



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS SAN LUIS POTOSÍ

POSTGRADO EN CIENCIAS POR INVESTIGACIÓN

CARACTERIZACIÓN MORFOBIOQUÍMICA Y MOLECULAR DE MAGUEYES MEZCALEROS (*Agave spp.*)

EDGAR LEÓN ESPARZA IBARRA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

SALINAS DE HIDALGO, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO.

2015

La presente tesis, titulada: **Caracterización morfológico-química y molecular de magueyes mezcaleros (*Agave spp.*)**, realizada por el alumno: **Edgar León Esparza Ibarra**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS
POR INVESTIGACIÓN**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:

DR. ERICH DIETMAR RÖSSEL KIPPING

ASESOR:

DR. JORGE CADENA IÑIGUEZ

ASESOR:

DRA. AIDA MARTÍNEZ HERNÁNDEZ

ASESOR:

DR. FRANCISCO JAVIER CABRAL ARELLANO

ASESOR:

DR. SANTIAGO DE JESÚS MÉNDEZ GALLEGOS

ASESOR:

DR. EDUWIGES JAVIER GARCÍA HERRERA

DEDICATORIA

A mi esposa Alejandra e hijos María Inés, Santiago y Octavio,
por su paciencia y confianza. Los quiero mucho.

A mis padres Ernesto y María Elena, así como a mis hermanos
Erika, Ever y Elmer por sus consejos y amor incondicional.

A Rodolfo, Julia y sus familias que también forman parte de
mi vida y por su apoyo durante todo este proceso.

A mis amigos Salvador, Francisco, Alonso, Jorge, Lucy, Aurelio, Marcos, Iván,
Perla y Cuauhtémoc; así como colegas investigadores y estudiantes,
por los momentos agradables que hemos compartido.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados y en especial al Dr. Víctor Manuel Ruiz Vera, Dr. José Pimentel López, Lic. Miguel Ángel Espinosa Pérez; por su apoyo incondicional para la realización y conclusión de mi tesis de doctorado.

Al Dr. Erich Dietmar Rössel Kipping, por su participación como director y profesor consejero de esta tesis; en especial por sus valiosos comentarios y trabajo tan arduo que desempeño en mi proceso de formación científica y personal.

Al Dr. Jorge Cadena Iñiguez y Dra. Aída Martínez Hernández, por la lectura crítica de este trabajo y los comentarios que ayudaron a enriquecer esta tesis.

A la Dra. June Simpson y M. en C. Katia Gil Vega del Cinvestav Irapuato, por las facilidades para realizar la parte experimental de este trabajo.

A mis asesores Dr. Santiago de Jesús Méndez Gallegos, Dr. Javier García Herrera, Dr. Francisco Javier Cabral Arellano por sus comentarios y porque me acompañaron durante todo el proceso de mi formación.

Al Dr. Jorge Palacio Núñez, Dr. Alejandro Amante Orozco, Dra. Alejandra Olivera Méndez, Dr. Ángel Bravo Vinaja, Dr. Adrián Gómez González, Dr. Daniel Talavera Magaña, Dr. Juan Felipe Martínez Montoya, Dr. Genaro Olmos Oropeza, Dr. José de Jesús Martínez Hernández y Dr. Luis Antonio Tarango Arámbula por su amistad, colaboración y porque siempre me alentaron a seguir adelante.

A mis compañeros Lidia López Monsiváis (biblioteca), Norma Angélica Morales Palacios (subdirección de educación), Leticia Morales Palacios (dirección), Clara Tovar Robles (laboratorios), Pedro Cardona Roque y Pablo Rodríguez Gómez (contabilidad), así como a Eleuterio Hernández y Efraín Rodríguez (vigilantes) por su hospitalidad, apoyo profesional y compañía; durante toda mi estancia en el *campus*.

A los productores de agave y mezcal de Zacatecas y San Luis Potosí, en especial a Don Hilario y Don Aurelio por las facilidades brindadas de sus empresas y predios, que contribuyeron en el conocimiento y problemática del proceso de elaboración del mezcal; así como en la identificación y colecta de los agaves mezcaleros.

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. Planteamiento del problema	1
2. Objetivos	10
3. Hipótesis	10
4. Revisión de literatura	11
5. Literatura citada	30
CAPÍTULO 1. CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y MORFOLÓGICA DE	
<i>Agave spp.</i>	33
1.0. Resumen	33
1.1. Introducción	34
1.2. Materiales y métodos	40
1.3. Resultados y discusión	49
1.4. Conclusiones	78
1.5. Literatura citada	79
CAPÍTULO 2. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENOTIPOS DE	
<i>Agave spp.</i>	82
2.0. Resumen	82
2.1. Introducción	83
2.2. Materiales y métodos	89
2.3. Resultados y discusión	98
2.4. Conclusiones	108
2.5. Literatura citada	109

CAPÍTULO 3. ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN BIOLÓGICA DE <i>Agave</i> spp. CON BASE EN UN ESTUDIO MORFOBIOGENÉTICO.	113
3.1. Discusión general	113
3.2. Conclusiones	122
3.3. Literatura citada	123
APÉNDICES	124
A	124
B	145
C	175
D	206
E	214
F	224
G	232
H	240
I	259
J	271

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
1	Riqueza de agaves más comunes, empleados para la elaboración del mezcal en los estados con denominación de origen (Información tomada de CONABIO, 2006).	5
2	Especificaciones máximas permitidas en varias bebidas espirituosas.	7
3	Ubicación taxonómica del género <i>Agave</i> spp. en la familia <i>Agavaceae</i> .	12
4	Número de especies y taxas infraespecíficos de <i>Agavaceae</i> en México y el Mundo.	14
5	Distribución de especies de <i>Agave</i> spp. en México.	15
6	Especies de <i>Agave</i> .	17
7	Usos y productos que se pueden obtener del <i>Agave</i> spp.	23
8	Datos de las localidades donde se colectaron los agaves.	40
9	Caracteres morfológicos y estados de carácter con base a los descriptores de la guía técnica para <i>Agave</i> spp., según la unión internacional para la protección de las obtenciones vegetales (UPOV).	46
10	Relación de azúcares con respecto a la edad en los grupos de <i>A. salmiana</i> de las diferentes localidades.	50
11	Relación de azúcares con respecto a la edad en los grupos de <i>A. salmiana</i> sp., <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> , <i>A. angustifolia</i> subsp. <i>tequilana</i> var. <i>azul</i> y <i>Agave</i> sp. de las diferentes localidades.	51
12	Caracteres que influyeron en la separación de cada grupo de agave.	62
13	Sinapomorfias presentes en <i>A. salmiana</i> de diferentes localidades.	64
14	Sinapomorfias presentes en <i>Agave</i> spp.	65
15	Grupos de agaves.	89
15	Combinación de oligonucleótidos usados en los AFLP	90
16	Fluorocromos empleados para el secuenciador AB modelo 3730xl.	92
17	Concentración promedio de ADN aislado con el protocolo <i>PlantDNAzolReagent</i> ®	98

18	Concentración promedio de ADN aislado con el protocolo CTAB-STE y <i>PlantDNAzolReagent</i> ® mas RNasa.	99
19	Concentración promedio de ADN aislado con el protocolo Mini-prep CTAB.	100
20	Concentración promedio de ADN extraído de varios tejidos de <i>A. spp.</i>	102
21	Tiempo empleado en varios métodos para aislar ADN de <i>A. spp.</i>	103

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Distribución de los agaves mezcaleros en México (Modificado de CONABIO, 2006).	4
2	Mezcales joven (blanco), reposado y añejo.	6
3	Diversidad de especies en el género <i>Agave</i> (Imagen tomada de Colunga <i>et al.</i> , 2007).	11
4	Anatomía del <i>Agave</i> .	16
5	Ilustración de un agave típico del subgénero <i>Agave</i> (izquierda), mostrando la inflorescencia en forma de panícula y otro agave del subgénero <i>Littaea</i> (derecha) con su inflorescencia en forma de espiga (Tomado de CONABIO, 2006).	18
6	Estructura química general de una molécula de inulina.	22
7	Productos que cuentan con denominación de origen en México.	26
8	Regiones productoras de maguey y mezcal en San Luis Potosí.	27
9	Principales regiones productoras de agave y mezcal en Zacatecas.	27
10	<i>Agave salmiana</i> Otto ex Salm-Dyck. ssp. <i>crassispina</i> (Trel.) Gentry.	29
11	Distribución del <i>Agave salmiana</i> subsp. <i>crassispina</i> en México (Imagen tomada de CONABIO, 2006).	35
12	<i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> Trel. (izq. arriba), <i>A. angustifolia</i> subsp. <i>tequilana</i> Weber var. <i>azul</i> (der. arriba), <i>Agave</i> sp. “maguey aguamielero” (izq. abajo) y <i>A. salmiana</i> Otto ex salm-Dyck ssp. <i>crassispina</i> (Trel.) Gentry (der. abajo).	39
13	Hojas de un <i>Agave salmiana</i> sp. “blanco” (arriba) y de un <i>Agave salmiana</i> subsp. <i>crassispina</i> “chino” (centro) y “liso” (abajo).	41
14	Hojas de un <i>A. angustifolia</i> subsp. <i>tequilana</i> var. <i>azul</i> (arriba), <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> (centro) y un <i>Agave</i> sp. (abajo).	42
15	Imágenes que muestran la altura (izquierda) y ancho (derecha) de las hojas de magueyes aguamieleros.	43
16	Ejemplos de variantes biológicas de <i>Agave salmiana</i> , empleadas para la elaboración del mezcal en el altiplano Potosino–Zacatecano.	44
17	Maguey verde capado	45

18	Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de <i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de la Honda (AH)	54
19	Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de <i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Pinos (AP).	55
20	Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de <i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Saldaña (AS).	56
21	Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de <i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Charcas (AC).	57
22	Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de los <i>A. salmiana</i> sp. (blanco) de la localidad de la Honda (AB).	58
23	Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de <i>A. americana</i> de la localidad de Guadalupe (AM).	59
24	Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de <i>A. angustifolia tequilana</i> var. <i>azul</i> de Apozol, Jalpa y Juchipila en Zacatecas (AT).	60
25	Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de <i>Agave</i> sp. de la localidad de Hacienda Nueva y Pánuco en Zacatecas (AA).	61
26	Árbol de consenso de <i>A. salmiana</i> sp. “maguey blanco” de la localidad de la Honda en Zacatecas (AB).	63
27	Ubicación de las localidades de <i>A. salmiana</i> (AH, AP, AS, AC y AB) y <i>A. spp.</i> (AM, AT y AA).	65
28	Relación de las poblaciones de <i>A. salmiana</i> de las localidades de la Honda (AH, AB), Pinos (AP), Saldaña (AS) y Charcas (AC).	67
29	Relación de los grupos de agave AM, AT y AA, de diferentes localidades.	68
30	Relación de los grupos de agave AM, AT, AH y AC.	69
31	Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de los grupos de agave AM, AT, AH y AC.	70
32	Gráfico de scores que muestran la dispersión de poblaciones de <i>A. salmiana</i> por análisis de componentes principales (n=100).	71
33	Gráfico de loadings en PC1, realizado sobre los caracteres morfológicos de <i>A. salmiana</i> (AH, AB, AP, AS y AC).	73
34	Gráfico de loadings en PC2, realizado sobre los caracteres morfológicos de <i>A. salmiana</i> (AH, AB, AP, AS y AC).	73

35	Gráfico de scores que muestran la dispersión de poblaciones de <i>A. spp.</i> por análisis de componentes principales.	74
36	Gráfico de loadings en PC1, realizado sobre los caracteres morfológicos de AA, AM y AT.	75
37	Gráfico de loadings en PC3, realizado sobre los caracteres morfológicos de AA, AM y AT.	75
38	Gráfico de scores que muestran la dispersión de poblaciones de agaves por análisis de componentes principales.	76
39	Gráfico de loadings en PC1, realizado sobre los caracteres morfológicos de los grupos de AH, AC, AM y AT.	77
40	Gráfico de loadings en PC2, realizado sobre los caracteres morfológicos de los grupos de AH, AC, AM y AT.	77
41	Etapas en el desarrollo de AFLP's	87
42	Secuenciador AB 3730xl de Applied Biosystem	96
43	ADN aislado con <i>PlantDNazolReagent</i> ®.	99
44	ADN aislado usando CTAB-STE.	100
45	ADN aislado usando el método de Mini-prep CTAB.	101
46	ADN aislado de varios tejidos de agaves.	102
47	Electroforesis de ADN genómico de agaves.	104
48	Dendograma de similaridad entre grupos de <i>A. salmiana</i> (AH, AP, AS, AC, AB) y <i>A. spp.</i> (AA, AM y AT).	107
49	Resumen metodológico de la caracterización morfolobioquímica	116
50	Resumen metodológico de la caracterización molecular	116
51	Cladograma de relaciones entre grupos de <i>A. salmiana</i> (AH, AP, AS, AC, AB) y <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> (AM), <i>A. angustifolia</i> subsp. <i>tequilana</i> var. <i>azul</i> (AT) y <i>Agave</i> sp. (AA).	118
52	Dendograma de distancia entre grupos de <i>A. salmiana</i> (AH, AP, AS, AC, AB) y <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> (AM), <i>A. angustifolia</i> subsp. <i>tequilana</i> var. <i>azul</i> (AT) y <i>Agave</i> sp. (AA).	119

RESUMEN

CARACTERIZACIÓN MORFOBIOQUÍMICA Y MOLECULAR DE MAGUEYES

MEZCALEROS (*Agave* spp.)

Edgar León Esparza Ibarra, DC

Colegio de Postgraduados, 2015

En la región centro norte, el maguey mezcalero (*A. salmiana*), ha sido una de las especies más valiosas en la historia de México, ya que han sido un componente cultural, político y socioeconómico importante, por la gran variedad de aplicaciones y usos típicos (aguamiel, pulque, destilados, etc.) que se obtienen de él, desde la época prehispánica; así mismo otras especies como: *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul*, etc. han cobrado recién importancia por su uso como planta de ornato, producción de bebidas espirituosas, jarabes, inulinas, etc. El identificar y caracterizar variantes biológicas de las especies con atributos óptimos de mayor concentración de azúcares, mayor tamaño de la planta, menor edad de maduración, etc., son de primordial interés para su empleo en la elaboración de diversos productos y bebidas tradicionales como el bacanora, mezcal y tequila. Para tal fin, la evaluación morfológica, molecular y lo relacionado a su bioquímica de especies; contribuyen a la identificación y selección de variantes biológicas con ciertas características deseadas que representan un valor económico para el productor. Ya que se tendría la posibilidad de preservar y contar con variantes de interés que aseguren la homogeneidad vegetal; así como una diversidad de bebidas con características organolépticas únicas y reproducibles, que deseen autentificar su procedencia y calidad. En el presente trabajo, se analiza la variación molecular y morfibioquímica de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de cuatro localidades productoras de maguey y mezcal de San Luis Potosí y Zacatecas; así como también de *A. americana* var. *marginata* (uso como ornato), *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* (uso para mezcal y tequila) y *Agave* sp. (uso para aguamiel y pulque) de otras localidades de Zacatecas. Los datos obtenidos de la determinación de azúcares, la descripción de los caracteres morfológicos y el análisis molecular, permitió la obtención de árboles descriptivos y el análisis de componentes principales para todos los grupos de agave.

Palabras clave: *Agave*, aflp's, polimorfismo, similaridad y variabilidad.

ABSTRACT
MORPHOBIOCHEMISTRY AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF
MAGUEYES MEZCALEROS (*Agave* spp.)

Edgar León Esparza Ibarra, DC
Colegio de Postgraduados, 2015

In the North Central region, the maguey mezcal (*A. salmiana*), has been one of the most valuable species in the history of Mexico, and they have been an important cultural, political and socio-economic component, the wide variety of applications and uses Typical (mead, pulque, distillates, etc.) obtained from it, since pre-Hispanic times; likewise other species such as *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *blue*, etc. They have gained new importance because of its use as an ornamental plant, production of spirits, syrups, inulin, etc. To identify and characterize biological species variants with optimal attributes higher concentration of sugars, larger plant, younger age of maturity, etc., they are of primary interest for use in the manufacture of various products and traditional drinks like bacanora, mezcal and tequila. To this end, the morphological, molecular evaluation and related to biochemical species; contribute to the identification and selection of variants with certain desired biological characteristics that represent an economic value to the producer. Since the possibility of preserving and variants have interest to ensure uniformity would plant; as well as a variety of beverages with reproducible unique organoleptic characteristics and wishing to authenticate its origin and quality. In this paper, the molecular variation and morfobiochemistry *A. salmiana* ssp *crassispina* were analyzed. four production areas maguey and mezcal of San Luis Potosi and Zacatecas; as well as *A. americana* var. *marginata* (use as ornaments), *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *blue* (use for mezcal and tequila) and *Agave* sp. (Use for mead and pulque) from other locations in Zacatecas. The data obtained from the determination of sugars, the description of the morphological and molecular analysis, allowed obtaining descriptive trees and principal component analysis for all groups of agave.

Keywords: *Agave*, aflp's, polymorphism, similarity and variability.

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. Planteamiento del problema

Los magueyes o agaves, son uno de los grupos de plantas que identifican a México en el mundo y que han jugado un papel importante en el desarrollo de la cultura Mexicana y de otros pueblos de América (Gentry, 1982); ya que éstas plantas han estado en nuestras tierras desde hace 9,000 años empleándose principalmente para la obtención de bebidas como el aguamiel y pulque; y desde el punto de vista de grupos étnicos como los Huicholes, éstos describen al maguey como la primera planta creada por su Dios.

Carl von Linné o *Carolus Linnaeus* o simplemente Carlos Linneo, médico sueco conocido como el Padre de la Taxonomía, estableció en el año 1748, en el catálogo *Hortus Upsaliensis*, el género *Agave*. Linneo tomó el vocablo griego *Agavos*, que significa “Algo grande, ilustre, noble o admirable” para la designación de este género, quizás basándose en la morfología de esta planta cuando ocurre su reproducción sexual. Sin embargo, es difícil creer que para la elección de este vocablo Linneo ignorase los múltiples usos que de esta planta se tenían en su lugar de origen, México. Es más fácil imaginar que Linneo se sorprendió de la enorme utilidad que estas plantas tenían en el nuevo mundo antes de la conquista española, y más aún, de su aprovechamiento como “octlí” o pulque, bebida alcohólica que con fines religiosos y sociales era consumida en la época precolombina.

Con la crisis de la industria tequilera a finales de la década de los 90’s y principios del 2000, cuando la materia prima de agave escaseó, los tequileros recurrieron a múltiples opciones para abastecerse de material. Entonces se presentó un nuevo interés por la micropropagación, ya que la demanda de plántulas de *Agave angustifolia* subespecie *tequilana* Weber var. *azul* superó por mucho la oferta, lo que provocó un súbito incremento en los precios por plántula. Quizá el factor que más impactó en el desabasto del agave fueron enfermedades causadas por bacterias, hongos e insectos que afectaron considerablemente las plantaciones, aunque ahora estos causales han sido plenamente identificados (Garrido y Rodríguez, 2004).

Esto motivó que empresas como tequila cuervo y herradura, entre otras, iniciaran programas de investigación y/o invirtieran en la producción o compra de plántulas por cultivo de tejidos, ya que los altos costos de los súrculos (tallos o piñas) hicieron competitivos los precios de las plántulas *in vitro*. Sin embargo, la perspectiva de éxito de la sustitución parcial de los súrculos por plántulas *in vitro*, estuvo reservada casi exclusivamente a los esquemas agrícolas operados por las grandes empresas tequileras, pues sólo ellas podían invertir en gran escala para que las cadenas de costos de las plántulas *in vitro*, la adaptación y el manejo en plantaciones comerciales, permitieran un balance costo-beneficio favorable para esta técnica de reproducción de agave por sobre el uso generalizado de los súrculos o hijuelos (Valenzuela, 2003).

En los últimos años, el interés en la investigación con las especies de agave ha aumentado, principalmente con el incremento en el interés mundial de los mezcales liderado por el tequila y el reconocimiento de las denominaciones de origen como bacanora y mezcal.

Usos e importancia económica

De los nueve géneros de Agaváceas (*Agave*, *Beschorneria*, *Furcraea*, *Hesperaloë*, *Hesperoyucca*, *Manfreda*, *Polianthes*, *Prochlyanthes* y *Yucca*), sin duda el más notable por su diversidad de especies y usos que el ser humano le ha encontrado, es el género *Agave*. Las diversas culturas americanas y sobre todo las mesoamericanas, encontraron una amplia variedad de usos a las múltiples especies que naturalmente se desarrollaron en su territorio. El aprovechamiento de la planta fue casi total y la infinidad de usos que de esta planta se obtienen, es de llamar la atención para implementar planes y acciones inmediatas para su conservación y aprovechamiento integral, que permitan un nivel de bienestar a las familias que habitan en las regiones con mayores índices de marginalidad en el país, ya que se han descrito diversos usos y productos tradicionales de los que destacan: la planta como cerca viva y objeto ornamental; el escapo floral (quiote) como material de construcción, las flores y frutos como alimento; las hojas como forraje, medicamento y fuente de fibra; y el tallo para la producción de bebidas como el aguamiel, bacanora, mezcal, pulque y tequila, que son las formas de empleo más comunes (Granados, 1993).

La aplicación médica de las especies de agave, si bien tiene un origen precolombino, recientemente ha tomado un particular interés entre los investigadores, y es que se han encontrado fundamentos científicos a múltiples aplicaciones médicas de los principios activos y extractos obtenidos de especies de agave, los cuales son empleados como diuréticos, antiinflamatorios, antimicrobianos, antiedematosos, anticonceptivos y presumiblemente, hasta anticancerígenos (Sánchez *et al.* 2005; Martínez-Hernández *et al.*, 2007), con resultados que permiten suponer que en un futuro cercano, ésta sea una alternativa real de uso industrial.

