



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN  
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
UNIDAD DURANGO

---

---

## Viabilidad y germinación del polen de *Agave durangensis*

TESIS

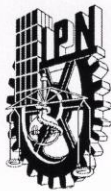
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS EN GESTIÓN AMBIENTAL

PRESENTA

DIANA LAURA SALAZAR PALACIOS

DIRECTORES:

M. en C. ELI AMANDA DELGADO ALVARADO  
DR. RENE TORRES RICARIO



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-13  
REP 2017

### ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Ciudad de México, a 15 de enero del 2025

El Colegio de Profesores de Posgrado de IPN CIIDIR Unidad Durango en su Sesión  
(Unidad Académica)

ordinaria No. 1 celebrada el día 14 del mes enero de 2025 conoció la solicitud presentada por el (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	<b>Salazar</b>	Apellido Materno:	<b>Palacios</b>	Nombre (s):	<b>Diana Laura</b>
-------------------	----------------	-------------------	-----------------	-------------	--------------------

Número de registro: B 2 3 1 2 5 1

del Programa Académico de Posgrado: Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

Viabilidad y germinación del polen de *Agave durangensis*

Objetivo general del trabajo de tesis:

Determinar la viabilidad y germinación del polen de *Agave durangensis* almacenado a dos temperaturas y diferentes tiempos, así como su asociación con el contenido de compuestos fenólicos, taninos y proteínas.

2.- Se designa como Directores de Tesis a los profesores:

Director: M. en C. Eli Amanda Delgado Alvarado 2° Director: Dr. Rene Torres Ricario  
No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

IPN CIIDIR Unidad Durango

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

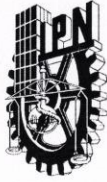
Director(a) de Tesis  
  
M. en C. Eli Amanda Delgado Alvarado

~~2° Director de Tesis (en su caso)~~  
  
Dr. Rene Torres Ricario

Alumno  
  
Diana Laura Salazar Palacios

Presidente de Colegio  
  
Dr. Eduardo Sánchez Ortiz





**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
**Dirección de Posgrado**

SIP-14  
 REP 2017

*ACTA DE REVISIÓN DE TESIS*

En la Ciudad de  siendo las  horas del día  del mes de  del  se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de:  para examinar la tesis titulada:

del (la) alumno (a):

<b>Apellido Paterno:</b>	Salazar	<b>Apellido Materno:</b>	Palacios	<b>Nombre (s):</b>	Diana Laura
--------------------------	---------	--------------------------	----------	--------------------	-------------

Número de boleta:

Alumno del Programa Académico de Posgrado:

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene 8 % de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo **SI**  **NO**  **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

**JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:** *(Por ejemplo, el % de similitud se localiza en metodologías adecuadamente referidas a fuente original)*  
El mayor porcentaje de similitud se encuentra en el apartado de metodología donde se encuentran técnicas tomadas de otros autores, por lo que se considera que el trabajo es original del alumno.

Finalmente y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR**  **SUSPENDER**  **NO APROBAR**  la tesis por **UNANIMIDAD**  o **MAYORÍA**  en virtud de los motivos siguientes:  
Se lograron los objetivos planteados en el tema de tesis a través de los resultados y conclusiones, además se obtuvo un bajo porcentaje de similitud, por lo que hay originalidad del alumno.

**COMISIÓN REVISORA DE TESIS**

M. en C. Eli Amanda Delgado Alvarado

Director de Tesis  
 Nombre completo y firma

Dra. Marcela Verónica Gutiérrez Velázquez

Nombre completo y firma

M. en C. Nestor Naranjo Jiménez

Nombre completo y firma

Dr. Rene Torres Ricario

2° Director de Tesis (en su caso)  
 Nombre completo y firma

M. en C. José Natividad Uribe Soto

Nombre completo y firma

Dr. Eduardo Sánchez Ortiz  
 CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
 IPN CIIDIR DURANGO  
**PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES**




## INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN

En la Ciudad de Durango, Durango el día 04 del mes de Septiembre del año 2025, la que suscribe Diana Laura Salazar Palacios alumna del programa Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental con número de registro B231251, adscrita al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección de Eli Amanda Delgado Alvarado y Rene Torres Ricario y cede los derechos del trabajo intitulado "Viabilidad y germinación del polen de *Agave durangensis*", al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expresado del autor y/o director(es). Este puede ser obtenido escribiendo a las siguiente(s) dirección(es) de correo [delgadoamanda78@yahoo.com](mailto:delgadoamanda78@yahoo.com), [rener27@gmail.com](mailto:rener27@gmail.com) y [dsalazar.palacios.00@gmail.com](mailto:dsalazar.palacios.00@gmail.com). Si el permiso se otorga, al usuario deberá dar agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.

  
Diana Laura Salazar Palacios

Nombre completo y firma autografiada de la  
estudiante

## **DEDICATORIA**

Gracias a Dios que me permitió llegar hasta este punto, brindándome experiencias buenas y malas, pero fueron más las buenas, que se quedan en mi mente y corazón.

Este trabajo es dedicado a mis papás, Natividad Salazar y Laura Palacios, por su amor incondicional, apoyarme siempre en mis proyectos, darme ánimos y motivarme a seguir adelante, recordarme que puedo lograr todo lo que me proponga y ser de los principales pilares en mi vida.

A mis hermanos que son un ejemplo a seguir en lo profesional, por apoyarme, motivarme y ser unos excelentes hermanos mayores con sus enseñanzas y consejos.

Gracias por ayudarme a vencer mis miedos

A mi familia de Durango capital por no dejarme sola durante este proceso, por hacerme sentir acompañada y abrirme las puertas de sus casas como un integrante más.

A mi amiga Vere por acompañarme en las buenas y malas, ser incondicional, escucharme en los momentos difíciles y alegrarse por mis logros.

## **AGRADECIMIENTOS**

Se agradece a todo el equipo del laboratorio de biotecnología, compañeros, técnicos, maestros, doctores, entre otros. Gracias por hacerme sentir parte de una comunidad.

A mis directores de tesis, Amanda Delgado y Rene Torres, por su tiempo, paciencia, consejos, interés en acompañarme en el proceso, brindarme el apoyo para expandir mis conocimientos, estar pendiente de mi y haber aceptado la responsabilidad de mi trabajo cuando fue necesario.

Marcela Gutiérrez y Hugo Monreal, por involucrarse en mi proyecto, ser mi segundo apoyo para la realización del trabajo de investigación, por ser como mis hermanos mayores en lo profesional al estar disponibles siempre para ayudarme, escucharme y aconsejarme.

Al Dr. Antonio Ávila y Mtro. Vicente Hernández, que de alguna forma pusieron su granito de arena durante el proceso.

A Nayeli Salinas, Ana Chaidez y Liliana Wallander que me dieron su tiempo y paciencia para enseñarme lo relacionado al laboratorio, enseñándome como usar el equipo, nuevas técnicas, aconsejarme o compartir sus experiencias.

Finalmente, un agradecimiento especial a la Dra. Norma Almaraz, por ser mi ejemplo a seguir en el mundo de la ciencia, admiro su trabajo y su persona. Gracias por confiarme su proyecto, acompañarme y guiarme en gran parte del proceso y compartirme tantos conocimientos con esa forma especial usted tiene.

El presente trabajo se llevó a cabo en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional del Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR) unidad Durango, bajo la dirección de la Dra. Eli Amanda Delgado Alvarado y el Dr. Rene Torres Ricario y con el apoyo brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (1325465).

## ÍNDICE

RESUMEN .....	12
ABSTRACT .....	14
I. INTRODUCCIÓN .....	16
II. ANTECEDENTES.....	17
2.1. <i>Agave durangensis</i> .....	17
2.1.1. Características morfológicas .....	17
2.1.2. Aspectos taxonómicos.....	18
2.1.3. Distribución.....	19
2.1.4. Reproducción y propagación .....	21
2.1.5. Importancia comercial .....	22
2.2. Polen.....	23
2.2.1. Composición.....	25
2.2.2. Condiciones de desarrollo del polen.....	25
2.2.3. Desarrollo de gametofitos.....	26
2.3. Importancia de la calidad del polen.....	27
2.3.1. Viabilidad del polen .....	28
2.3.2. Germinación del polen.....	29
2.3.3. Relación de proteínas y fenoles en la calidad reproductiva del polen .	31
III. JUSTIFICACIÓN.....	33
IV. OBJETIVOS .....	34
4.1. Objetivo general.....	34
4.2. Objetivos específicos .....	34
V. HIPÓTESIS .....	35
VI. MATERIALES Y MÉTODOS .....	36
6.1. Toma de muestra.....	36
6.2. Almacenamiento .....	36
6.3. Viabilidad .....	37
6.4. Germinación.....	38
6.5. Extracción de proteínas totales .....	38

6.6.	Contenido proteico .....	38
6.7.	Extracción para fenoles y taninos .....	39
6.8.	Compuestos fenólicos .....	39
6.9.	Taninos condensados .....	40
6.10.	Análisis de datos .....	40
6.11.	Caracterización de morfología del polen .....	40
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	42
7.1.	Viabilidad .....	42
7.2.	Germinación.....	46
7.3.	Compuestos fenólicos.....	50
7.4.	Taninos .....	54
7.5.	Proteínas.....	58
7.6.	Correlaciones de germinación y viabilidad .....	62
7.7.	Correlación viabilidad y compuestos fenólicos.....	63
7.8.	Correlación viabilidad y taninos condensados .....	65
7.9.	Correlación viabilidad y proteínas totales.....	66
7.10.	Correlación germinación y compuestos fenólicos .....	67
7.11.	Correlación germinación y taninos condensados.....	69
7.12.	Correlación germinación y proteínas totales .....	70
7.13.	Caracterización de morfología del polen .....	71
VIII.	CONCLUSIONES .....	74
IX.	RECOMENDACIONES.....	76
X.	BIBLIOGRAFIA.....	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> a) <i>Agave durangensis</i> b) <i>Agave scabra</i> (Dermanin, 2022) (Ávila, 2022)	19
<b>Figura 2.</b> Clases de idoneidad ambiental-climática para <i>Agave durangensis</i> Gentry generadas a partir de modelos de distribución potencial (López-Serrano <i>et al.</i> , 2021)	20
<b>Figura 3.</b> Producción de mezcal por estado referido a 45% Alc. Vol. (COMERCAM, 2024)	23
<b>Figura 4.</b> Cubierta interna (intina) y externa (exina) de grano de polen (Edlund <i>et al.</i> , 2004)	24
<b>Figura 5.</b> Grano de polen que ha desarrollado el tubo polínico (López y Rodríguez, 2008)	30
<b>Figura 6.</b> Maduración de anteras en contenedor de agua para una mejor recolección del polen	36
<b>Figura 7.</b> Viabilidad de polen de <i>Agave durangensis</i> en diferentes tiempos y dos condiciones de almacenamiento	46
<b>Figura 8.</b> Germinación de polen de <i>Agave durangensis</i> en diferentes tiempos y dos condiciones de almacenamiento	50
<b>Figura 9.</b> Contenido fenólico de polen de <i>Agave durangensis</i> en diferentes tiempos y dos condiciones de almacenamiento	54
<b>Figura 10.</b> Contenido de taninos del polen de <i>Agave durangensis</i> en diferentes tiempos y dos condiciones de almacenamiento	58
<b>Figura 11.</b> Contenido proteico de polen de <i>Agave durangensis</i> en diferentes tiempos y dos condiciones de almacenamiento	62
<b>Figura 12.</b> Correlación de porcentaje de viabilidad y germinación en ambas temperaturas de experimentación	63
<b>Figura 13.</b> Correlación porcentaje de viabilidad y compuestos fenólicos	65
<b>Figura 14.</b> Correlación porcentaje de viabilidad y contenido de taninos	66
<b>Figura 15.</b> Correlación porcentaje de viabilidad y contenido proteico	67
<b>Figura 16.</b> Correlación porcentaje de germinación y compuestos fenólicos	68
<b>Figura 17.</b> Correlación porcentaje de germinación y contenido de taninos	70
<b>Figura 18.</b> Correlación porcentaje de germinación y contenido proteico	71
<b>Figura 19.</b> MEB polen <i>Agave durangensis</i> : a) Vista ecuatorial mostrando colpo con operculo, b) Detalle de ornamentación, c) Vista ecuatorial mostrando colpo sin opérculo (ojo de venado), d) Detalle de ornamentación vista ecuatorial colpo cerrado, e) Detalle corte óptico meridiano, f) Colpo semicerrado y colpo con restos de opérculo. Barra= 50 $\mu\text{m}$	72
<b>Figura 20.</b> MET polen <i>Agave durangensis</i> : a) Corte de grano de polen donde se observa la ultraestructura, b) Presencia de columnelas y téctum, c) Ausencia de endexina y capa basal muy fina. Barra = 2 $\mu$	73

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Viabilidad del polen de <i>Agave durangensis</i> .....	45
<b>Tabla 2.</b> Germinación del polen de <i>Agave durangensis</i> .....	49
<b>Tabla 3.</b> Compuestos fenólicos del polen de <i>Agave durangensis</i> .....	53
<b>Tabla 4.</b> Taninos condensados del polen de <i>Agave durangensis</i> .....	57
<b>Tabla 5.</b> Contenido proteico del polen de <i>Agave durangensis</i> .....	61

## RESUMEN

El *Agave durangensis*, también conocido como agave cenizo, es una especie de importancia económica, ecológica, cultural en el Sur del Estado de Durango. Una estructura de importancia en el proceso de la reproducción del agave es el polen, la cual contribuye a heredar los atributos de un individuo de generación en generación. En el presente estudio se determinó la viabilidad y germinación del polen de *Agave durangensis* en diferentes condiciones de almacenamiento, 4°C y temperatura ambiente, en los días 1, 2, 4, 8, 16, 20, 60, 120 y 180. Además, se determinó la relación de la viabilidad y germinación con los compuestos fenólicos, taninos y proteínas mediante la correlación de Pearson. La viabilidad se determinó mediante técnica de tinción, mientras que la germinación se determinó por un medio de cultivo nutrimentado. Se utilizó el reactivo de Folin para cuantificar los fenoles totales, la vainillina y ácido clorhídrico para cuantificar los taninos condensados y el reactivo de Bradford para las proteínas totales. Los datos obtenidos se sometieron a prueba de Duncan, ANOVA de dos vías y correlación de Pearson. Los resultados mostraron una reducción significativa en la viabilidad, obteniendo al final del periodo de experimentación una reducción a 4°C del 6.4% y a temperatura ambiente del 7.83% respecto al día 1, mostrando diferencias significativas en el tiempo ( $p < 0.05$ ) pero no en la temperatura ni en la interacción de temperatura-tiempo. La germinación a 4°C presentó reducción del 58.75% mientras que a temperatura ambiente del 98.20%, se obtuvieron diferencias significativas en el tiempo, temperatura e interacción temperatura-tiempo ( $p < 0.05$ ). Los compuestos fenólicos mostraron reducción a 4°C de 0.939 mg EAG/g polen (8.28%) y a temperatura ambiente de 1.05 EAG/g polen (9.28%), presentando diferencias significativas en el tiempo ( $p < 0.05$ ) pero no en la temperatura. Los taninos mostraron reducción a 4°C de 0.384 mg EE/g polen (76.95%) y 0.399 mg EE/g polen (79.96%) a temperatura ambiente, con reducciones significativas en el tiempo ( $p < 0.05$ ) pero no en la temperatura. Las proteínas presentaron una reducción a 4°C de 1.926 mg EA/g polen (17.94%) y de 1.654 mg EA/g polen (20.89%) a temperatura ambiente, con diferencias significativas en el tiempo ( $p < 0.05$ ) pero no en la temperatura. El análisis de correlación de Pearson entre la viabilidad y germinación mostró una asociación significativa débil a 4°C, mientras que a temperatura ambiente mostró una asociación significativa moderada ( $R=0.22$ ,  $R=0.32$ ). Hubo relación entre la viabilidad y germinación con compuestos fenólicos solo en almacenamiento a temperatura ambiente. Los taninos presentaron una estrecha relación con la viabilidad y la germinación en ambas temperaturas con una correlación moderada altamente significativa

en ambas temperaturas ( $R=0.43$ ,  $R=0.41$ ;  $R=0.4$ ,  $R=0.39$ ). La correlación significativa de proteínas solo se presentó en viabilidad en almacenamiento a temperatura ambiente, mientras germinación no mostró significancia en esta relación a pesar de la importancia de estos compuestos en la célula. Los resultados mostraron que la temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$  retiene mejor la capacidad de germinar los granos de polen de *Agave durangensis* en un periodo de medio a largo de almacenamiento, mientras que la viabilidad tuvo ligeras reducciones, teniendo el polen la capacidad de conservar la integridad celular en ambas temperaturas. Los taninos son quienes tuvieron una relación más importante en la viabilidad y germinación en la protección de estrés oxidativo. Al no haber estudios sobre la calidad del polen y los compuestos bioquímicos de *Agave durangensis* en diferentes condiciones, tiempo y relación entre ellos, este trabajo aporta información importante para la comprensión y conservación de la especie en programas de conservación y mejoramiento.

## ABSTRACT

*Agave durangensis*, also known as Agave cenizo, is a species of economic, ecological and cultural importance in the south of the state of Durango. An important structure in the reproduction process of Agave is pollen, which contributes to inherit the attributes of an individual from generation to generation. In the present study, the viability and germination of *Agave durangensis* pollen were determined under different storage conditions, 4°C and room temperature, on days 1, 2, 4, 8, 8, 16, 20, 60, 120 and 180. In addition, the relationship of viability and germination with phenolic compounds, tannins and proteins was determined by Pearson's correlation. Viability was determined by staining technique, while germination was determined by a culture medium. Folin's reagent was used to quantify total phenols, vanillin and hydrochloric acid to quantify condensed tannins and Bradford's reagent for total proteins. The data obtained were subjected to Duncan's test, two-way ANOVA and Pearson's correlation. The results showed a significant reduction in viability, obtaining at the end of the experimental period a reduction at 4°C of 6.4% and at room temperature of 7.83% with respect to day 1, having significant differences in time ( $p < 0.05$ ) but not in temperature nor in the temperature-time interaction. Germination at 4°C presented a reduction of 58.75% while at room temperature 98.20%, significant differences were obtained in time, temperature and temperature-time interaction ( $p < 0.05$ ). Phenolic compounds showed a reduction at 4°C of 0.939 mg EAG/g polen (8.28%) and at room temperature of 1.05 EAG/g polen (9.28%), presenting significant differences in time ( $p < 0.05$ ) but not in temperature. Tannins showed a reduction at 4°C of 0.384 mg EE/g polen (76.95%) and 0.399 mg EE/g polen (79.96%) at room temperature, with significant reductions in time ( $p < 0.05$ ) but not in temperature. Proteins presented a reduction at 4°C of 1.926 mg EE/g polen (17.94%) and 1.654 mg EE/g polen (20.89%) at room temperature, with significant differences in time ( $p < 0.05$ ) but not in temperature. Pearson correlation analysis showed a significant association between viability and germination at both temperatures. There was a relationship in viability and germination with phenolic compounds only in storage at room temperature, with a significant moderate correlation. Tannins showed a close relationship with viability and germination at

both temperatures with a highly significant moderate correlation at both temperatures. The significant correlation of proteins was only present in viability in storage at room temperature, while germination didn't show significance in this relationship despite the importance of these compounds in the cell. The results showed that the temperature of 4°C retains better the ability to germinate *Agave durangensis* pollen grains in a medium to long period of storage, while the viability had slight reductions, having the pollen the ability to preserve cell integrity in both temperatures. Tannins had the most important relationship with viability and germination in the protection from oxidative stress. In the absence of studies on pollen quality and biochemical compounds of *Agave durangensis* in different conditions, time and relationship between them, this work provides important information for the understanding and conservation of the species in conservation and improvement programs.

## I. INTRODUCCIÓN

El *Agave durangensis* también llamado cenizo, es una especie endémica del sur de Durango, con importancia cultural, ecológica y económica. Es el principal recurso utilizado para la elaboración de mezcal con amplio valor comercial, por lo que representa una fuente clave de ingresos de la región. Esta especie ocupa el cuarto lugar entre los agaves utilizados para la producción de mezcal a nivel nacional, sin embargo, la creciente demanda de la industria está provocando una disminución del número y tamaño de las poblaciones naturales, lo que pone en riesgo su permanencia.

La reproducción del *Agave durangensis* es principalmente sexual y el polen desempeña un papel importante en este proceso, al ser el responsable de heredar los atributos de generación en generación. Los estudios sobre la calidad del polen, en viabilidad y germinación, permite comprender mejor la reproducción sexual de las plantas, aportando información valiosa para investigación en biología reproductiva, esterilidad, fertilidad, incompatibilidad e interacción del polen. Los atributos sobre la viabilidad y germinación del polen, nos brinda información de la presencia o ausencia de contenido intracelular del polen y la capacidad para desarrollar un tubo polínico que logre fecundar el ovulo de la flor.

Para alcanzar el objetivo de este trabajo, la investigación se organizó en varias fases. En primer lugar, se realizó una revisión bibliográfica, desde conceptos generales hasta aspectos específicos del polen, donde se destaca la importancia de estudiar la calidad del polen en diversas condiciones y su relación con compuestos bioquímicos. La descripción metodológica se detalla en diez apartados dentro del capítulo de materiales y métodos. Los resultados obtenidos se analizaron junto con su discusión en un mismo apartado, apoyados por gráficos y tablas. Finalmente, se incluyen las conclusiones del estudio y una sección de biografía consultada.

Los resultados revelaron que la viabilidad y germinación del polen de *Agave durangensis* disminuyen en un periodo de seis meses, siendo la germinación la más afectada a temperatura ambiente. Se encontró una correlación de la viabilidad y germinación con ciertos compuestos bioquímicos, principalmente a temperatura ambiente, sugiriendo que se debe a una mayor protección. Estos hallazgos podrían ser de utilidad para el desarrollo de programas de conservación y mejoramiento de la especie.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1. *Agave durangensis*

González-Elizondo *et al.* (2009) registraron en el estado de Durango 30 especies de la subfamilia Agavaceae, de las cuales 20 son del género *Agave*. Entre estas se encuentra el *Agave durangensis* Gentry, también llamado, cenizo, una especie endémica de Durango con un gran valor económico, cultural y ecológico (Rosas *et al.*, 2014). Esta especie es considerada un recurso natural fundamental para la producción de bebidas destiladas con importante valor comercial (Ríos *et al.*, 2018).

El mezcal del estado de Durango cuenta con denominación de origen, que regula su aprovechamiento y liga su producción a *A. durangensis* (Diario Oficial de la Nación, 1994). Este reconocimiento podría impulsar a que la producción de mezcal duranguense alcance altos niveles de calidad y que la producción se asemeje a la del tequila (Olivas *et al.*, 2007). Además, la industria del mezcal es una fuente importante de empleos en la región (Soto *et al.*, 2014). Sin embargo, la mayor parte de las plantas de agave que sustenta la industria proviene de colectas de sus poblaciones naturales, lo que ha llevado el deterioro del recurso y pone en riesgo la permanencia de la especie (Olivas *et al.*, 2007), por lo que es necesario desarrollar programas de conservación para poder satisfacer la demanda de la industria sin comprometer las poblaciones silvestres.

Los O'dam del sur de Durango son uno de los grupos que producen mezcal con *A. durangensis* (Jiménez y Ramírez, 2014). Además, utilizan las plantas de esta especie y de otros agaves para obtener ixtle, utilizado en la elaboración de sogas y otros materiales, asimismo consumen la cabeza, el quiote y las flores cocidas (González-Elizondo y Galván-Villanueva, 1992).

