



ACUMULACIÓN DE MINERALES Y CARBOHIDRATOS Y SU RELACIÓN CON LA MACRO Y MICRO MORFOLOGÍA DE *Dasyilirion cedrosanum* TREL. †

[MINERAL AND CARBOHYDRATE ACCUMULATION AND THEIR RELATIONSHIP WITH MACRO- AND MICRO MORPHOLOGY OF *Dasyilirion cedrosanum* TREL.]

Emir Lenin Serafin-Higuera¹, M. Humberto Reyes-Valdés²,
Hermila Trinidad García-Osuna², América Berenice Morales-Díaz³,
José Ángel Villarreal-Quintanilla⁴, Julia Medrano-Macias⁵,
Guillermina Barrientos-Rivera¹ and Adalberto Benavides-Mendoza*⁵

¹Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Autopista Tlaxcala-San Martín Texmelucan km 10.5, C.P. 90120, Ixtacuixtla, Tlaxcala, México. Email: emirlenin.1015@gmail.com, guimagic.16@gmail.com

²Departamento de Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro No. 1923, C.P. 25315, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Email: mathgenome@gmail.com, hgosuna@hotmail.com

³Robótica y Manufactura Avanzada, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional - Unidad Saltillo. Avenida Industria Metalúrgica 1062, C.P. 25900, Parque Industrial, Ramos Arizpe, Coahuila, México. Email: abmoralesd@gmail.com

⁴Departamento de Botánica, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro No. 1923, C.P. 25315, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Email: javillarreal00@hotmail.com

⁵Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro No. 1923, C.P. 25315, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Email: jmedmac@gmail.com, abenmen@gmail.com.

*Corresponding author

SUMMARY

Background. *Dasyilirion cedrosanum* Trel. is used to produce sotol, which has had an increase in its production. In view of this, producers are interested in establishing monocultures to mitigate its overexploitation. The lack of information on the ecophysiology of the plant hinders these measures. **Objective.** To analyze and associate the carbohydrate content, the micromorphological and macromorphological characters, and the mineral components of the stem and leaf of *D. cedrosanum*. **Methodology.** Leaf and stem tissue samples were collected from 10 plants in San Lorenzo, General Cepeda and Buenavista in Coahuila. Fructose, glucose, starch and mineral contents were determined, and macro and micromorphological character data were collected. Analysis was performed by ANOVA and Pearson's correlation. **Results.** Fructose content was higher in the stem and starch in the leaf. Plants from Buenavista presented a higher concentration of carbohydrates and minerals, and had the highest values for macromorphological characters. Micromorphological characters did not show significant differences. Correlations indicated a negative association of Cu and Pb with carbohydrates and micromorphology. In contrast, K, P and Mg were positively associated. **Conclusions.** Different conditions at each locality influenced macromorphology and concentrations of minerals, glucose starch and fructose. **Implications.** The information obtained is the basis for the establishment and management of nursery plants.

Key words: Adaptation to arid environments; arid zone plant ecophysiology; carbohydrate content; mineral concentration; agronomic management; sotol production.

† Submitted March 13, 2025 – Accepted June 21, 2025. <http://doi.org/10.56369/tsaes.6243>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = E.L. Serafin-Higuera: <https://orcid.org/0000-0001-9742-7526>; M.H. Reyes-Valdés: <https://orcid.org/0000-0002-5376-1108>; H.T. García-Osuna: <https://orcid.org/0000-0002-7123-4168>; A.B. Morales-Díaz: <https://orcid.org/0000-0003-1450-3664>; J.Á. Villarreal-Quintanilla: <https://orcid.org/0000-0001-9672-8693>; J. Medrano-Macias: <https://orcid.org/0000-0003-3585-3575>; G. Barrientos-Rivera: <https://orcid.org/0000-0003-4499-5989>; A. Benavides-Mendoza: <https://orcid.org/0000-0002-2729-4315>

RESUMEN

Antecedentes. *Dasyliirion cedrosanum* Trel. se utiliza para elaborar sotol, el cual ha tenido un aumento en su producción. Ante esto, los productores están interesados en establecer monocultivos para mitigar su sobreexplotación. La falta de información sobre la ecofisiología de la planta dificulta estas medidas. **Objetivo.** Analizar y asociar el contenido de carbohidratos, los caracteres micromorfológicos y macromorfológicos, y los componentes minerales del tallo y hoja de *D. cedrosanum*. **Metodología.** Se colectaron muestras de tejido foliar y de tallo a 10 plantas en San Lorenzo, General Cepeda y Buenavista en Coahuila. Se determinó el contenido de fructosa, glucosa, almidón y minerales, y se tomaron datos de caracteres macro y micromorfológicos, el análisis se realizó mediante un ANOVA y una correlación de Pearson. **Resultados.** El contenido de fructosa fue mayor en el tallo y el almidón en la hoja. Las plantas de Buenavista presentaron una mayor concentración en carbohidratos y minerales, y tuvieron los valores más altos de los caracteres macromorfológicos. Los caracteres micromorfológicos no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Las correlaciones indicaron una asociación negativa del Cu y Pb con los carbohidratos y la micromorfología. En cambio, el K, P y Mg se asociaron positivamente. **Conclusiones.** Las diferentes condiciones de cada localidad influyeron en la macromorfología y en las concentraciones de minerales, glucosa almidón y fructosa. **Implicaciones.** La información obtenida es base para el establecimiento y manejo de las plantas en vivero. **Palabras clave:** Adaptación a ambientes áridos; ecofisiología de plantas de zonas áridas; contenido de carbohidratos; concentración de minerales; manejo agronómico; producción de sotol.

INTRODUCCIÓN

D. cedrosanum es un recurso valioso para los habitantes de las zonas áridas y semiáridas de México, debido a su potencial para su industrialización como bebida alcohólica, ya que tiene una calidad similar al tequila y al mezcal (Reyes-Valdés *et al.*, 2019). De acuerdo con Madrid-Solorzano *et al.* (2021) la producción de sotol ha tenido una demanda creciente, ya que esta industria crece a una tasa promedio del 5% anual y se estima que su producción es de unos 5 200 hl (520 000 L) al año.

Las poblaciones silvestres de *D. cedrosanum* se utilizan como materia prima para fabricar una bebida alcohólica denominada “sotol”. Sin embargo, el aumento en la producción de esta bebida ha ocasionado una recolección indiscriminada de estas plantas, lo cual ha provocado una disminución en las poblaciones poniendo en riesgo a la especie (Benavides-Mendoza *et al.*, 2023). Ante esta situación, los fabricantes de la bebida se han interesado en la posibilidad de producir sotol como monocultivo en escala industrial y en el establecimiento de plantaciones en vivero, lo que permitiría contar con materia prima para garantizar la producción en un futuro y mitigar la sobreexplotación de las poblaciones naturales de esta especie (Flores-Gallegos *et al.*, 2019, Flores y Castro, 2024). En el año 2002, el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) le otorgó la denominación de origen al estado de Coahuila como productor sotol. En este sentido, el establecimiento de monocultivos y la producción de sotol a una escala mayor aún es incipiente.

D. cedrosanum tradicionalmente ha servido de sustento para los habitantes de las zonas áridas y semiáridas de México, a pesar de ello, el proceso de domesticación es aún un tema pendiente (Cano *et al.*, 2011). Una de las principales razones es la escasa información básica acerca de la ecofisiología de la

planta; dichos conocimientos podrían facilitar el manejo y establecimiento adecuado de los monocultivos (Ishfaq *et al.*, 2022). Motivo por el cual, las aportaciones a la información sobre la biología del sotol, como el contenido de carbohidratos, los caracteres histológicos y la densidad estomática son fundamentales, ya que participan en conjunto en varios procesos fisiológicos como la fotosíntesis, el metabolismo del carbono y el transporte de fotosintatos, que impactan en el crecimiento y desarrollo de la planta dado que, inciden en el rendimiento de biomasa fermentable y en la producción de la bebida (Twalla *et al.*, 2021). Por otra parte, un análisis completo de los minerales ayuda a identificar las deficiencias o excesos que la planta pueda tener, ya que los procesos metabólicos están ligados a la absorción y asimilación de minerales y a las condiciones ambientales en las que se encuentren (Therby-Vale *et al.*, 2022). Por esta razón, la información del contenido mineral de *D. cedrosanum* brindaría información complementaria útil para su manejo agronómico.

El contenido de los carbohidratos es variable según la etapa del desarrollo de las plantas y las condiciones ambientales en las que crecen. Estas variaciones influyen en el desempeño de funciones fisiológicas tales como: el metabolismo energético, formación de compuestos orgánicos y de almacenamiento y, moléculas de señalización esenciales para el funcionamiento del metabolismo durante el desarrollo de las plantas (Bhadwal y Sharma, 2022). Reyes-Valdés y Cázares (2022) mencionan que el conocimiento del contenido de carbohidratos es fundamental, porque permite establecer estrategias para aumentar la biomasa fermentable en *D. cedrosanum*.

Considerando lo anterior, el objetivo de esta investigación fue analizar y asociar el contenido de

carbohidratos, los caracteres micromorfológicos y macromorfológicos, y los componentes minerales del tallo y hoja de *D. cedrosanum*. La información obtenida abonará en la comprensión de los procesos fisiológicos de la planta y su posible utilidad para el establecimiento de monocultivos; siendo éste el propósito del estudio, ya que *D. cedrosanum* es importante por su valor cultural como símbolo de identidad regional, su importancia económica para las comunidades productoras y su potencial para el desarrollo sostenible de la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el estado de Coahuila, comprendió las siguientes localidades: 1) San Lorenzo municipio de Saltillo “25° 20' 17.8" N y 100° 59' 11.7" O, altitud 1,948 msnm”, esta localidad presenta un tipo de roca sedimentaria del cenozoico cuaternario, el área de muestreo se caracteriza por conglomerados (INEGI, 1988), con un clima Árido semicálido (BSohw), en donde predomina una temperatura entre 18 y 22°C, el mes más frío es menor de 18°C y, la temperatura del mes más cálido es mayor de 22°C; hay lluvias de verano y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual (INEGI, 1989). La unidad edafológica es de tipo Leptosol, es un tipo de suelo delgado y pedregoso, caracterizado por tener una profundidad limitada generalmente menor de 25 cm (INEGI, 2007). La vegetación que la caracteriza es un bosque de pino (INEGI, 2000). 2) Buenavista municipio de Saltillo “25° 20' 56.8" N y 101° 01' 42.1" O, altitud 1,799 msnm” es una localidad que presenta una geología principalmente aluvial, es decir, son depósitos formados por corrientes de agua, lo que deja una importante estratificación de sus sedimentos (INEGI, 1988). El suelo es de tipo Xerosol cálcico, propio de una acumulación importante de carbonato de calcio (INEGI, 2007). El uso del suelo y vegetación es principalmente una zona urbana (INEGI, 2000), con un clima Árido semicálido (BSohw), en donde predomina una temperatura entre 18 y 22°C, el mes más frío es menor de 18°C y, la temperatura del mes más cálido es mayor de 22°C; hay lluvias de verano y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual (INEGI, 1989). 3) General Cepeda municipio de General Cepeda “25° 22' 54.8" N y 101° 27' 08.0" O, altitud 1,466 msnm” presenta una formación geológica sedimentaria, constituida por lutitas y arenisca Ks(luar) del cretácico superior (INEGI, 1988), caracterizada por un suelo Xerosol háplico, lo que indica que tiene un desarrollo limitado y un horizonte superficial relativamente delgado e importante presencia de carbonato de calcio (INEGI, 2007). El clima que predomina es Semiárido, templado (BS1kw), con temperatura media anual entre 12 y 18°C, el mes más frío entre -3 y 18°C, temperatura del mes más cálido menor de 22°C, con lluvias de verano y porcentaje de lluvia invernal del 5% al 10.2% del total anual (INEGI,

1989), la vegetación es de tipo matorral desértico rosetófilo (INEGI, 2000).

