

2a. y 3a. CONTRIBUCIONES AL CONOCIMIENTO DE LA HISTOLOGIA Y CITOLOGIA DEL MAGUEY (A G A V E)

Por FRANCISCO VILLAGRAN PRADO
del Instituto de Biología

Continuando el trabajo iniciado en el tomo X de los Anales del Instituto de Biología, acerca de la Histología y Citología del Maguey, como parte del programa general de estudio del Agave y sus productos establecido con anterioridad, presentamos las dos notas siguientes:

II.—DISTRIBUCION DE LOS HACES VASCULARES EN LA BASE DE LA YEMA CENTRAL

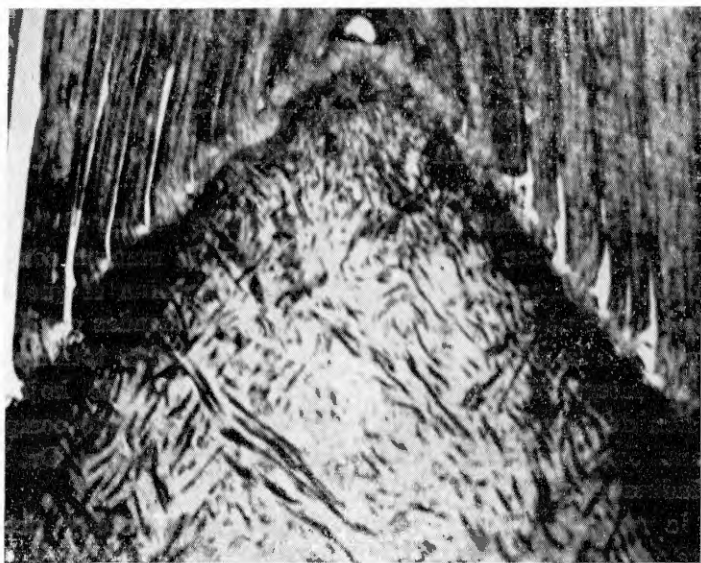
Tiene interés la distribución de estos haces porque al “caparse” (1) la planta para ser puesta en explotación, la manera como están distribuídos los vasos liberianos y leñosos determina el que algunas hojas de las que no son destruidas queden comunicadas con la raíz y con el resto de la planta, en tanto que otras quedan totalmente aisladas. La intervención que tienen estas dos clases de hojas en la elaboración del aguamiel es diferente, como ha quedado comprobado por el análisis del zumo de unas y otras hecho por el Sr. Dr. D. Antonio Madinaveitia.

En la mayoría de los agaves, el tallo, no aparente y proporcionalmente muy pequeño, queda cubierto por las hojas muy desarrolladas que se encuentran dispuestas en varios verticilos desde la base. Este tallo comunica directamente por la parte inferior con las raíces, sostiene lateralmente las hojas y lleva en su extremo superior la

(1) “Capar el maguey” expresión usada para indicar la destrucción de la yema que debiera originar el bohordo floral.

yema central o terminal; y, además, produce lateralmente en la base los llamados “brotes” o “hijos” que son yemas laterales susceptibles de desarrollarse y que se usan para la propagación del maguey. Es en esta parte de la planta donde estudiamos la distribución de los haces vasculares puesto que a través de ella se establece la comunicación entre los distintos órganos mencionados.

Desde el punto de vista de la fisiología normal de la planta tiene interés especial la comunicación que se establece entre las hojas, órganos almacenadores de reserva, y la yema central que al desarrollarse cuando la planta alcance su madurez fisiológica, dará origen al bohordo floral. La formación de este órgano, que es muy rápida, pues en algunos casos alcanza más de diez metros en mes o mes y medio, requiere una gran cantidad de materiales plásticos y estos provienen de las abundantes reservas almacenadas en las hojas. La conducción de estas reservas se hace por un sistema vascular que comunica las “pencas” (2) con la yema central y no está directamente



1.—Microfotografía de un corte longitudinal de la extremidad de un tallo tierno de *Agave* mostrando la disposición de los vasos.