#### 2.1.1. Características morfológicas

De acuerdo con Gentry (1982), *Agave durangensis* se caracteriza mediante la siguiente descripción:

Resalta por su roseta de mediana a grande, de 80-120 cm de altura y 120-180 cm de cobertura, crece en solitario o en matas espaciosas. Su tallo es gris y corto. Sus

hojas ampliamente lanceoladas comúnmente miden de 40-90cm × 14-22 cm, anchas en la mitad, estrechas por arriba de la base ensanchada, derechas a curvas hacia afuera, anchas y convexas hacia la base, su textura es áspera y a la vez cerosa, cuenta con dientes de 1-2 cm comúnmente aplanados y separados por 1-2 cm. La espina terminal dura mide de 4-6 cm de longitud, grises cerosas con tonos cafés. Su inflorescencia llega a medir de 7-8 m de alto, sus flores amarillas son de 6-8 cm de largo, se encuentran juntas y erectas. El fruto consiste en capsulas dehiscentes. Las semillas son pequeñas, alcanzan a medir de 4.5-6 × 3.5-4.6 mm, con un ala marginal amplia pero poco elevada.

Se ha observado alta variabilidad en tamaño y color de las hojas, así como en el número y forma de las espinas laterales de las hojas de *A. durangensis* (Almaraz-Abarca *et al.*, 2009). Esta variabilidad ha llevado a algunos autores a proponer que algunas poblaciones se encuentran en un proceso activo de especiación, o que la especie puede incluir varias entidades taxonómicas (Vargas, 2009). Torres (2009) sugiere que la variabilidad morfológica de *A. durangensis* en su tamaño, color de hojas y forma de los dientes puede explicarse por un sistema de reproducción sexual en el que la hibridación interespecífica es un factor importante.

### **2.1.2. Aspectos taxonómicos**

Gentry (1982) señala que la afinidad de *Agave durangensis* con el resto de las especies de la sección a la que pertenece, *Ditepalae*, no es clara. El autor marca que la especie resalta por sus hojas largas, rígidas y ampliamente lanceoladas, los dientes curvados sobre un margen crenado, los tépalos dismórficos, anchos y cortos, y con una cutícula áspera. También apunta que si no se encuentra en floración puede confundirse con *A. scabra* Ortega, una especie con la que a veces es similar (Figura 1).



**Figura 1.** a) *Agave durangensis* b) *Agave scabra* (Dermanin, 2022) (Ávila, 2022)

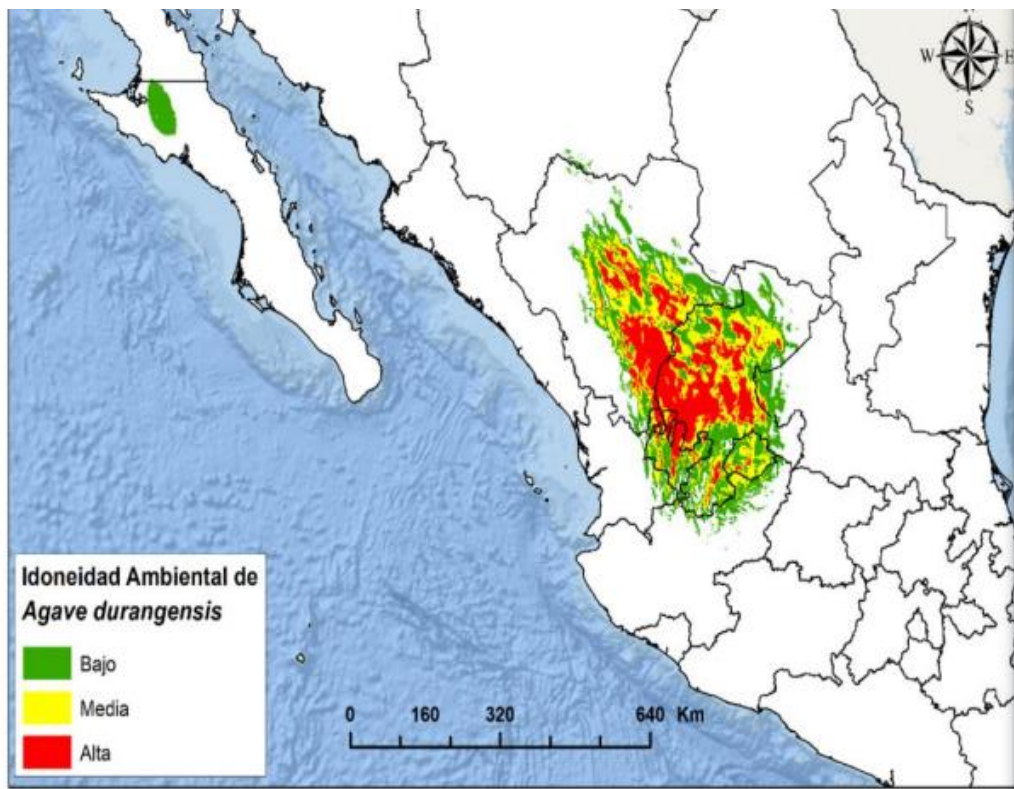
Gentry (1982) definió dentro del género *Agave* dos subgéneros *Littae* y *Agave*. La taxonomía a nivel de especie comúnmente resulta difícil, ya que establecer los límites no es fácil como consecuencia de la alta variación morfológica en el género (Verduzco-Martínez *et al.*, 2009). La clasificación taxonómica del género *Agave* ha generado diferencia de opiniones, ya que individuos, aun siendo de la misma especie y de una misma población, pueden presentar una alta variación genotípica y fenotípica.

### **2.1.3. Distribución**

El género *Agave* es endémico de América (Verduzco-Martínez *et al.*, 2009). México es el área con mayor diversidad de especies en todo el mundo, de un total de 210 especies, México cuenta con 159 y 119 son endémicas (García-Mendoza, 2012). Se localizan principalmente en regiones con climas áridos y semiáridos, con altitudes entre 100 hasta 3500 msnm (García y Solano, 2007).

*Agave durangensis* crece entre 1700 a 2600 msnm, en el sur del estado de Durango, en una pequeña parte aledaña del norte del estado de Zacatecas que colinda con Durango (González-Elizondo *et al.*, 2009). Las colonias de la especie crecen de forma dispersa sobre caminos rocosos y bajadas con grava en pastizales. En el estado de Durango, los principales municipios que son ricos en esta especie son

Durango, Mezquital y Nombre de Dios. López-Serrano *et al.* (2021) generaron un mapa de distribución potencial de *Agave durangensis* con base en variables bioclimáticas como predictores (Figura 2) Las áreas identificadas como de mayor idoneidad para el crecimiento de la especie corresponden a su potencial productivo en términos espaciales; aunque también pueden orientar el establecimiento de áreas de conservación y programas de reforestación de la especie



**Figura 2.** Clases de idoneidad ambiental-climática para *Agave durangensis* Gentry generadas a partir de modelos de distribución potencial (López-Serrano *et al.*, 2021)

#### 2.1.4. Reproducción y propagación

La reproducción de las especies de *Agave* puede ser sexual, asexual o una combinación de ambos. La reproducción sexual implica la producción de semillas, que se originan a partir de un cigoto mientras (Arizaga y Ezcurra, 2002). La reproducción sexual ocurre mediante la polinización, llevada a cabo principalmente por animales como murciélagos y, en menor medida, por insectos diurnos y nocturnos, como palomillas y abejas, además de aves como colibríes y percheras. El tipo de polinizador puede depender de la forma de la inflorescencia, ya sea paniculada o espigada (Eguiarte *et al.*, 2021). Por otro lado, la reproducción asexual involucra la producción de ramificaciones vegetativas o clones, que se originan a partir de puntos meristemáticos (Arizaga y Ezcurra, 2002).

Ciertas especies de *Agave*, como *A. salamiana*, *A. angustifolia*, y *A. durangensis*, entre otras, tienen un sistema de reproducción de tipo monocárpico, en el que la planta florece una vez en su vida y muere después de reproducirse. Otras especies son policárpicas como *A. stricta* y *A. chiapensis*, en las que solo muere la roseta, pero no el individuo completo (García, 2007). Aguirre *et al.* (2001) señalan que las semillas de las especies del género son abundantes, carecen de latencia y presenta una alta viabilidad y germinación de manera rápida y uniforme.

La reproducción sexual, al generar alta variabilidad por recombinación genética, brinda a las plantas un mayor potencial de adaptación a cambios en el medio ambiente, como la presencia de patógenos o cambios climáticos. La reproducción asexual, en la que predomina una mayor uniformidad genética, puede ser eficiente en plantas que crecen en un ambiente estable y uniforme, permitiéndoles alcanzar más rápidamente la etapa reproductiva (Philbrick y Les, 1996).

Las sequías provocan altas pérdidas en plántulas jóvenes originadas por semilla, ya que no tienen suficiente capacidad para almacenar agua. Por esta razón, aproximadamente el 1% de las especies de *Agave* se reproduce por semilla mientras que el 99% lo hace por hijuelos (Nobel, 1998).

La reproducción de *A. durangensis* es principalmente por semilla, ya que la reproducción vegetativa es baja, solo del 3-6% de las plantas produce entre 1 y 4

hijuelos cada una (Hernández *et al.*, 2010). De acuerdo con Barriada *et al.* (2011) las semillas de *A. durangensis* tienen un porcentaje promedio de germinación *in vitro* superior al 95% a 25°C, mientras que a 15°C el porcentaje promedio disminuye en un 8%. Estos mismos autores señalaron que la diferencia en la capacidad de germinación de las semillas y el crecimiento de plántulas entre distintas poblaciones de *A. durangensis*, se debe a una alta variabilidad genética asociada a estas características. Por lo tanto, es importante explorar diferentes aspectos del vigor de las semillas para seleccionar las más aptas para programas de conservación de la especie y para el establecimiento de plantaciones.

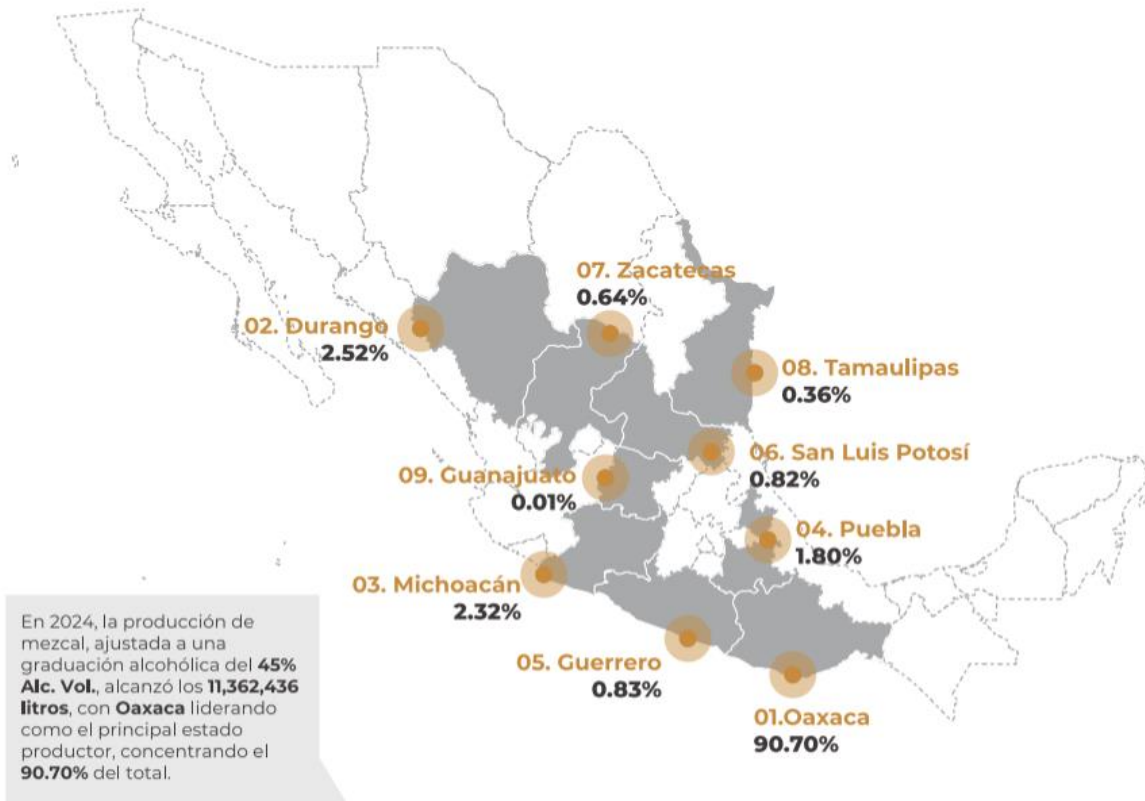
Orea *et al.* (2006) observaron que, a partir del día 12, las semillas de *A. durangensis* germinaron mejor a temperaturas de 20 y 25°C. Las plántulas germinadas a 25°C crecieron más rápido que aquellas germinadas a temperaturas menores o mayores. La germinación a temperaturas entre 15 y 30°C fue del 94-96% a los 26 días, valores superiores a los obtenidos en *Agave tequilana*, cuya germinación fue de entre 4 y 6%.

### **2.1.5. Importancia comercial**

*Agave durangensis* es de suma importancia económica, ecológica y cultural. Es un recurso estratégico para una creciente industria regional de mezcal que se distribuye en las zonas semiáridas al sur del estado de Durango, principalmente en los municipios de Nombre de Dios, Suchil, Durango y el Mezquital. Esta especie se ha aprovechado de manera empírica para producir mezcal con denominación de origen desde 1994 (Diario Oficial de la Nación, 1994), buscando alcanzar niveles de calidad y producción similares a los del tequila. La industria del mezcal tiene el potencial de desarrollo para convertirse en una fuente primordial generadora de empleos (Valenzuela *et al.*, 2003) (Rosas *et al.*, 2014).

El Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal, A.C. (COMERCAM), en su informe estadístico del 2024 (COMERCAM, 2025), señaló a Durango como el segundo estado con mayor producción de mezcal en el país durante el 2024. Oaxaca se posicionó en primer lugar con el 90.70%, seguido de Durango con el 2.52%. La producción nacional de mezcal a 45% de alcohol en 2024 alcanzó los

11,362,436 litros, y el 97.01% del total se categorizó como mezcal artesanal. El *Agave duranguensis* representó el 2.47% del agave utilizado en la producción total. De 3,161,393 litros envasados para mercado de exportación, Durango cuenta con el 0.94%, ocupando el séptimo lugar. El crecimiento es notable, en comparación con años pasados y con estados como Michoacán, Puebla, entre otros, como se puede observar en la Figura 3.



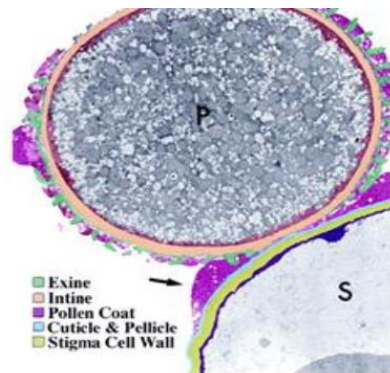
**Figura 3.** Producción de mezcal por estado referido a 45% Alc. Vol. (COMERCAM, 2025).

## 2.2. Polen

La palabra “polen” proviene del latín (*polleninis*) que significa “polvo muy fino” (Saenz de Rivas, 1987). El grano de polen es el elemento reproductivo masculino que contribuye a heredar los atributos de los individuos de una especie de planta de generación en generación a través de la polinización y la fecundación (Soejarto y Fonnegra, 1972).

El grano de polen se origina en el saco polínico, derivado de una célula madre que se desarrolla a partir del arqueosporio. Después del proceso de meiosis, se forma un conjunto de cuatro granos haploides que permanecen juntos hasta que se separan, generalmente, durante la maduración (De Boada y Cogua, 1989). El grano de polen funciona como una célula vegetal, formada principalmente por protoplasma y la pared celular (esporodermo). El esporodermo es diferente a la pared celular de las otras células vegetales, ya que es grueso y está formado por dos capas: la intrima (intina) y la externa (exina). La intina, está en contacto directo con la membrana celular, es delgada y está compuesta principalmente de celulosa. La exina, en cambio, es más gruesa y resistente, de naturaleza cerosa o resinosa, y está químicamente diseñada para evitar daños y proteger a la célula. Esta capa está compuesta en su mayoría por esporopolenina, y es la responsable de dar forma y tamaño al grano de polen (Figura 4) (Soejarto y Fonnegra, 1972; Ibarra-Morales y Fernández-Galán, 2012; Edlund *et al.*, 2004).

En la naturaleza, existe una gran variedad de tamaños y formas del polen, lo que se cree es una característica evolutiva que facilita la llegada del polen al estigma de la flor mediante diversos mecanismos de transporte como la gravedad (autopolinización), el viento, los insectos y otros animales, así como el agua (Soejarto y Fonnegra, 1972). Los granos de polen comúnmente tienen forma esférica o elíptica, aunque también pueden ser triangulares, semicirculares, ovalados e irregulares. Su diámetro varía entre 10 y 100  $\mu\text{m}$ , dependiendo de su origen, siendo la mayoría de 20-30  $\mu\text{m}$  (Bennett y Willis, 2001).



**Figura 4.** Cubierta interna (intina) y externa (exina) de grano de polen (Edlund *et al.*, 2004)

### **2.2.1. Composición**

Existe una gran variación en la composición química del polen, que depende de la especie, las condiciones climáticas, el tipo de suelo, el proceso y el periodo de recolección. Se han encontrado más de 200 compuestos en el polen de abeja de diferentes orígenes. Entre los más abundantes se encuentran las proteínas, con un porcentaje promedio de 22.7%, aminoácidos 10.4%, carbohidratos 30.8%, lípidos 5.1%, ácidos grasos 0.4%, compuestos fenólicos 1.6%, además de enzimas, coenzimas y volátiles en menor cantidad (Prdun *et al.*, 2021). Las vitaminas y bioelementos también son componentes valiosos del polen. Es una fuente de vitamina A, E y D, así como de vitaminas hidrosolubles como B1, B2, B6 y C, y de ácidos pantoténico, nicotínico y fólico. Los bioelementos están presentes en alrededor del 1.6%, e incluyen macronutrientes como calcio, fósforo, magnesio, sodio y potasio, y micronutrientes como hierro, zinc, manganeso, silicio y selenio (Komosinska-Vassev *et al.*, 2015). El nivel de aminoácidos esenciales es 5-7 veces más que lo encontrado en otros alimentos (Prdun *et al.*, 2021). La prolina es el aminoácido más abundante, seguido por la serina y alanina (Campos *et al.*, 2015).

El polen contiene además importantes bioactivos, como polifenoles, particularmente flavonoides, los cuales tienen propiedades antioxidantes (Prdun *et al.*, 2021). Entre los compuestos secundarios más comunes se encuentran los flavonoides y alcaloides, que incluyen derivados de espermidina, terpenos, ácido clorogénico y fenilpropanoides como el ácido rosmarínico, glucósidos de lignina y azúcares acilados. Los flavonoides más frecuentemente registrados son los derivados glucósidos de los flavonoles quercetina y canferol (Palmer-Young *et al.*, 2019). Además, se han detectado pequeñas moléculas aromáticas, carotenoides, jasmonatos y la mayoría de las fitohormonas clásicas (Campos *et al.*, 2021).

### **2.2.2. Condiciones de desarrollo del polen**

El desarrollo del polen y la fertilización se consideran las etapas más sensibles de la fase reproductiva en las plantas con flores. La fase reproductiva es muy sensible a los cambios de temperatura, donde un día caliente o una noche fría puede interrumpir el éxito reproductivo (Zinn *et al.*, 2010).

Los granos de polen son particularmente sensibles durante las primeras etapas de su formación, como en el desarrollo de la pared celular durante la microsporogénesis (formación de las microsporas) y la microgametogénesis (desarrollo de los granos de polen). En comparación, el polen de etapas posteriores, como la maduración y dehiscencia de la antera o en la fase progámica, durante la hidratación del polen o germinación (crecimiento y guía del tubo polínico), es más resistente a cambios ambientales (Raja *et al.*, 2019). En un estudio *in vitro* sobre el impacto de la temperatura en la germinación del polen de aceituna (*Olea europaea* L.), se encontró que la preincubación a 40°C impedía la germinación al disminuir significativamente la longitud del tubo polínico. Sin embargo, la incubación a 25°C y 30° incrementó la longitud del tubo de polen en todos los cultivares estudiados de *Olea europaea* (Koubouris *et al.*, 2009). En otro estudio el mayor porcentaje de germinación del polen de aguacate (*Persea americana*) se observó a 30°C en las variedades Maoz y Gvar 13 (Alcaraz *et al.*, 2011).

### **2.2.3. Desarrollo de gametofitos**

Las plantas con flores producen algunas células diploides que se someten a una división meiótica, resultando en un grupo de células haploides. En las anteras de las flores de plantas angiospermas se desarrollan los gametos (microsporas). En los ovarios que se encuentran en la base del pistilo, se forman los gametos femeninos (macrosporas) (Stanley y Linskens, 1974).

#### **2.2.3.1. Gametofito masculino**

Las anteras tienen dos lóbulos, cada uno con dos microsporangios alargados, dos de ellos conocidos como sacos polínicos, donde se desarrolla el polen. El desarrollo se divide en dos fases: microsporogénesis y microgametogénesis. Durante la microsporogénesis, las células del tejido esporógeno crean células madre de polen que se dividen para producir microsporas. Estas microsporas no están listas para continuar su desarrollo inmediatamente, por lo que se experimentan de 1 a 3 divisiones meióticas y pasan por un periodo de hibernación, conservando una estructura uninucleada, que puede durar de horas a meses. Durante la microgametogénesis, una vez pasado el tiempo de hibernación, se produce una

sola vacuola grande y ocurre la migración del núcleo de la microspora a una posición periférica contra la pared celular. La microspora experimenta mitosis y madura, convirtiéndose en un grano de polen multicelular. Una vez listo para germinar y crecer, se le denomina gametofito masculino multicelular. El desarrollo de los granos ocurre en las siguientes etapas generales (Stanley y Linskens, 1974; Borg *et al.*, 2009):

1. Transformación de la microspora, incluida la desintegración de la tétrada, formación de membrana, aumento del volumen con aumento del citoplasma y formación de vacuola.
2. Primera división meiótica y origen de las células vegetativas y generativas.
3. Diferenciación de la célula vegetativa y división de la célula generativa para formar dos células masculinas.

### **2.3. Importancia de la calidad del polen**

El conocimiento de la morfología de los granos de polen de diferentes orígenes botánicos permite realizar un seguimiento del medio ambiente y detectar regiones ecológicas desfavorecidas. En condiciones difíciles se desarrollan granos imperfectos, irregulares y anormales. El polen se estudia en función con su forma, tamaño, número de aperturas, espesor y tipo de esporoderma (Campos *et al.*, 2021).

Fernández (1990) define la calidad del polen en términos de fertilidad como la capacidad del gametofito masculino para fecundar el gametofito femenino y producir un cigoto. Diversos autores utilizan la evaluación de viabilidad y germinación como aspectos cruciales para determinar la calidad del polen, cada uno con metodologías diferentes (González *et al.*, 1999; Koyuncu y Tosun, 2005; Bonilla-Sánchez y Mosquera-Mosquera, 2019). Los estudios sobre la calidad del polen son fundamentales para las investigaciones relacionadas con la reproducción sexual de la planta. Las altas temperaturas pueden inhibir la floración, producción del polen y su viabilidad, por lo que limita la producción de semillas. El estrés por calor y la humedad son factores importantes que pueden generar estrés en la planta, ocasionando una disminución de nutrientes en la antera y, en consecuencia, un alto

porcentaje de abortos de células madre de polen, reduciendo el número de granos formados (González *et al.*, 2002).

Dado que los granos de polen pueden almacenarse en grandes cantidades en poco espacio, resultan útiles para ser utilizados en programas de conservación de especies endémicas, especialmente aquellas con problemas de conservación y en peligro de entrar a endogamia. Para implementar estos programas, es esencial contar con conocimientos sobre la viabilidad, germinación y morfología del polen, lo cual es fundamental para diseñar metodologías eficaces para resolver estas problemáticas (Fierro, 2021). En programas de mejoramiento Hanna y Towill (1995), recomiendan almacenar el polen de diversas especies a temperatura entre 4°C y -20°C durante periodos cortos, que pueden variar de días a un año, para que el polen se mantenga seco y viable.