Trabajo de campo y preparación de muestras

La colecta de ejemplares, se realizó a través de recorridos de campo y mediante un muestreo sistemático. Se tomaron muestras de tallo y tejido foliar a diez plantas de *D. cedrosanum*, los criterios de colecta fueron los siguientes: plantas en su forma silvestre y adultas. Se colectaron cuatro hojas con madurez fisiológica que se cortaron desde la base y de la parte media de la corona de la planta. La parte media de una hoja fue cortada y se colocó en una solución ablandadora (25% de glicerina, 25% de alcohol y 25% de agua destilada) durante 15 días a temperatura ambiente, para su posterior análisis histológico. Otra hoja fue utilizada para la determinación de la densidad estomática (Francisco-Francisco *et al.*, 2016). Las restantes dos hojas se guardaron en bolsas etiquetadas. Adicionalmente, de la parte media del tallo se obtuvo una muestra utilizando un sacabocado de 19 mm. Las muestras de tallo y las dos muestras restantes de tejido foliar se deshidrataron en un horno marca Lumistell a 75 °C durante 72 h. Posteriormente, el material deshidratado se pulverizó en un procesador de alimentos marca Oster modelo 450-10.

Determinación de Fructosa

Se utilizó el método de Hizukuri *et al.* (1981), el cual consistió en pesar 1g de las muestras pulverizadas de tejido foliar y de tallo y colocarlo en un matraz, al cual se agregaron 50 mL de agua grado HPLC y se dejaron en baño maría durante 90 min a 70 °C. Posteriormente se filtraron con papel filtro Whatman del N° 1 y se colectaron 10 mL de las muestras en un tubo cónico de 15 mL. Posteriormente se tomaron 2 mL de la muestra colectada y se colocaron en baño maría a 85 °C por dos horas. De esta muestra se midió 1 mL y se le agregó 0.5 mL del reactivo A (32.5 mg KCN + 250 mg Na₂CO₃ en 50 mL del agua destilada) y 0.5 mL del reactivo B (25 mg K₃Fe (CN)₆ en 50 mL de agua destilada). Después se volvió a colocar en baño maría en agua en ebullición por 15 min, se dejó enfriar en agua por 10 min y se le agregó 2.5 mL del reactivo C (75 mg de FeNH₃(SO₄)₂ + 67 µL de H₂SO₄ en 50 mL de agua destilada). Las muestras se dejaron reposar a temperatura ambiente por 20 min y se leyeron en un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis marca Thermo Scientific a 715 nm. La curva de calibración se estandarizó con un estándar de fructosa en un rango de concentraciones de entre 2 y 20 ppm y su preparación se llevó a cabo del mismo modo que las muestras.

Determinación de glucosa

La preparación del extracto para determinar la glucosa se realizó mediante el método de Hizukuri *et al.* (1981). Se pesó 1g de las muestras pulverizadas de tejido foliar y de tallo, se colocaron en un matraz y se agregaron 50 mL de agua grado HPLC, después se colocaron en baño maría durante 90 min a 70 °C y se filtraron con papel filtro Whatman del N° 1. Del filtrado se colectaron 10 mL de las muestras en un tubo cónico de 15 mL. Posteriormente se tomaron 2 mL de la muestra colectada y se colocaron en baño maría a 85 °C por dos horas. Posteriormente a partir de este extracto, se cuantificó la glucosa utilizando el kit comercial Sigma Aldrich GHK-20®, siguiendo las especificaciones del proveedor. La mezcla de reacción fue incubada a temperatura ambiente (18-35 °C) por 15 minutos y fue leída con un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis marca Thermo Scientific a 340 nm en celdillas de plástico.

Determinación de Almidón

De las muestras del tallo y del tejido foliar pulverizado se pesaron 200 mg, se colocaron en etanol al 80% y se mantuvieron en baño maría a 70 °C por 20 min. Posteriormente se eliminó el sobrenadante y la mezcla obtenida se maceró en un mortero, se aforó a 5 mL con agua destilada y se colocó nuevamente en baño maría en agua en ebullición por 10 min. Después se tomaron 2 mL del sobrenadante y se filtró con un filtro pirinola. De la mezcla obtenida se tomó 1 mL y se mezcló con solución lugol. Las muestras se leyeron a una absorbancia de 620 nm en un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis marca Thermo Scientific (Smith y Zeeman, 2006). Los resultados de las concentraciones se registraron y se verificaron a partir de una curva de calibración, esta curva fue preparada a partir de una solución de almidón con una concentración al 0.2%.

Análisis micromorfológico

Las muestras de tejido foliar colocadas en la solución ablandadora se prepararon para el análisis histológico mediante la técnica de la parafina (Hernández, 1990). Esta consistió en colocar las muestras durante 15 días en fijador FAA (formaldehído (36-40%) 5 mL, alcohol etílico al (70%) 90 mL y ácido acético 5 mL) con el propósito de interrumpir los procesos metabólicos de la célula y mantener la estructura del tejido. Posteriormente las muestras se deshidrataron a intervalos de una hora en alcohol al 70%, 85% y 96% y en mezclas de alcohol absoluto-xilol en proporciones 3:1, 1:1 y 1:3. Después las muestras se incluyeron en parafina para proporcionarle firmeza al tejido y facilitar la elaboración de los cortes en el microtomo.

Las muestras se cortaron en un microtomo de rotación marca Leica modelo RM2125 RTS del cual se obtuvieron cortes transversales de 7 µm de grosor y fueron adheridas con el adhesivo Haupt a un portaobjeto. La coloración de los tejidos se realizó con lugol y se basó en la metodología de Hernández (1990) con las siguientes modificaciones: xilol por un tiempo de 5 min, alcohol etílico absoluto, alcohol al 96%, al 85%, al 70% y al 60% por dos minutos cada uno. Agua destilada por dos minutos y la solución con lugol por 20 min.

La observación y la toma de fotografías se realizó con un microscopio (Carl Zeiss Axiostar) con cámara integrada (Moticam 5+, 5.0 MP), del cual se tomaron dos fotografías a 10x y 40x a cada muestra. Las variables que se midieron para los haces vasculares internos fueron: área del haz vascular (AHV.I), tamaño de floema (TF. I), número de células de floema (NCF.I), tamaño de xilema (TX. I), número de células de xilema (NCX.I). Para los haces vasculares externos fueron: área del haz vascular (AHV.E), tamaño de floema (TF. E), número de células de floema (NCF.E), tamaño de xilema (TX. E) y número de células de xilema (NCX.E). Todas las mediciones de las variables se realizaron con el software Axion Vision 4.6.

La preparación de las hojas para determinar la densidad estomática se realizó de la siguiente manera. Se aplicó esmalte acrílico transparente en la superficie foliar de la parte abaxial y adaxial de la hoja de la planta. Una vez que se secó el esmalte se removió utilizando un trozo de cinta adhesiva transparente, la cual se montó sobre un portaobjetos. Las muestras se observaron en un microscopio (Carl Zeiss Axiostar) y con la cámara digital integrada (Moticam 5+, 5.0 MP) se tomaron fotografías a 5x a cada muestra. El análisis de las imágenes se realizó en el Software AxioVision 4.6 y consistió en colocar una escala de referencia a las fotografías de las muestras, para ello, se utilizó un micrómetro de microscopio, para tomar las fotografías a un objetivo de 5x. En el software con la herramienta Scalings se seleccionaron las fotografías y se colocó la escala correspondiente para el análisis de las imágenes de las muestras. Posteriormente, la densidad estomática se determinó a través de un conteo manual el número de estomas que se encontraban en área determina en las imágenes, para ello se utilizó de la siguiente fórmula: $DE = \text{número de estomas} / 0.0225 \text{ mm}^2$ (área delimitada para cada imagen en el programa) = estomas por mm^2 .

Análisis macromorfológico

La medición de los caracteres morfológicos se realizó durante la colecta de campo. La altura del tallo (AT) se calculó con un flexómetro midiendo a partir de la base del suelo hasta donde termina el tallo; en el caso de la altura de la planta (AP) se midió desde la base hasta la

parte alta de la corona; el diámetro de cobertura (DC) se cuantificó en la parte superior de la corona obteniendo dos mediciones perpendiculares del cual se calculó su promedio; y con el apoyo de una forcípula de aluminio modelo Haglof Sweden s-882-00 se midió la planta a partir del eje central para calcular el diámetro del tallo (DT).

También, se tomaron fotografías de cada planta muestreadas. Las fotografías se tomaron en un horario de 11:00 a 13:00 hrs, a un lado de la planta se colocó una escala de referencia con dimensiones de 50 x 20 cm, de la base del tallo de la planta al tripié de la cámara se consideró una distancia de 3 m. Las fotografías se tomaron con una cámara digital marca SONY modelo DSC-W830 de 20.1 mega pixeles, no se seleccionó ningún nivel de acercamiento y se desactivó la opción de flash al momento de la captura.

Posteriormente, las fotografías se analizaron con el programa ImageJ versión 1.52a (Ferreira y Rasband 2018). El procedimiento consistió en calibrar las fotografías, para ello se determinó una medida de referencia, utilizando el comando de selección de líneas rectas (Straight) y con la opción Analyze y Set scale se indicó una distancia de 50 cm (altura de la escala). Las mediciones se realizaron con la herramienta de selección de líneas rectas (Straight). La altura del tallo (AT. ImageJ) se calculó dibujando una línea vertical entre el límite superior del suelo hasta el límite final del tallo. La altura de la planta (AP. ImageJ) se cuantificó trazando una línea vertical en la parte media entre la base de la planta con el límite del suelo hasta la parte más alta de la corona. El diámetro de la cobertura (CR. ImageJ) se estimó partiendo de la parte media de la corona, dibujando una línea horizontal hacia los extremos de las puntas de las hojas. Para el diámetro del tallo (DT. ImageJ) se dibujó una línea horizontal en la parte central. Por último, con la herramienta de polígonos la sección longitudinal (SL. ImageJ) se obtuvo delimitando el contorno de la cobertura foliar. Todas las medidas se obtuvieron utilizando los comandos Analyze y Measure. Las unidades de las variables fueron cm, a excepción de la variable sección longitudinal que se utilizó cm^2 .