Económicamente subsisten cinco aplicaciones importantes de los agaves en la actualidad:

1. El aprovechamiento de las fibras. Un importante número de personas viven aún de esta actividad, ya sea produciendo la fibra del henequén, el sisal o la lechuguilla.
2. La venta de plantas de agave con fines de ornato, actividad que en lo económico es difícil de cuantificar, pero no difícil de imaginar, ya que por doquier se pueden ver un amplio número de especies comercializadas, que van de las especies de gran tamaño, como *A. salmiana* y *A. americana* principalmente en su variedad *marginata*, a pequeñas como *A. striatae*.
3. La extracción y aprovechamiento del aguamiel o “tecuátl” en náhuatl, que quizá sea el uso más antiguo, junto con la elaboración y consumo del aguamiel fermentado conocido como pulque u “octli” en náhuatl, bebida ligada a la espiritualidad en el México prehispánico.
4. En la época colonial, el pulque perdió su noción religiosa y la alta demanda dio origen a las haciendas pulqueras, que en una cultura opuesta al origen de la bebida, fomentaron el consumo, hasta que fue desplazada por la cerveza. Recientemente el aprovechamiento del aguamiel y del pulque se está modernizando y empieza a ser una alternativa inclusive de exportación.
5. La producción de bebidas espirituosas (destiladas) como lo son el: bacanora, mezcal y tequila, que cuentan con denominación de origen, lo que permite designar y hacer el reconocimiento de que un producto es originario de una región geográfica del país y

que sus características y calidad obedecen exclusivamente al medio geográfico, a los factores y recursos naturales y humanos.

El bacanora y tequila, se producen a partir de solo una especie de agave; mientras que el mezcal se puede elaborar de varias especies diferentes de agave que se encuentran ampliamente distribuidas en el territorio nacional (FIGURA 1, CUADRO 1); siempre y cuando, no se utilice el mismo material para producir otras bebidas diferentes dentro de los estados con denominación de origen. Por lo que es necesario profundizar y sistematizar los conocimientos sobre la riqueza de las variantes múltiples de las plantas de agaves mezcaleros y sus distintos mezcales derivados de ellos.



FIGURA 1. Distribución de los agaves mezcaleros en México (Modificado de CONABIO, 2006).

CUADRO 1. Riqueza de agaves más comunes, empleados para la elaboración del mezcal en los estados con denominación de origen (Información tomada de CONABIO, 2006).

Agave	Especie	Característica
	<i>angustifolia</i>	El maguey de más amplia distribución, ancestro del maguey azul tequilero y del henequén
	<i>salmiana</i>	Del altiplano Potosino – Zacatecano, región mezcalera integrada natural y culturalmente
	<i>rhodocanta</i>	Su belleza y solitaria presencia en las tierras altas le valieron el nombre de “Mexicano”
	<i>maximiliana</i>	De él se derivan mezcales que fueron prohibidos en Sinaloa en el siglo XVIII
	<i>lophanta</i>	De inflorescencia espigada, pequeño pero con mucho azúcar, es característico de Tamaulipas
	<i>durangensis</i>	Utilizado para producir pulque y mezcal, es exclusivo de Durango y Zacatecas
	<i>tequilana</i>	El vino mezcal de Tequila prescindió de su primer nombre y sólo guardó el de su región de origen
	<i>inaequidens</i>	Mezcalero y pulquero asociado a sustratos volcánicos del centro de México
	<i>marmorata</i>	Su hermosa inflorescencia tiene importantes usos ornamentales y ceremoniales
	<i>cupreata</i>	Dulce y bronco como los mezcales y las culturas de la cuenca del Balsas
	<i>potatorum</i>	El tobalá es de los magueyes silvestres más apreciados para mezcal en Oaxaca
	<i>americana</i>	El primer maguey conocido en Europa, una de las especies mezcaleras del noreste de México.
	<i>oaxacensis</i>	Variedad domesticada, el dulce arroqueño es uno de los magueyes mezcaleros más longevos
	<i>karwinskii</i>	Propio de zonas áridas del sur y con numerosas variantes

El mezcal se define como una bebida alcohólica regional, que se obtiene por la destilación y rectificaciones de los mostos provenientes de los azúcares de las cabezas maduras del maguey previamente cocidas y sometidas a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no (NOM-070-SCFI-1994). Existe la creencia popular de que el mezcal produce en el organismo un efecto similar al de un tónico, pues además de su inmediato efecto afrodisíaco, aseguran que el hábito de consumirlo, con moderación, prolonga la vida sexual del individuo y por ende, la vida misma. El mezcal obtuvo su declaratoria desde 1994 (DOF-1994-11-28) y actualmente existe un organismo certificador que es el consejo mexicano regulador de la calidad del mezcal (COMERCAM), el cual vigila el cumplimiento de la norma oficial mexicana para su elaboración en los estados con denominación de origen mezcal; y los cuales comprende los estados de Durango, Guanajuato (1 municipio), Guerrero, Michoacán (29 municipios), Oaxaca, San Luis Potosí, Tamaulipas (11 municipios) y Zacatecas (IMPI, 2013). Según la norma 070, hay dos tipos de mezcal: el tipo I que se elabora con el 100% de los azúcares del agave y el tipo II que contiene solo 80% de los azúcares del agave. Además existen tres categorías del mezcal (FIGURA 2).



FIGURA 2. Mezcales joven (blanco), reposado y añejo.

El joven o blanco, es el mezcal tal cual sale de la destilación y que puede ser abocado, y que cuando se deja reposar al menos dos meses en barricas de roble blanco o encino, se le llama reposado; y más de un año se conoce como añejo o añejado.

También el mezcal debe cumplir con las siguientes especificaciones fisicoquímicas para su consumo (CUADRO 2), según la norma debe contener de 36 a 55 por ciento de grados de alcohol volumen a 20°C, de 30 a 300 mg de metanol, de 0 a 170 mg de acidez, de 0.2 a 10 gramos por litro de extracto seco y de 0 a 400 mg de alcoholes superiores (NOM-070-SCFI-1994). Siendo en el caso de este último parámetro, por lo que es considerada como una de las bebidas espirituosas (destiladas) que menos alcoholes superiores contiene, a diferencia de otras bebidas como el tequila, charanda, whisky, etc. que están por arriba de estos parámetros fisicoquímicos y que contribuyen con la resaca.

CUADRO 2. Especificaciones máximas permitidas en varias bebidas espirituosas.

Bebida destilada	Extracto seco (g/l)	Acidez total (mg ác. acético)	% Alcohol volumen a 20 °C	Metanol (mg/100 ml)	Alcoholes superiores (mg/100ml)
Mezcal	10	170	36 - 55	300	400
Tequila	5	N. R.	35 - 55	300	500
Sotol	15	N. R.	35 - 55	300	400
Bacanora	N. R.	170	38 - 55	300	400
Charanda	15	110	35 - 55	300	500
Coñac	N. R.	N. R.	40 - 60	300	1000
Whisky	N. R.	N. R.	40 - 62	300	1000

N. R.- No reportado.

Por otra parte, el sitio donde se elabora el mezcal reciben diferentes nombres en todo el territorio de la denominación de origen, así tenemos que en Guerrero y Tamaulipas se les llama vinata, en Oaxaca palenque y en Durango, Michoacán, San Luís Potosí y Zacatecas; fábrica o taberna. La producción de mezcal en general, está compuesta principalmente por cinco procesos: cocimiento, molienda, fermentación, destilación y rectificación. Su elaboración la podemos clasificar en 3 grupos de productores para

este caso; grupo I, los pequeños productores; grupo II, los tecnificados modernos y el grupo III, los del altiplano Potosino y Zacatecano.

En el grupo I, se concentra la mayoría de los productores de mezcal localizados en los estados de Durango, Guerrero, Michoacán y Oaxaca, son fabricas familiares que conservan la tradición y lo producen como lo aprendieron de sus antecesores: tienen hornos cónicos en el subsuelo, tahonas tiradas por una mula o caballo, las tinas de fermentación son de madera, alambiques de cobre y en zonas como Oaxaca, ollas de barro sobrepuestas y la mayoría de los productores trabajan solo en una época del año, en secas y durante época de lluvia se dedican a labores agrícolas. Los productores de Durango utilizan el maguey cenizo (*A. duranguensis*) los de Guerrero utilizan el maguey papalote (*A. cupreata*) y los de Oaxaca emplean mayormente el maguey espadín (*A. angustifolia* Haw). El grupo II, es un grupo compuesto por un número reducido de fábricas localizado al sur de Zacatecas (zona occidente de México). Son fábricas con mayor grado de tecnificación, donde en un menor espacio existen los molinos de rodillo (trapiche), tinas y alambiques de acero inoxidable; así como una caldera que suministra el calor para los procesos de cocimiento, fermentación y destilación; en la producción utilizan como materia prima el *A angustifolia* subsp. *tequilana* Weber variedad azul. El grupo III, se caracteriza por estar concentrados en los estados de San Luís Potosí y sureste de Zacatecas. Las fábricas están ubicadas en cascos de haciendas, con antecedentes interesantes sobre tecnología, donde se localizan hornos verticales de piedra que operaban a base de leña, tahonas, calderas de carbón, pilas para fermentación, prensas etc., estas fábricas utilizan maguey verde (*A. salmiana* subsp. *crassispina*), mismo que es recolectado en las zonas donde se trabajan de dos a tres turnos por día y donde se producen de 10 hasta 20 mil litros por mes.

El maguey mezcalero (*A. salmiana*) ha sido una de las especies más importantes en la historia de México, debido particularmente al aprovechamiento de su sabia fresca (aguamiel), fermentada (pulque) o destilada (mezcal), lo que motivó su cultivo y dispersión. Dentro de sus características es que estas plantas soportan sequías prolongadas; así como temperaturas altas y bajas de hasta menos 14 °C; y llegan a medir de 2 m de ancho por 1.5 m a 2 m de alto. Se propagan por semillas

(reproducción sexual) siguiendo su dinámica natural, al mismo tiempo que los productores recuperan sus hijuelos (reproducción asexual) y los plantan para reponer las poblaciones. En el Altiplano Potosino-Zacatecano, los magueyes son un componente socioeconómico importante, ya que se pueden aprovechar desde el punto de vista: económico, ya que tiene valor en el mercado para la producción de bebidas espirituosas como el mezcal; social, ya que su producción y modo de empleo genera jornales disminuyendo la migración; en la salud, por la producción de aguamiel, jarabes e inulinas como complemento nutricional; científico, por la identificación de compuestos con actividad biológica para el control de algunas enfermedades. Así mismo, existe una demanda de los productores de agave-mezcal, en la cual requieren orientar la producción de maguey verde con ciertas características óptimas de: edad de maduración, tamaño de la piña, concentración de azúcares, etc., para su empleo en la elaboración de mezcal y otros productos; solo que hay pocos aportes en cuanto al conocimiento en la variación biológica de los agaves; que resulta en una diversidad de variantes fenotípicas que quizás sean producto de la plasticidad de estos magueyes mezcaleros. Para ello, la caracterización bioquímica, morfológica y molecular; nos ayudaría a comprender las relaciones de similitud y disimilitud en las variantes biológicas del complejo de *A. salmiana*, así como su relación con otras especies de *Agave* spp. que se emplean para otros usos y que son de importancia local. Además de proponer programas de propagación por separado de las variantes de interés, si es el caso, asegurando la homogeneidad y calidad vegetal a los productores de la región del altiplano Potosino-Zacatecano; que desean obtener productos originales con características homogéneas de olor, sabor y calidad, como los mezcales.

Adicionalmente, la información que se genere, contribuiría a preservar este recurso genético de la nación mediante el registro de sus variantes, así como asegurar la tradición de la elaboración de mezcal, manteniendo la diversidad de paisajes mezcaleros, magueyes y prácticas de producciones tradicionales e innovadoras de la elaboración de mezcal, coadyuvando a generar estrategias para su aprovechamiento sustentable con el fin de valorar la conservación de este patrimonio que se mantiene hoy en día vivo en manos de numerosas comunidades, que requieren opciones para su desarrollo socio-económico donde el mezcal es protagonista.

2. Objetivos

Objetivo general

Caracterizar los magueyes mezcaleros del complejo de *A. salmiana* ssp. *crassispina* del altiplano Potosino-Zacatecano, así como *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp., con base en la identificación de características bioquímicas, morfológicas y moleculares.

Objetivos particulares

- a) Analizar la variación bioquímica y morfológica de *A. salmiana* ssp. *crassispina*, *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp., con base en la determinación de azúcares y la descripción de caracteres identificados en hoja, planta e hijuelos.
- b) Analizar la variación molecular de genotipos de *A. salmiana* ssp. *crassispina*, *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp., con base en la generación de polimorfismos de su ADN.
- d) Contrastar las características morfológicas de *A. salmiana* ssp. *crassispina*, *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp., con base a los resultados obtenidos en los objetivos anteriores.

3. Hipótesis

Ho: En *A. salmiana* ssp. *crassispina*, *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp., no se presenta variación bioquímica, fenotípica y genética, entre genotipos de la misma y diferente especie.

Ha: El manejo reproductivo, la adaptación agroclimática y el entrecruzamiento entre genotipos de la misma y diferente especie, influye en la variación bioquímica, fenotípica y genética de *A. salmiana* ssp. *crassispina*, *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp.

Los resultados de la presente investigación, son presentados en capítulos para cada objetivo particular planteado.

4. Revisión de literatura

Origen

México es un país de gran riqueza biológica que se ubica dentro de los 17 países megadiversos del planeta (Rzedowski, 1993), con alrededor de 22,000 especies endémicas, siendo uno de los centros de mayor diversidad biológica y se considera que ha sido centro de origen del agave o maguey (Ortega-Paczka *et al.*, 1998); ya que actualmente se encuentran poco más de la mitad de las especies de agave (García-Mendoza, 1995). Así el vocablo México, es posible que signifique “El centro del maguey”, ya que proviene de las palabras de origen Náhuatl “Metl” (maguey), “Xictli” (centro u ombligo) y “Co” (derivativo de lugar).

Clasificación taxonómica

El género *Agave* (que proviene del griego *Agavos* que significa “admirable o noble”) se encuentra ubicado dentro de la familia *Agavaceae*, la cual surgió aproximadamente hace 8 millones de años (Eguiarte *et al.*, 2000). La primera especie descrita por el naturalista sueco Carlos Linneo en 1753 (Gómez-Pompa, 1963) fue la especie *Agave americana* (Granados, 1993). A pesar de que la clasificación taxonómica del género *Agave* ha sido sujeta a continuas revisiones y propuestas de clasificación, debido a su alta variación fenotípica y genotípica, no hay duda de que pertenece a la familia *Agavaceae*, ya que cuando Endlicher, en 1841, propuso esta familia, tomó como tipo nomenclatural precisamente al género *Agave*, que incluyó en esa familia, además del género *Furcraea*. Desde entonces, se han propuesto diversos arreglos taxonómicos para la familia *Agavaceae*, además de otras familias, como *Liliaceae* y *Amaryllidaceae* con las que se han intercambiado los géneros *Agave* y *Dasyliirion*; y que ha sido motivo de múltiples confusiones o controversias en las publicaciones sobre los mezcales y el sotol. En referencias bibliográficas, como Granados (1993), García-Mendoza y Galván (1995), Eguiarte (1995) y Solano (1998), se describe de manera amplia la evolución que el ordenamiento botánico relativo a la familia *Agavaceae* ha sufrido en el curso de los años. En el CUADRO 3 se muestran las propuestas de la clasificación taxonómica que los principales autores han hecho para el género *Agave* y la familia *Agavaceae*.

géneros; *Agaveae* (*Agave*, *Furcraea*, *Beschorneria*, *Doryanthes*), *Dracaenae* (*Cordyline*, *Cohnia*, *Dracaena*, *Sansevieria*), *Nolineae* (*Nolina*, *Calibanus*, *Dasylyrion*), *Phormieae* (*Phormium*), *Polyantheae* (*Polyanthes*, *Prochnyanthes*, *Pseudobravoa*), *Yuceae* (*Hesperaloe*, *Clistoyucca*, *Yucca*, *Samuela*).

Cronquist, en sus publicaciones de 1981 y 1988 (Sistema de Clasificación de Cronquist), dividió las angiospermas en dos clases *Magnoliopsida* y *Liliopsida*, esta última con cinco subclases: *Alismatidae*, *Arecidae*, *Commelinidae*, *Zingiberidae* y *Liliidae*. En la subclase *Liliidae*, reconoce dos órdenes: *Orchidales* y *Liliales*. *Orchidales* con cuatro familias, y *Liliales* con quince familias: *Agavaceae*, *Aloaceae*, *Cyanastraceae*, *Dioscoreaceae*, *Haemodoraceae*, *Hanguanaceae*, *Iridaceae*, *Liliaceae*, *Philydraceae*, *Pontederiaceae*, *Smilacaceae*, *Stemonaceae*, *Taccaceae*, *Velloziaceae*, *Xanthorrhoeaceae* donde ubicó a la familia *Agavaceae*. Este autor ya no subdivide la familia en tribus o subfamilias, sino sólo en nueve géneros: *Agave*, *Doryanthes*, *Cordyline*, *Dracaena*, *Sansevieria*, *Nolina*, *Dasylyrion*, *Phormium*, *Yucca* (Solano, 1998).

Actualmente, se han empleado diversas técnicas para confirmar los límites de las familias taxonómicas y los géneros, pero además para establecer la historia de la diversificación y las relaciones evolutivas entre los integrantes de los diferentes estratos de la organización taxonómica (filogenia).

Distribución geográfica y descripción

La familia *Agaváceae* es endémica de América, distribuyéndose desde el sur de Canadá, hasta México, islas Caribe, Centroamérica y el norte de Sudamérica (siguiendo principalmente la cadena montañosa de los Andes hasta Bolivia y Paraguay). México es el centro de mayor riqueza y diversidad del género *Agave* (CUADRO 4), con 75 por ciento de las especies identificadas y distribuidas en casi todo el país, aunque también éste género (junto con *Yucca* spp.) son los que cuentan con mayor diferencia en el número de especies descritas (García-Mendoza y Galván, 1995) (FIGURA 3). Biogeográficamente, la característica principal del género *Agave*, es la forma de subsistir en condiciones adversas; ya que el mayor número de especies de

este género se localiza en las provincias fitogeográficas con climas extremos, secos y cálidos (Jaques y Salazar, 2009).

CUADRO 4. Número de especies y taxas infraespecíficos de *Agavaceae* en México y el Mundo.

Géneros	Total		En México		Endemismo en México	
	Especies	Especies	Especies	Especies	Especies	Especies
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
<i>Agave</i> L.	166	200	125	150	NR	104
<i>Beschorneria</i>	7	7	7	7	NR	6
Kunth <i>Furcraea</i>	25	25	11	13	NR	8
Vent. <i>Hesperaloë</i>	5	5	5	5	NR	4
Englem. <i>Hesperoyucca</i>	1	1	1	1	NR	0
Baker <i>Manfreda</i>	28	29	27	28	NR	22
Salisb. <i>Polianthes</i>	13	15	13	15	NR	15
L. <i>Prochnyanthes</i>	1	2	1	2	NR	2
S. Watson <i>Yucca</i> L.	49	46	29	30	NR	16
TOTAL	295	330	219	251	NR	167

Cuadro modificado y corregido de: (1) Rocha et al. (2006) y (2) García-Mendoza (2004). NR, datos no reportados.



FIGURA 3. Diversidad de especies en el género *Agave* (Imagen tomada de Colunga *et al.*, 2007)

En el CUADRO 5, se muestra la distribución de las especies del género *Agave* en la República Mexicana, se puede observar que éstas han sido localizadas mayormente en los estados que tienen climas inclementes, ya sea por sus altas temperaturas o por sus extremas condiciones de secano, entre los que destacan Oaxaca con más de cincuenta especies; Durango, Puebla, Sonora y Jalisco, con más de cuarenta, y siete entidades, entre las que se encuentran Coahuila, San Luís Potosí, Nuevo León, Zacatecas, México y Tamaulipas, con más de 25 especies (García-Mendoza y Galván, 1995; García-Mendoza, 2002), aunque son más las especies de agave por entidad, ya que aún existen especies nativas no descritas.

CUADRO 5. Distribución de especies de *Agave* spp. en México.

Entidad	Especies	Entidad	Especies	Entidad	Especies
Oaxaca	52	Tamaulipas	26	Querétaro	14
Durango	43	Michoacán	24	Baja California	13
Puebla	43	Veracruz	24	Aguascalientes	11
Sonora	41	Guerrero	23	Distrito Federal	11
Jalisco	40	Chiapas	22	Yucatán	7
Chihuahua	35	Hidalgo	22	Colima	6
Coahuila	35	Nayarit	22	Tlaxcala	5
San Luís Potosí	34	Baja Calif. Sur	19	Campeche	3
Nuevo León	29	Guanajuato	19	Quintana Roo	2
Zacatecas	29	Sinaloa	18	Tabasco	2
Edo de México	27	Morelos	16		

Cuadro tomado de Jacques-Hernández y Salazar-Bravo, 2009.

Descripción botánica

Botánicamente, las especies de agave son plantas, hermafroditas y monocotiledóneas, perennes o multianuales, con hojas dispuestas en forma de roseta, de tallos (se conoce también como piña o corazón) generalmente acaule, que se encuentran en la base de las hojas, y su meristemo apical o punto de crecimiento se ubica en la parte más alta del tallo, justo debajo del cogollo de donde se desprenden las hojas nuevas (FIGURA 4). Las rosetas tienen un tamaño muy variable; puede ser muy pequeño (algunos centímetros) o muy grande (de dos metros a cuatro metros). Las hojas son fibrosas, suculentas o carnosas, si bien Gentry, en su excelente libro resume las típicas formas de las hojas de los agaves, coloquialmente conocidas como pencas, y las clasifica e

ilustra de acuerdo a la forma del limbo como: Linear, Lanceolada (en forma de lanza), Espatulada (en forma de espátula), Deltoide (en forma de delta), Oblonga (más larga que ancha) y Ovada (con la base y el ápice redondeado). Las hojas siempre tienen sólo una espina terminal, y aunque en algunas especies están ausentes, en la mayoría de ellas, las hojas tienen en su margen muchas espinas. Gentry (1982) considera que los caracteres de las hojas, como forma, tamaño, color y tipo de armadura, están muy diversificados y proveen los caracteres taxonómicos suficientes para diferenciar a los taxa.