### **2.3.1. Viabilidad del polen**

Guataquira *et al.*, (2019) describen la viabilidad como “la presencia de contenido celular al interior del grano y considerarlo vivo”. La viabilidad del polen varía entre especies y puede durar desde minutos hasta años, dependiendo del estado de la planta y las condiciones ambientales como temperatura y humedad (López y Rodríguez, 2008). El conocimiento de la viabilidad del polen es importante en programas de mejoramiento, ya que proporciona información sobre biología reproductiva, fertilidad, incompatibilidad, esterilidad e interacciones del polen.

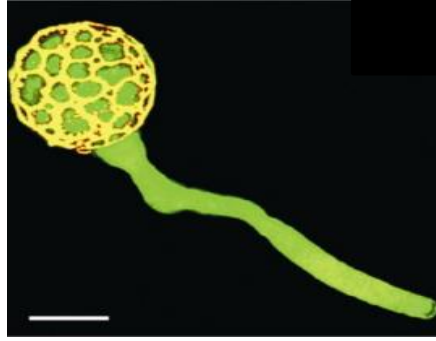
La evaluación de la viabilidad se puede realizar de forma directa e indirecta. La forma directa se basa en pruebas de germinación *in vitro* e *in vivo*, mientras que la indirecta se basa en la tinción citoquímica de los granos de polen. Las técnicas de tinción tienen como objetivo ver la tinción citoplasmática, el núcleo y la integridad de la membrana, mientras que las pruebas de germinación ofrecen una visión de la cantidad real de granos de polen viables en condiciones adecuadas, ya que los nutrientes del medio de crecimiento simulan el estigma del pistilo para que el tubo polínico pueda desarrollarse (Kadluczka *et al.*, 2021). Engelmann y Takagi (2000) indicaron que la viabilidad no siempre se relaciona con la germinación, ya que el

polen puede retener la capacidad de metabolizar mientras pierde su capacidad de germinar.

### **2.3.2. Germinación del polen**

Una fecundación deficiente puede ser ocasionada por una mala germinación del polen o por un crecimiento muy lento del tubo polínico, lo que resulta en una baja fructificación (Amaya y Ramirez, 2005). Tuinstra y Wedel (2000) definen la germinación como la capacidad del polen para generar el tubo polínico a través del cual viajará el núcleo espermático para fertilizar al óvulo (Figura 5). La germinación del polen y el crecimiento del tubo polínico se divide en cuatro fases: fase de inhibición, fase de elongación, fase de iniciación del tubo y fase de rápida elongación del tubo. Este proceso se ve afectado por la temperatura, la osmolaridad del medio y la disponibilidad de sacarosa, calcio, zinc y boro (Patel y Mankad, 2014).

Para que ocurra la fertilización, la célula germinal masculina debe ponerse en contacto con el óvulo, comenzando con la llegada del grano de polen al estigma. Si el polen es compatible, se hidrata y germina. Durante el proceso de germinación, se define un área específica de la membrana plasmática donde comenzará el crecimiento de la punta, promoviendo un desarrollo direccional y el alargamiento del tubo, cuyo tiempo de ocurrencia depende de la especie. Durante la elongación del tubo polínico, el citoplasma, el núcleo y células espermáticas son transportadas a través de este. Los tejidos femeninos generan señales que atraen el tubo hacia el óvulo (Krichevsky *et al.*, 2007). Gaudet *et al.* (2020) demostraron que el polen de *Cannabis* en distintas etapas de crecimiento estaba relacionado con su desarrollo y capacidad de germinación.



**Figura 5.** Grano de polen que ha desarrollado el tubo polínico (López y Rodríguez, 2008)

El estudio de la fertilidad del polen de ocho especies silvestres de papa y una domesticada concluyó que el método de germinación *in vitro* es el más confiable para determinar la fertilidad del polen. El método de tinción se puede usar para la discriminación cuando se tiene gran cantidad de genotipos (González *et al.*, 1992).

En la descripción morfológica y viabilidad de polen de *Nothofagus nervosa* (Nothofagaceae) se encontró una correlación entre la viabilidad calculada por germinación *in vitro* y germinación *in vivo*, pero una correlación menor entre germinación *in vitro* y la viabilidad por tinción. Por lo tanto, se recomienda utilizar la germinación *in vitro* para resultados más precisos de la viabilidad del polen y monitorear su viabilidad durante el almacenamiento a largo plazo (García *et al.*, 2015).

Ludlow y Ojeda (1983) encontraron que las pruebas de viabilidad del polen del género *Agave* pueden ayudar a comprobar si la variación en la morfología de los granos de polen está estrechamente relacionada con la reproducción vegetativa. La reproducción sexual en *Agave* probablemente ha disminuido dentro de las estrategias adaptativas de este género, por lo que las pruebas de viabilidad podrían ayudar a determinar el valor cuantitativo de la reproducción sexual. Shivanna *et al.* (1991) sometieron el polen de *Agave sp.* a estrés de humedad relativa (>95% HR) y temperatura (38°C y ambiente de laboratorio). El polen de esta especie demostró una alta esterilidad, con solo 40% de los granos de polen sanos, mientras que el resto fueron granos vacíos y encogidos.

Evaluaciones de viabilidad y germinación en diferentes especies, incluyendo *Cannabis sativa*, caracterizando la tasa de no abortos por tinción química y la viabilidad mediante germinación *in vitro*, indican que no se puede predecir la viabilidad del polen a partir de tasas de no aborto, ni predecir la aptitud gametofítica masculina a partir de una sola medida (Wizenberg *et al.*, 2022). López y Rodríguez (2008) establecieron métodos simples para evaluar la germinación y preservar el polen de *Agave tequilana* Waber var azul y *Agave angustifolia* Haw, demostrando que el aceite de oliva es un medio eficiente para la conservación del polen durante al menos seis meses a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **2.3.3. Relación de proteínas y fenoles en la calidad reproductiva del polen**

El polen es rico en compuestos fenólicos, entre ellos los taninos, los cuales cuentan con importantes propiedades biológicas. Estas sustancias dan al polen una gran capacidad antioxidante, la cual es fundamental para la protección de las células frente al daño oxidativo (Leja *et al.*, 2007). Diversos estudios han confirmado que el polen contiene una alta concentración de polifenoles que varía según la especie, región geográfica y condiciones de recolección. Entre estos compuestos, los taninos cumplen un papel importante como antioxidante, contribuyendo a la neutralización de especies reactivas de oxígeno (ROS), secuestradores de radicales libres, protegiendo estructuras celulares sensibles como el ADN, proteínas y lípidos de la membrana (Campos *et al.*, 2003; Pascoal *et al.*, 2014).

Los flavonoides pueden desempeñar funciones primarias importantes como regular el crecimiento de plantas, la fertilidad del polen y la inhibición de la germinación del polen heteroespecífico competidor (Zonneveld *et al.*, 2001). Además, se han descubierto funciones fisiológicas adicionales de los flavonoides, como inducir la germinación del polen y el alargamiento del tubo polínico en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y petunia (*Petunia hybrida*) (Ylstra *et al.*, 1992), así como en el sistema reproductivo de *Arabidopsis thaliana* (Kim *et al.*, 1996).

Las proteínas, al ser componentes abundantes en el polen, constantemente están cumpliendo una función desde el momento en que el polen se activa para interactuar con el pistilo a través de proteínas, seguido de la germinación, y actuando como

enzimas en el crecimiento del tubo polínico (Dai *et al.*, 2007; Roulston *et al.*, 2000; Edlund *et al.*, 2004). Diversas proteínas juegan un papel importante en el crecimiento del tubo polínico, entre ellas la proteína ROP, que se encarga de la unión a GTPasas y está involucrada en la dinámica de la actina y el establecimiento de un gradiente de calcio en las puntas de los tubos, además de ROP INTERACTING CRIB-CONTAINING1, actúan para dirigir la entrega de vesículas secretoras. Principalmente, las proteínas funcionan como señalizadoras (Edlund *et al.*, 2004).

### III. JUSTIFICACIÓN

El *Agave durangensis* es una especie de gran importancia económica y ecológica para el Estado de Durango, especialmente en municipios como Nombre de Dios, Súchil y El Mezquital. Es el recurso fundamental para la producción de mezcal con denominación de origen en la región, lo que ha generado una alta demanda de plantas como materia prima. Actualmente, gran parte de esta materia prima provienen de poblaciones silvestres. El aumento de la demanda está provocando una reducción del número y tamaño de las poblaciones silvestres de la especie, lo que puede poner en riesgo su supervivencia.

Hasta donde fue posible investigar para la realización del presente trabajo, no se encontraron estudios sobre la viabilidad y germinación del polen de *A. durangensis*, a pesar de la importancia de estas estructuras en la reproducción de la especie. Dado que la reproducción es especialmente por semillas, el conocimiento del gametofito masculino y la variación de su calidad en diferentes condiciones podría ser clave para el desarrollo de programas de conservación de poblaciones naturales y de mejoramiento de la especie. Este conocimiento es vital para establecer plantaciones que puedan abastecer a la industria regional de mezcal.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo general

Determinar la viabilidad y germinación del polen de *Agave durangensis* almacenado a dos temperaturas y diferentes tiempos, así como su asociación con el contenido de compuestos fenólicos, taninos y proteínas.

### 4.2. Objetivos específicos

1. Determinar la viabilidad del polen de *Agave durangensis*, bajo dos condiciones de temperatura (4°C y temperatura ambiente), durante diferentes periodos de almacenamiento (1, 2, 4, 8, 16, 30, 60, 120, 180 días).
2. Determinar la germinación del polen de *Agave durangensis* por cultivo nutritivo, bajo las mismas condiciones.
3. Determinar los contenidos de proteínas y su asociación con la viabilidad y germinación del polen durante dos meses.
4. Determinar los contenidos de compuestos fenólicos y su asociación con la viabilidad y germinación del polen durante dos meses.
5. Determinar los contenidos de taninos condensados y su asociación con la viabilidad y germinación del polen durante dos meses.
6. Caracterizar la morfología del polen mediante diferentes técnicas de microscopía.

## **V. HIPÓTESIS**

La viabilidad y capacidad de germinación del polen de *Agave durangensis* serán afectadas por la temperatura y el tiempo de almacenamiento de manera relacionada al contenido de compuestos fenólicos, taninos y proteínas.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Toma de muestra

Al inicio del desarrollo del escapo de los agaves (junio de 2024), se etiquetaron e identificaron 5 individuos (01, 02, 03, 04 y 05) del vivero del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Durango del Instituto Politécnico Nacional (24°03'05"N, 104°36'41"O).

Una vez que comenzó el desarrollo floral, se seleccionaron las panículas que tuvieron las flores con anteras inmaduras y se colocaron en el laboratorio a madurar (Figura 6) (Rodríguez-Garay *et al.*, 2018). Durante los primeros días de la dehiscencia de las anteras el polen se recogió utilizando una brocha para golpear o cepillar las flores dehiscentes, permitiendo que el polen cayera en una caja Petri.



**Figura 6.** Maduración de anteras en contenedor de agua para una mejor recolección del polen

### 6.2. Almacenamiento

El polen fue secado durante 1 h temperatura ambiente, después se prepararon 24 alícuotas de 50 mg por individuo, las cuales se colocaron en tubos Eppendorf de 2 mL. Las muestras se almacenaron bajo dos condiciones experimentales: a temperatura ambiente ( $23.5 \pm 1.3^\circ$ ) y en condiciones de refrigeración a  $4^\circ\text{C}$ ,

utilizando perlas de sílica como desecante y frascos herméticos para tener un ambiente casi controlado. Los análisis se realizaron en los días 1, 2, 4, 8, 16, 30, 60, 120 y 180 del periodo de almacenamiento (Wizenberg *et al.*, 2022).

### **6.3. Viabilidad**

Dos horas antes del análisis de viabilidad, el polen maduro se fijó en fijador de Carnoy (6ml de alcohol, 3 ml de cloroformo y 1 ml de ácido acético) (Peterson *et al.*, 2010).

La estimación de la viabilidad se realizó con el método de tinción de Alexander, según Peterson *et al.* (2010). La solución de tinción se preparó añadiendo los componentes en el orden que se indica a continuación y se almacenó en oscuridad.

- 10mL de alcohol al 95%
- 1 mL de verde malaquita (solución al 1% en 95% alcohol)
- 50 mL de agua destilada
- 25 mL de glicerol
- 5 mL Fucsina ácida (solución al 1% en agua)
- 0,5 mL Naranja G (solución al 1% en agua)
- 4 mL de ácido acético glacial
- Agua destilada (4,5 mL) hasta un total de 100 mL.

Se aplicaron de 2 a 4 gotas de la solución colorante en portaobjetos, conteniendo la muestra. Se calentó lentamente el portaobjetos sobre un mechero de alcohol en una campana de extracción hasta que la solución de tinción estuvo a punto de hervir (Aprox. 30 segundos). Se movió brevemente el portaobjetos dentro y fuera de la llama, esto para garantizar que el tinte se haya absorbido por completo en los granos de polen. Se colocó un cubreobjetos sobre la muestra y se aplicó presión uniforme sobre el cubreobjetos para garantizar que el tinte cubra uniformemente los granos.

Los portaobjetos se examinaron en microscopio con un aumento de 10x y se contaron los granos de polen viables (citoplasma teñido rojo) y no viables

(citoplasma teñido verde), la viabilidad del polen se expresó como porcentaje de polen viable (por individuo).

#### **6.4. Germinación**

El polen se esparció en 40  $\mu$ L de medio de acuerdo con Brewbaker y Kwack, (1963) con diferentes concentraciones de cinco componentes nutricionales y sin esterilizar: sacarosa a 100 gr/L, ácido bórico a 100 mg/L, nitrato de calcio a 300 mg/L, sulfato de magnesio a 200mg/L, nitrato de potasio a 100 mg/L. Los experimentos se realizaron en la superficie de portaobjetos, después los portaobjetos se transfirieron a una cámara húmeda (caja Petri con papel filtro humedecido en el fondo). Las cajas Petri se incubaron en condiciones de oscuridad durante 2 horas a 24°C. Se evaluó la germinación de los granos de polen bajo un microscopio con un aumento de 10X. La germinación se cuantificó como el porcentaje de granos de polen germinados (por triplicado), se consideró un grano germinado cuando el tubo polínico emergió a través de la ectoapertura y cuando la longitud del tubo fue mayor que el diámetro del grano de polen (López y Rodríguez, 2008).

#### **6.5. Extracción de proteínas totales**

Para la extracción de proteínas totales, se siguió el método propuesto Sammour *et al.* (2007), en donde se pesaron 50 mg de polen seco y se homogenizaron en 1 mL de una solución amortiguadora compuesta por Tris-HCl 250 mM pH 7, glicerol al 10% (v/v) y SDS al 1% (p/v), ajustada a pH 7 y aforada a 100 mL. La muestra se calentó durante 5 minutos a 95°C en un termoblock, después se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido fue recuperado para su posterior análisis.

#### **6.6. Contenido proteico**

El contenido de proteínas totales se determinó mediante el método de Bradford (1976), en donde se preparó medio litro de reactivo a las siguientes concentraciones: 0,01% p/v coomassie brilliant blue G-250, 4,7% p/v etanol y 8,5% p/v ácido fosfórico.

Para el análisis, se tomaron alícuotas de 20  $\mu\text{L}$  del extracto proteico concentrado, las cuales se mezclaron con 80 $\mu\text{L}$  de agua destilada y 1 mL del reactivo Bradford. Las muestras se incubaron durante 15 min a temperatura ambiente y oscuridad y se registraron los valores de absorbancia a 595 nm. La concentración de proteínas totales se calculó con base en una curva estándar de albumina ( $A_{595} = 3.6873[\text{albumina}] + 0.1185$ ,  $R^2 = 0.9934$ ). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de albumina por gramo de polen (mg EA/g polen)

### **6.7. Extracción para fenoles y taninos**

La preparación de los extractos se realizó a partir de polen seco, siguiendo el método de Almaraz-Abarca *et al.* (2007). Se pesaron 50 mg de polen y se extrajeron en 1mL de una solución acuosa de metanol (80% v/v). La mezcla se sonicó durante 1 h, después se centrifugó por 10 minutos a 6000 rpm. El sobrenadante fue recuperado y utilizado para los análisis posteriores. A partir de estos extractos se tomaron alícuotas para la determinación del contenido fenólico y taninos condensados.

### **6.8. Compuestos fenólicos**

El contenido de fenoles totales se determinó mediante el reactivo Folin-Ciocalteu, siguiendo la metodología de Singleton y Rossi (1965), con ligeras modificaciones. Se tomaron alícuotas de 20  $\mu\text{L}$  del extracto total, se mezclaron con 80  $\mu\text{L}$  de agua destilada y se añadió 500 mL de solución de Folin Ciocalteu. La mezcla se dejó reposar durante 4 min a temperatura ambiente. Pasado el tiempo, se agregaron 400  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio ( $\text{NaCO}_3$ ) al 7.5% p/v, las muestras se incubaron durante 2 h a temperatura ambiente y oscuridad. Se registraron los valores de absorbancia a 765 nm. El contenido de compuestos fenólicos se calculó a partir de una curva estándar de ácido gálico ( $A_{765} = 7.9602[\text{ácido gálico}] + 0.0037$ ,  $R^2 = 0.997$ ). El contenido de CF se expresó como miligramos equivalentes a ácido gálico por gramo de polen (mg EAG/g polen).

### **6.9. Taninos condensados**

La concentración de taninos condensados se determinó a partir de los extractos totales de acuerdo con Julkunen-Titto (1985). Se mezclaron alícuotas de 62.5  $\mu\text{L}$  del extracto con 375  $\mu\text{L}$  de vainillina al 4% y 187.5  $\mu\text{L}$  de ácido clorhídrico (HCl) concentrado. La mezcla se incubó por 20 minutos a temperatura ambiente y oscuridad. Se registraron los valores de absorbancia a 500 nm. El contenido de TC se calculó a partir de una curva estándar de epicatequina ( $A_{500} = 1.8392[\text{epicatequina}] + 0.0026$ ,  $R^2 = 0.9958$ ). Los resultados fueron expresados en miligramo equivalente de epicatequina por gramo de polen (mg EE/ g polen)

### **6.10. Análisis de datos**

Considerando la normalidad y homogeneidad de los datos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Duncan para evaluar diferencias estadísticas entre tiempos de almacenamiento y temperaturas de cada uno de los análisis realizados, utilizando los softwares InfoStat versión 2020 y GraphPad Prism 8 versión 10.0.2. Además, se aplicó una correlación de Pearson para evaluar la relación entre viabilidad y germinación, además de estas variables y compuestos fenólicos, taninos y proteínas con el programa R versión 4.4.1.

### **6.11. Caracterización de morfología del polen**

La caracterización se hizo mediante microscopia de luz óptica, electrónica de barrido (MEB) y electrónica de transmisión (MET), solo se tomaron en cuenta el almacenamiento a temperatura ambiente ya que es el que mejor representa las condiciones por las que pasa el polen. Se obtuvieron las mediciones en microscopio compuesto digital de luz óptica Motic BA310 en aumento de 100X de los granos de polen con 15 repeticiones por individuo. Las principales mediciones utilizadas para la descripción fueron: P (longitud polar), E (anchura ecuatorial) ambos medidos en corte óptico meridiano, además de anchura de exina y anchura del colpo.

Para la Microscopia Electrónica de Barrido, los stubs se metalizaron en una fina capa de oro paladio en una unidad de recubrimiento por pulverización catódica (sputter coating unit) Polaron Quiment Limited SEM E5000. Se observaron y

fotografiaron los granos de polen en microscopio óptico de barrido Hitachi SU70. Para la Microscópica Electrónica de Transmisión se prepararon las muestras de acuerdo a (Saenz, 1978), una vez obtenidas las delgadas capaz de resina se observaron y fotografiaron los granos de polen en Microscopio Electrónico de Transmisión FEI Tecnai Spirit.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. Viabilidad

En la Tabla 1 se muestra la evaluación de la viabilidad del polen de *Agave durangensis* almacenado a dos temperaturas (4°C y temperatura ambiente) durante 180 días, la cual muestra una reducción gradual en su viabilidad conforme avanzó el tiempo. Al inicio del almacenamiento, los niveles de viabilidad fueron altos, oscilando entre el 90.8% y el 95.9%, lo que indica una buena calidad del material intracelular al momento de la recolección. De acuerdo con Stanley y Linskens (1974), la viabilidad del polen suele ser más alta en la mayoría de las especies vegetales cuando la humedad relativa se mantiene por debajo del 60%.

Con el paso del tiempo, la viabilidad del polen tendió a disminuir tanto a 4°C como a temperatura ambiente. La Tabla 1 muestra los porcentajes de viabilidad por individuo durante seis meses bajo ambas condiciones de almacenamiento. Se observa que algunos individuos, como el 01 a 4°C y el 03 a temperatura ambiente, no presentan variaciones significativas en su viabilidad a lo largo del tiempo. En contraste, los demás individuos sí muestran diferencias significativas entre los distintos periodos de evaluación en ambas temperaturas, siendo el día 60 cuando se presentan los principales cambios.

En cuanto al almacenamiento a 4°C, el polen mostró una leve disminución en su viabilidad durante los primeros 8 días, siendo a partir de este momento cuando las diferencias entre los tiempos comenzaron a ser significativas (Figura 7). En esta condición, la viabilidad se mantuvo relativamente estable, registrando una reducción del 6.54% al finalizar el experimento (día 180). De manera similar, el comportamiento del polen a temperatura ambiente siguió una tendencia a la observada a 4°C (Figura 7), aunque las diferencias significativas entre los tiempos de almacenamiento se hicieron evidentes a partir del día 30, alcanzando una disminución del 7.83% al día 180. Kadri *et al.* (2022) reportaron resultados donde la viabilidad del polen almacenado a 28 y 4°C no tuvo diferencias significativas durante los primeros tres meses; sin embargo, a largo plazo a 28°C tuvo un impacto negativo más evidente. Del mismo modo, Aldahadha *et al.* (2020) señalaron que no hubo

diferencias en la viabilidad del polen entre temperatura ambiente y refrigeración durante las primeras cuatro semanas de almacenamiento. Por su parte, Khan *et al.* (2024) observaron diferencias significativas desde el primer día, con una disminución de casi el 50% de viabilidad en polen de trigo, alcanzando apenas un 30.9% al sexto día. Estos hallazgos indican que el comportamiento de la viabilidad depende principalmente del tipo de polen y su sensibilidad ante las condiciones ambientales.

En este estudio, no se encontró una interacción significativa entre la temperatura y el tiempo de almacenamiento ( $p > 0.05$ ), lo cual difiere con otros autores que reportaron una interacción significativa (Aldahadha *et al.*, 2020; Čalić *et al.*, 2021). Tampoco se observaron diferencias significativas en la viabilidad del polen entre las dos temperaturas evaluadas ( $p > 0.05$ ), a diferencia de lo reportado por Kadri *et al.* (2022) y Aldahadha *et al.* (2020) en temperaturas similares. Sin embargo, se detectan diferencias significativas en la viabilidad a lo largo del tiempo ( $p < 0.05$ ), que concuerda con los hallazgos de Khan *et al.* (2024) y Aldahadha *et al.* (2020).

Aunque no se observaron diferencias significativas de la viabilidad del polen en las temperaturas evaluadas, se observó una mayor disminución a temperatura ambiente. Varios estudios (Kadri *et al.*, 2022; Čalić *et al.*, 2021; Novara *et al.*, 2017) han reportado que las condiciones de almacenamiento influyen en la viabilidad del polen en distintas especies, siendo 4°C la temperatura que mejor preserva su viabilidad. La exposición a temperaturas elevadas podría acelerar el envejecimiento del polen, lo que conlleva daños en la integridad intracelular, aceleración de la actividad enzimática y acumulación de radicales libres, afectando negativamente su conservación a largo plazo (Taylor y Hepler, 1997). En promedio, la viabilidad se redujo en un 6.7% durante los seis meses de almacenamiento, lo cual es relativamente bajo y sugiere que el polen de *Agave durangensis* mantiene su potencial regenerativo bajo distintas condiciones. Este hallazgo podría ser útil para controlar el proceso de envejecimiento del polen y prolongar su preservación en el tiempo.

