S. y Mendoza-Castillo, A. (2005). Contribución al conocimiento y distribución de las especies de *Dasyllirion* spp. (Sotol) en Chihuahua, México. *Rev. Ciencia Forestal en México*, (28),93.

- Smith, S. M. & Weller, J. L. (2020). Seasonal control of seed germination. *New Phytologist*, 225(5), 1821–1823. <https://doi.org/10.1111/nph.16254>
- Sudheeran, P. K., Ovadia, R., Galsarker, O., Maoz, I., Sela, N., Maurer, D., Feygenberg, O., Oren Shamir, M. & Alkan, N. (2020). Glycosylated flavonoids: fruit's concealed antifungal arsenal. *New Phytologist*, 225(4), 1788–1798. <https://doi.org/10.1111/nph.16251>
- Volis, S. & Bohrer, G. (2013). Joint evolution of seed traits along an aridity gradient: Seed size and dormancy are not two substitutable evolutionary traits in temporally heterogeneous environment. *New Phytologist*, 197(2), 655–667. <https://doi.org/10.1111/nph.12024>
- Warren, J. & Mackenzie, S. (2001). Why are all colour combinations not equally represented as flower-colour polymorphisms?. *New Phytologist*, 151, 231–241.
- Wessinger, C. A. (2021). From pollen dispersal to plant diversification: genetic consequences of pollination mode. *New Phytologist*, 229(6), 3125–3132. <https://doi.org/10.1111/nph.17073>
- Ya-Fei, S., Shan-Heng, S., Ying-Sha, J. & Jia, L. (2022). A global synthesis of fire effects on soil seed banks. *Global Ecology and Conservation*, 36, e02132. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2022.e02132>
- Yang, Y. Z., Zhang, R., Gao, R. H., Chai, M. W., Luo, M. X., Huang, B. H. & Liao, P. C. (2021). Heterocarpy diversifies diaspore propagation of the desert shrub *Ammopiptanthus mongolicus*. *Plant Species Biology*, 36(2), 198–207. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12308>

CAPÍTULO IV

Potencial germinativo de *Dasyllirion* spp. como respuesta a regímenes térmicos pregerminativos

Germination potential of *Dasyllirion* spp. as a response to pre-germination thermal regimes

4.1 Resumen

El género *Dasyllirion* tiene importancia económica, ambiental y cultural, su principal reproducción es vía sexual, y una de las características importantes es que sus semillas presentan latencia exógena, lo que dificulta su reproducción natural, aunado a las condiciones de hábitat. Debido a lo anterior, las poblaciones naturales han disminuido. El objetivo de esta investigación fue evaluar el potencial germinativo de semillas recolectadas en San Andrés (SA) y San Jerónimo (SJ) en el 2022 y de Nochixtlán (Nx) en el 2021, recolectadas en la Mixteca oaxaqueña para contribuir a su manejo sustentable. Se utilizó un muestreo dirigido en poblaciones naturales. La muestra constó de 100 frutos por sitio y cinco repeticiones, bajo un diseño completamente al azar, enmarcado en un

factorial incompleto de tres sitios (SJ, SA y Nx), tres métodos de secado o aplicación de calor artificial (estufa de secado, arena de río y sin calor artificial) y tres temperatura-tiempo (40°Cx35 min, 58°Cx4 min 25°Cx21 días). Las semillas de SJ fueron de mejor calidad con base al peso de 1000 semillas (5.28 g), pureza (88 %), viabilidad (70 %) y humedad (10 %). Los indicadores de vigor mostraron diferencias entre los sitios de recolección; las semillas de SJ mostraron mejores resultados en velocidad germinativa e índice de velocidad de germinación, periodo de energía y porcentaje germinativo. Para la obtención del 96 % de germinación en 15 días en las semillas de SJ, fue necesario la aplicación de calor en la estufa a 58 °C por 4 minutos, además, facilitó la remoción del fruto.

Palabras clave: cucharilla, energía germinativa, latencia, pericarpio, sotol.

4.2 Abstract

The genus *Dasyllirion* has economic, environmental and cultural importance, its main reproduction is sexual, and one of the important characteristics is that its seeds have exogenous dormancy, which hinders its natural reproduction, together with the habitat conditions. As a result, natural populations have decreased. The objective of this research was to evaluate the germination potential of seeds collected in San Andrés (SA) and San Jerónimo (SJ) in 2022 and Nochixtlán (Nx) in 2021, collected in the Oaxacan Mixteca to contribute to their sustainable management. Targeted sampling in natural populations was used. The sample consisted of 100 fruits per site and five replications, under a completely randomized design, framed in a incomplete factorial of three sites (SJ, SA and Nx), three

methods of drying or application of artificial heat (drying oven, river sand and without artificial heat) and three temperature-time (40°Cx35 min, 58°Cx4 min, 25°Cx21 days). SJ seeds were of better quality based on 1000 seed weight (5.28 g), purity (88 %), viability (70 %) and moisture (10 %). Vigor indicators showed differences between collection sites; SJ seeds showed better results in germination speed and germination speed index, energy period and germination percentage. In order to obtain 96 % germination in 15 days in SJ seeds, it was necessary to apply heat in the stove at 58 °C for 4 minutes, which also facilitated the removal of the fruit.

keywords: cucharilla, germinative energy, dormancy, pericarp, sotol.

4.3 Introducción

La familia Asparagácea prolifera en zonas áridas y semiáridas que van desde el sur de Estados Unidos de América hasta Oaxaca, México. Del género *Dasyllirion* se reconocen 24 especies, todas presentes en México y una mayoría identificadas como endémicas. (CONABIO, 2022; Rodríguez Trejo et al., 2019a; Reyes-Valdés et al., 2012). En la Mixteca oaxaqueña se conoce a la planta como “cucharilla”. De esta plantas se aprovechan las raíces, las hojas, los tallos y las inflorescencias, como alimento, forraje, medicina y ornato (PROFEPA, 2020; Duarte y Alvarado, 2019; SADER, 2015, Hernández-Quintero et al., 2015), en la región de a Mixteca se destaca por la elaboración de arcos florales para las festividades religiosas (Haeckel, 2008;Reyes-Valdés et al., 2019) y de cucharas; recientemente en el estado de Oaxaca se pretende aprovechar para destilar alcohol.

La reproducción de esta planta es principalmente por semillas. Las semillas son el principal órgano reproductivo sexual con tejido de reserva cubierto (testa), en estado de reposo, que al pasar por un proceso de imbibición se reactiva el metabolismo y el proceso fisiológico, dando paso a la germinación (Doria, 2010; Lambers et al., 2008; Bidwell, 1979), en el cual, el embrión debe pasar por el endospermo hasta salir por la cubierta de la semilla (Bai et al., 2017). La reproducción sexual es de gran importancia para la sucesión, regeneración y dispersión de las especies (Bidwell, 1979). La germinación y el vigor son las características más importantes relacionadas con la calidad fisiológica de las semillas (Morales-Santos et al., 2017).

Los factores externos en donde crecen las plantas juegan un papel fundamental para su propagación. Sus frutos secos e indehiscente de *Dasyllirion* dificultan su germinación (3-22 %), haciendo que la remoción del fruto sea indispensable para lograr una germinación mayor de 90 % (Rodríguez Trejo et al., 2019a). Esta especie tiene resistencia a altas temperaturas e incluso tolerancia al fuego, sobre todo en plantas de edad adulta (Rodríguez-Trejo et al., 2019b), aunado a las características del área de proliferación, impulsan a la planta y semillas a adaptaciones para sobrevivir. En algunas especies, se considera que el calor es un factor importante para romper la latencia física, ya que reduce la impermeabilidad y de esta manera estimula la germinación (Ya-Fei et al., 2022; Zuloaga-Aguilar et al., 2011).

La situación de las poblaciones silvestres de especies del género *Dasyllirion* es preocupante, debido a que, tres de ellas ya se encuentran incluidas en la NOM-059-SEMARNAT (2010) en la categoría de “amenaza”, y una sujeta a “protección especial”.

Por lo que la extracción de plantas de poblaciones silvestres, sin regulación y sin el manejo adecuado, puede ocasionar la extinción local de la especie a corto plazo. Es por eso que el objetivo de este estudio, fue evaluar el potencial germinativo de *Dasyllirion* spp. recolectadas en diferentes sitios de la Mixteca oaxaqueña, como respuesta a diferentes regímenes térmicos aplicados en frutos, en condiciones de laboratorio, dando pautas para su manejo y conservación.

4.4 Materiales y métodos

4.4.1 Recolección del escapo floral

Se seleccionaron plantas visiblemente sanas y vigorosas, de las cuales se recolectaron escapos florales femeninos y se obtuvieron los frutos, de tres localidades de la Mixteca alta de Oaxaca: en San Andrés Lagunas y San Jerónimo Tamazulapam durante julio y agosto del 2022 y una muestra compuesta de frutos de Asunción Nochixtlán del año 2021. Se seleccionó una muestra de frutos de tres inflorescencias (un por sitio), se mantuvieron separados en bolsas de papel y del mismo modo se realizó la evaluación de las mismas.

