

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOLOGÍA

**Genética de poblaciones de agaves mezcaleros de Guerrero, Oaxaca y Puebla,  
México.**

QUE PRESENTA:

**Vargas Serrano Guadalupe**

MATRICULA:

**2183071223**



Dra. María del Carmen Monroy Dosta (28906)

Asesora interna



Dr. Jaime Gasca Pineda (9989397)

Asesor Externo

## **Agradecimientos institucionales**

Agradezco a la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) unidad Xochimilco por mi formación académica y al Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental del Instituto de Ecología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por darme la oportunidad de llevar a cabo mi servicio social.

Agradezco al Dr. Luis E. Eguiarte Fruns por darme la oportunidad de formar parte del laboratorio y de las oportunidades brindadas durante mi estancia. Al Dr. Jaime Gasca Pineda por brindarme siempre su ayuda, tiempo y dedicación a lo largo del desarrollo de mi trabajo.

## **Agradecimientos a título personal**

Agradezco a Dios principalmente por la vida, por acompañarme y guiarme en cada paso.

Agradezco a mis padres, Ofelia Modesta Serrano Ramírez y Mario Vargas Sánchez por el cobijo y apoyo incondicional que me han brindado toda mi vida, por impulsarme a volar y luchar por mis metas. Gracias por su consejo y por no soltarme de la mano cuando siento que no puedo más. Todo lo que soy se los debo a ustedes, infinitas gracias.

A mi abuelito, Pedro Serrano Villalba por motivarme a cumplir mis sueños e inculcarme a ser una buena persona, gracias por acompañarme en esas noches de desvelo, las risas en todo momento y por todos los bonitos mementos juntos a lo largo de mi vida, gracias papá Pedro.

A mi asesor, el Dr. Jaime Gasca Pineda por ser mi principal guía y maestro durante el desarrollo de mi trabajo, por su enseñanza en el mundo de la bioinformática y su infinita paciencia, sin usted estaría perdida, gracias. Agradezco a la ingeniera agrónoma Irene Martínez Velasco, por su amistad, ayuda brindada y enseñanzas durante mi estancia, por tranquilizarme cuando perdía mis datos y tenerme muchísima paciencia. No tengo las suficientes palabras para expresar todo el cariño y agradecimiento que les tengo a ambos.

A la Dra. Erika Aguirre Planter por recibirme y hacerme sentir parte del laboratorio desde el primer día y el apoyo logístico. Así mismo a la Dra. Valeria Souza por compartir sus vivencias y por adoptarme como parte de su laboratorio. Ambas mujeres admirables y de excelente calidad humana.

Agradezco a la Dra. Ma. del Carmen Monroy Dosta por aceptar ser mi asesora y guiarme en este camino y al Dr. Mata por las facilidades brindadas.

A todos mis compañeros del laboratorio con quienes compartí tiempo, risas y comidas durante mi estancia

## Índice

<b>Introducción</b> .....	1
<b>Planteamiento del problema y justificación</b> .....	2
<b>Objetivos</b> .....	2
Objetivo general .....	2
Objetivos específicos.....	2
<b>Antecedentes</b> .....	2
<b>Metodología</b> .....	3
Área de estudio.....	3
Colecta.....	3
Extracción y cuantificación de ADN.....	4
Análisis de datos.....	4
Morfotipos .....	5
<b>Resultados</b> .....	6
Algoritmos de agrupación .....	6
Diversidad genética por clust_thrshold .....	6
Análisis multivariados .....	8
Análisis de asignación de individuos .....	10
Resultados después del filtrado .....	11
Diversidad genética .....	11
Análisis multivariados .....	13
Análisis de ancestría.....	15
Análisis de coancestría .....	17
Asociación genético-morfotipo .....	19
<b>Discusión</b> .....	26
<b>Conclusiones</b> .....	27
<b>Referencias bibliográficas</b> .....	28
<b>Anexos</b> .....	33

## Introducción

Mesoamérica es una de las tres áreas de origen y diversidad de plantas cultivadas más importantes en el mundo (Colunga-García y Zizumbo-Villarreal, 2006). Se ha reportado que el origen del género *Agave* se remonta al Mioceno (Good-Avila *et al.*, 2006), y que los ciclos glaciales posteriores del Pleistoceno tuvieron un papel importante en su distribución. Aunque la variabilidad climática de la región y la complejidad topográfica influenciaron los niveles de diversidad genética y la dinámica de las poblaciones de agave, fue hasta el periodo del Holoceno medio cuando su distribución fue estable (Aguirre-Planter *et al.*, 2020). No obstante, el género *Agave* posee una amplia distribución que va desde Dakota del Norte extendiéndose por los Andes, Bolivia, Paraguay, Centroamérica y las Antillas (García-Mendoza, 1995), sin embargo, la mayor riqueza de especies de agaves se encuentra en México (Reynoso-Santos *et al.*, 2012). El género *Agave* es un amplio grupo de angiospermas monocotiledóneas terrestres que han desarrollado adaptaciones fisiológicas que permiten el uso y almacenaje eficiente de agua (García-Mendoza, 2004; Eguiarte *et al.*, 2021), por lo cual, este género es característico de los ecosistemas áridos y semiáridos mexicanos representando un 75% de endemismo (Eguiarte *et al.*, 2021). Los registros indican que este género cuenta con alrededor de 200 especies, de las cuales 150 se encuentran en México (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2016). De acuerdo a diferentes reportes las plantas de este género se han utilizado desde hace más de 10,000 años, principalmente como fuente de alimento y fibra, además como de bebida, uso medicinal, ornato, y como material para elaboración de casas (García-Mendoza, 2004; CONABIO, 2020).

La importancia ecológica de los agaves radica en que de ellos depende la subsistencia de diversas especies animales, especialmente polinizadores (Eguiarte *et al.*, 2021). Además ayuda a la reducción de la erosión e intervienen en la captura de carbono (García, 2007). Por otra parte, su importancia socioeconómica en México se debe a que es materia prima para la elaboración de tequila y mezcal. A este respecto, datos reportados señalan que la demanda de estos productos incrementó desde 2003 y para 2016 las exportaciones de tequila representaron un valor de 1,203 mdd (millones de dólares) y distintas estimaciones señalan que para 2030 se espera un crecimiento acumulado de las exportaciones de tequila de 27.13% (SAGARPA, 2017).

Debido a la creciente demanda de productos derivados del agave, especialmente de tequila y mezcal, es necesario el estudio y preservación de este género, debido a que factores como el impacto antropogénico, las malas medidas de planeación de siembra y “el síndrome de domesticación”, que en su momento dio paso a los “cuellos de botella”, resultaron en la disminución de variabilidad genética de sus poblaciones. En el caso del agave en México, los procesos de domesticación originaron tres grupos de especies de agave: silvestre o cimarrón, semi cultivados y cultivados (Parra y Tortolero, 2015), causando una brecha entre las plantas domesticadas y sus parientes silvestres, ocasionando pérdida de diversidad genética. Esta brecha se origina principalmente a modificaciones en las técnicas de manejo agrícola, como el caso de las industrias tequileras las cuales implementan sistemas agrícolas basados en monocultivos (Bellon *et al.*, 2009) que limitan la diversidad genética e impactan negativamente al ambiente (Herrera-Pérez *et al.*, 2017), llegando a ocasionar plagas y poca adaptabilidad a cambios ambientales (Espinosa, 2015). Por otra parte, la implementación de un manejo agrícola basado en diversas prácticas tradicionales mantiene una amplia diversidad genética de

diferentes variedades de maguey, que se utilizan para elaborar bebidas destiladas y otros productos (Colunga-García y Zizumbo-Villarreal, 2006).

A pesar de su valor económico y ecológico, existen pocos estudios sobre diversidad genética y la forma en la que la intervención humana puede alterar a poblaciones silvestres y domesticadas (Piñero, 2008). Por lo que, es fundamental desarrollar técnicas que permitan su aprovechamiento sustentable mediante el uso de marcadores genéticos.

El objetivo del servicio social fue colaborar en las actividades dentro del proyecto “Auge mezcalero y deudas de extinción: investigación interdisciplinaria hacia la sustentabilidad”.

### **Planteamiento del problema y justificación**

Con el asentamiento de grupos humanos en Mesoamérica, el género *Agave* se convirtió en una de las primeras plantas aprovechadas por los pobladores (García, 2007). México es reconocido como centro de domesticación (Doebley *et al.*, 2006) y diversificación de variedades de agaves mediante la selección de caracteres deseables que permitieron un mejor aprovechamiento para su uso como fuente de alimento o en la utilización de bebidas fermentadas y destiladas principalmente (Bellon *et al.*, 2009). En los últimos años, las prácticas implementadas para el cultivo de agave se han modificado constantemente desde el “boom tequilero” (Sánchez, 2016), lo que ha generado la intensificación de su producción y la introducción de nuevas tecnologías con la finalidad de satisfacer la elevada demanda, ocasionando la sobreexplotación que afecta la superficie de cultivo, el tiempo de maduración y los sistemas de producción (Macías, 2000; Sánchez, 2016). Lo anterior ha causado la disminución de la diversidad biológica y genética (Lara-Ávila y Alpuche-Solís, 2016), lo que a su vez afecta la variabilidad y flujo genético e incrementa el riesgo de extinción (Martínez, 2002). Por ello es relevante la búsqueda de medidas de conservación genética y de aprovechamiento sustentable mediante marcadores genéticos. Por lo que el objetivo de este estudio es obtener y analizar la diversidad genética de *Agave karwinskii* (*A. karwinskii*) y *Agave cupreata* (*A. cupreata*) mediante la técnica de genotipado por secuenciación (GBS; Genotyping-by-Sequencing).

### **Objetivos**

#### **Objetivo general**

Obtener y analizar la diversidad genética de *Agave karwinskii* (*A. karwinskii*) y *Agave cupreata* (*A. cupreata*) de Guerrero, Oaxaca y Puebla, México.

#### **Objetivos específicos**

- Obtener los genotipos basados en datos de secuenciación masiva mediante la técnica de GBS.
- Analizar los datos obtenidos para la estimación de la diversidad genética.
- Evaluar la estructura genética mediante el uso de algoritmos de agrupación.
- Realizar un análisis de asociación genético-morfotipo.

#### **Antecedentes**

El uso de marcadores moleculares se emplea para conocer la diversidad biológica además de ser utilizado para localizar y aislar genes de interés (Rentarías, 2007). Estos marcadores moleculares se dividen en marcadores moleculares bioquímicos (proteínas e isoenzimas) y

marcadores de ADN basados en las diferencias o similitudes de pequeñas secuencias de ADN (Godoy, 2009). Actualmente, la genotipificación por secuenciación (GBS; Genotyping-by-Sequencing) es un sistema eficiente que permite la búsqueda de marcadores y genotipificación simultánea, que permite la reducción del genoma mediante enzimas de restricción evitando así repetir zonas del genoma y generando marcadores de tipo SNPs (Ricaño-Rodríguez *et al.*, 2019).

Lara (2005) analizó la diversidad genética de tres poblaciones de *A. salmiana* (Ipiña, Aquiles Serdán y El Cuervo en San Luis Potosí, Mex.) utilizando marcadores moleculares RAPD (Random amplified polymorphic DNA) y AFLP (Amplified fragment length polymorphism) por medio de PCR. Los resultados mostraron que la diversidad genética dentro de cada población es mayor que la variabilidad interpoblacional. Por otra parte, Lara-Ávila (2016) analizó la diversidad genética y estructura poblacional de tres poblaciones silvestres de *Agave salmiana* ssp. *crassispinata*, mediante AFLP, hallando un alto nivel de diversidad genética dentro de las poblaciones analizadas y un bajo nivel de diferenciación entre ellas, causado posiblemente por la fragmentación del hábitat. Por su parte, Mandujano *et al.* (2018) analizó la diversidad genética de maguey (*Agave* spp.) en las sierras y llanuras del noreste de Guanajuato, utilizando la técnica de amplificación de los ISTR (Inverse Sequence Tagged Repeat) por medio de PCR. Los resultados mostraron que 6 de las 14 combinaciones de marcadores ISTR empleadas mostraron adecuados patrones de amplificación para estudiar la diversidad genética de las especies de agave encontradas en las sierras y llanuras del norte de Guanajuato. Klimova *et al.* (2022), examinó el efecto relativo de la migración, la deriva genética, la selección natural y las actividades humanas en la diversidad genética de *Agave angustifolia* var. *pacífica* en 34 sitios silvestres y cultivados, utilizando marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphisms). Los análisis resultaron en una estructura genética superficial entre las muestras silvestres, aunque sin encontrar diferenciación entre poblaciones cultivadas y silvestres. Por otra parte, Ruiz *et al.* (2022) estudió los niveles de variación genómica en tres áreas manejadas tradicionalmente de *A. tequilana* en Jalisco, Mex., empleando SPN de todo el genoma, utilizando marcadores de SNP asociado al sitio de restricción en muestras cultivadas de *A. tequilana*, encontrando una baja diferenciación genética que se explica por el manejo tradicional y propagación clonal. Estos trabajos han demostrado que el uso de marcadores moleculares permite determinar la variación genética de las especies y comparar la variabilidad poblacional entre ellas para evitar el empobrecimiento genético.

## **Metodología**

### **Área de estudio**

El estudio se desarrolló en la zona sur de México, para *A. karwinskii* la colecta se realizó en los estados de Oaxaca y Puebla, mientras que para *A. cupreata* se hizo en el estado de Guerrero, para ambos casos se tomó en cuenta el tipo de manejo de las poblaciones: silvestre, ornamental, cultivado y vivero (Figura 1).

### **Colecta**

Se realizó una colecta de 10 a 15 individuos por población, cuando fue posible, de *A. karwinskii* y *A. cupreata*. Para evitar muestreo de un solo genotipo se colectaron individuos separados entre sí por aproximadamente 10 metros (Aguirre-Duga y Eguiarte, 2013).

Para *A. Karwinskii* la colecta se realizó en 11 poblaciones pertenecientes a 5 municipios de Oaxaca y 1 población perteneciente a Puebla (Anexo 1), obteniendo un total de 96 individuos, mientras que para *A. cupreata* la colecta se realizó en 11 poblaciones pertenecientes a 6 municipios de Guerrero (Anexo 1), con un total de 60 individuos. El material vegetal colectado para ambos casos fue transportado en bolsas de papel con sílica gel y una vez en laboratorio se almacenó a  $-80^{\circ}\text{C}$  en ultracongelador.

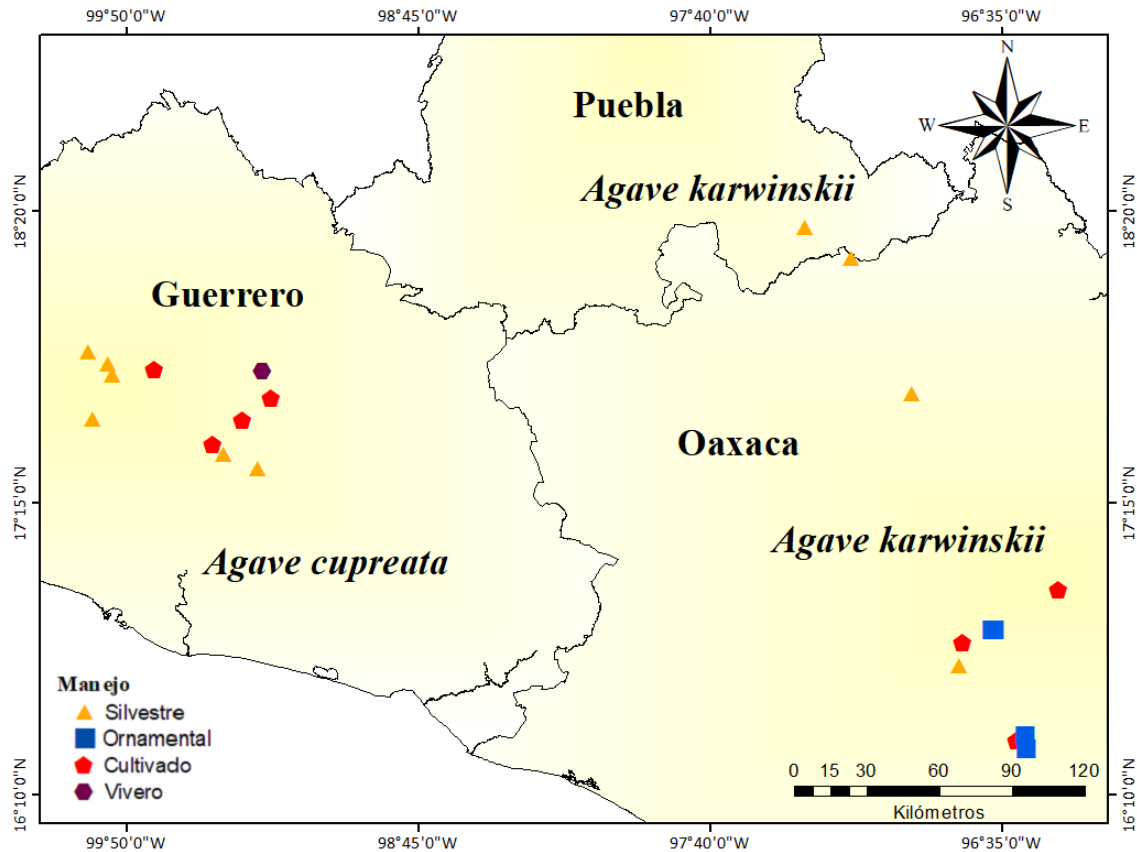


Figura 1. Mapa de distribución por manejo de *A. karwinskii* (Oaxaca y Puebla) y *A. cupreata* (Guerrero).

### Extracción y cuantificación de ADN

Del total de individuos muestreados se descartaron aquellos que presentaran daños, de tal manera que se extrajo el ADN de las hojas de 96 individuos de *A. karwinskii* y 60 de *A. cupreata* utilizando el método “Mini Prep” CTAB modificado (Doyle y Doyle, 1987) (Anexo 2). El ADN fue visualizado por medio del gel de electroforesis de agarosa al 1%.

Para la cuantificación y pureza del ADN se utilizó el Qubit (Invitrogen), que permitió descartar aquellos individuos que presentarán baja calidad, lo que permitió seleccionar y enviar a genotipificar 90 individuos de *A. Karwinskii* y 53 de *A. cupreata* a la unidad de secuenciación de la Universidad de Wisconsin, EE.UU. mediante la técnica de GBS (Genotyping by sequencing) para la obtención de SNPs (single nucleotide polymorphisms).

### Análisis de datos

Para el filtrado de calidad se utilizó TRIMMOMATIC (Bolger, Lohse y Usadel, 2014), mientras que para el llamado de SNP's se utilizó ipyrad v.0.9.5 (Eaton y Overcast, 2020) modificando el archivo de parámetros generado previamente en ipyrad, modificando los valores de

clust\_hreshold de 0.85., 0.90 y 0.92 de tal manera que se generaron 3 juegos de datos para *A. karwinskii* y *A. cupreata* en formato \*.vcf respectivamente. El filtrado final se hizo con VCFtools v.0.1.15 (Daneck *et al.*, 2011) y se eliminaron aquellos individuos que no contaran con un valor de F\_MISS igual a 1 (Figura 2). Después del filtrado se estimaron estadísticos usados en genética de poblaciones (heterocigosis esperada *HE* y observada *HO*, coeficiente de endogamia *Fis* e índice de fijación *FST*) con los paquetes de R poppr (Kamvar, Tabima y Grünwald, 2014), adegenet V2.1.3 (Jombart, 2008) y hiesftaf (Goudet, 2005) (Anexo 3).