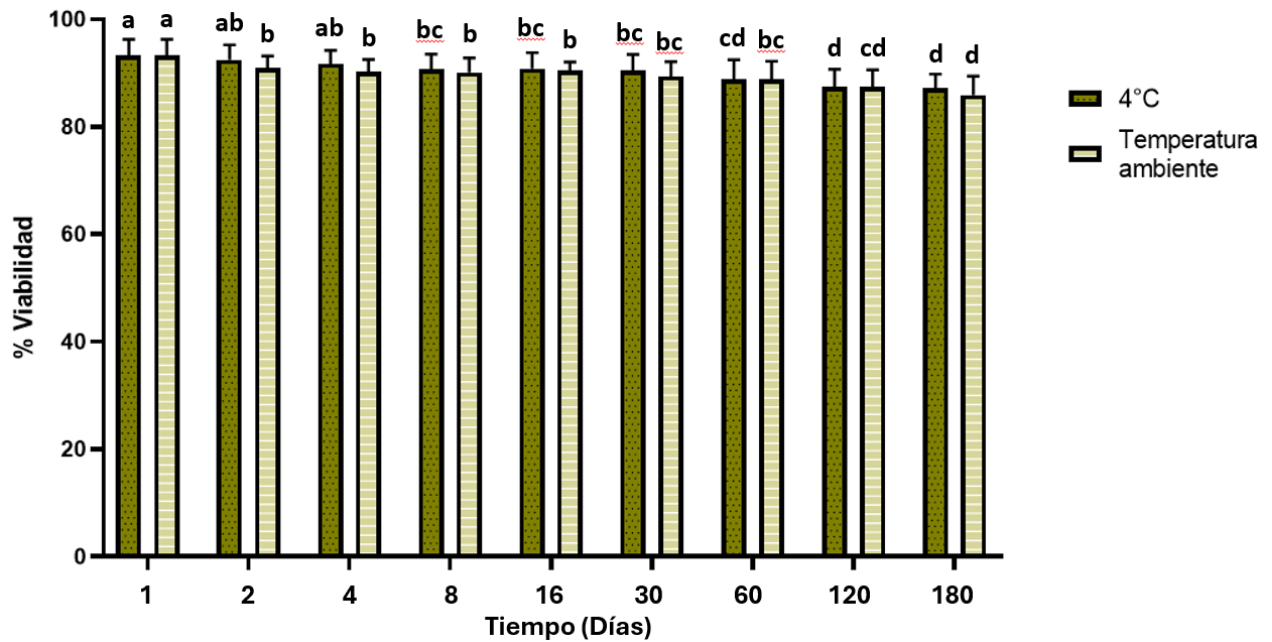
La viabilidad del polen está influenciada por diversos factores internos y externos, entre ellos la variabilidad genética y morfológica entre especies, las condiciones de crecimiento de las plantas madre y las técnicas aplicadas en la recolección y el manejo posterior a la cosecha (Barnabás y Kovács, 1997).

**Tabla 1.** Viabilidad del polen de *Agave durangensis*

Individuo / Temperatura	Viabilidad (%)								
	Día 1	Día 2	Día 4	Día 8	Día 16	Mes 1	Mes 2	Día 120	Día 180
01 - 4°C	92.5±4 <sup>a</sup>	92.2±3.1 <sup>a</sup>	91.7±2.5 <sup>a</sup>	91.7±2.1 <sup>a</sup>	91.8±3.1 <sup>a</sup>	89.5±1 <sup>a</sup>	89.8±1.5 <sup>a</sup>	88.7±0.4 <sup>a</sup>	88.4±1 <sup>a</sup>
02 - 4°C	91.5±1.7 <sup>a</sup>	90.6±2.2 <sup>a</sup>	90.5±2.2 <sup>a</sup>	89.2±1 <sup>a</sup>	89.3±0.7 <sup>a</sup>	88.9±2.5 <sup>a</sup>	<b>84.1±0.8<sup>b</sup></b>	83.9±1.5 <sup>b</sup>	83.5±0.8 <sup>b</sup>
03 - 4°C	90.8±2.5 <sup>a</sup>	90.1±2.5 <sup>ab</sup>	90.1±1.6 <sup>ab</sup>	90±0.9 <sup>ab</sup>	90.4±1.8 <sup>ab</sup>	90.4±3 <sup>ab</sup>	88.1 ±3.3 <sup>ab</sup>	<b>85.7±3.7<sup>b</sup></b>	85.6±2.2 <sup>b</sup>
04 - 4°C	95.9±1 <sup>a</sup>	95.4±1.1 <sup>a</sup>	95.3±0.8 <sup>a</sup>	94.7±2.0 <sup>a</sup>	94.7±0.2 <sup>a</sup>	94.9±0.9 <sup>a</sup>	93.9±1.1 <sup>a</sup>	<b>90.8±3.2<sup>b</sup></b>	90.1±0.9 <sup>b</sup>
05 - 4°C	95.5±2.4 <sup>a</sup>	94.1±1.5 <sup>ab</sup>	91.1±1.8 <sup>bc</sup>	<b>88±2<sup>c</sup></b>	87.9±2.9 <sup>c</sup>	88.4±2.8 <sup>c</sup>	88.4±1.5 <sup>c</sup>	88.2±1.9 <sup>c</sup>	88.1±1.5 <sup>c</sup>
01 - Ta	92.5±4 <sup>a</sup>	92.4±0.7 <sup>a</sup>	92±1.5 <sup>a</sup>	91.8±2.9 <sup>a</sup>	91.3±0.8 <sup>a</sup>	91.5±1.5 <sup>a</sup>	90.3±1.4 <sup>ab</sup>	89.3±1.3 <sup>ab</sup>	<b>87.1±0.5<sup>b</sup></b>
02 - Ta	91.5±1.7 <sup>a</sup>	89.8±1.8 <sup>a</sup>	88.7±0.3 <sup>ab</sup>	88±1.4 <sup>abc</sup>	87.3±3.9 <sup>abc</sup>	87.3±2.5 <sup>abc</sup>	<b>83±2<sup>bc</sup></b>	83.9±1.5 <sup>c</sup>	80±3 <sup>d</sup>
03 - Ta	90.8±2.5 <sup>a</sup>	88.6±1.6 <sup>a</sup>	88±3.2 <sup>a</sup>	88.5±2.1 <sup>a</sup>	91.4±2 <sup>a</sup>	88.4±2.9 <sup>a</sup>	85±3 <sup>a</sup>	86.8±2 <sup>a</sup>	86.6±2 <sup>a</sup>
04 - Ta	95.9±1 <sup>a</sup>	<b>92±0.6<sup>b</sup></b>	92.2±2.1 <sup>b</sup>	92.3±2 <sup>b</sup>	90.8±1.1 <sup>b</sup>	92.3±1.5 <sup>b</sup>	92.3±1 <sup>b</sup>	90.5±4.1 <sup>b</sup>	89.3±0.7 <sup>b</sup>
05 - Ta	95.5±2.4 <sup>a</sup>	92.2±3 <sup>ab</sup>	91.3±0.1 <sup>bc</sup>	90.1±2.8 <sup>bcd</sup>	89.4±1.5 <sup>bcd</sup>	87.5±0.2 <sup>cd</sup>	<b>86.9±3.5<sup>d</sup></b>	86.8±2.2 <sup>d</sup>	86.6±0.9 <sup>d</sup>

Valores medios y desviación de 3 repeticiones \*Ta, temperatura ambiente

Letras diferentes indican medias diferente entre los periodos de tiempo, prueba de Duncan (p<0.05).



**Figura 7.** Viabilidad de polen de *Agave durangensis* en diferentes tiempos y dos condiciones de almacenamiento

## 7.2. Germinación

En la Tabla 2 se muestra la evaluación de la germinación del polen de *Agave durangensis* almacenado a las mismas condiciones y tiempos antes mencionados, observándose una disminución progresiva en la germinación conforme avanzó el tiempo en ambas temperaturas. Al inicio del almacenamiento, los niveles de germinación fueron bajos, con valores que oscilaron entre el 51.7% y el 66.5%, esto podría sugerir, que al comienzo de la recolección no todos los granos tienen la capacidad de desarrollar un tubo polínico de forma exitosa.

A lo largo del tiempo, la germinación del polen presentó una disminución significativa tanto a 4°C como a temperatura ambiente. En la Tabla 2 se observan los porcentajes de germinación por individuo durante seis meses en ambas condiciones de almacenamiento. Se identificó que las diferencias más notables se presentan a partir del día 16, con una marcada reducción en los días 30 y 60. De manera particular, los individuos 01 y 02 mostraron diferencias significativas en la

germinación dependiendo de la temperatura de almacenamiento. Hay significancia en la interacción de la temperatura y el tiempo ( $p < 0.05$ ), como otros autores han reportado (Aldahadha *et al.*, 2020; Čalić *et al.*, 2021). Se encontró diferencia significativa en el porcentaje de germinación dada la temperatura ( $p < 0.05$ ) lo que coincide con Shekari *et al.* (2016) y Aldahadha *et al.* (2020), además de diferencias significativas en el tiempo ( $p < 0.05$ ), donde la temperatura a 4°C resultó ser la más adecuada para conservar la germinación.

La Figura 8 muestra el comportamiento en general de la germinación del polen en ambas temperaturas de almacenamiento. A 4°C, las diferencias significativas se observaron a partir del día 4 respecto al primer día, al final de tiempo de experimentación (día 180) hubo una reducción promedio del 58.75% de germinación. A temperatura ambiente estas diferencias significativas se registraron de igual forma a partir del día. En los días 120 y 180 se registró una reducción severa de la germinación del polen, alcanzado un promedio del 98.20% al día 180 respecto al día 1. Los autores presentan discrepancias en cuanto a los periodos de tiempo y la duración de la retención de la germinación, lo cual varía según la especie, tomando en cuenta que se utilizó un medio de germinación similar con compuestos principalmente de sacarosa y ácido bórico. Puede ser tan corto como en *Leonurus cardiaca* L. (Shekari *et al.*, 2016) donde la germinación a temperatura ambiente se retuvo hasta el día 20 y a 4°C hasta el día 50 o en *Pyrus spp* (Bhat *et al.*, 2012) donde a temperatura ambiente se retuvo solo 2 semanas y a 4°C un poco más de 12 semanas. Por otra parte, especies como *Paeonia ostii* (Li *et al.*, 2023) tienen la capacidad de retener más tiempo la germinación, a temperatura ambiente hasta 180 días y a 4°C más de 300 días. Hay que tomar en cuenta que se usaron medios de germinación similares, compuestos principalmente de sacarosa y ácido bórico.

La conservación de la germinación del polen a bajas temperaturas puede atribuirse al retraso de procesos degradativos, preservación de la estructura celular, reducción de actividad enzimática, estabilización de la membrana celular y/o reducción del estrés oxidativo (Beltrán *et al.*, 2019; Čalić *et al.*, 2021; Jiaqi *et al.*, 2025). Además,

el almacenamiento de polen a bajas temperaturas y con bajo contenido de humedad suele prolongar su longevidad (Dutta *et al.*, 2013), esto puede deberse a que la humedad residual que puede facilitar procesos enzimáticos no deseados como la proliferación microbiana (Ateyyeh, 2012). Se recomienda la temperatura de 4°C cuando se destina a polinización inmediata o con retrasos de algunas semanas (Ozcan *et al.*, 2019) y -20°C cuando es almacenamiento es a largo plazo (Bhat *et al.*, 2012; Won *et al.*, 1985).

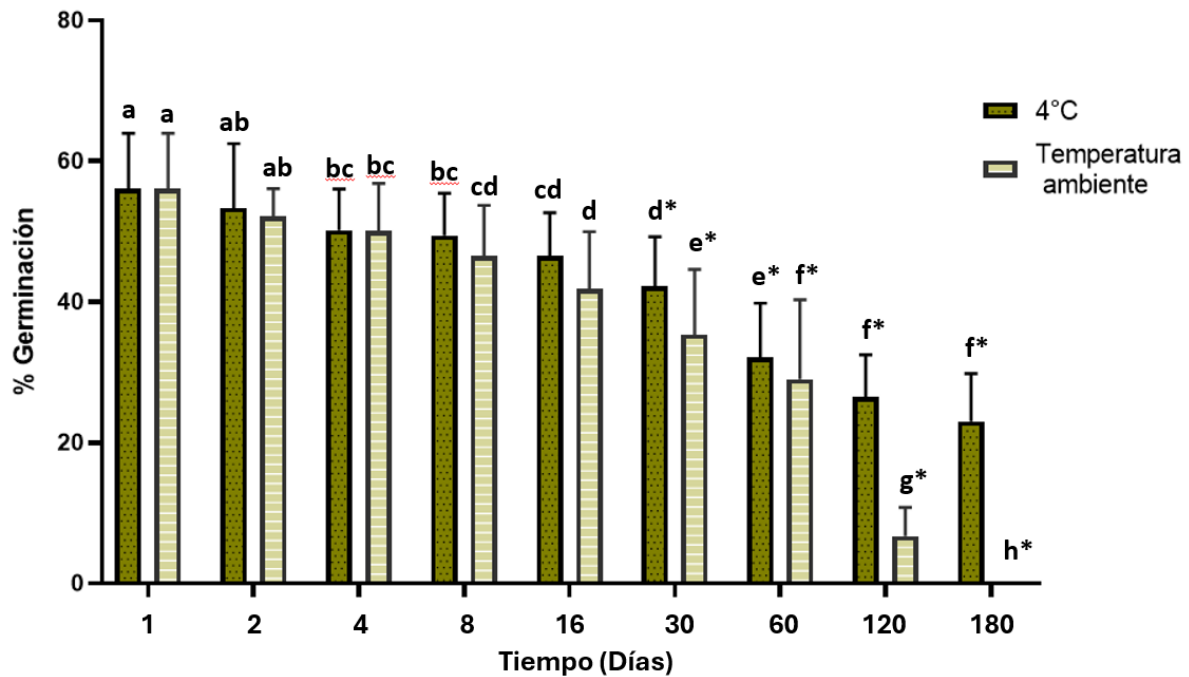
En general, los resultados sugieren que el almacenamiento a 4°C ayuda a preservar la capacidad germinativa del polen de *Agave durangensis* durante un período más prolongado en comparación con la temperatura ambiente. Sin embargo, la reducción progresiva observada en ambos tratamientos indica que la longevidad del polen es limitada, lo que resalta la importancia de establecer estrategias de almacenamiento óptimas para su conservación y uso en programas de reproducción o manejo genético.

**Tabla 2.** Germinación del polen de *Agave durangensis*

Individuo/ Temperatura	Germinación(%)								
	Día 1	Día 2	Día 4	Día 8	Día 16	Día 30	Día 60	Día 120	Día 180
01 - 4°C	66.5±5 <sup>a</sup>	66.1±10.3 <sup>ab</sup>	53.6±3.9 <sub>abc</sub>	53.2±1.9 <sup>bc</sup>	<b>52.2±9.2<sup>c</sup></b>	33.8±10.3 <sup>d</sup>	29.9±7.3 <sup>d</sup>	26.9±5.2 <sup>d*</sup>	22.6±4.8 <sup>d*</sup>
02 - 4°C	56.6±4.5 <sup>a</sup>	44.2±7.3 <sup>ab</sup>	51.5±3.9 <sup>ab</sup>	51.2±3.7 <sup>ab</sup>	47.6±7.6 <sup>abc</sup>	<b>41.2±3.4<sup>cd</sup></b>	35.6±2 <sup>de</sup>	30.3±3.4 <sup>ef*</sup>	24.9±7.4 <sup>f*</sup>
03 - 4°C	53.7±4.3 <sup>a</sup>	52.9±6.1 <sup>a</sup>	52.2±6.9 <sup>ab</sup>	50.5±9.5 <sup>ab</sup>	49.5±4.8 <sup>ab</sup>	47.3±4 <sup>ab</sup>	<b>40.4±6.7<sup>b</sup></b>	26.3±4.7 <sup>c</sup>	25.4±7.1 <sup>c</sup>
04 - 4°C	51.2±11.2 <sup>a</sup>	49.8±2.4 <sup>a</sup>	48.3±6.8 <sup>a</sup>	45.9±4.7 <sup>a</sup>	45.1±5.7 <sup>a</sup>	42.6±2.5 <sup>a</sup>	<b>30±7.8<sup>b</sup></b>	27.8±9 <sup>b</sup>	25.7±8.8 <sup>b</sup>
05 - 4°C	51.7±9 <sup>a</sup>	51.7±8.8 <sup>ab</sup>	47.2±5 <sup>ab</sup>	43.9±8.8 <sup>ab</sup>	<b>42.1±1.7<sup>b</sup></b>	41.7±9.6 <sup>b</sup>	24.3±7 <sup>c*</sup>	21.26.3 <sup>c</sup>	16.3±5.2 <sup>c</sup>
01 - Ta	66.5±5 <sup>a</sup>	55.6±6 <sup>ab</sup>	55.3±4.1 <sup>ab</sup>	52.9±5.8 <sup>bc</sup>	46.2±12.7 <sub>bcd</sub>	<b>42.2±6.8<sup>cd</sup></b>	39.3±5.7 <sup>d</sup>	11.6±1.3 <sup>e*</sup>	0±0 <sup>f*</sup>
02 - Ta	56.6±4.5 <sup>a</sup>	52.4±0.3 <sup>a</sup>	50.3±2.3 <sup>a</sup>	47.1±6.6 <sup>a</sup>	<b>35.8±8<sup>b</sup></b>	28.9±8.3 <sup>bc</sup>	21.5±12.4 <sup>c</sup>	8.2±2.3 <sup>d*</sup>	4.9±4.6 <sup>d*</sup>
03 - Ta	53.7±4.3 <sup>a</sup>	53.4±3.1 <sup>a</sup>	51.8±8.6 <sup>a</sup>	49.7±7.4 <sup>a</sup>	47±8.1 <sup>ab</sup>	44.3±7 <sup>ab</sup>	<b>36.9±1.8<sup>b</sup></b>	3.5±3.2 <sup>c</sup>	0±0 <sup>c</sup>
04 - Ta	51.2±11.2 <sup>a</sup>	49.1±4 <sup>ab</sup>	46.1±9.2 <sup>ab</sup>	41.1±5.2 <sub>abc</sub>	<b>38.9±0.5<sup>bc</sup></b>	31.5±9.5 <sup>c</sup>	18.2±2 <sup>d</sup>	8±2.9 <sup>de</sup>	0±0 <sup>e</sup>
05 - Ta	52.1±4.4 <sup>a</sup>	50.4±2.4 <sup>ab</sup>	46.8±7.4 <sup>ab</sup>	<b>41.9±7.2<sup>b</sup></b>	41.2±6.2 <sup>b</sup>	29.8±5.2 <sup>c</sup>	10.5±5.8 <sup>d*</sup>	2.3±2 <sup>de</sup>	0±0 <sup>e</sup>

Valores medios y desviación de 3 repeticiones \*Ta, temperatura ambiente

Letras diferentes indican medias diferente entre los periodos de tiempo, prueba de Duncan (p<0.05).



\*Diferencia significativa en la temperatura

**Figura 8.** Germinación de polen de *Agave durangensis* en diferentes tiempos y dos condiciones de almacenamiento

### 7.3. Compuestos fenólicos

En la Tabla 3 se presenta el contenido de compuestos fenólicos del polen de *Agave durangensis* almacenado durante 60 días a dos temperaturas: 4°C y temperatura ambiente. Se observa un comportamiento variable entre los distintos individuos. Al inicio del almacenamiento el contenido fenólico osciló entre 10.39 - 11.66 mg EAG/g polen.

En la Tabla 3 se muestra como varía el contenido fenólico de polen por individuo durante dos meses en las dos condiciones de almacenamiento. En particular algunos individuos como el 01 y 02 a una temperatura 4°C mostraron un aumento en el contenido de fenoles en los días 16 y 30. Otros, como los individuos 01, 04 y 05 a 4°C, así como el 02 a temperatura ambiente, mostraron una disminución

continua. El individuo 03 mantuvo niveles relativamente estables tanto a 4°C como a temperatura ambiente, con solo ligeras variaciones.

En general, el polen almacenado a 4°C presentó una disminución en su contenido de compuestos fenólicos, con diferencia significativa en los días 4 y 30 (Figura 9) y aumento en los días 8 y 16. Estas variaciones pueden estar relacionada con los mecanismos de adaptación ambiental, en los cuales se producen procesos de biosíntesis y degradación de fenoles (Mohammadrezakhani *et al.*, 2018). En esta temperatura los compuestos fenólicos se mantuvieron relativamente estables, con una reducción en promedio de 0.939 mg EAG/g polen (8.28%) al día 60. En cambio, el polen almacenado a temperatura ambiente mostró una disminución continua (Figura 9). Las diferencias significativas durante el tiempo fueron después del día 8 respecto al primer día. Se registró una reducción en promedio de 1.05 EAG/g polen (9.28%) al final del tiempo de experimentación. En general ambas condiciones permitieron una buena retención de compuestos fenólicos. No se encontraron diferencias significativas en el contenido de fenoles entre las dos temperaturas de almacenamiento ( $p > 0.05$ ), aunque la disminución fue ligeramente mayor a temperatura ambiente. Sin embargo, sí se detectaron diferencias significativas a lo largo del tiempo ( $p < 0.05$ ).

Se observaron distintos momentos en los que comienza la disminución del contenido fenólico, lo que sugiere que no hay una tendencia universal y que este comportamiento puede depender de varios factores. de Oliveira *et al.* (2017) en estudios con harina y granos de sorgo, no encontraron diferencias significativas entre la conservación a temperatura ambiente y a 4°C. En refrigeración se retuvo en promedio un 92.51% de los compuestos fenólicos, en comparación a 87.38% de la temperatura ambiente. La harina comenzó a mostrar pérdidas después de 120 días, mientras que los granos lo hicieron a partir de los 60 días, en ambas condiciones.

En el caso del café, Valadão *et al.* (2014) observaron una disminución del contenido de fenoles de 9.7% a 4°C y 14.9% a temperatura ambiente en un periodo de seis meses. Se detectó un pequeño aumento en las primeras semanas, seguido de una

disminución después del segundo mes. En la hierba *Piper betle* se encontró diferencia significativa en la temperatura, siendo la temperatura de 4°C quien tuvo la mejor retención, aunque las dos temperaturas muestran alta retención (Ali *et al.*, 2018). Hachef *et al.* (2024) demostraron que el contenido de compuestos fenólicos en el polen de *Phoenix dactylifera L.* se mantuvo estable durante un año a 4°C. Resultados similares se observaron en estudios con aceite de oliva virgen, donde la disminución a 4°C no fue estadísticamente significativa en un año y se observó una mejor retención a esa temperatura sin diferencias significativas entre las condiciones evaluadas (Brkić *et al.* 2014).