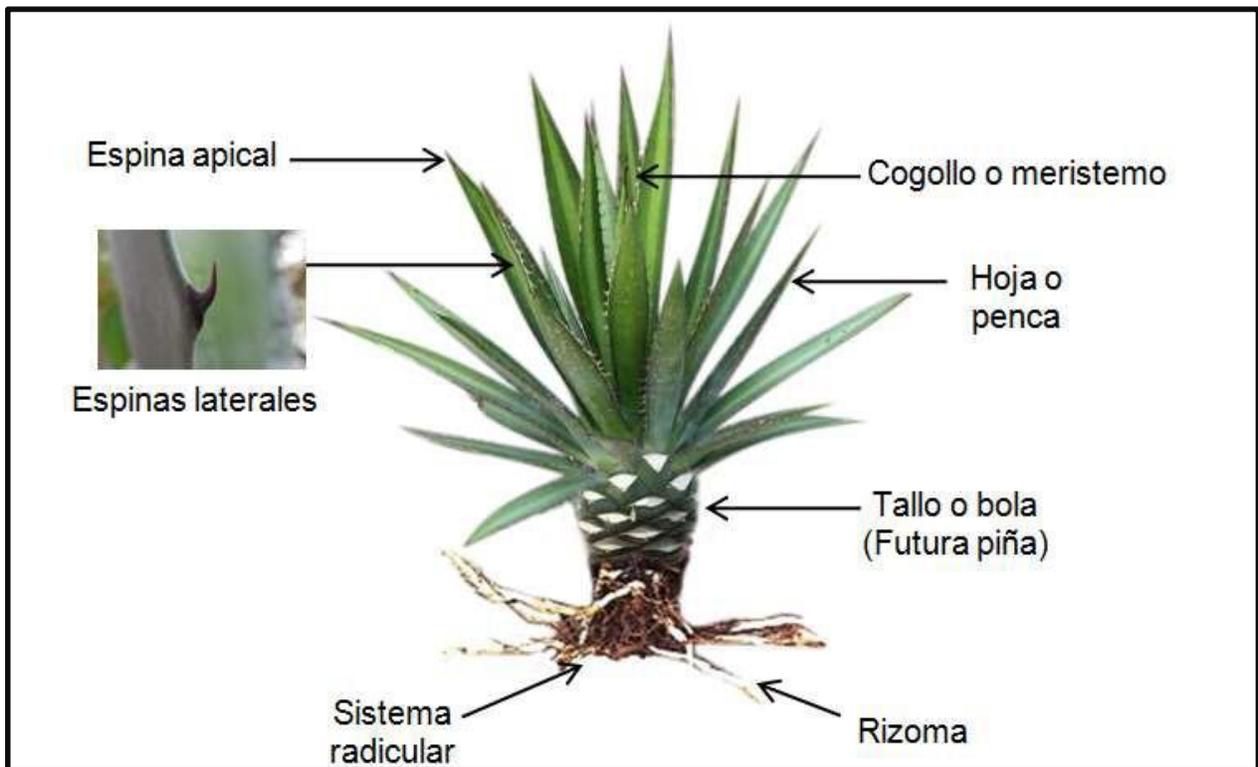


FIGURA 4. Anatomía del *Agave*.

Los agaves emiten una inflorescencia, conformada por un escapo alto, semileñoso (también conocido como quiole) y una terminal en forma en espiga o panoja donde se encuentran las flores (FIGURA 5). Al ser monocárpico, la florescencia acontece sólo una vez en su existencia, que, dependiendo de la especie, sucede entre los 5 y los 20 años. La forma de la inflorescencia es tan distintiva, que inclusive ha sido empleada para separar el género en dos subgéneros; *Littaea* con forma de espiga densa (espiciforme) o racimo (recemosa), y *Agave* con forma de panícula, donde las flores están en agregados umbelados o pedúnculos florales de tamaño regular y de longitud

decreciente. Ambos subgéneros están divididos en grupos (o series). Así, el subgénero *Littaea* está dividido en los grupos *Amolae*, *Choritepalae*, *Filiferae*, *Marginatae*, *Parviflorae*, *Polycephalae*, *Striatae* y *Urceolatae*; mientras el subgénero *Agave* está dividido en los grupos *Americanae*, *Campaniflorae*, *Crenatae*, *Deserticolae*, *Ditepalae*, *Hiemiflorae*, *Marmoratae*, *Parryanae*, *Rigidae*, *Salmianae*, *Sisalanae* y *Umbelliflorae*. (CUADRO 6).

CUADRO 6. Especies de *Agave*

Subgénero	Grupo	Especies	Ejemplos	
<i>Littaea</i>	Amolae	8	<i>A. attenuata</i> Salm., <i>A. pedunculifera</i> Trel., <i>A. vilmoriniana</i> Berger	
	Choritepalae	3	<i>A. Ellemeetiana</i> Jacobi	
	Filiferae	8	<i>A. filifera</i> Salm., <i>A. multifilifera</i> Gentry	
	Marginatae	21	<i>A. lechuguilla</i> Torr., <i>A. xylonacantha</i> Salm	
	Parviflorae	4	<i>A. parviflora</i> Torr. subsp. <i>parviflora</i> , <i>A. schottii</i> Engelm., <i>A. toumeyana</i> Trel	
	Polycephalae	5	<i>A. celsii</i> Hook	
	Striatae	3	<i>A. dasyliroides</i> Jacobi & Bouché, <i>A. stricta</i> Zucc.	
	Urceolatae	2	<i>A. uatahensis</i> var. <i>nevadensis</i> engelm.	
	<i>Agave</i>	Americanae	6	<i>A. americana</i> L., <i>A. lurida</i> Alton, <i>A. scabra</i> Salm-Dyck
		Campaniflorae	3	<i>A. promontorii</i> Trel.
Crenatae		6	<i>A. bovicornuta</i> Gentry	
Deserticolae		10	<i>A. cerulata</i> Trel., <i>A. deserti</i> Engelm., <i>A. sobria</i> Brandeg.	
Ditepalae		10	<i>A. murpheyi</i> F. Gibson, <i>A. palmeri</i> Engelm.	
Hiemiflorae		12	<i>A. atrovirens</i> Karw. ex Salm, <i>A. lagunae</i> Trel.	
Marmoratae		4	<i>A. zebra</i> Gentry	
Parryanae		6	<i>A. parryi</i> Engelm., <i>A. parryi</i> var. <i>huachucensis</i> (Baker) Little ex Benson, <i>A. patonii</i> Trel.	
Rigidae		12	<i>A. angustifolia</i> Haw., <i>A. furcroydes</i> Lem., <i>A. macroacantha</i> Zucc., <i>A. rhodacantha</i> Trel., <i>A. tequilana</i> Weber	
Salmianae		5	<i>A. salmiana</i> Otto ex Salm ssp. <i>crassispina</i> (Trel.) Gentry	
Sisalanae		6	<i>A. sisalana</i> Perrine, <i>A. weberi</i> Cels ex Poisson	
Umbelliflorae		2	<i>A. shawii</i> Engelm.	

Información tomada de Nobel, 1988.

El tamaño de las inflorescencias es también tan variable como especies existen, y generalmente guarda proporción con el tamaño de la roseta, y aunque se ha especificado que la división de los subgéneros es por la forma de la inflorescencia,

realmente en muchas especies del subgénero *Littaea* spp. y algunas del subgénero *A.* spp., tienen una forma intermedia definida taxonómicamente como recemo-paniculada (Gentry, 1982:36-39).

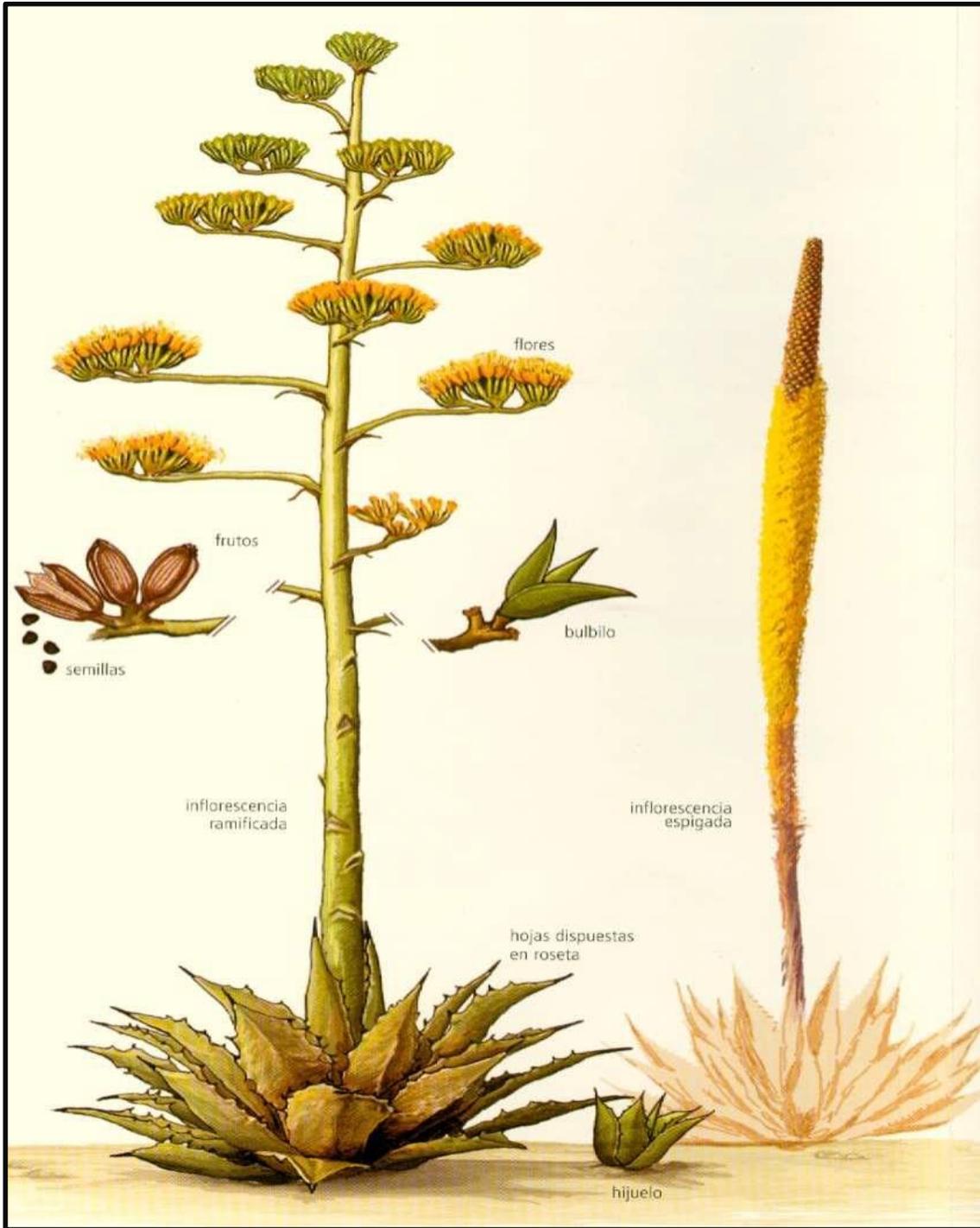


FIGURA 5. Ilustración de un agave típico del subgénero *Agave* (izquierda), mostrando la inflorescencia en forma de panícula y otro agave del subgénero *Littaea* (derecha) con su inflorescencia en forma de espiga (Tomado de CONABIO 2006).

Reproducción

Las especies de agave, en su mayoría, se pueden clasificar como plantas monocárpicas. Esto es, que acumulan energía a lo largo de su vida no reproductiva. Esta energía es acumulada en forma de polisacáridos conocidos como fructanos, y es consumida con una extraordinaria rapidez en el breve tiempo que dura el proceso para perpetuar su especie y enriquecer su diversidad genética a través de la reproducción sexual (Good-Avila *et al.*, 2006). Este gran cúmulo de energía es empleado como una prerrogativa de sobrevivencia por las especies de este género, las cuales, al iniciar su reproducción sexual, efectúan una rápida elongación del meristemo apical, desplegado como escapo floral o inflorescencia (quiote), que sobrepasa la altura del resto de las especies vegetales asociadas ellas, con las que coexiste. Conforme alcanza su máxima cota, emergen sus flores directamente del escapo o de los múltiples pedúnculos florales, que través de hidrólisis enzimática transforman al polisacárido de reserva en los azúcares simples que conforman el néctar, el cual atrae a un amplio número de especies de insectos, aves y mamíferos nectarívoros (murciélagos) para que lleven a cabo la polinización, no obstante que ello signifique el fin de su vida, pues este enorme esfuerzo reproductivo les causa la muerte (semelparidad).

La mayoría de las especies del género *Agave* son surculosas. Esto implica que cuentan con dos mecanismos biológicos de reproducción: sexual y asexual. En la reproducción sexual se realiza un intercambio genético donde el resultado es la formación de semillas. De éstas se generan nuevas plantas individuales con características de variación genética o segregación de las plantas hijas (FIGURA 5). Para el establecimiento comercial de plantaciones de maguey, este método de reproducción, mediante la germinación de las semillas es altamente recomendado, cabe mencionar que depende en mucho de la fenología floral, de la polinización y fructificación que se traducen en la capacidad de producción de semillas, así como de la capacidad de la germinación y de la sobrevivencia de las plántulas, aspectos que son característicos de las especies y que requieren de un adecuado conocimiento, como en el caso particular del maguey mezcalero (*A. cupreata*) de Guerrero, donde ya están haciendo este tipo de reproducción por semillas (Illsley Granich, 2004).

En la reproducción asexual o reproducción vegetativa, los individuos generados son técnicamente clones, ya que genéticamente son idénticos a la planta madre. Son varios los mecanismos de reproducción vegetativa, pero los más importantes en el género *Agave* son la propagación por súrculos o vástagos (mejor conocidos como hijuelos de rizoma) y la formación de bulbilos apomícticos (hijuelos de apomixis), hijuelos que son producidos en lugar de los frutos, cuando la polinización no se realiza. Estos métodos de reproducción son los más empleados de manera común para propagar especies de agave con el fin establecer parcelas con algún uso agroindustrial, como la fibra (henequén), bebidas fermentadas (pulque) y bebidas fermentadas y destiladas (mezcales y tequilas). La reproducción por apomixis da origen a nuevas plántulas de maguey conocidas también como bulbilos apomícticos, que emergen a la respuesta a la no fecundación de las flores. Las células femeninas reproductivas contienen todos los genes necesarios para formar una planta adulta, y durante la reproducción apomíctica no se dividen por meiosis, evitando así perder la mitad de sus cromosomas, así que las plántulas formadas por este mecanismo reproductivo tienen la misma información genética que la planta madre.

Los tres mecanismos naturales de reproducción se pueden manifestar incluso en una planta al mismo tiempo. Un mecanismo artificial para reproducir plantas es el cultivo de tejidos vegetales *in vitro*. Ésta es una técnica de producción de plantas en condiciones asépticas, que, empleando medios de cultivo con concentraciones de nutrientes y hormonas adecuados y variables físicas, a partir de una pequeña fracción de diversos tipos de tejido (incluyendo semillas), permite promover la regeneración completa de la planta, así como su micropropagación o multiplicación masiva *in vitro* en cientos a miles de plantas equivalentes genéticamente o clones, que está fundamentada en la teoría de la totipotencialidad celular, que postula que las células poseen toda la información genética necesaria para regenerarse, son autosuficientes y que en principio son capaces de regenerar una planta completa. La micropropagación se practica con éxito en especies hortícolas, ornamentales y leñosas, ya que esta metodología tiene importantes ventajas en relación con los mecanismos naturales y artificiales de propagación.

La investigación sobre cultivo de tejidos y micropropagación de agave data de principios de la década de los ochenta del siglo pasado, y las primeras especies de agave que se emplearon en estudios de cultivo de tejido fueron; *A. sisalana* y *A. fourcroydes* (ambas fibreras), *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (mezcalera y tequilera) y *A. atrovirens* (pulquera); sin embargo, el valor económico de las cadenas productivas que hacen uso de estas plantas, por esas fechas era bajo.

Metabolismo y carbohidratos

La desertificación de Norteamérica fue un factor crítico en la radiación de las especies del género *Agave*, lo que puede en gran medida explicar su afinidad por ecosistemas extremos, concluyendo que la elevada diversificación del género y su habilidad de subsistencia se debe a las adaptaciones manifiestas de manera clara en su morfología, su amplia y superficial raíz y su armadura, que les permite protegerse de herbívoros mayores; su fisiología (fotosíntesis y succulencia de sus hojas); su biología reproductiva (sexual y asexual) e inclusive su ecología. La succulencia de sus hojas se debe a que éstas contienen células grandes de paredes delgadas, con la capacidad de almacenar agua. Las hojas actúan como canales para concentrar la escasa agua en su base, de forma que facilita que las raíces la absorban. Las plantas fijan un máximo de CO₂ en la noche (cuando el potencial hídrico de pérdida es bajo); esto les permite respirar e intercambiar con el ambiente oxígeno, bióxido de carbono y vapor de agua. Este proceso ocurre en la noche, en lugar de realizarlo en el día, como la mayoría de las plantas. La importancia ecológica de la fijación nocturna del CO₂ radica en su contribución a la sobrevivencia de las mismas plantas, al proveer un mecanismo de recirculación interna de CO₂ en condiciones de sequía severa, que evita la inhibición del aparato fotosintético, cuando el cierre de los estomas impide la absorción del CO₂ externo. Además, la vía MAC (metabolismo ácido de las crasuláceas) contribuye a la producción de materia orgánica y crecimiento de la planta (Granados, 1993).

Ha sido de gran interés el conocimiento del tipo de azúcares o carbohidratos que presentan los magueyes hoy en día, ya que desempeñan una función muy relevante en la fisiología de las plantas, principalmente en su resistencia a condiciones adversas tanto al calor como al frío, además de estrés hídrico y patógeno. La inulina o fructanos

de maguey han sido clasificados en dos tipos, que se basa dependiendo de la posición de la glucosa en la molécula de inulina (FIGURA 6): externa (graminanos) e interna (agavinas). Al igual que las inulinas de achicoria, estos azúcares en el maguey son altamente solubles y de fácil extracción, por lo que podrían ser utilizados como prebióticos, edulcorantes, sustitutos de grasa, espesantes, por mencionar solo algunas aplicaciones. Se sabe que las agavinas, pueden contener diferentes tamaños o grados de polimerización (DP) y ramificaciones dependiendo de la edad y la especie; por lo que se desconoce en la mayoría de los magueyes su estructura química. Sin embargo existe la necesidad de investigar de manera más específica y profunda cada uno de estos aspectos, al igual que su posible rol en la salud humana comparativamente con la inulina de achicoria (Mancilla-Margalli y López 2006).

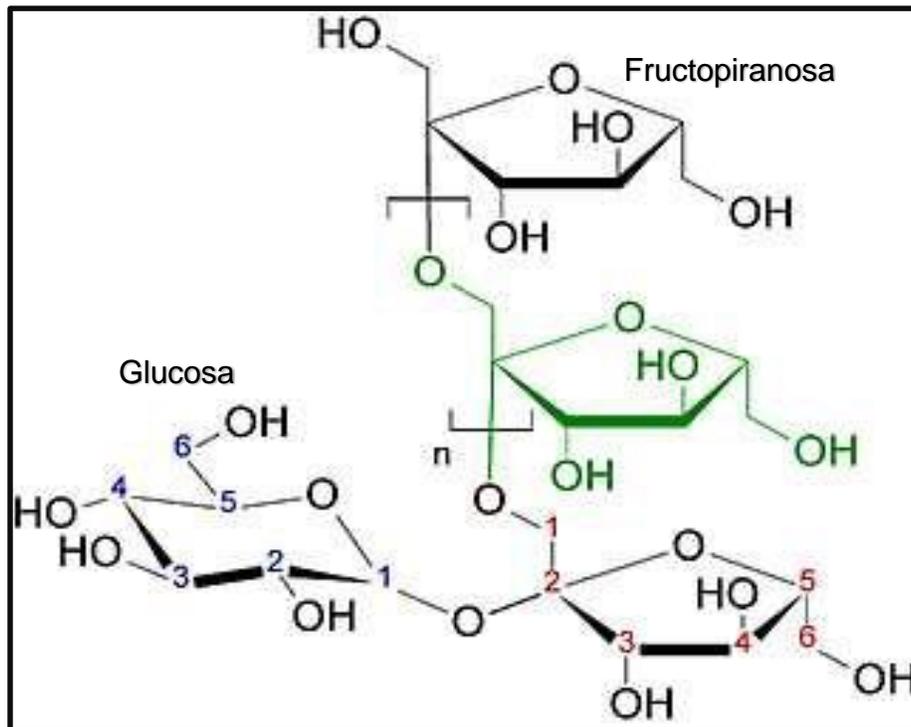


FIGURA 6. Estructura química general de una molécula de inulina.

Usos y denominación de origen

La infinidad de usos que de esta planta se obtienen, es de llamar la atención para implementar planes y acciones inmediatas para su conservación y aprovechamiento integral, que permitan un nivel de bienestar a las familias que habitan en las regiones con mayores índices de marginalidad en México (CUADRO 7).

CUADRO 7. Usos y productos que se pueden obtener del *Agave* spp.