4.4.2 Evaluación de calidad de semillas

De manera manual se les extrajeron semillas a los frutos previamente aireados a temperatura ambiente y se determinó la calidad según el ISTA (2019):

Análisis de pureza: se pesó una muestra inicial de 100 semillas, posteriormente se retiraron las impurezas de forma manual. Se consideró pura, si es normal en cuanto a su

tamaño, forma y aspecto general externo. Inversamente, se tomó como impura la semilla que es demasiado pequeña, comida por los insectos, evidencia manchas producidas por los hongos, negras, plegadas o cualquier objeto extraño (basura, ramas y piedras). Posteriormente se pesó cada grupo en una balanza analítica (Santorius, modelo CP224, con precisión de $\pm 0,1$ mg).

$$\% \text{ pureza} = \left[\frac{\text{peso de la semilla pura}}{\text{peso total de la muestra original}} \right] \times 100$$

Peso de mil semillas: en la balanza analítica, también se determinó el peso de mil semillas, para lo cual, se usaron 10 muestras de 100 semillas por planta de cada sitio.

$$P_{1000 \text{ semillas}} = (\bar{X})(10)$$

Contenido de humedad: se obtuvieron cuatro grupos de 25 semillas (100 semillas por planta). Se colocaron en cajas petri y se introdujeron en una estufa de secado (felisa® modelo FE-291) a 40°C por 72 horas. Las semillas se pesaron al inicio y al final de este proceso aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \left[\frac{\text{peso fresco} - \text{peso seco}}{\text{peso fresco}} \right] \times 100$$

Viabilidad de la semilla: se emplearon cuatro repeticiones de 25 semillas, colocadas previamente en tubos Eppendorf se agregaron 2 mL de solución de 2,3, 5-trifenil-tetrazolio al 1 %, y se envolvieron con papel aluminio para limitar la exposición de la luz, durante un periodo de 24 h a temperatura ambiente. Las semillas se observaron interna y externamente con un microscopio estereoscopio, cuantificándolas según la intensidad de coloración: sin tinción (no viables) y color rojo intenso o medio (viables), y se calculó el porcentaje:

$$\% \text{viabilidad} = \left[\frac{\text{númerodesemillasteñidas}}{\text{Número totaldesemillas}} \right] \times 100$$

4.4.3 Métodos de secado en fruto y extracción de las semillas

Se realizó la extracción de las semillas por fricción con las manos. Sin embargo, fue un proceso lento y poco exitoso para la remoción del pericarpio, debido a su textura flexible. Por lo que se optó, por un procedimiento para facilitar el secado y extracción de las semillas, se aplicó calor artificial, basado en la observación directa del cambio del pericarpio a la temperatura. La muestra constó de 100 frutos por sitio (20 semillas con cinco repeticiones), bajo un diseño completamente al azar, enmarcado en un factorial incompleto de tres sitios (SJ, SA y Nx), tres métodos de secado o aplicación de calor artificial (estufa de secado, arena de río y sin calor artificial) y tres temperatura-tiempo (40°Cx35 min, 58°Cx4 min 25°Cx21 días).

Se realizó la aplicación de calor artificial al fruto mediante dos métodos: 1) Calor con estufa: utilizando una estufa de secado (felisa® modelo FE-291), se introdujeron los frutos previamente colocados en cajas petri, se mantuvieron a 40 °C durante 35 minutos y a 58 °C durante 4 minutos. 2) Calor con arena caliente: se colocó arena (1.5 cm de grosor) en un recipiente de barro y se calentó en una estufa con quemador de gas. Cuando la temperatura se estabilizó y homogenizó en la arena, se colocaron los frutos sobre está. La temperatura fue medida utilizando un termómetro (SETA ASTM). Una vez que la arena alcanzó una temperatura de 40 °C, los frutos se colocaron durante 35 minutos. Posteriormente, la temperatura se estabilizó a 58 °C y se mantuvieron los frutos durante 4 minutos; después, en un tamiz casero, se separaron los frutos de la arena y se

almacenaron en recipientes de plástico con tapa. Para obtener las semillas de los frutos tratados, se realizó una abrasión manual.

4.4.4 Germinación de semillas

Las semillas se conservaron en tubos Eppendorf™. La siembra se realizó a los 8 días en cajas petri de 90 x 15 mm. En estas se colaron una capa de algodón humedecido con agua destilada. Se instalaron en una cámara de germinación (BIOTRONETTE MARK III ®), a temperatura constante de 25 °C. Se aplicó 3 g L⁻¹ de fungicida (Carboxamida) como prevención. Se consideró como semilla germinada la aparición de la radícula visible (ISTA, 2019) que se registró diariamente y a la misma hora.

4.4.5 Variables a evaluar en germinación o indicadores de vigor de las semillas

A partir del número de semillas germinadas acumuladas se calcularon los siguientes indicadores de vigor: días a germinación (DAG), número del día a partir de la siembra en la que se observa la primera semilla germinada (Czabator, 1962); periodo de energía (PE), es el número de días en que las semillas alcanzaron el máximo de germinación (FAO, 1983) y velocidad de germinación (VG), se determinó con la fórmula citada por Nakagawa, (1999), donde: VG =velocidad de germinación (número de semillas germinadas por día), N_i = número de días acumulados desde el inicio del ensayo de germinación y G_i = número de semillas germinadas acumuladas en el día i -ésimo. El valor

G es una media aritmética de los N_i (días necesarios para la germinación) ponderada por los G_i y por ello las unidades que corresponden a esta velocidad son días.

$$VG = \frac{N_1 \times G_1 + N_2 \times G_2 \dots + N_n \times G_n}{G_1 + G_2 + \dots + G_n} = \frac{\sum_{i=1}^n N_i G_i}{\sum_{i=1}^n G_i}$$

El Índice de Velocidad de Germinación (IVG) propuesto por Maguire (1962), se expresa como número de semillas germinadas por día; donde X_i = Número de semillas germinadas por día; N_i = Número de días después de la siembra; n = Número de conteos, donde, $i=1,2,3,\dots,n$ conteos.

$$IVG = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{N_i}$$

Potencia germinativa (PG), esta expresa el porcentaje final de semillas que germinan (S_g) con relación al número total de semillas sembradas (Czabator, 1962).

$$PG = \frac{S_g}{S_s} \times 100\%$$

4.5 Análisis estadístico

En las variables se probaron los supuestos de normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk y homogeneidad de varianzas con la prueba de Bartlett con el programa computacional SAS (Statistical Analysis System 9.4). Al no cumplir los supuestos, se realizó la transformación que mejor se ajustaron de DAG, IVG, VG y PG a $\log_{10}(\sqrt{x+1})$. Los datos se sometieron a análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Duncan, $P \leq 0.05$).

4.6 Resultados y discusión

4.6.1 Calidad de semilla

El peso de 1000 semillas dependió del contenido de humedad y pureza, además, fue recíproco al número de semillas por kilogramo, es decir, cuanto mayor fue el peso, menor fue el número de semillas por kilogramo; el valor varió hasta 3.46 g de un sitio a otro (Cuadro 7). Al realizar un análisis general de las semillas y su peso, se obtuvo que las 1000 semillas de *Dasyllirion* fueron de 1.82 a 5.28 g. La variación en la cantidad de semillas que presentaron kg^{-1} (189 393 a 546 561 kg^{-1}), está influenciada por el peso de esta, y es el resultado de una estrategia reproductiva de la planta, lo cual beneficia su dispersión y capacidad adaptativa para su propagación natural, aunado a su latencia (Rubio et al., 2017; Leslie et al., 2017). Rodríguez-Trejo et al., (2019a), encontraron en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla, en *Dasyllirion lucidum* Rose, un menor número de semillas kg^{-1} (141 615), mayor peso en 1000 semillas (7.08 g) y mayor viabilidad (74 %) respecto de los datos encontrados en el presente estudio. Esta variación puede deberse a que son plantas silvestres dioicas (plantas masculinas y femeninas), con polinización libre y cruzada (Reyes-Valdés et al., 2012), lo que genera una diversidad en cantidad y tamaños de las semillas.

Las semillas puras presentaron color café claro, apariencia de llenas, superficie lisa y consistencia firme; sin residuos de frutos, semillas de color negro, plegadas o rugosas, incompletas, dañadas o perforadas por plagas y sin patógenos. Los valores más bajos de pureza se encontraron para SA, estas no cumplieron con el estatus fitosanitario, debido a que presentó semillas con ataques de plagas, plegadas y de color negro. Ante

un estrés ambiental, una estrategia clave para que la mayoría de las semillas sobrevivan el mayor tiempo posible, es alcanzar un estado desecado para limitar su actividad metabólica, lo que necesariamente conduce al estrés oxidativo y, por lo tanto, a la senescencia (Kranner et al., 2010; Nagel et al., 2015), lo cual podría explicar las semillas plegadas y de color negro. El resultado, indica que la especie es vulnerable a los ataques de plagas, o a los agentes externos de su medio ambiente. Debido a que la germinación y el vigor, son las características importantes relacionadas con la calidad fisiológica de las semillas y el vigor depende de su genética, madurez, condición ambiental en su crecimiento, tamaño, peso, deterioro, envejecimiento y sanidad (la pureza de la semilla indica daño mecánico o ataque de patógenos), una calidad aprobada en la semilla garantiza buenos rendimientos (Morales-Santos et al., 2017; ISTA, 2019). Además, otro aspecto es el tamaño y la madurez del embrión, ya que debe tener el vigor para lograr romper el endocarpio (Lin et al., 2022). Por consiguiente, las semillas que obtuvieron los indicadores más altos de la calidad física (peso, pureza, viabilidad y humedad), proyectaron una mayor potencia germinativa.

El análisis de semillas viables arrojó un 25 % en SA, dando como resultado 15 semillas viables y los 85 restantes resultaron sin embrión y no viables, lo que representa un problema para su reproducción; comparado con Nx la cual rebasó el 50 % de viabilidad, aun después de un año de resguardo, pero se observó una tinción más tenue comparadas con las nuevas. SJ obtuvo 70 semillas viables, lo que indican mayores posibilidades de germinación debido a que la mayoría de semillas analizadas resultaron en viables. Las muestras presentaron valores bajos de humedad, con intervalos de

variación de un 4 % a un 10 %, las de Nx mostraron el valor más bajo, lo que es atribuido al almacenamiento de esta, durante un año a temperatura ambiente.