Determinación de minerales

Las muestras pulverizadas de tejido foliar y de tallo se utilizaron para llevar a cabo el proceso de digestión, siguiendo las especificaciones de Fick *et al.* (1976). Lo cual consistió en colocar 0.5 g de muestra deshidratada en ácido nítrico al 100 °C. Posteriormente, la solución obtenida se filtró con papel filtro Whatman (N° 42). Los elementos como Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe,

K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Se, Si y Zn se cuantificaron por espectrometría de emisión óptica acoplada a inducción de plasma (ICP-OES marca Perkin Elmer, modelo Optima 8300). La determinación de nitrógeno (N) se realizó mediante el método de Kjeldahl (Horwitz, 1971). Para ello, se colocó 0.5 g de muestra pulverizada en un matraz Kjeldahl y se agregó 3 mL de muestra digestora (25 g de sulfato de potasio, 10 g de óxido de mercurio rojo, solución de ácido sulfúrico al 0.025 N y 25 mL de solución de sulfato de cobre). Posteriormente el matraz fue colocado en un digestor Kjeldahl (marca Labconco) para el proceso de digestión. La solución digerida se enfrió a temperatura ambiente y se colocó en un destilador micro Kjeldahl (marca Prendo) con la finalidad de coleccionar nitrógeno en ácido bórico como amoniaco. Después de este proceso la titulación se realizó mediante una bureta con ácido sulfúrico H_2SO_4 al 0.025 N.

Análisis estadísticos

Se realizó un análisis de varianza y de comparación de medias utilizando la prueba de Tukey ($p < 0.05$) para determinar la presencia de diferencias significativas de las localidades de estudio entre los valores de los caracteres macro y micromorfológicos, minerales y la concentración de carbohidratos. Las asociaciones entre el contenido de carbohidratos, los caracteres macro y micromorfológicos con la composición mineral se llevó a cabo con el análisis de correlación de Pearson, se utilizó la prueba de t ($p < 0.05$) para analizar la significancia de correlación y con la prueba de Shapiro Wilk se analizó la normalidad (Cooksey, 2020). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software R versión 4.1.3 (R Core Team, 2022).

RESULTADOS

Contenido de carbohidratos

De acuerdo con la Figura 1, el contenido de fructosa fue mayor en el tallo, el almidón en la hoja y la concentración de glucosa también fue similar en ambos órganos de la planta. Las muestras de la localidad General Cepeda presentaron un alto contenido de almidón, en cambio las muestras de Buenavista mostraron niveles mayores en fructosa y glucosa. El análisis de varianza indicó que con respecto a el contenido de fructosa en la hoja las muestras de la localidad de Buenavista tuvieron un valor 43% más alto en comparación con la localidad de General Cepeda y del 62% con la localidad de San Lorenzo.

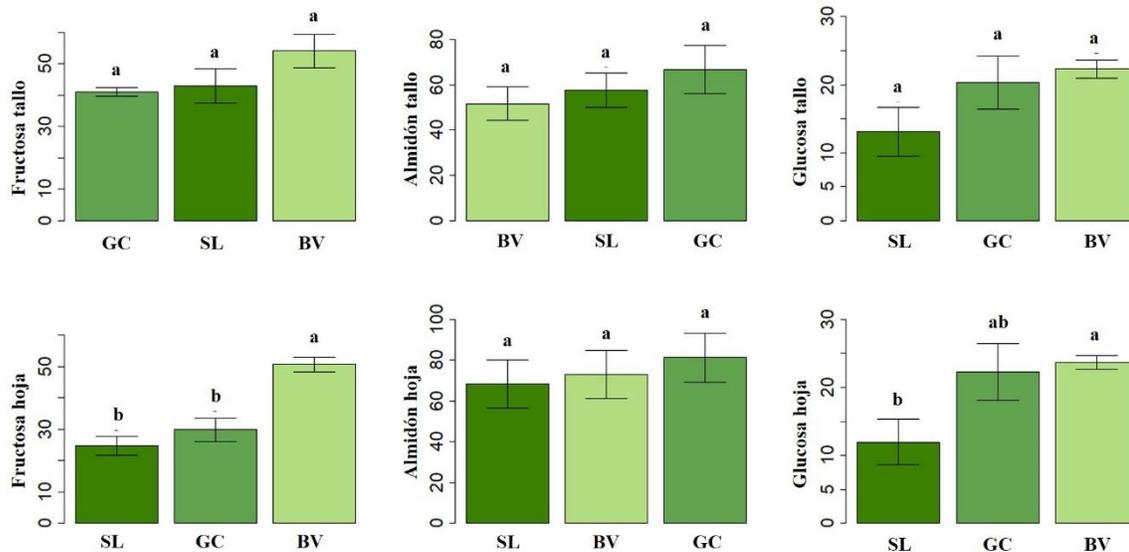


Figura 1. Concentraciones de carbohidratos en el tejido foliar y tallo de *D. cedrosanum* y su comparación por localidad General Cepeda (GC), San Lorenzo (SL) y Buenavista (BV). Las concentraciones de Fructosa y Glucosa están en g/kg y la concentración de almidón en mg/kg. Las letras indican grupos estadísticamente diferentes entre sí y grupos con la misma letra no tiene diferencias significativas. La barra de error representa el valor de desviación estándar.

Macromorfología

Los datos de las variables macromorfológicas (Figura 2), indicaron a Buenavista como la localidad con los valores más altos. Las diferencias significativas de los valores de AP en la localidad de Buenavista tuvieron una diferencia del 14% en comparación con San Lorenzo y del 24% con General Cepeda. De igual manera los datos de las variables CR y CR. ImageJ se diferenciaron con un 22% con la localidad de General Cepeda y 26% con San Lorenzo. Los valores de DT tuvieron una diferencia del 40% en comparación con las localidades de General Cepeda y San Lorenzo. En cambio DT. ImageJ se diferenció con un 28% con San Lorenzo y un 35% con General Cepeda. La variable SL. ImageJ tuvo una diferencia del 30% en comparación con las localidades de San Lorenzo y General Cepeda. Por otra parte, la localidad de General Cepeda se diferenció por presentar valores bajos. Las variables AT y AT. ImageJ tuvieron una diferencia del 60% en comparación con las localidades de San Lorenzo y General Cepeda. La variable AP. ImageJ tuvo una diferencia menor del 24% con Buenavista y del 17% con San Lorenzo.

Micromorfología

La Figura 3, muestra los cortes transversales del tejido foliar de *D. cedrosanum*. Se observan haces vasculares insertos entre el tejido parenquimático y haces vasculares externos en el borde. Además, se logra diferenciar entre el xilema y floema y sus componentes celulares.

El análisis de varianza no mostro diferencias significativas de los valores de medición de los caracteres micromorfológicos entre las localidades de estudio (Figura 4). Sin embargo, el área de los haces vasculares externos (AHV.E) tuvo una diferencia del 87% en comparación con los haces vasculares internos (AHV.I). Otra diferencia fue el tamaño del floema (TF. E) respecto al xilema externo (TX. E), que fueron mayores en un 80% en comparación con el tamaño del floema (TF. I) y del xilema interno (TX. I). Respecto al número de células del floema (NCF. E) y del xilema externo (NCX. E), presentaron una mayor cantidad de células en un 83% y 76% a diferencia del número de células del floema (NCF. I) y del xilema interno (NCX. I) (Figura 4).

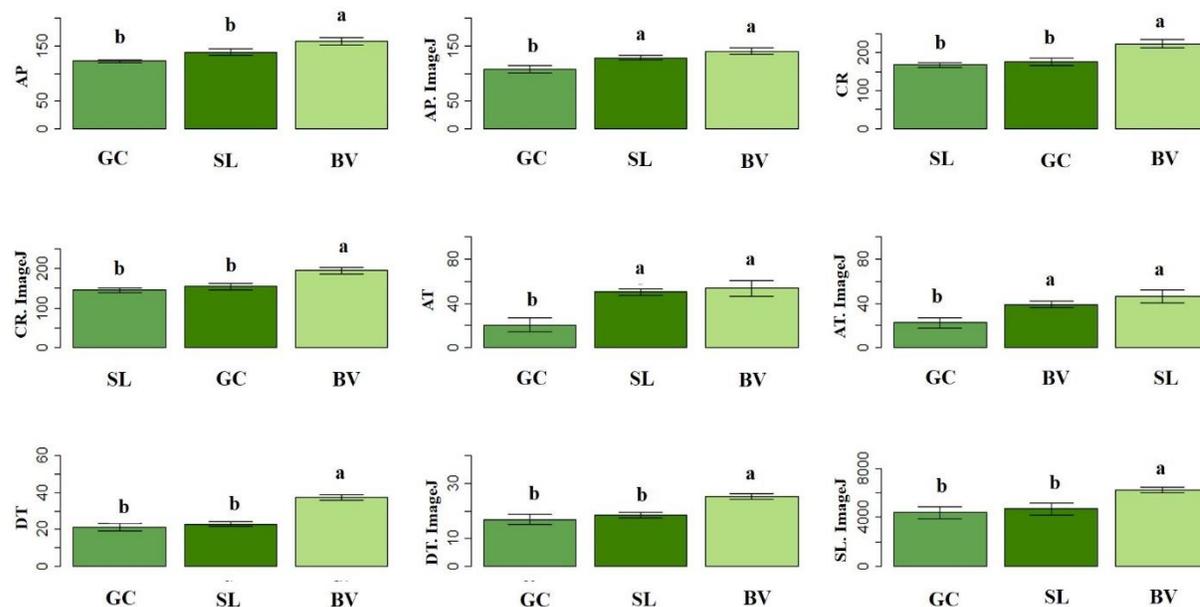


Figura 2. Valores macromorfológicos de las plantas muestreadas y su comparación por localidad de estudio General Cepeda (GC), San Lorenzo (SL) y Buenavista (BV). Las variables altura de la planta (AP), cobertura de roseta (CR), altura del tallo (AT), diámetro de tallo (DT), altura de la planta analizado con el programa ImageJ (AP. ImageJ), cobertura de roseta analizado con el programa ImageJ (CR. ImageJ), altura del tallo analizado con el programa ImageJ (AT. ImageJ) y diámetro del tallo analizado con el programa ImageJ (DT. ImageJ) se encuentran en cm. La variable sección longitudinal analizado con el programa ImageJ (SL. ImageJ) se encuentra en cm². Las letras indican grupos estadísticamente diferentes entre sí y grupos con la misma letra no tiene diferencias significativas. La barra de error representa el valor de desviación estándar.

La comparación entre el tamaño del floema (TF. I) y del xilema interno (TX. I) fue menor, ya que el floema tuvo una diferencia del 13%. En cambio, el tamaño del floema externo (TF. E) fue mayor en un 42% en comparación con el xilema externo (TX. E) (Figura 4).

Los valores de densidad estomática fueron similares en la parte abaxial y adaxial de la planta, el análisis de varianza no mostró diferencias significativas entre las localidades de estudio (Figura 4).

Concentración de minerales

Los macroelementos Ca, K y N tuvieron las concentraciones más altas en toda la planta. En comparación con el tallo, la hoja mostró una mayor concentración de los elementos Cu, K, Mg, Mn, N, Na, P y S, y sólo para el Al, Ba, Ca, Fe y Si se observaron valores mayores en el tallo. Sin embargo, los elementos As, B, Ba, Cd, Cr, Li, Mo, Ni, Pb, Se y Zn presentaron concentraciones similares en toda la planta (Tabla 1).