Destino	Partes de la planta	Destino	Partes de la planta	Destino	Partes de la planta
<u>Bebidas:</u>		<u>Comida y condimento:</u>		<u>Uso doméstico general:</u>	
Aguamiel	Piña del maguey	Gusanos blancos	Pencas	Jabón para ropa	Raíces y pencas
Jugo dulce	Quiote	Gusanos rojos (chinicuiles)	Raíces	Cepillos para lavar	Raíces
Jarabe	Aguamiel concentrada	Sal de gusano	Piña	Cepillos y escobas	Raíces
Pulque	Aguamiel fermentada	Condimentos para barbacoa	Pulque	Canastas	Raíces
Miel	Aguamiel concentrada	Guiso de gualumbo	Flores	Clavos	Espinas
Vinagre	Aguamiel fermentada	Postre	Quiote asado, piña horneada	Aguja con hilo incluido	Púa terminal con fibra
Aguardiente	Pulque destilado	Azúcar	Aguamiel concentrada	Recipientes para comida	Pencas
Mezcales	Piña de los agaves mezcaleros	Saborizante de tamales y pan	Aguamiel y piña	Bateas para masa y otros alimentos	Pencas
Tequila	Piña del agave tequilero	Mixiotes	Epidermis del meyolote	Recipiente para agua	Piña
Atoles	Aguamiel	Guiso de huevito	Corazón del meyolote	Material para cubrir la barbacoa de borrego	Pencas
		Levadura	Residuos de pulque	Tapones para castañas y barriles	Pencas
<u>Medicinal:</u>	Diversas partes	Condimento	Pulque	Estropajos y estopa	Pencas
		Tortillas	Quiote	Escobetas	Pencas
		Mezcal dulce	Penca asada u horneada	Combustible	Pencas y piñas secas
		Barbacoa	Hoja verde	Bancos para sentarse	Mezontete

Continuación CUADRO 7. Usos y productos que se pueden obtener del *Agave* spp.

Destino	Partes de la planta	Destino	Partes de la planta	Destino	Partes de la planta
<u>Tejido y vestuario:</u>		<u>Ornato:</u>		<u>Agropecuario:</u>	
Hilos y tejidos Costales, bolsas y mantas Tapetes, lazos y morrales Sandalias y	Fibra de la penca Pencas Pencas	Adornos de navidad Base para adornos de pluma y oro Fibras para arcos florales	Maguey completo Pencas Pencas	Deslindar terrenos Formar y proteger terrazas Cercas protectoras	Planta completa Planta completa Planta completa Cenizas de pencas y
huipiles Cinchos y hamacas Petates y petacas para tortillas Sombreros y ayates gruesos para carga Ayates delgados para arcos	Pencas Pencas Pencas	Adornos corporales Juguetes para niños Sonajas Tocados para mujeres	Semillas Semillas Semillas Fibras del quiote	Abono Protección contra la erosión Alimento para aves <u>Construcción:</u> Vigas	piñas secas Planta completa Residuos de pulque Quiote seco
Cuerdas para Instrumentos musicales y redes de pesca	Pencas Pencas			Adobes	Bagazo de la piña

Información tomada y modificada de Granados, 1993.

Se han descrito más de 100 usos y productos tradicionales obtenidos del maguey, siendo la producción de fibras, forraje, materiales de construcción, alimentos (miel de maguey) y producción de bebidas (aguamiel, bacanora, mezcal, pulque y tequila), las formas de empleo que más destacan (Granados, 1993).

Por otra parte, en México tenemos una inmensa diversidad de productos cuya calidad la definen su biología, geografía e historia. Es por ello, que la denominación de origen permite designar y hacer el reconocimiento de que un producto es originario de una región geográfica del país y que sus características y calidad obedecen exclusivamente al medio geográfico, a los factores y recursos naturales y humanos (Art. 156, Ley de la Propiedad Industrial). Actualmente existe la denominación de origen en México para los siguientes productos (FIGURA 7): 1) La piedra ámbar de Chiapas, 2) las cajitas de olinalá en Guerrero, 3) la talavera en Puebla y Tlaxcala, 4) el café de Chiapas, 5) el café de Veracruz, 6) el café «pluma» de Oaxaca, 7) el chile habanero de Yucatán, 8) el mango ataulfo de Chiapas, 9) la vainilla de Papantla en Veracruz, 10) el agua mineral en Tehuacán Puebla. Así como para las bebidas destiladas o espirituosas de: 11) bacanora de Sonora, 12) charanda de Michoacán, 13) sotol de Chihuahua, Coahuila y Durango, 14) tequila de Guanajuato, Jalisco, Nayarit, Michoacán y Tamaulipas; y 15) mezcal de Durango, Guanajuato, Guerrero, Michoacán, Oaxaca, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas (IMPI, 2013). Cabe hacer mención que casi la mitad de los productos con denominación de origen, son bebidas espirituosas y cuatro de ellas provienen de agaváceas (bacanora, mezcal, sotol y tequila). El mezcal a diferencia de las demás bebidas con denominación de origen, se puede elaborar de varias especies diferentes de agave, siempre y cuando, no se utilice el mismo material para producir otras bebidas diferentes dentro de los estados con denominación de origen. Por lo que hay necesidad de profundizar y sistematizar los conocimientos sobre la riqueza de las variantes múltiples de las plantas de agave y sus productos derivados de ellos; como ejemplo la gran diversidad de mezcales que existen en México; por su consumo generalizado, ya que existe la creencia popular de que el mezcal produce en el organismo un efecto similar al de un tónico, pues además de su inmediato efecto afrodisíaco, aseguran que el hábito de consumirlo, con moderación, prolonga la vida sexual del individuo y por ende, la vida misma.



FIGURA 7. Productos que cuentan con denominación de origen en México.

Los agaves mezcaleros del altiplano Potosino-Zacatecano

En San Luis Potosí, el maguey verde (*A. salmiana* ssp. *crassispina*) y la producción de mezcal, se encuentra distribuido en los municipios de Ahualulco, Charcas, Matehuala, Mexquitic, Villa de Reyes y Venado; donde hay diversidad de estos agaves (FIGURA 8). Mientras que en Zacatecas, existen dos regiones productoras de agave y mezcal (FIGURA 9), una en el sur conocida como región de los cañones, donde se produce solo de *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul*, de las cuales se encuentran cultivadas 5,300 hectáreas principalmente en los municipios de Jalpa, Juchipila, Trinidad García de la Cadena y Téul de González Ortega. Y otra en el sureste, donde existen alrededor de 59,000 hectáreas de poblaciones naturales de maguey verde (*A. salmiana* ssp.

crassispina) y que comprenden los municipios de Loreto, Ojocaliente, Pinos, Noria de Ángeles, Villa Hidalgo, Villa García y Villa González.

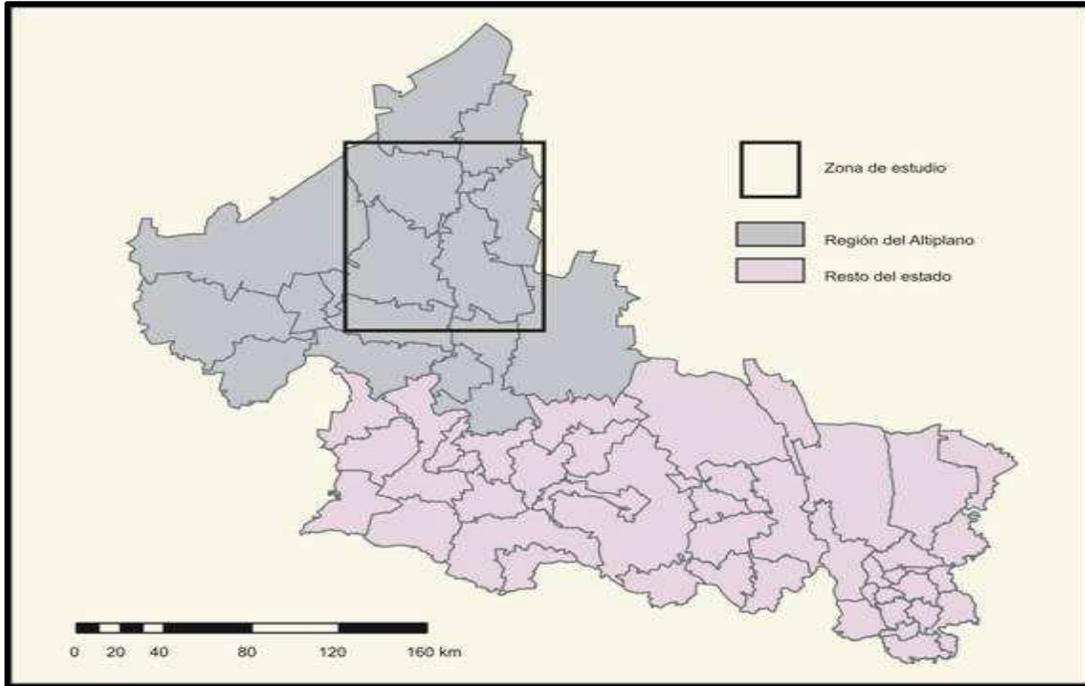


FIGURA 8. Regiones productoras de maguey y mezcal en San Luis Potosí.

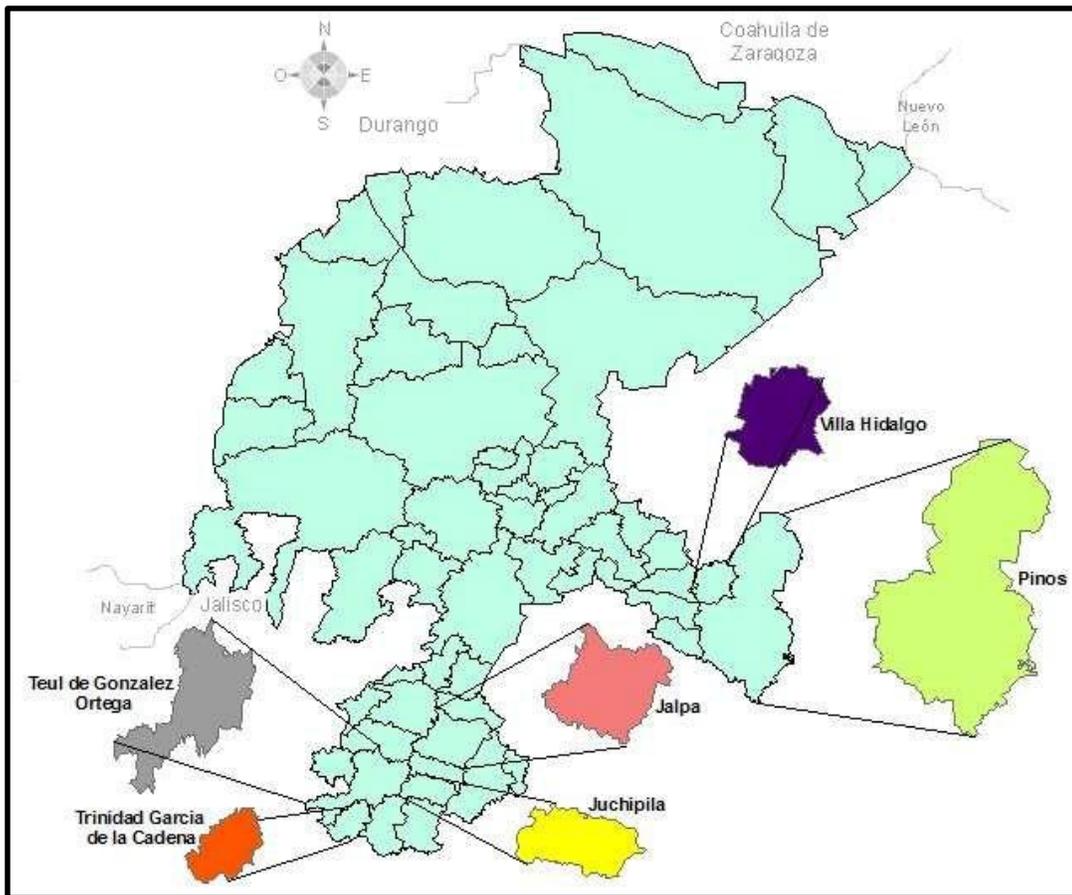


FIGURA 9. Principales regiones productoras de agave y mezcal en Zacatecas.

Existen diferencias en cuanto al proceso de elaboración del mezcal en el altiplano Potosino–Zacatecano con respecto a la región sur del estado de Zacatecas. Siendo de manera rústica o artesanal en el altiplano, mientras que el proceso de producción de mezcal, es más eficiente para la región sur, ya que se produce de manera más tecnificada o industrial. Si por algo se puede caracterizar la industria mezcalera del altiplano Potosino-Zacatecano en su conjunto, es por su tradición y antigüedad. La primera hacienda mezcalera data de 1621, desde esa época hasta el presente, la industria se ha ido actualizando y ha ido incorporando procesos productivos de control e higiene que han venido a mejorar su calidad y sabores.

El *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck ssp. *crassispina* (Trel.) Gentry.

De todos los agaves, en sus diferentes variantes, ha sido sin duda la especie más importante en la historia de México; en particular, por el aprovechamiento del aguamiel y el pulque, aunque en el altiplano Potosino–Zacatecano, ocupa el primer lugar en importancia por la producción de mezcal (Iñiguez *et al.*, 2000).

Las poblaciones de *A. salmiana* ssp. *crassispina* en el altiplano Potosino-Zacatecano crecen en suelos de origen ígneo, de poca profundidad y en una región donde las precipitaciones son menores a los 450 mm y con temperaturas extremas lo cual dificulta su propagación; son extremadamente tolerantes a las sequías prolongadas y sobreviven a temperaturas que en ocasiones exceden los 55°C (Reyes, 1987). La importancia de esta especie radica en que soporta heladas de hasta –14°C, así como sequías prolongadas y además de que es empleado como forraje para ganado; así como para la elaboración de aguamiel, pulque y mezcal, principalmente (Gómez y Hernández, 2000).

El *A. salmiana* ssp. *crassispina*, es una planta semi-domesticada muy variable en porte, pero en términos generales presenta una roseta de 80 a 120 cm de alto en estado maduro (FIGURA 10). Tiene, relativamente pocas hojas, las cuales son anchamente lanceoladas, cóncavas de 60 a 90 cm de largo por 16 a 25 cm de ancho, rígidas, acuminadas con una espina subulada de 5 a 9 cm de largo, de verde a grisáceas (Aguirre, 2001).



FIGURA 10. *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck. ssp. *crassispina* (Trel.) Gentry.

Estos magueyes mezcaleros, se encuentran a su vez asociados con algunas especies del estrato arbustivo que habitan en el altiplano Potosino–Zacatecano, como: *Jatropha dioica*, *Opuntia leucotricha*, *Opuntia robusta*, *Larrea divaricata*, *Mimosa biuncifera*, *Flouencia cernua*, *Opuntia imbricata*, *Acacia vernicosa*, *Acacia shaffineri*, *Dalea bicolor*, *Mammillaria lasiacantha*, *Opuntia leptocaulis*, *Lowania sp*, *Opuntia rastrera*, *Opuntia microdasys*, *Buddleia scorpioides*, *Berberis trifoliata*, *Opuntia streptacantha*, *Opuntia cantabrigensis*, *Microhamnus ericoides*, *Echinocereus stramineus*, *Ferocactus histrix*, *Ferocactus latispinus* y *Yuca filifera*. Las cuales pertenecen a la familia: *Amarillidaceae*, *Euphorbiaceae*, *Gramineae*, *Compositae*, *Cactaceae*, *Fabaceae*, *Mimosaceae* y *Agavaceae*.

5. Literatura citada

AGUIRRE, R. J., CHARCAS, S. Y FLORES J. L. 2001. El Maguey Mezcalero Potosino. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología, Gobierno del Estado de San Luis Potosí. Instituto de Investigaciones de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S.L.P, México. 87 pp.

COMERCAM (Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal) 2013. Informe anual. <http://www.crm.org.mx/>.

CONABIO: 2006. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Primera edición del Póster "Agave, mezcales y diversidad". Página en red: <http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/mezcales/mMapa.html>; Sistema Integrado de Información Taxonómica (SIIT), Datos en línea <http://siit.conabio.gob.mx/> (consultada 15 enero, 2014).

CRONQUIST, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Book: New York Botanical Garden. Columbia University Press.

CRONQUIST, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants. Book: New York Botanical Garden. 2nd edition. Columbia University Press.

DAHLGREN, R.M.T., CLIFFORD H.T. AND YEO, P.F. 1985. *The families of monocotyledons. Structure, Evolution and Taxonomy*. Berlin: Springer Verlag.

EGUIARTE L. E. 1995. *Hutchinson (Agavales) vs. Huber y Dahlgren: análisis moleculares sobre la filogenia y evolución de la familia Agavaceae sensu Hutchinson dentro de la monocotiledóneas*. Boletín de la Sociedad Botánica de México 56:45-56.

EGUIARTE, L.E., SOUZA, V.S. Y SILVA-MONTELLANO A. 2000. Evolución de la familia Agavaceae: Filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. Bol. Soc. Bot. México 66:131-150.

GARCÍA-MENDOZA A., Y GALVÁN R. 1995. *Riqueza de las familias Agavaceae y Nolinaceae en México*. Boletín de la Sociedad Botánica de México 56:7-24.

GARCÍA-MENDOZA, A.J. 2002. Distribution of Agave (Agavaceae) in Mexico. Cactus and Succulent Journal 74 (4): 177–186.

GARCÍA-MENDOZA, A.J. 2004. Agaváceas. En: A.J. García-Mendoza, M.J. Ordóñez y M. Briones-Salas (eds.), Biodiversidad de Oaxaca. Instituto de Biología, UNAM-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Fund, México, pp. 159-169.

GARRIDO, L., Y RODRÍGUEZ, B. 2004. Avances de la Investigación en el Agave Tequilero. Consejo Regulador del Tequila A. C.

GENTRY, H. S. 1982. Agaves of Continental North America. Library of Congress Catalog in Publication Data, The University of Arizona Press, Tucson, Arizona. 670 pp.

GOOD-AVILA, S.V., SOUZA, V., BRANDON S. GAUT, B.S., AND EGUIARTE, L.E. 2006. Timing and rate of speciation in Agave (Agavaceae). PNAS, 103: 9124 - 9129.

GÓMEZ H. C., HERNÁNDEZ H., 2000. Diversity, geographical distributions, and conservation of Cactaceae in the Mier y Noriega region, México. Biodiversity and conservation. 9(3): 403-418.

GÓMEZ-POMPA, M. 1963. El género Agave: Cactaceas y suculentas Mexicanas, 8(1):3-28, México.

GRANADOS, S. D. 1993. *Los Agaves en México*. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.

HUTCHINSON, J. 1934. *The families of flowering plants*. Vol. II. *Monocotyledons*. London: The Macmillan Co.

JAQUES-HERNÁNDEZ C. Y SALAZAR-BRAVO A. 2009. Caracterización y usos de las especies de agave. Revista Ciencia Conocimiento y Tecnología. 89: 91-100.

IILSLEY GRANICH, C. 2004. Manejo campesino sustentable del maguey papalote de Chilapa. Informe Técnico. Proyecto CONABIO BS002, Diciembre. México, D.F., 54 p.

IÑIGUEZ C.G., DÍAZ T. R., SANJUAN D.R., ANZALDO H.J., ROWELL R.M., 2000. Utilization of by-products from the tequila industry. Part 2: potential value of Agave tequilana Weber azul leaves. Bioresource Technology, pág. 102-108.

MANCILLA-MARGALLI, N.A. AND LÓPEZ, M.G. (2006) Non-structural Carbohydrates and Fructan Structure Patterns from *Agave* and *Dasyllirion* species. *J. Agric. Food Chem.* 54, 7832.

MARTÍNEZ S. M., VALDEZ C.R., BELTRÁN M. L. F., MURILLO A.B., TROYO D. E. AND ORTEGA R. A. 2005. Distribution and Density of Maguey Plants in the Arid Zacatecas Plateau, México. *Journal of Arid Environments*. 61(4): 525-534.

MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, A., PASTRANA-CHÁVEZ, J., SÁNCHEZ-VILLARREAL, A., LARA-REYNA, J., HERRERA-ESTRELLA, L., HERRERA-ESTRELLA, A., MARTÍNEZ DE LA VEGA, O., SIMPSON-WILLIAMSON, J. 2007. Genómica de agave tequilana: Identificación de genes útiles para la industria tequilera y el desarrollo de usos alternativos del agave. Memoria II Reunión Nacional de Innovación Agrícola y Forestal, Guadalajara, Jal. Sep. 2007. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México, D.F. ISBN: 978-607-425-027-5. (Memorias de congreso).

NOBEL PARK S. 1988. *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge University Press, Cambridge.

NOM-070-SCFI-1994. Norma Oficial Mexicana, Bebidas Alcohólicas – Mezcal - Especificaciones. SECOFI., 1997. Diario Oficial de la Federación 12 de Junio de 1997.

- ORTEGA-PACZKA, A. R.; MARTÍNEZ-ALFARO, M. A.; RINCÓN-ENRÍQUEZ, G. 1998. Principales cultivos de México y sus regiones mundiales de mayor diversidad. XVII Congreso de Fitogenética. Memoria Sociedad Mexicana de Fitogenética. Acapulco, México. p. 321
- REYES A.J., 1987. Evaluación de plantaciones de maguey mezcalero (*Agave salmiana* Otto ex Salm., Spp. *crassispina* (Trel) Gentry) en el municipio de Pinos, Zacatecas, México. Tesis Profesional. Escuela de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich. 87.
- ROCHA M., GOOD-ÁVILA, S., MOLINA-FREANER, F., ARITA, H., CASTILLO, A., GARCÍA-MENDOZA, A., SILVA-MONTELLANO, A., GAUT, B., SOUZA, V. Y L. EGUIARTE. 2006. Pollination biology and adaptive radiation of Agavaceae, with special emphasis in the genus *Agave*. *Aliso* 22:327-342.
- RZEDOWSKI, J. 1993. Diversity and origins of the phanerogamic flora of Mexico. In: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, and J. Fa (eds.). *Biological Diversity of Mexico: Origins and Distribution*. Oxford University Press. pp.129-144
- SÁNCHEZ, E., HEREDIA, N AND GARCÍA, S. 2005. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of *Agave* species. *International Journal of Food Microbiology*. 98:271– 279.
- SOLANO C. E. 1998. *Sistemática del género Polianthes L. (Agavaceae)*. Informe Técnico. Proyecto CONABIO H230, Diciembre 1998. México, D.F., 73 p.
- VALENZUELA-ZAPATA, A.G. 2003. *El agave tequilero: Cultivo e industria de México*. 3ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa. México. 215 p.