Cuadro 7. Indicadores de calidad de semillas de cucharilla (*Dasyilirion* spp.) procedentes de la Mixteca oaxaqueña.

Sitios	Peso de 1000 semillas (g)	Número de semillas kg ⁻¹	Pureza (%)	Viabilidad (%)	Humedad (%)
Sn Andrés	1.82±0.01	549 450	35±1.56	25±3.53	7±2.84
Sn Jerónimo	5.28±0.01	189 393	88±2.73	70±5.09	10±1.50
Nochixtlán	3.52±0.008	284 090	50±3.02	45±4.13	4±0.99

Las medias se acompañan ± el error estándar. Los valores son promedios de 100 frutos.

4.6.2 Indicadores de vigor

Los análisis (Cuadro 8) de varianza indicaron que la temperatura y el método de secado presentaron diferencias altamente significativas ($p \leq 0.01$) en relación a la potencia germinativa. También se observó una interacción significativa entre el sitio y la temperatura. La triple interacción, sitio por temperatura y método de secado mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Durante el proceso germinativo, las fuentes de variación aplicadas sobre el fruto no afectaron significativamente ($p > 0.05$) el comportamiento del inicio de germinación, periodo de energía y velocidad de las semillas.

Cuadro 8. Resumen del análisis de varianza para indicadores de vigor en semillas de *Dasyilirion*.

Fuente de variación	GL	Días de germinación (DAG) [†]	Periodo de energía (PE)	Velocidad germinativa (VG) [†]	Índice de velocidad de germinación (IVG) [†]	Potencia germinativa (PG) [†]
-----Cuadrados medios-----						
Sitio	2	36.12 ^{ns}	559.84 ^{ns}	292.74 ^{ns}	857.12 ^{ns}	4.5902 ^{ns}
Temp	2	13.45 ^{ns}	37.04 ^{ns}	31.52 ^{ns}	0.40 ^{ns}	0.0003 ^{**}

Metsec	1	18.15 ^{ns}	77.06 ^{ns}	12.60 ^{ns}	18.36 ^{ns}	0.0001 ^{**}
Sitioxtemp	4	5.14 ^{ns}	23.13 ^{ns}	16.01 ^{ns}	11.74 ^{ns}	0.0013 ^{**}
Sitioxmetsec	2	22.40 ^{ns}	3.51 ^{ns}	13.00 ^{ns}	33.05 ^{ns}	0.1087 ^{ns}
Sitioxtempxmetsec	3	5.65 ^{ns}	4.03 ^{ns}	3.32 ^{ns}	48.31 ^{ns}	0.0334 [*]
Error	60	9.70	30.86	17.58	6.75	0.006
Total	74					

Temp=temperatura; Metsec=método de secado; ^{ns} = valores de F no significativos ($p > 0.05$); *valores de F significativos ($p \leq 0.05$), **valores de F altamente significativos ($p \leq 0.01$). Datos transformados $^{\dagger} \log_{10}(\sqrt{(x + 1)})$

4.6.3 Efecto de los factores

Las semillas recolectadas en los diversos sitios presentaron diferencia estadística ($p \leq 0.05$) en la potencia germinativa (PG) e índice de velocidad de germinación (IVG); este índice expresa la velocidad en número de semillas germinadas por día, por tanto, a mayor IVG, mayor es la velocidad y el vigor de la semilla. Como SJ obtuvo el mayor valor, por lo tanto, son las semillas con mayor vigor (11.63), seguidas de Nx (2.7) y por último SA (0.85). La mayor potencia germinativa la alcanzó un 85 % de germinación en SJ, 70 % más que las semillas de Nochixtlán y se encontró un porcentaje más bajo en semillas de SA (5 %). Los resultados de calidad y germinación en la muestra de SA, se pueden deber a las condiciones ambientales (He et al., 2014) estresantes y baja precipitación, característico de la Mixteca oaxaqueña (CONAGUA, 2022), con lo cual se reduce el número y tamaño de las semillas, y por ende, la reducción del vigor, ya que afectan directamente a la planta madre durante el desarrollo de la semilla (Eshel et al., 2022; Renard et al., 2021). A pesar de eso, la calidad fisiológica de las semillas ya formadas no se ven afectada, (Castañeda et al., 2006), lo que podría explicar el 5 % de germinación en las semillas procedentes en SA (5 %).

El período de energía (PE), es un indicador que comprende el número de días desde la siembra hasta que la germinación alcanza su valor máximo. El PE de la muestra de SJ y Nx evidenció una diferencia estadística ($p \leq 0.05$) en comparación con las semillas de SA. Estas últimas presentaron un PE de 11 días y obtuvieron una tasa de germinación promedio del 5 %, lo cual indica el número máximo de semillas que pueden germinar. Asimismo, el inicio anticipado de la germinación en SA (3 dds), y menor PE y VG; es el resultado de semillas de bajo peso, viabilidad, pureza y humedad; a diferencia de la capacidad alcanzada en semillas de SJ de mayor calidad. No hubo una diferencia estadística entre el PE y VG ($p \leq 0.05$) entre las semillas de SJ y Nx, atribuido a que presentaron un peso mayor (3.52 g) y una viabilidad más alta (45 %) en comparación con SA (Cuadro 7). El método de aplicación de calor al que se expusieron estimuló de manera significativa ($p \leq 0.05$) la germinación, lo cual resultó en un inicio acelerado de la germinación. Es importante destacar que el método sin calor artificial presentó un retardo al iniciar la germinación (5 dds), en comparación con el uso de calor en estufa y arena, al tercer y cuarto día después de la siembra (dds). No se observaron diferencias significativas en los indicadores evaluados al modificar la temperatura y el método de secado (Cuadro 9).

El método de aplicación de calor al que se sometieron, estimuló la velocidad de germinación y con ello el inicio de la germinación significativamente ($p \leq 0.05$), es decir, el método sin calor artificial fue más aletargado (5 días a germinación), mientras que secado en estufa y secado en arena iniciaron al tercer y cuarto días después de la siembra. La temperatura y el método de secado no mostraron diferencias significativas sobre los indicadores evaluados (Cuadro 9). Puesto que, un factor importante para la

germinación es la temperatura, su influencia va depender de la especie y el tipo de latencia. La aplicación de calor moderado o un choque térmico es un factor eficiente para eliminar la latencia de la cubierta, ya que reduce la impermeabilidad y estimula la germinación, sobre todo cuando es física (Vazquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1982; Zuloaga-Aguilar et al., 2011; Ren & Bai, 2017; Ya-Fei et al., 2022).

Cuadro 9. Indicadores de vigor en semillas de *Dasyllirion* agrupadas en función de los factores, sitio de recolección, temperatura y método de secado.

Factores	Indicadores				
	Días a germinación	Periodo de energía (Días)	Velocidad de germinación (Días)	Índice de velocidad de germinación	Potencia germinativa (sg/ss)
Sitio					
San Andrés	3.24±4.2 b	11.04±6.2 b	4.52±5.3 b	0.60±1.0 c	0.05±0.06 c
San Jerónimo	5.04±0.9 a	14.04±2.7 a	11.0±1.8 a	11.63±4.2 a	0.85±0.1 a
Nochixtlán	5.52±3.2 a	12.20±6.3 a	9.56±4.3 a	2.71±3.0 b	0.15±0.09 b
Temperatura					
25 °Cx21 días	5.73±3.5 a	11.93±7.7 a	9.84±5.9 a	4.90±6.4 a	0.35±0.3 a
40 °Cx35 min	4.53±3.3 a	9.33±6.6 a	7.39±4.7 a	5.11±6.0 a	0.35±0.3 a
58 °Cx4 min	4.10±2.8 a	10.80±6.0 a	8.63±4.5 a	4.90±5.1 a	0.35±0.3 a
Método de secado					
Sin calor artif	5.73±3.5 a	11.93±7.7 a	9.84±5.9 a	4.90±6.4 a	0.35±0.3 a
Calart_estufa	4.86±4.1 b	8.93±6.1 a	7.55±5.0 a	4.45±5.9 a	0.35±0.4 a
Calart_arena	3.76±1.4 b	11.2±6.4 a	8.47±4.2 a	5.56±5.1 a	0.36±0.3 a

Calart=calor artificial. Letras distintas en la misma columna y dentro de cada sistema representan diferencias significativas (Duncan, 0.05). La media se acompaña \pm la desviación estándar.

4.6.4 Respuesta del régimen térmico en la germinación de semillas procedentes de San Jerónimo

Los procesos metabólicos de la germinación incluyen el crecimiento y la diferenciación de células del embrión, de esta manera agotan sus reservas del endospermo, un buen contenido de reservas promueve una exitosa germinación y emergencia (Bidwell, 1979;

Celis-Velazquez et al., 2010). Es por eso que un peso y tamaño menor de las semillas, puede afectar de manera negativa para alcanzar la germinación y emergencia, debido a la disminución de esta reserva (Celis-Velazquez et al., 2010). De ahí que, las semillas de SJ con valores más altos en calidad analizados, alcanzaron la mayor potencia germinativa, mediante el tratamiento de aplicación de calor en estufa a los 58 °C por 4 min, con el 96 % a los 15 días, comparado, con lo que reporta Rodríguez-Trejo et al (2019) de 94.3 % a los 14 días. En segundo lugar, lo mostró el Se40°Cx35 min con 90 % de germinación en 17 días. Contrariamente, al método de aplicación en arena, con una germinación de 87 % en 17 días, con la temperatura de 40°Cx35 min. La temperatura de 58°Cx4 min disminuyó la germinación, ya que solo germinó el 66 % en 18 días. El porcentaje de germinación en las semillas obtenidas sin la aplicación de calor artificial (25°C), fue del 87 % a los 18 días; 9 % menos que el tratamiento Se58°Cx4 min y requirió 3 días más (Figura 4). Las diferentes adaptaciones ecológicas y fisiológicas a los requisitos de temperatura bajo las condiciones en cada forma de vida, puede jugar un papel ante la respuesta de temperaturas en la germinación (Rojas-Aréchiga & Orozco-Segovia, 1998).