Tabla 1. Promedio general de los valores de concentración mineral (mg(kg⁻¹)) en el tejido foliar y tallo de *D. cedrosanum*

Mineral	Tallo	Hoja
Al	111±12.6	32.2±2.92
As	1.96±0.007	1.91±0.01
B	9.70±0.05	9.63±0.05
Ba	16.3±3.39	15.4±3.30
Ca	10080±386	8562±561
Cd	0.98±0.003	0.96±0.004
Cr	0.98±0.003	0.96±0.004
Cu	14.34±3.24	52±12.1
Fe	136±13.09	47.7±2.21
K	2701±264	5238±287
Li	4.88±0.01	4.79±0.02
Mg	636±53	735±43.3
Mn	6.07±0.40	14.5±0.92
Mo	1.96±0.006	1.91±0.01
N	7000±108	9800±0.0
Na	31.6±2.13	53±6.60
Ni	1.96±0.007	1.92±0.009
P	53±6.68	220±13.17
Pb	1.96±0.007	1.92±0.009
S	631±29.1	826±41.3
Se	3.49±0.37	3.6±0.32
Si	16.1±1.25	11.78±0.43
Zn	16.03±0.60	15.7±0.56

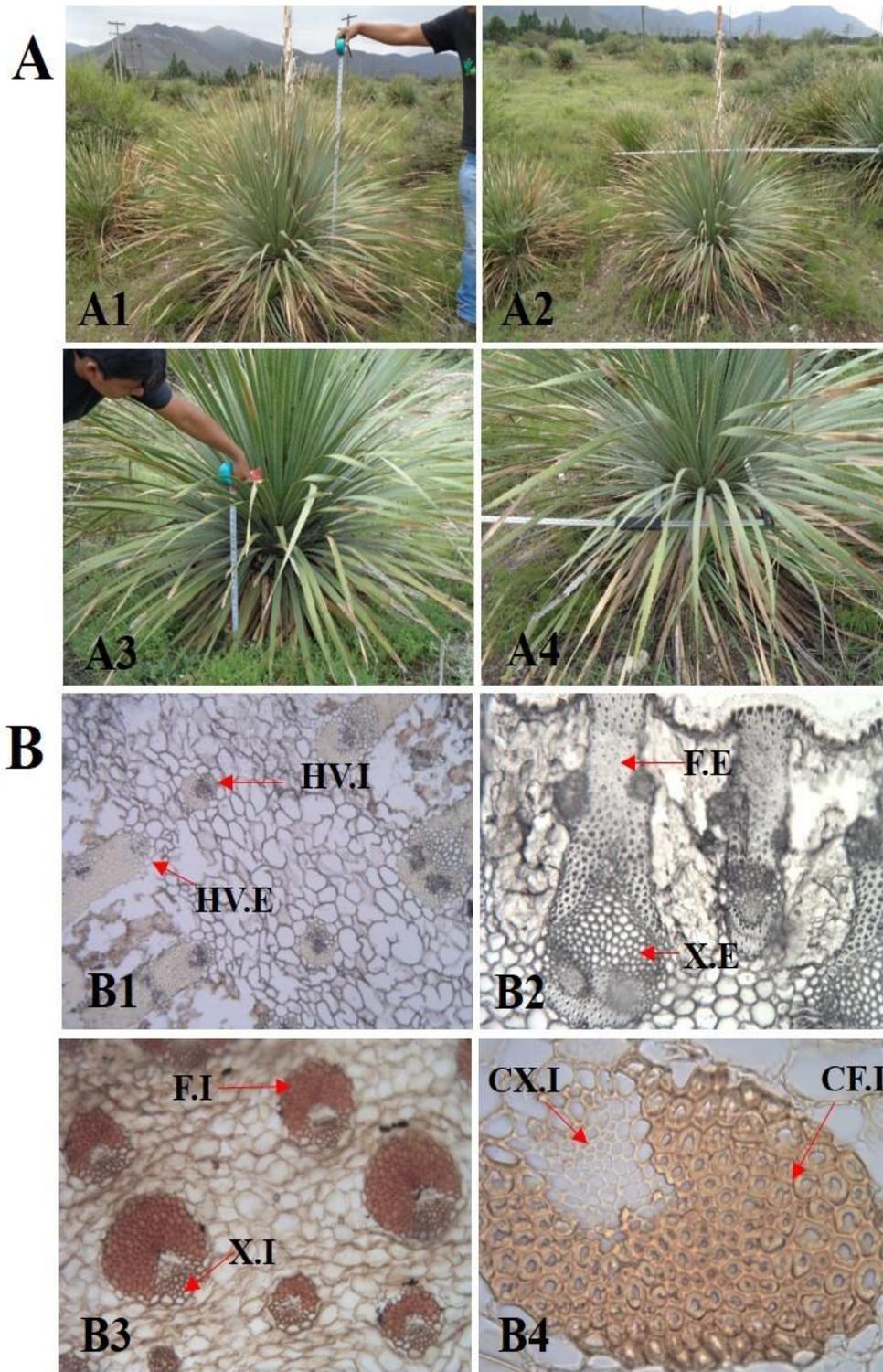


Figura 3. Caracteres macro y micro morfológicos de *D. cedrosanum*. A) Caracteres macromorfológicos, A1) altura de la planta, A2) cobertura de roseta, A3) altura del tallo y A4) diámetro del tallo. B) Caracteres micromorfológicos. B1) Haces vasculares internos (HV. I), haces vasculares externos (HV. E). B2) Haces vasculares externos, floema (F.E) y xilema (X.E). B3) Haces vasculares internos, floema (F.I) y xilema (X.I). B4) Células de xilema (CX.I) y células de floema (CF. I). Imágenes de elaboración propia.

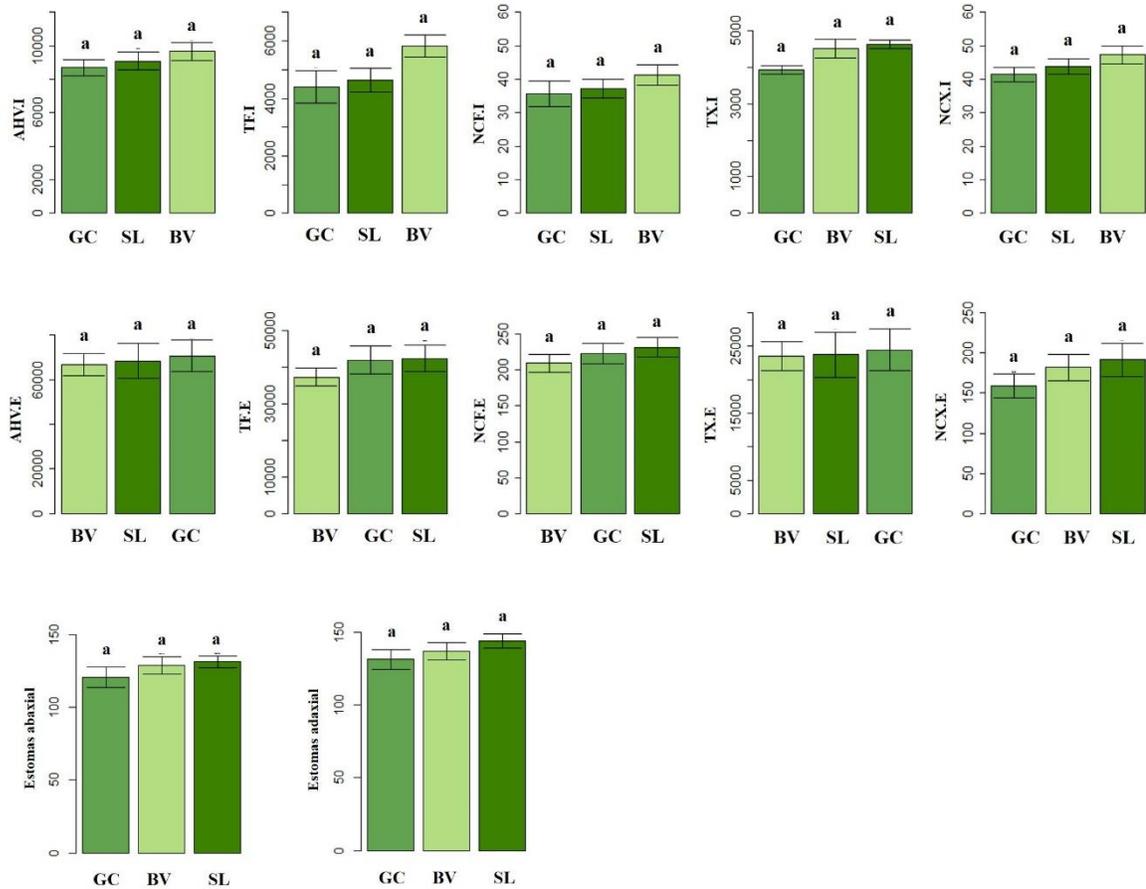


Figura 4. Valores de los caracteres micromorfológicos (μm^2) y de la densidad estomática (mm^2) en comparación con las localidades de estudio. General Cepeda (GC), San Lorenzo (SL) y Buenavista (BV). Área del haz vascular interno (AHV.I), tamaño de floema interno (TF. I), número de células de floema interno (NCF.I), tamaño de xilema (TX. I), número de células de xilema interno (NCX.I). Área del haz vascular externo (AHV.E), tamaño de floema externo (TF. E), número de células de floema externo (NCF.E), tamaño de xilema externo (TX. E), número de células de xilema externo (NCX.E). Las letras indican grupos estadísticamente diferentes entre sí y grupos con la misma letra no tiene diferencias significativas. La barra de error representa el valor de desviación estándar.

La Figura 5, muestra las concentraciones de los minerales que tuvieron diferencias significativas por localidad de estudio. En Buenavista los elementos Al, Mg, K y P en el tejido foliar fueron altas. El Al tuvo una diferencia del 55% con San Lorenzo y 34% con General Cepeda. El Mg se diferenció con un 30% con San Lorenzo y del 40% con General Cepeda. El K tuvo una diferencia del 3% con San Lorenzo y del 33% con General Cepeda y el P con un 30% en ambas localidades.

La concentración de Ba en el tejido foliar fue alta para la localidad de General Cepeda, tuvo una diferencia del 94% y 82% en comparación con las localidades de San Lorenzo y Buenavista. En la localidad de San Lorenzo la concentración de Cu en el tejido foliar tuvo una

diferencia de más del 90%, en comparación con las localidades de General Cepeda y Buenavista. En cambio, la concentración de Ca fue menor en un 30%, el Na en un 60% y el azufre en un 30%.

Las concentraciones de minerales en el tallo muestran a la localidad de Buenavista con un porcentaje alto (55 y 36%) de K, en comparación con San Lorenzo y General Cepeda. En el caso de la localidad de San Lorenzo la concentración de Cu se diferenció con una concentración del 90%. Por el contrario, los valores de concentración del B (5%) y del P (76%) fueron bajos en comparación con las otras dos localidades. En General Cepeda la concentración de Ba tuvo una diferencia del 94% con San Lorenzo y del 83% con Buenavista (Figura 5).