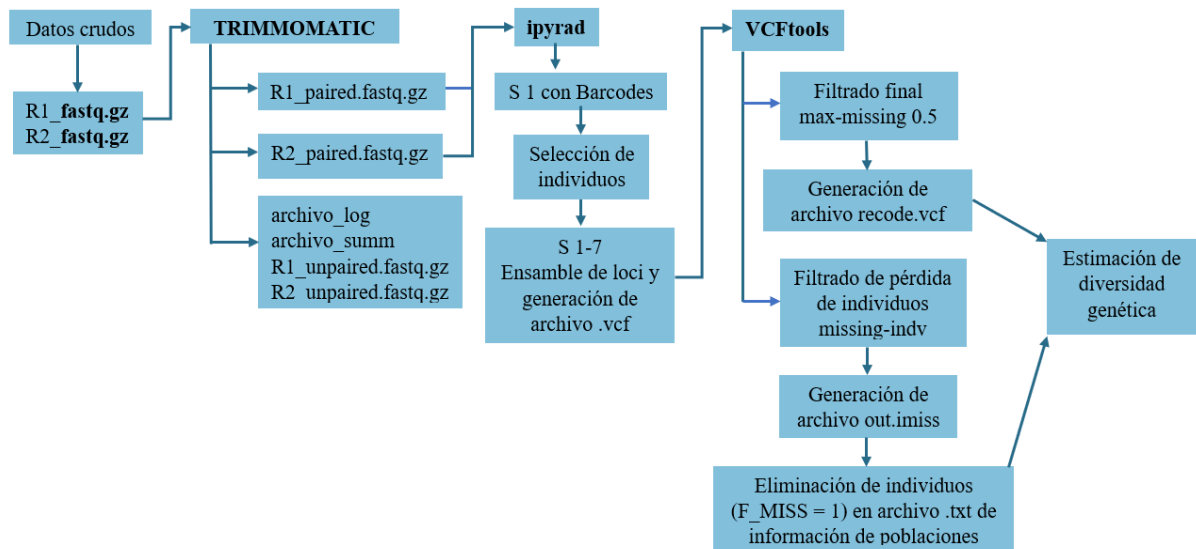


Figura 2. Diagrama de flujo para el análisis de datos.

Una vez realizados los estadísticos de genética de poblaciones para cada juego de datos, se eligió el mejor valor de clust\_hreshold (0.92) que permitiera clasificar a los individuos en grupos relativamente homogéneos, posteriormente, se aplicaron filtros en VCFtools tales como: --max-alleles (para excluir sitios que tengan más de dos alelos), --min-alleles (para incluir sitios que tengan dos alelos), --max-missing (permite establecer datos mínimos faltantes), --min-meanDP (para la profundidad media mínima de un sitio), --max-meanDP (para la profundidad media máxima de un sitio), --remove-indels (elimina todos los indels, es decir los sitios donde posiblemente hubo una inserción o eliminación de la secuencia), --hwe (evalúa los sitios para determinar el equilibrio de Hardy-Weinberg), --maf (establece la frecuencia del alelo menor, mayor o igual), --thin (no permite dos sitios dentro de la distancia especificada entre ellos). Una vez aplicados dichos filtros se realizaron estadísticos de genética de poblaciones con distintos paquetes en R tales como: vcfR (Knaus y Grünwald, 2017), adegenet (Jombart, 2008), hierfstat (Goudet, 2005).

### Morfotipos

Los atributos tomados en cuenta se evaluaron de acuerdo a lo propuesto por Mora-López *et al.* (2011) y SAGARPA (2014). Para *A. karwinskii* se evaluaron 19 atributos por planta además de tomar en cuenta el etnotaxa, mientras que para *A. cupreata* se evaluaron 15 atributos por planta (Anexo 4), para ambas especies también se tomó en cuenta el manejo (cultivado, ornamental, silvestre y vivero).

La toma de medidas se realizó con el uso de un vernier para escalas pequeñas (mm), y con un flexómetro para escalas mayores (cm y m) para determinar el color de hoja se utilizó “Munsell color characters for plant tissues”. Se realizó una base de datos (BD) para cada especie y se



realizaron análisis preliminares estadísticos descriptivos de la información en R, el cual permitió correlacionar y descartar atributos no significativos para análisis posteriores.

Posteriormente se realizó un análisis en R con las librerías de FactoMineR y AlleleShift, se calculó la media, desviación estándar y correlación de Pearson. Finalmente se realizó un dendrograma a partir de distancias de Edward basado en los atributos morfológicos, el cual permitió realizar una comparación entre este y el dendrograma de datos genéticos con la ayuda de la librería phytools en R, el cual permitió realizar un análisis de asociación genético-morfotipo.

## Resultados

### Algoritmos de agrupación

La obtención de los archivos .vcf para cada clust\_threshold, tuvo variación en cuanto a número de loci, SNP's e individuos (Tabla 1). Esta variación de loci y SNPs permite agrupar genéticamente a los individuos de acuerdo con las similitudes o diferencias genéticas existentes entre estos.

Tabla 1. Número de individuos, loci y SNPs obtenidos de cada juego de clust\_threshold.

Clust	Individuos totales	loci	SNPs
<b><i>A. karwinskii</i></b>			
<b>0.85</b>	88	56,938	115,700
<b>0.90</b>		71,171	144,593
<b>0.92</b>		79,110	160,721
<b><i>A. cupreata</i></b>			
<b>0.85</b>	48	86,031	174,310
<b>0.90</b>	47	97,794	198,117
<b>0.92</b>		102,063	206,678

### Diversidad genética por clust\_threshold

La heterocigosis esperada (HE) y observada (HO) poblacional de *A. karwinskii* tuvo valores similares, en todos los casos los valores obtenidos para el coeficiente de endogamia indica que se encuentran en equilibrio (Figura. 3).

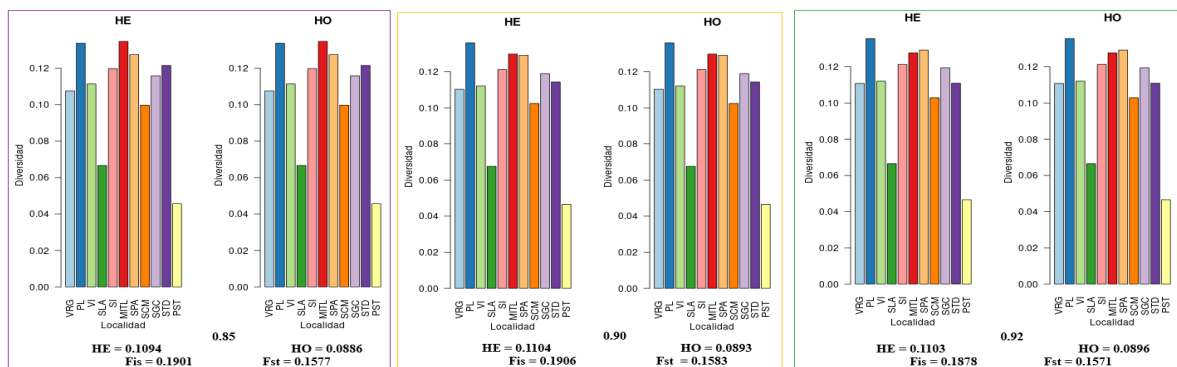


Figura 3. Heterocigosis esperada (HE) y heterocigosis observada (HO) poblacional de *A. karwinskii* con valores de clust\_threshold de 0.85, 0.90 y 0.92 (derecha a izquierda).

Para el caso de *A. cupreata* el clust de 0.85 y 0.92 tuvo valores similares para HE y HO así como Fis y Fst (Figura. 4), sin embargo tomaremos como base para el análisis el clust de 0.92.

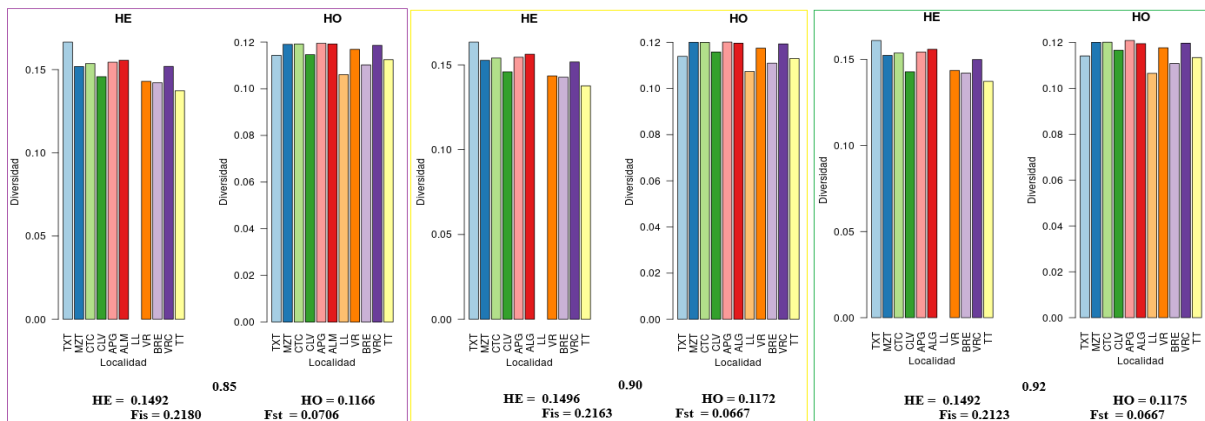


Figura 4. Diagrama de heterocigosis esperada (HE) y heterocigosis observada (HO) poblacional de *A. cupreata* con valores de clust\_threshold de 0.85, 0.90 y 0.92 (derecha a izquierda).

### Análisis de estructura

El mayor índice de fijación poblacional para *A. karwinskii* se encuentra en San Luis Amatlán (SLA), mientras que de etnotaxas son Cirial, Sierra negra y Coyota 2 (Figura 5). Sin embargo, en ambos casos el clust de 0.85 muestra diferencias.

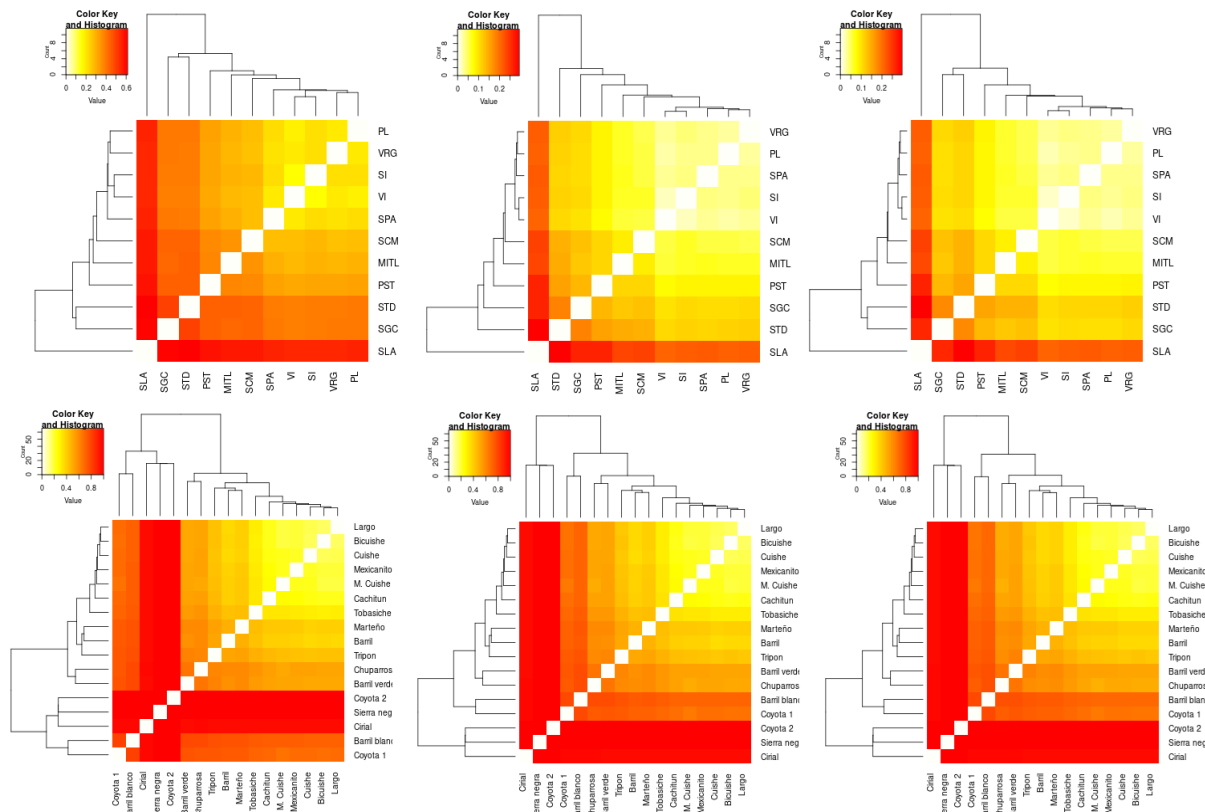


Figura 5. Heat map por población (A) y etnotaxa (B) de *A. karwinskii* con valores de clust threshold de 0.85, 0.90 y 0.92 (derecha a izquierda).

El mayor índice de fijación poblacional para *A. cupreata* se encuentra en La laguna (LL) seguido de Tixtla (TXT) (Figura 6), mientras que la menor fijación se encuentra en Apango (APG), Almolonga (ALM), Coaxtlahuacan (CTC), Mazatlán (MZT), Barranca del encino (BRE), Verde rico (VR) y Totoltepec (TT).

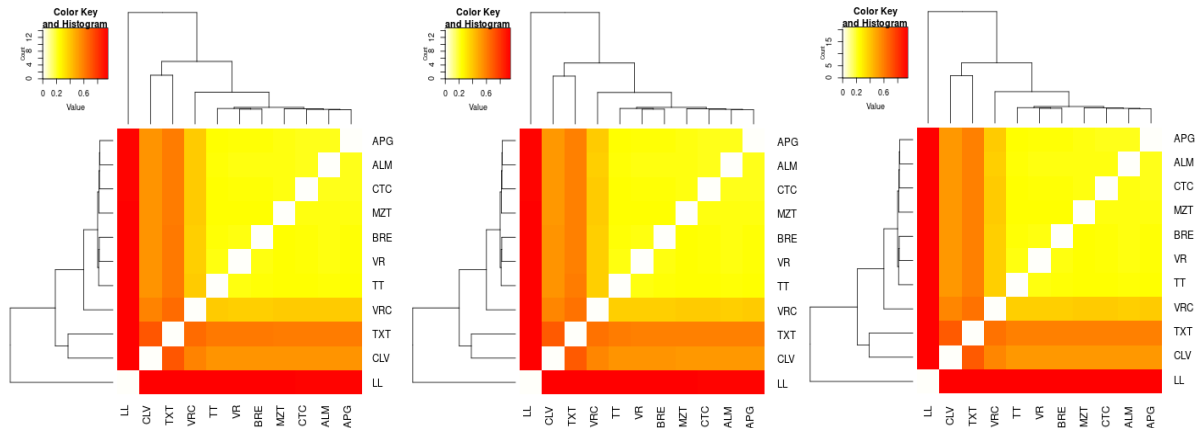


Figura 6. Heat map por población de *A. cupreata* con valores de *clust\_threshold* de 0.85, 0.90 y 0.92 (derecha a izquierda).

### Análisis multivariados

En todos los *clust* aplicados para *A. karwinskii* poblacionales y de etnotaxas se puede identificar la formación de un grupo definido perteneciente a la población de San Pedro Tetitlán (PST) perteneciente al etnotaxa Cachitún (Figura 7). Por otra parte el *clust* con mayor varianza explicada es el de 0.92, ya que cuenta con la mayor varianza explicada.

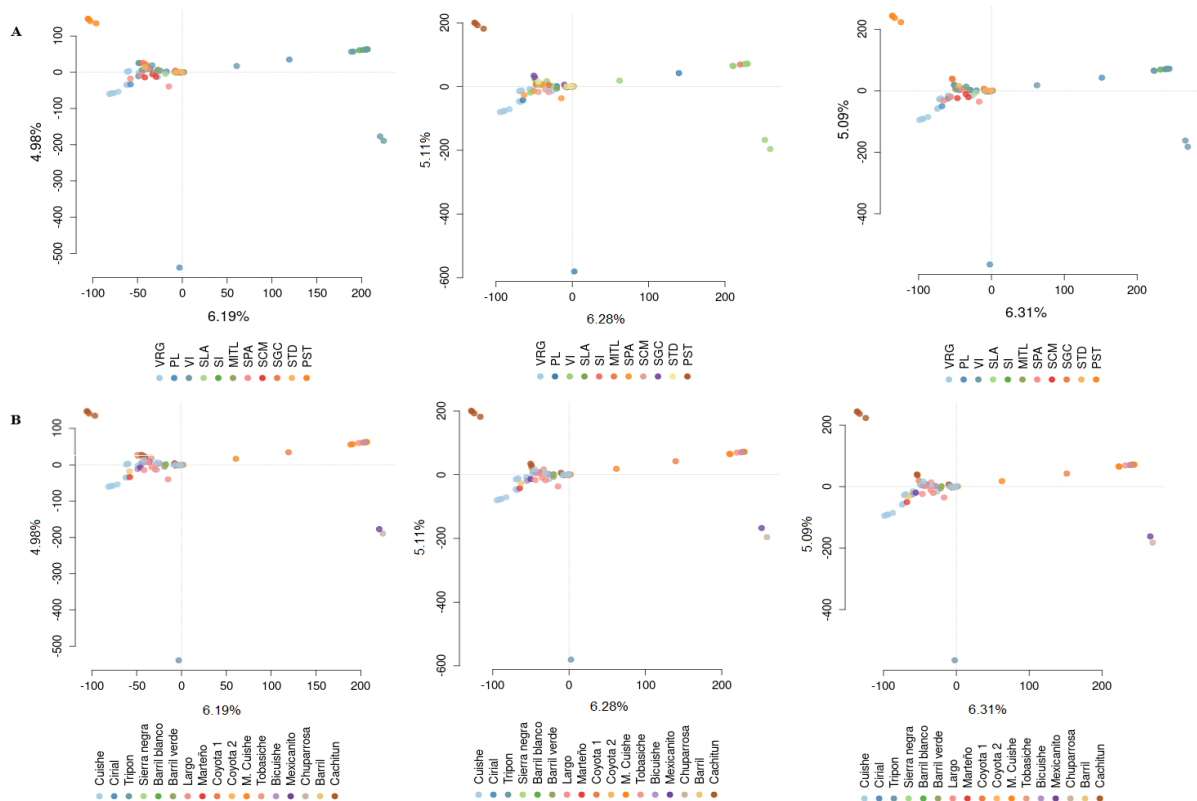


Figura 7. PCA por población (A) y etnotaxa (B) de *A. karwinskii* con valores de *clust\_threshold* de 0.85, 0.90 y 0.92 (derecha a izquierda).

Para el caso de *A. cupreata* el clust con mayor varianza explicada es de 0.92, no obstante para todos los valores de clust aplicados se puede diferenciar 7 poblaciones: Almolonga (ALG), Mazatlán (MZT), Coaxtlahuacan (CTC), Apango (APG), Barranca del encino (BRE), Totoltepec (TT) y Verde rico (VR) (Figura 8).

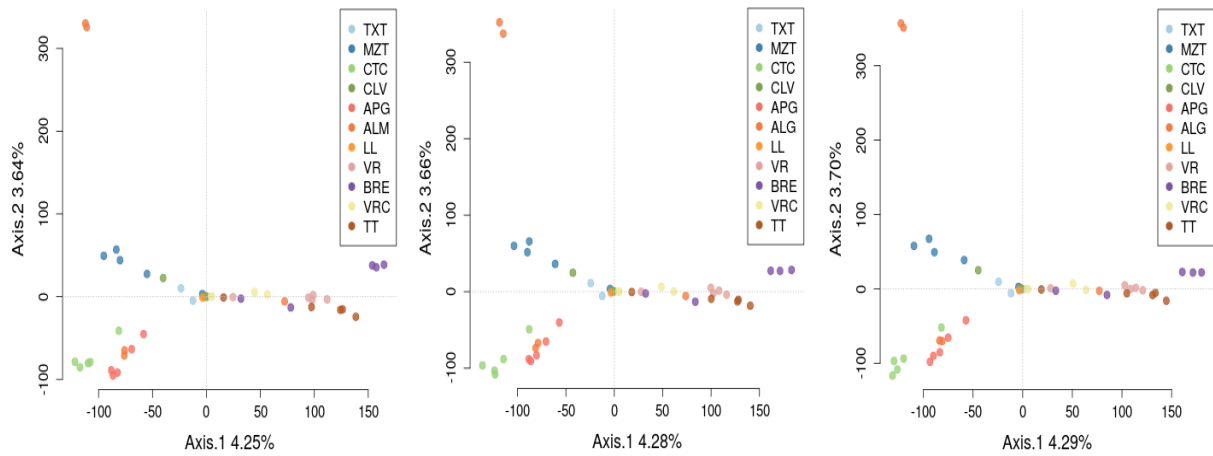


Figura 8. PCA poblacional de *A. cupreata* con valores de clust\_threshold de 0.85, 0.90 y 0.92 (derecha a izquierda).

Para *A. Karwinskii* las población mayormente agrupadas son San Pedro Tetitlán (PST) y El vergel (VRG), mientras que el etnotaxa con más agrupamiento es Tobasiche, Tripón, Chuparrosa y Mexicanito (Figura 9). En lo que respecta a los clust, en todos los casos existe similitud entre ellos, pero hay una diferencia para el clust de 0.85 en cuanto a posición.