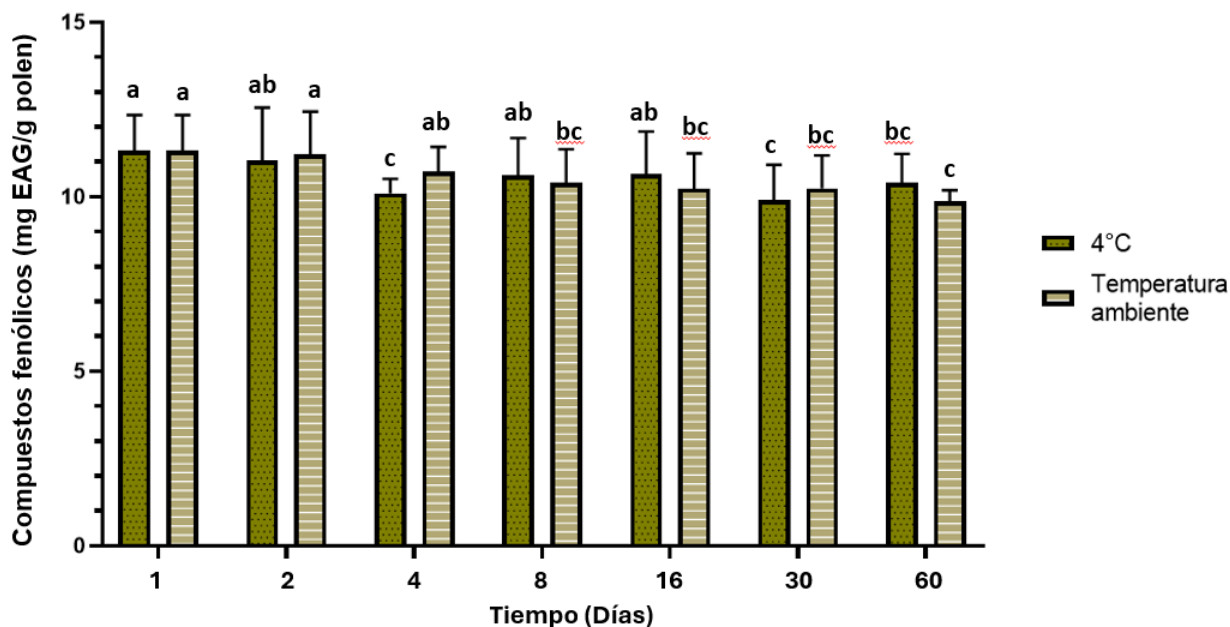
La variación en el contenido de compuestos fenólicos puede atribuirse a múltiples factores, incluyendo la diversidad genética, estrés ambiental, diferencia de ubicación de crecimiento, el método de extracción, la preparación de la muestra, entre otros (Rumbaoa *et al.*, 2009; Madiwale *et al.*, 2011). Asimismo, factores relacionados al almacenamiento como la luz, temperatura, el oxígeno y el pH, también influyen en la estabilidad de los compuestos. Son la hidrólisis y oxidación las principales causas de degradación, especialmente a altas temperaturas y en presencia de luz (Sharma *et al.*, 2016; Kearsley y Rodríguez, 1981).

**Tabla 3.** Compuestos fenólicos del polen de *Agave durangensis*

Individuo/ Temperatura	Compuestos fenólicos (mg EAG/g polen)						
	Día 1	Día 2	Día 4	Día 8	Día 16	Día 30	Día 60
01 - 4°C	11.66±0.05 <sup>a</sup>	10.72±0.46 <sup>d</sup>	10.57±0.03 <sup>d</sup>	10.93±0.28 <sup>cd</sup>	<b>11.33±0.03<sup>ab</sup></b>	10.66±0.04 <sup>d</sup>	<b>11.15±0.01<sup>bc</sup></b>
02 - 4°C	10.61±0.06 <sup>b</sup>	10.88±0.11 <sup>a</sup>	9.95±0.11 <sup>d</sup>	9.68±0.06 <sup>e</sup>	<b>10.61±0.08<sup>b</sup></b>	8.92±0.05 <sup>f</sup>	<b>10.34±0.02<sup>c</sup></b>
<b>03 - 4°C</b>	10.39±0.09 <sup>a</sup>	9.25±0.06 <sup>c</sup>	9.54±0.03 <sup>b</sup>	9.66±0.10 <sup>b</sup>	9.20±0.03 <sup>c</sup>	9.12±0.09 <sup>c</sup>	9.65±0.04 <sup>b</sup>
<b>04 - 4°C</b>	10.93±0.09 <sup>a</sup>	10.67±0.07 <sup>b</sup>	10.35±0.13 <sup>c</sup>	10.38±0.076 <sup>c</sup>	9.59±0 <sup>d</sup>	9.38±0.15 <sup>e</sup>	9.39±0.04 <sup>e</sup>
<b>05 - 4°C</b>	13.08±0.08 <sup>b</sup>	13.71±0.08 <sup>a</sup>	13.78±0.15 <sup>a</sup>	12.44±0.03 <sup>c</sup>	12.48±0.11 <sup>c</sup>	11.44±0.05 <sup>d</sup>	11.44±0.08 <sup>d</sup>
01 - Ta	11.66±0.05 <sup>a</sup>	11.62±0.31 <sup>a</sup>	11.13±0.09 <sup>b</sup>	10.88±0.10 <sup>b</sup>	10.62±0.16 <sup>c</sup>	10.52±0.05 <sup>c</sup>	10.26±0.03 <sup>d</sup>
<b>02 - Ta</b>	10.61±0.06 <sup>a</sup>	10.50±0.03 <sup>b</sup>	10.35±0.03 <sup>c</sup>	9.85±0.06 <sup>d</sup>	9.90±0.05 <sup>d</sup>	9.91±0.02 <sup>d</sup>	9.87±0.03 <sup>d</sup>
<b>03 - Ta</b>	10.39±0.09 <sup>a</sup>	9.56±0.07 <sup>b</sup>	9.56±0.12 <sup>b</sup>	9.38±0.15 <sup>bc</sup>	9.20±0.08 <sup>c</sup>	9.43±0.03 <sup>b</sup>	9.43±0.011 <sup>b</sup>
04 - Ta	10.93±0.09 <sup>b</sup>	<b>11.25±0.05<sup>a</sup></b>	<b>11.03±0.05<sup>b</sup></b>	9.88±0.01 <sup>c</sup>	9.51±0.04 <sup>d</sup>	9.27±0.06 <sup>e</sup>	9.92±0.07 <sup>c</sup>
<b>06 - Ta</b>	13.08±0.08 <sup>a</sup>	13.12±0.07 <sup>a</sup>	11.50±0.09 <sup>c</sup>	11.99±0.08 <sup>b</sup>	11.94±0.04 <sup>b</sup>	11.60±0.04 <sup>b</sup>	11.92±0.07 <sup>c</sup>

Valores medios y desviación de 3 repeticiones \*Ta, temperatura ambiente

Letras diferentes indican medias diferente entre los periodos de tiempo, prueba de Duncan (p<0.05).



**Figura 9.** Contenido fenólico de polen de *Agave durangensis* en diferentes tiempos y dos condiciones de almacenamiento

#### 7.4. Taninos

El contenido de taninos condensados en polen de *Agave durangensis* almacenado a 4°C y temperatura ambiente se presenta en la Tabla 4. Se observó una reducción progresiva en la concentración de taninos conforme avanzó el tiempo, en ambas condiciones de almacenamiento. Los niveles iniciales de taninos oscilaron entre 0.320 a 0.791 mg EE/g polen, siendo valores relativamente bajos en comparación con otras especies, además de mostrar variabilidad entre individuos.

A lo largo del periodo de almacenamiento la cantidad de taninos disminuyó significativamente tanto a 4°C como a temperatura ambiente. En la Tabla 4 se detallan las concentraciones por individuo durante los dos meses de observación. Se identificó que los individuos tienen diferencias significativas en la mayoría de los días de medición, aunque estas diferencias fueron menores en los días 30 y 60. Todos los individuos mostraron una reducción constante del contenido de taninos, con un patrón de comportamiento similares

La Figura 10 muestra la evolución en general del contenido de taninos condensados en el polen a ambas temperaturas. A 4°C, las diferencias significativas se

observaron en los días 2 y 8, con una reducción promedio de 0.384 mg EE/g polen (76.95%) al día 60. En temperatura ambiente las diferencias significativas fueron más evidentes desde los días 2, 4 y 60, alcanzando una disminución promedio de 0.399 mg EE/g polen (79.96%).

No se encontró diferencia significativa en la concentración de taninos condensados dada la temperatura ( $p < 0.05$ ), pero si diferencias significativas en el tiempo ( $p < 0.05$ ) donde la temperatura a 4°C mostró una ligera mejor retención del contenido.

Makkar y Becker (1996) reportaron disminuciones en el contenido de taninos desde las primeras 18 horas de almacenamiento a temperaturas de 0, 20 y 37°C, indicando que el aumento de temperatura, tiempo y pH favorece a su reducción. García y Santo *et al.* (2020) observaron disminuciones significativas en taninos en un almacenamiento de 180 días en granos de sorgo. Asimismo, Kardel *et al.* (2013) informaron una disminución de taninos 1% mayor a temperatura ambiente que a 4°C durante un año en diversas plantas.

Por otro lado, Madeiros *et al.* (2007) hallaron una disminución del contenido de taninos en dos genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), sin embargo, solo uno de ellos mostró diferencias significativas en la temperatura de 29 y 5°C. En un estudio sobre harina y granos de sorgo, de Oliveira *et al.* (2017) reportaron una alta estabilidad de los taninos durante 180 días, tanto a 4 como a 25°C, aunque con una pequeña mayor retención a 4°C.

Sievwright y Shipe (1986) explicaron que la disminución de taninos a temperaturas altas puede estar relacionada con la formación de complejos que se forman con macromoléculas, tornándose insolubles y precipitándose. Se sugiere que la polimerización ocurre a ambas temperaturas, pero que la unión a proteínas se produce solo o principalmente a temperaturas elevadas, donde se da la unión a una velocidad más rápida que la polimerización. Por otra parte, Dias (2016) concluyó que los taninos pueden sufrir procesos de polimerización durante el almacenamiento, especialmente a temperaturas elevadas, lo que lleva a la formación de compuestos de mayor peso molecular que pueden precipitar y ser menos soluble, reduciendo así la concentración de taninos condensados. Además,

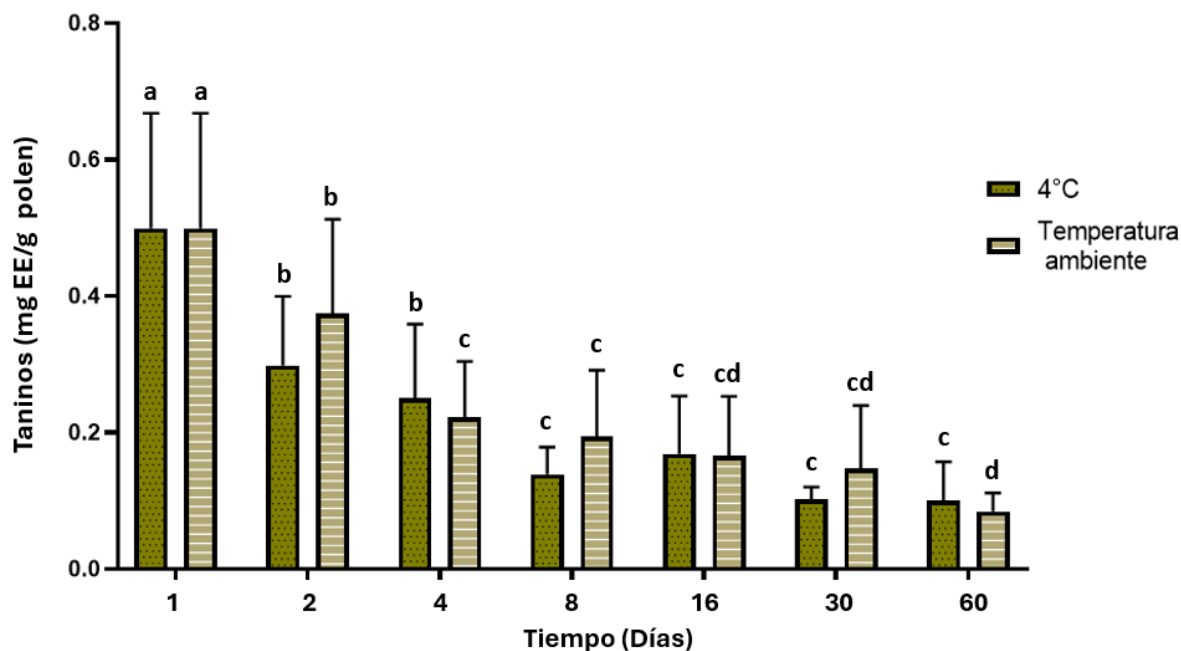
la oxidación en presencia de oxígeno y temperaturas elevadas puede acelerar su degradación, dando el ambiente adecuado para que este proceso pueda ser acelerado por enzimas como polifenoloxidasas (Teles, 2017).

**Tabla 4.** Taninos condensados del polen de *Agave durangensis*

Individuo/ Temperatura	Taninos Condensados (mg EE/g polen)						
	Día 1	Día 2	Día 4	Día 8	Día 16	Día 30	Día 60
01 - 4°C	0.45±0.04 <sup>a</sup>	<b>0.25±0.02</b> <sup>b</sup>	0.21±0.07 <sup>b</sup>	<b>0.12±0.02</b> <sup>c</sup>	0.12±0.02 <sup>c</sup>	0.09±0.02 <sup>cd</sup>	<b>0.05±0</b> <sup>d</sup>
02 - 4°C	0.41±0.02 <sup>a</sup>	<b>0.24±0.01</b> <sup>b</sup>	<b>0.14±0.01</b> <sup>c</sup>	0.11±0.01 <sup>c</sup>	0.11±0.01 <sup>c</sup>	0.12±0.02 <sup>c</sup>	<b>0.08±0.02</b> <sup>d</sup>
03 - 4°C	0.32±0.03 <sup>a</sup>	<b>0.24±0.03</b> <sup>b</sup>	<b>0.19±0.02</b> <sup>c</sup>	<b>0.13±0.03</b> <sup>d</sup>	0.12±0.01 <sup>d</sup>	0.09±0.02 <sup>de</sup>	<b>0.06±0</b> <sup>e</sup>
04 - 4°C	0.52±0.03 <sup>a</sup>	<b>0.33±0.03</b> <sup>b</sup>	0.30±0.10 <sup>b</sup>	<b>0.20±0.01</b> <sup>c</sup>	0.18±0.02 <sup>cd</sup>	<b>0.12±0.01</b> <sup>d</sup>	0.12±0.01 <sup>d</sup>
05 - 4°C	0.79±0.03 <sup>a</sup>	<b>0.54±0.05</b> <sup>b</sup>	<b>0.41±0.02</b> <sup>c</sup>	0.37±0.01 <sup>c</sup>	<b>0.32±0.03</b> <sup>d</sup>	<b>0.27±0.01</b> <sup>e</sup>	<b>0.20±0.01</b> <sup>f</sup>
01 - Ta	0.45±0.04 <sup>a</sup>	<b>0.23±0.02</b> <sup>b</sup>	<b>0.13±0.01</b> <sup>c</sup>	<b>0.08±0.01</b> <sup>d</sup>	0.07±0.01 <sup>d</sup>	0.06±0.01 <sup>d</sup>	0.07±0.01 <sup>d</sup>
02 - Ta	0.41±0.02 <sup>a</sup>	<b>0.28±0.02</b> <sup>b</sup>	<b>0.20±0.01</b> <sup>c</sup>	<b>0.16±0.01</b> <sup>d</sup>	0.14±0.01 <sup>d</sup>	<b>0.10±0.01</b> <sup>e</sup>	0.07±0.02 <sup>e</sup>
03 - Ta	0.32±0.03 <sup>a</sup>	0.31±0.02 <sup>a</sup>	<b>0.22±0.01</b> <sup>b</sup>	<b>0.19±0.01</b> <sup>c</sup>	<b>0.13±0</b> <sup>d</sup>	<b>0.09±0.01</b> <sup>e</sup>	<b>0.07±0.01</b> <sup>f</sup>
04 - Ta	0.52±0.03 <sup>a</sup>	<b>0.48±0.02</b> <sup>b</sup>	<b>0.21±0.01</b> <sup>c</sup>	<b>0.18±0.01</b> <sup>d</sup>	0.178±0.02 <sup>d</sup>	0.16±0.01 <sup>d</sup>	<b>0.12±0.02</b> <sup>e</sup>
05 - Ta	0.79±0.03 <sup>a</sup>	<b>0.58±0.03</b> <sup>b</sup>	<b>0.37±0.02</b> <sup>c</sup>	0.37±0.02 <sup>c</sup>	<b>0.32±0.01</b> <sup>d</sup>	0.31±0.02 <sup>d</sup>	<b>0.24±0.01</b> <sup>e</sup>

Valores medios y desviación de 3 repeticiones \*Ta, temperatura ambiente

Letras diferentes indican medias diferente entre los periodos de tiempo, prueba de Duncan (p<0.05).



**Figura 10.** Contenido de taninos del polen de *Agave durangensis* en diferentes tiempos y dos condiciones de almacenamiento

### 7.5. Proteínas

En la Tabla 5 se muestra la evaluación del contenido de proteínas totales del polen de *Agave durangensis* almacenado a dos temperaturas (temperatura ambiente y 4°C), observándose una tendencia general de reducción-aumento-reducción en ambas temperaturas. Al inicio del almacenamiento el contenido proteico osciló entre 7.28 y 10.20 mg EA/g polen. Durante un periodo de dos meses se analizó el contenido proteico por individuo bajo ambas condiciones. Se identificó que en la mayoría de los individuos hubo una disminución inicial en los primeros 4 días. No se observó una tendencia constante entre los individuos, todos presentaron variabilidad con fases de reducción seguidas por aumentos.

La Figura 11 muestra la evolución general del contenido de proteínas totales del polen bajo ambas temperaturas de almacenamiento. A 4°C, se detectaron reducciones significativas los días 8 y 60, mientras que en el día 30 se observó un aumento. La reducción promedio fue de 1.926 mg EA/g polen (17.94%) al día 60. A

temperatura ambiente las disminuciones significativas ocurrieron los días 4 y 30, con un aumento el día 16. Al final del periodo de experimentación se presentó una reducción promedio de 1.654 mg EA/g polen (20.89%).

Esta tendencia de disminuir-aumentar-disminuir podría estar relacionada a fases por las que pasan las proteínas durante el almacenamiento, primero las proteínas pueden sufrir desnaturalización y degradación debido a la oxidación, actividad enzimática y cambios en el pH. Después viene un aparente aumento, lo que puede ser la liberación de proteínas que habían estado unidas o atrapadas en estructuras celulares o degradación de grandes proteínas a proteínas pequeñas solubles y finalmente una disminución constante por la degradación de enzimas, microorganismos o reacciones químicas (Liu *et al.* 2022; Pathania *et al.*, 2019; Goldberg, 2003)

No se encontró diferencia significativa en el contenido proteico dada la temperatura ( $p > 0.05$ ), aunque si se observaron diferencias significativas en el tiempo ( $p < 0.05$ ). Bianchimano *et al.* (2014) reportaron diferencias significativas en el contenido de proteínas el polen del *Chenopodium album* L. de acuerdo con la temperatura durante dos meses de almacenamiento, observando una mejor conservación a 4°C, con casi el doble de contenido en comparación con temperatura ambiente. De manera similar Jeong *et al.* (2019) evidenciaron que 4°C conserva mejor el contenido proteico del polen de especies alergénicas en Corea almacenadas en diferentes condiciones por un año. Sin embargo, otros estudios no encontraron diferencias significativas en contenido de proteínas de semillas de trigo ni de diferentes preparaciones de harina de soja durante un año a diferentes temperaturas (Strelec *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2008).

Strelec *et al.* (2010) concluyen que, aunque los niveles de proteínas pueden mantenerse estables en diferentes condiciones y tiempos de almacenamiento, no quiere decir que no existan cambios estructurales o funcionales. Estos cambios pueden incluir estabilidad en agua o buffer, el reordenamiento de los puentes de disulfuro y glicosilación no enzimática. Lo anterior se complementa con los cambios que encontraron Liu *et al.* (2022) en cacahuate (*Arachis hypogaea*), donde las

temperaturas altas (25°C y 35°C) provocaron cambios significativos en el contenido de sulfhidrilo total, el tamaño de partícula, la morfología de la superficie, la morfología espacial y la distribución de las proteínas.

**Tabla 5.** Contenido proteico del polen de *Agave durangensis*

Individuo/ Temperatura	Proteínas (mg EA/g polen)						
	Día 1	Día 2	Día 4	Día 8	Día 16	Día 30	Día 60
01 - 4°C	7.83±0.11 <sup>cd</sup>	<b>6.88±0.02<sup>ef</sup></b>	7.45±0.20 <sup>de</sup>	8.89±0.03 <sup>ab</sup>	<b>6.69±0.94<sup>f</sup></b>	8.25±0.09 <sup>bc</sup>	9.44±0.13 <sup>a</sup>
02 - 4°C	8.85±0.27 <sup>a</sup>	8.84±0.02 <sup>a</sup>	<b>6.70±0.34<sup>c</sup></b>	7.27±0.28 <sup>b</sup>	<b>6.74±0.12<sup>c</sup></b>	7.42±0.15 <sup>b</sup>	<b>5.45±0.15<sup>d</sup></b>
03 - 4°C	10.20±0.08 <sup>A</sup>	<b>7.74±0.08<sup>d</sup></b>	11.19±0.22 <sup>a</sup>	<b>8.66±0.37<sup>c</sup></b>	<b>7.15±0.11<sup>e</sup></b>	10.55±0.03 <sup>b</sup>	<b>7.11±0.28<sup>e</sup></b>
<b>04 - 4°C</b>	8.92±0.08 <sup>a</sup>	<b>6.86±0.27<sup>b</sup></b>	6.78±0.03 <sup>b</sup>	6.68±0.07 <sup>b</sup>	6.69±1.24 <sup>b</sup>	<b>4.62±0.10<sup>c</sup></b>	5.29±0.16 <sup>c</sup>
05 - 4°C	10.29±0.15 <sup>b</sup>	12.21±0.33 <sup>a</sup>	<b>9.89±0.19<sup>c</sup></b>	<b>7.36±0.27<sup>f</sup></b>	9.03±0.17 <sup>e</sup>	9.48±0.22 <sup>d</sup>	9.18±0.08 <sup>de</sup>
01 - Ta	7.83±0.11 <sup>b</sup>	<b>6.49±0.24<sup>d</sup></b>	6.05±0.23 <sup>e</sup>	9.81±0.03 <sup>a</sup>	<b>7.26±0.26<sup>c</sup></b>	<b>6.59±0.11<sup>d</sup></b>	7.22±0.11 <sup>c</sup>
02 - Ta	8.85±0.27 <sup>a</sup>	<b>7.33±0.17<sup>b</sup></b>	<b>6.02±0.13<sup>d</sup></b>	7.04±0.05 <sup>bc</sup>	8.65±0.04 <sup>a</sup>	8.71±0.28 <sup>a</sup>	<b>6.82±0.24<sup>c</sup></b>
03 - Ta	10.20±0.08 <sup>b</sup>	10.75±0.08 <sup>a</sup>	<b>9.23±0.03<sup>c</sup></b>	<b>8.00±0.12<sup>d</sup></b>	8.10±0.06 <sup>d</sup>	<b>6.22±0.21<sup>f</sup></b>	6.73±0.07 <sup>e</sup>
04 - Ta	8.92±0.08 <sup>b</sup>	<b>7.20±0.08<sup>c</sup></b>	<b>5.86±0.03<sup>e</sup></b>	5.95±0.45 <sup>e</sup>	6.70±0.26 <sup>d</sup>	12.24±0.14 <sup>a</sup>	<b>6.62±0.20<sup>d</sup></b>
05 - Ta	10.29±0.15 <sup>a</sup>	<b>9.89±0.24<sup>b</sup></b>	<b>8.66±0.14<sup>c</sup></b>	<b>7.56±0.1<sup>d</sup></b>	9.67±0.11 <sup>b</sup>	<b>4.71±0.29<sup>e</sup></b>	10.44±0.28 <sup>a</sup>

Valores medios y desviación de 3 repeticiones \*Ta, temperatura ambiente

Letras diferentes indican medias diferente entre los periodos de tiempo, prueba de Duncan (p<0.05).