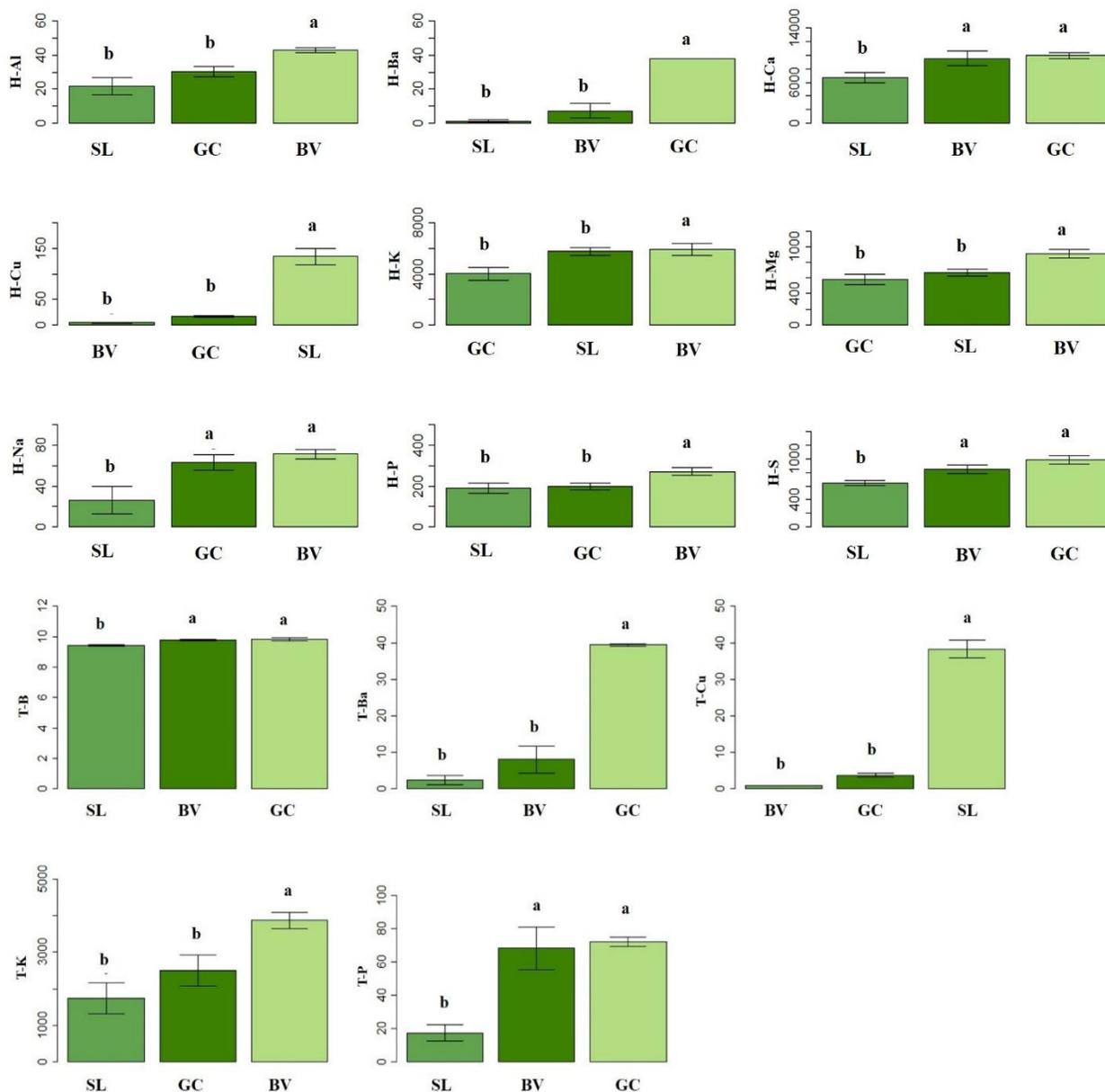


Figura 5. Diferencias significativas de la concentración de minerales del tallo (T) y la hoja (H) de *D. cedrosanum* por localidad de estudio. San Lorenzo (SL), General Cepeda (GC) y Buenavista (BV). Los valores se encuentran en mg kg⁻¹. Las letras indican grupos estadísticamente diferentes entre sí y grupos con la misma letra no tiene diferencias significativas. La barra de error representa el valor de desviación estándar.

Asociación entre carbohidratos, micromorfología, minerales y macromorfología

Las correlaciones positivas y negativas que fueron significativas se muestran en la Tabla 2. Las relaciones entre las variables de los minerales y carbohidratos mostraron asociaciones positivas entre los elementos K y P con la fructosa, solo el Cu presentó una

correlación negativa. Las correlaciones entre los minerales y la micromorfología presentaron una correlación positiva entre el Mg y AHV.I, TF.I, TX.I. Por el contrario, el elemento Pb tuvo una correlación negativa con TF.I. La H- Fructosa fue la única variable que se asoció con los caracteres morfológicos CR, CR. ImageJ y DT.

Tabla 2. Correlación de elementos del tallo (T), hoja (H) con carbohidratos y caracteres macro y micro morfológicos de *D. cedrosanum*

Correlaciones	Variable	Variable	Correlación	Valor <i>p</i>
Minerales-Carbohidratos	T-Cu	H-Fructosa	-0.61	<0.01
	T-K	T-Glucosa	0.55	<0.01
	T-K	H-Fructosa	0.72	<0.01
	T-P	H-Fructosa	0.57	<0.01
	H-Cu	H-Fructosa	-0.59	<0.01
Minerales-Micromorfología	T-Mg	AHV. I	0.59	<0.01
	T-Mg	TF. I	0.61	<0.01
	T-Mg	TX. I	0.52	<0.01
	T-Pb	TF. I	-0.53	0.02
	CR	H-Fructosa	0.58	<0.01
Morfología-Carbohidratos	CR-ImageJ	H-Fructosa	0.64	<0.01
	DT	H-Fructosa	0.71	<0.01

*Caracteres micromorfológicos (AHV. I área del has vascular interno, TF. I tamaño de floema interno y TX. I tamaño de xilema interno). Caracteres macromorfológicos (CR cobertura de roseta, CR-ImageJ Cobertura de roseta analizada digitalmente y DT diámetro del tallo).

DISCUSIÓN

Carbohidratos

Los carbohidratos considerados azúcares reductores son los principales azúcares fermentables para la obtención de alcohol etílico. Por lo tanto, su presencia en el tallo de *D. cedrosanum* es fundamental para la producción del sotol (Reyes-Valdés y Cázares, 2022). Actualmente existe poca información sobre el contenido de carbohidratos en *D. cedrosanum*. Los datos de la concentración de fructosa (210 mg/g) y glucosa (140 mg/g) en el tallo de *Dasyllirion* spp. reportados por Mancilla-Margalli y López (2006) fueron mayores en comparación con los niveles de concentración de fructosa (45.87 g/kg tallo y 33.88 g/kg hoja) y glucosa (17.73 g/kg tallo y 19.29 g/kg hoja) de *D. cedrosanum*. Dichos resultados pudieran explicarse por las diversas condiciones ambientales en las que se encontraban las plantas, ya que las condiciones climáticas, geológicas y geomorfológicas impactan en las actividades fotosintéticas, metabólicas y bioquímicas de las plantas causando un efecto en la acumulación de carbohidratos (Jeandet *et al.*, 2022).

De acuerdo con el análisis de varianza (Figura 1), la localidad de Buenavista se diferenció de las otras dos localidades por el mayor contenido de fructosa en el tejido foliar. Esta diferencia, podría indicar la posibilidad de un metabolismo más activamente dirigido al crecimiento de las plantas en esta localidad, y muestra el efecto de las condiciones ambientales en la acumulación de carbohidratos. En el caso de las plantas de Buenavista las condiciones parecen ser más favorables, por ejemplo, en comparación con las otras dos localidades, Buenavista tuvo una mayor concentración de K y P (Figura 5), elementos

fundamentales en la formación de azúcares y almidón en las plantas según lo descrito por Xu *et al.* (2020).

En el caso de la concentración de almidón en el tallo y en la hoja no hubo diferencias significativas por localidad de estudio (Figura 1), esto pareciera indicar que las plantas debido a las condiciones ambientales mantienen sus reservas de almacenamiento de energía para su crecimiento y desarrollo. El almidón es un carbohidrato de reserva de carbono y energía para las plantas. De acuerdo con los resultados (Figura 1) se presentó en mayor concentración en el tejido foliar. Durante el día, el almidón se sintetiza a partir de azúcares asimilados en los tejidos fotosintéticos y se acumula en los cloroplastos (You *et al.*, 2020). El almacenamiento de los gránulos de almidón en el tejido foliar de *D. cedrosanum* es esencial, ya que las reservas de este carbohidrato se movilizan durante la noche para proporcionar sustratos a la respiración celular y para la síntesis de sacarosa que se transporta como fotosintato, y así sustentar el crecimiento de los tejidos en la planta (Chu *et al.*, 2022).

Las condiciones ambientales adversas en las áreas en donde se encuentra *D. cedrosanum* han propiciado el desarrollo de diversos mecanismos fisiológicos y morfológicos por parte de la planta para su adaptación a estas condiciones. Las concentraciones de almidón presentes en el tejido foliar funcionan también como una estrategia de adaptación, debido a que, en condiciones de estrés abiótico como baja/alta temperatura o sequía, el almidón se degrada generando compuestos osmóticamente activos y fuentes de energía, los cuales son utilizados para asegurar la supervivencia de la planta (Zhou *et al.*, 2021).

Macromorfología

Las mediciones de los caracteres macromorfológicos son fundamentales para la producción de la bebida sotol, debido a que los recolectores de las plantas buscan características idóneas, tales como rosetas grandes, piñas (tallos) mayores a 30 cm con un peso de 20 a 40 kg e individuos uniformes con altura entre 1.50 y 2.00 m, con la finalidad de mejorar el rendimiento del sotol (Serafin-Higuera *et al.*, 2022).

La localidad de Buenavista presentó los valores más altos de la mayoría de los caracteres macromorfológicos (Figura 2). Estas diferencias podrían explicarse debido a una mayor concentración de minerales en las plantas en ese sitio. De acuerdo con la Figura 5, Buenavista tiene mejores concentraciones de elementos esenciales tales como K, P, Mg y Ca. Dichos elementos son esenciales y se desempeñan como constituyentes del balance osmótico y turgencia, mecanismos de transducción y transferencia de energía, catálisis enzimática y en los procesos de reproducción, desarrollo y crecimiento vegetal (Pandey, 2018).

Micromorfología

Los haces vasculares modifican su estructura en respuesta a los factores ambientales; esto es fundamental en las plantas para optimizar los recursos (nutrientes, agua y carbohidratos) y adaptarse a las condiciones de los diferentes hábitats (Qaderi *et al.*, 2019). Por ejemplo, el área de los haces vasculares internos (AHV.I) de *D. cedrosanum* fueron menores (9152 μm^2) en comparación con los haces vasculares de *Oryza sativa* L. (18,026 μm^2) reportados por You *et al.* (2021). De acuerdo con Aloni (2021), estas diferencias ocurren en especies en condiciones de zonas áridas, ya que muestran una gran cantidad de vasos estrechos por unidad de área transversal; los vasos con bajo diámetro presentan una menor susceptibilidad a los embolismos y le sirven de mecanismo adaptativo contra la sequía. En cambio, las especies adaptadas a sitios con mayor disponibilidad de agua presentan estructuras vasculares en menor número y con diámetro muy amplio.