(2) “Pencas” nombre con el que se designan las hojas carnosas de los *Agaves* y los cladodios de algunas *Opuntia*.

relacionado con el sistema vascular que comunica la raíz con el tallo y las hojas.

En las preparaciones microscópicas totales de esta parte de la planta, hechas con material tomado de plantas muy tiernas, y estudiadas en serie, hemos podido apreciar la distribución vascular de que hablamos. En la microfotografía de esta zona (fig. 1) puede verse la disposición general de los vasos, debiendo notarse que existen haces que van de la raíz a las hojas, otros de la raíz a la yema central y otros, además, que van de las hojas a la yema central; y que todos estos haces vasculares se entrecruzan en lo que pudiéramos designar como la parte media superior del tallo.

Comparando la zona afectada al caparse la planta con la que estudiamos en las preparaciones microscópicas, pudimos comprobar que el grupo de vasos que se cortan al llevarse a cabo la destrucción de la yema central y de la parte superior del tallo, comprende todos los haces que van a la yema central, de tal manera que los vasos que vienen de las hojas quedan abiertos en la cavidad que se forma al quitarse la yema.

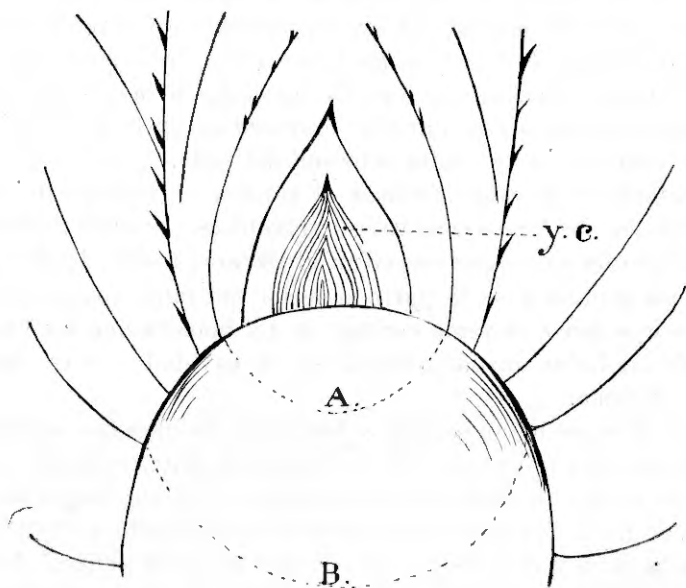
Es de hacerse notar que las sustancias de reserva almacenadas en las hojas no comienzan a fluir inmediatamente, pues en las plantas que se ponen en explotación de acuerdo con las costumbres establecidas desde la época precortesiana se deja "madurar" (3) el maguey hasta ocho y diez meses para lograr la mejor calidad del aguamiel y su mayor abundancia. Es indudable que durante este tiempo se efectúan en las sustancias de reserva almacenadas en las hojas cambios químicos de importancia, que aún nos son desconocidos, y modificaciones fisiológicas trascendentales. Es un hecho que el aguamiel producido por magueyes que se han dejado "madurar" el tiempo suficiente después de "capados", es de calidad muy superior, y quizá más abundante, que el que producen las plantas semejantes en las que no se espera el tiempo necesario. Después de capado el maguey y de que se le ha dejado madurar el tiempo adecuado, se "pica" (4) y se comienza a "raspar" (5) formándose entonces el

(3) Comunmente se usa el término "madurar", aplicado al maguey en explotación, para indicar el período de tiempo que debe dejarse pasar entre la destrucción de la yema y el principio de la extracción del aguamiel.

(4) Se usa la expresión "picar el maguey" para indicar una serie de cortes que se hacen en el lugar que ocupaba la yema y que son los que determinan la destrucción de los vasos y de toda la parte central superior del tallo, formándose así la cavidad donde se junta el aguamiel.