CAPÍTULO 1. CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y MORFOLÓGICA DE *Agave spp.*

1.0. Resumen

En la región centro norte, el maguey mezcalero (*A. salmiana*), ha sido una de las especies más valiosas en la historia de México, ya que han sido un componente cultural, político y socioeconómico importante, por la gran variedad de aplicaciones y usos típicos (aguamiel, pulque, destilados, etc.) que se obtienen de él, desde la época prehispánica; así mismo otras especies como: *A. americana*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul*, etc. han cobrado recién importancia por su uso como planta de ornato, producción de bebidas espirituosas, jarabes, inulinas, etc. El identificar y caracterizar variantes biológicas de las especies con atributos óptimos de mayor concentración de azúcares, mayor tamaño de la planta, menor edad de maduración, etc., son de primordial interés para su empleo en la elaboración de diversos productos y bebidas tradicionales como el bacanora, mezcal y tequila. Para tal fin, la evaluación morfológica de especies y lo relacionado a su bioquímica; contribuyen a la identificación y selección de variantes biológicas con ciertas características deseadas que representan un valor económico para el productor. Ya que se tendría la posibilidad de preservar y contar con variantes de interés que aseguren la homogeneidad vegetal; así como una diversidad de bebidas con características organolépticas únicas y reproducibles, que deseen autentificar su procedencia y calidad. En el presente capítulo, se analiza la variación bioquímica y morfológica de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de cuatro localidades productoras de maguey y mezcal de San Luis Potosí y Zacatecas; así como también de *A. americana* var. *marginata* (uso como ornato), *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* (uso para mezcal y tequila) y *Agave* sp. (uso para aguamiel y pulque) de otras localidades de Zacatecas. Los datos obtenidos de la determinación de azúcares y la descripción de los caracteres morfológicos, permitió la obtención de cladogramas descriptivos y el análisis de componentes principales para todos los grupos de agave.

1.1. Introducción

“Maguey” es una palabra de origen antillano que denominaba al aloe o sábila y que se empleó para nombrar a todas las plantas parecidas. En náhuatl el maguey es llamado “metl” o “mexcalmetl” y el nombre científico de agave (de “*agavus*” que significa ilustre o admirable) fue descrito por el naturalista sueco Carlos Linneo en 1753 (Stearn, 1957). Surgieron alrededor de hace 10 millones de años en América y se distribuyen desde Canadá hasta Sudamérica (Gentry, 1982; Nobel, 1998); comprendiendo alrededor de 200 especies (Narváez-Zapata y Sánchez-Teyer, 2009) de las cuales 186 se encuentran en México (García, 1995 y 2007), por lo cual se le considera como el centro de origen y dispersión biológica (Eguiarte *et al.*, 2000). Así mismo, han formado parte de la vida de los habitantes mesoamericanos desde tiempos ancestrales (9000- 10000 años) y desde el punto de vista de grupos étnicos como los huicholes, el maguey fue la primera planta creada por su Dios. La primera vez que se propuso la familia *Agavaceae* fue en 1841 por Stephan Ladislaus Endlicher tomando como referencia de nomenclatura al género *Agave*. Actualmente algunos sistemas de clasificación modernos como el APG III y el APWeb incluyen a las *Agavaceae* en la familia *Asparagaceae* englobándolo en la subfamilia *Agavoideae*. De todos los magueyes, el *A. salmiana* ssp. *crassipina*, nombrado también entre los productores como maguey verde, manso o cimarrón en sus diferentes variantes populares (blanco, chino y liso), ha sido sin duda la especie más importante en la historia y cultura de México, por su variedad de usos y obtención de productos tradicionales como el aguamiel y pulque desde épocas prehispánicas. Actualmente en Hidalgo y el Estado de México se extraen las fibras y la cutícula (mixiote) de sus hojas; y sirve como lindero de terrenos y cercas para delimitar huertas. En el centro de México, los botones florales son comestibles. En el altiplano Potosino-Zacatecano, se emplea para la producción de mezcal que data desde principios del siglo XVI en haciendas que se establecieron en la región del altiplano (Aguirre-Rivera *et al.*, 2001). En el noreste de Puebla, el aguamiel extraído del “maguey blanco” (formas del *A. salmiana*), se fermenta y destila en alambiques tradicionales para la producción de mezcal. También se ha documentado su uso como

fuelle de forraje, fibras y componentes de construcciones rurales (Granados, 1993; Martínez-Salvador *et al.*, 2005), y en la actualidad el cultivo de agaves tiene un impacto socioeconómico, ya que genera empleo rural por su valor económico en el mercado de bebidas alcohólicas, jarabes e inulinas, agavinas y saponinas de uso industrial, además de ser una especie para acciones de reforestación empleando variantes biológicas tolerantes a temperaturas extremas (55°C hasta -14°C) y sequías prolongadas (Nobel, 1998). El *A. salmiana* es una especie endémica de México, que crece como planta silvestre en los estados de: Durango, Hidalgo, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas (FIGURA 11). Y como planta cultivada su distribución es más amplia, desde Coahuila y Nuevo León hasta Chiapas.



FIGURA 11. Distribución del *Agave salmiana* subsp. *crassispina* en México (Imagen tomada de CONABIO, 2006).

Es una especie polimórfica con numerosas formas cultivadas y que han sido seleccionadas y manejadas por el hombre por su explotación durante miles de años. La variación intraespecífica observada incluye variación en el tamaño de la planta, color, número y forma de las hojas, disposición de las mismas en el espacio, forma del margen, tamaño de los dientes y tamaño de la espina

terminal, sin embargo, Gentry (1982) en la sección Salmianae, reconoció los taxones de *A. macroculmis*, *A. mapisaga*, *A. mapisaga* var. *lisa*, *A. salmiana* var. *salmiana*, *A. salmiana* var. *angustifolia*, *A. salmiana* var. *ferox*, *A. salmiana* ssp. *crassispina* y *A. tecta*; aunque reconoce que se requieren más estudios morfológicos y moleculares de la especie en toda su área de distribución, para proponer una posible división infraespecífica. Las plantas de este género se caracterizan por tener raíces duramente fibrosas, radiadas y extendidas superficialmente; tallos gruesos y muy cortos, usualmente más cortos que la yema terminal, hojas largas, generalmente suculentas, protegidas o desprotegidas, con dientes sobre los márgenes y con una espina aguda muy dura; sus hojas se encuentran dispuestas en una roseta suculenta que alcanzan alturas de hasta 1.8 m, las cuales pueden llegar a pesar en fresco hasta 250 kg, su tallo es fibroso, corto y grueso y al eliminar la yema floral este engrosa aún más y junto con las bases de las hojas forman un órgano de almacenamiento de carbohidratos llamado piña; por su parte las raíces de la planta son abundantes y fibrosas, de color rojo oscuro, la mayor parte de estas se distribuyen en un radio similar al de la roseta de la planta y dentro de los primeros treinta centímetros de profundidad (Martínez y Meyer 1985; Tello, 1988; Martínez, 1988).

El ciclo biológico de la especie es de entre 8 y 20 años, la floración se presenta al final del ciclo de vida, después del largo periodo de crecimiento vegetativo. La planta se propaga mediante la producción de vástagos y es capaz de producir también abundante semilla (Gentry, 1982); al respecto, Martínez y Meyer (1985) mencionan que la propagación vegetativa mediante la producción de vástagos que emergen al final de un rizoma es determinante en el mantenimiento de las poblaciones de maguey verde en el altiplano Potosino-Zacatecano, ya que constituye el único medio seguro de producción de nuevas plantas, ante la escasa o nula producción de semilla. La especie *A. salmiana* está adaptada a diferentes hábitat, incluyendo cerros y laderas inclinadas y se desarrolla tanto a nivel individual como poblacional, sobre suelos con textura medias y con un pH de neutro a ligeramente ácido (Martínez y Meyer 1985). Se

localizan en comunidades de matorral crasicauale, matorral rosetófilo, matorral micrófilo y pastizales. Los tipos de vegetación en los que se desarrolla la especie *A. salmiana* ssp. *crassispina* son: Matorral crasirosulifolio espinoso (Comunidad vegetal en la que más del 50% de los individuos son de tallos crasos ó fibrosos y con hojas dispuestas en roseta, tal es el caso de *Agave* spp. y las Cactáceas). Del área de distribución de esta especie, esta comunidad vegetal está compuesta principalmente por especies del género *Opuntia* (nopales) y maguey verde, las cuales conviven con algunas especies espinosas principalmente de la familia leguminoseae, con mayor frecuencia los géneros *Acacia* sp. y *Mimosa* sp.

En la región del altiplano Potosino-Zacatecano, el maguey verde se distribuye en diferentes estratos y con diferente densidad. De acuerdo con un estudio realizado en el sureste de Zacatecas, se identificaron comunidades vegetales con diferente estructura y composición con diferente densidad de agaves, aunque para la mayor superficie de la región las características edáficas, climáticas y orográficas son muy similares. Lo cual hace suponer que probablemente la influencia de los aprovechamientos intensivos del maguey ha generado perturbaciones en el ecosistema (Martínez-Salvador *et al.*, 2005). Ante periodos drásticos de sequía y cuando el forraje escasea, usualmente los pobladores de las áreas magueyeras utilizan el maguey como alternativa para alimentar el ganado. Esta planta según Macedo (1950) se le considera buen forraje, ya que el ganado de las diversas especies que se acostumbran a comer las pencas de los magueyes ya explotados y la raspadura de los mismos, se encuentran gordos. En las zonas áridas, las hojas de maguey, son colectadas por los habitantes de la región para alimentar al ganado (González y Sheffey, 1964).

Las poblaciones de *A. salmiana* en el altiplano Potosino-Zacatecano, crecen en suelos de origen ígneo, con precipitaciones menores a los 450 mm y con temperaturas extremas lo cual dificulta su propagación; aun cuando pertenecen a las plantas MAC (metabolismo ácido de las crasuláceas), las cuales son extremadamente tolerantes a bajas y altas temperaturas; y que sobreviven en

sequías prolongadas (Nobel, 1998); además de ser plantas muy variables en porte (Reyes, 1987).

A pesar que la producción de hijuelos alrededor de la planta madre, es de entre 4 a 7 hijuelos por planta (Martínez y Meyer, 1985); no obstante, la presión del hombre y la ganadería extensiva, provocan que las poblaciones de agave existentes se vean disminuidas constantemente, por lo que es claro que la especie requiere de cierto grado de manejo para preservar sus poblaciones y evitar su erradicación de esta región (Aguirre, *et al.*, 2001).

También es de resaltar la variación infraespecífica en *A. salmiana* ssp. *crassispina*, con ecotipos que muestran diferentes formas, disposición, dimensiones y color de sus órganos, lo cual hace suponer diferentes grados de domesticación o adaptación ambiental con posibles diferencias bioquímicas como ocurre en otras especies fuertemente manipuladas (Martínez y Meyer, 1985; Reyes, 1987; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2008; 2011).

Con el fin de establecer una distinción entre los ecotipos que conforman la variación infraespecífica del complejo de *A. salmiana* ssp. *crassispina* (maguey mezcalero) y su relación con otros agaves de importancia regional como *A. americana* var. *marginata* (maguey de ornato), *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (maguey mezcalero y tequilero) y *Agave* sp. (maguey aguamielero y pulquero) (FIGURA 12), se realizó un análisis bioquímico y morfológico con un enfoque cladístico, que permitiera sugerir diferencias evolutivas e identificar componentes orgánicos de valor que eviten el desplazamiento de los tipos biológicos de menor importancia, por las variantes biológicas más exitosas por su uso en la elaboración de bebidas alcohólicas; además de establecer las relaciones que puedan existir entre los componentes de un complejo infraespecífico. Adicional a los cladogramas, se realizó también un análisis de componentes principales que permite detectar similitudes o diferencias entre los agrupamientos, además de pueden ser utilizados para entender cuánto contribuye cada variable al significado de la variación de los datos e interpretar la relación entre ellos.



FIGURA 12. *A. americana* var. *marginata* Trel. (izq. arriba), *A. angustifolia* subsp. *tequilana* Weber var. *azul* (der. arriba), *Agave* sp. “maguey aguamielero” (izq. abajo) y *A. salmiana* Otto ex salm-Dyck ssp. *crassipina* (Trel.) Gentry (der. abajo).

1.2. Materiales y métodos

El estudio se realizó en los estados de San Luis Potosí y Zacatecas, México e incluyó cuatro localidades seleccionadas por tener poblaciones abundantes de *A. salmiana* (n=100), además se seleccionaron *A. americana* var. *marginata* en una sola localidad (n=20), *Agave* sp. en dos localidades (n=14); todos ellos se encuentran a una altitud de entre 2200 a 2500 msnm (CUADRO 8). Así como *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* de tres localidades (n=20) y que se encontraron a una altitud de entre 1200 a 1500 msnm; además del conocimiento que los pobladores tienen respecto a la distinción morfológica de los agaves y uso intensivo de los mismos para la elaboración de bebidas como el aguamiel y el mezcal.

CUADRO 8. Datos de las localidades donde se colectaron los agaves.

Agave	Clave	Localidad	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altura (msnm)
<i>A. salmiana</i> subsp. <i>crassispina</i>	AH	La Honda	22°23'700''	101°49'426''	2427
<i>A. salmiana</i> subsp. <i>crassispina</i>	AP	Pinos	22°19'908''	101°36'652''	2425
<i>A. salmiana</i> subsp. <i>crassispina</i>	AS	Saldaña	22°25'134''	101°23'521''	2428
<i>A. salmiana</i> subsp. <i>crassispina</i>	AC	Charcas	23°14'715''	100°54'145''	2420
<i>A. salmiana</i> sp. (maguey blanco)	AB	La Honda	22°23'730''	101°49'379''	2427
<i>A. americana</i> var. <i>marginata</i>	AM	Guadalupe	22°45'490''	102°30'663''	2228
<i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> var. <i>azul</i>	AT	Juchipila	21°21'066''	103°07'171''	1248
<i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> var. <i>azul</i>	AT	Apozol	21°28'485''	103°04'709''	1393
<i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> var. <i>azul</i>	AT	Jalpa	21°42'926''	102°58'262''	1481
<i>Agave</i> sp. (aguamielero)	AA	Hacienda Nueva	22°49'499''	102°35'616''	2287
<i>Agave</i> sp. (aguamielero)	AA	Pánuco	22°52'704''	102°32'213''	2305

msnm.- metros sobre el nivel del mar.

El trabajo se desarrolló en el periodo 2010 a 2012, los muestreos fueron realizados *in situ* durante el mismo periodo, aplicando el método sugerido por Sukhatme (1970) y Rojas (1979), con un nivel de confianza de 95 % para el tamaño de muestra, sin embargo, cuando las poblaciones estuvieron representadas por menos de 20 individuos, la decisión fue considerar todas las plantas en la muestra. Para el estudio, los agaves colectados se agruparon en: *A. americana* var. *marginata* (AM) de la localidad de Guadalupe, *Agave* sp. “maguey aguamielero” (AA) de las localidades de Hacienda Nueva y Pánuco, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* (AT) de las localidades de Apozol, Jalpa y Juchipila. Mientras que todos los *A. salmiana* se agruparon en cinco grupos: *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la localidad de la Honda (AH), Pinos (AP), Saldaña (AS) y Charcas (AC); así como *A. salmiana* sp. de la localidad de la Honda conocido como “maguey blanco” (AB). Cabe mencionar que los productores de la región del altiplano Potosino-Zacatecano, nombran al *Agave salmiana* como maguey verde, bronco, cimarrón o manso (Aguirre *et al.*, 2001) y en tres diferentes variantes: blanco, chino y liso (FIGURA 13);



FIGURA 13. Hojas de un *Agave salmiana* sp. “blanco” (arriba) y de un *Agave salmiana* subsp. *crassispina* “chino” (centro) y “liso” (abajo).

En el caso del *A. americana* var. *marginata* y del *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* también conocido como “maguey azul” (FIGURA 14); no se presentaron en diferentes variantes como el *A. salmiana* ssp. *crassispina* en las diferentes localidades.



FIGURA 14. Hojas de un *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* (arriba), *A. americana* var. *marginata* (centro) y un *Agave* sp. (abajo).

Aunque en el *Agave* sp. “maguey aguamielero”; si se presentó diferencias tan marcadas en sus hojas, como lo son la altura y el ancho, en las dos localidades donde se realizaron las colectas (FIGURA 15).

Cabe mencionar, que para el caso donde se tomaron muestras y datos *in situ* de *A. salmiana*, estos solo fueron de las poblaciones que los productores usaban para la elaboración del mezcal y que además se encontraban cerca de la fábrica. En general en cada localidad, se estudiaron aquellos magueyes que estuvieran sanos, que presentaran hijuelos y que visualmente mostraran alguna diferencia fenotípica entre ellos; con el fin también de contar con mayor

diversidad de material genético para los estudios posteriores de caracterización molecular.



FIGURA 15. Imágenes que muestran la altura (izquierda) y ancho (derecha) de las hojas de magueyes aguamieleros.

En la FIGURA 16, se puede observar algunos ejemplos de variantes biológicas del *Agave salmiana*, que muestran diferencias morfológicas visibles en cuanto a porte, color, anchura de la hoja, etc. en las localidades de estudio.

Así mismo, también se estudiaron dentro de las localidades, poblaciones de *A. salmiana* en diferentes etapas de maduración, magueyes con escapo floral (quiote), magueyes quiotilla, que son agaves que a cierta edad de maduración se les extrae la hoja central antes de que se forme y emerja el escapo floral del agave para su reproducción sexual y que después de ello, se le conoce como maguey capón o capado (FIGURA 17).



FIGURA 16. Ejemplos de variantes biológicas de *Agave salmiana*, empleadas para la elaboración del mezcal en el altiplano Potosino – Zacatecano.

Siendo una práctica muy común entre los productores, que realizan esta castración con la finalidad de que el maguey concentre en la bola o tallo, la mayor cantidad de azúcares (en un periodo de 1 a 3 años); los cuales se ven disminuidos en un maguey con qurote; además de que con esta práctica retardan el proceso de semelparidad (muerte después de la reproducción).



FIGURA 17. Maguey verde capado.

Para la determinación bioquímica, solo se tomó el parámetro de medición de los grados Brix, que son un factor de selección de los productores como una medida de concentración de azúcares y que es de importancia económica para la elaboración de bebidas. El tamaño de muestra fue de $n=154$, aplicando la medición al jugo crudo al momento de su obtención *in situ* del tallo conocido coloquialmente como “bola” o “piña”, empleando un refractómetro portátil modelo REF 107 de 0 a 90 grados con tres escalas. En cuanto al análisis de morfología, a todas las muestras ($n=154$) que se evaluaron *in situ* (Apéndice A: FIGURAS A1-A22), se les aplicó la guía técnica de descriptores para *Agave* spp. (TG/Agave proj.1., apéndice B), considerando 30 caracteres de la unión internacional para la protección de las obtenciones vegetales “UPOV” (SNICS, 2007) (CUADRO 9). Se obtuvieron cerca de 4,600 datos morfológicos (Apéndice C: TABLAS C1-C8 y apéndice D: CUADROS D1-D8). Luego se determinaron los valores máximos, mínimos y medios para las variables originales cualitativas y cuantitativas (intervalos para descriptores varietales: apéndice E: CUADROS E1-E10); para tener valores adimensionales y poder hacer una comparación de los datos morfológicos (Apéndice F: CUADROS F1-F8).

CUADRO 9. Caracteres morfológicos y estados de carácter con base a los descriptores de la guía técnica para *Agave* spp., según la unión internacional para la protección de las obtenciones vegetales (UPOV).

Carácter	Estado de carácter
<u>Hoja</u>	
1. Presencia del segundo color*	1-ausente y 9-presente
2. Tonalidad del segundo color*	1-blanco y 2-amarillo
3. Distribución del segundo color*	1-marginal, 2-central y 3-reticulado
4. Textura*	1-lisa y 2-rugosa
5. Tipo de curvatura	1-ausente, 2-recurvado, 3-incurvado y 4-ondulado
6. Tipo de margen*	1-liso, 2-ondulado, 3-dentado y 4-crenado
7. Visibilidad (Tallo)*	1-no visible y 9-conspicuo
8. Color*	1-verde amarillento, 2-verde y 3-azul
9. Intensidad del color*	3-débil, 5-medio y 7 fuerte
10. Forma	1-lineal, 2-espatulada, 3-deltoide, 4-lanceolada, 5-oblonga y 6-ovada
11. Glausencia	1-ausente y 9-presente
12. Longitud	3-corta, 5-media y 7-larga
13. Anchura	3-estrecha, 5-media y 7-ancha
14. Relación largo/ancho	3-pequeña, 5-media y 7-grande
15. Forma del corte transversal	1-plano, 2-en forma de "v", 3-en forma de "u", 4-cóncavo, 5-quillado, 6-obdeltado, 7-oblato, 8-hemioblato y 9-circular
16. Forma de la espina terminal	1-recta, 2-curvada, 3-filiforme y 4-polifurcada
17. Longitud de la espina terminal*	3-corta, 5-media y 7-larga
18. Forma de las espinas laterales*	1-recta, 2-curva, 3-ganchuda y 4-filífera
19. Perfil de la espina lateral*	1-única, 2-bifurcada, 3-trifurcada y 4-polifurcada
20. Color de las espinas laterales	1-blanco, 2-marrón, 3-rojizo y 4-negro
21. Estrías en las espinas laterales*	1-ausente y 9-presente
22. Uniformidad en el tamaño de las espinas laterales	1-homogénea y 9-heterogénea
23. Número de espinas laterales	3-pequeño, 5-medio y 7-grande
24. Distancia entre las espinas laterales	3-baja, 5-media y 7-alta
<u>Planta</u>	
25. Hábito de crecimiento*	1-rosetófila acaulescente y 2-rosetófila caulescente
26. Diámetro de la roseta	3-pequeño, 5-medio y 7-grande
27. Número de hojas por filotaxia	3-bajo, 5-medio y 7-alto
28. Número de hojas	3-bajo, 5-medio y 7-alto

29. Altura 3-baja, 5-media y 7-alta

Hijuelos

30. Prolificidad 1-ausente, 3-baja, 5-media y 7-alta

*.- Carácter de agrupamiento que se incluye en las directrices del examen DHE de la guía.