Otra característica de la micromorfología del tejido foliar de *D. cedrosanum* fueron los haces vasculares externos (Figura 3), los cuales pueden tener la función de distribuir equitativamente el agua en toda la planta (Zhang *et al.*, 2023). El tamaño de sus estructuras vasculares individuales (Figura 5) como el conjunto de vasos de floema (T.F. E), fue mayor en comparación con los de xilema (T.X. E). Estas diferencias se deben seguramente a las condiciones ambientales en las que crece *D. cedrosanum*, ya que las plantas de zonas donde hay agua disponible tienen un xilema de alta conductividad, a diferencia de las plantas de zonas

donde el agua es limitada el xilema presenta vasos más estrechos, tal adaptación está relacionada con la prevención de formación de embolias (Laughlin *et al.*, 2020).

En el caso del floema si la conductividad hidráulica es relativamente baja, su capacidad de transporte puede ser limitada por el aumento de la viscosidad de la savia, esto resulta en una mayor necesidad de osmorregulación disminuyendo el potencial hídrico del xilema. Las plantas que operan con potenciales hídricos foliares bajos, como *D. cedrosanum* podrían compensar esto estructuralmente aumentando el número de conductos del floema (López-Salmerón *et al.*, 2019). Esta característica se observa en la Figura 5, en la cual se muestra una mayor cantidad de número de células de floema (NCF.E).

Las estomas de *D. cedrosanum* son anfiestomáticos de tipo paracítico tal como lo menciona Francisco-Francisco *et al.* (2016). La distribución de los estomas en las hojas de *D. cedrosanum* es una adaptación a los ambientes áridos, porque mejora y facilita la absorción de carbono (Pathare *et al.*, 2020). Ante esto, el conocimiento de la densidad estomática se vuelve fundamental ya que representa un valor integrador y comparativo de la interacción planta-ambiente a nivel foliar (Romero-Romero *et al.*, 2020). La densidad estomática se define como el número de estomas por unidad de superficie foliar (Sakoda *et al.*, 2019). Francisco-Francisco *et al.* (2016) estudiaron la anatomía foliar de plantas en vivero de *D. cedrosanum* con edades de 6, 30, 60 y 84 meses, y determinaron que la densidad estomática de la superficie adaxial y abaxial oscila entre 46.8–65.0 estomas mm^{-2} . Estos datos en comparación con los resultados obtenidos fueron menores (Figura 4). Una explicación para estas diferencias pudiera ser la influencia de las condiciones ambientales en el crecimiento de las plantas muestreadas y, por ende, en la densidad estomática, ya que el funcionamiento de los estomas depende de los factores ambientales como la intensidad de luz, la disponibilidad de agua en el suelo y la concentración de CO_2 atmosférico (Zhao *et al.*, 2015).

Kardiman y Raebild (2018) determinaron la densidad estomática de las especies *Macaranga triloba* (Thunb.) Müll.Arg (161 estomas mm^2), *Artocarpus elasticus* Reinw. ex Blume (389 mm^2), *Palaquium gutta* (Hook.) Baill. (161 mm^2), *Eusideroxylon zwageri* Teijsm. & Binn. (202 mm^2), *Hopea mengarawan* Miq. (232 mm^2), *Aquilaria malaccensis* Lam. (232 mm^2), *Dyera costulata* (Miq.) Hook.f. (486 mm^2), *Shorea leprosula* Miq. (318 mm^2) y *Irvingia malayana* Oliv. ex A.W.Benn. (275 mm^2) pertenecientes a hábitats tropicales, los resultados muestran densidades estomáticas altas a diferencia de lo reportado para *D. cedrosanum* (abaxial 127 mm^2 y adaxial 137 mm^2). Esta diferencia en el número de estomas se puede

considerar un mecanismo para sobrevivir en ambientes áridos, ya que se ha reportado que la disminución de la cantidad de estomas por mm^2 es parte de la respuesta de tolerancia a la sequía, esto se debe al incremento de la resistencia al flujo de agua de la superficie foliar, es la forma en que la planta disminuye la transpiración (Harrison *et al.*, 2020).

Minerales

Las concentraciones de minerales del tejido foliar y del tallo de *D. cedrosanum*, se muestran en la Tabla 1, tales resultados son bajos en comparación con las concentraciones de minerales de *Agave angustifolia* reportados por Ríos-Ramírez *et al.* (2021), P 6,719 mg kg^{-1} , N 14,955 mg kg^{-1} , Mg 18,847 mg kg^{-1} , K 45,943 mg kg^{-1} , Na 779 mg kg^{-1} , Zn 338 mg kg^{-1} , Fe 55.02 mg kg^{-1} y Cu 46.14 mg kg^{-1} , a excepción de las concentraciones de Cu. Las plantas de *D. cedrosanum* utilizadas para este estudio se encontraban en su forma silvestre, por lo tanto, las condiciones ambientales tales como una humedad relativa baja, un periodo de lluvias escaso, altas temperaturas diurnas, suelos pobres en materia orgánica con diversos grados de salinidad y con poca disponibilidad y retención de agua, lo que provoca que las concentraciones de minerales no sean las adecuadas afectando el crecimiento según los describe Reyes-Valdés *et al.* (2013). A pesar de esto, estas plantas han desarrollado mecanismos fisiológicos y morfológicos que le han permitido mantener su funcionalidad para adaptarse a estas condiciones.

La localidad de San Lorenzo presentó altas concentraciones de Cu en las plantas (Figura 5), una posible explicación pudiera deberse a las condiciones geomorfológicas de las zonas de estudio, ya que se han reportado yacimientos de Cu en zonas del municipio de Saltillo cercanas a la localidad de San Lorenzo (Canales & Morán, 2017). Las altas concentraciones de Cu en *D. cedrosanum* pudiera deberse a mecanismos de tolerancia como: 1) proteínas transportadoras (COPT, ZIP, YSL y IRT1) especializadas en regular las concentraciones de metales pesados en las células vegetales (Mir *et al.*, 2021), 2) la exclusión (cambiando el pH de la rizósfera, secretando compuestos "quelantes" que forman complejos con los metales, o disminuyendo la capacidad de transporte hacia el interior de la planta), 3) su almacenamiento en compartimentos donde no ejerzan efectos tóxicos como vacuolas y en tejidos no fotosintéticos y 4) la detoxificación mediante la reducción/oxidación, y la formación de complejos con ácidos orgánicos, aminoácidos, fitosideróforos o con péptidos y proteínas con alta afinidad por los metales (Cen-Cen *et al.*, 2015).

En el caso de la localidad de General Cepeda el contenido de Ba en las plantas fue más alto en

comparación con las otras dos localidades (Figura 5). Dicha concentración pudiera deberse a las formaciones geológicas de la zona de estudio, tales como Acatita y Treviño las cuales están conformadas por rocas calizas con yeso y calizas compuestas de minerales que contienen Ba como la barita (Canales y Morán 2017).

Asociaciones entre minerales, carbohidratos, micro y macro morfología

El K y el P fueron los elementos de mayor asociación con la glucosa y la fructosa (Tabla 2). Estos elementos son considerados macronutrientes importantes para el crecimiento y desarrollo de las plantas, debido a su participación en funciones fisiológicas fundamentales tales como activador de enzimas, síntesis de proteínas, regulación del metabolismo, fotosíntesis y el cotransporte de carbohidratos (Johnson *et al.*, 2022).

Ríos-Ramírez *et al.* (2021) evaluaron la condición nutrimental de esta especie en condiciones de manejo agronómico. Dichos resultados muestran una mayor concentración de K (45,943 mg kg^{-1}) y P (6,719 mg kg^{-1}) en comparación con el tallo (P 53 mg kg^{-1} y K 2701 mg kg^{-1}) y la hoja (P 220 mg kg^{-1} y K 5238 mg kg^{-1}) de *D. cedrosanum* (Tabla 1). Sin embargo, a pesar de estos niveles bajos de concentración las plantas mantienen procesos fisiológicos para su desarrollo y crecimiento. Los bajos niveles de concentración de estos elementos pudieran estar relacionados con la baja fertilidad de los suelos en donde crece *D. cedrosanum* y, con las bajas concentraciones de carbohidratos mencionadas anteriormente.

Ante esto, la aplicación de una concentración adecuada de K y P pudiera ser una opción para mejorar el rendimiento de las plantas en la producción del sotol. En el caso de la producción de mezcal, del cual la materia prima es la especie *Agave angustifolia* Haw (Barrientos-Rivera *et al.*, 2020); se ha documentado que la aplicación de K ha sido útil para tener plantas sanas, tallos con mayor contenido de azúcares y menor dureza de sus fibras como lo menciona Barrios *et al.* (2006). En cambio, las bajas concentraciones de K y su aplicación inadecuada, reducen la fijación del CO_2 fotosintético y, por lo tanto, los carbohidratos (Tränkner *et al.*, 2018). Por otra parte, el P también está relacionado con el aumento en las concentraciones de carbohidratos, al mejorar el metabolismo de la sacarosa (Wu *et al.*, 2021).

El establecimiento de plantaciones de *D. cedrosanum* y su manejo eficiente depende del aporte de nutrientes minerales, ya que el exceso, deficiencia, o desbalance en la concentración de estos podrían limitar el rendimiento de las plantas (Pérez-López, 2013). El Cu es un elemento fundamental en las plantas porque participa en múltiples procesos metabólicos; el Cu en concentraciones adecuadas favorece el crecimiento de

las plantas. Sin embargo, cuando se presenta en concentraciones altas las plantas pueden presentar síntomas de clorosis, tilacoides dañados, disminución en la eficiencia de fotosistema PS (II), fotofosforilación deficiente que resulta en una baja eficiencia fotosintética de las plantas y, por lo tanto, en un pobre aumento de la biomasa (Kumar *et al.*, 2021). De acuerdo con Shabbir *et al.* (2020), el límite tóxico de Cu está por encima de 20–30 mg kg⁻¹. A diferencia de los resultados obtenidos, las concentraciones de Cu en *D. cedrosanum* son altas (Tabla 1).

De acuerdo con los resultados, el Cu fue el elemento que se correlacionó negativamente con los carbohidratos (Tabla 2). Las altas concentraciones de Cu observadas seguramente afectaron de manera adversa el contenido de carbohidratos, debido a que un exceso de Cu daña la estructura del aparato fotosintético principalmente en la membrana tilacoide afectando los fotosistemas y reduciendo la eficiencia fotosintética, lo que conlleva a una menor producción de azúcares (Xu *et al.*, 2024). Cabe resaltar que las concentraciones de Cu observado se encuentran en un nivel indicativo de toxicidad (>25 mg kg⁻¹), lo que parece indicar capacidad de bioacumulación de Cu en *D. cedrosanum*. Por citar un ejemplo las especies *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* y *Corymbia citriodora* en estas mismas condiciones son bioacumulativas (Negrini *et al.*, 2024).