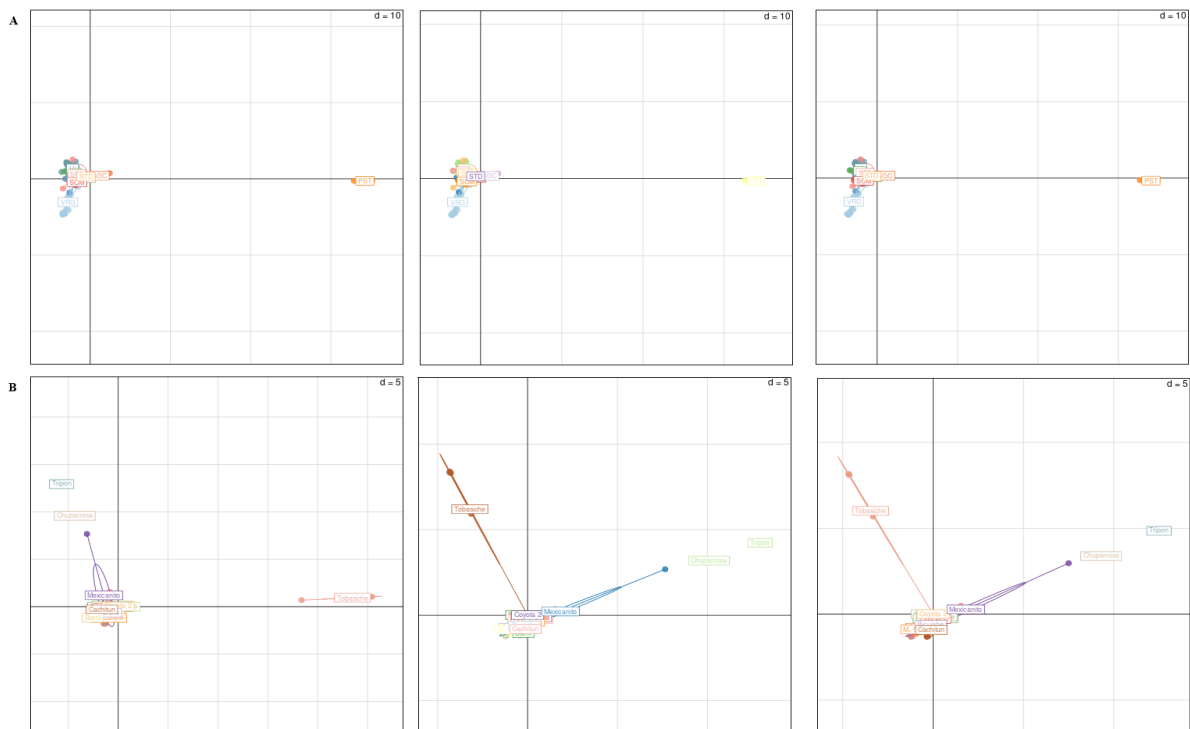


Figura 9. DAPC por población (A) y etnotaxa (B) de *A. karwinskii* con valores de clust\_threshold de 0.85, 0.90 y 0.92 (derecha a izquierda).

Las pruebas realizadas con los distintos clust nos muestran las poblaciones de *A. cupreata* agrupadas en 7 poblaciones: Verde rico (VR), Totoltepec (TT), Barranca del encino (BRE), Verde rico corralitos (VRC), Almolonga (ALG), Apango (APG) y Coaxtlahuacan (CTC) (Figura 10), lo cual coincide con los resultados obtenidos en el PCA (Figura 10). Sin embargo el clust de 0.85 muestra diferencia en cuanto a la posición de los grupos.

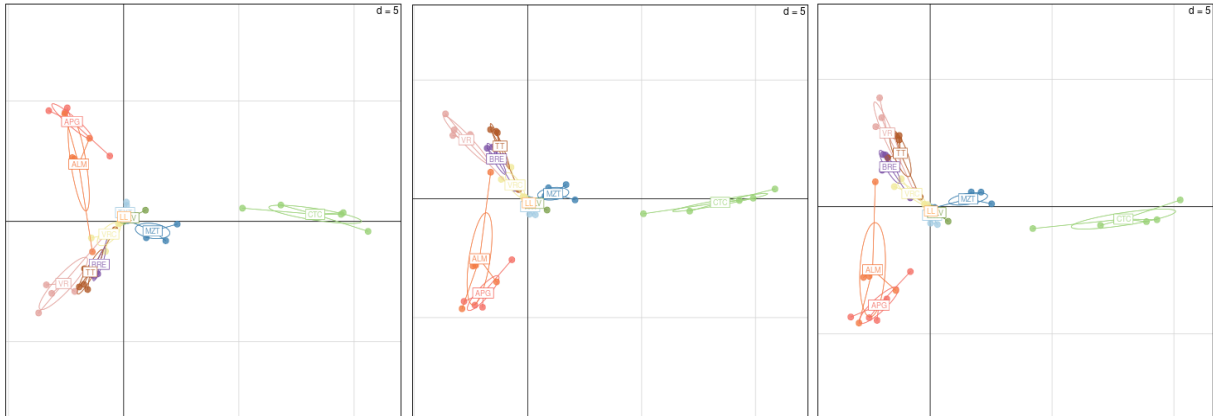


Figura 10. DAPC poblacional de *A. cupreata* con valores de clust\_threshold de 0.85, 0.90 y 0.92 (derecha a izquierda).

### Análisis de asignación de individuos

A nivel poblacional no se observan diferencias en cuanto a los clust aplicados, ya que en todos los casos El vergel (VRG) y San Pedro Tetitlán (PST) se observan definidas, mientras que los etnotaxa con mayor definición son Ciriál y Tobasiche (Figura 11).

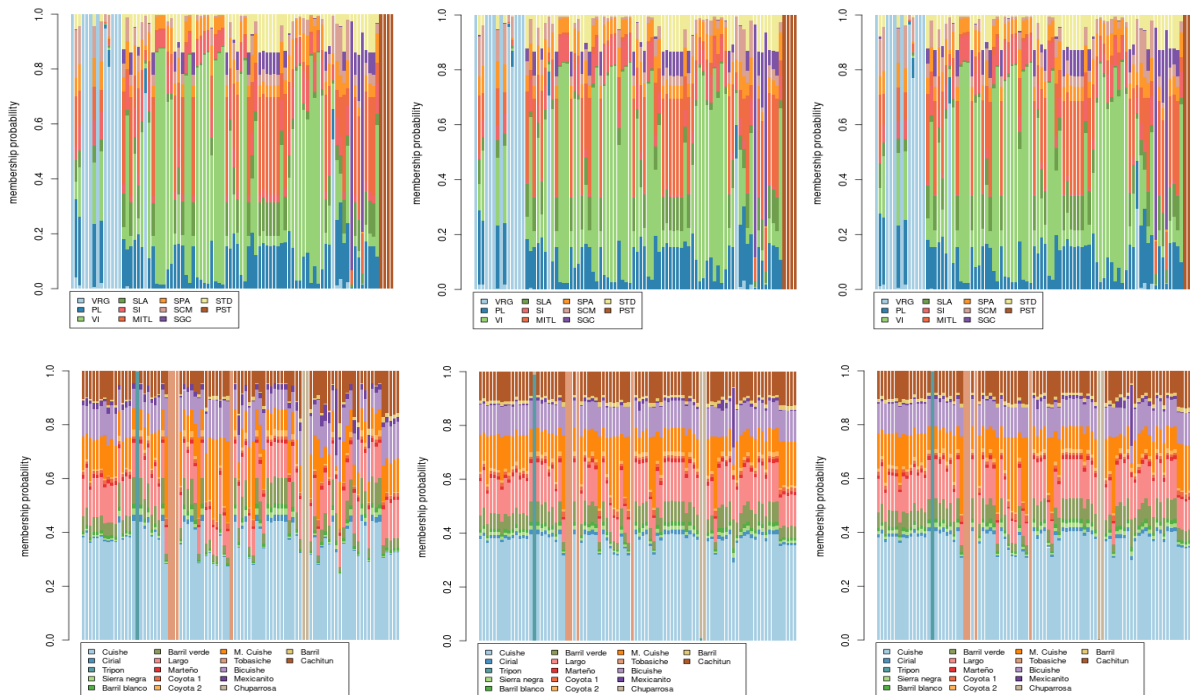


Figura 11. Estructura por población (A) y etnotaxa (B) de *A. karwinskii* con valores de clust\_threshold de 0.85, 0.90 y 0.92 (derecha a izquierda).

Poblacionalmente para *A. cupreata* no se encuentran diferencias para los clust aplicados, en todos los casos la población con mayor definición de es Coaxtlahuacan (CTC) y Apango (APG) (Figura 12).

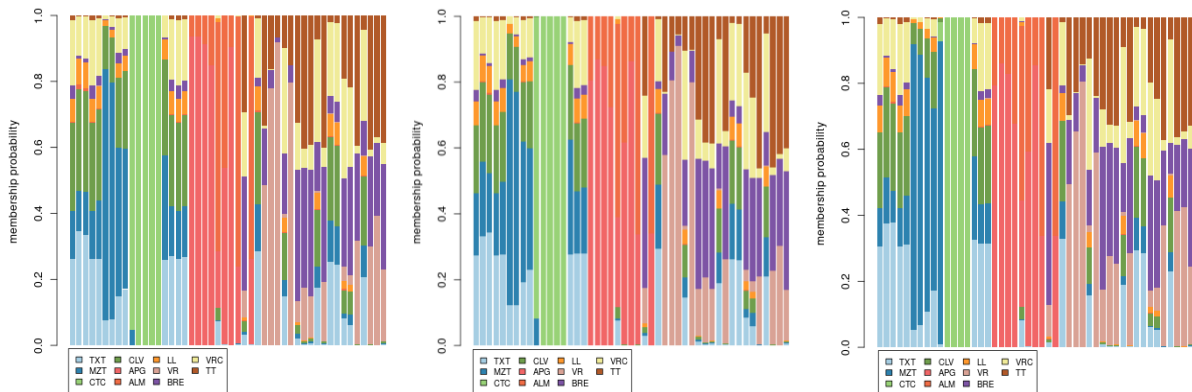


Figura 12. Estructura poblacional de *A. cupreata* con valores de clust\_threshold de 0.85, 0.90 y 0.92 (derecha a izquierda).

## Resultados después del filtrado

### Diversidad genética

Se obtuvo un total de 68 individuos con un total de 1985 SNPs para *A. karwinskii*. La heterocigosis esperada y observada por población fue similar, lo que se confirma con el coeficiente de endogamia el cual se encuentra en equilibrio (Figura 13. A). Por otra parte el coeficiente de endogamia para los extnotaxones indica un exceso de heterocigos, dado que la heterocigosis observada es mayor que la esperada (Figura 13. B), sin embargo esto se puede explicar porque para algunos etnotaxas solo se cuenta con un ejemplar (Anexo 5), por ello el valor negativo.

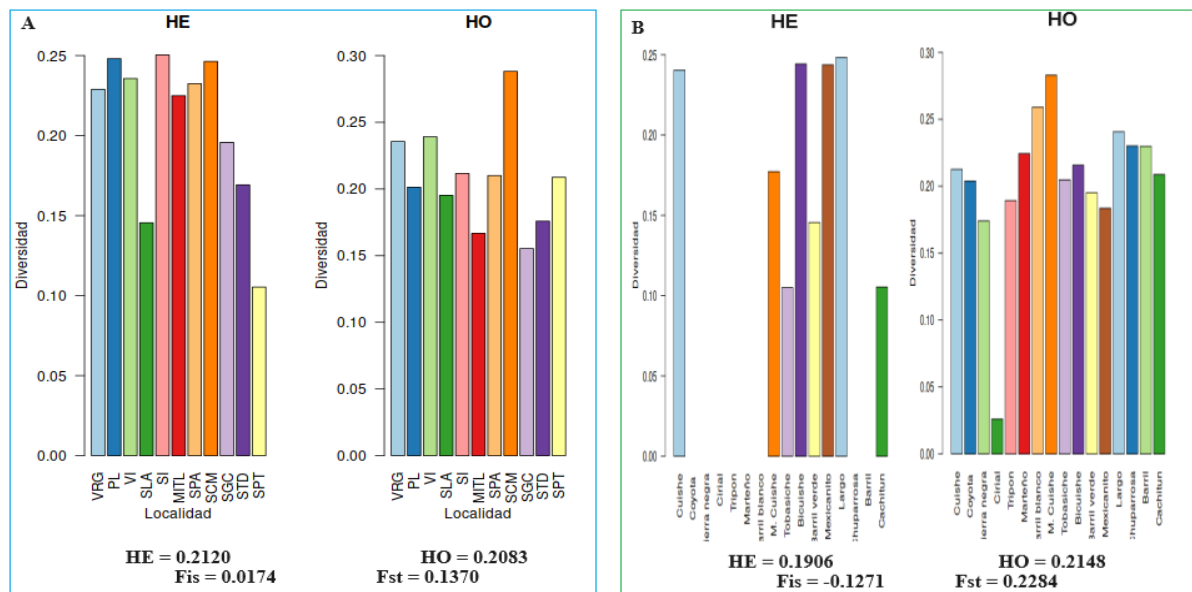


Figura 13. Heterocigosis esperada y observada (HO) poblacional (A) y por etnotaxa (B) de *A. karwinskii*. Los valores de media y SD de HE, HO y Fis poblacionales y por etnotaxa se muestran en los anexos 6 A y 6 B.

Para el caso de *A. cupreata* se obtuvieron 3947 SNPs de 44 individuos. La HE y HO fue similar, de tal forma que hay un equilibrio y una poca diferenciación entre poblaciones (Figura 14).

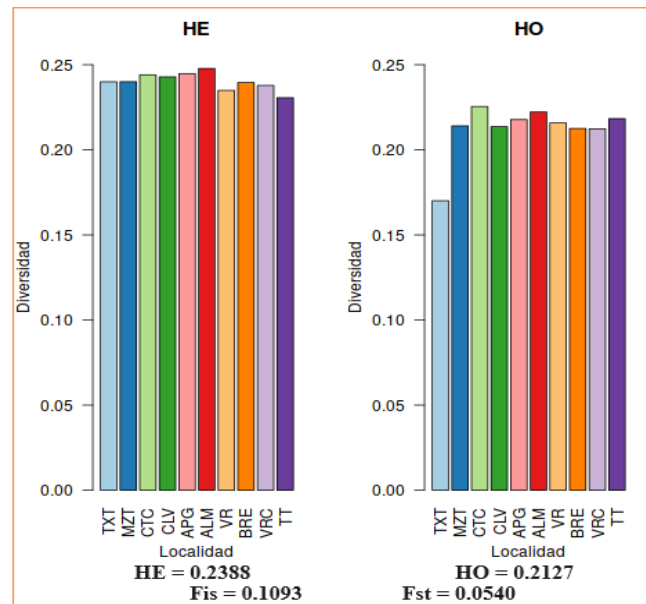


Figura 14. Heterocigosis esperada (HE) y heterocigosis observada (HO) poblacional de *A. cupreata*. Los valores de media y SD de HE, HO y Fis poblacionales se muestran en el anexo 6 C.

### Análisis de estructura

Las poblaciones con mayor índice de fijación (Fst) son San Pedro Tetitlán (SPT), San Domingullo (STD) y San Luis Amatlán (SLA), mientras que las de menor estructura son Proyecto Lam (PL), San Pedro Apóstol (SPA) y Santa Catarina Minas (SCM) todas ellas pertenecientes al municipio de Ocotlán, Oax. (Figura 15. A). Por otra parte los etnotaxa con mayor estructura son Tobasiche y Cachitún, mientras que los de menor Fst son Barril, Tripon, Sierra negra y Mateño, lo cual se explica porque estos etnotaxa solo se cuenta con un ejemplar (Figura 15 B).

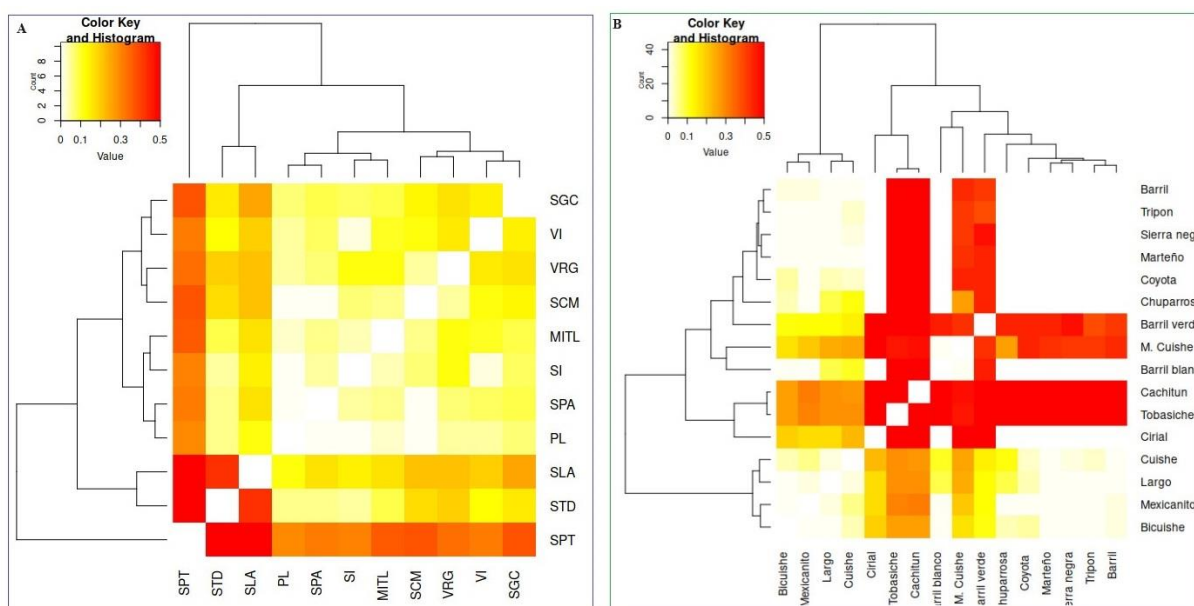


Figura 15. Heat map poblacional (A) y etnotaxa (B) de *A. karwinskii*.

Para *A. cupreata* las poblaciones con mayor estructura son Tixtla (TXT) y Coaxtlahuacan (CTC), mientras que las de menor estructura son Almolonga (ALM) y El calvario (CLV) (Figura. 16).

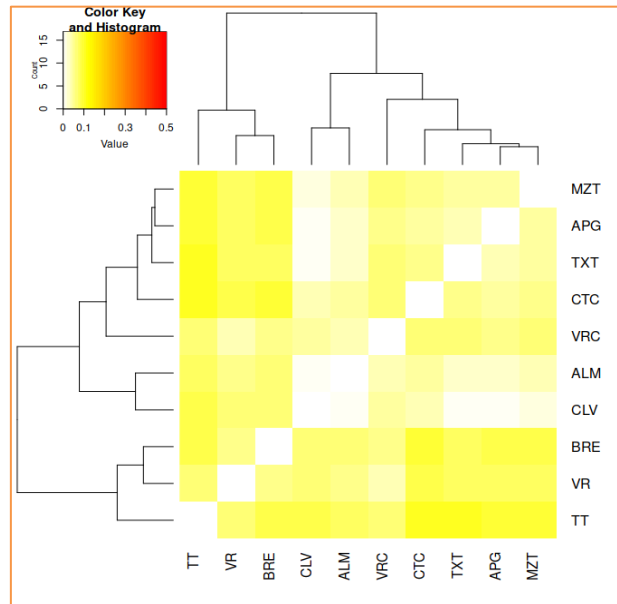


Figura 16. Heat map poblacional de *A. cupreata*.

### Análisis multivariados

A nivel poblacional y de etnotaxas para *A. karwinskii* los dos primeros componentes principales representan el 16.74% y 9.17% de la variación total respectivamente (Figura 17). La inspección de la gráfica genera una individualización para 2 poblaciones principalmente El vergel (VRG), y San Pedro Tetitlán (SPT), así como para los etnotaxa Cuishe y Cachitún. Sin embargo, estos resultados no son similares a los obtenidos en el dendrograma de distancias a nivel poblacional y etnotaxa (Anexo 7).