Finalmente con el objetivo de hacer una comparación adimensional entre los datos obtenidos, se generaron cladogramas de consenso por grupo de agaves empleando el software Winclada ver. 1.00.08 (Nixon, 2002) en conjunto con el software Nona ver. 2.0 (Goloboff, 1999); generando también un árbol de distancias, aplicando un análisis de bootstrap/Jackknife para definir el valor de las relaciones entre los ecotipos de la variación infraespecífica evaluados en todas las localidades.

Finalmente los datos se sometieron a un análisis estadístico de componentes principales (PCA: Principal Component Analysis por sus siglas en inglés, Pearson, 1901). El PCA es un método multivariante que opera de forma no-supervisada, y es utilizado para analizar la estructura inherente de los datos. Este método reduce la dimensionalidad del conjunto de datos (Martens, 2003), encontrando un grupo de ejes coordenadas alternativas, llamadas componentes principales (PC's) (Esbensen, 2005). Estos ejes de coordenadas alternativos tienen la propiedad de que la mayor parte de la información está contenida en unas pocas primeras dimensiones, pudiéndose descartar el resto con muy poca pérdida información. La forma general del modelo de PCA es la siguiente:

$$X = TP^T + E$$

donde la matriz X (matriz de datos o espectros), es descompuesta en dos matrices más pequeñas, una llamada matriz de scores (T) y la otra, matriz de loadings (P) donde el superíndice T indica la operación de transposición del vector, es decir, el intercambio de filas por columnas. Los scores muestran la posición de las muestras a lo largo de cada componente del modelo, y puede ser utilizada para detectar, similitudes o diferencias de las muestras, patrones y/o agrupamientos. Los loadings muestran el peso (o relevancia) de una determinada variable por el modelo de componentes. Éstos pueden ser utilizados para entender cuánto contribuye cada variable al significado de la variación de los datos, e interpretar la relación entre ellas. También pueden ser utilizados para interpretar el significado de cada componente del modelo.

Teniendo en cuenta que existen menos componentes principales que variables y debido al error de ajuste del modelo con los datos, se produce un error E que se acumula en la matriz.

Las PC's corresponden a una combinación lineal de las variables originales, las cuales son ortogonales entre sí, y elegidas de tal manera, que cada una de ellas explica de forma sucesiva la máxima variabilidad del conjunto de datos. En otras palabras, PCA involucra un procedimiento matemático que transforma una gran cantidad de variables correlacionadas (ej. corrimiento Raman o números de onda), en una cantidad menor de variables no-correlacionadas, las cuales son llamadas, componentes principales (PC's).

La primera componente principal (PC1), explica la mayor variabilidad en el conjunto de datos, y cada componente sucesiva, explica la variabilidad remanente de la PC anterior.

Cuando los scores son graficados como una combinación de PC's, estos pueden revelar relaciones existentes entre las muestras (agrupaciones). Es importante recordar que PCA actúa de una forma no-supervisada, lo cual significa que para el análisis de datos no es necesario ningún tipo de información adicional al conjunto de espectros o datos colectados experimentalmente.

El PCA provee el porcentaje de la varianza explicada por cada PC, asimismo, nos indica el número de componentes principales (PC's) que retienen la mayor cantidad de información presente en el conjunto de datos (Martens H., 2003), relacionada con su estructura intrínseca (Esbensen, 2005). Adicionalmente, los loadings proporcionan información referente a las variables de diagnóstico estadísticamente más importantes o influyentes, relacionadas con las principales diferencias encontradas en el conjunto de datos.

1.3. Resultados y discusión

En todos los agaves, primero se analizó la variación bioquímica en relación a su contenido de azúcares (Brix); que es una medida de selección de los productores en la práctica económica, para su uso en la elaboración de bebidas como el aguamiel, bacanora, mezcal, sotol y tequila; y que está relacionado con las características morfológicas y moleculares de los agaves. De acuerdo a Granados (1993) y Téllez (1998) los azúcares que están presentes en la piña de una planta adulta de agave, constituyen entre 20 y 30% del peso fresco; aunque también se encuentran en las otras partes de la planta pero en menor cantidad (*Montañez et al.*, 2011). La determinación de los Brix que se realizó *in situ* en todas las “piñas” de agaves que se colectaron (n=154) en los estados de San Luis Potosí y Zacatecas (CUADRO 8) se correlacionó con respecto a la edad de la planta de cada localidad y de forma adimensional para su comparación entre las agrupaciones de agaves. En *A. salmiana* de las diferentes localidades de la Honda, Pinos, Saldaña y Charcas (CUADROS 10 y 11: AH, AP, AS, AC y AB), se encontró una baja relación de azúcares (valores de 0.4, 0.6 y 0.7) en la piña de la mayoría de los agaves de mayor edad (maduros) que contenían el escapo floral (agaves: AH2, AH15, AP2, AP10, AP15, AS2, AS18, AC6, AC14, AB8, AB9, AB12 Y AB13), ello se explica en parte, porque la planta concentra su energía en la generación del escapo floral para la producción de semillas para su reproducción. También se observa en los CUADROS 10 y 11, que a una edad intermedia de 5 a 6 años (valor de 5; calculo apéndice E: CUADRO E9) se produce una cantidad óptima de azúcares (valor adimensional de 1.6) y que cuando se tenía poca o de más edad, la cantidad de azúcares disminuye. Así también podemos ver que en todos los grupos de *A. salmiana* (CUADRO 10: AH1, AH13, AH17, AP13, AS1, AS11, AS16, AC10, AC11, AC18, AC19 y AC20; CUADRO 11: AB4, AB16, AB17 y AB20) también agrupados por las características morfológicas, existen algunas excepciones fuera de los valores promedio; ya que en algunos agaves con una edad joven, se tuvo una mayor relación en la cantidad de azúcares.

CUADRO 10. Relación de azúcares con respecto a la edad en los grupos de *A. salmiana* de las diferentes localidades.

Agave	Brix	Edad	B/E	Agave	Brix	Edad	B/E	Agave	Brix	Edad	B/E	Agave	Brix	Edad	B/E
AH1	5	3	1.6	AP1	5	5	1.0	AS1	5	3	1.6	AC1	7	7	1.0
AH2*	3	5	0.6	AP2*	5	7	0.7	AS2**	5	7	0.7	AC2	5	5	1.0
AH3	3	3	1.0	AP3	5	5	1.0	AS3**	7	5	1.4	AC3*	7	7	1.0
AH4	3	3	1.0	AP4	5	5	1.0	AS4	5	5	1.0	AC4	3	3	1.0
AH5	3	3	1.0	AP5	5	5	1.0	AS5**	7	7	1.0	AC5	5	5	1.0
AH6	3	3	1.0	AP6	5	5	1.0	AS6**	5	5	1.0	AC6*	5	7	0.7
AH7	5	5	1.0	AP7	5	5	1.0	AS7	5	5	1.0	AC7	5	5	1.0
AH8*	5	5	1.0	AP8	5	5	1.0	AS8	5	5	1.0	AC8	7	7	1.0
AH9	3	3	1.0	AP9*	7	7	1.0	AS9	5	5	1.0	AC9	5	5	1.0
AH10	3	3	1.0	AP10*	3	7	0.4	AS10 C	5	5	1.0	AC10	7	5	1.4
AH11	3	3	1.0	AP11	3	5	0.6	AS11	7	5	1.4	AC11	7	5	1.4
AH12	3	3	1.0	AP12	5	5	1.0	AS12	5	5	1.0	AC12	5	5	1.0
AH13	7	5	1.4	AP13	7	5	1.4	AS13	5	5	1.0	AC13	3	5	0.6
AH14*	5	5	1.0	AP14	5	5	1.0	AS14	5	5	1.0	AC14*	5	7	0.7
AH15*	5	7	0.7	AP15*	5	7	0.7	AS15	5	5	1.0	AC15*	7	7	1.0
AH16*	5	5	1.0	AP16	5	7	0.7	AS16	5	3	1.6	AC16	3	5	0.6
AH17	5	3	1.6	AP17	3	5	0.6	AS17 C	5	7	0.7	AC17	5	7	0.7
AH18	3	3	1.0	AP18*	5	7	0.7	AS18**	5	7	0.7	AC18	5	3	1.6
AH19	3	5	0.6	AP19	5	5	1.0	AS19	5	5	1.0	AC19	5	3	1.6
AH20	3	5	0.7	AP20*	7	7	1.0	AS20	5	5	1.0	AC20	5	3	1.6
Media	4.0	4.1	1.01		5.0	5.7	0.89		5.3	5.2	1.05		5.3	5.3	1.04

B/E.- Brix/Edad; *.- Con Quiote; **.- Quiotilla; C.- Capado. Brix. 3(bajo), 5(medio) y 7(abundante). Edad: 3 (pequeño), 5(medio) y 7(grande).

CUADRO 11. Relación de azúcares con respecto a la edad en los grupos de *A. salmiana* sp., *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp. de las diferentes localidades.

Agave	Brix	Edad	B/E												
AB1	3	5	0.6	AM1	7	7	1.0	AT1	5	7	0.7	AA1	5	7	0.7
AB2	5	5	1.0	AM2	7	5	1.4	AT2	5	7	0.7	AA2	5	7	0.7
AB3	3	5	0.6	AM3	7	7	1.0	AT3	5	7	0.7	AA3	5	5	1.0
AB4	7	5	1.4	AM4	5	3	1.6	AT4	5	7	0.7	AA4	3	7	0.4
AB5	3	5	0.6	AM5	3	3	1.0	AT5	7	7	1.0	AA5*	3	7	0.4
AB6	5	5	1.0	AM6	7	3	2.3	AT6*	3	7	0.4	AA6	5	7	0.7
AB7	5	5	1.0	AM7	7	3	2.3	AT7	5	7	0.7	AA7	5	7	0.7
AB8*	5	7	0.7	AM8	3	5	0.6	AT8	7	7	1.0	AA8	5	7	0.7
AB9*	5	7	0.7	AM9	3	5	0.6	AT9	7	7	1.0	AA9	5	5	1.0
AB10*	5	7	0.7	AM10	5	5	1.0	AT10	7	7	1.0	AA10	5	5	1.0
AB11	5	3	1.6	AM11	5	5	1.0	AT11	5	5	1.0	AA11	3	5	0.6
AB12*	5	7	0.7	AM12	5	3	1.6	AT12	5	7	0.7	AA12	5	5	1.0
AB13*	5	7	0.7	AM13	5	3	1.6	AT13	7	7	1.0	AA13	5	5	1.0
AB14	5	5	1.0	AM14	7	3	2.3	AT14	5	7	0.7	AA14	3	5	0.6
AB15	4	5	0.8	AM15	7	3	2.3	AT15	5	7	0.7	N. D.	-	-	-
AB16	4	3	1.3	AM16	3	5	0.6	AT16	5	5	1.0	N. D.	-	-	-
AB17	4	3	1.3	AM17	3	5	0.6	AT17	5	5	1.0	N. D.	-	-	-
AB18	5	7	0.7	AM18	3	5	0.6	AT18	5	5	1.0	N. D.	-	-	-
AB19	3	7	0.4	AM19	5	7	0.7	AT19	5	5	1.0	N. D.	-	-	-
AB20	7	5	1.4	AM20	5	5	1.0	AT20	5	3	1.6	N. D.	-	-	-
Media	4.6	5.4	0.91		5.1	4.5	1.25		5.4	6.3	0.88		4.4	6.0	0.75

B/E.- Brix/Edad; *.- Con Quote. N. D.- No determinado. Brix. 3(bajo), 5(medio) y 7(abundante). Edad: 3 (pequeño), 5(medio) y 7(grande).

Estas variaciones, se presentan de manera individual, pero en promedio se puede observar que es reducida la variación entre los grupos (CUADRO 10). Con respecto *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp. (CUADRO 11: AM, AT y AA), aquellas plantas que contenían escapo floral (CUADRO 11: AB8, AB9, AT6 y AA5), se tuvo el mismo resultado que con los *A. salmiana* de las diferentes localidades, presentando valores bajos de Brix con respecto a la edad. También se encontraron algunas excepciones, como en el caso del *A. americana* (CUADRO 11: AM2, AM4, AM6, AM7, AM12, AM13, AM14 y AM15) que tuvo mayores valores de grados Brix (2.3) con respecto a la edad y que *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp. (CUADRO 11: AT y AA). Solo que esta variedad (*marginata*) de *Agave americana*, no está reportada para la producción de bebidas, ya que solo se usa de manera ornamental. En cuanto a la especie que tuvo mayor concentración de azúcares fue *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* encontrando valores de hasta 21 grados Brix (Apéndice E: TABLA E9), lo cual coincide con lo reportado por Bautista *et al* (2001) que reportó que las piñas crudas de *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* tienen de 25 a 30% de azúcares; mientras que los *A. salmiana* tienen entre un promedio de 10 a 15 % de azúcares. No se encontró variación alguna significativa del contenido de azúcares con respecto a la edad entre todos los grupos de agaves, ya que la relación (B/E) del promedio de la suma de todos los grupos fue de 0.97 cercano a la unidad. Por lo que es necesario realizar un estudio con más determinaciones, ya que la variación en el contenido de azúcares puede ser debido a factores extrínsecos (tipo de especie, edad de la planta, manejo del cultivo, época del año y condiciones ambientales en las que se desarrolla la planta, etc.) y los factores intrínsecos (porción del agave que se utiliza para el análisis, ya sea hojas o tallos, e incluso fracciones de éstas, y el método utilizado para la determinación de los carbohidratos). Estos estudios contribuirían a la relación existente entre el peso fresco de la piña y la concentración de azúcares, considerándose entre los indicadores más representativos de la acumulación de biomasa en los agaves; y que constituyen el mayor interés para los productores, ya que al cosechar piñas con peso

mayor sería posible obtener cantidad superior de azúcares reductores para la producción de mezcal u otros usos.

Por otro lado, para analizar la variación morfológica en todos los grupos de agaves (Apéndice A: CUADROS A1-A8), se colectaron los datos morfológicos (n=154, Apéndice C: CUADROS C1-C8 y apéndice D: CUADROS D1-D8) de los 30 caracteres descritos en la metodología (CUADRO 9 y apéndice B). Se obtuvieron los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas (intervalos para descriptores varietales, apéndice E: CUADROS E1-E10 y apéndice F: CUADROS F1-F8) para transformar a valores adimensionales con el fin de tener valores uniformes para poder comparar los datos morfológicos obtenidos. Con estos datos (Apéndice F: CUADROS F1-F8), se generaron cladogramas con diferentes valores de: a) longitud (L), que se representa por el número de pasos necesarios para sustentar las relaciones genealógicas de los taxones en el mismo. Cuanto mejor sea el ajuste de los caracteres al cladograma, menor será el número de homoplasias (caracteres que se desarrollan independientemente a partir de ancestros diferentes), y por ende, menor será la longitud del cladograma, es decir, será más simple o parsimonioso; b) índice de consistencia (IC), que cuantifica la homoplasia relativa de un carácter y que se calcula dividiendo el número de pasos esperados (dado el número de estados del carácter) entre el número real de pasos, y c) índice de retención (IR) que cuantifica la homoplasia observada en un carácter en función de la homoplasia posible. Para diferenciar y comparar cada grupo de *A. salmiana* (FIGURAS 18-22: AH, AP, AS, AC y AB), y de *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp. (FIGURAS: 23-25) en un primer término se tomó un cladograma por grupo de agave a manera de ejemplo, observando que en todos los grupos se generaron arboles con la misma calidad (parsimoniosos) y que se separaron con diferentes valores de longitud, IC e IR. Así mismo en cada cladograma, se describen caracteres para cada grupo de agave (FIGURAS 18-25), los cuales pueden ser autoapomorfias (estado apomórfico presente en único taxón y que surge de un estado ancestral), sinapomorfias (estado apomórfico presente en

dos o más taxones y que es derivado de un estado ancestral) y simplesiomorfias (estado plesiomórfico presente en dos o más taxones y que surge primero en el tiempo de un estado primitivo o ancestral de un carácter). Se resumen caracteres en el CUADRO 12 (Pág. 62).

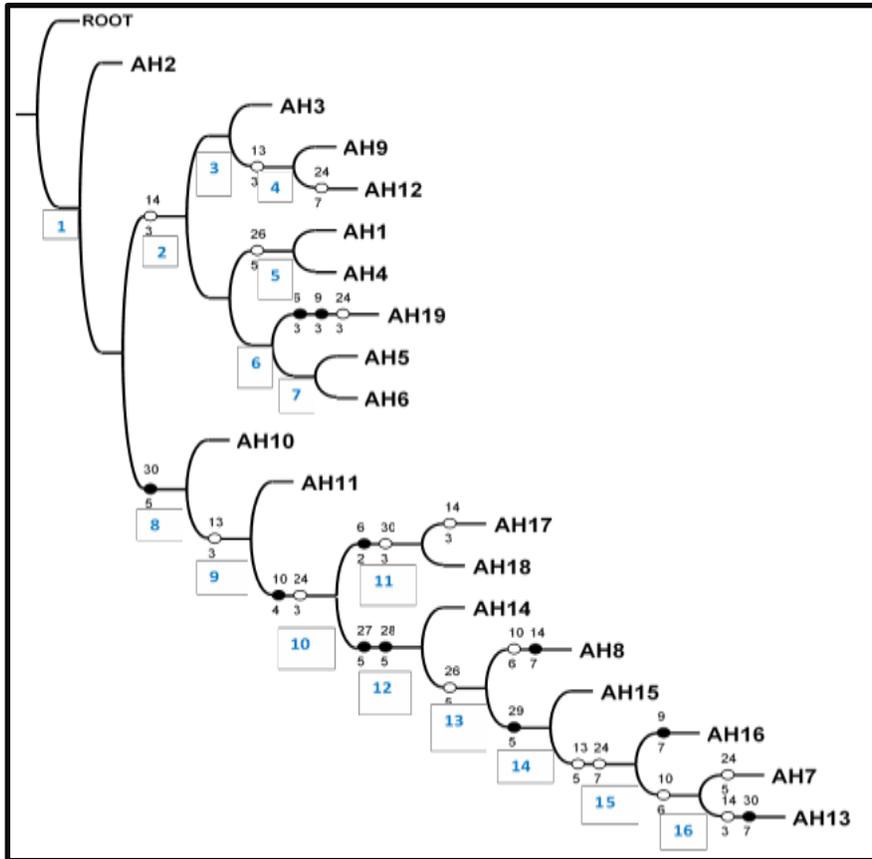


FIGURA 18. Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la localidad de la Honda (AH).

El cladograma (FIGURA 18) se realizó con base en un análisis de 30 caracteres (c) de hoja, planta e hijuelo y con una longitud de 96 pasos, IC=80 e IR=78. Los puntos blancos y sólidos representan la variación del carácter y los números en la parte superior e inferior del brazo, representan el carácter y el estado en que varían. Los números en azul indican las ramas internas.

En el árbol se observa la separación de varios agaves de la localidad de la Honda, en dos ramas (2 y 8), en donde influyó la prolificidad de hijuelos (8, c30) y la relación largo/ancho de las hojas (2, c14). Se observan rasgos novedosos como: número de hojas (c27 y c28), curvatura de la hoja (c8), forma de la hoja

(c10), intensidad del color de la hoja (c9), altura de la planta (c29) y distancia entre espinas laterales (c24).

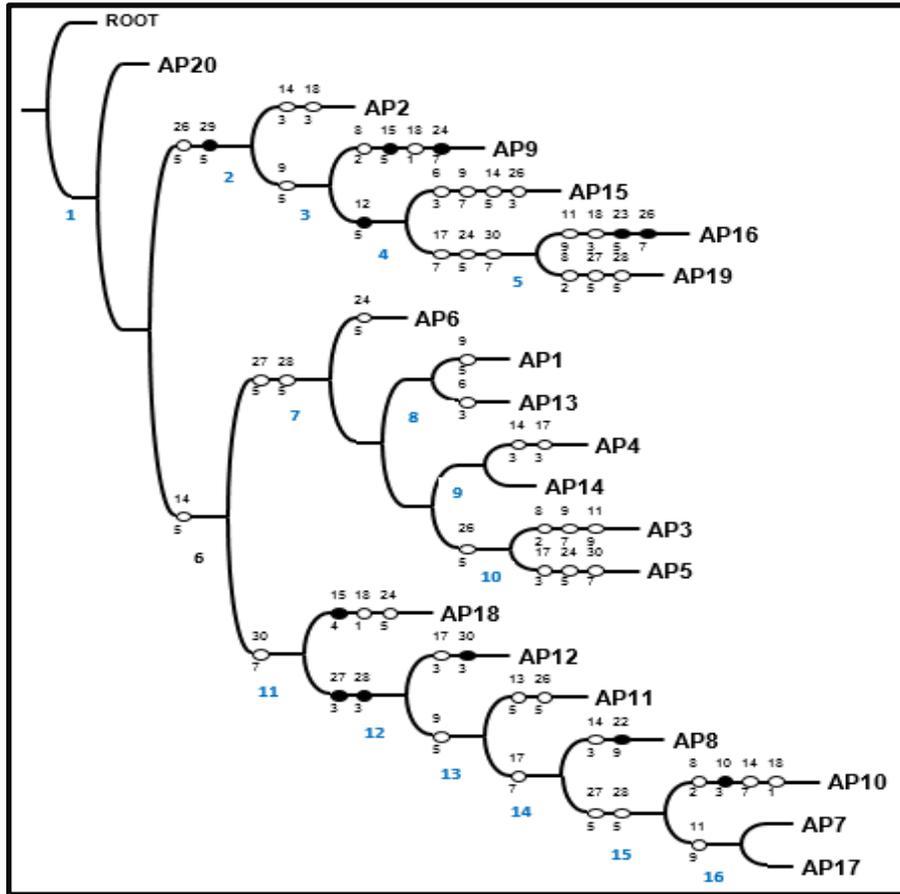


FIGURA 19. Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la localidad de Pinos (AP).