La reducción en la biosíntesis de clorofila puede estar relacionada con el daño estructural del aparato fotosintético en la membrana tilacoide bajo estrés por Cu y la interferencia del Cu en la organización de la clorofila

El Mg ha sido un elemento poco atendido en términos de pruebas de suelos, plantas y programas de fertilización, y su deficiencia no se considera una preocupación importante en la productividad agrícola (Ishfaq *et al.*, 2022). Sin embargo, actualmente el Mg ha cobrado interés debido a su relación con varios procesos fisiológicos involucrados en el crecimiento de las plantas. De acuerdo con Guo *et al.* (2016), el requerimiento de Mg para el crecimiento óptimo de las plantas es de 1,500 – 3,500 mg kg⁻¹, a diferencia de los resultados obtenidos las concentraciones de Mg en el tallo (636 mg kg⁻¹) y hoja (735 mg kg⁻¹) de *D. cedrosanum* son bajas. A pesar de ello, las plantas mantienen procesos metabólicos y fisiológicos que le permiten mantener su funcionalidad (Tabla 1).

Las asociaciones positivas entre el Mg y las variables AHV.I, TF.I y TX.I se muestran en el Tabla 2. Una concentración adecuada de Mg pudiera ser una alternativa viable para aumentar el rendimiento de la biomasa de las plantas, ya que el Mg está relacionado con una mejor producción de células conductoras del

floema (Boxler-Baldoma *et al.*, 2016), por lo tanto, el transporte y la distribución de los carbohidratos sería óptimo desde la hoja hasta los tejidos sumideros (Julius *et al.*, 2017).

De acuerdo con los resultados el Pb se asoció negativamente con la variable TF.I (Tabla 2). El Pb es un elemento sin ninguna función biológica conocida para las plantas, además, es tóxico, incluso en concentraciones muy bajas (Collin *et al.*, 2022). La toxicidad de este elemento puede afectar el crecimiento de las plantas, la fotosíntesis, el metabolismo y la actividad enzimática (Mitra *et al.*, 2020).

Las correlaciones de las variables macromorfológicas con los carbohidratos muestran a la fructosa relacionada con la variable DT (Tabla 2). Esto podría deberse a que los carbohidratos acumulados en los tejidos del tallo le confieren a *D. cedrosanum* una ventaja de adaptación para soportar el estrés hídrico (Reyes-Valdés *et al.*, 2013). Por otra parte, la fructosa es un carbohidrato indispensable para el proceso de fermentación y la obtención de sotol, la asociación de la fructosa con la variable DT sugiere que una mayor concentración de fructosa favorece el mayor diámetro del tallo, lo cual es importante, debido a que se puede obtener un mayor aprovechamiento y, por lo tanto, mejorar la producción de sotol aplicando un manejo agronómico adecuado (Young *et al.*, 2021).

CONCLUSIONES

Las condiciones ambientales influyeron en el contenido mineral, en las concentraciones de carbohidratos y en las medidas de los caracteres macromorfológicos. En cambio, los caracteres micromorfológicos no presentaron diferencias en sus valores por localidad de estudio, pero, muestran características de adaptación a las condiciones ambientales en las cuales se desarrolla *D. cedrosanum*.

Las concentraciones de fructosa, glucosa y almidón del tallo y del tejido foliar de *D. cedrosanum*, fueron bajas. Las concentraciones de estos carbohidratos por localidad de estudio fueron diferentes. La localidad de Buenavista presentó las mejores concentraciones de carbohidratos y minerales, y tuvo los valores más altos de los caracteres macromorfológicos, en comparación con General Cepeda y San Lorenzo. Por tanto, Buenavista tiene mejores condiciones para el desarrollo y crecimiento de la planta.

La concentración alta de Cu encontrada en el tejido foliar de *D. cedrosanum* permitiría desarrollar un nuevo campo de estudio, con la finalidad de demostrar la capacidad de esta especie para acumular metales, y su posible utilidad como agente biorremediador.

Las correlaciones estadísticas mostraron que los elementos K, P y Mg tienen una mejor asociación con las concentraciones de carbohidratos y las variables micromorfológicas. Por tal motivo, estos elementos pudieran considerarse para aumentar la biomasa y mejorar el rendimiento en la producción del sotol.

Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Adriana Antonio Bautista y a la Lic. María del Socorro García Guillermo por el apoyo prestado a las actividades de colecta y análisis de las muestras vegetales.

Funding. This research was supported by the Secretariat of Science, Humanities, Technology and Innovation (SECIHTI) and the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Compliance with ethical standards. Not applicable.

Data availability. Data available upon reasonable request to the authors

Author contribution statement (CRediT). E.L. Serafin-Higuera – Writing - original draft and formal analysis. M.H. Reyes-Valdés – Writing - review & editing. H.T. García-Osuna – Writing - review & editing. A. B. Morales-Díaz – Writing - review & editing. J. A. Villarreal-Quintanilla – Writing - review & editing. J. Medrano-Macias – Writing - review & editing. G. Barrientos-Rivera – Writing - review & editing. A. Benavides-Mendoza – Conceptualization, funding acquisition, resources, project administration and writing - review & editing.

REFERENCES

- Aloni, R., 2021. Environmental adaptation of vascular tissues. In R Aloni, ed. *Vascular differentiation and plant hormones*. Springer, Cham. pp. 251-258. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-53202-4>
- Barrientos-Rivera, G., Hernández-Castro, E., Sampedro-Rosas, M.L. and Segura-Pacheco., H.R., 2020. Conocimiento tradicional y academia: productores de maguey y mezcal de pequeña escala en las regiones Norte y Centro de Guerrero, México. *Sociedad y Ambiente*, 23, págs. 1-28. <https://doi.org/10.31840/sya.vi23.2173>
- Barrios, A.A., Ariza, F.R., Molina M.J.M., Espinosa, P.H. and Bravo, ME, 2006. Manejo de la fertilización de magueyes mezcaleros cultivados (*Agave spp*) de Guerrero. Iguala, Gro. México: Folleto Técnico Núm. 13. INIFAP. Campo Experimental Iguala.
- Benavides-Mendoza, A., Hernández-Juárez, A. and Francisco-Francisco, N., 2023. Germinación, crecimiento vegetativo y morfología floral de *Dasyilirion cedrosanum* del matorral rosetófilo de Coahuila. *CienciaUAT*, 18, pp.191-201. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v18i1.1772>
- Bhadwal, S. and Sharma, S., 2022. Selenium alleviates carbohydrate metabolism and nutrient composition in arsenic stressed rice plants. *Rice Science*, 29, pp. 385-396. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2021.11.008>
- Boxler-Baldoma, C., Lütz, C., Heumann, H.G. and Siefermann-Harms, D., 2006. Structural changes in the vascular bundles of light-exposed and shaded spruce needles suffering from Mg deficiency and ozone pollution. *Journal of Plant Physiology*, 163, pp. 195-205. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.03.008>
- Canales, G.L.E. and Morán, R.F.I., 2017. Geología. In: D Quintanilla Rodríguez, FI Morán Rosales y KC Nájera Cordero, eds. *La biodiversidad en Coahuila. Estudio de estado. Vol I*. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), pp. 55-69.
- Cano, P.A., Martínez, B.O.U., Berlanga, R.C.A., Villavicencio, G.E.E. and Castillo, Q.D., 2011. Guía para la evaluación de existencias de sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.) en poblaciones naturales del estado de Coahuila. Saltillo, Coahuila México: Folleto Técnico Núm. 43. INIFAP. Campo Experimental Saltillo.
- Cen-Cen, E.R., Gómez-Merino, F. and Martínez-Hernández, A., 2015. Tolerancia de *Agave tequilana* a altas concentraciones de cationes metálicos divalentes. *Polibotánica*, 40, pp. 163-182. <http://doi.org/10.18387/polibotanica.40.11>
- Chu, K.L., Koley, S., Jenkins, L.M., Bailey, S.R., Kambhampati, S., Foley, K., Arp, J.J., Morley, S.A., Czymmek, K.J., Bates, P.D. and Allen, D.K., 2022. Metabolic flux analysis of the non-transitory starch tradeoff for lipid production in mature tobacco leaves. *Metabolic Engineering*, 69, pp. 231-248. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2021.12.003>

- Collin, S., Baskar, A., Geevarghese, D.M., Ali, M.N.V.S., Bahubali, P., Choudhary, R., Lvov, V., Tovar, G.I., Senatov, F., Koppala, S. and Swamiappan, S., 2022. Bioaccumulation of lead (Pb) and its effects in plants: A review. *Journal of Hazardous Materials Letters*, 3. pp. 100064. <https://doi.org/10.1016/j.hazl.2022.100064>
- Cooksey, R.W., 2020. Correlational statistics for characterizing relationships. In: Cooksey, R.W., ed. *Illustrating statistical procedures: Finding meaning in quantitative data*. Springer Nature, Singapore, pp. 141-239. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-2537-7>
- Ferreira, T. and Rasband, W., 2018. ImageJ userguide. Revised Edition. <https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/index.html>, consultado 24 de octubre de 2024.
- Fick, K.R., Miller, S.M., Funk, J.D., McDowell, L.R. and Houser, R.H., 1976. *Methods of Mineral Analysis for Plant and Animal Tissues*. Segunda edición. Gainesville, Florida: Universidad de Florida.
- Flores, S.I.R. and Castro, A.C., 2024. Distribución, riqueza, endemismo y conservación del género *Dasyllirion* (Asparagaceae, Convallarioideae). *Acta Botánica Mexicana*, 131, pp. 1-22. <https://doi.org/10.21829/abm131.2024.2367>
- Flores-Gallegos, A.C., Cruz-Requena, M., Castillo-Reyes, F., Rutiaga-Quiñones, O.M., Torre, L.S., Paredes-Ortíz, A. and Rodríguez-Herrera, R., 2019. Sotol, an alcoholic beverage with rising importance in the worldwide commerce. In: Mihai GA, Maria HA, eds. *Alcoholic Beverages*. Kidlington, Elsevier Reino Unido, pp. 141-160. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815269-0.00005-2>
- Francisco-Francisco, N., García-Osuna, H.T., Benavides-Mendoza, A., Hernández-Juárez, A. and Ramírez Godina, F., 2016. Morfología y anatomía foliar de *Dasyllirion cedrosanum* en diferentes etapas de desarrollo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7, pp. 1679-1687. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i7.161>
- Guo, W., Nazim, H., Liang, Z. and Yang, D., 2016. Magnesium deficiency in plants: An urgent problem. *The Crop Journal*, 4, pp. 83-91. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.11.003>
- Harrison, E.L., Arce, C.L., Gray, J.E. and Hepworth, C., 2020. The influence of stomatal morphology and distribution on photosynthetic gas exchange. *The Plant Journal*, 101, pp. 768-779. <https://doi.org/10.1111/tpj.14560>
- Hernández, S.M., 1990. *Manual de laboratorio: Citología y citogenética*. Primera edición, México: Editorial Trillas.
- Hizukuri, S., Takeda, Y., Yasuda, M. and Suzuki, A., 1981. Multi-branched nature of amylose and the action of debranching enzymes. *Carbohydrate Research*, 94, pp. 205-213. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)80718-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)80718-1)
- Horwitz, W. 1971. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Treceava edición. Washington, USA: AOAC International.
- Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI), 2002. Declaración de protección a la denominación de origen sotol. Diario Oficial de la Federación. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/494502/DO.Sotol.08.08.2002.pdf>, consultado 3 de marzo, 2025.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 1988. Carta de Geología: escala 1:250 000, México. <https://www.inegi.org.mx/temas/geologia/>, consultado 20 de junio de 2025.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 1989. Carta de Climatología: escala 1:250 000, México. <https://www.inegi.org.mx/temas/climatologia/>, consultado 20 de junio de 2025.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 2000. Carta de Uso de suelo y vegetación: escala 1:250 000, México. <https://www.inegi.org.mx/temas/usuarios/>, consultado 20 de junio de 2025.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 2007. Carta de Edafología: escala 1:250 000, México. <https://www.inegi.org.mx/temas/edafologia/>, consultado 20 de junio de 2025.
- Ishfaq, M., Wang, Y., Yan, M., Wang, Z., Wu, L., Li, C. and Li, X., 2022. Physiological essence of magnesium in plants and its widespread