(5) Se llama "raspa" a la operación diaria que consiste en quitar delgadas capas de tejidos de la pared de la cavidad de recolección.

“cajete”, (6) cavidad en la cual se acumula el aguamiel. (Fig. 2 A. y B.). Más adelante, al hacerse la raspa, se van quitando diariamente capas más o menos delgadas de los tejidos, lo cual mantiene los vasos constantemente abiertos, impidiendo todo proceso cicatricial y cualquiera obturación mecánica. En terrenos polvosos, como Apam, Hgo.,



2.—Esquema de la extremidad de un tallo de **Agave**: y. c. yema central; A. parte que se destruye al “caparse” y “picarse” el maguay; B. parte donde se forma el “cajete”.

y otros, se observa que hay veces que sólo fluye un poco de aguamiel en la mañana temprano cuando acaba de hacerse la raspa, dejando de hacerlo poco después debido a que los vasos se obstruyen con una mezcla de polvo y aguamiel, muy adherente debido a la goma que hay en abundancia en este líquido.

El aguamiel que fluye normalmente al cajete proviene de las sustancias almacenadas en las hojas y no de materiales de reciente adquisición. De esto existen dos pruebas dignas de tomarse en consideración. La primera es que el aguamiel de mejor calidad es el que se produce en invierno cuando no hay lluvias que permitan a la planta absorber por sus raíces agua que, llevada por el hadroma, va

(6) “Cajete” (del Nahuatl CAXITL que significa taza o escudilla) es el término con el que se designa la cavidad donde se deja acumular el aguamiel, para ser extraído una o dos veces al día, según la cantidad que produzca la planta.

a mezclarse directamente con el aguamiel, puesto que los vasos cortados en el fondo del cajete son los que vienen directamente de la raíz. Es probable que, además de una mayor cantidad de agua se encuentre una mayor abundancia de sustancias minerales, debido a que estas van en la savia bruta que se mezcla con el aguamiel; punto este que no ha sido aún estudiado de manera especial.

La segunda prueba es más convincente aún. Si los magueyes que se capan en el campo y se dejan madurar durante el tiempo normal son arrancados de su sitio, cortando naturalmente todas las raíces, y transportados después a otros lugares donde son luego picados y raspados, producen aguamiel de calidad igual a la que se produce en condiciones normales y en cantidad semejante. (De 200 a 250 litros).

De las observaciones que hemos hecho se deduce:

a).—Que el sistema de haces vasculares no es simple, sino que existe un sistema que va de la raíz a las hojas que lleva por su hadroma la savia bruta a las hojas y por su leptoma distribuye las sustancias nutritivas a todos los órganos de la planta, y otro grupo de vasos que va de las hojas a la yema central y que lleva las sustancias almacenadas como reservas que, en el momento de la madurez fisiológica de la planta, servirán para el desarrollo del bohordo floral.

b).—Que al caparse el maguey se destruye la yema que debiera formar el bohordo floral o "quioté". Fig. 2 y. c. y los vasos que van hacia ella quedan cortados de tal manera que cuando el maguey esté listo para ser "picado" y se forme el "cajete" todo el líquido nutritivo fluirá dentro de esta cavidad.

c).—Que, en condiciones normales, el aguamiel proviene exclusivamente de las hojas que han perdido su comunicación vascular directa con la raíz y está constituido por el agua y sustancias de reserva almacenadas en el parénquima incoloro de las hojas y destinadas, dentro de la fisiología normal de la planta, al desarrollo del bohordo floral.

III.—LOS CRISTALES DE LA HOJA DE AGAVE. (*).