El método de aplicación de calor artificial por estufa, aumentó la germinación, y el método en arena lo disminuyó; en la temperatura a 58 °Cx4 min la redujo un 30 %, comparado con la aplicación vía estufa. A pesar de que la remoción sin calor y la aplicación en arena a 40°Cx35 min fueron similares, esta última, facilitó considerablemente la extracción de las semillas gracias a la deshidratación del fruto. Como el endospermo y los embriones tienen diferentes respuestas a las altas temperaturas, los tiempos prolongados a temperaturas superiores a la óptima, inhibe la germinación de semillas (Yan et al., 2014),

lo que pudo causar el método de aplicación en arena, el cual afectó la germinación a una temperatura de 58°Cx4 min, y redujó un 30 % la germinación comparado con la aplicación en estufa.

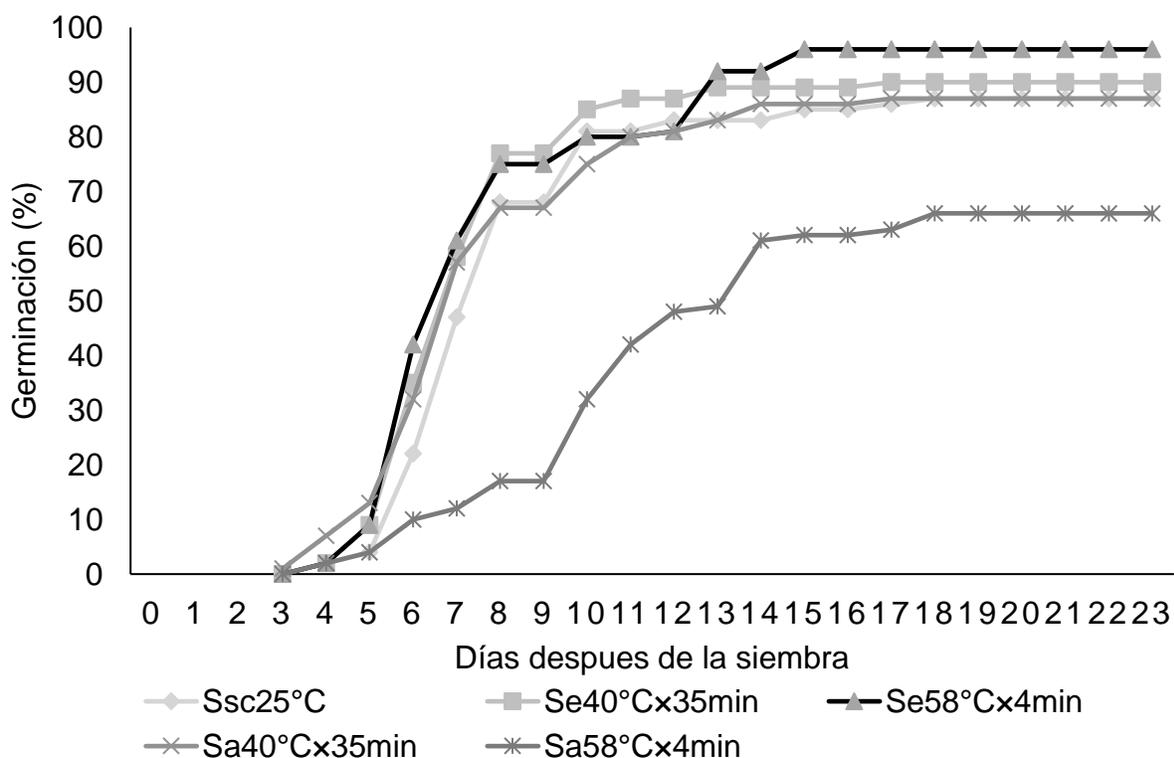


Figura 4. Curvas de germinación de semillas de *Dasyliiron* (spp.) procedentes de San Jerónimo, por tratamientos. Ss=secado sin calor artificial; Se= secado en estufa; Sa= secado en arena; dos temperaturas (40-58°C) – tiempo (35-4 min).

La especie *Dasyliiron* ha desarrollado adaptaciones como respuesta a ambientes hostiles y versátiles e incluso tolerancia al fuego (Rodríguez-Trejo et al., 2019b). La encapsulación de la semilla en paredes de frutos (pericarpio), tiene funciones protectoras y de dispersión en muchas familias de plantas (Huss & Gierlinger, 2021) y podría estar relacionado con una respuesta de adaptación que han desarrollado las semillas de esta especie, ante el medio ambiente semiárido en donde habitan. De manera que la cubierta dura sirve como

protección. Lo que podría estar relacionado con que las temperaturas no afectaron significativamente el inicio, el periodo energía y la velocidad de las semillas.

Las condiciones ambientales utilizadas para inducir la germinación y la morfología básica de la semilla pueden permitir la clasificación de la latencia de la semilla, se consideran semillas ortodoxas cuando son viables con un 5-10 % de contenido de humedad (FAO, 2019). Los indicadores de calidad fueron alterados por el tiempo de resguardo de las semillas (Nx), ya que fueron afectadas de manera negativa por el envejecimiento de las semillas. El tiempo de longevidad está influenciada por la estructura de la semilla, su influencia genética o ambiental y se adquiere durante la maduración de las semillas. Además, estas semillas están relacionadas a ambientes áridos cálidos erosivos, donde las semillas pueden permanecer secas gracias a los intervalos irregulares de lluvias, (Probert et al., 2009; Pellizzaro et al., 2020) mientras tengan procesos metabólicos lentos, principalmente debido al bajo contenido de agua y oxígeno (Lambers et al., 2008), lo suficientes para un crecimiento exitoso posterior; lo cual podría estar beneficiando en las semillas de Nx después de un año de resguardo; debido a que los resultados indican que las semillas sobrevivieron hasta un contenido de humedad del 4 %, después de un año de almacenamiento, expuestas a la temperatura ambiente, como resultado, las semillas de esta especie parecen tener un comportamiento de almacenamiento ortodoxo. Además, de que puede deberse a la capacidad de las semillas silvestres para sobrevivir y germinar en condiciones ambientales adversas, y las propiedades de protección en las sus semillas (pericarpio) durante el almacenamiento (Morales-Santos et al., 2017; Huss & Gierlinger, 2021).

4.7 Conclusión

Las semillas de SJ fueron las que obtuvieron mayor calidad con base al peso de 1000 semillas (5.28 g), pureza (88 %), viabilidad (70 %) y humedad (10 %). Los indicadores de vigor mostraron diferencias entre los sitios de recolección. Las semillas de SJ mostraron mayor velocidad germinativa e índice de velocidad de germinación y porcentaje germinativo. Para la obtención del 96 % de germinación en 15 días en las semillas de SJ, fue necesario la aplicación de calor en la estufa a 58 °C por 4 minutos, además la temperatura alteró la estructura física y resistencia mecánica, deshidratando la cubierta de la semilla lo cual facilitó su remoción, acortó el tiempo medio de germinación y afectó positivamente el porcentaje de germinación, comparado con el tratamiento sin aplicación de calor artificial. Las semillas de un año de almacenamiento a temperatura ambiente procedentes de Asunción de Nochixtlán, sobrevivieron hasta un contenido de humedad del 4 %, lo que podría indicar un comportamiento de almacenamiento ortodoxo.

4.8 Bibliografía

- Bai, B., Peviani, A., van der Horst, S., Gamm, M., Snel, B., Bentsink, L., & Hanson, J. (2017). Extensive translational regulation during seed germination revealed by polysomal profiling. *New Phytologist*, 214(1), 233–244. <https://doi.org/10.1111/nph.14355>
- Bidwell, R.G.S. (1979). Reproducción sexual en las plantas superiores. *In: Fisiología Vegetal. Editorial AGT S.A., México.* 2a. edición pp.444-457.
- Castañeda Saucedo, Ma. C., Córdova Téllez, L., González Hernández, V. A., Delgado Alvarado, A., Santacruz Varela, A., & García de los Santos, G. (2006). Respuestas fisiológicas, rendimiento y calidad de semilla en frijol sometido a estrés hídrico. *Interciencia*, 31(6), 461–466. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000600015&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Celis-Velázquez, R., Peña-Valdivia, C. B., y Luna-Cavazos, M. A. R. J. R. (2010). Caracterización morfológica de las semillas y consumo de reservas durante la

emergencia de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado. *Rev. Fac. Agron.*, 27, 61–87.

Comisión Nacional Forestal (CONABIO) (2004). *Inventario nacional forestal y de suelos*. (Consultado: 11/04/2023). <https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Inventario-Nacional-Forestal-y-de-Suelos.pdf>

Comisión Nacional Forestal (CONABIO). (2022). *taxa_EncicloVida*. <https://enciclovida.mx/>

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2022). Normales Climatológicas por Estado. <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/normales-climatologicas-por-estado> Fecha de consulta 21 diciembre del 2023.

Czabator, F.J. (1962) Germination Value: An Index Combining Speed and Completeness of Pine Seed Germination. *Forest Science*, 8, 386-396.

Duarte, J. & Martínez Alvarado, A. (2019). El manual del sotol. Ed. Mixlab. Chihuahua, Chihuahua. 42 p.

Doria, J. (2010). Generalidades sobre las Semillas: Su Producción, Conservación y Almacenamiento. *Cultivos Tropicales* 31 (1): 74–85. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(98\)00035-X](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(98)00035-X) .