- deficiency in the farming system of China. *Frontiers in Plant Science*, 13, pp. 802274. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.802274>
- Jeandet, P., Formela-Luboińska, M., Labudda, M. and Morkunas, I., 2022. The Role of sugars in plant responses to stress and their regulatory function during development. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, pp. 5161. <https://doi.org/10.3390/ijms23095161>
- Johnson, R., Vishwakarma, K., Hossen, M.S., Kumar, V., Shackira, A.M., Puthur, J.T., Gholamreza, A., Mohammad, S. and Hasanuzzaman, M., 2022. Potassium in plants: Growth regulation, signaling, and environmental stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*. 172, pp. 56-69. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.01.001>
- Julius, B.T., Leach, K.A., Tran, T.M., Mertz, R.A. and Braun, D.M., 2017. Sugar transporters in plants: new insights and discoveries. *Plant and Cell Physiology*, 58, pp. 1442-1460. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcx090>
- Kardiman, R. and Raebild, A., 2018. Relationship between stomatal density, size and speed of opening in Sumatran rainforest species. *Tree physiology*, 38, pp. 696-705. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpx149>
- Kumar, V., Pandita, S., Sidhu, G.P.S., Sharma, A., Khanna, K., Kaur, P., Bali, A.S. and Setia, R., 2021. Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: a comprehensive review. *Chemosphere*, 262, pp. 127810. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127810>
- Laughlin, D.C., Delzon, S., Clearwater, M.J., Bellingham, P.J., McGlone, M.S. and Richardson, S.J., 2020. Climatic limits of temperate rainforest tree species are explained by xylem embolism resistance among angiosperms but not among conifers. *New Phytologist*, 226, pp. 727-740. <https://doi.org/10.1111/nph.16448>
- López-Salmerón, V., Cho, H., Tonn, N. and Greb, T., 2019. The phloem as a mediator of plant growth plasticity. *Current Biology*, 29, pp. 173-181. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.01.015>
- Madrid-Solórzano, J.M., García-Alcaraz, J.L., Macías, E.J., Cámara, E.M. and Fernández, J.B., 2021. Life cycle analysis of sotol production in México. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, pp. 769478. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.769478>
- Mancilla-Margalli, N.A. and López, M.G., 2006. Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from *Agave* and *Dasyilirion* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, pp. 7832-7839. <https://doi.org/10.1021/jf060354v>
- Mir, A.R., Pichtel, J. and Hayat, S., 2021. Copper: uptake, toxicity and tolerance in plants and management of Cu-contaminated soil. *Biometals*, 34, pp. 737-759. <https://doi.org/10.1007/s10534-021-00306-z>
- Mitra, A., Chatterjee, S., Voronina, A.V., Walther, C. and Gupta, D.K., 2020. Lead Toxicity in Plants: A Review. In: Gupta, D., Chatterjee, S., Walther, C. eds. *Lead in Plants and the Environment. Radionuclides and Heavy Metals in the Environment*. Switzerland: Springer. pp. 99-116. https://doi.org/10.1007/978-3-030-21638-2_6
- Negrini, A., Ferreira da Silva, R., Da Ros, C.O., Welter, P.D., Silva, A.P.D., Boeno, D. and Andrezza, R., 2024. Copper bioconcentration and bioaccumulation in different eucalyptus species and their impact on plant physiology. *Journal of Plant Nutrition*, 47, pp. 413-422. <https://doi.org/10.1080/01904167.2023.2278653>
- Pandey, N., 2018. Role of plant nutrients in plant growth and physiology. In: Hasanuzzaman M, Fujita M, Oku H, Nahar K, Hawrylak-Nowak B, eds. *Plant nutrients and abiotic stress tolerance*. Singapore: Springer, pp. 51-93. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_2
- Pathare, V.S., Koteyeva, N. and Cousins, A.B., 2020. Increased adaxial stomatal density is associated with greater mesophyll surface area exposed to intercellular air spaces and mesophyll conductance in diverse C₄ grasses. *New Phytologist*, 225, pp. 169-182. <https://doi.org/10.1111/nph.16106>
- Pérez-López, E., 2013. Análisis de fertilidad de suelos en el laboratorio de Química del Recinto de Grecia, Sede de Occidente. *InterSedes*, 14, pp. 6-18.
- Qaderi, M.M., Martel, A.B. and Dixon, S.L., 2019. Environmental factors influence plant

- vascular system and water regulation. *Plants*, 8, pp. 65. <https://doi.org/10.3390/plants8030065>
- R Core Team, 2022. R: A language and environment for statistical computing. Viena: Austria: R Foundation. <https://www.r-project.org/>, consultado 10 de enero 2025.
- Reyes-Valdés, M.H. and Cázares, U.F., 2022. Sotol un elixir con denominación de origen. Primera edición. México: Quintanilla ediciones.
- Reyes-Valdés, M.H., Benavides-Mendoza, A., Ramírez-Rodríguez, H. and Villarreal-Quintanilla, J.A., 2013. Biología e importancia del sotol (*Dasyilirion* spp). Parte II: Ecofisiología, usos e interrogantes. *Planta*, 8, pp. 16-20.
- Reyes-Valdés, M.H., Palacios, R., Rivas-Martínez, E.N., Robledo-Olivo, A., Antonio-Bautista, A., Valdés-Dávila, C.M., Villarreal-Quintanilla, J.A. and Benavides-Mendoza, A., 2019. The sustainability of mexican traditional beverage sotol: ecological, historical, and technical issues. *Processing and Sustainability of Beverages*, 2, pp. 103-137. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815259-1.00004-5>
- Ríos-Ramírez, S.C., del Valle, J.R.E., Ortiz, G.R., Luna, J.R. and Velasco, V.V., 2021. El crecimiento de *Agave angustifolia* Haw. con relación a la condición nutricional. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12, pp. 865-873. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2638>
- Romero-Romero, E., Sánchez, R., Sumich, J., Añino, Y.J. and López, O.R., 2020. Variaciones morfológicas y densidad estomática en hojas de *Mangifera indica* bajo condiciones lumínicas contrastantes. *Tecnociencia*, 22, pp. 66-75. <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/224/2241124005/index.html>
- Sakoda, K., Watanabe, T., Sukemura, S., Kobayashi, S., Nagasaki, Y., Tanaka, Y.U. and Shiraiwa, T., 2019. Genetic diversity in stomatal density among soybeans elucidated using high-throughput technique based on an algorithm for object detection. *Scientific Reports*, 9, pp.7610. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44127-0>
- Serafin-Higuera, E.L., Antonio-Bautista, A. and Benavides-Mendoza, A., 2022. Morfología de *Dasyilirion cedrosanum* y su correlación con imágenes en localidades del Sureste de Coahuila. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 9, pp. 1-9. <https://doi.org/10.19136/era.a9n1.3198>
- Shabbir, Z., Sardar, A., Shabbir, A., Abbas, G., Shamshad, S., Khalid, S. and Shahid, M., 2020. Copper uptake, essentiality, toxicity, detoxification and risk assessment in soil-plant environment. *Chemosphere*, 259, pp.127436. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127436>
- Smith, A.M. and Zeeman, S.C., 2006. Quantification of starch in plant tissues. *Nature Protocols*, 1, pp. 1342–1345. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.232>
- Therby-Vale, R., Lacombe, B., Rhee, S.Y., Nussaume, L. and Rouached, H., 2022. Mineral nutrient signaling controls photosynthesis: focus on iron deficiency-induced chlorosis. *Trends in Plant Science*, 27, pp. 502-509. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.11.005>
- Tränkner, M., Tavakol, E. and Jákli, B., 2018. Functioning of potassium and magnesium in photosynthesis, photosynthate translocation and photoprotection. *Physiologia plantarum*, 163, pp. 414-431. <https://doi.org/10.1111/ppl.12747>
- Twalla, J.T., Ding, B., Cao, G., Bao, S., Li, M., Chen, X., Xiaodong, X. and Wang, J., 2021. Roles of stomata in gramineous crops growth and biomass production. *Cereal Research Communications*, 50, pp. 603-616. <https://doi.org/10.1007/s42976-021-00216-3>
- Wu, S., Li, M., Zhang, C., Tan, Q., Yang, X., Sun, X., Pan, Z., Deng, X. and Hu, C., 2021. Effects of phosphorus on fruit soluble sugar and citric acid accumulations in citrus. *Plant Physiology and Biochemistry*, 160, pp. 73-81. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.015>
- Xu, E., Liu, Y., Gu, D., Zhan, X., Li, J., Zhou, K. and Zou, Y. 2024. Molecular mechanisms of plant responses to copper: From deficiency to excess. *International Journal of Molecular Sciences*, 25, pp.6993. <https://doi.org/10.3390/ijms25136993>
- Xu, X., Du, X., Wang, F., Sha, J., Chen, Q., Tian, G., Zhu, Z., Ge, S. and Jiang, Y., 2020. Effects of potassium levels on plant growth, accumulation and distribution of carbon, and

- nitrate metabolism in apple dwarf rootstock seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 11, pp.904.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00904>
- You, C., Wang, H., Huang, Y., Xu, P., Wu, L., Yu, F., Zhong, X., Gao, J., Zhang, L., He, H. and Ke, J., 2021. Relationship between the vascular bundle structure of panicle branches and the filling of inferior spikelets in large-panicle Japonica Rice. *Frontiers in Plant Science*, 12, pp. 774565.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.774565>
- You, Y., Zhang, M., Yang, W., Li, C., Liu, Y., Li, C. and Wu, W., 2020. Starch phosphorylation and the in vivo regulation of starch metabolism and characteristics. *International Journal of 17 Biological Macromolecules*, 159, pp. 823-831.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.156>
- Young, M.D., Ros, G.H. and de Vries, W., 2021. Impacts of agronomic measures on crop, soil, and environmental indicators: A review and synthesis of meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 319, pp. 1-18.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107551>
- Zhang, Y., Ding, C., Liu, Y., Li, S., Li, X., Xi, B. and Duan, J., 2023. Xylem anatomical and hydraulic traits vary within crown but not respond to water and nitrogen addition in *Populus tomentosa*. *Agricultural Water Management*, 278, pp. 108169.
<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2023.108169>
- Zhao, W., Sun, Y., Kjelgren, R. and Liu, X., 2015. Response of stomatal density and bound gas exchange in leaves of maize to soil water deficit. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, pp. 1704.
<https://doi.org/10.1007/s11738-014-1704-8>
- Zhou, X.R., Zhang, N.N., Zhao, Y.M., Dai, L., Xu, D.P., Xu, G.F. and Tian, J. 2021. Distribution dynamics and roles of starch in non-photosynthetic vegetative organs of *Santalum album* Linn., a hemiparasitic tree. *Frontiers in Plant Science*, 11, pp.532537.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.532537>