Al hacer el estudio de la hoja de Agave como contribución inicial al conocimiento de la histología y citología del maguey (Tomo

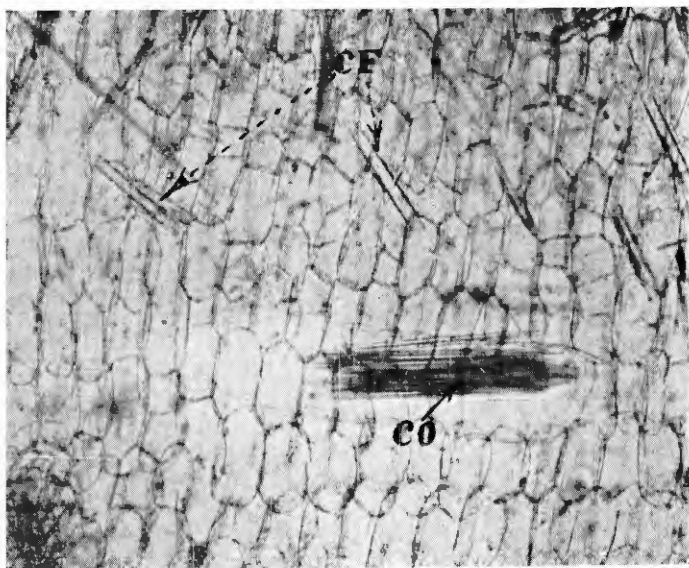
(*) Hacemos presente nuestro agradecimiento al Sr. Dr. D. Antonio Madinaveitia, eminente químico, por su valiosa colaboración en este trabajo.

X de estos Anales), notamos en el seno de los parénquimas de la hoja gran abundancia de cristales; que estudiamos ahora.

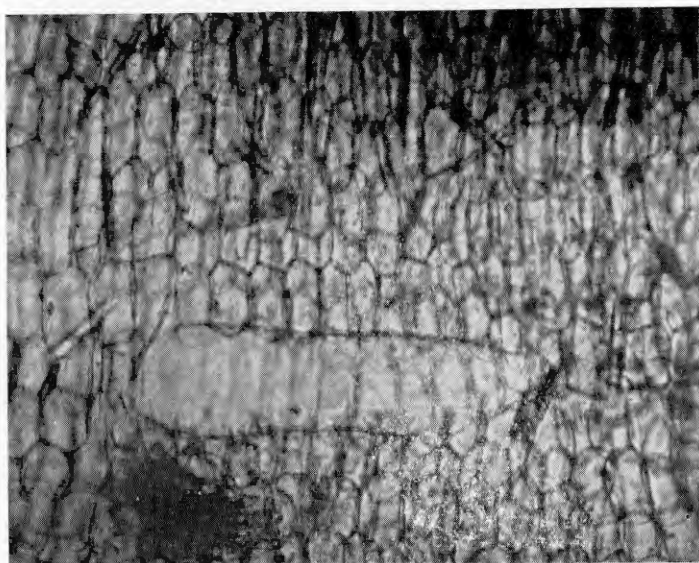
En preparaciones microscópicas de cortes longitudinales y transversales de la hoja se observan cristales de dos tipos distintos, que pueden diferenciarse por sus dimensiones generales, por su colocación, por el tiempo en que aparecen, por su forma individual y su modo de agrupación. Todos estos caracteres diferenciales nos hicieron pensar, desde un principio, en la posibilidad de que se tratara de dos clases de cristales de constitución distinta, lo cual ha quedado plenamente comprobado al lograrse su identificación histoquímica. Es de notarse que aunque se ha hablado de la existencia de cristales de oxalato de calcio en el Agave, no se ha hecho, que sepamos, ningún estudio especial de ellos con anterioridad. C. Welmer en su magnífica obra "Die Pflanzenstoffe" (Jena, 1929, tomo I, pág. 166) hace un resumen muy completo de los estudios químicos referentes al Agave y no menciona ningún dato relativo a la presencia de ácido oxálico.