Eshel, G., Duppen, N., Wang, G., Oh, D. H., Kazachkova, Y., Herzyk, P., Amtmann, A., Gordon, M., Chalifa-Caspi, V., Oscar, M. A., Bar-David, S., Marshall-Colon, A., Dassanayake, M., & Barak, S. (2022). Positive selection and heat-response transcriptomes reveal adaptive features of the Brassicaceae desert model, *Anastatica hierochuntica*. *New Phytologist*, 236(3), 1006–1026. <https://doi.org/10.1111/nph.18411>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2019). Materiales para capacitación en semillas-Módulo 6: Almacenamiento de semillas. Roma. <http://www.fao.org/publications/es>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (1983). Recolección, manipuleo, almacenaje y pre-tratamiento de las semillas de *Prosopis* en América Latina. *Universidad de Arizona Tucson, Arizona*. <https://www.fao.org/3/q2180s/Q2180S00.htm#TOC>

He, H., De Souza Vidigal, D., Basten Snoek, L., Schnabel, S., Nijveen, H., Hilhorst, H., & Bentsink, L. (2014). Interaction between parental environment and genotype affects plant and seed performance in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 65(22), 6603–6615. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru378>

Haeckel, I. B. (2008). The “Arco Floral”: ethnobotany of *Tillandsia* and *Dasyilirion* spp. in a Mexican religious adornment. *Economic Botany*, 62(1), 90-95.

- Hernández-Quintero J D, Reyes-Valdés M H, Mendoza-Rodríguez D V, Gómez-Martínez M, & Rodríguez-Herrera R. (2015). Estudio de los cromosomas mitóticos y meióticos del sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.). *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 84, 107–112.
- Huss, J. C., & Gierlinger, N. (2021). Functional packaging of seeds. In *New Phytologist* (Vol. 230, Issue 6, pp. 2154–2163). <https://doi.org/10.1111/nph.17299>
- ISTA (2019). International Rules for Seed Testing. <https://www.seedtest.org/en/publications/international-rules-seed-testing.html>
- Kranner, I., Minibayeva, F. V., Beckett, R. P., & Seal, C. E. (2010). What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist*, 188 (3). 655–673. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03461.x>
- Lambers, H., Chapin, F. S., & Pons, T. L. (2008). Plant physiological ecology: Second edition. In *Plant Physiological Ecology: Second Edition* Springer New York. 604 pp. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-78341-3>
- Leslie, A. B., Beaulieu, J. M., & Mathews, S. (2017). Variation in seed size is structured by dispersal syndrome and cone morphology in conifers and other nonflowering seed plants. *New Phytologist*, 216(2), 429–437. <https://doi.org/10.1111/nph.14456>
- Lin, L., Cai, L., Fan, L., Ma, J. C., Yang, X. Y., & Hu, X. J. (2022). Seed dormancy, germination and storage behavior of *Magnolia sinica*, a plant species with extremely small populations of Magnoliaceae. *Plant Diversity*, 44(1), 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2021.06.009>
- Maguire D. J. (1962). Speed of germination aid in selection and evaluation for seed-ling emergence and vigor. pp. 176–177.
- Morales-Santos, M. E., Peña-Valdivia, C. B., García-Esteva, A., Aguilar-Benítez, G., Kohashi-Shibata, J., Potosí, L., & responsable, A. (2017). Características físicas y de germinación en semillas y plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre, domesticado y su progenie. *AGROCIENCIA*, 51, 43–62.
- Nagel, M., Kranner, I., Neumann, K., Rolletschek, H., Seal, C. E., Colville, L., Fernández-Marín, B., & Börner, A. (2015). Genome-wide association mapping and biochemical markers reveal that seed ageing and longevity are intricately affected by genetic background and developmental and environmental conditions in barley. *Plant Cell and Environment*, 38(6), 1011–1022. <https://doi.org/10.1111/pce.12474>
- Nakagawa, (1999). Teste de vigor baseados no desempenho das plântulas. Cap. 2 de Vigor de sementes: conceitos e testes. Ed. Abrates. Londrina, P. R Brasil.pp.1-24.

- NOM-059-SEMARNAT (Norma Oficial Mexicana). (2010). Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Secretaría de Medio Ambiente. Diario Oficial.
- Pellizzaro, A., Neveu, M., Lalanne, D., Ly Vu, B., Kanno, Y., Seo, M., Leprince, O., & Buitink, J. (2020). A role for auxin signaling in the acquisition of longevity during seed maturation. *New Phytologist*, 225(1), 284–296. <https://doi.org/10.1111/nph.16150>
- Probert, R. J., Daws, M. I., & Hay, F. R. (2009). Ecological correlates of ex situ seed longevity: A comparative study on 195 species. *Annals of Botany*, 104(1), 57–69. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp082>
- Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA) (2020). El sotol y la pata de elefante, especies protegidas por la ley. Recuperado el 19 de Diciembre de 2022, de <https://www.gob.mx/profepa/articulos/el-sotol-y-la-pata-de-elefante-especies-protegidas-por-la-ley?idiom=es#:~:text=Ha%20sido%20utilizada%20desde%20hace,con%20tronco%20elevado%20o%20recostado.>
- Renard, J., Martínez-Almonacid, I., Queralt Castillo, I., Sonntag, A., Hashim, A., Bissoli, G., Campos, L., Muñoz-Bertomeu, J., Niños, R., Roach, T., Sánchez-León, S., Ozuna, C. V., Gadea, J., Lisón, P., Kranner, I., Barro, F., Serrano, R., Molina, I., & Bueso, E. (2021). Apoplastic lipid barriers regulated by conserved homeobox transcription factors extend seed longevity in multiple plant species. *New Phytologist*, 231(2), 679–694. <https://doi.org/10.1111/nph.17399>
- Ren, L., & Bai, Y. (2017). Burning Modifies Composition of Emergent Seedlings in Fescue Prairie. *Rangeland Ecology and Management*, 70(2), 230–237. <https://doi.org/10.1016/j.rama.2016.08.013>
- Reyes-Valdés, M.H., Benavides-Mendoza A., Ramírez-Rodríguez, H., Villarreal-Quintanilla, J.A. (2012). Biología e importancia del sotol (*Dasyilirion* spp). Parte I: sistemática, genética y reproducción. *Planta* 7: 11-13. <https://www.researchgate.net/publication/257139619>
- Reyes-Valdés H., M., Palacios, R., Rivas-Martínez, E. N., Robledo-Olivo, A., Antonio-Bautista, A., Valdés-Dávila, C. M., Villarreal-Quintanilla, J. Á., & Benavides-Mendoza, A. (2019). The Sustainability of Mexican Traditional Beverage Sotol: Ecological, Historical, and Technical Issues. *Processing and Sustainability of Beverages* 103–137. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815259-1.00004-5>
- Rodríguez-Trejo, D. A., García Pascual, E., Quiahua Barrera, L. y Reyes Valdovinos, E. Y. (2019a). Germinación de semillas de *Dasyilirion lucidum* Rose y *Beaucarnea gracilis* Lemaire de matorral xerófilo. *Entreciencias: Diálogos En La Sociedad Del Conocimiento*, 7(20). <https://doi.org/10.22201/enesl.20078064e.2019.20.68365>

- Rodríguez-Trejo, D. A., Pausas, J. G., & Miranda-Moreno, A. G. (2019b). Plant responses to fire in a Mexican arid shrubland. *Fire Ecology*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s42408-019-0029-9>
- Rojas-Aréchiga, M., Vázquez-Yanes, C., & Orozco-Segovia, A. (1998). Seed response to temperature of Mexican cacti species from two life forms: an ecophysiological interpretation. *Plant Ecology*, (135).
- Rubio C., R., Willis, C. G., Pearse, W. D., Baskin, C. C., Baskin, J. M., & Cavender, B., J. (2017). Global biogeography of seed dormancy is determined by seasonality and seed size: a case study in the legumes. *New Phytologist*, 214(4), 1527–1536. <https://doi.org/10.1111/nph.14498>.
- SAS Software de Análisis Estadístico. (2013). Manual de usuario Estadísticas Versión 9.4. Instituto SAS Inc., Cary.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2015). Sotol, bebida célebre del desierto. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/sotol-bebida-celebre-del-desierto-orgullo-demexico>
- Vázquez-Yanes, C. and Orozco-Segovia, A. (1982), Seed germination of a tropical rain forest pioneer tree (*Heliocarpus donnell-smithii*) in response to diurnal fluctuation of temperature. *Physiologia Plantarum*, 56: 295-298. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1982.tb00341.x>
- Ya-Fei, S., Shan-Heng, S., Ying-Sha, J., & Jia, L. (2022). A global synthesis of fire effects on soil seed banks. *Global Ecology and Conservation*, 36. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2022.e02132>
- Yan, D., Duermeyer, L., Leoveanu, C. & Nambara, E. (2014). The functions of the endosperm during seed germination. *Plant and Cell Physiology*, 55 (9),1521–1533. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu089>
- Zuloaga-Aguilar, S., Briones, O., & Orozco-Segovia, A. (2011). Seed germination of montane forest species in response to ash, smoke and heat shock in Mexico. *Acta Oecologica*, 37(3), 256–262. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2011.02.009>

CAPITULO V

CONCLUSIONES GENERALES

La planta recolectada en San Jerónimo presentó las mejores características, con un eje floral de 3.33 m de longitud y 2.0 m en la inflorescencia, con 150 racimos y 594 frutos por racimo, produciendo un total de 89 100 frutos, los cuales pesaron 673 g, con 50% de frutos vacíos. La correlación de las variables morfológicas mostró que la longitud de la inflorescencia, se incrementa cuando aumenta la longitud del eje floral, y presentan un mayor número de racimos por planta, con un número de frutos por racimo más alto, y como consecuencia, un incremento del peso de frutos por planta. El color predominante fue el rojo purpura y verde amarillento, presentaron textura lisa al tacto en todas las variantes evaluadas, y tendieron a una forma esférica. Los frutos de mayor tamaño fueron las procedentes de Nx, seguidos de SJ y por último los de SA; además, estos últimos fueron los de menor peso (0.6 g) y como consecuencia obtuvieron el mayor número de fruto kg^{-1} (146 563); los frutos de SJ fueron los más pesados (2.2 g), con el menor número de fruto kg^{-1} (46 420).