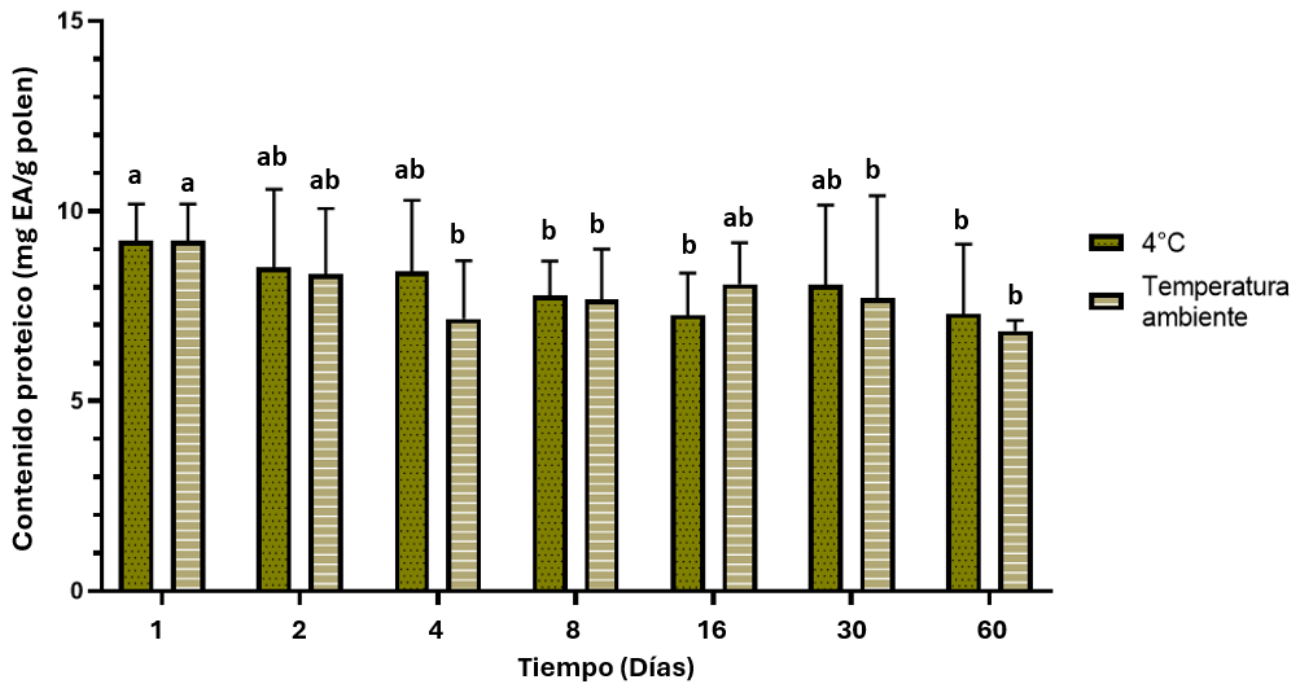


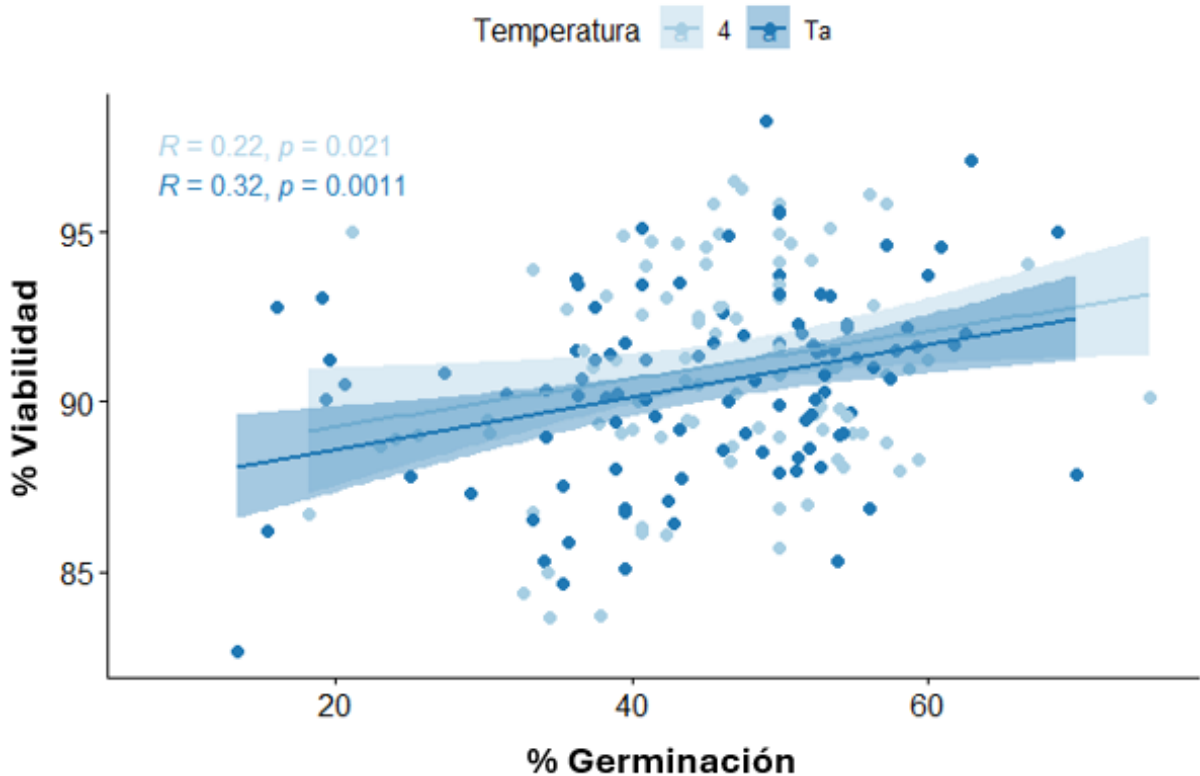
Figura 11. Contenido proteico de polen de *Agave durangensis* en diferentes tiempos y dos condiciones de almacenamiento

### 7.6. Correlaciones de germinación y viabilidad

Se encontró una correlación significativa entre la viabilidad y germinación del polen ( $p=0.021$ ,  $p=0.0011$ ) (Figura 12). La correlación más alta se observó a temperatura ambiente ( $R=0.32$ ), con una correlación moderada. A 4°C la correlación fue débil ( $R=0.22$ )

Novara *et al.* (2017) reportaron en polen de *Corylus avellana* una correlación significativa alta entre la viabilidad determinada mediante el método Cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) y la germinación, mientras que la correlación significativa baja cuando se evaluó la viabilidad mediante fluoresceína la tinción con diacetato y yoduro de propidiopor. Por otro lado, se observó una correlación significativamente alta entre la viabilidad y germinación del polen de cultivos de pistachio (*Pistacia vera* L.), utilizando distintos métodos de tinción (TTC, yodo+yoduro de potasio y solución de safranina) (Aldahadha *et al.*, 2020). Tomando

en cuenta lo anterior y los resultados obtenidos, la magnitud fue diferente según el método de evaluación, por lo que toma importancia el seleccionar técnicas apropiadas para estimar con precisión la calidad del polen. Por lo anterior, ambos aspectos (viabilidad y germinación) deben considerarse de forma complementaria para evaluar la calidad del polen.



**Figura 12.** Correlación de porcentaje de viabilidad y germinación en ambas temperaturas de experimentación

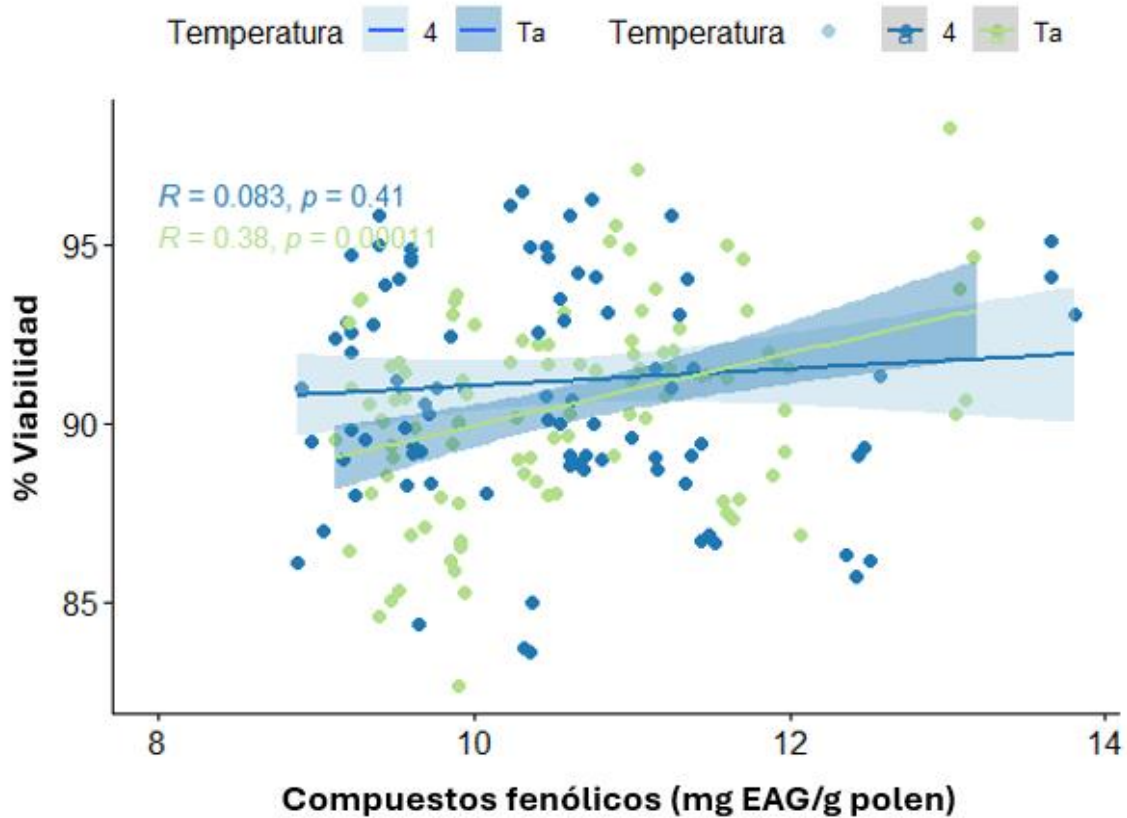
### 7.7. Correlación viabilidad y compuestos fenólicos

La Figura 13 muestra la correlación entre la viabilidad y el contenido de compuestos fenólicos del polen. Los resultados indicaron que la viabilidad del polen está relacionada con el contenido de compuestos fenólicos solo cuando se almacena a temperatura ambiente, presentando una correlación moderada ( $R = 0.38$ ) significativa ( $p = 0.00011$ ) y positiva.

Aunque la reducción de compuestos fenólicos y viabilidad del polen fue relativamente leve en ambas condiciones, la correlación significativa solo fue evidente a temperatura ambiente. Esto puede sugerir que los compuestos fenólicos, pueden tener una función más activa en la protección de la célula del polen bajo condiciones estresantes como las altas temperaturas.

Los compuestos fenólicos cumplen funciones antioxidantes importante en el polen, ayudando a estabilizar la membrana celular, contenido intracelular, neutralizar ROS generados en el almacenamiento, entre otras (Babenko *et al.*, 2019; Rice-Evans *et al.*, 1997). A temperatura ambiente se relaciona el mayor riesgo de los compuestos fenólicos a la degradación oxidativa e hidrólisis en condiciones de temperatura alta, lo que compromete su función antioxidante. Se ha reportado que un aumento en las temperaturas se asocia a un proceso de estrés oxidativo significativo, por lo que es más evidente la acción de estos compuestos, por lo tanto, un impacto mayor sobre la viabilidad del grano (Sharma *et al.*, 2016; Kearsley y Rodríguez, 1981).

Por otro lado, una falta de correlación significativa en las muestras almacenadas a 4°C pudo deberse a que la degradación ocurre más lento en refrigeración, siendo relativamente estables tanto la viabilidad del polen como el contenido de compuestos fenólicos, cada uno con diferentes comportamientos. Esto se relaciona con estudios en que las funciones de los compuestos fenólicos, especialmente las antioxidantes, se conservan mejor en condiciones de baja temperatura (Ali *et al.*, 2018; Ouaabou *et al.*, 2024).



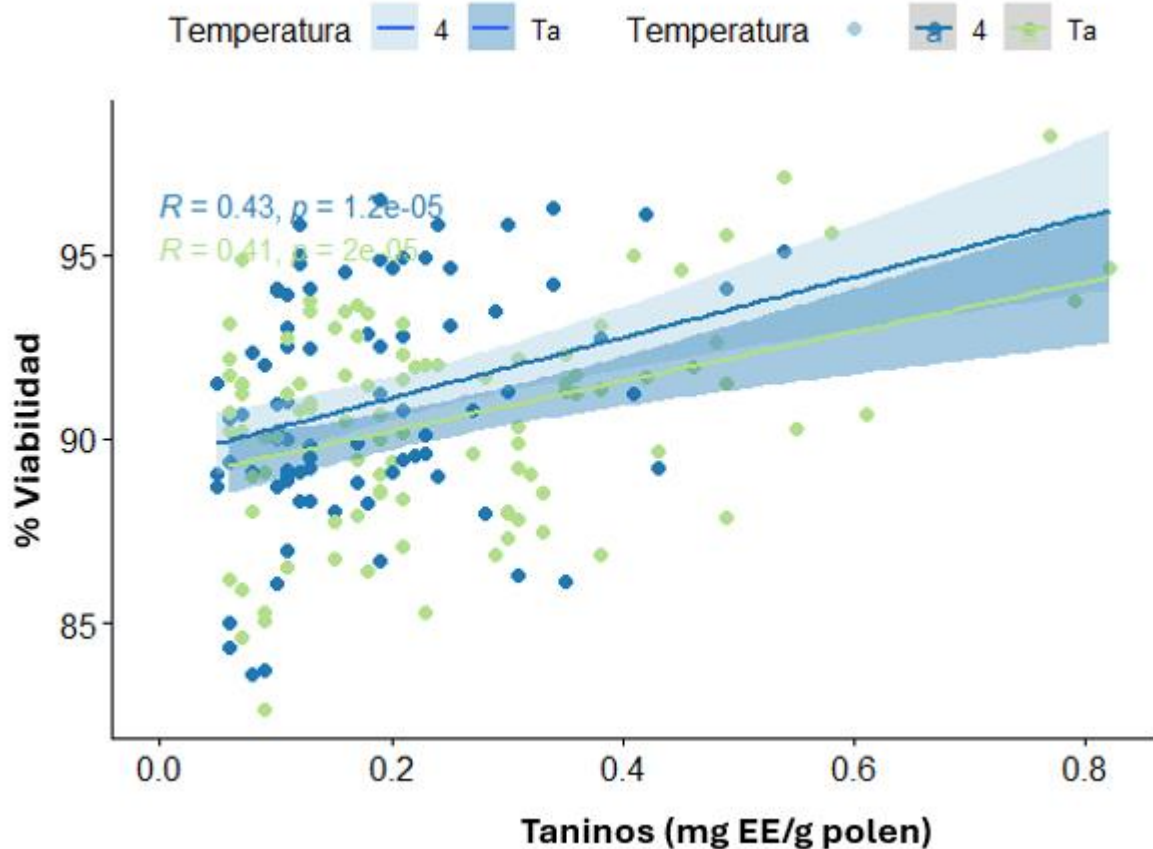
**Figura 13.** Correlación porcentaje de viabilidad y compuestos fenólicos

### 7.8. Correlación viabilidad y taninos condensados

La viabilidad del polen está relacionada con la concentración de taninos condensados tanto para las condiciones de temperatura de 4°C y temperatura ambiente, presentando una correlación moderada ( $R = 0.43$ ,  $p = 0.00001$ ,  $R = 0.41$ ,  $p = 0.00002$ ) respectivamente (Figura 14).

La correlación demuestra la importancia del contenido de taninos condensados sobre la viabilidad, donde se observa que una mayor cantidad de estos se traduce en una mejor viabilidad de los granos de polen. Aunque la refrigeración a 4°C hace más lenta las reacciones bioquímicas y puede preservar mejor la viabilidad, no impide la degradación de los taninos, que son compuestos de importancia en ambas temperaturas para la protección del daño oxidativo (de Oliveira *et al.*, 2017; Kardel *et al.*, 2013, Vazquez-Flores *et al.*, 2012). Si se quiere una buena conservación de

la viabilidad del polen, es importante que además de tomar en cuenta la temperatura de almacenamiento, también considerar estrategias para conservar el contenido de compuestos fenólicos, en especial taninos, los cuales han demostrado una estrecha relación con la viabilidad.



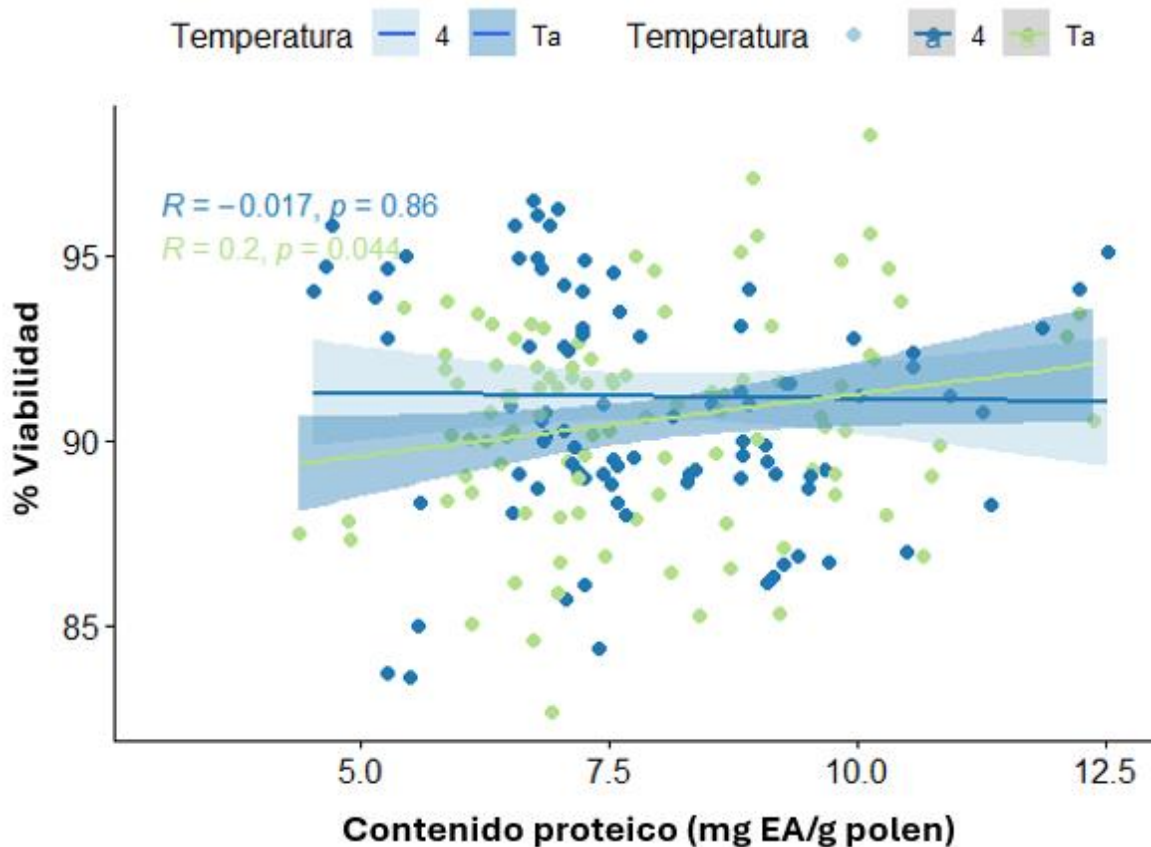
**Figura 14.** Correlación porcentaje de viabilidad y contenido de taninos

### 7.9. Correlación viabilidad y proteínas totales

En la Figura 15 se muestra la correlación entre la viabilidad y el contenido de proteínas totales del polen, teniendo en ambas temperaturas un comportamiento similar. Se observó un efecto de la temperatura ambiente con respecto a la relación

de viabilidad del polen y el contenido de proteínas. Esta relación mostró valores de correlación débil ( $R = 0.2$ ) significativa ( $p = 0.044$ ).

Las proteínas pueden sufrir cambios en estructurales y funcionales, además de reducción de concentración a altas temperaturas (Liu et al., 2022, Jeong et al., 2019). Lo anterior explicaría la correlación observada entre la pérdida de proteínas y la reducción de viabilidad en almacenamiento a temperatura ambiente. Por otro lado, a 4°C es la temperatura que mejor se conservó, ya que la disminución de proteínas y viabilidad fue menor pero cada una con tendencias diferentes durante el almacenamiento, lo que podría explicar la falta de correlación significativa.



**Figura 15.** Correlación porcentaje de viabilidad y contenido proteico

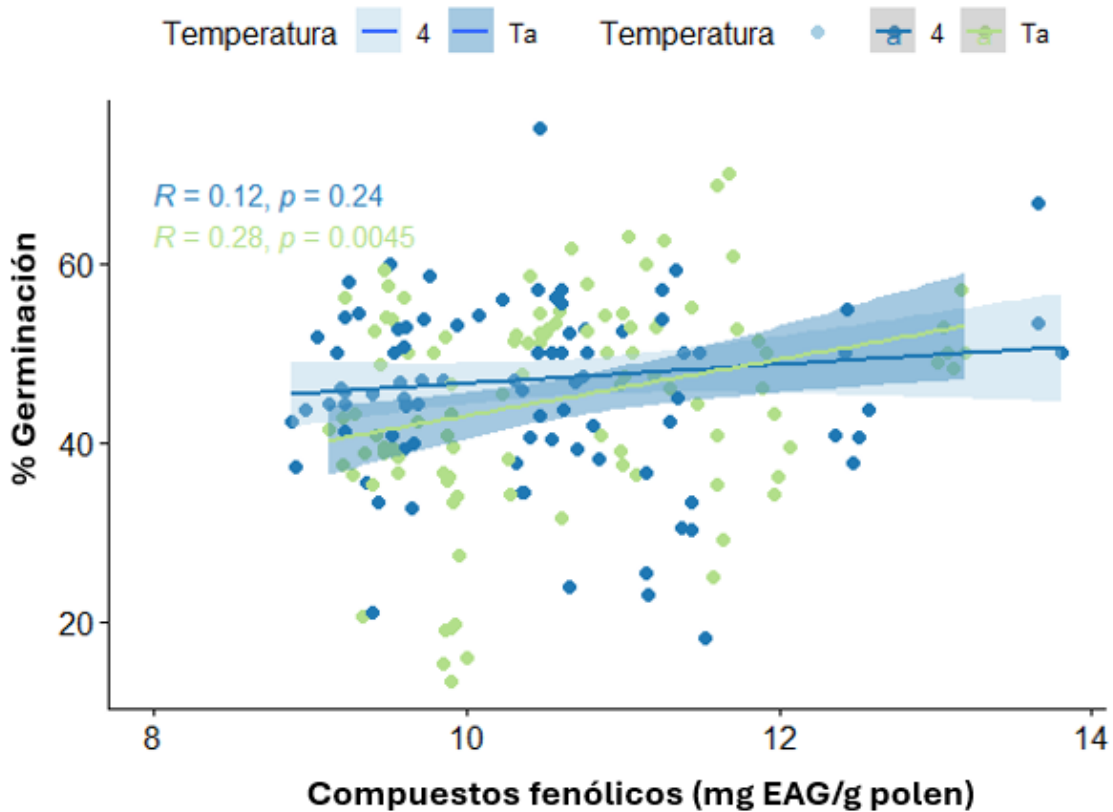
### 7.10. Correlación germinación y compuestos fenólicos

La relación entre la germinación del polen y el contenido fenólico se observa en la Figura 16. Los resultados mostraron que la germinación está relacionada con el

contenido de fenoles solo a temperatura ambiente, obteniendo una correlación débil ( $R= 0.28$ ) significativa ( $p= 0.0045$ ) y positiva.

Lo anterior indicó que, aunque la disminución en el contenido de compuestos fenólicos fue similar en ambas condiciones de almacenamiento, la reducción en la germinación del polen fue significativamente mayor a temperatura ambiente. Esto podría sugerir que los compuestos fenólicos desempeñan un papel importante contra el estrés oxidativo, actuando como neutralizantes de ROS o previniendo que alcance niveles dañinos, estos compuestos inhiben el crecimiento del tubo polínico a altas temperaturas (Muhlemann *et al.*, 2018).