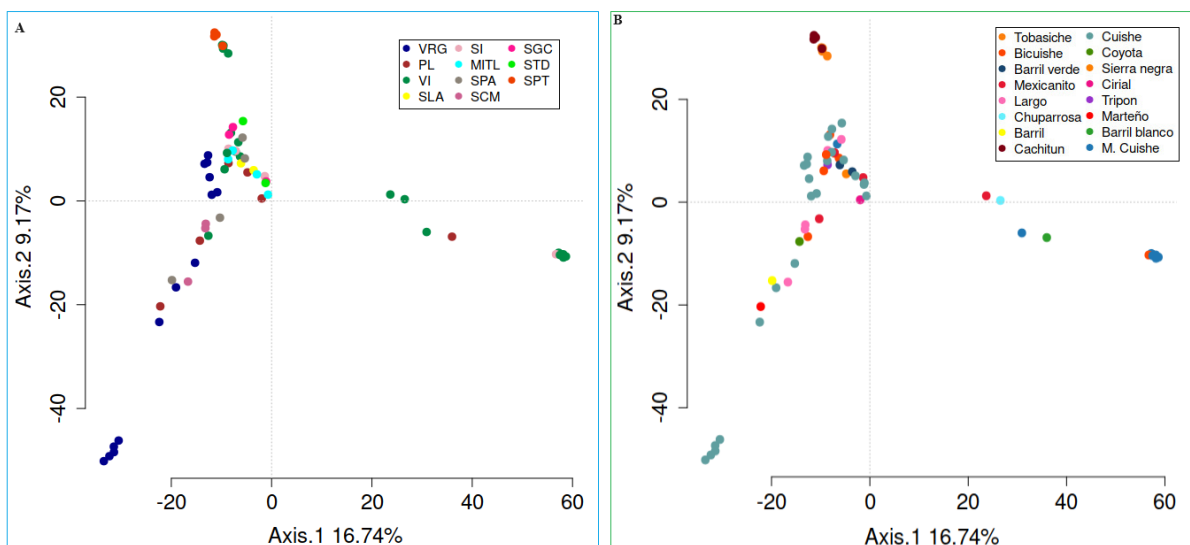


Figura 17. PCA por población (A) y etnotaxa (B) de *A. karwinskii*.



Para las poblaciones de *A. cupreata* la primera componente explica el 5.92% de la varianza, mientras la segunda el 4.66%. La exploración de la gráfica genera una individualización casi total de cada una de las poblaciones, sin embargo, la población de BRE se encuentra más alejada que las demás (Figura 18), ya que en el dendrograma de distancias a nivel de población esta población no se encuentra alejada respecto a las otras (Anexo 8).

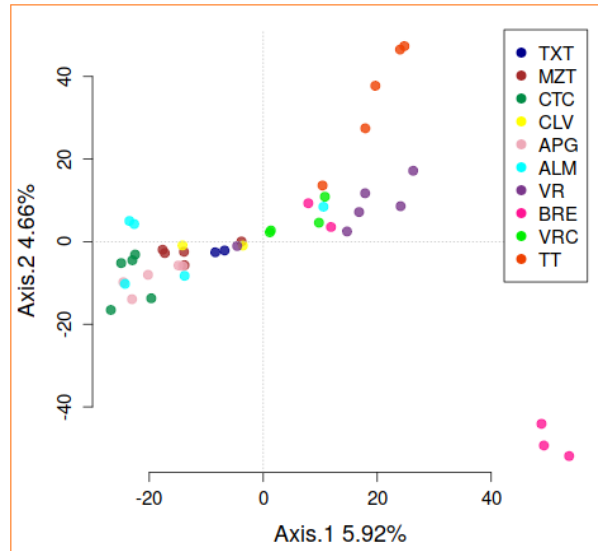


Figura 18 PCA poblacional de *A. cupreata*.

Para *A. karwinskii* el análisis discriminante de componentes principales muestra que la población con mayor agrupamiento es San Pedro Tetitlán (PST), mientras que para etnotaxa es Tobasiche y Cachitún (Figura 19 A y B), lo cual concuerda con los resultados del análisis de Admixture realizado (Figura 21).

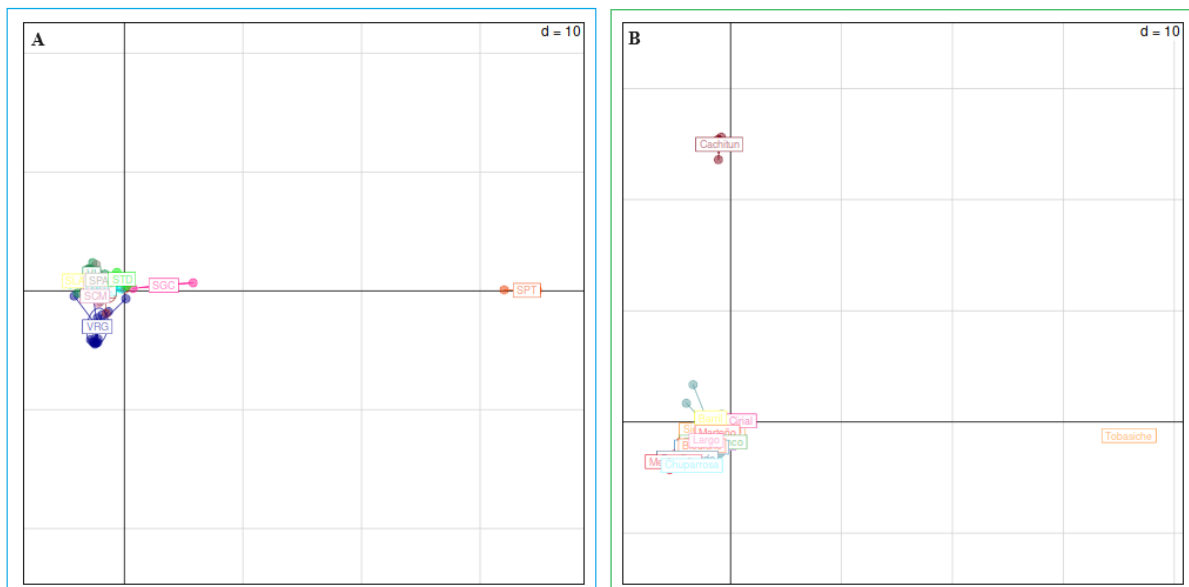


Figura 19. DAPC por población (A) y etnotaxa (B) de *A. karwinskii*.



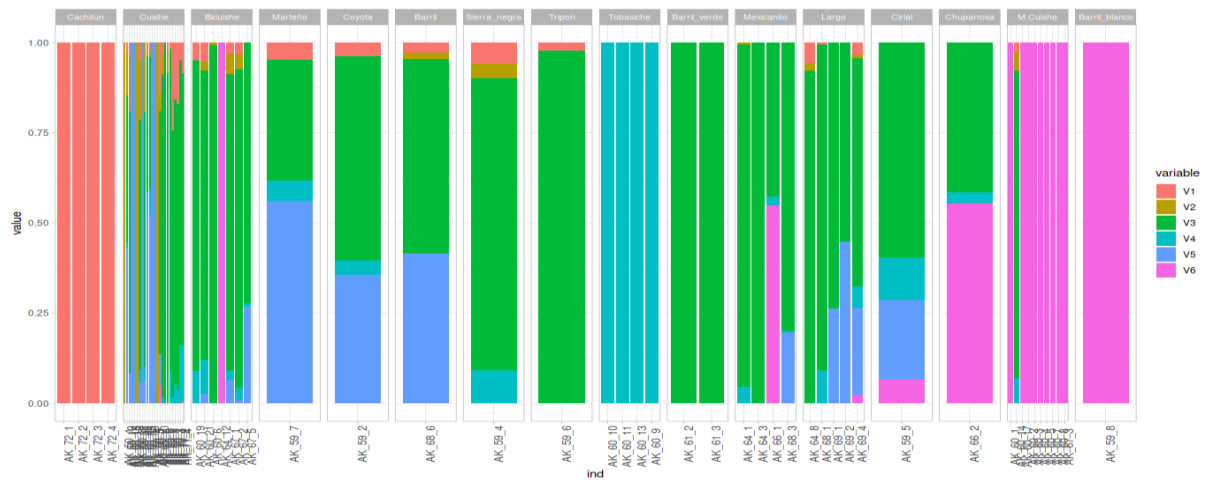


Figura 21. Análisis Admixture poblacional (Superior) y etnotaxon (inferior) de *A. karwinskii*, identificando el número óptimo de grupos genéticos de K=6.

Por otra parte para *A. cupreata* el Cross-validation de Admixture identificó una K=2 (Figura 22) identificando 2 grupos genéticos, las poblaciones de Totoltepec (TT), Apango (APG) y Coaxtlahuacan (CTC) se muestran bien diferenciadas, mientras que para el resto muestra una mezcla entre los dos grupos.

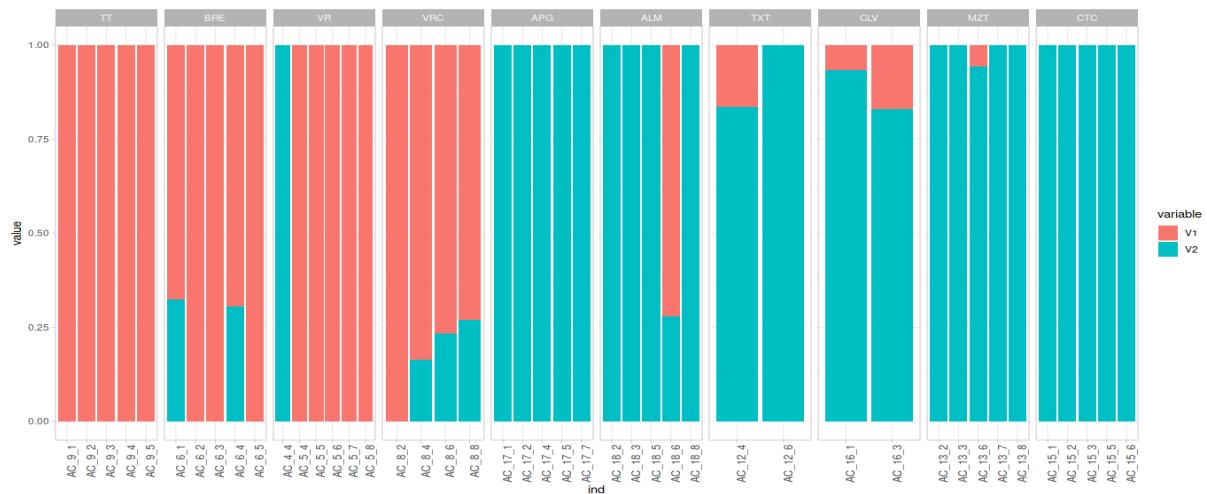


Figura 22. Admixture poblacional de *A. cupreata* identificando el número óptimo de grupos genéticos de K=2.

## Análisis de coancestría

La figura 23 muestra el agrupamiento de individuos pertenecientes a los etnotaxa M. Cuishe principalmente, así como un individuo perteneciente al etnotaxa Bicuishe y Barril blanco respectivamente, lo que coincide con los resultados obtenidos del Admixture por etnotaxa (Figura 21), así mismo se identifica un clon perteneciente al etnotaxa Mexicanito (AK\_64\_3), los individuos pertenecientes a la población de SPD (AK\_71) y SPT (AK\_72) se visualizan agrupados respectivamente (en el anexo 9 A, se muestra información de los individuos).

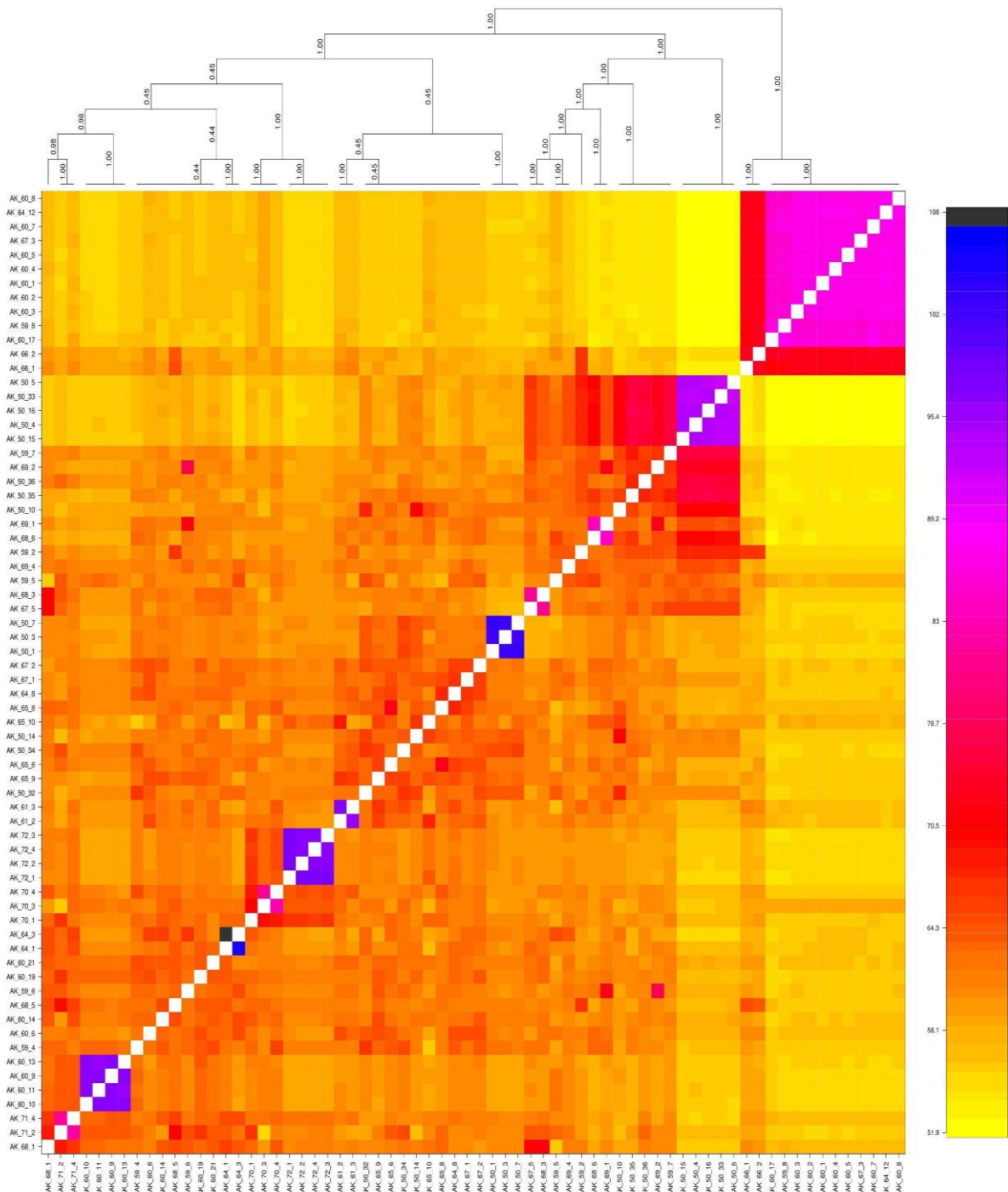


Figura 23. Matriz de coancestría fineRADstructure de *Agave karwinskii*. La escala de color a la derecha indica bajos niveles de coancestría (amarillo), mientras que valores altos (azul) e híbridos (negro).

La matriz de coancestría para *Agave cupreata* muestra dos grupos filogenéticamente entrelazados, por una parte las poblaciones AC\_6, AC\_9, AC\_8 y AC\_5 localizadas al noroeste de Guerrero, mientras que el resto se localizan al sureste de Guerrero, dichos resultados coinciden con el análisis Admixture (Figura 22) (en el anexo 9 B, se muestran ID de los individuos).

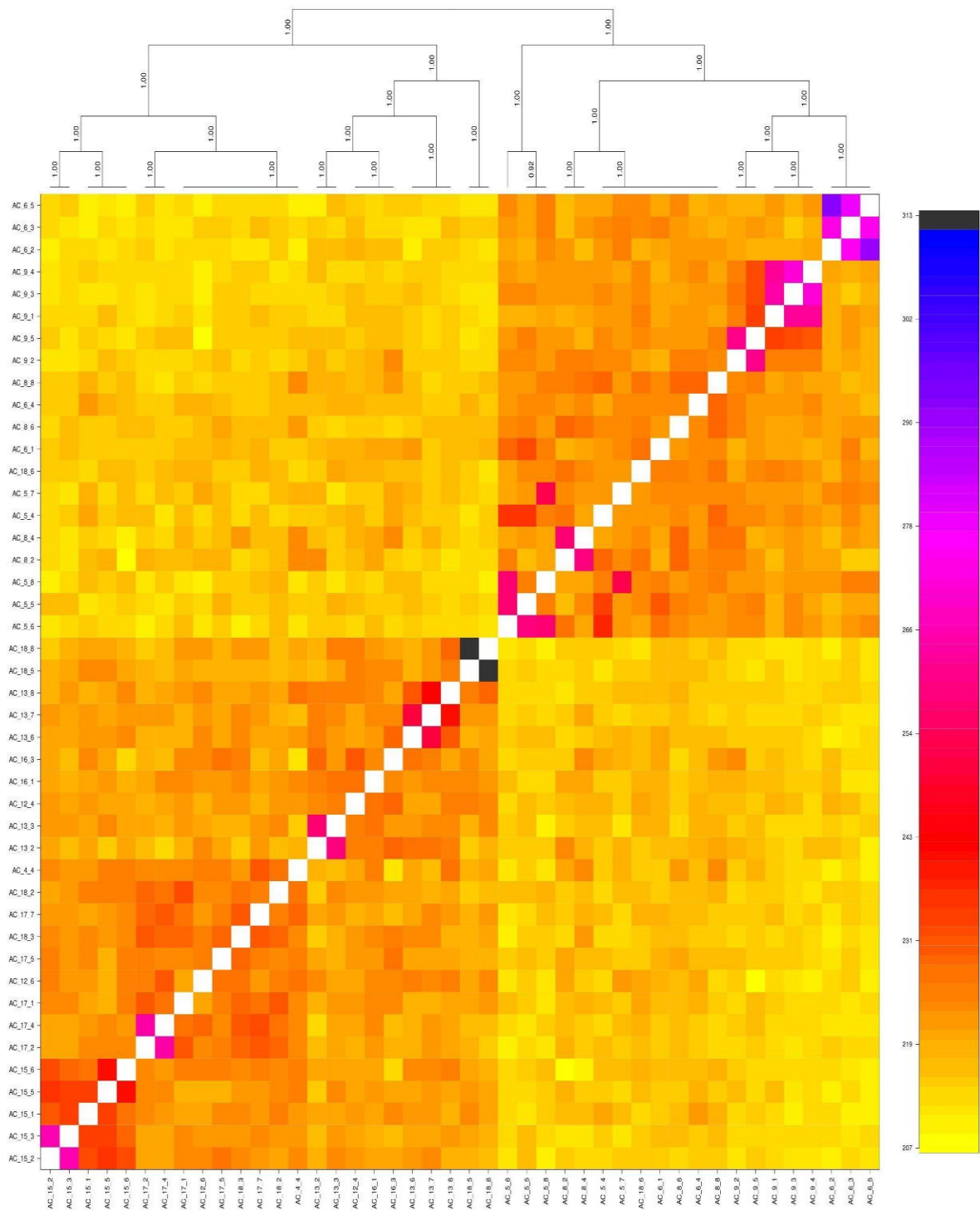


Figura 24. Matriz de coancestría fineRADstructure de *Agave cupreata*. La escala de color a la derecha muestra la variación de coancestría entre individuos.

## Asociación genético-morfotipo

Los análisis preliminares (Anexo 10 A) permitieron calcular la media y desviación estándar de 12 atributos para *A. karwinskii*, por otra parte la correlación de Pearson permitió identificar aquellos atributos que tuvieran mayor correlación (tomando valores de 0.7 a 0.9), de tal forma que se encontraron correlacionados envergadura (EN) vs longitud de hoja (LOH) (0.9), cogollo (CG) vs envergadura (EN) (0.8), altura de tallo limpio (ADTL) vs altura (ALT) (0.7) y cogollo (CG) vs longitud de hoja (LOH) (0.7). Por otra parte, para *A. cupreata* se calculó igualmente la media y desviación estándar para 8 atributos (Anexo 10 B), encontrando correlación positiva para envergadura (EN) vs altura (ALT) (0.8) y envergadura (EN) vs longitud de hoja (LOH) (0.7).

Para *A. karwinskii* no se encontró variación para 7 atributos (tabla 2), por lo cual se descartaron para el análisis final así como etnotaxon, manejo, envergadura y color de hoja no fueron significativos, de tal manera que de los 19 atributos iniciales se realizó el análisis final solo con 10. Mientras que para *A. cupreata* 2 atributos no tuvieron variación total y 5 se limitaron a 2 tipos de variación principalmente, estos 7 atributos se descartaron para el análisis final (tabla 2) además de manejo, envergadura y color de hoja, de manera que de los 15 atributos iniciales se realizó el análisis solo para 6 (en el anexo 11 se muestran los atributos analizados y descartados).