A).—En las distintas especies de Agave estudiadas, *A. atrovirens* Karw., *A. lehmani* Jacobi, *A. cochlearis* Jacobi y *A. rigida* Berg., se encontraron siempre, en el parénquima clorofílico exclusivamente, cristales más o menos numerosos, dispuestos entre las células, paralelamente a la superficie de la hoja. Miden estos cristales de 0.150 mm. a 0.500 mm. de largo por 0.020 mm. de ancho. Su sección transversal es rectangular o cuadrada y su plano de exfoliación es oblicuo en un ángulo aproximado de 45 a 60°. Solamente fué posible observar enteros los cristales de dimensiones más pequeñas, comprobándose que terminan en punta, adelgazándose bruscamente; en todos los casos, debido al corte, los cristales de mayor tamaño presentaron sus puntas rotas. Los cristales grandes se encontraron siempre aislados, en tanto que los pequeños solían presentarse en haces de 2 a 4. En todas las observaciones hechas aparecieron con las mismas características desde un principio, sin modificarse por la acción de las más variadas sustancias con que fueron tratados los cortes. Nótese luego la dificultad especial que presentan para que lleguen hasta ellos los reactivos, por lo cual es de pensarse que estén protegidos por alguna sustancia, (¿goma?). También se nota que tienen uno como armazón de una sustancia distinta de la que forma el cristal propiamente dicho.

Para su estudio morfológico y para su identificación histoquímica se emplearon los siguientes métodos:



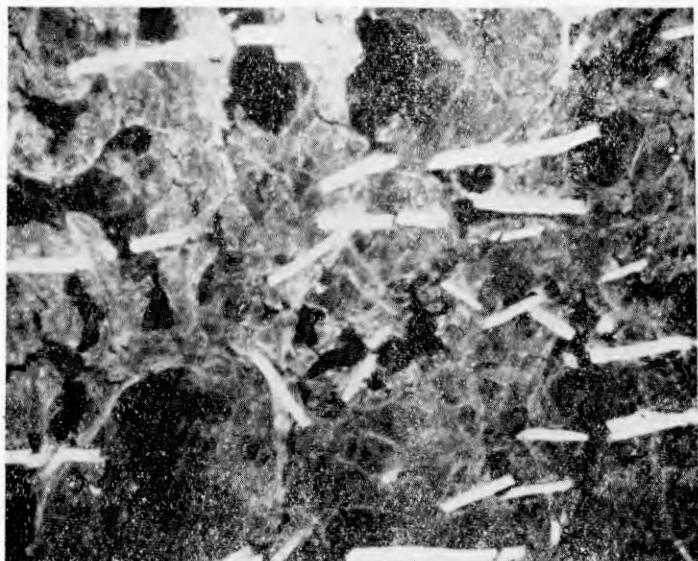
1.—Microfotografía de un corte longitudinal de hoja de **Agave** mostrando: c. f., cristales de fosfato de calcio en el parénquima clorofílico y c. o., cristales de oxalato de calcio en una cavidad del aerenquima.



2.—Microfotografía de un corte longitudinal de hoja de **Agave** mostrando, vacío, el espacio que en la figura anterior aparece ocupado por los cristales de oxalato de calcio.

Cortes a mano y por congelación de material fresco, obteniéndose los mejores resultados con los cortes de 100 a 150 micras de grueso, paralelos a la superficie de la hoja por ser ésta, como ya se dijo, la posición de los cristales. Su estudio con iluminación normal, con Ultropak y con luz polarizada, permitió medirlos y precisar su forma general ya descrita. Logramos aislarlos del tejido celular en que se encuentran, por medio del micromanipulador y también tratando los cortes por potasa a 60% en caliente para destruir los tejidos, lavando y centrifugando para recoger los cristales aislados; ni aún así pudo lograrse una acción clara de los diferentes reactivos empleados.