El cladograma (FIGURA 19) se realizó con base en un análisis de 30 caracteres de hoja, planta e hijuelo y con una longitud de 93 pasos, IC=61 e IR=53. Los puntos blancos y sólidos representan la variación del carácter y los números en la parte superior e inferior del brazo, representan el carácter y el estado en que varían. Los números en azul indican las ramas internas.

En el árbol se observa la separación de varios agaves de la localidad de Pinos, en dos ramas (2 y 6) y a su vez en dos subgrupos de ramas (7 y 11), en donde influyó la altura de la planta (2, c29) y la relación largo/ancho de la hoja (6, c14). Se observan rasgos novedosos como: número de hojas (c27 y c28), forma de la hoja (c10), longitud de la hoja (c12), número de espinas (c23),

uniformidad del tamaño de espinas (c22), distancia entre espinas (c24), prolificidad de hijuelo (c30) y diámetro de la roseta (c26).

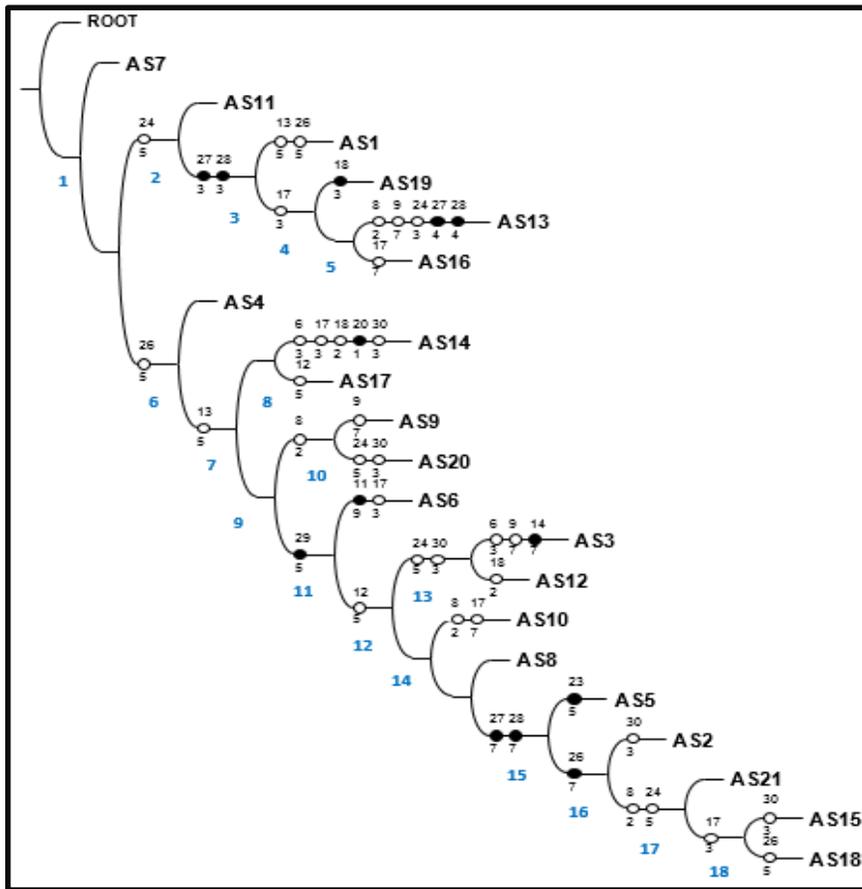


FIGURA 20. Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la localidad de Saldaña (AS).

El cladograma (FIGURA 20) se realizó con base en un análisis de 30 caracteres (c) de hoja, planta e hijuelo y con una longitud de 86 pasos, IC=62 e IR=61. Los puntos blancos y sólidos representan la variación del carácter y los números en la parte superior e inferior del brazo, representan el carácter y el estado en que varían. Los números en azul indican las ramas internas.

En el árbol se observa la separación de varios agaves de la localidad de Saldaña, en dos ramas (2 y 6), en donde influyó la distancia entre las espinas laterales (2, c24) y el diámetro de la roseta (6, c26). Se observan rasgos novedosos como: número de espinas laterales (c23), color de las espinas (c20), glausencia de la hoja (c11), relación largo/ancho de la hoja (c14), número de hojas (c27 y c29) y altura de la planta (c29).

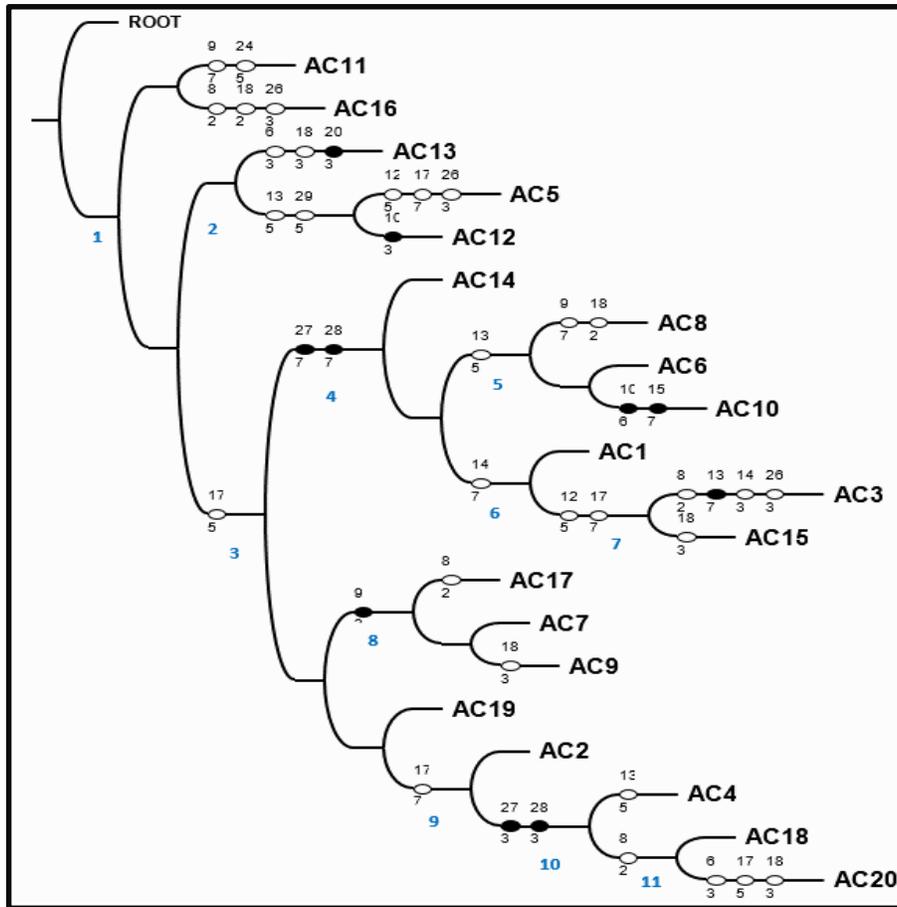


FIGURA 21. Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la localidad de Charcas (AC).

El cladograma (FIGURA 21) se realizó con base en un análisis de 30 caracteres (c) de hoja, planta e hijuelo y con una longitud de 81 pasos, IC=65 e IR=58. Los puntos blancos y sólidos representan la variación del carácter y los números en la parte superior e inferior del brazo, representan el carácter y el estado en que varían. Los números en azul indican las ramas internas.

En el árbol se observa la separación de varios agaves de la localidad de la Charcas en dos ramas (2 y 3), y a su vez en dos subgrupos de ramas (4 y 8), en donde influyó el número de hojas (4, c27 y c28) y la longitud de la espina terminal (3, c17). Se observan rasgos novedosos como: forma de la hoja (C10), anchura de la hoja, (C13) intensidad del color de la hoja y color de las espinas (c20).

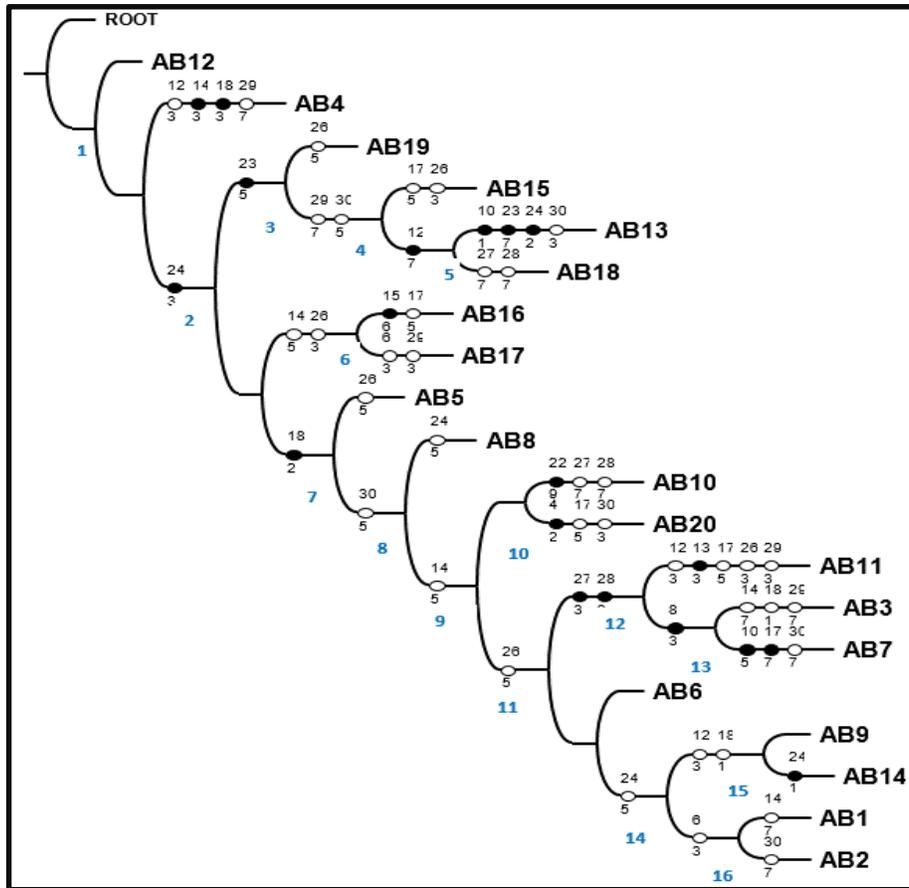


FIGURA 22. Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de *A. salmiana* sp. (blanco) de la localidad de la Honda (AB).

El cladograma (FIGURA 22) se realizó con base en un análisis de 30 caracteres (c) de hoja, planta e hijuelo y con una longitud de 161 pasos, IC=68 e IR=55. Los puntos blancos y sólidos representan la variación del carácter y los números en la parte superior e inferior del brazo, representan el carácter y el estado en que varían. Los números en azul indican las ramas internas.

En el árbol se observa la separación de varios agaves (maguey blanco) de la localidad de la Honda, en dos ramas (3 y 7), en donde influyó la distancia entre espinas (2, c24) y el número de espinas (3, c23). Se observan rasgos novedosos como: forma de espinas (c18), uniformidad del tamaño de las espinas (c22), longitud de las espinas (c17), forma de la hoja (c10), anchura de la hoja (c13), textura de la hoja (c4), intensidad del color de la hoja (c8) y relación largo/ancho de la hoja (c14).

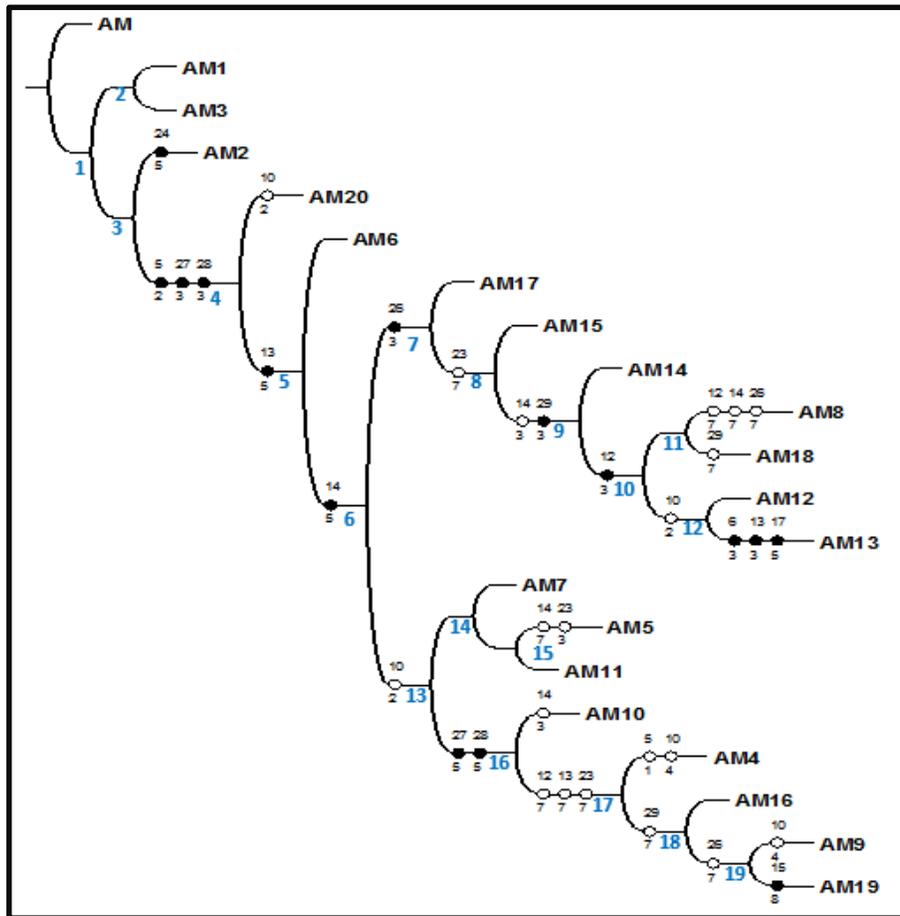


FIGURA 23. Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de *A. americana* de la localidad de Guadalupe (AM).

El cladograma (FIGURA 23) se realizó con base en un análisis de 30 caracteres (c) de hoja, planta e hijuelo y con una longitud de 73 pasos, IC=72 e IR=72. Los puntos blancos y sólidos representan la variación del carácter y los números en la parte superior e inferior del brazo, representan el carácter y el estado en que varían. Los números en azul indican las ramas internas.

En el árbol se observa la separación de varios agaves de la localidad de Guadalupe, en dos ramas (7 y 13), en donde influyó el diámetro de la roseta (7, c26), forma de la hoja (13, c10), número de hojas (4, c27 y c28), la relación largo/ancho de la hoja (6, c14) y la curvatura de la hoja (4, c5). Se observan rasgos novedosos como: longitud de la hoja (c12), anchura de la hoja (c13), longitud de la espina terminal (c17) y altura de la planta (c29).

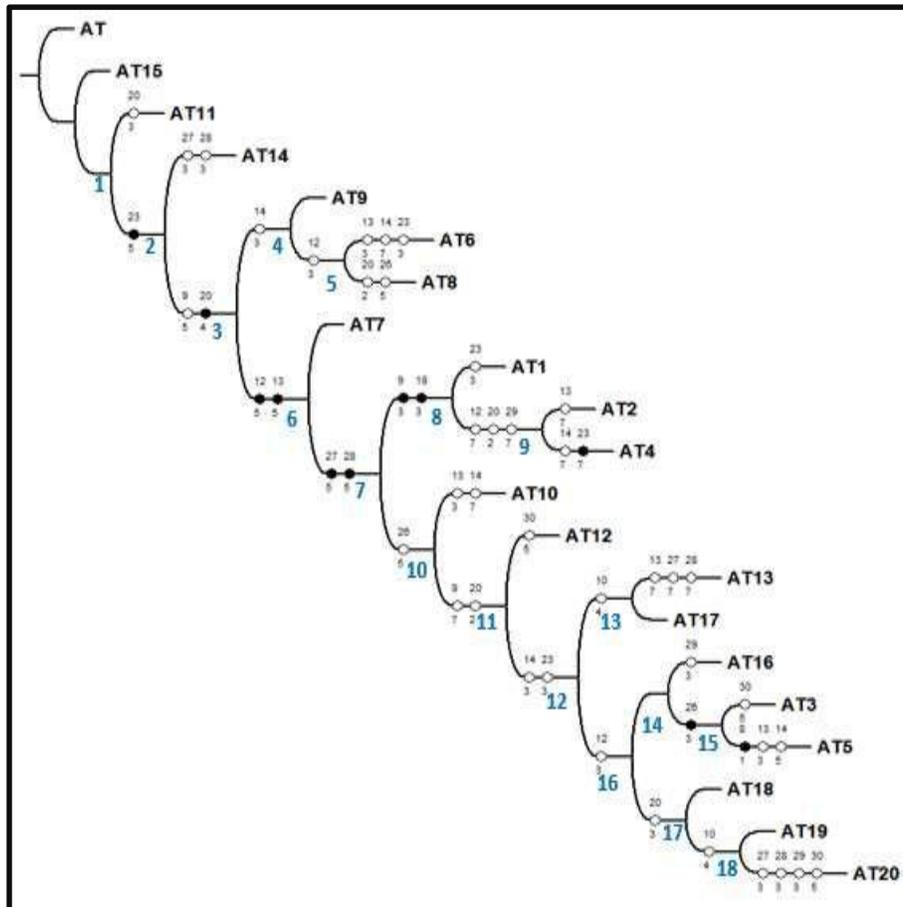


FIGURA 24. Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de *A. angustifolia tequilana* var. *azul* de Apozol, Jalpa y Juchipila en Zacatecas (AT).

El cladograma (FIGURA 24) se realizó con base en un análisis de 30 caracteres (c) de hoja, planta e hijuelo y con una longitud de 83 pasos, IC=62 e IR=63. Los puntos blancos y sólidos representan la variación del carácter y los números en la parte superior e inferior del brazo, representan el carácter y el estado en que varían. Los números en azul indican las ramas internas.

En el árbol se observa la separación de varios agaves de la localidad de Apozol (AT1-AT5), Jalpa (AT6-AT10) y Juchipila (AT11-AT20), en dos ramas (8 y 10), en donde influyó el número de espinas (2, c23), color de las espinas (3, c20), longitud de la hoja (6, c12), anchura de la hoja (6, c13) y el número de hojas (7, c27 y c28). Se observan rasgos novedosos como: forma de las espinas (c18), intensidad del color de la hoja (c9) y diámetro de la roseta (c26).

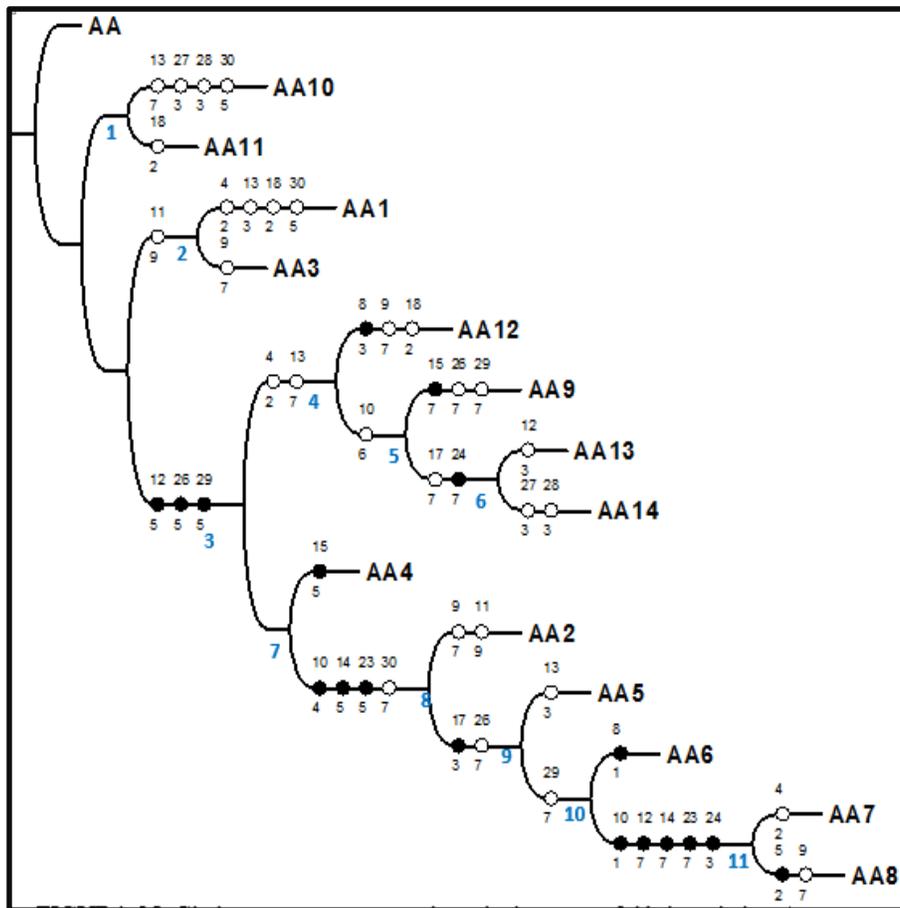


FIGURA 25. Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de *Agave* sp. de la localidad de Hacienda Nueva y Pánuco en Zacatecas (AA).

El cladograma (FIGURA 25) se realizó, con base en un análisis de 30 caracteres de hoja, planta e hijuelo y con una longitud de 84 pasos, IC=73 e IR=66. Los puntos blancos y sólidos representan la variación del carácter y los números en la parte superior e inferior del brazo, representan el carácter y el estado en que varían. Los números en azul indican las ramas internas.

En el árbol se observa la separación de varios agaves de la localidad de Hacienda Nueva (AA1-AA7) y Pánuco (AA8-AA14), en dos ramas (4 y 7), en donde influyó el número de hojas (3, c27 y c28), longitud de la hoja (3, c12), anchura de la hoja (4, c13), textura de la hoja (4, c4) y diámetro de la roseta (3, c26). Se observan rasgos novedosos como: forma de la hoja (c10), relación largo/ancho de la hoja (c14), curvatura de la hoja (c5), color de la hoja (c8), número de espinas (c23), longitud de las espinas (c17), distancia entre espinas (c24) y prolificidad de hijuelos (c30).