Tabla 2. Variaciones en atributos para *A. karwinskii* y *A. cupreata*.

	<i>A. karwinskii</i>	<i>A. cupreata</i>
<b>Forma de la hoja</b>	Lanceolada	Ovalada Lanceolada
<b>Corte transversal</b>	Cóncavo	Cóncavo En “u”
<b>Curvatura de hoja</b>	Ausente	
<b>Textura de hoja</b>	Lisa	
<b>Forma de espina marginal</b>	Gancho	Recta Curvada
<b>Uniformidad de espina marginal</b>	Homogénea	Homogénea Heterogénea
<b>Forma de espina terminal</b>	Recta	Recta Curvada

El análisis de los 10 atributos correspondientes a *A. karwinskii* mostró que 5 atributos poseen mayor correlación (la correlación está dada por los valores pareados de Pearson. La distancia del centro de las variables en el círculo representa su contribución a la varianza del análisis. Es decir, qué tanta variación tiene entre los individuos.). Los dos primeros componentes explicaron el 32.12% y 21.06% de la varianza (Figura 25), los atributos con mayor varianza fueron altura (ALT) y número de hojas (CDH), por otra parte los atributos con mayor correlación fue altura (ALT) y altura de tallo limpio (ADTL), mientras que la presencia o ausencia de tallo (PAT) está correlacionada negativamente con la anchura de la hoja (ANH) y aquellos atributos que no se encuentran correlacionados son número de hojas (CDH) - distancia entre espina y espina (DEES), presencia o ausencia de tallo (PAT) - longitud de espina terminal (LOET), número de hojas (CDH) - longitud de espina terminal (LOET), anchura de hoja (ANH) - longitud de espina terminal (LOET) y altura (ALT) - longitud de espina terminal (LOET).



	Mean	Var	SD
ALT	146.04	2768.01	52.61
NH	1.94	3.81	1.95
PAT	0.83	0.13	0.37
ADTL	39.79	802.94	28.33
CDH	95.92	2409.71	49.08
LOH	58.57	340.04	18.44
ANH	4.57	2.47	1.57
DEES	2.79	0.36	0.60
LOET	2.84	0.44	0.66
CG	17.56	31.55	5.61

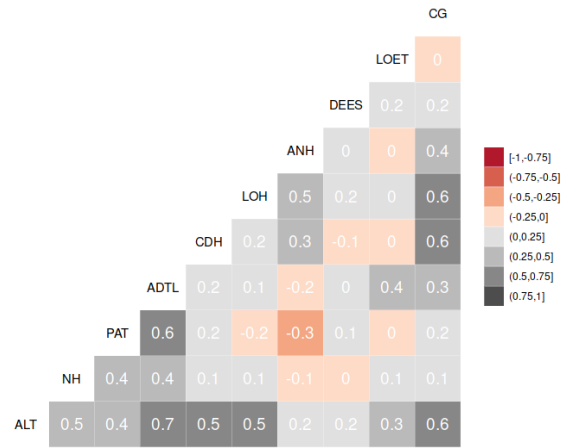
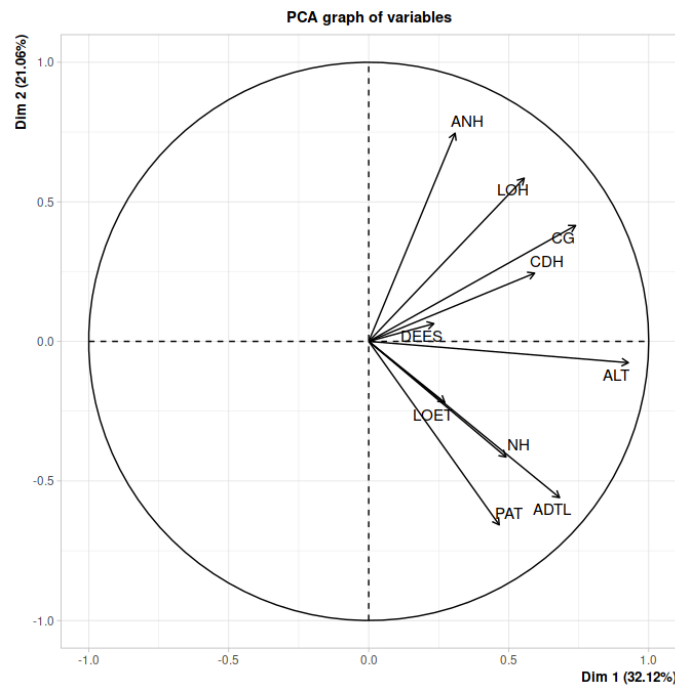


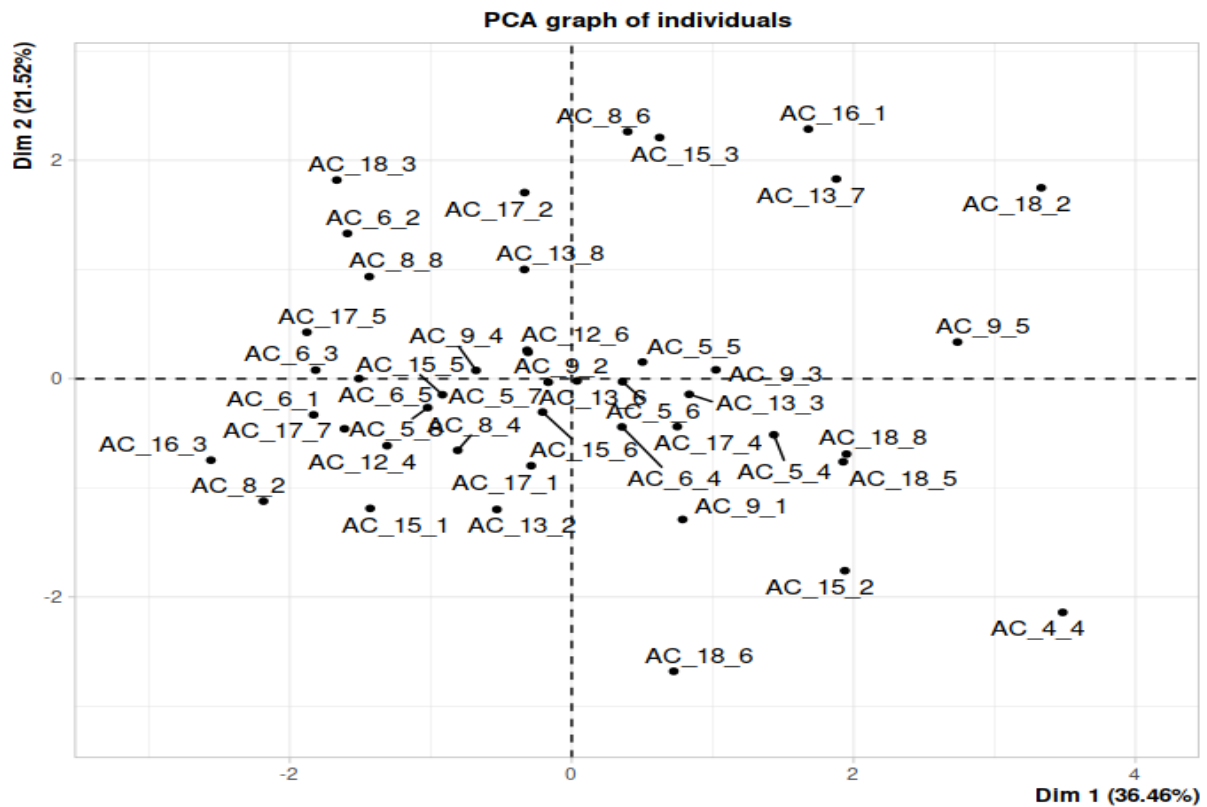
Figura 25. Análisis de componentes principales por atributo e individuo, media, varianza y desviación estándar por atributo y correlación de Pearson de *A. karwinskii*.

En cuanto al tipo de manejo principalmente los etnotaxa Cachitún, Cuishe y Bicuishe fueron colectados de manera silvestre, mientras que los etnotaxas Tobasiche y M. Cuishe son mayormente cultivados. Por otra parte la mayoría de los etnotaxa presenta tallo el cual puede llegar a medir de 10 cm a 1.30 m a excepción de los etnotaxa Mexicanito, Chuparrosa y Barril blanco quienes carecen de tallo.

Para *A. cupreata* se tomaron en cuenta 6 atributos, los dos primeros componentes explicaron el 36.46% y 21.52%. Los atributos con mayor varianza fueron altura y longitud de hoja, la mayor correlación (0.6) la tuvo altura (ALT) y longitud de hoja (LOH), por otra parte se obtuvo una correlación negativa para número de hojas (CDH) y longitud de espina terminal (LOET) así como para longitud de hoja (LOH) y distancia entre espina y espina (DEES) y una nula correlación para longitud de hoja (LOH) y longitud de espina terminal (LOET) (Figura 26). El tipo de manejo mayormente es silvestre a excepción de TXT, CLV y ALM los cuales son cultivados.







	Mean	Var	SD
<b>ALT</b>	119.89	739.14	27.18
<b>CDH</b>	35.06	209.50	14.47
<b>LOH</b>	84.18	459.22	21.42
<b>ANH</b>	22.88	38.28	6.18
<b>DEES</b>	4.57	4.42	2.10
<b>LOET</b>	4.94	3.42	1.84

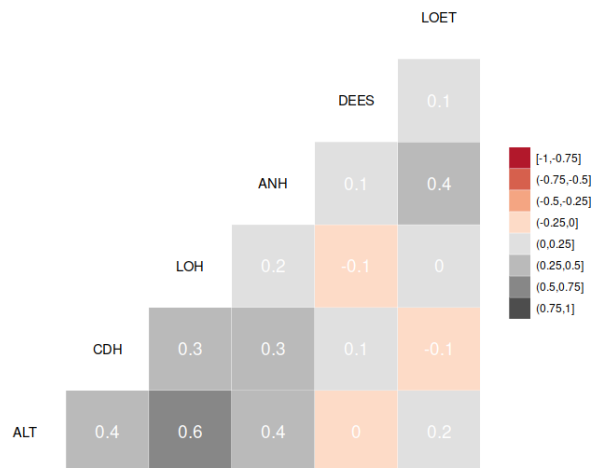


Figura 26. Análisis de componentes principales por atributo e individuo, media, varianza y desviación estándar por atributo y correlación de Pearson de *A. cupreata*.

Finalmente para *A. karwinskii* se realizó el análisis de asociación genético-morfotipo basado en la comparación de dendrogramas basado en distancia de Edward morfológico y genético por población (Figura 27) y etnotaxa (Figura 28), para ambos casos no se encontró una asociación clara, pero sí la formación de grupos poco definidos. El dendrograma morfológico muestra la formación de 2 grupos genéticos mientras que a nivel genético solo se forma un grupo.

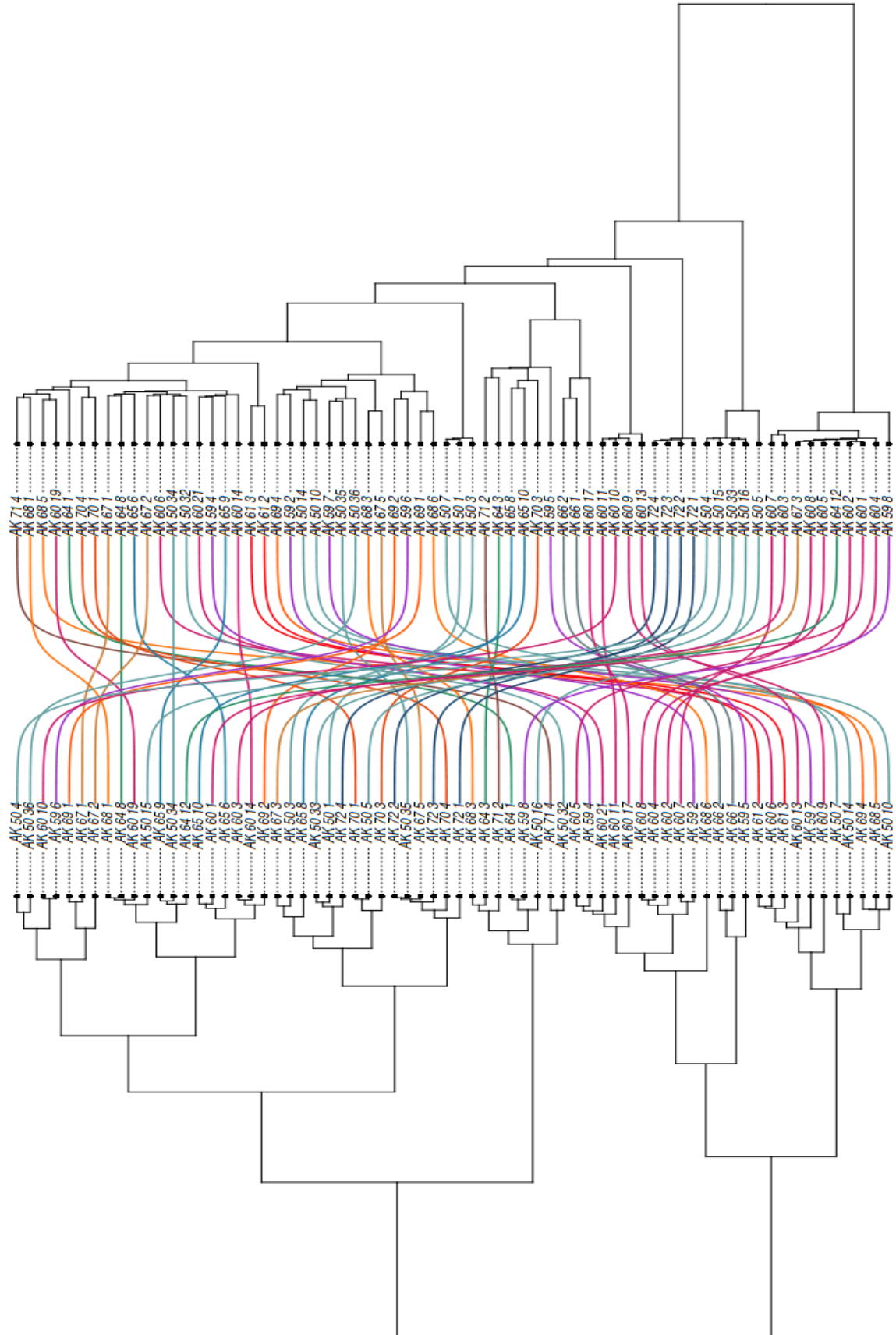


Figura 27. Dendrogramas comparativos construidos con distancias de Edward morfológico (izquierda) y genético (derecha) por población.

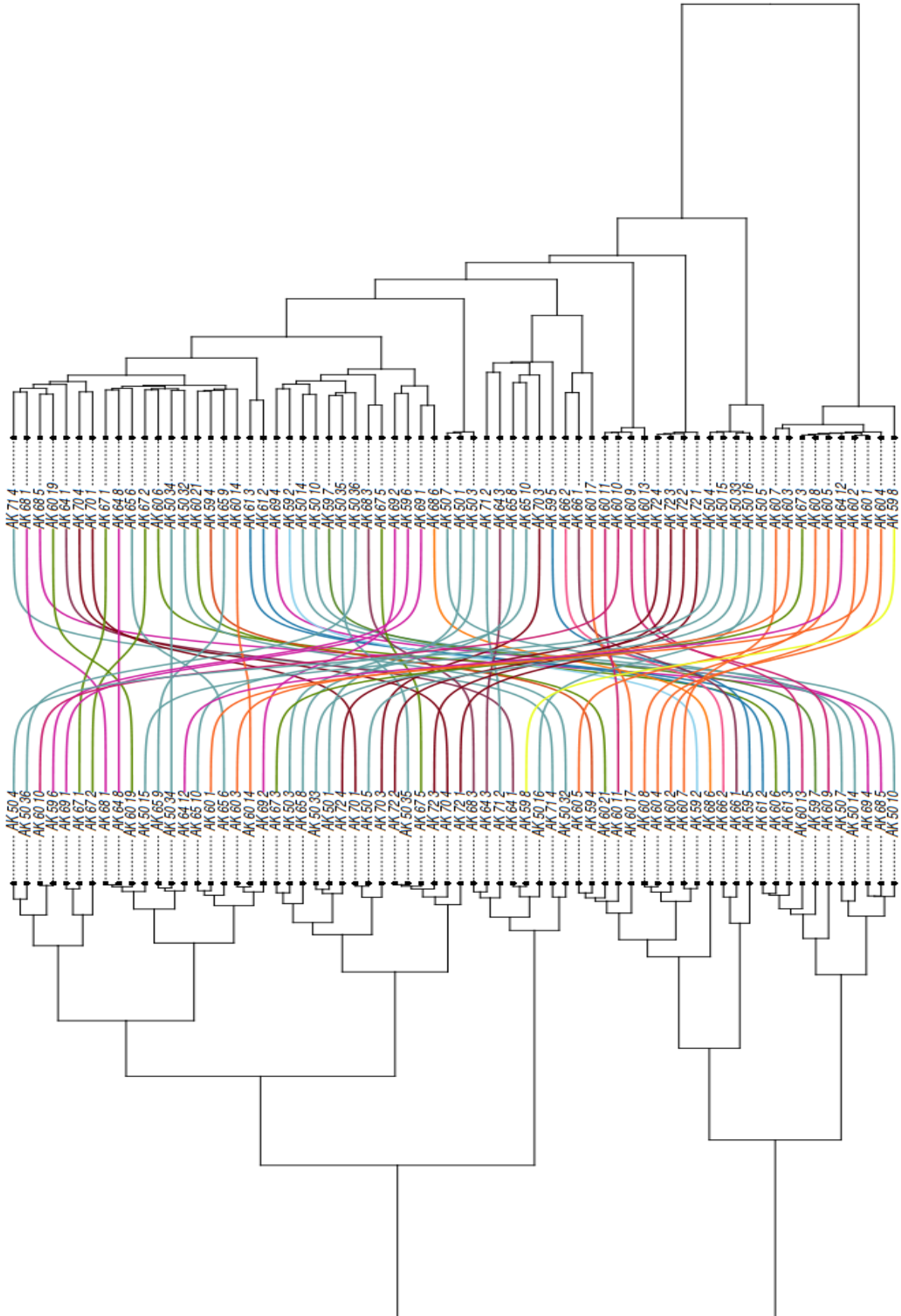


Figura 28. Dendrogramas comparativos construidos con distancias de Edward morfológico (izquierda) y genético (derecha) por etnotaxa.

Para *A. cupreata* tampoco se encontró una asociación clara a nivel poblacional, pero una ligera formación de grupos a nivel genético. Ambos dendrogramas muestran la formación de 2 grupos principales.