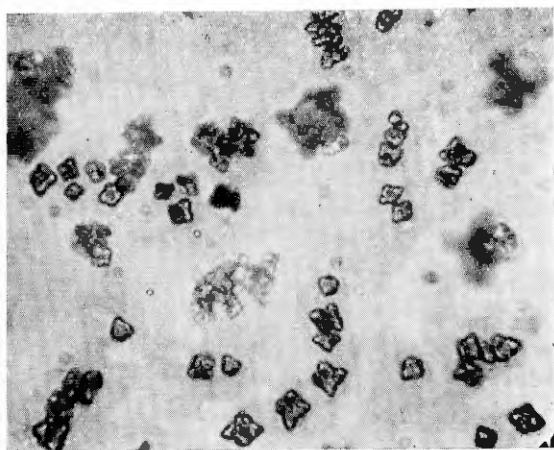
Se hicieron también espodogramas de los cortes, a temperatura media y lentamente, en el horno de microincineración de Pollicard, que fueron de gran utilidad pues permitieron apreciar el plano de exfoliación, por lo que respecta al estudio morfológico, y eliminaron para el histoquímico la dificultad de penetración de los reactivos.



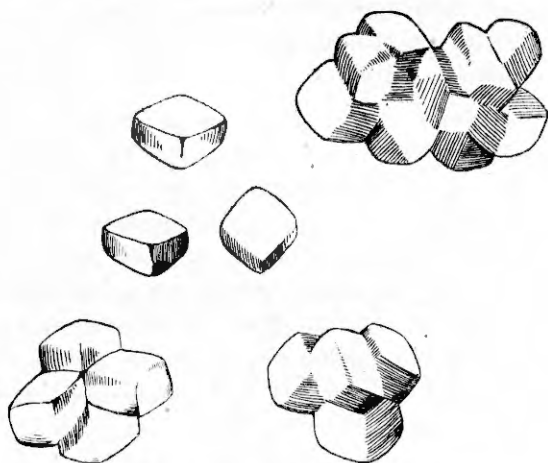
3.--Microfotografía con Ultropak® del espodograma de un corte longitudinal de hoja de **Agave** paralelo a la superficie, que muestra los cristales de fosfato de calcio.

Para la identificación histoquímica se observó la acción de distintos ácidos al obrar sobre los cortes poniéndolos a diversas concentraciones, y pudo comprobarse que sólo el nítrico y el clorhídrico

concentrados atacan y disuelven estos cristales, el último más lentamente que el primero. (Hacemos caso omiso del sulfúrico, porque destruye las preparaciones inmediatamente). De estas observaciones se dedujo que pudieran ser de oxalato de calcio o de fosfato de calcio, inclinándonos más a la segunda hipótesis por su morfología y resistencia, ya que el oxalato, suponiéndolo protegido por alguna otra



4.—Microfotografía de los cristallitos amarillos de fosfomolibdato de amonio que se forman al tratar los cristales de fosfato con molibdato de amonio. .



5.—Esquema de los cristales de fosfomolibdato de amonio, mostrando su forma individual y su modo de agrupación.

substancia, debiera ser menos resistente a la acción de los ácidos. Empleamos entonces reactivos específicos, comprobando que el nitrato de plata ácido no forma los cristallitos de oxalato de plata característicos, pues si bien obscurece la superficie del cristal y aún parece desintegrarlo parcialmente, no lo llega a destruir. Pensando en la posibilidad de que fueran de fosfato de calcio empleamos el reactivo de Kuttner y el molibdato de amonio, sin resultados satisfactorios al aplicarlos a los cortes frescos; pero usados en los espodogramas dieron resultados perfectamente claros, pues destruida la substancia protectora del cristal por la incineración, se vió que eran muy accesibles tanto a los reactivos como a los ácidos diluídos, en los cuales se disolvían más o menos rápidamente sin dar burbujas de CO_2 , lo cual eliminaba la posibilidad de que fuesen de oxalato de calcio. Tratados después los cortes microincinerados por el molibdato de amonio, obtuvimos con toda claridad los cristallitos de fosfomolibdato de amonio que revelan que los cristales son de fosfato de Ca. ya que aparecen en el sitio ocupado por estos.