Por otro lado, a 4°C ocurrió el menor porcentaje de degradación tanto de germinación como de compuestos fenólicos, donde los compuestos fenólicos se mantuvieron relativamente estables y la germinación disminuyó casi el 50%, lo podría explicar la ausencia de correlación significativa.



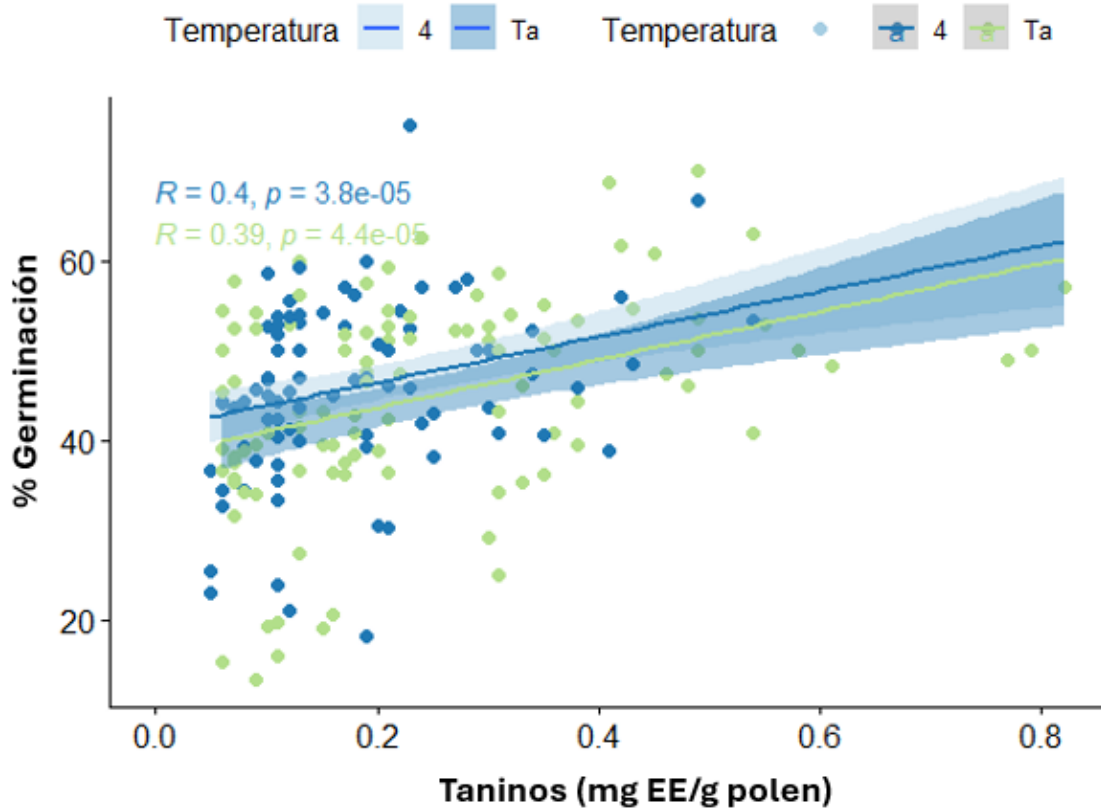
**Figura 16.** Correlación porcentaje de germinación y compuestos fenólicos

### **7.11. Correlación germinación y taninos condensados**

Los resultados muestran que la germinación estuvo relacionada con los taninos condensados en ambas temperaturas, obteniendo una correlación moderada ( $R=0.4$ ,  $R=0.39$ ) altamente significativa ( $p=0.000038$ ,  $p=0.000044$ ) y positiva en las dos condiciones de almacenamiento (Figura 17).

La germinación del polen como los taninos disminuyeron en ambas condiciones, siendo más afectados a temperatura ambiente. La correlación significativa entre ambas variables sugiere que los taninos condensados tienen suma importancia en preservar la capacidad de germinación del polen, tal vez protegiendo del estrés oxidativo o como estabilizadores en la pared celular y proteínas (Barros *et al.*, 2015). En condiciones de temperatura ambiente, donde los procesos oxidativos y enzimáticos están más activos la degradación de taninos fue mayor, coincidiendo con una gran reducción de la germinación. Lo anterior sugiere que los taninos cumplen una función protectora y si hay condiciones que desfavorecen a estos compuestos, se verá comprometida la germinación del polen (Jylhä *et al.*, 2021). Lo anterior sugiere que los taninos cumplen función protectora y hay condiciones que desfavorecen a estos compuestos, se verá comprometida la germinación del polen.

La refrigeración conservó mejor la germinación y taninos, esto debido a la reducción de oxidación y creación de complejos en taninos (Dias, 2016; Teles, 2017) y a preservar la estructura celular, reducción de actividad enzimática, reducción de estrés oxidativo en germinación (Beltrán *et al.*, 2019; Čalić *et al.*, 2021; Jiaqi *et al.*, 2025). A pesar de que hubo mejor conservación a 4°C, no fue suficiente para detener la pérdida en gran medida de taninos y germinación, por lo tanto, obteniendo una correlación significativa en esta condición de almacenamiento.



**Figura 17.** Correlación porcentaje de germinación y contenido de taninos

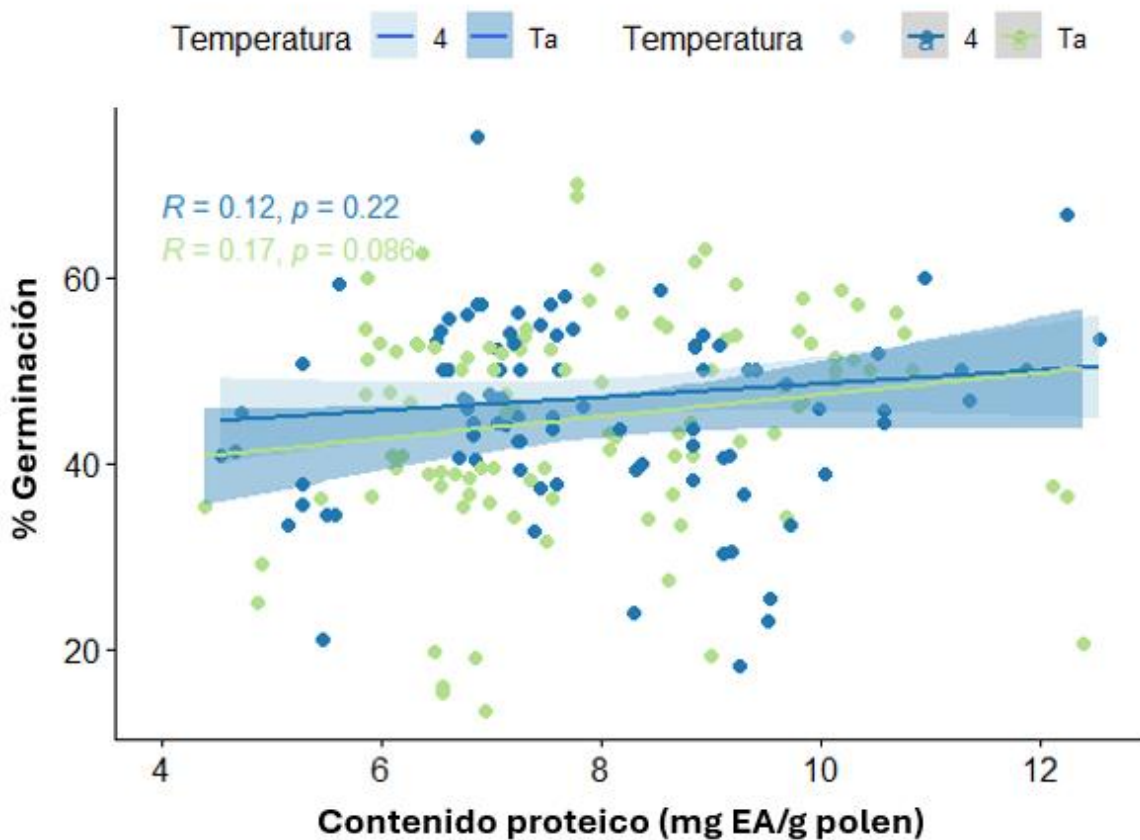
### 7.12. Correlación germinación y proteínas totales

Los resultados muestran que la germinación no tiene una fuerte relación con el contenido de proteínas, no se obtuvo una correlación significativa en ninguna temperatura (Figura 18).

Aunque se obtuvo una reducción notable tanto en germinación como en las proteínas totales durante el periodo de almacenamiento, no se encontró una relación significativa. Esto indica que en este estudio la pérdida de proteínas no afecta la capacidad de germinación del polen. El polen contiene una gran diversidad de proteínas funcionales, incluyendo funciones de adhesión e hidratación del polen, el reconocimiento y la comunicación del polen-estigma y la invasión al estigma (Rejón *et al.*, 2016). Por lo que se esperaba una relación significativa entre proteínas y germinación, sin embargo, la ausencia de correlación puede ser a que otros

compuestos o proceso bioquímicos, así como factores ambientales toman un papel más importante en la pérdida o conservación de la capacidad de germinación.

Estudios han demostrado que el estrés oxidativo afecta directamente la integridad de la célula en especial los ROS en el crecimiento del tubo polínico, comprometiendo la capacidad de germinar sin que se agoten por completo las reservas de proteínas del polen. Además, se reportó que las cantidades totales de las proteínas no siempre están relacionadas directamente con la funcionalidad fisiológica de la célula, en especial a almacenamientos de largo plazo (Shivanna y Johry, 1985, Gong *et al.*, 2024; Kalemba y Pukacka, 2014).

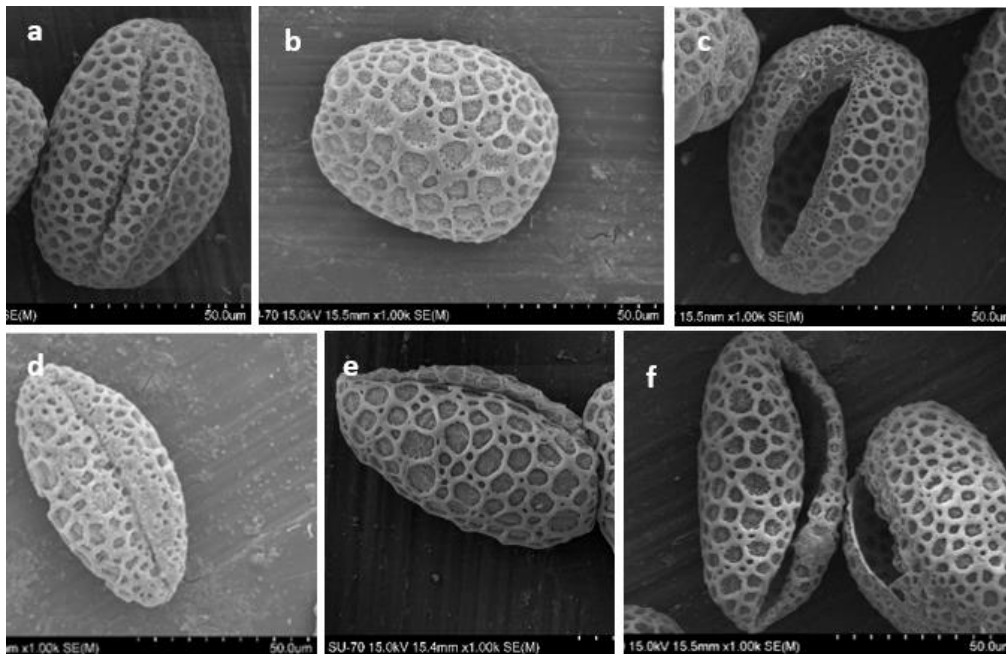


**Figura 18.** Correlación porcentaje de germinación y contenido proteico

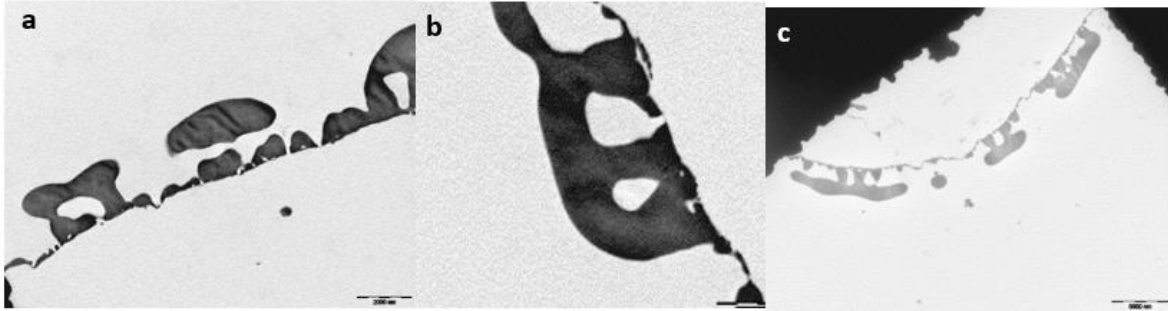
### 7.13. Caracterización de morfología del polen

Mónadas; granos de polen heteropolares, con simetría bilateral; plano-convexos a sub-elípticos en corte óptico meridional, elípticos en corte óptico ecuatorial. P, diámetro polar; E, diámetro ecuatorial. P/E = 0.49–0.76  $\mu\text{m}$  (peroblados a

suboblados);  $P = 45.0\text{--}77.0\ \mu\text{m}$ ,  $E = 81.5\text{--}123.0\ \mu\text{m}$ ; monocolpados, colpo poco menor que el diámetro ecuatorial, con  $20.0\text{--}51.0\ \mu\text{m}$  de anchura, operculado, opérculo aproximadamente de la forma del colpo; exina con  $1.0\text{--}2.0\ \mu\text{m}$  de grosor; sexina y nexina con grosor semejante; tecto con  $0.5\text{--}1.1\ \mu\text{m}$  de grosor, columelas con  $0.8\text{--}1.8\ \mu\text{m}$  de largo por  $0.5\text{--}1.1\ \mu\text{m}$  de ancho; capa basal muy fina, con  $0.1\text{--}0.4\ \mu\text{m}$  de grosor; endexina ausente; escultura reticulada, con los muros granulados (Figura 19 y 20).



**Figura 19.** MEB polen *Agave durangensis*: a) Vista ecuatorial mostrando colpo con operculo, b) Detalle de ornamentación, c) Vista ecuatorial mostrando colpo sin opérculo (ojo de venado), d) Detalle de ornamentación vista ecuatorial colpo cerrado, e) Detalle corte óptico meridiano, f) Colpo semicerrado y colpo con restos de opérculo. Barra=  $50\ \mu\text{m}$



**Figura 20.** MET polen *Agave durangensis*: a) Corte de grano de polen donde se observa la ultraestructura, b) Presencia de columnelas y tectum, c) Ausencia de endexina y capa basal muy fina. Barra = 2 $\mu$

El grano de polen analizado presenta características típicas de la subfamilia Agavaceae, pero con rasgos distintivos que permiten diferenciar por su morfológica (Alvarez y Köhler, 1987; Ambwani y Kumar, 1993). Estas formas, si bien son comunes en *Agave*, se diferencian con especies como *Agave tequilana*, donde sus granos suelen ser más subesféricos y con P/E cercanos a la unidad (Gómez-Rodríguez *et al.*, 2012). Su tamaño, con ejes polares entre 45.0–77.0  $\mu\text{m}$  y ecuatoriales entre 81.5–123.0  $\mu\text{m}$ , indica granos de gran tamaño, lo que puede asociarse a un alto contenido citoplasmático y una posible alta viabilidad, rasgo valioso en estudios de fertilidad (Fratini *et al.*, 2006).

La presencia de un único colpo de gran tamaño es similar con lo reportado en otros *Agave*, aunque la forma y proporción del opérculo y colpo es diferente (Alvarez y Köhler, 1987; Ludlow-Wiechers y Ojeda, 1983; Al-Rawi, 2021). La ausencia de endexina y la camada basal muy fina refuerzan la especialización estructural del polen, posiblemente adaptada a mecanismos específicos de dispersión, polinización especial, germinación (Pacini y Hesse, 2012). En conjunto estos caracteres morfológicos permiten no solo una correcta delimitación taxonómica, sino también su uso en estudios sobre viabilidad, evolución y adaptación ecológica dentro del género *Agave* (Banks y Rudall, 2016; Walker y Doyle, 1975; Halbritter *et al.*, 2018)

## VIII. CONCLUSIONES

Este estudio sobre la viabilidad y germinación del polen de *Agave durangensis* permitió conocer las condiciones más adecuada para conservar el polen y entender mejor la relación con algunos compuestos bioquímicos. A lo largo del trabajo se comprobó que la germinación es más sensible al deterioro, principalmente cuando el polen se almacena a temperatura ambiente, mientras que la viabilidad se mantiene relativamente estable.

En cuanto a los compuestos analizados, los taninos condensados parecen tener un papel antioxidante clave al proteger al polen y mantener su calidad del polen en periodos prolongados, mientras que los fenoles y las proteínas actúan de forma más importante bajo condiciones de mayor estrés. Gracias a esto se comprende cuáles son algunos de los mecanismos químicos internos de defensa de la planta que ayudan a prolongar la vida útil del polen, como su capacidad reproductiva.

La temperatura de 4°C resultó ser la mejor condición para conservar el polen durante meses, especialmente para mantener la germinación. Se retuvo una buena germinación (40%) durante 30 días a 4°C, mientras que a temperatura ambiente solo hasta el día 8 retuvo una germinación aceptable. Lo anterior ofrece una alternativa para bancos de germoplasma y programas de conservación y mejoramiento. Sin embargo, el hecho de que a temperaturas elevadas afecten la germinación no solo limita el almacenamiento, sino también refleja un riesgo en campo en la regeneración natural. Hoy en día con el aumento de temperatura debido al cambio climático, la reproducción sexual de *Agave durangensis* podría verse comprometida, lo que pone en peligro la regeneración natural y en consecuencia la permanencia de las poblaciones silvestres.

El conocimiento generado en este trabajo amplía la comprensión de la biología reproductiva del polen y sus mecanismos de protección. En el campo aplicado ofrece bases para prácticas de mejora y conservación para aprovechamiento sostenible del agave, una especie con gran importancia ecológica y económica para la industria de mezcal en la región de Durango. Más allá de su valor científico, este trabajo refuerza la importancia estratégica del *Agave durangensis* como patrimonio

natural de Durango, fundamental para la industria mezcalera, la biodiversidad y el sustento de comunidades locales.

## IX. RECOMENDACIONES

Se recomienda madurar las anteras en ambientes controlados ya que factores como el viento suele dispersar el polen antes de su colecta, una alternativa es colocar bolsas de papel en las panículas para que el polen no se esparza o cortar la panícula con anteras próximas a dehiscencia. No se recomienda cortar el escapo floral, debido que no todas las panículas florecen al mismo tiempo y resulta complicado mantener en condiciones controladas un escapo que alcanza varios metros de altura.

Para futuras investigaciones, sería importante realizar una caracterización de las proteínas del polen, con el objetivo de identificar de forma más específica los tipos de proteínas que influyen en su calidad.

Finalmente, se considera importante el estudio de la germinación *in vivo*, evaluando la capacidad de fecundación del ovulo mediante polen almacenado en diferentes condiciones y tiempos, lo que permitiría un análisis más realista del comportamiento del polen conservado, además de observar las condiciones en campo que permitiría validar el impacto real de los factores climáticos.

## X. BIBLIOGRAFIA

Aguirre J.R., Charcas, H. y Flores, J.L. (2001). El maguey mezcalero potosino. COPOCYT-UASLP. San Luis Potosí. México. 87 p.

Alcaraz, M. L., Montserrat, M. y Hormaza, J. I. (2011). In vitro pollen germination in avocado (*Persea americana* Mill.). Optimization of the method and effect of temperature. *Scientia Horticulturae*, 130(1), 152-156.

Aldahadha, A., Samarah, N. y Bataineh, A. (2020). Effect of storage temperature and duration on pollen viability and in vitro germination of seven pistachio cultivars. *Journal of Applied Horticulture*, 22(3).

Ali, A., Chong, C. H., Mah, S. H., Abdullah, L. C., Choong, T. S. Y. y Chua, B. L. (2018). Impact of storage conditions on the stability of predominant phenolic constituents and antioxidant activity of dried *Piper betle* extracts. *Molecules*, 23(2), 484.

Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E. A., Hernández-Vargas, V., Ortega-Chávez, M., Orea-Lara, G., Leon, A. C. y Muñoz-Martinez, R. (2009). Profiling of phenolic compounds of somatic and reproductive tissues of *Agave durangensis* Gentry (Agavaceae). *American Journal of Applied Sciences*, 6(6), 1076-1085.

Al-Rawi, A. A. F. (2021). Anatomical and palynological study of *Agave americana* L. (Asparagaceae) growing in Iraq. *Biochemical and Cellular Archives*, 21(1), 2291-2294.

Alvarez, A. y Köhler, E. (1987). Morfología del polen de las Agavaceae y algunos géneros afines. *Grana*, 26(1), 25-46.

Amaya, A. y Ramírez, N. (2005). Dinámica de crecimiento de tubos polínicos en poblaciones de *Pachira quinata* (Bombacaceae). *Acta Científica Venezolana*, 56, 112-116.

Ambwani, K. y Kumar, M. (1993). Pollen morphology and aperture evolution in *Agave* Linn. *Geophytology*, 23(1), 171-176.

Arizaga, S. y Ezcurra, E. (2002). Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid-land succulent rosette. *American Journal of Botany*, 89(4), 632-641.

Ateyyeh, A. (2012). Effect of storage method on date palm and pistachio pollen viability. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 8(4).

Avila, H. (2022). *Agave durangensis*. Obtenido de World of Succulents: <https://worldofsucculents.com/agave-durangensis/>

Babenko, L. M., Smirnov, O. E., Romanenko, K. O., Trunova, O. K. y Kosakivska, I. V. (2019). Phenolic compounds in plants: Biogenesis and functions. *Ukr. Biochem. J*, 91(3), 5-18.

Banks, H. y Rudall, P. J. (2016). Pollen structure and function in caesalpinoid legumes. *American Journal of Botany*, 103(3), 423-436.

Barriada, L., Reyes, A., Rivera, D., Almaraz, N., Gallardo, T., González, S., Herrera, Y. y Torres, M. (2011). Propiedades fisiológicas relacionadas al vigor de la semilla de agave. *Vidsupra*, 3(1), 12-22.

Barros, J., Serk, H., Granlund, I. y Pesquet, E. (2015). The cell biology of lignification in higher plants. *Annals of botany*, 115(7), 1053-1074.

Beltrán, R., Valls, A., Cebrián, N., Zornoza, C., Breijo, F. G., Armiñana, J. R., ... y Merle, H. (2019). Effect of temperature on pollen germination for several Rosaceae species: influence of freezing conservation time on germination patterns. *PeerJ*, 7, e8195.

Bennett, K. D., y Willis, K. J. (2001). Pollen. Tracking environmental change using lake sediments: terrestrial, algal, and siliceous indicators. *Kluwer Academic Publishers*, 5-32.

Bhat, Z. A., Dhillon, W. S., Shafi, R. H. S., Rather, J. A., Mir, A. H., Shafi, W., ... y Wani, T. A. (2012). Influence of storage temperature on viability and in vitro germination capacity of pear (*Pyrus spp.*) pollen. *Journal of Agricultural Science*, 4(11), 128.

Bianchimano, A. S., Murray, M. G. y Prat, M. I. (2014). Efecto de la temperatura de conservación sobre la expresión de proteínas en granos de polen de *Chenopodium album* L. *Alergia e Inmunología Clínica*, 34, 8-10.

Bonilla-Sánchez, A. P. y Mosquera-Mosquera, H. R. (2019). Viabilidad y germinación in vitro de taxones de las tribus Cymbidieae y Epidendreae (subfamilia Epidendroideae, Orchidaceae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(168), 494-501.

Borg, M., Brownfield, L. y Twell, D. (2009). Male gametophyte development: a molecular perspective. *Journal of Experimental Botany*, 60(5), 1465-1478.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

Brewbaker, J. L. y Kwack, B. H. (1963). The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *American journal of botany*, 50(9), 859-865.