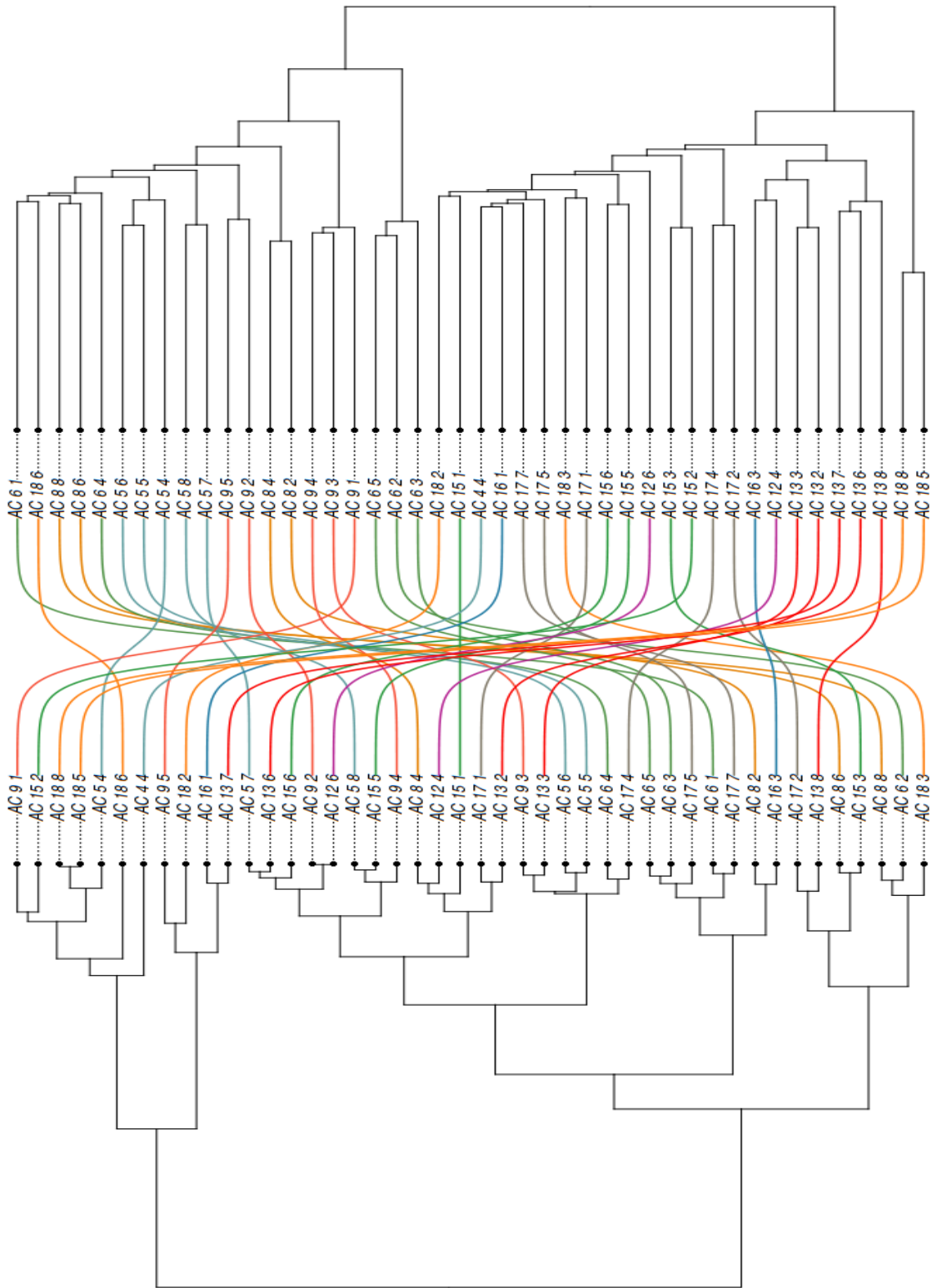


Figura 29. Dendrogramas comparativos construidos con distancias de Edward morfológico (izquierda) y genético (derecha) por población.

## Discusión

Los resultados de diversidad genética poblacional para *Agave karwinskii* muestran una diversidad genética estable. El análisis multivariado obtenido genera una visualización clara para los etnotaxa Cachitún y Cuishe (Figura 17 B) los cuales se caracterizan por ser silvestres, geográficamente estos etnotaxa se localizan en áreas semiconservadas o conservadas, además de presentar tiempos de floración distintos, que posiblemente permite una diferenciación genética clara de las poblaciones de SPT, SGC y STD (Figura 21 A). Por otra parte, el análisis de ancestría realizado indica que probablemente el etnotaxa Barril blanco se agrupa dentro del etnotaxa M. Cuishe.

En base a los resultados obtenidos del análisis morfológico para los 14 etnotaxa de *Agave karwinskii*, la coloración de hojas puede presentar variación, los etnotaxa: Mexicanito y Chuparrosa presentan ausencia de tallo, contrario a lo encontrado por Vázquez-Pérez *et al.* (2020) quien señala que los etnotaxa M. cuishe, Sn. Martín y Tripón se caracterizan por la ausencia de tallo.

El etnotaxa mayormente utilizado para la producción de mezcal es M. Cuishe de acuerdo con los datos obtenidos del tipo de manejo, esta preferencia por este etnotaxon se asocia a las características morfológicas que le confieren mejor calidad y rendimiento en la producción de Mezcal (Vázquez-Pérez, 2015).

Para *Agave cupreata* la diversidad genética poblacional se encuentra en equilibrio, no se encontró variación de diversidad con respecto al manejo, contrario a lo mencionado por Scheinvar (2008). El análisis de coancestría indica la formación de 2 grupos genéticos diferenciados, que posiblemente podrían estar definidos geográficamente, las poblaciones de TT, BRE, VR y VRC se ubican al noroeste de Guerrero mientras que el resto al sureste.

## Conclusiones

La diversidad genética de *A. karwinskii* se encuentra en equilibrio ( $H_e = 0.21$  y  $H_e = 0.20$ ), el valor de  $F_{is}$  mayor corresponde a la población de San Pedro Tetitlán (SPT) perteneciente a Puebla, población que concuerda con el análisis de ancestría el cual indica 2 grupos genéticos bien diferenciados. Por otra parte, la diversidad genética obtenida para *A. cupreata* también se encuentra en equilibrio ( $H_e = 0.23$  y  $H_e = 0.21$ ), los análisis de ancestría y coancestría realizados indican a 2 grupos genéticos bien diferenciados que sugieren una diferenciación geográfica, ya que un grupo se ubica al noreste de Guerrero y el otro al sureste.

La implementación de distintos algoritmos de agrupación permitió crear grupos relativamente homogéneos y estimar el grado de similitud entre individuos.

La asociación genético-morfotipo, para el caso de *A. karwinskii* y *A. cupreata* no indica una asociación clara, pero sí la formación de grupos genéticos poco definidos.

Por otra parte, la amplia variedad de etnotaxas en cierta medida está asociada con el tipo de manejo y uso.

El etnotaxa mayormente cultivado es *M. cuishe* debido a sus características morfológicas que permiten obtener mejores rendimientos en cuanto a producción de mezcal, lo cual podría representar una amenaza para el resto de los etnotaxas, si llegará a aumentar la intensificación de su uso a tal grado de convertirse en monocultivo.

La población de SPT es la menos intervenida lo que le confiere una diferenciación genética notoria.

Se sugiere realizar análisis asociados a variables ambientales para indagar acerca de las posibles variables que podrían intervenir en la formación de grupos genéticos de *A. karwinskii* y *A. cupreata*, ya que los análisis morfológicos no sugieren alguna asociación o agrupación que pueda explicarse.

## Referencias bibliográficas

Aguirre-Dugua, X. y Eguiarte, L. E. 2013. Genetic diversity, conservation and sustainable use of wild *Agave cupreata* and *Agave potatorum* extracted for mezcal production in Mexico. *Journal of Arid Environments*. 90; 36-44.

Aguirre-Planter, E., Parra-Leyva, J. G., Ramírez-Barahona, S., Scheinvar, E., Lira-Saade, R. y Eguiarte, L. E. 2020. Phylogeography and Genetic Diversity in a Southern North American Desert: *Agave kerchovei* From the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Frontiers in Plant Science*, 11; 1-13.

Bellon, M. R., Barrientos-Priego, A. F., Colunga-García Marín, P., Perales, H., Reyes, J. A., Rosales, R. y Zizumbo-Villarreal, D. 2009. Diversidad y conservación de recursos genéticos en plantas cultivadas, en: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) (Eds.), *Capital Natural de México*, vol. II: Estado de conservación y tendencias de cambio. México, pp. 355-382.

Bolger, A. M., Lohse, M. y Usadel, B. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 30(15); 2114–2120.

Colunga-García, P. y Zizumbo-Villarreal, D. 2006. Tequila and other Agave spirits from west-central Mexico: current germplasm diversity, conservation and origin. En: Hawksworth, D. L., Bull, A. T. (Eds.), *Plant Conservation and Biodiversity. Topics in Biodiversity and Conservation*. Springer, Dordrecht.

Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). 2013. Programa de Manejo Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán. México.

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2020. Qué nos aportan los agaves. Consultado el 21 de noviembre de 2022. Disponible en: [https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/que-nos-aportan/N\\_agaves](https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/que-nos-aportan/N_agaves).

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2020. Diversidad genética. Consultado el 22 de enero de 2023. Disponible en: <https://www.biodiversidad.gob.mx/genes/divgenetica>.

Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Cornelis, A., Banks, E., DePristo, M. A., Handsaker, R., Lunter, G., Marth, G., Sherry, S.T, McVean, G. y Durbin, R. 1000 Genomes Project Analysis Group. 2011. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*. 27(15); 2156–2158.

Doebley, J. F., Gaut, B. S. y Smith, B. D. 2006. The Molecular Genetic of Crop Domestication. *Cell*. 127(7); 1309-132.

Doyle, J.J. y Doyle, J. L. 1987. A rapid DNA isolation produce for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19(1); 11–15.

Eguiarte, L. E., Jiménez, O. A., Aguirre-Planter, E., Scheinvar, E., Gámez, N., Gasca-Pineda, J., Castellanos-Morales, G., Moreno-Letelier, A. 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.

Espinosa, L. A. 2015. Generalidades e importancia de los agaves en México. Consultado el 22 de enero de 2023. Disponible en: [https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde\\_Herbario/2015/2015-10-22-Espinosa\\_Barrera-Generalidades\\_e\\_importancia\\_de\\_los\\_agaves\\_en\\_Mexico.pdf](https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2015/2015-10-22-Espinosa_Barrera-Generalidades_e_importancia_de_los_agaves_en_Mexico.pdf).

García, A. J. 2007. Los agaves de México. *Ciencias*. (087); 14-23.

García-Mendoza, A. 1995. Riqueza y endemismo de la familia Agavaceae en México, en: Linares, E., Dávila, P. y Chiang, F. (Eds.), *Conservación de plantas en peligro de extinción: diferentes enfoques*. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología., México, pp. 51-75.

García-Mendoza, A. J. 2004. Agaváceas, en: García-Mendoza, A. J., Ordoñez, M. J. y Briones-Salas, M. (Eds.), *Biodiversidad de Oaxaca*. Universidad Autónoma de México, Instituto de Biología., México, pp. 159-169.

Godoy, J. A. 2009. La genética, los marcadores moleculares y la conservación de especies. *Ecosistemas*. 18(1); 22-33.

Good-Avila, S. V., Sousa, V., Gaut, B. S. y Eguiarte, L. E. 2006. Timing and rate of speciation in Agave (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 103(24); 9124-9129.

Goudet J. 2005. Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes*. 5(1); 184–186.

Herrera-Pérez, L., Valtierra-Pacheco, E., Ocampo-Fletes, I., Tornero-Campante, M. A., Hernández-Plascencia, J. A. y Rodríguez-Macías, R. 2017. Prácticas agroecológicas en Agave tequilana Weber bajo dos sistemas de cultivo en Tequila, Jalisco. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 8; 3711-3724.

Jombart T. 2008. ADEGENET: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*. 24(11); 1403–1405.

Kamvar, Z. N., Tabima, J. F. y Grünwald, N. J. 2014. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ*.



- Klimova, A., Ruiz, K. Y., Molina, F., Aguirre-Planter, E. y Eguiarte, L. E. 2022. Genomic Analyses of Wild and Cultivated Bacanora Agave (*Agave angustifolia* var. *pacifica*) Reveal Inbreeding, Few Signs of Cultivation History and Shallow Population Structure. *Plants*. 11 (1426); 1-20.
- Knaus, B. J. y Grünwald, N. J. (2017). “VCFR: a package to manipulate and visualize variant call format data in R. *Molecular Ecology Resources*. 17(1); 44–53.
- Lara, J. P. 2005. Obtención de la huella genética de agaves mezcladores de San Luis Potosino por RAPD y AFLP. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C. 115p.
- Lara-Ávila, J. P. y Alpuche-Solís, A. G. 2016. Análisis de la diversidad genética de agaves mezcaleros del centro de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 39(3); 323-330.
- Macías, A. 2000. La agricultura de Jalisco, su desarrollo industrial y comercial. *Argumentos*. (36); 23-52.
- Martínez, J. G. 2002. La evolución y la conservación de la biodiversidad, en: Soler, M. (Ed.), *Evolución: la base de la biología*. Proyecto Sur de Ediciones, S.L., España, pp. 407-416.
- Mandijano, A., Pons, J. L., Paredes, R. y García, P. 2018. Diversidad genética de maguey (*Agave* spp.) en las sierras y llanuras del norte de Guanajuato. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 9(3); 511-523.
- Parra, N. L. y Tortolero, L. A. 2015. Manual del maguey pulquero en Guanajuato. Informe de Investigación de la escuela de desarrollo integral agropecuario de la Universidad Politécnica del estado de Carchi. Tulcán. Ecuador. 25 pp.
- Pérez, G. y Mandujano, S. 2020. Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán: un lugar increíble para la conservación de mamíferos. *Ciencia y Mar*. 24(72); 85-90.
- Piñero, D. 2008. La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas, en: CONABIO. (Eds.), *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad.*, México, pp. 437-494.
- Rentaría, M. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares, en: Eguiarte, L. E., Souza, V. y Aguirre, X. (Eds.). *Ecología molecular*. Instituto Nacional de Ecología., México, pp. 541-566.

- Reynoso-Santos, R., García-Mendoza, A. J., López-Báez, W., López-Luna, A., Cadena, P., Pérez-Farrera, M. A., Domínguez, M. H. 2012. Identificación taxonómica de agaves (*Agave* spp.) utilizados para la elaboración del licor comiteco en Chiapas, México. *Agroproductividad*. 5(4); 9-17.
- Ricaño-Rodríguez, J., Hipólito-Romero, E., Ramos-Prado, J. M. y Cocoltzi-Vásquez, E. 2019. Genotipado por secuenciación de variedades nativas de *Theobroma cacao* Malvaceae de los Estados de Tabasco y Chiapas, México. *Botanical Sciences*. 97(3); 381-397.
- Ruiz Mondragón, K. Y., Aguirre-Planter, E., Gasca-Pineda, J., Klimova, A., Trejo-Salazar, R. E., Reyes, M. A., Medellín. R. A., Piñero, D., Lira, R. y Eguiarte, L. E. 2022. Conservation genomics of *Agave tequilana* Weber var. azul: low genetic differentiation and heterozygote excess in the tequila agave from Jalisco, Mexico. *PeerJ*. 1-24.
- Sánchez, A. 2016. Necesidades de información y comportamiento informativo de los agricultores de agave azul de Tequila, Jalisco: Un estudio de caso. *Investigación Bibliotecológica*. 30(69); 143-178.
- Scheinvar, E. 2015. Genética de poblaciones silvestres y cultivadas de dos especies mezcaleras *Agave cupreata* y *Agave potatorum*. 124 p. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. 2016. Agave, planta de las maravillas. Consultado el 21 de noviembre de 2022. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/agave-planta-de-las-maravillas>.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2017. Agave tequilero y mezcalero mexicano. Planeación agrícola nacional 2030. México, p. 15.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2013. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave y de Desempeño Ambiental. Edición 2012. Tlalpan, México.
- Valiente-Banuet, A., Casas, A., Alcántara, P., Dávila, N., Flores-Hernández, M. del C., Arizmendi, J. L., Villaseñor & J. Ortega Ramírez. 2000. La vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 67; 24–74.

Vázquez-Pérez, N. 2015. Variación morfológica y genética de *Agave karwinskii* (Agavaceae) en los estados de Oaxaca y Puebla. 81 p. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Vázquez-Pérez, N., Blancas, J., Torres-García, I., García-Mendoza, A., Casas, A., Moreno-Calles, A. I., Maldonado-Almanza, B. y Rendón-Aguilar, B. 2020. Conocimiento y manejo tradicional de *Agave Karwinskii* en el sur de México. *Botanical Sciences*, 98(2); 328-347.

## Anexos

Anexo 1. Tabla de puntos de colecta

Edo.	Municipio	Población	Abreviatura	ID
<b><i>Agave karwinskii</i></b>				
<b>Oaxaca</b>	Tlacolula	Sn. Pablo Villa de Mitla	MITL	AK_65
	Ocotlán	Sn. Pedro Apóstol	SPA	AK_68
		Sta. Catarina Minas	SCM	AK_69
		Proyecto LAM	PL	AK_59
	Miahuatlán	Sn. Idelfonso	SI	AK_64
		Sn. Luis Amatlán	SLA	AK_61
		Campo Los viejos indecentes	LVI	AK_60 AK_67
	Cuicatlán	Sn. Dominguillo	STD	AK_71
		Sn. Gabriel Casa Blanca	SGC	AK_70
	Ejutla	El Vergel	VRG	AK_50
<b>Puebla</b>	Sn. José Miahuatlán	Sn. Pedro Tetitlán	SPT	AK_72
<b><i>Agave cupreata</i></b>				
<b>Guerrero</b>	Gral. Heliodoro Castillo	La Laguna	LL	AC_4
		Verde Rico	VR	AC_5
		Totoltepec	TT	AC_9
		Barranca del encino	BRE	AC_6
		Verde Rico Corralitos	VRC	AC_8
	Tixtla	Tixtla	TXT	AC_12
	Mazatlán	Mazatlán	MZT	AC_13
		El Calvario	CLV	AC_16
	Mochitlán	Coaxtlahuacan	CTC	AC_15
	Apango	Apango	APG	AC_17
	Almolonga	Almolonga	ALM	AC_18

Tabla 1. Colecta de *A. karwinskii* en 11 poblaciones pertenecientes a 5 municipios localizados en Oaxaca y 1 en Puebla y puntos de colecta de *A. cupreata* realizados en 11 poblaciones pertenecientes a 6 municipios de Guerrero.

## Anexo 2. Método para extracción de ADN

### Extracción de ADN de Plantas "Mini-Prep"

#### Modificado de Vázquez-Lobo 1996 para NGS de plantas con polifenoles y polisacáridos

##### Reactivos

- CTAB2X (Tris-HC 100mM ~ pH8, NaCl 1.4M, EDTA 20 mM, CTAB 2%, b-Mercaptoetanol 0.3%, RNasa por cada ml de buffer, 1% PVP40.
- RNasa 10 mg/ml.
- Cloroformo:octanol o Cloroformo:isoamílico 24:1.
- Etanol absoluto frío (2.5x volumen).                      ● Etanol 70% frío.
- AcNa 3M frío (1/10 volumen).                              ● ddH<sub>2</sub>O.

##### Procedimiento:

1. Moler finamente las hojas en un mortero con 600 µl de buffer de extracción CTA82X, con el objeto de romper las paredes celulares y extraer el DNA. La cantidad puede variar de 0.1g a 1g dependiendo del tipo de planta.
2. La mezcla de CTAB2X y tejido se recupera en un tubo eppendorf de 1.5ml.
3. Centrifugar a 10 000 rpm durante 10 min a 4°C.
4. Eliminar el sobrenadante y el pellet se resuspende en 600 µl de buffer CTAB2X.
5. Incubar a 65°C durante 15 minutos. Conservar en hielo de 10-15 minutos.
6. Agregar 600 µl de cloroformo:isoamílico 24:1 y agitar hasta homogeneizar.
7. Centrifugar a 13000 rpm durante 15 minutos.
8. Recuperar el sobrenadante en un tubo limpio y repetir el paso 7 hasta que el sobrenadante quede transparente.
9. El sobrenadante se recupera (aproximadamente 600 µl) y se traslada a un tubo nuevo con una pipeta de 200 µl.
10. 2.5X del volumen de etanol absoluto frío y 1/10 del volumen de AcNa frío. Incubar a 4°C toda la noche.
11. Centrifugar a 13000 rpm durante 10 minutos a 4°C y eliminar el sobrenadante.
12. Agregar al DNA al pellet 500 µl de etanol 70% frío y centrifugar 13000 rpm durante 10 min a 4°C.
13. Eliminar el sobrenadante sin perder de vista el pellet.
14. Evaporar el etanol y resuspender el pellet en agua en 100-200 µl.

### Anexo 3. Estandarización de parámetros para filtros de calidad

#### TRIMMOMATIC

Para el filtrado de calidad se tomó una muestra y se realizaron 10 pruebas para estandarizar los parámetros, utilizando el comando siguiente en Trimmomatic

```
TrimmomaticPE -trimlog archivo_log -summary archivo_summ -validatePairs -phred33
Archivo_R1_001.fastq.gz Archivo_R2_001.fastq.gz Archivo_R1_001_paired.fastq.gz
Archivo_R1_001_UNpaired.fastq.gz Archivo_R2_001_paired.fastq.gz
Archivo_R2_001_UNpaired.fastq.gz ILLUMINACLIP:NexteraPE-PE.fa:2:30:10
LEADING:* TRAILING:* SLIDINGWINDOW:*:* MINLEN:*
```

\* =Valores que se pueden modificar para estandarización.

- LEADING: Elimina las bases iniciales de baja calidad.
- TRAILING: Elimina la base final de baja calidad.
- SLIDING WINDOW: Escanea la lectura con una ventana deslizante de \* bases de ancho, cortando cuando la calidad promedio por base caiga por debajo de \*.
- MINLEN: Lee por debajo de las \* bases de largo.