Las semillas de SJ fueron las de mejor calidad con base al peso de 1000 semillas (5.28 g), pureza (88 %), viabilidad (70 %) y humedad (10 %). Además, los indicadores de vigor mostraron diferencias entre los tres sitios de recolección; las semillas de SJ mostraron mayor porcentaje germinativo, velocidad germinativa e índice de velocidad de germinación. Para la obtención del 96 % de germinación en 15 días en las semillas de SJ, fue necesario la aplicación de calor artificial en la estufa a 58 °C por 4 minutos, además, se observó un cambio en la estructura física y resistencia mecánica, deshidratando la cubierta de la semilla lo cual facilitó su remoción. Las semillas de un año de almacenamiento a temperatura ambiente procedentes de Asunción de Nochixtlán, sobrevivieron hasta un contenido de humedad del 4 %, lo que podría indicar un comportamiento de almacenamiento ortodoxo en *Dasyllirion*.

CAPITULO VI

RECOMENDACIONES

Las recomendaciones para trabajos posteriores son, realizar recolecciones en la Mixteca en los meses de agosto a noviembre, revisando la madurez del fruto antes de realizar la recolección, además, de revisar que sean frutos sanos y de plantas madre en condiciones aptas, sin daños físicos, para garantizar la germinación. Los frutos solo podrán resguardarse máximo seis meses para mantener su viabilidad, ya que posterior a este tiempo su germinación disminuye. Para liberar la semilla de los frutos se recomienda someterlos a una temperatura de 58 °C durante cuatro minutos, posteriormente resguardarlas en frascos en lugares secos para evitar que absorban la humedad del ambiente, además de esto, en el momento de su germinación, es recomendable una temperatura constante de 25 °C para asegurar un porcentaje mayor al 90 %, y es necesario tener en cuenta aspectos como la edad de la semilla, la madurez en el momento de la cosecha y las condiciones de almacenamiento.

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Aboulaich, N., Achmakh, L., Bouziane, H., Trigo, M. M., Recio, M., Kadiri, M., Cabezudo, B., Riadi, H. & Kazzaz, M. (2013). Effect of meteorological parameters on Poaceae pollen in the atmosphere of Tetouan (NW Morocco). *International Journal of Biometeorology*, 57(2), 197–205. <https://doi.org/10.1007/s00484-012-0566-2>
- Alonso, C., Herrera, C. M. & Ashman, T. L. (2012). A piece of the puzzle: A method for comparing pollination quality and quantity across multiple species and reproductive events. *New Phytologist*, 193(2), 532–542. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03932.x>
- Arshad, W., Sperber, K., Steinbrecher, T., Nichols, B., Jansen, V. A. A., Leubner-Metzger, G. & Mummenhoff, K. (2019). Dispersal biophysics and adaptive significance of dimorphic diaspores in the annual *Aethionema arabicum* (Brassicaceae). *New Phytologist*, 221(3), 1434–1446. <https://doi.org/10.1111/nph.15490>
- Augspurger, C. K., Franson, S. E., Cushman, K. C. & Muller-Landau, H. C. (2016). Intraspecific variation in seed dispersal of a Neotropical tree and its relationship to fruit and tree traits. *Ecology and Evolution*, 6(4), 1128–1142. <https://doi.org/10.1002/ece3.1905>
- Bai, B., Peviani, A., van der Horst, S., Gamm, M., Snel, B., Bentsink, L., & Hanson, J. (2017). Extensive translational regulation during seed germination revealed by polysomal profiling. *New Phytologist*, 214(1), 233–244. <https://doi.org/10.1111/nph.14355>
- Baskin, C. C. (2003). Breaking physical dormancy in seeds - Focussing on the lens. *In New Phytologist*, 158 (2), 229–232. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00751.x>

- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14(1), 1–16. <https://doi.org/10.1079/ssr2003150>
- Bidwell, R.G.S. (1979). Reproducción sexual en las plantas superiores. *In: Fisiología Vegetal. Editorial AGT S.A., México. 2a. edición pp.444-457.*
- Bogler, D. J. (1994). Taxonomy and phylogeny of *Dasyilirion* (Nolinaceae). *Doctoral dissertation, University of Texas at Austin, Austin, USA.* pp.583.
- Bykova, O., Limousin, J. M., Ourcival, J. M. & Chuine, I. (2018). Water deficit disrupts male gametophyte development in *Quercus ilex*. *Plant Biology*, 20(3), 450–455. <https://doi.org/10.1111/plb.12692>
- Cano-Pineda, A., Martínez-Burciaga, O. U., Reyes, C. A. B., Villavicencio-Gutiérrez, E. E., & Castillo-Quiroz, D. (2011). Guía para la evaluación de existencias de sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.) en poblaciones naturales del Estado de Coahuila.
- Carrizo-García, C., Nepi, M. & Pacini, E. (2017). It is a matter of timing: asynchrony during pollen development and its consequences on pollen performance in angiosperms—a review. *Protoplasma*, 254(1), 57–73. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-0950-6>
- Castañeda Saucedo, Ma. C., Córdova Téllez, L., González Hernández, V. A., Delgado Alvarado, A., Santacruz Varela, A., & García de los Santos, G. (2006). Respuestas fisiológicas, rendimiento y calidad de semilla en frijol sometido a estrés hídrico. *Interciencia*, 31(6), 461–466. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000600015&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Celis-Velázquez, R., Peña-Valdivia, C. B., y Luna-Cavazos, M. A. R. J. R. (2010). Caracterización morfológica de las semillas y consumo de reservas durante la emergencia de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado. *Rev. Fac. Agron.*, 27, 61–87.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2022). Normales Climatológicas por Estado. <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/normales-climatologicas-por-estado> Fecha de consulta 21 diciembre del 2023.
- Comisión Nacional Forestal (CONABIO) (2004). *Inventario nacional forestal y de suelos.* (Consultado: 11/04/2023). <https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Inventario-Nacional-Forestal-y-de-Suelos.pdf>
- Comisión Nacional Forestal (CONABIO). (2022). *taxa_EncicloVida.* <https://enciclovida.mx/>
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) (2004). *Inventario nacional forestal y de suelos.* <https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Inventario-Nacional-Forestal-y-de-Suelos.Pdf>

- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). (2022). taxa_EncicloVida. <https://enciclovida.mx/>
- Dahlgren, R. y Bremer, K. (1985). Principales clados de las angiospermas. *Cladística*, 1 (4), 349-368.
- Czabator, F.J. (1962) Germination Value: An Index Combining Speed and Completeness of Pine Seed Germination. *Forest Science*, 8, 386-396.
- Díaz-Martínez, M., Nava-Cedillo, A., Guzmán-López, J. A., Escobar-Guzmán, R. y Simpson, J. (2012). Polymorphism and methylation patterns in *Agave tequilana* Weber var. 'Azul' plants propagated asexually by three different methods. *Plant Science*, (186), 321-330. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.01.004>.
- Doria, J. (2010). Generalidades sobre las Semillas: Su Producción, Conservación y Almacenamiento. *Cultivos Tropicales* 31 (1): 74–85. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(98\)00035-X](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(98)00035-X).
- Duarte, J. & Martínez Alvarado, A. (2019). El manual del sotol. Ed. Mixlab. Chihuahua, Chihuahua. 42 p.
- Duarte, M. J. y Alvarado, A. (2019). El manual del sotol. *Editorial. Mixlab, Chihuahua, Chihuahua*. 42 p.
- Eshel, G., Duppen, N., Wang, G., Oh, D. H., Kazachkova, Y., Herzyk, P., Amtmann, A., Gordon, M., Chalifa-Caspi, V., Oscar, M. A., Bar-David, S., Marshall-Colon, A., Dassanayake, M. & Barak, S. (2022). Positive selection and heat-response transcriptomes reveal adaptive features of the Brassicaceae desert model, *Anastatica hierochuntica*. *New Phytologist*, 236(3), 1006–1026. <https://doi.org/10.1111/nph.18411>
- Estrada Murrieta Oscar, Hernández Saldaña Baldemar, Olivero Hernández Ana María, Martínez Salvador Martín, Moreno Lozano Luis Antonio, & Coronado Domínguez Hugo A. (2019). Estudio de la Cuenca de Abasto Coyame julimes Chihuahua, Mex.
- Finch-Savage, W. E. & Footitt, S. (2017). Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. *Journal of Experimental Botany*. 68(4), 843–856. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw477>
- Finch-Savage, W. E. & Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, 171(3), 501–523. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x>
- Francisco-Francisco, N., García-Osuna, T. H., Benavides-Mendoza, A., Hernández-Juárez, A., & Ramírez-Godina, F. (2016). Morfología y anatomía foliar de *Dasyliiron*

cedrosanum en diferentes etapas de desarrollo. *Rev. Mex. Cienc. Agríc*, 7, 1679–1687.