Brkić Bubola, K., Koprivnjak, O., Sladonja, B. y Belobrajić, I. (2014). Influence of storage temperature on quality parameters, phenols and volatile compounds of Croatian virgin olive oils. *Grasas Y Aceites*, 65(3), e034.

Ćalić, D., Milojević, J., Belić, M., Miletić, R. y Zdravković-Korać, S. (2021). Impact of storage temperature on pollen viability and germinability of four Serbian autochthon apple cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 12, 709231.

Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A. y Da Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 742-745.

Campos, M. G., Almaraz-Abarca, N., Matos, M. P., Gomes, N. M., Arruda, V. A., Barth, O. M. y Bicudo, L. (2015). Zea mays L. pollen: An approach to its quality control. *Botanical Sciences*, 5, 513-522.

Campos, M. G., Anjos, O., Chica, M., Campoy, P., Nozkova, J., Almaraz-Abarca, N. y Carreck, N. L. (2021). Standard methods for pollen research. *Journal of Apicultural Research*, 60(4), 1-109.

COMERCAM. (2025). Informe Estadístico. Informe Estadístico 2025.

Dai, M. S., Arnold, H., Sun, X. X., Sears, R. y Lu, H. (2007). Inhibition of c-Myc activity by ribosomal protein L11. *The EMBO Journal*, 26(14), 3332-3345.

de Boada, D. O., y Cogua, J. (1989). Reconocimiento de granos de polen de algunas plantas melíferas en la sabana de Bogotá. *Agronomía Colombiana*, 6(1-2), 52-63.

de Oliveira, K. G., Queiroz, V. A. V., de Almeida Carlos, L., de Moraes Cardoso, L., Pinheiro-Sant'Ana, H. M., Anunciação, P. C. y Barros, F. (2017). Effect of the storage time and temperature on phenolic compounds of sorghum grain and flour. *Food Chemistry*, 216, 390-398.

Dermanin, A. (2022). *Agave scabra*. Obtenido de OBLOG: <https://opuntiads.com/oblog/agave-scabra/>

Diario Oficial de la Federación (1994). Resolución mediante la cual se otorga la protección prevista a la denominación de origen Mezcal, para ser aplicada a la bebida alcohólica del mismo nombre. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.

Dias, F. D. T. (2016). Estudo da influência da embalagem com cobertura fácil na conservação e oxidação de vinho tinto. Tesis Maestría. ESCUELA SUPERIOR AGRARIA DE SANTARÉM. Portugal.

Dutta, S. K., Srivastav, M., Chaudhary, R., Lal, K., Patil, P., Singh, S. K. y Singh, A. K. (2013). Low temperature storage of mango (*Mangifera indica* L.) pollen. *Scientia Horticulturae*, 161, 193-197.

Edlund, A. F., Swanson, R. y Preuss, D. (2004). Pollen and stigma structure and function: the role of diversity in pollination. *The Plant Cell*, 16(suppl\_1), S84-S97.

Eguiarte, L. E., Jiménez Barrón, O. A., Aguirre-Planter, E., Scheinvar, E., Gámez, N., Gasca-Pineda, J. y Souza, V. (2021). Evolutionary ecology of Agave: distribution

patterns, phylogeny, and coevolution (an homage to Howard S. Gentry). *American Journal of Botany*, 108(2), 216-235.

Engelmann, F. y Takagi, H. (2000). Cryopreservation of tropical plant germplasm: current research progress and applications. JIRCAS International Agriculture Series No.8, Italy.

Fernández, R. F. (1990). Fructificación a bajas temperaturas en *Lycopersicon Mill.* Tesis Doctoral. Universidad de Malaga, España.

Fierro Velázquez, J. D. (2021) Morfología, viabilidad y germinación de los granos de polen de *Nymphaea gracilis* Zucc. (Nymphaeaceae). Tesis Licenciatura. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO, México.

Fratini, R., García, P. y Ruiz, M. L. (2006). Pollen and pistil morphology, *in vitro* pollen grain germination and crossing success of *Lens* cultivars and species. *Plant breeding*, 125(5), 501-50

García y Santos, C. G., Bettucci, L., Brambillasca, S. y Cajarville, C. (2020). Storage time and condensed tannin content of high-moisture sorghum grains: Effects on *in vitro* fermentation and mold populations. *Animal Nutrition*, 6(1), 92-97.

García, A. y Solano E. J. A. (2007). *Polianthes oaxanana* and *P. geminiflora* var. *pueblensis* (Agavaceae), new taxa from México. *Acta Botánica Mexicana*, 78, 111-123.

García, L., Rivero, M. y Droppelmann, F. (2015). Descripción morfológica y viabilidad del polen de *Nothofagus nervosa* (Nothofagaceae). *Bosque (Valdivia)*, 36(3), 487-496.

García, M. A. (2007). Los Agaves de México, Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología, Jardín Botánico. México.

García-Mendoza, A. J. (2012): «México, país de magueyes», "La jornada del campo", del diario La Jornada (México), pág. 4.

Gaudet, D., Yadav, N. S., Sorokin, A., Bilichak, A. y Kovalchuk, I. (2020). Development and optimization of a germination assay and long-term storage for *Cannabis sativa* pollen. *Plants*, 9(5), 665.

Gentry, H. S. (1982). *Agaves of continental North America*. The University of Arizona Press. Tucson. 669 pp.

Goldberg, A. L. (2003). Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins. *Nature*, 426(6968), 895-899.

Gómez-Rodríguez, V. M., Rodríguez-Garay, B. y Barba-Gonzalez, R. (2012). Meiotic restitution mechanisms involved in the formation of 2n pollen in *Agave tequilana* Weber and *Agave angustifolia* Haw. *Springerplus*, 1(1), 17.

Gong, W., Oubounyt, M., Baumbach, J. y Dresselhaus, T. (2024). Heat-stress-induced ROS in maize silks cause late pollen tube growth arrest and sterility. *Iscience*, 27(7).

González, M. E., Estévez, A., Castillo, J. y Moré, O. (1999). Métodos para la evaluación de la calidad del polen en papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cultivos Tropicales*, 20(2), 63-67.

González, M. E., Estévez, A., Castillo, J., Salomón, J., Moré, O. y Hernández, M. M. (2002). La calidad del polen: requisito indispensable del mejoramiento tradicional de la papa en Cuba. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 13(1), 75-94.

González, M. E., Estévez, A., Rodriguez, T. y Alvarez, M. (1992). Estudio de la fertilidad del polen en especies de papa. *Cultivos Tropicales*, 13(1), 70-73.

González-Elizondo, M. y Galván-Villanueva, R. (1992). El maguey (*Agave* spp.) y los Tepehuanes de Durango. *Cactaceas y suculentas mexicanas*, 37, 3-11.

González-Elizondo, M., Galván-Villanueva, R., López-Enríquez, I. L., Reséndiz-Rojas, L. y González-Elizondo, M. S. (2009). *Agaves-magueyes, lechuguillas y noas-del Estado de Durango y sus alrededores*. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango del Instituto

Politécnico Nacional-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Durango, 163 pp.

Guataquira, S., Mesa-Fuquen, E., Ruíz-Romero, R. y Romero-Angulo, H. M. (2019). Evaluación de la viabilidad y germinabilidad del polen durante la labor de polinización asistida en campo: Evaluation of the Feasibility and Germinability of Pollen during Assisted Pollination in Oil Palm Crops. *Palmas*, 40(1), 13-20.

Hachef, A., Bourguiba, H., Zarkouna, R., Oueslati, R., Cherif, E. y Zehdi-Azouzi, S. (2024). Effect of long-term storage on pollen reproductive quality and polyphenolic content of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) species in Tunisia. *Applied Fruit Science*, 66(4), 1453-1462.

Halbritter, H., Ulrich, S., Grímsson, F., Weber, M., Zetter, R., Hesse, M. y Frosch-Radivo, A. (2018). *Illustrated pollen terminology*. Springer, Vienna.

Hanna, W. W. y Towill, L. E. (1995). Long-term pollen storage. *Plant breeding reviews*, 13, 179-207.

Hernández-Vargas, V., Orea-Lara, G., Ramírez-Noya D., Almaraz-Abarca, N., Cifuentes-Díaz A., Gómez-Ortiz. S. y Ramírez-Malagón, R. (2010), Informe del proyecto Colecta, conservación ex situ y caracterización de los agaves mezcaleros de las principales localidades del estado de Durango, CIIDIR-IPN, Durango.

Ibarra-Morales, E., y Fernández-Galán, B. S. (2012). El estudio del polen antiguo: problemas y estrategias en el laboratorio. TIP. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 15(1), 62-66.

Jeong, K. Y., Yuk, J. E., Lee, J., Jang, S. W., Park, K. H., Lee, J. H. y Park, J. W. (2019). Stability of extracts from pollens of allergenic importance in Korea. *The Korean journal of internal medicine*, 35(1), 222.

Jiaqi, H., Zhe, J., Jiayi, G., Xiuyun, Y. y Ruifen, R. (2025). Effect of storage temperatures on the viability and oxidative stress of *Paeonia lactiflora* pollen. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 1-12.

Jiménez, A. F. L. y Ramírez, C. V. (2014). Los bienes de comunidad de los pueblos de indios de la jurisdicción de Huichapan a fines del siglo XVIII. *PATRIMONIO E IDENTIDAD*, 43(145), 225.

Jylhä, P., Halmemies, E., Hellström, J., Hujala, M., Kilpeläinen, P. y Brännström, H. (2021). The effect of thermal drying on the contents of condensed tannins and stilbenes in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) sawmill bark. *Industrial crops and products*, 173, 114090.

Kadluczka, D., Czernicka, M., Sliwinska, E., Bieniasz, M., Maćkowska, K., Kapczyńska, A. y Grzebelus, E. (2021). Development and quality of pollen in *Lachenalia* cultivars with determination of genome size and chromosome number. *Scientia Horticulturae*, 277, 109842.

Kadri, K., Elsafy, M., Makhlof, S. y Awad, M. A. (2022). Effect of pollination time, the hour of daytime, pollen storage temperature and duration on pollen viability, germinability, and fruit set of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv" Deglet Nour". *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 1085-1091.

Kalemba, E. M. y Pukacka, S. (2014). Carbonylated proteins accumulated as vitality decreases during long-term storage of beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds. *Trees*, 28, 503-515.

Kardel, M., Taube, F., Schulz, H., Schütze, W. y Gierus, M. (2013). Different approaches to evaluate tannin content and structure of selected plant extracts- review and new aspects. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 86(1).

Kearsley, M. W. y Rodríguez, N. (1981). The stability and use of natural colours in foods: Anthocyanin,  $\beta$ -carotene and riboflavin. *International Journal of Food Science & Technology*, 16(4), 421-431.

Khan, I., Naeem, M. K., Shahzad, A., Zhang, Z., Chen, J. u Sajjad, M. (2024). Optimizing wheat pollen preservation for enhanced viability and in vitro germination. *Agronomy*, 14(1), 201.

Kim, B. C., Soh, M. S., Kang, B. J., Furuya, M. y Nam, H. G. (1996). Two dominant photomorphogenic mutations of *Arabidopsis thaliana* identified as suppressor mutations of hy2. *The Plant Journal*, 9(4), 441-456.

Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., Mencner, L. y Olczyk, K. (2015). Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 297425.

Koubouris, G. C., Metzidakis, I. T. y Vasilakakis, M. D. (2009). Impact of temperature on olive (*Olea europaea* L.) pollen performance in relation to relative humidity and genotype. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 209-214.

Koyuncu, F. y Tosun, F. (2005). Evaluation of pollen viability and germination capacity of some sweet cherry cultivars grown in Isparta, Turkey. *In V International Cherry Symposium* 795, (71-74).

Krichevsky, A., Kozlovsky, S. V., Tian, G. W., Chen, M. H., Zaltsman, A. y Citovsky, V. (2007). How pollen tubes grow. *Developmental Biology*, 303(2), 405-420.

Leja, M., Mareczek, A., Wyżgolik, G., Klepacz-Baniak, J. y Czekońska, K. (2007). Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food chemistry*, 100(1), 237-240.

Li, M., Jiang, F., Huang, L., Wang, H., Song, W., Zhang, X., ... y Niu, L. (2023). Optimization of in vitro germination, viability tests and storage of *Paeonia ostii* pollen. *Plants*, 12(13), 2460.

Liu, C., Wang, X., Ma, H., Zhang, Z., Gao, W. y Xiao, L. (2008). Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. *Food chemistry*, 111(1), 29-37.

Liu, Y., Liu, K. y Zhao, Y. (2022). Effect of storage conditions on the protein composition and structure of peanuts. *ACS omega*, 7(25), 21694-21700.

López, D. S. y Rodríguez, B. G. (2008). Simple methods for in vitro pollen germination and pollen preservation of selected species of the genus *Agave*. *e-Gnosis*, 6, 1-7.

López-Serrano, P.M., Hernández-Ramos, A., Méndez-González, J., Martínez-Salvador, M., Aguirre-Calderón, O., Vargas-Larreta, B. y Corral-Rivas J.J. (2021). Mejores prácticas de manejo y ecuaciones alométricas de biomasa de *Agave durangensis* Gentry., en el estado de Durango-Proyecto: 2017-4-292674. México, 29 pp.

Ludlow, B. y Ojeda, L. (1983). El polen del género *Agave* para la península de Yucatán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 44, 29-42.

Ludlow-Wiechers, B., Ojeda, L. (1983). EL POLEN DEL GENERO AGAVE PARA LA PENINSULA DE YUCATAN. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 44, 29-42.

Madeiras, C. M., de Mattos Bellato, C., Pires, J. C., Marcos, E. M., y Mui, S. (2007). Effect of phytate and storage conditions on the development of the 'hard-to-cook' phenomenon in common beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(7), 1237-1243.

Madiwale, G. P., Reddivari, L., Holm, D. G. y Vanamala, J. (2011). Storage elevates phenolic content and antioxidant activity but suppresses antiproliferative and proapoptotic properties of colored-flesh potatoes against human colon cancer cell lines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(15), 8155-8166.

Makkar, H. P. S. y Becker, K. (1996). Effect of pH, temperature, and time on inactivation of tannins and possible implications in detannification studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(5), 1291-1295.

Mohammadrezakhani, S., Hajilou, J. y y Rezanejad, F. (2018). Evaluation of phenolic and flavonoid compounds in pollen grains of three Citrus species in response to low temperature. *Grana*, 57(3), 214-222.

Muhlemann, J. K., Younts, T. L. y Muday, G. K. (2018). Flavonols control pollen tube growth and integrity by regulating ROS homeostasis during high-temperature stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(47), E11188-E11197.

Nobel, P. S. (1998). Los incomparables agaves y cactus. Trillas. México DF, 37-58.

Novara, C., Ascari, L., La Morgia, V., Reale, L., Genre, A. y Siniscalco, C. (2017). Viability and germinability in long term storage of *Corylus avellana* pollen. *Scientia horticulturae*, 214, 295-303.

Olivas, G., U. E., Valdez-Lazalde, J. R., Aldrete, A., González-Guillén, M. D. J. y Vera-Castillo, G. (2007). Áreas con aptitud para establecer plantaciones de maguey cenizo: definición mediante análisis multicriterio y SIG. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(4), 411-411.

Orea, G., Cifuentes, A., Gómez, S. y Hernández, V. (2006). Germinación de semillas (*Agave durangensis*) a diferentes temperaturas y efecto de la fertilización en el desarrollo de las plántulas. *Vidsupra*, 1(2), 51-56.

Ouaabou, R., Hssaini, L., Ennahli, S. y Alahyane, A. (2024). Evaluating the impact of storage time and temperature on the stability of bioactive compounds and microbial quality in cherry syrup from the 'Burlat' cultivar. *Discover Food*, 4(1), 83.

Ozcan, A., Sutyemez, M., Bukucu, S. B. y Ergun, M. (2019). Pollen viability and germinability of walnut: A comparison between storage at cold and room temperatures. *Fresenius Environ. Bull*, 28(1), 111-115.

Pacini, E. y Hesse, M. (2012). Uncommon pollen walls: reasons and consequences. *Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Osterreich*, 148, 291-306.

Palmer-Young, E. C., Farrell, I. W., Adler, L. S., Milano, N. J., Egan, P. A., Junker, R. R. y Stevenson, P. C. (2019). Chemistry of floral rewards: intra-and interspecific variability of nectar and pollen secondary metabolites across taxa. *Ecological Monographs*, 89(1), e01335.

Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X. y Estevinho, L. M. (2014). Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63, 233-239.

Patel, R. G. y Mankad, A. U. (2014). In vitro pollen germination-A review. *International Journal of Science and Research*, 3(5), 304-307.

Pathania, S., Parmar, P. y Tiwari, B. K. (2019). Stability of proteins during processing and storage. In *Proteins: sustainable source, processing and applications*. Academic Press. (pp. 295-330).

Peterson, R., Slovin, J. P. y Chen, C. (2010). A simplified method for differential staining of aborted and non-aborted pollen grains. *International Journal of Plant Biology*, 1(2), e13.

Philbrick, C. T. y Les, D. H. (1996). Evolution of aquatic angiosperm reproductive systems. *Bioscience*, 46(11), 813-826.

Prđun, S., Svečnjak, L., Valentić, M., Marijanović, Z. y Jerković, I. (2021). Characterization of bee pollen: Physico-chemical properties, headspace composition and FTIR spectral profiles. *Foods*, 10(9), 2103.

Raja, M. M., Vijayalakshmi, G., Naik, M. L., Basha, P. O., Sergeant, K., Hausman, J. F. y Khan, P. S. S. V. (2019). Pollen development and function under heat stress: from effects to responses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41, 1-20.

Rejón, J. D., Delalande, F., Schaeffer-Reiss, C., Alché, J. D. D., Rodríguez-García, M. I., Van Dorsselaer, A. y Castro, A. J. (2016). The pollen coat proteome: at the cutting edge of plant reproduction. *Proteomes*, 4(1), 5.

Rice-Evans, C., Miller, N. y Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2(4), 152-159.

Ríos S., J. C., Reyes-Rodríguez, C. M., Rosales-Serna, R. y Alfredo, P. (2018). Actualización preliminar de inventarios para áreas productoras de maguey cenizo en diferentes municipios de Durango. *Ciencia e Innovación*, 1(2), 323-332.

Rodríguez-Garay, B., López-Díaz, S., Rodríguez-Domínguez, J. M., Gutiérrez-Mora, A. y Tapia-Campos, E. (2018). Application of in Casa Pollination and Embryo Rescue Techniques for Breeding of Agave Species. *Plant Cell Culture Protocols*, 1815, 289-300.

Rosas, M., Colmenero, R., A., Naranjo J., N. y Rodríguez G., J. H. (2014). El mezcal de Durango, México: un análisis histórico, biológico y económico para su producción sustentable. *Ingeniantes*, 1(1), 75-83

Roulston, T. H., Cane, J. H. y Buchmann, S. L. (2000). What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen-pistil interactions, or phylogeny? *Ecological Monographs*, 70, 617–643.

Rumbaoa, R. G. O., Cornago, D. F. y Geronimo, I. M. (2009). Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (*Solanum tuberosum*) tubers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(6), 546-550.

Saenz de Riva, C. (1987). Polen y esporas. Introducción a la palinología y vocabulario palinológico. Blume Ediciones, Madrid.

Sammour, R. H., Radwan, S. A. y El-Koly, A. (2007). Genetic diversity in *Phaseolus* spp. as revealed by SDS-PAGE markers. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 151, 69-75.

Sharma, R. J., Gupta, R. C., Singh, S., Bansal, A. K. y Singh, I. P. (2016). Stability of anthocyanins-and anthocyanidins-enriched extracts, and formulations of fruit pulp of *Eugenia jambolana* ('jamun'). *Food Chemistry*, 190, 808-817.

Shekari, A., Nazeri, V. y Shokrpour, M. (2016). Pollen viability and storage life in *Leonurus cardiaca* L. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(3), 101-104.

Shivanna, K. R. y Johri, B. M. (1985). The angiosperm pollen: structure and function. New Delhi: Wiley Eastern. pp. (374-374).

Shivanna, K. R., Linskens, H. F. y Cresti, M. (1991). Pollen viability and pollen vigor. *Theoretical and Applied Genetics*, 81, 38-42.

Sievwright, C. A. y Shipe, W. F. (1986). Effect of storage conditions and chemical treatments on firmness, in vitro protein digestibility, condensed tannins, phytic acid and divalent cations of cooked black beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of Food Science*, 51(4), 982-987.

Singleton, V. L. y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Soejarto, D. D. y Fonnegra, R. (1972). Polen: Diversidad en formas y tamaños. *Actualidades Biológicas*, 1(1), 2-13.

Soto, S. B., Domínguez-Calleros, P. A. y Antuna, E. M. (2014). La producción de mezcal en el municipio de Durango, México. *Ra Ximhai*, 10(6), 65-74.

Stanley, R. G. y Linkens, H. F. (1974). *Pollen Biology*. Springer Verlag. Berlin. 119 pp.

Strelec, I., Koceva Komlenić, D., Jurković, V., Jurković, Z. y Ugarčić-Hardi, Ž. (2010). Quality parameter changes in wheat varieties during storage at four different storage conditions. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 75(3), 105-111.

Taylor, L. P. y Hepler, P. K. (1997). Pollen germination and tube growth. *Annual review of plant biology*, 48(1), 461-491.

Teles, A. S. C., Chávez, D. W. H., Gomes, F. D. S., Cabral, L. M. C., y Tonon, R. V. (2017). Effect of temperature on the degradation of bioactive compounds of *Pinot Noir* grape pomace during drying. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21.

Torres, M. M. I. (2009). Caracterización molecular del complejo *Agave durangensis* por medio de marcadores ISTR. Tesis de Doctorado. Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. México.

Tuinstra, M. R. y Wedel, J. (2000). Estimation of pollen viability in grain sorghum. *Crop Science*, 40(4), 968-970.

Valadão, S. J, Severino, Y., Davidson, S. L. y Ferraz, E. A. (2014). Stability of phenolic compounds and antioxidant capacity of regular and decaffeinated coffees. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57, 110-118.

Valenzuela R. J. F., Velasco, G. y Marcos, L. (2003). Desarrollo Sustentable de Agave Mezcalero en Durango. CIIDIR. Instituto Politécnico Nacional, Unidad

Durango – Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 171. Nombre de Dios, Durango. 188 pp.

Vargas, A. A. M. (2009). Estudio de la variabilidad genética intra e interpoblacional de *Agave durangensis* Gentry (Agavaceae) por medio de marcadores moleculares ISTR. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Durango. México, 87 pp.

Vázquez-Flores, A. A., López-Díaz, J. A., Wall-Medrano, A. y De La Rosa, L. A. (2012). Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo: Hydrolyzable and condensed tannins: chemistry, advantages and disadvantages of their intake. *Tecnociencia Chihuahua*, 6(2), 84-93.

Verduzco-Martínez, J., Predo-Rojas, C. I. y Mercado-Hernández, R. (2009). Caracterización e identificación taxonómica del maguey. Memorias del VII Simposium-Taller Producción y Aprovechamiento del Nopal en el Noreste de México. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 2, 75-90.

Walker, J. W. y Doyle, J. A. (1975). The bases of angiosperm phylogeny: palynology. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 62(3), 664-723.

Wizenberg, S. B., Dang, M. y Campbell, L. G. (2022). Methods for characterizing pollen fitness in *Cannabis sativa* L. *Plos one*, 17(7), e0270799.

Ylstra, B., Touraev, A., Moreno, R. M. B., Stöger, E., Van Tunen, A. J., Vicente, O. y Heberle-Bors, E. (1992). Flavonols stimulate development, germination, and tube growth of tobacco pollen. *Plant Physiology*, 100(2), 902-907.

Zinn, K. E., Tunc-Ozdemir, M. y Harper, J. F. (2010). Temperature stress and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links. *Journal of Experimental Botany*, 61(7), 1959-1968.

Zonneveld, B. J. M. y Van Iren, F. (2001). Genome size and pollen viability as taxonomic criteria: application to the genus *Hosta*. *Plant Biology*, 3(2), 176-185.