Después de realizar 10 pruebas para estandarizar los parámetros se seleccionó aquel en que se obtuviera mayor porcentaje de sobrevivencia, eligiendo I-9:

I-1		I-2		I-3		I-4	
L: 20	BS: 94.93%	L: 15	BS: 98.04%	L: 5	BS: 87.44%	L: 15	BS: 96.88%
T: 20	FS: 4.46%	T: 15	FS: 1.96%	T: 5	FS: 6.33%	T: 15	FS: 2.89%
S: 5:15	RS: 0.50%	S: 5:10	RS: 0%	S: 4:20	RS: 3.25%	S: 5:15	RS: 0.12%
M: 60	D: 0.11%	M: 30	D: 0%	M: 80	D: 2.98%	M: 30	D: 0.02%
I-5		I-6		I-7		I-8	
L: 15	BS: 96.03%	L: 15	BS: 95.44%	L: 15	BS: 94.72%	L: 15	BS: 93.80%
T: 15	FS: 3.45%	T: 15	FS: 3.67%	T: 15	FS: 4.55%	T: 15	FS: 4.25%
S: 4:15	RS: 0.41%	S: 5:15	RS: 0.70%	S: 5:15	RS: 0.56%	S: 4:20	RS: 1.36%
M: 30	D: 0.11%	M: 40	D: 0.19%	M: 65	D: 0.16%	M: 30	D: 0.59%
		I-9		I-10			
		L: 20	BS: 94.73%	L: 20	BS: 93.80%		
		T: 20	FS: 4.01%	T: 20	FS: 4.25%		
		S: 5:20	RS: 0.89%	S: 5:20	RS: 1.36%		
		M: 30	D: 0.37%	M: 40	D: 0.59%		

Comando aplicado para *A. karwinskii* y *A. cupreata*:

```
TrimmomaticPE -trimlog archivo_log -summary archivo_summ -validatePairs -phred33
Archivo_R1_001.fastq.gz Archivo_R2_001.fastq.gz Archivo_R1_001_paired.fastq.gz
Archivo_R1_001_UNpaired.fastq.gz Archivo_R2_001_paired.fastq.gz
Archivo_R2_001_UNpaired.fastq.gz ILLUMINACLIP:NexteraPE-PE.fa:2:30:10
LEADING:20 TRAILING:20 SLIDINGWINDOW:5:20 MINLEN:30
```

## IPYRAD

Activación de ipyrad: conda activate ipyrad

Creación del ambiente de trabajo: ipyrad -n Archivo

Vamos a nuestro directorio visual, editamos el archivo .txt y modificamos:

```
Ubicación del archivo .fastq.gz      ## [2] [raw_fastq_path]: Location of raw non-demultiplexed fastq files
Ubicación de los barcodes .txt       ## [3] [barcodes_path]: Location of barcodes file
pairddrad                             ## [7] [datatype]: Datatype (see docs): rad, gbs, ddrad, etc.
TGCA,CGG                              ## [8] [restriction_overhang]: Restriction overhang (cut1,) or (cut1, cut2)
v                                     ## [27] [output_formats]: Output formats (see docs)
```

Guardamos cambios y utilizamos el comando para correr el programa, indicando que trabaje del paso 1-3:

```
ipyrad -p params-Placa4.txt -s 123 -f -c 4
```

En caso de que algún individuo cuente con pocas lecturas o con baja profundidad de cobertura se realizará un branching con el siguiente comando:

```
vcftools --vcf Archivo_completo.vcf --remove exclude.txt --recode --out Archivo_branching
```

Posteriormente del paso 4-7:

```
ipyrad -p params-Placa4.txt -s 4567 -f -c 4
```

Obtenemos el archivo en formato \*.vcf que nos servirá para realizar estadísticos de genética de poblaciones.

Para este caso se realizarán pruebas con valores de 0.85, 0.90 y 0.92 para:

```
## [14] [clust_threshold]: Clustering threshold for de novo assembly
```

Usando el comando:

```
ipyrad -p params-Archivo_de_entrada.txt -s1234567 -c 4 -f
```

```
vcftools --vcf Muestra_2.vcf --max-missing 0.5 --recode --out Archivo_de_salida
```

Los 3 archivos obtenidos de cada cluster nos servirán para realizar estadísticos de genética de poblaciones (Archivo “**Sgript\_gral.txt**”).

Anexo 4. Tabla de atributos morfológicos para *Agave karwinski* y *Agave cupreata*.

Atributo	Abreviatura	Medidas
<b>Etnotaxón</b>	VR	
<b>Manejo</b>	MN	0: Cultivado 1: Ornamental 2: Silvestre 3: Vivero
<b>Envergadura</b>	EN	cm
<b>Altura</b>	ALT	
<b>No. de hijuelos</b>	NH	Conteo visual
<b>Presencia de tallo limpio</b>	PAT	0: Ausente 1: Presente
<b>Altura de tallo limpio</b>	ADTL	cm
<b>Forma de la hoja</b>	FOH	1: Lineal 2: Espatulada 3: Deltoide 4: Lanceolada 5: Oblonga 6: Ovalada
<b>No. de hoja</b>	CDH	Conteo visual
<b>Longitud de hoja</b>	LOH	cm
<b>Anchura de hoja</b>	ANH	
<b>Corte transversal</b>	COT	1: Plano 2: En V 3: En U 4: Cóncavo 5: Quillado 6: Obdeltado 7: Oblato 8: Hemioblato 9: Circular
<b>Curvatura de hoja</b>	CUH	1: Ausente 2: Recurvado 3: Ondulado
<b>Color de hoja</b>	CLH	Munsell color characters for plant tissues
<b>Textura de hoja</b>	TEX	1: Lisa 2: Rugosa
<b>Forma de la espina marginal</b>	FEM	1: Gancho
<b>Uniformidad de espina marginal</b>	UEM	1: Homogénea 2: Heterogénea
<b>Distancia entre espina y espina</b>	DEES	cm
<b>Forma de la espina terminal</b>	FOET	1: Recta 2: Curvada 3: Filiforme 4: Polifurcada
<b>Longitud de espina terminal</b>	LOET	cm
<b>Cogollo</b>	CG	cm

Tabla 2. Lista de atributos morfológicos considerados con abreviatura.

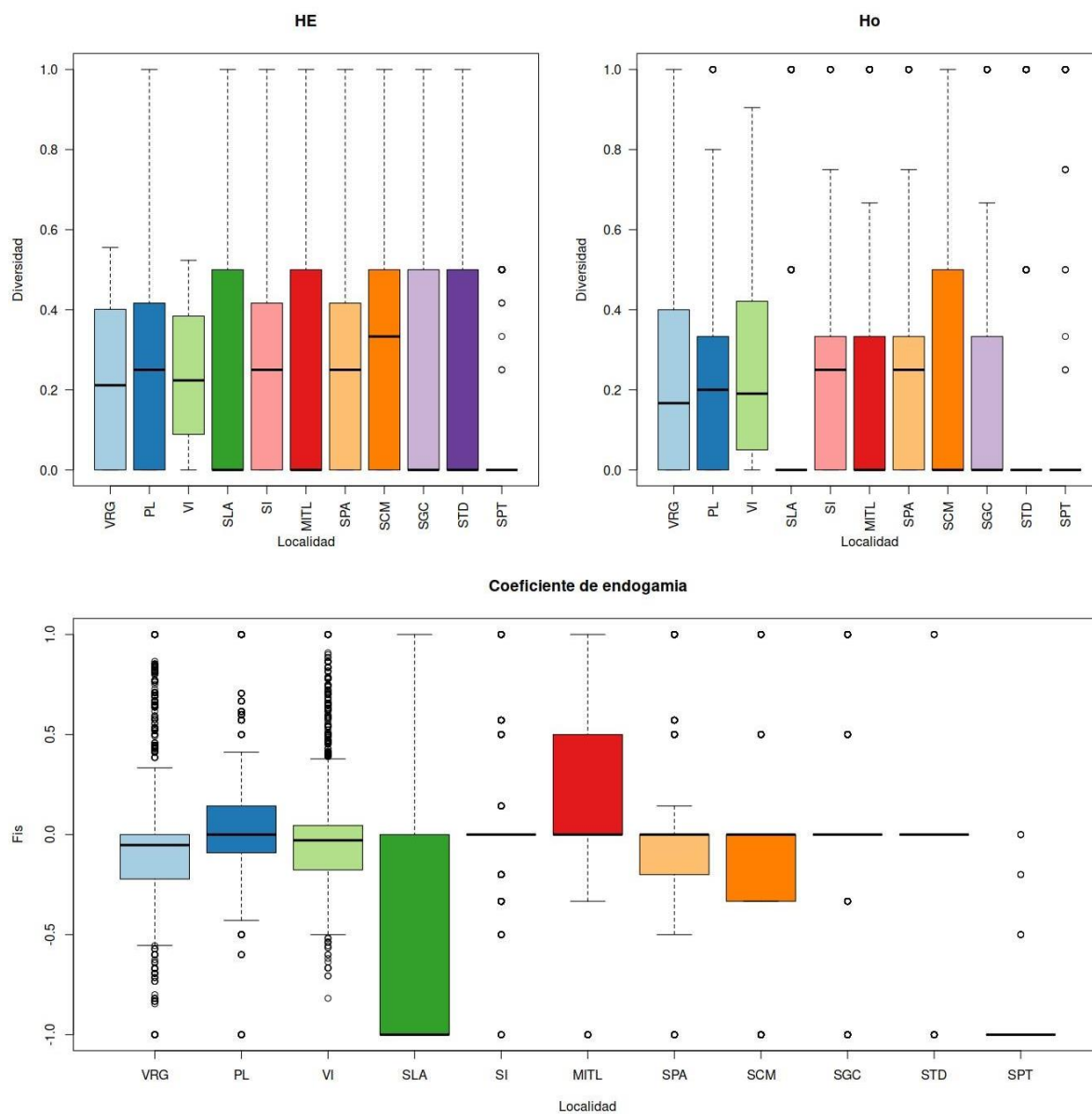
Anexo 5. Individuos por etnotaxa de *A. karwinskii*.

Cuishe	Coyota	Sierra negra	Cirial
24	1	1	1
<b>Marteño</b>	<b>Barril blanco</b>	<b>M. cuishe</b>	<b>Tobasiche</b>
1	1	10	4
<b>Largo</b>	<b>Chuparrosa</b>	<b>Barril</b>	<b>Cachitun</b>
5	1	1	4
<b>Tripon</b>	<b>Barril verde</b>	<b>Bicuishe</b>	<b>Mexicanito</b>
1	2	7	4

Tabla 3. Número de individuos colectados por etnotaxa de *A. karwinskii*.

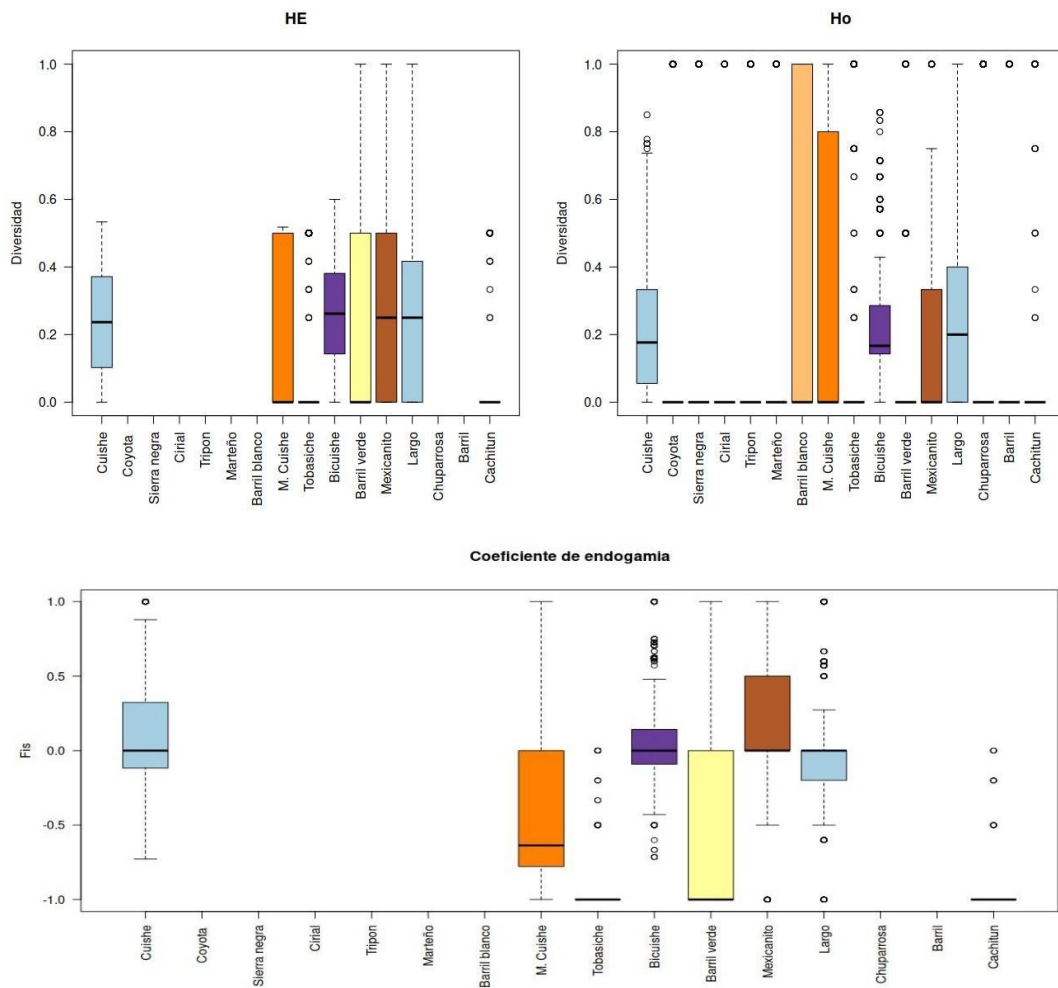


Anexo 6 A. Boxplot de diversidad genética y tabla de media y desviación estándar (HE, HO y Fis) por población de *A. karwinskii*.



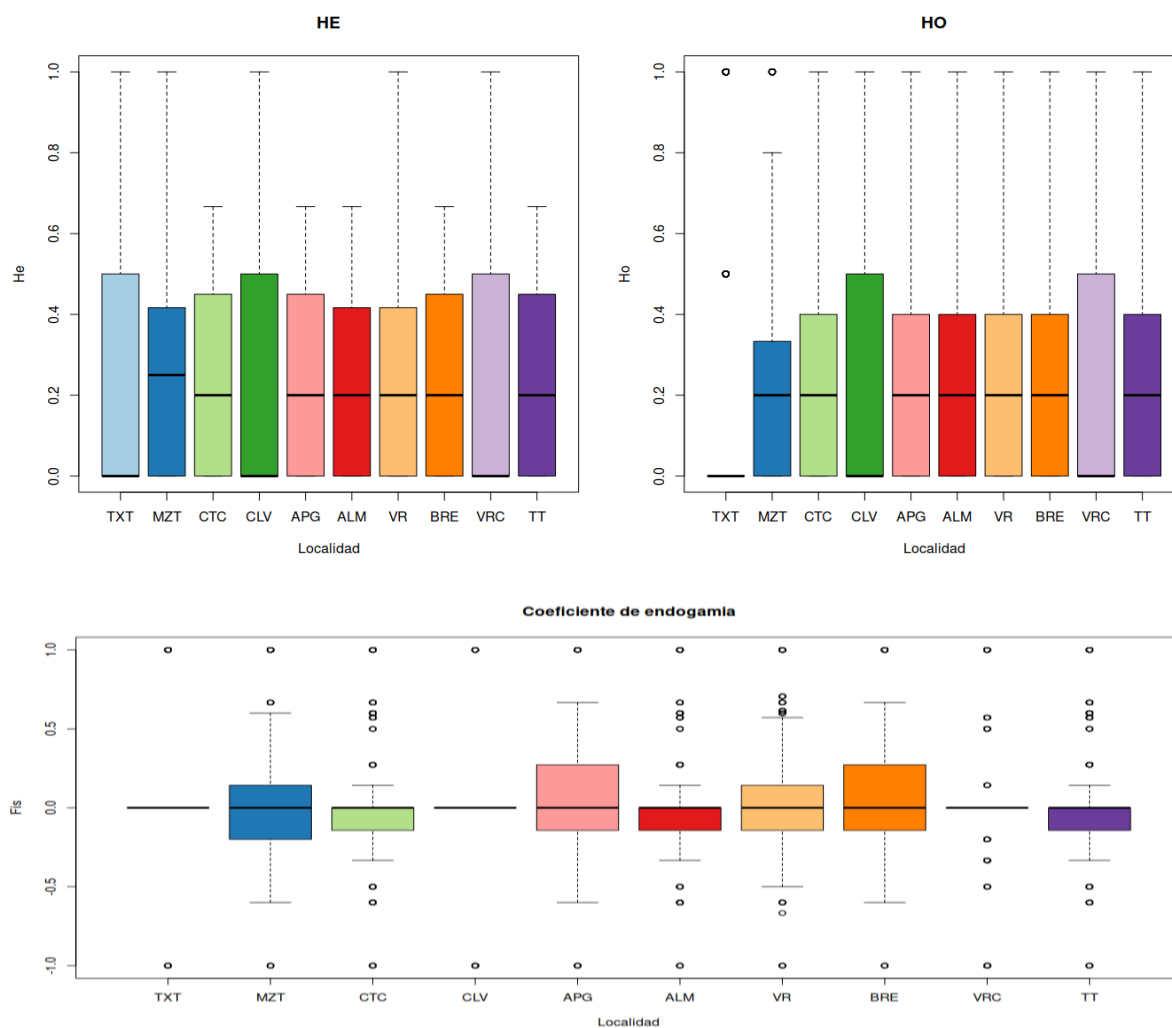
<i>A. karwinskii</i>		Mean			SD		
Población	nd	HE	HO	Fis	HE	HO	Fis
<b>VRG</b>	14	0.2289	0.2355	0.0083	0.1847	0.2381	0.3892
<b>PL</b>	6	0.2480	0.2012	0.1162	0.2207	0.2179	0.4142
<b>VI</b>	22	0.2356	0.2391	0.0210	0.1651	0.2061	0.3268
<b>SLA</b>	2	0.1455	0.1951	-0.5050	0.2364	0.3732	0.5578
<b>SI</b>	4	0.2504	0.2116	0.0848	0.2359	0.2291	0.3863
<b>MITL</b>	4	0.2249	0.1666	0.1559	0.2832	0.2668	0.5270
<b>SPA</b>	4	0.2324	0.2100	0.0396	0.2310	0.2425	0.4029
<b>SCM</b>	3	0.2463	0.2881	-0.1944	0.2448	0.3454	0.4230
<b>SGC</b>	3	0.1957	0.1553	0.0804	0.2809	0.2742	0.5183
<b>STD</b>	2	0.1692	0.1758	-0.1780	0.2547	0.3624	0.5076
<b>SPT</b>	4	0.1053	0.2087	-0.9810	0.2036	0.4050	0.1202

Anexo 6 B. Boxplot de diversidad genética y tabla de media y desviación estándar (HE, HO y Fis) por etnotaxa de *A. karwinskii*.