Frisk, C. A., Apangu, G. P., Petch, G. M., Creer, S., Hanson, M., Adams-Groom, B. & Skjøth, C. A. (2023). Microscale pollen release and dispersal patterns in flowering grass populations. *Science of the Total Environment*, (880),163345. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163345>

Gan, S. R., Guo, J. C., Zhang, Y. X., Wang, X. F. & Huang, L. J. (2022). “Phoenix in Flight”: an unique fruit morphology ensures wind dispersal of seeds of the phoenix tree (*Firmiana simplex* (L.) W. Wight). *BMC Plant Biology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03494-z>

Graeber, K., Nakabayashi, K., Miatton, E., Leubner-Metzger, G., & Soppe, W. J. (2012). Molecular mechanisms of seed dormancy. *Plant, cell & environment*, 35(10), 1769–1786. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02542.x>

Grivet, D., Sebastiani, F., González-Martínez, S. C. & Vendramin, G. G. (2009). Patterns of polymorphism resulting from long-range colonization in the Mediterranean conifer *Aleppo pine*. *New Phytologist*, 184(4), 1016–1028. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03015.x>

Haeckel, I. B. (2008). The “Arco Floral”: ethnobotany of *Tillandsia* and *Dasyllirion* spp. in a Mexican religious adornment. *Economic Botany*, 62(1), 90-95.

He, H., De Souza Vidigal, D., Basten Snoek, L., Schnabel, S., Nijveen, H., Hilhorst, H., & Bentsink, L. (2014). Interaction between parental environment and genotype affects plant and seed performance in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 65(22), 6603–6615. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru378>

Hernández-Quintero J D, Reyes-Valdés M H, Mendoza-Rodríguez D V, Gómez-Martínez M, & Rodríguez-Herrera R. (2015). Estudio de los cromosomas mitóticos y meióticos del sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.). *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 84, 107–112.

Hormaza, J. I. & Herrero, M. (1995). El polen como individuo interactivo. *Unidad de Fruticultura*, 7, 5-18.

Huang, H., Ye, R., Qi, M., Li, X., Miller, D. R., Stewart, C. N., Dubois, D. W. & Wang, J. (2015). Wind-mediated horseweed (*Conyza canadensis*) gene flow: Pollen emission, dispersion, and deposition. *Ecology and Evolution*, 5(13), 2646–2658. <https://doi.org/10.1002/ece3.1540>

Hu, X.W., Wang, Y.R. and Wu, Y.P. (2009). Effects of the pericarp on imbibition, seed germination, and seedling establishment in seeds of *Hedysarum scoparium* Fisch. et Mey. *Ecol. Res.*, 24: 559-564. <https://doi.org/10.1007/s11284-008-0524-y>

- Huss, J. C. & Gierlinger, N. (2021). Functional packaging of seeds. *New Phytologist*, 230(6), 2154–2163. <https://doi.org/10.1111/nph.17299>
- IMPI, (2002). Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. Declaración de protección a la denominación de origen sotol. <https://www.gob.mx/impi/acciones-y-programas/declaraciones-generales-de-proteccion-de-denominaciones-de-origen>. Fecha de consulta: 25 septiembre 2022.
- ISTA (2019). International Rules for Seed Testing. <https://www.seedtest.org/en/publications/international-rules-seed-testing.html>
- Jimenez-Torres, J. A., Peña-Valdivia, C. B., Padilla-Chacon, D., & Garcia-Nava, R. (2021). Physiological and biochemical responses of *Agave* to temperature and climate of their native environment. *Flora*, 278, 151797. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151797>
- Johnson, M. T. J., Smith, S. D. & Rausher, M. D. (2010). Effects of plant sex on range distributions and allocation to reproduction. *New Phytologist*, 186(3), 769–779. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03201.x>
- Kranner, I., Minibayeva, F. V., Beckett, R. P., & Seal, C. E. (2010). What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist*, 188 (3). 655–673. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03461.x>
- Lambers, H., Chapin, F. S., & Pons, T. L. (2008). Plant physiological ecology: Second edition. In *Plant Physiological Ecology: Second Edition* Springer New York. 604 pp. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-78341-3>
- Lambers, H.; Chapin III, S. F.; pons, L. T. 1998. Plant physiology ecology. *Springer. Verlag New York*. P. 548.
- Leslie, A. B., Beaulieu, J. M. & Mathews, S. (2017). Variation in seed size is structured by dispersal syndrome and cone morphology in conifers and other nonflowering seed plants. *New Phytologist*, 216(2), 429–437. <https://doi.org/10.1111/nph.14456>
- Lin, L., Cai, L., Fan, L., Ma, J. C., Yang, X. Y., & Hu, X. J. (2022). Seed dormancy, germination and storage behavior of *Magnolia sinica*, a plant species with extremely small populations of Magnoliaceae. *Plant Diversity*, 44(1), 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2021.06.009>
- Maguire D. J. (1962). Speed of germination aid in selection and evaluation for seed-ling emergence and vigor. pp. 176–177.
- Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M. y Heredia, F. J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*,

54(2), 209-215. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200011&lng=es&tlng=es.

Melgoza Castillo, A. y Sierra Tristán, J. S. (2020). Contribución al conocimiento y distribución de las especies de *Dasyllirion* spp. (Sotol) en Chihuahua, México. *Revista Mexicana De Ciencias Forestales*, 28(93), 25–40.

Morales-Santos, M. E., Peña-Valdivia, C. B., García-Esteva, A., Aguilar-Benítez, G., Kohashi-Shibata, J., Potosí, L., & responsable, A. (2017). Características físicas y de germinación en semillas y plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre, domesticado y su progenie. *AGROCIENCIA*, 51, 43–62.

Moreno, J. C. & Al-Babili, S. (2023). ¿Are carotenoids the true colors of crop improvement? *New Phytologist*, 237(6), 1946–1950. <https://doi.org/10.1111/nph.18660>

Munsell. (2012). Munsell planta tissue color Book with genuine Munsell color chips. 4300 44th Street. Grand Rapids MI 49512.

Nagel, M., Kranner, I., Neumann, K., Rolletschek, H., Seal, C. E., Colville, L., Fernández-Marín, B., & Börner, A. (2015). Genome-wide association mapping and biochemical markers reveal that seed ageing and longevity are intricately affected by genetic background and developmental and environmental conditions in barley. *Plant Cell and Environment*, 38(6), 1011–1022. <https://doi.org/10.1111/pce.12474>

Najeeb, U., Tan, D. K. Y., Sarwar, M. & Ali, S. (2019). Adaptation of crops to warmer climates: Morphological and physiological mechanisms. *In Sustainable Solutions for Food Security: Combating Climate Change by Adaptation*, 38(6), 1011–1022. <https://doi.org/10.1111/pce.12474>

Nakagawa, (1999). Teste de vigor baseados no desempenho das plântulas. Cap. 2 de Vigor de sementes: conceitos e testes. *Ed. Abrates. Londrina*, P. R Brasil. pp.1-24.

Nathan, R., Schurr, F. M., Spiegel, O., Steinitz, O., Trakhtenbrot, A. & Tsoar, A. (2008). Mechanisms of long-distance seed dispersal. *Trends in Ecology and Evolution*, 23 (11), 638–647. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.08.003>

NOM-059-SEMARNAT (Norma Oficial Mexicana). (2010). Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Secretaria de Medio Ambiente. Diario Oficial.

Novoplansky, A. (2019). What plant roots know?. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, (92), 126–133). <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.03.00>

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2019). Materiales para capacitación en semillas-Módulo 6: Almacenamiento de semillas. Roma. <http://www.fao.org/publications/es>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (1983). Recolección, manipuleo, almacenaje y pre-tratamiento de las semillas de *Prosopis* en América Latina. Universidad de Arizona Tucson, Arizona. <https://www.fao.org/3/q2180s/Q2180S00.htm#TOC>
- Palacios-Romero, A., Rodríguez-Laguna, R., Razo-Zárate, R., & Jiménez-Muñoz, E. (2019). Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento de plántulas de *Dasyliirion acrotrichum* (Schiede) Zucc. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(54). <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i54.495>
- Paulsen, T. R., Colville, L., Kranner, I., Daws, M. I., Högestedt, G., Vandvik, V. & Thompson, K. (2013). Physical dormancy in seeds: A game of hide and seek? *New Phytologist*, 198(2), 496–503. <https://doi.org/10.1111/nph.12191>
- Pellizzaro, A., Neveu, M., Lalanne, D., Ly Vu, B., Kanno, Y., Seo, M., Leprince, O., & Buitink, J. (2020). A role for auxin signaling in the acquisition of longevity during seed maturation. *New Phytologist*, 225(1), 284–296. <https://doi.org/10.1111/nph.16150>
- Penfield S. (2017). Seed dormancy and germination. *Current biology : CB*, 27(17), R874–R878. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.05>
- Pinales-Quero, I., González-Vázquez, V. M., Castillo, F.-R., Aguilar, C. N., Reyes-Valdés, M. H. & Rodríguez-Herrera, R. (2017). Genetic diversity of sotol (*Dasyliirion cedrosanum* Trel.) at different elevations. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 4(11), 201. <https://doi.org/10.19136/era.a4n11.941>
- Probert, R. J., Daws, M. I., & Hay, F. R. (2009). Ecological correlates of ex situ seed longevity: A comparative study on 195 species. *Annals of Botany*, 104(1), 57–69. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp082>
- Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA) (2020). El sotol y la pata de elefante, especies protegidas por la ley. <https://www.gob.mx/profepa/articulos/el-sotol-y-la-pata-de-elefante-especies-protegidas-por-la-ley?idiom=es#:~:text=Ha%20sido%20utilizada%20desde%20hace,con%20tronco%20elevado%20o%20recos>tado.
- Rajjou, L., M. Duval, K. Gallardo, J. Catusse, J. Bally, C. Job, and D. Job. (2012). Seed germination and vigour. *Annual Review of Plant Biology* 63:507-33. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105550>
- Rajjou, L., Belghazi, M., Catusse, J., Ogé, L., Arc, E., Godin, B., Chibani, K., Ali-Rachidi, S., Collet, B., Grappin, P., Jullien, M., Gallardo, K., Job, C., & Job, D. (2011). Proteomics and posttranslational proteomics of seed dormancy and germination.

Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 773, 215–236.
https://doi.org/10.1007/978-1-61779-231-1_14

Ren, L., & Bai, Y. (2017). Burning Modifies Composition of Emergent Seedlings in Fescue Prairie. *Rangeland Ecology and Management*, 70(2), 230–237.
<https://doi.org/10.1016/j.rama.2016.08.013>

Renard, J., Martínez-Almonacid, I., Queralt Castillo, I., Sonntag, A., Hashim, A., Bissoli, G., Campos, L., Muñoz-Bertomeu, J., Niñosles, R., Roach, T., Sánchez-León, S., Ozuna, C. V., Gadea, J., Lisón, P., Kranner, I., Barro, F., Serrano, R., Molina, I., & Bueso, E. (2021). Apoplastic lipid barriers regulated by conserved homeobox transcription factors extend seed longevity in multiple plant species. *New Phytologist*, 231(2), 679–694. <https://doi.org/10.1111/nph.17399>

Renoult, J. P., Valido, A., Jordano, P. & Schaefer, H. M. (2014). Adaptation of flower and fruit colours to multiple, distinct mutualists. *New Phytologist*, 201(2), 678–686.
<https://doi.org/10.1111/nph.12539>

Reyes-Valdés H., M., Palacios, R., Rivas-Martínez, E. N., Robledo-Olivo, A., Antonio-Bautista, A., Valdés-Dávila, C. M., Villarreal-Quintanilla, J. Á., & Benavides-Mendoza, A. (2019). The Sustainability of Mexican Traditional Beverage Sotol: Ecological, Historical, and Technical Issues. *Processing and Sustainability of Beverages* 103–137. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815259-1.00004-5>

Reyes-Valdes, H., M., Palacios, R., Rivas-Martínez, E. N., Robledo-Olivo, A., Antonio-Bautista, A., Valdés-Dávila, C. M., Villarreal-Quintanilla, J. Á. & Benavides-Mendoza, A. (2019). The Sustainability of Mexican Traditional Beverage Sotol: Ecological, Historical, and Technical Issues. *Processing and Sustainability of Beverages*, 103–137. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815259-1.00004-5>

Reyes-Valdés, M. H., Benavides-Mendoza, A. & Villarreal-Quintanilla, J. A. (2012). Biología e importancia del sotol (*Dasyllirion* spp.). Parte I: sistemática, genética y reproducción. *Planta*, 7, 11-13.
<https://www.researchgate.net/publication/257139619>

Rodríguez-Trejo, D. A. E., García-Pascual., E., Quiahua-Barrera, L. y Reyes- Valdovinos, E.Y. (2021). *Dasyllirion lucidum* Rose (Aspagaseae). In: Rodríguez-Trejo, D. A. (Coord.). Semillas de Especies Forestales. *División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de Méx.* pp. 88-94.

Rodríguez-Trejo, D. A., García Pascual, E., Quiahua Barrera, L. y Reyes Valdovinos, E. Y. (2019a). Germinación de semillas de *Dasyllirion lucidum* Rose y *Beaucarnea gracilis* Lemaire de matorral xerófilo. *Entreciencias: Diálogos En La Sociedad Del Conocimiento*, 7(20). <https://doi.org/10.22201/enesl.20078064e.2019.20.68365>

- Rodríguez-Trejo, D. A., Pausas, J. G., & Miranda-Moreno, A. G. (2019b). Plant responses to fire in a Mexican arid shrubland. *Fire Ecology*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s42408-019-0029-9>
- Rodríguez-Vásquez, M. E., Rodríguez-Ortiz, G., Enríquez-Del Valle, J. R., Velasco-Velasco, V. A. & Ramírez-Sánchez, S. E. (2017). Caracterización y escarificación de semillas de *Bursera glabrifolia* Kunth colectadas de diferentes árboles semilleros. *CIENCIA Ergo-Sum*, 25(2), 1–16.
- Rojas-Aréchiga, M., Vázquez-Yanes, C., & Orozco-Segovia, A. (1998). Seed response to temperature of Mexican cacti species from two life forms: an ecophysiological interpretation. *Plant Ecology*, (135).
- Rubio C., R., Willis, C. G., Pearse, W. D., Baskin, C. C., Baskin, J. M., & Cavender, B., J. (2017). Global biogeography of seed dormancy is determined by seasonality and seed size: a case study in the legumes. *New Phytologist*, 214(4), 1527–1536. <https://doi.org/10.1111/nph.14498>.
- Rubio de Casas, R., Willis, C. G., Pearse, W. D., Baskin, C. C., Baskin, J. M. & Cavender-Bares, J. (2017). Global biogeography of seed dormancy is determined by seasonality and seed size: a case study in the legumes. *New Phytologist*, 214(4), 1527–1536. <https://doi.org/10.1111/nph.14498>
- SAS Software de Análisis Estadístico. (2013). Manual de usuario Estadísticas Versión 9.4. Instituto SAS Inc., Cary.
- Sami, A., Riaz, M. W., Zhou, X., Zhu, Z., & Zhou, K. (2019). Alleviating dormancy in Brassica oleracea seeds using NO and KAR1 with ethylene biosynthetic pathway, ROS and antioxidant enzymes modifications. *BMC plant biology*, 19(1), 577. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2118-y>
- Schermer, É., Bel-Venner, M. C., Gaillard, J. M., Dray, S., Boulanger, V., Le Roncé, I., Oliver, G., Chuine, I., Delzon, S. & Venner, S. (2020). Flower phenology as a disruptor of the fruiting dynamics in temperate oak species. *New Phytologist*, 225(3), 1181–1192. <https://doi.org/10.1111/nph.16224>
- Seale, M. & Nakayama, N. (2020). From passive to informed: mechanical mechanisms of seed dispersal. *New Phytologist*, 225(2), 653–658. <https://doi.org/10.1111/nph.16110>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2015). Sotol, bebida célebre del desierto. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/sotol-bebida-celebre-del-desierto-orgullodemexico>
- Sierra-Tristán, J. S. y Mendoza-Castillo, A. (2005). Contribución al conocimiento y distribución de las especies de *Dasyliirion* spp. (Sotol) en Chihuahua, México. *Rev. Ciencia Forestal en México*, (28),93.

- Sierra Tristán J. Santos, Lara Macías R. Carlos, Carrillo Romo Regina, Mendoza Castillo Alicia, Morales Nieto Carlos, & Royp Márquez H. Mario. (2008). Los sotoles (*Dasyilirion* spp) Chihuahua. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícola y Pecuarías*, 20, 1–30.
- Smith, S. M. & Weller, J. L. (2020). Seasonal control of seed germination. *New Phytologist*, 225(5), 1821–1823. <https://doi.org/10.1111/nph.16254>
- Sudheeran, P. K., Ovadia, R., Galsarker, O., Maoz, I., Sela, N., Maurer, D., Feygenberg, O., Oren Shamir, M. & Alkan, N. (2020). Glycosylated flavonoids: fruit's concealed antifungal arsenal. *New Phytologist*, 225(4), 1788–1798. <https://doi.org/10.1111/nph.16251>
- Tropicos. (2022). Jardín Botánico de Misuri. 30 de julio de 2023 <https://tropicos.org>
- Valbuena, L., Vera, M. (2002). The effects of thermal scarification and seed storage on germination of four heathland species. *Plant Ecology* 161, 137–144 <https://doi.org/10.1023/A:1020387819222>
- Vázquez Díaz, Erasmo, García Nava, J. Rodolfo, Peña Valdivia, Cecilia B., Ramírez Tobías, Hugo M., & Morales Ramos, Victorino. (2011). Tamaño de la semilla, emergencia y desarrollo de la plántula de maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). *Revista fitotecnia mexicana*, 34(3), 167-173.
- Vázquez-Yanes, C. and Orozco-Segovia, A. (1982), Seed germination of a tropical rain forest pioneer tree (*Heliocarpus donnell-smithii*) in response to diurnal fluctuation of temperature. *Physiologia Plantarum*, 56: 295-298. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1982.tb00341.x>
- Volis, S. & Bohrer, G. (2013). Joint evolution of seed traits along an aridity gradient: Seed size and dormancy are not two substitutable evolutionary traits in temporally heterogeneous environment. *New Phytologist*, 197(2), 655–667. <https://doi.org/10.1111/nph.12024>
- Warren, J. & Mackenzie, S. (2001). Why are all colour combinations not equally represented as flower-colour polymorphisms?. *New Phytologist*, 151, 231–241.
- Wessinger, C. A. (2021). From pollen dispersal to plant diversification: genetic consequences of pollination mode. *New Phytologist*, 229(6), 3125–3132. <https://doi.org/10.1111/nph.17073>
- Ya-Fei, S., Shan-Heng, S., Ying-Sha, J., & Jia, L. (2022). A global synthesis of fire effects on soil seed banks. *Global Ecology and Conservation*, 36. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2022.e02132>

- Yan, D., Duermeyer, L., Leoveanu, C. & Nambara, E. (2014). The functions of the endosperm during seed germination. *Plant and Cell Physiology*, 55 (9),1521–1533. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu089>
- Yang, Y. Z., Zhang, R., Gao, R. H., Chai, M. W., Luo, M. X., Huang, B. H. & Liao, P. C. (2021). Heterocarpy diversifies diaspore propagation of the desert shrub *Ammopiptanthus mongolicus*. *Plant Species Biology*, 36(2), 198–207. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12308>
- Zuloaga-Aguilar, S., Briones, O., & Orozco-Segovia, A. (2011). Seed germination of montane forest species in response to ash, smoke and heat shock in Mexico. *Acta Oecologica*, 37(3), 256–262. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2011.02.009>