Hecha la identificación histoquímica sólo queda por dilucidar, posteriormente, el papel que desempeñen estos cristales de fosfato en la economía de la planta. Puede desde luego pensarse, por su abundancia y por su colocación exclusiva en el parénquima clorofílico, que han de desempeñar un papel esencial, utilizándose quizá en la vida normal del maguey cuando se desarrolla el bohordo floral. En la explotación es probable que estos fosfatos sean la fuente del fosfórico que se encuentra en el aguamiel. (Análisis de los Dres. Madina-veitia y Orozco en otro trabajo de este mismo número).

B).—En el mismo material que nos sirvió para el estudio anterior, encontramos en el seno del parénquima incoloro de la hoja otro tipo de cristales, que se presentan siempre en este tejido almacenador y nunca en el clorofílico. En las preparaciones de material fresco, tomado de magueyes jóvenes, observadas inmediatamente después de hechos los cortes, no se encuentran o bien son muy escasos; pero si se deja estar el corte en agua, en alcohol o en glicerina, aparecen muy abundantes. Notamos que en las preparaciones hechas con material que ha estado separado de la planta por algún tiempo, se encuentran desde luego en los cortes.

Su disposición entre las células del parénquima incoloro almacenador es perfectamente definida, pues siempre se les encuentra en haces más o menos numerosos dentro de cavidades del aerénquima

que tienen forma canalicular y que se hallan entre las células, en dirección paralela a los haces fibrovasculares. Individualmente cada cristal presenta la forma típica de rafidio, con sus extremidades gradualmente adelgazadas hasta terminar en punta muy aguda. Como estos cristales se forman por lo general después de hechos los cortes, fué fácil encontrarlos enteros; miden hasta 0.400 mm. de largo y tienen de 0.006 mm. a 0.007 mm. de ancho.

Su identificación histoquímica no presentó ningún problema, pues no están protegidos como los de fosfato, de tal manera que los reactivos obran sobre ellos con toda facilidad. Se destruyen rápidamente por los ácidos minerales diluídos, pero resisten bien la acción de los álcalis (amoníaco y potasa a 60%). Tratados con la solución nítrica de nitrato de plata* dan los cristales típicos de oxalato de plata, lo cual permite identificarlos como de oxalato de Ca. Además, en los espodogramas tratados por algún ácido diluido, se observa que se disuelven dando burbujas, lo cual viene a comprobar que son de oxalato, puesto que éste se transforma en carbonato al hacerse la microincineración de los cortes.

Establecida su composición y teniendo en cuenta que sólo aparecen cuando se deja estar la preparación por algún tiempo al aire, cuando es tratada por agua, alcohol, glicerina, etc., o cuando se trabaja con material que ha sido cortado de la planta con alguna anticipación, creemos que estos cristales de oxalato aparecen como una reacción de la planta a la alteración coloidal provocada por la desecación, o también por la acción prolongada del agua, alcohol, etc.

SUMMARY

This paper deals with two new contributions to the Histology and Cytology of the Century Plant, "maguey". (*Agave atrovirens* Karw., *A. lehmani* Jacobi, *A. cochlearis* Jacobi and *A. rigida* Berg). In the first part we describe the route followed by the vascular strands that nourish the central bud and explain how they are destroyed when it is removed to put the plant in production. We also show that all the substances that form the "aguamiel" which is the liquid produced, come from those stored in the leaves and not directly from the soil.

(*) Reactivo de Plahl. (20 grs. de Ag. NO₃ ; 15 gr. de HNO₃ ; 70cc de H₂ O).

In the second contribution we describe and identify two kinds of cristals which are found in the tissues of the leaf of **Agave**, and which, to our knowledge, have not been studied before. Those found in the green surface tissue are of calcium phosphate and are always present, while those found in the storage tissues of the center of the leaf appear under the action of evaporation or because of the prolonged action of water, alcohol, glicerín and other substances and are formed by calcium oxalate. Brief hypothesis are given as to the physiological value of both cristals.