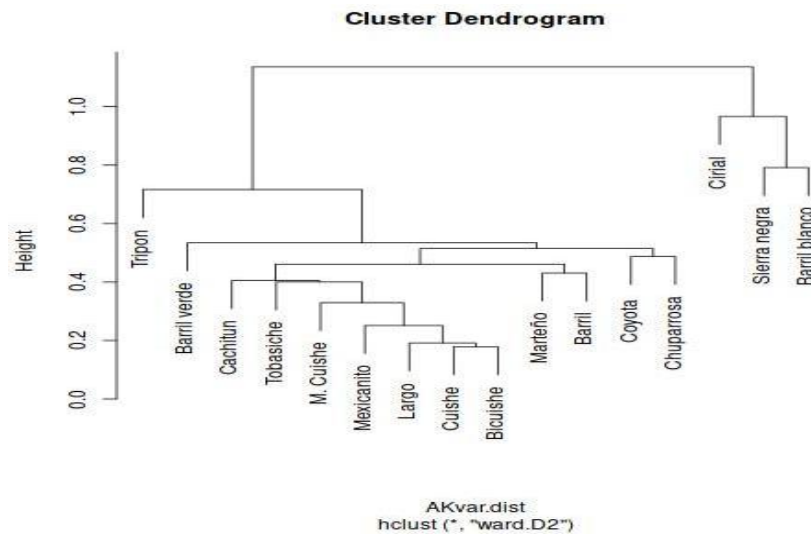
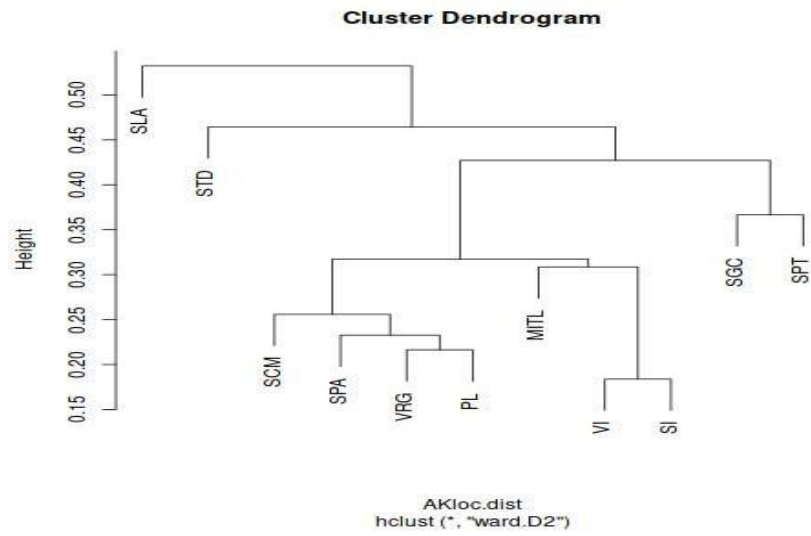
<i>A. karwinskii</i>		Mean			SD		
Etnotaxa	nd	HE	HO	Fis	HE	HO	Fis
<b>Cuishe</b>	24	0.2403	0.2126	0.1087	0.1591	0.1726	0.3388
<b>Coyota</b>	1	-	0.2038	-	-	0.4029	-
<b>Sierra negra</b>	1	-	0.1741	-	-	0.3793	-
<b>Cirial</b>	1	-	0.0261	-	-	0.1596	-
<b>Tripon</b>	1	-	0.1893	-	-	0.3919	-
<b>Marteño</b>	1	-	0.2243	-	-	0.4172	-
<b>Barril blanco</b>	1	-	0.2590	-	-	0.4383	-
<b>M. Cuishe</b>	10	0.1771	0.2829	-0.3732	0.2192	0.3986	0.5703
<b>Tobasiche</b>	4	0.1049	0.2047	-0.9456	0.2029	0.3992	0.1901
<b>Bicuishe</b>	7	0.2442	0.2157	0.0720	0.1758	0.1786	0.3239
<b>Barril verde</b>	2	0.1455	0.1951	-0.5050	0.2364	0.3732	0.5578
<b>Mexicanito</b>	4	0.2436	0.1835	0.1498	0.2519	0.2314	0.4551
<b>Largo</b>	5	0.2482	0.2406	0	0.2128	0.2449	0.3867
<b>Chuparroza</b>	1	-	0.2301	-	-	0.4210	-
<b>Barril</b>	1	-	0.2298	-	-	0.4208	-
<b>Cachitún</b>	4	0.1053	0.2087	-0.9810	0.2036	0.4050	0.1202

Anexo 6 C. Boxplot de diversidad genética y tabla de media y desviación estándar (HE, HO y Fis) por población de *A. cupreata*.

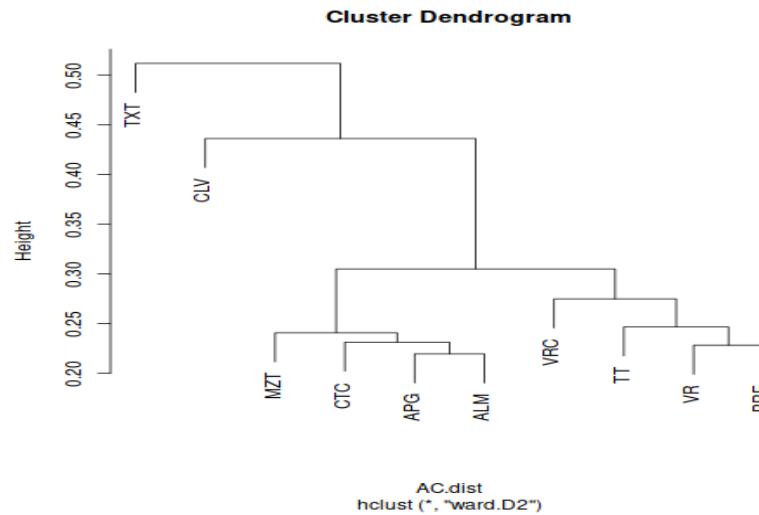


<i>A. cupreata</i>		Mean			SD		
Población	nd	HE	HO	Fis	HE	HO	Fis
TXT	2	0.2399	0.1700	0.1515	0.3302	0.3237	0.5551
MZT	5	0.2400	0.2140	0.0618	0.2192	0.2380	0.4185
CTC	5	0.2440	0.2254	0.0440	0.2099	0.2331	0.3896
CLV	2	0.2428	0.2136	-0.0018	0.2992	0.3760	0.5027
APG	5	0.2244	0.2177	0.0691	0.2086	0.2227	0.3886
ALM	5	0.2477	0.2222	0.0605	0.2090	0.2291	0.4045
VR	6	0.2348	0.2158	0.0484	0.2108	0.2259	0.3732
BRE	5	0.3295	0.2125	0.0697	0.2109	0.2219	0.3856
VRC	4	0.2378	0.2123	0.0146	0.2716	0.2863	0.4866
TT	5	0.2306	0.2183	0.0209	0.2167	0.2355	0.3826

Anexo 7. Dendrograma de distancias de Edward poblacional y etnotaxon de *A. karwinskii*.



Anexo 8. Dendrograma de distancias de Edward poblacional y etnotaxon de *A. cupreata*.



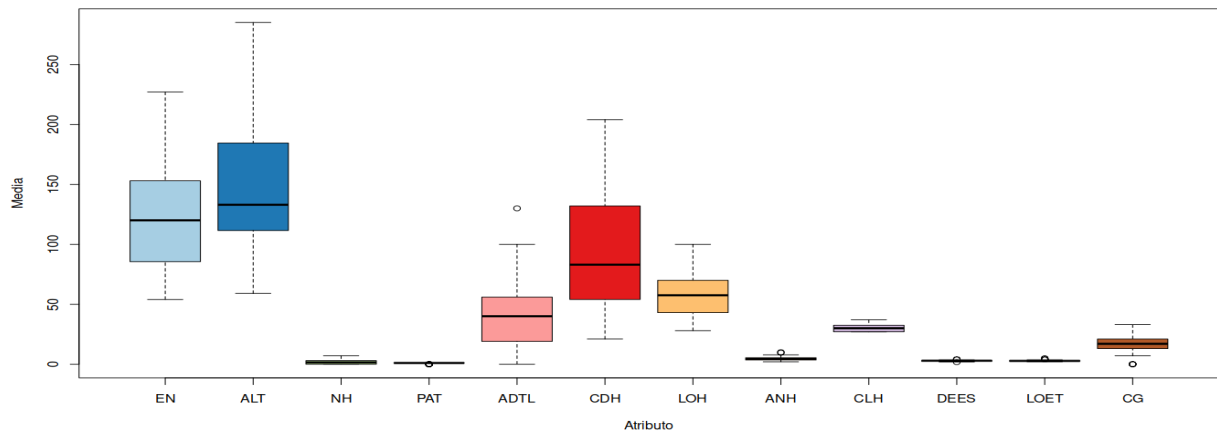
Anexo 9 A. ID, población, etenotaxa y manejo por individuos de *A. karwinskii*.

ID	Población	Variedad	MN	ID	Población	Variedad	MN
AK_50_1	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_60_8	VI	M. Cuishe	Cultivado
AK_50_10	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_60_9	VI	Tobasiche	Cultivado
AK_50_14	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_61_2	SLA	Barril verde	Ornamental
AK_50_15	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_61_3	SLA	Barril verde	Ornamental
AK_50_16	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_64_1	SI	Mexicanito	Ornamental
AK_50_3	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_64_12	SI	Bicuishe	Ornamental
AK_50_32	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_64_3	SI	Mexicanito	Ornamental
AK_50_33	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_64_8	SI	Largo	Ornamental
AK_50_34	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_65_10	MITL	Cuishe	Cultivado
AK_50_35	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_65_6	MITL	Cuishe	Cultivado
AK_50_36	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_65_8	MITL	Cuishe	Cultivado
AK_50_4	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_65_9	MITL	Cuishe	Cultivado
AK_50_5	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_66_1	VI	Mexicanito	Cultivado
AK_50_7	VRG	Cuishe	Silvestre	AK_66_2	VI	Chuparrosa	Cultivado
AK_59_2	PL	Coyota	Ornamental	AK_67_1	VI	Bicuishe	Silvestre
AK_59_4	PL	Sierra negra	Ornamental	AK_67_2	VI	Bicuishe	Silvestre
AK_59_5	PL	Cirial	Ornamental	AK_67_3	VI	M. Cuishe	Cultivado
AK_59_6	PL	Tripón	Ornamental	AK_67_5	VI	Bicuishe	Silvestre
AK_59_7	PL	Marteño	Ornamental	AK_68_1	SPA	Largo	Ornamental
AK_59_8	PL	Barril blanco	Ornamental	AK_68_3	SPA	Mexicanito	Ornamental
AK_60_1	VI	M. Cuishe	Cultivado	AK_68_5	SPA	Cuishe	Ornamental
AK_60_10	VI	Tobasiche	Cultivado	AK_68_6	SPA	Barril	Ornamental
AK_60_11	VI	Tobasiche	Cultivado	AK_69_1	SCM	Largo	Cultivado
AK_60_13	VI	Tobasiche	Cultivado	AK_69_2	SCM	Largo	Cultivado
AK_60_14	VI	M. Cuishe	Cultivado	AK_69_4	SCM	Largo	Cultivado
AK_60_17	VI	M. Cuishe	Cultivado	AK_70_1	SGC	Cuishe	Silvestre
AK_60_19	VI	Bicuishe	Silvestre	AK_70_3	SGC	Cuishe	Silvestre
AK_60_2	VI	M. Cuishe	Cultivado	AK_70_4	SGC	Cuishe	Silvestre
AK_60_21	VI	Bicuishe	Silvestre	AK_71_2	STD	Cuishe	Silvestre
AK_60_3	VI	M. Cuishe	Cultivado	AK_71_4	STD	Cuishe	Silvestre
AK_60_4	VI	M. Cuishe	Cultivado	AK_72_1	SPT	Cachitun	Silvestre
AK_60_5	VI	M. Cuishe	Cultivado	AK_72_2	SPT	Cachitun	Silvestre
AK_60_6	VI	Bicuishe	Silvestre	AK_72_3	SPT	Cachitun	Silvestre
AK_60_7	VI	M. Cuishe	Cultivado	AK_72_4	SPT	Cachitun	Silvestre

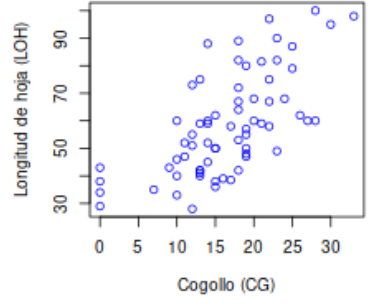
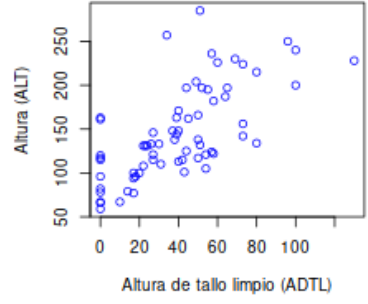
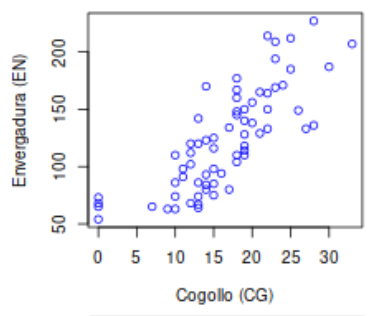
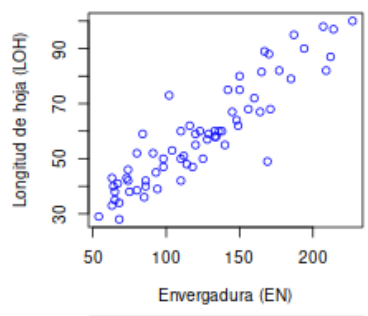
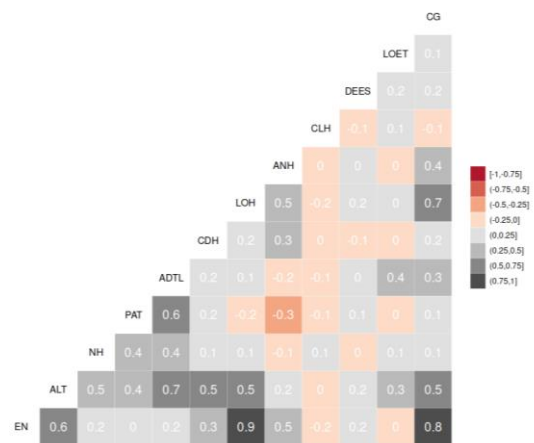
Anexo 9 B. ID y población por individuo de *A. cupreata*.

<b>ID</b>	<b>Población</b>	<b>ID</b>	<b>Población</b>
AC_12_4	TXT	AC_18_6	ALM
AC_12_6	TXT	AC_18_8	ALM
AC_13_2	MZT	AC_4_4	LL
AC_13_3	MZT	AC_5_4	VR
AC_13_6	MZT	AC_5_5	VR
AC_13_7	MZT	AC_5_6	VR
AC_13_8	MZT	AC_5_7	VR
AC_15_1	CTC	AC_5_8	VR
AC_15_2	CTC	AC_6_1	BRE
AC_15_3	CTC	AC_6_2	BRE
AC_15_5	CTC	AC_6_3	BRE
AC_15_6	CTC	AC_6_4	BRE
AC_16_1	CLV	AC_6_5	BRE
AC_16_3	CLV	AC_8_2	VRC
AC_17_1	APG	AC_8_4	VRC
AC_17_2	APG	AC_8_6	VRC
AC_17_4	APG	AC_8_8	VRC
AC_17_5	APG	AC_9_1	TT
AC_17_7	APG	AC_9_2	TT
AC_18_2	ALM	AC_9_3	TT
AC_18_3	ALM	AC_9_4	TT
AC_18_5	ALM	AC_9_5	TT

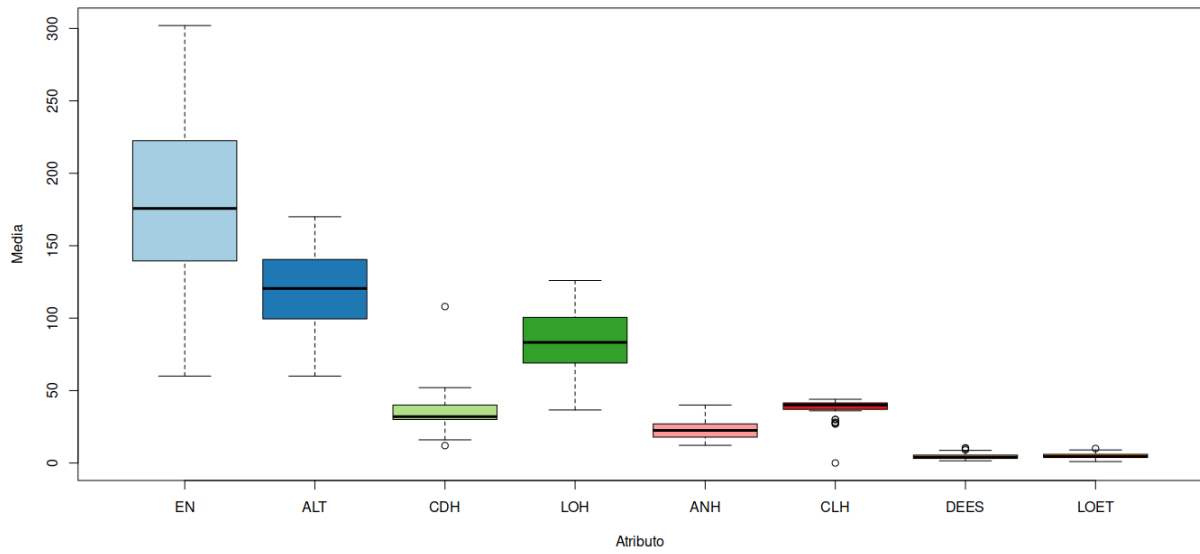
Anexo 10 A. Análisis preliminares estadísticos descriptivos en R de *A. karwinskii*.



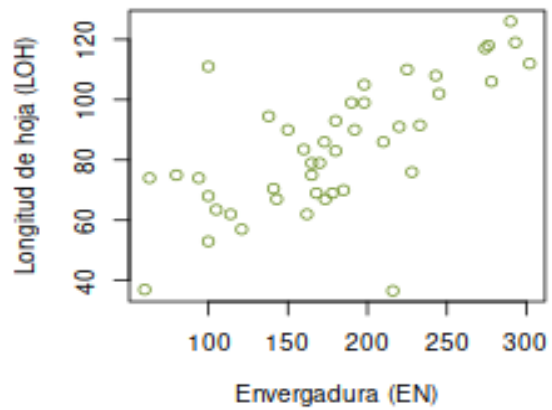
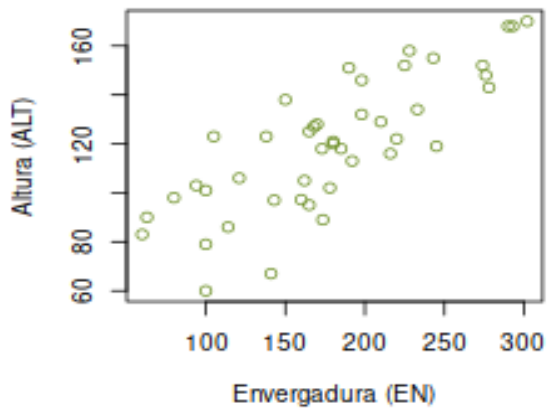
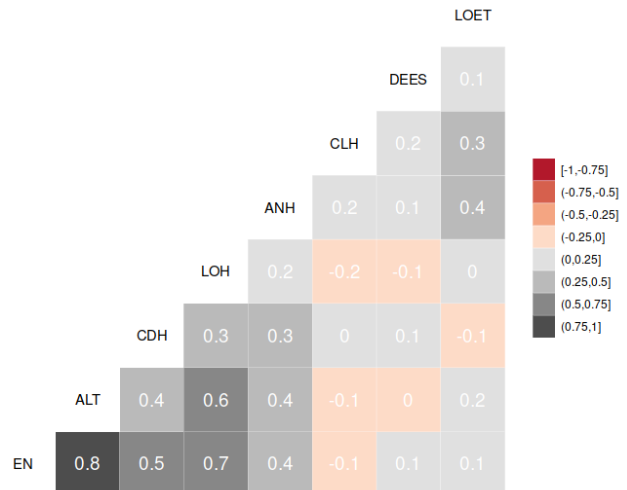
Atributo	Media	SD
EN	123.83	44.46
ALT	146.04	52.61
NH	1.94	1.95
PAL	0.83	0.37
ADTL	39.79	28.33
CDH	95.92	49.08
LOH	58.57	18.44
ANH	4.57	1.57
CLH	30.1	3.28
DEES	2.79	0.6
LOET	2.84	0.66
CG	16.52	6.85



Anexo 10 B. Análisis preliminares estadísticos descriptivos en R de *A. cupreata*.



Atributo	Media	SD
EN	179.07	63.36
ALT	119.89	27.18
CDH	35.06	14.47
LOH	84.18	21.42
ANH	22.88	6.18
CLH	37.47	7.32
DEES	4.57	2.1
LOET	4.94	1.84





Anexo 11. Tabla de atributos ocupados para realizar los análisis.

Atributo	Abreviatura	<i>A. Karwisnkii</i>	<i>A. cupreata</i>
Etnotaxón	VR		
Manejo	MN		
Envergadura	EN		
Altura	ALT		
No. de hijuelos	NH		
Presencia de tallo limpio	PAT		
Altura de tallo limpio	ADTL		
Forma de la hoja	FOH		
No. de hoja	CDH		
Longitud de hoja	LOH		
Anchura de hoja	ANH		
Corte transversal	COT		
Curvatura de hoja	CUH		
Color de hoja	CLH		
Textura de hoja	TEX		
Forma de la espina marginal	FEM		
Uniformidad de espina marginal	UEM		
Distancia entre espina y espina	DEES		
Forma de la espina terminal	FOET		
Longitud de espina terminal	LOET		
Cogollo	CG		

Tabla 4. Atributos considerados para los análisis de asociación genético-morfotipo, en donde:

atributos descartados en análisis preliminares

atributos descartados para analizar (sin variación)

atributos para análisis con FactoMineR

atributos que no aplican para *A. cupreata*.