El cladístico abordando a las poblaciones por separado, arrojó diferencias al interior de cada grupo; mostrando caracteres influyentes tales como: el diámetro de la roseta, que se encontró en la mayoría de los grupos (c26. CUADRO 12).

CUADRO 12. Caracteres que influyeron en la separación de cada grupo de agave.

AH	AP	AS	AC	AB	AM	AT	AA
Carácter (estado)							
• c30(5)	• c29(5)	o c4(5)	o c17(5)	• c24(3)	• c5(2)	• c23(5)	• c12(5)
o c14(3)	o c26(5)	o c26(5)	• c27(7)	• c23(5)	• c27(3)	• c20(4)	• c26(5)
	o c14(5)		• c28(7)		• c28(3)	o c9(5)	• c29(5)
					• c13(5)	o c27(3)	o c11(9)
					• c14(5)	o c28(3)	
					• c26(3)		
					o c10(2)		

c.- carácter. Estado plesiomórfico (o) y estado apomórfico (•).

También caracteres como el número de hojas (c28), altura de la planta (c29) y prolificidad de hijuelos (c30), fueron un rasgo característico entre los *A. salmiana* ssp. *crassispina* de las cuatro localidades (AH, AP, AS y AC); mientras que las espinas influyeron en *A. salmiana* sp. “maguey blanco” (AB), *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT) y *Agave* sp “maguey aguamielero” (AA), entre otros (FIGURAS 18-25).

Debido a que se generan más de un árbol por grupo de agave, se realizó un cladograma consenso para cada grupo de agave (Apéndice G: FIGURAS G1-G8) para poder identificar que caracteres se encontraban en promedio y con qué frecuencia, entre los cladogramas de cada grupo de agave. Se muestra a manera de ejemplo solo un cladograma (FIGURA 26). Luego de analizar cada cladograma por separado de todos los grupos de agaves, se resumen algunos caracteres sinapomórficos (carácter apomórfico o rasgo novedoso) en los CUADROS 13 y 14.

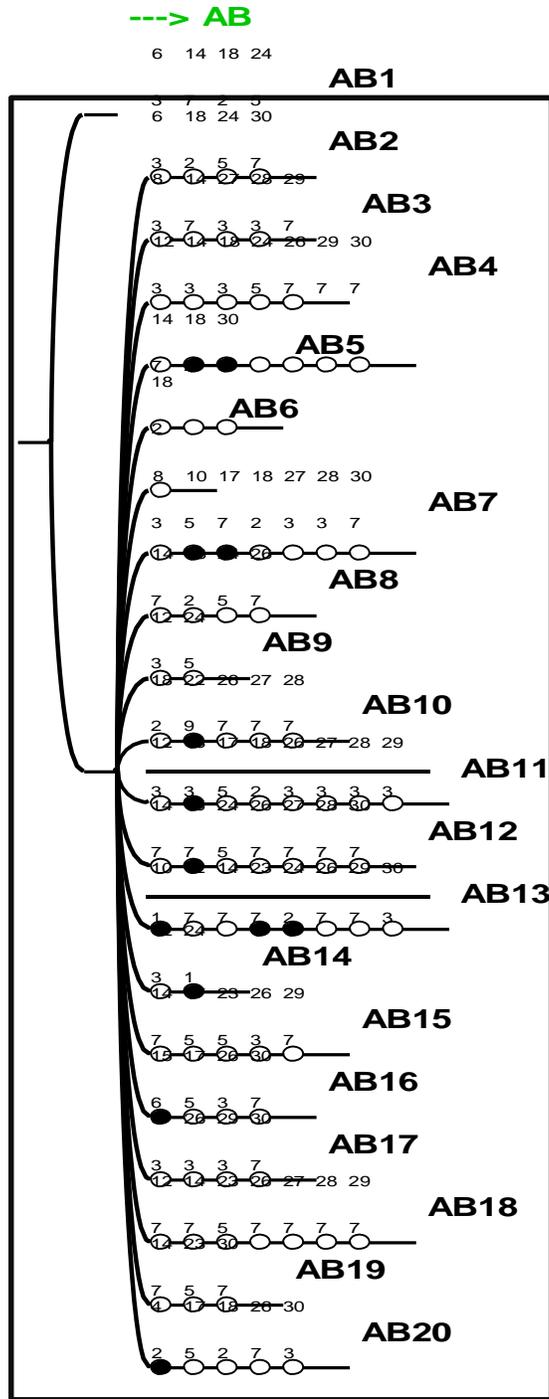


FIGURA 26. Árbol de consenso de *A. salmiana* sp. “maguey blanco” de la localidad de la Honda en Zacatecas (AB).

En el cladograma (FIGURA 26), los puntos blancos y sólidos representan la variación del carácter y los números en la parte superior e inferior del brazo, representan el carácter y el estado en que varían. Se observan rasgos novedosos como: forma de espinas (c18), longitud de espinas (c17), uniformidad en el tamaño de espinas (c22), distancia entre espinas (c24), forma de la hoja

(c10) y relación largo/ancho de la hoja (c14).

Los rasgos novedosos de los cladogramas consenso para cada grupo de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC y AB) se resumen en el CUADRO 13 y para *A. spp.* (AM, AT y AA) en el CUADRO 14.

CUADRO 13. Sinapomorfias presentes en *A. salmiana* de diferentes localidades.

AH	Carácter	AP	Carácter	AS	Carácter	AC	Carácter	AB	Carácter
	(estado)		(estado)		(estado)		(estado)		(estado)
2	17(3)	8	22(9)	3	14(7)	3	13(7)	4	14(3),18(3)
8	14(7)	9	15(5),24(7)	5	23(5)	10	10(6),15(7)	7	10(5),17(7)
13	30(7)	12	30(3)	13	27(5),28(5)	12	10(3)	10	22(9)
16	9(7)	16	23(5),26(7)	14	20(1)	13	20(3)	11	13(3)
19	6(3),9(3)	18	15(4)	19	18(3)			12	15(7)
								13	10(1),23(7),24(2)
								14	24(3)
								16	15(6)
								20	4(2)
T	6		7		6		5		13

T.- total de caracteres por grupo.

Los rasgos novedosos que se encontraron con mayor frecuencia en algunos individuos de *A. salmiana* de las diferentes localidades, fueron el color de la hoja (carácter 8), la relación largo/ancho de la hoja (carácter 14), la forma de la hoja (carácter 10), el número de espinas laterales (carácter 23) y el color de las espinas (carácter 20), entre otros. También se encontró el mayor número de sinapomorfias (En total 13) en los individuos de *A. salmiana* sp “maguey blanco” (AB) con respecto a los individuos de *A. salmiana* ssp. *crassispina* (En promedio 6, CUADRO 13).

Mientras que con respecto a los individuos de *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp. “maguey aguamielero” (AM, AT y AA), fueron el color de la hoja (carácter 8) y la forma del corte transversal de la hoja (carácter 15, los de mayor frecuencia; siendo en *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* en donde se encontraron menos sinapomorfias (CUADRO 14).

CUADRO 14. Sinapomorfias presentes en *Agave* spp.

AM	Carácter (estado)	AT	Carácter (estado)	AA	Carácter (estado)
2	24(5)	4	23(7)	4	15(5)
13	6(3),13(3),17(3)	5	8(1)	6	8(1)
19	15(8)			8	5(2)
				12	8(3)
Total	5	2			4

Para visualizar las relaciones entre los grupos de *A. salmiana* de las localidades de la Honda (AH, AB), Pinos (AP), Saldaña (AS) y Charcas (AC), así como de *A. spp.* de las localidades de Guadalupe (AM), Apozol, Jalpa y Juchupila (AT), así como Hacienda Nueva y Pánuco (AA) (FIGURA 27); se hicieron cladogramas de mayoría de la prueba estadística Bootstrap/JackKnife.

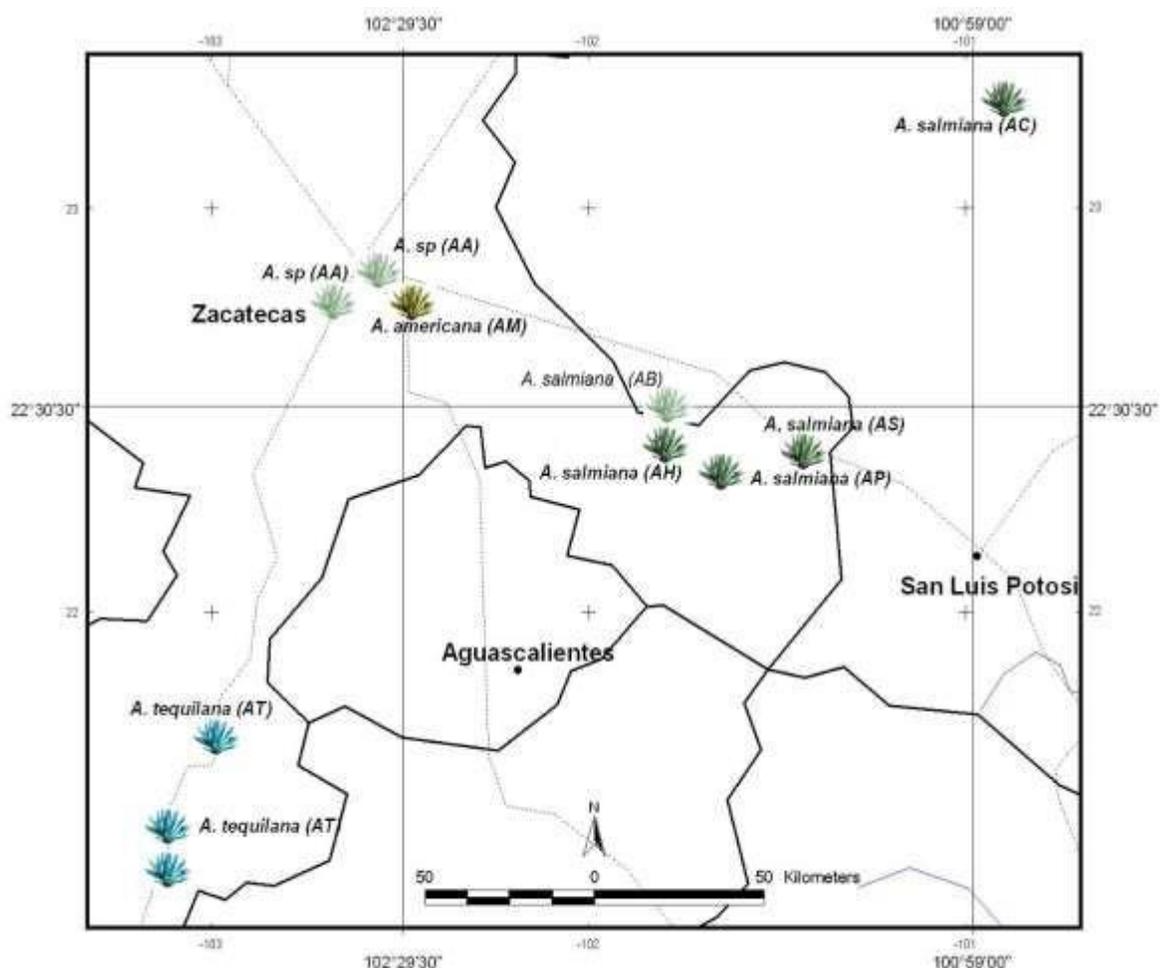


FIGURA 27. Ubicación de las localidades de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC y AB) y *A. spp.* (AM, AT y AA).

Se redujo el tamaño del dendograma para ver la imagen, para ello, solo se pusieron los valores de aquellos individuos de *A. salmiana*, que se sometieron también al análisis genético; además de poder comparar los resultados más delante (FIGURA 28). Para el caso de *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp. “maguey aguamielero”, se realizaron dos dendogramas, uno donde se comparan los datos de los individuos de AM, AT y AA (FIGURA 29) sin las excepciones; y otro, donde se comparan todos los valores para AM y AT (FIGURA 30) con dos grupos de *A. salmiana* (AH y AC); así como el respectivo cladograma morfológico (FIGURA 31).

Se obtuvieron valores de bootstrapping por arriba del 50% en todos los casos (FIGURAS 28-30). Se observó que los *A. salmiana* de la localidad de la Honda (AH y AB) todos se agruparon; mientras que los de la localidad de Pinos (AP) y Saldaña (AS), solo algunos se agruparon en otros grupos; mientras que el grupo de Charcas (AC) fue el más disperso (50%) (FIGURA 28).

En cuanto a *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *A. salmiana* sp. “maguey blanco” (AM, AT y AB) todos se agruparon entre sí en un grupo (FIGURA 29), y al comparar con los *A. salmiana* (AH y AC) se agruparon en dos grupos, con algunas excepciones para AC que se agruparon en el grupo de *A. spp.* (FIGURA 30). Al hacer el cladograma de *A. salmiana* y *A. spp.* (FIGURA 31) éstos se agruparon entre sí y se observan algunos rasgos novedosos entre los grupos, como el color (c8), intensidad del color (c9), presencia del segundo color (c1), tonalidad (c2), distribución del segundo color (c3), glausencia (c11) para los *A. spp.* (AM y AT); y anchura de la hoja (c13) y relación largo/ancho de la hoja (c14) para los *A. salmiana* (AH y AC).

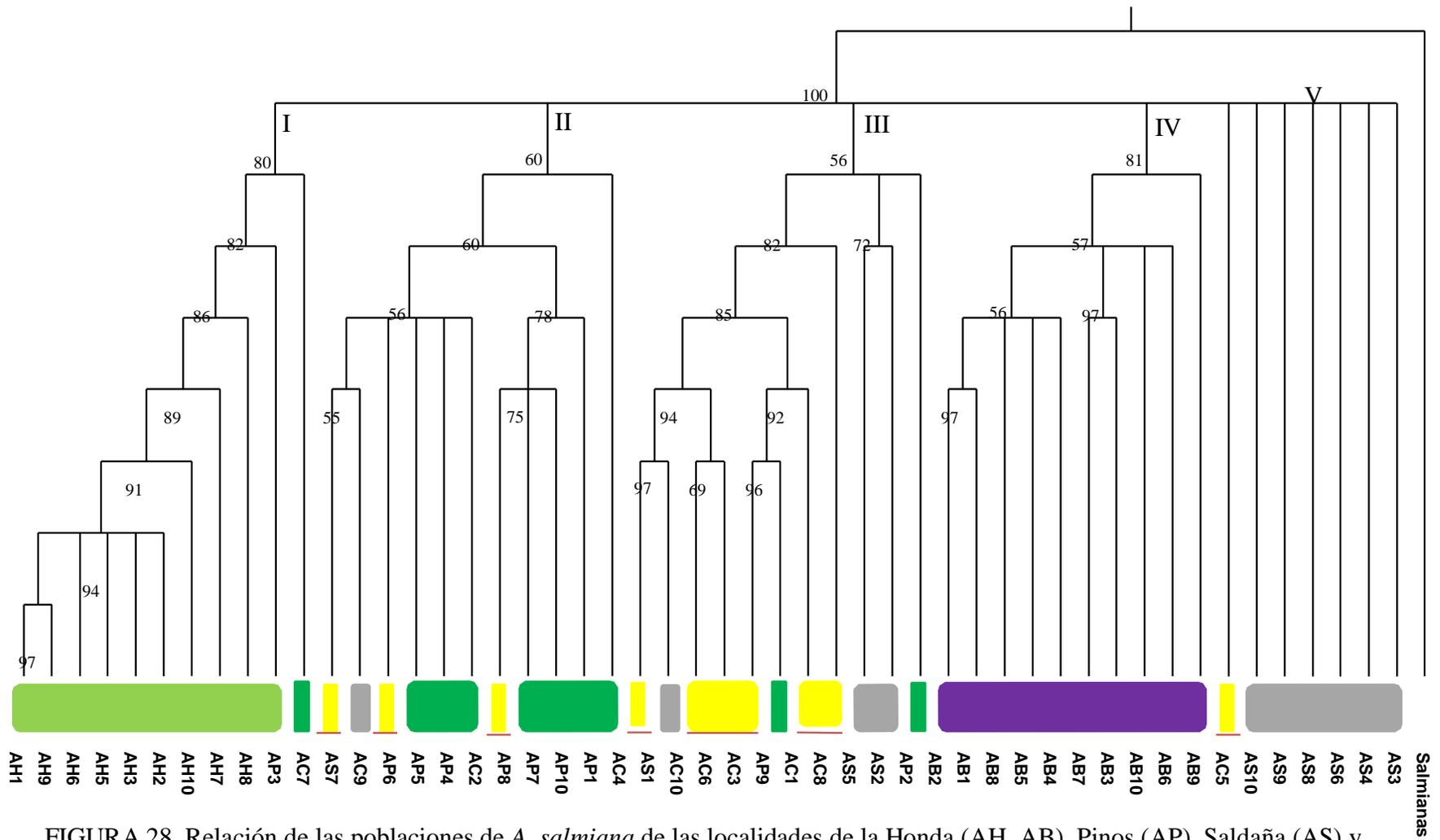


FIGURA 28. Relación de las poblaciones de *A. salmiana* de las localidades de la Honda (AH, AB), Pinos (AP), Saldaña (AS) y Charcas (AC).

Se aplicó la prueba estadística Bootstrap/JackKnife y se muestran los valores de soporte de las ramas. Se muestran en colores cada grupo de *A. salmiana*. AH ■, AP ■, AS ■, AC ■, AB ■. Se observa que los *A. salmiana* de la localidad de la Honda (AH y AB) todos se agruparon; mientras que los de la localidad de Pinos (AP) y Saldaña (AS), solo algunos se

agruparon. El grupo de Charcas, San Luis Potosí (AC) fue el más disperso (50%).

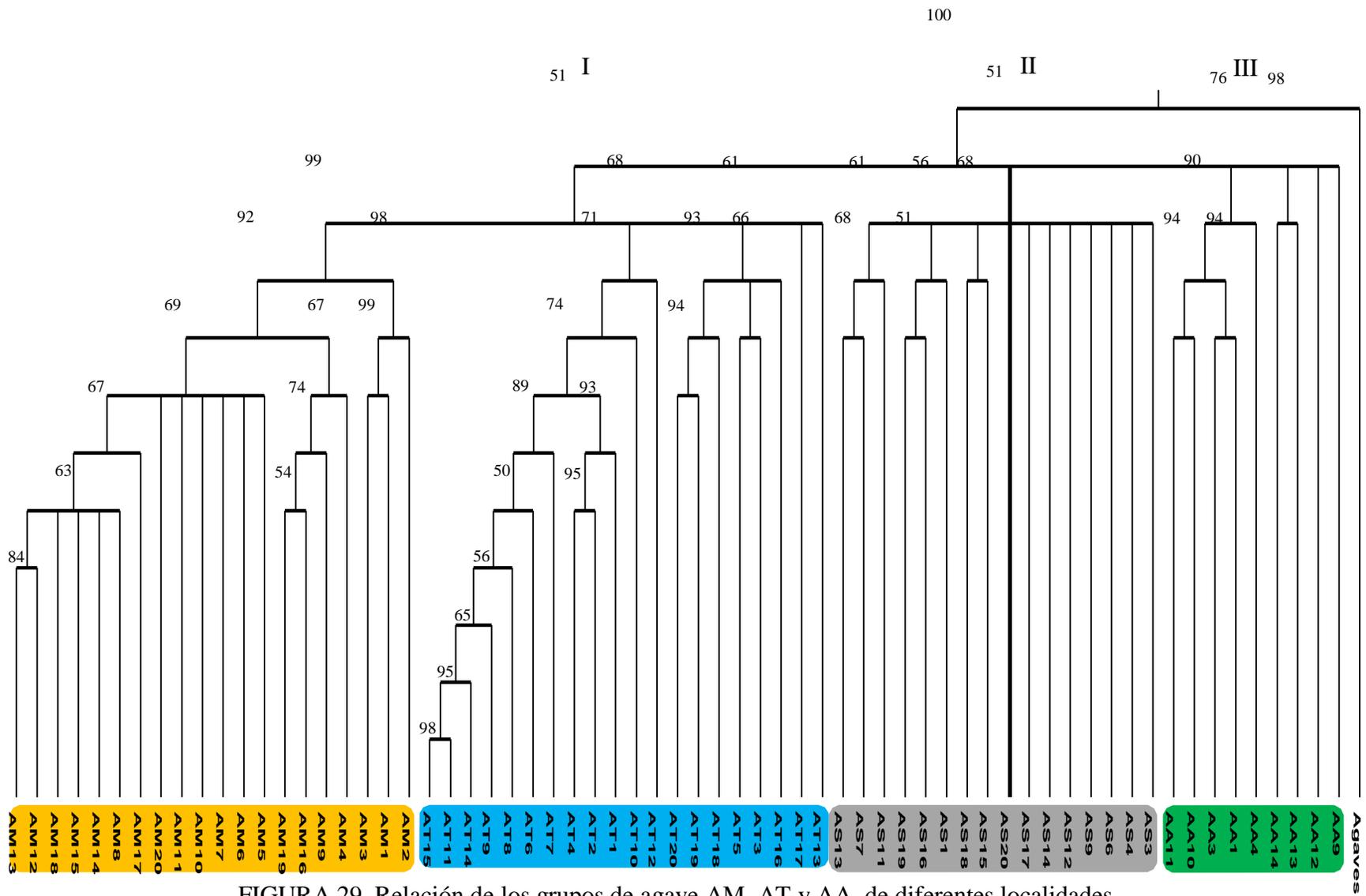


FIGURA 29. Relación de los grupos de agave AM, AT y AA, de diferentes localidades.

Se aplicó la prueba estadística Bootstrap/JackKnife y se muestran los valores de soporte de las ramas. Se muestran en

■ ■ ■ 69

colores cada grupo de *A. spp.* AM , AT , AA y AS . Los AM (*A. americana* var. *marginata*) y AT (*A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul*) se encuentran en el grupo I, mientras que los AS (*A. salmiana* ssp. *crassispina*) y los AA (*Agave* sp. “maguey aguamielero”) se encuentran en el grupo II y III respectivamente.

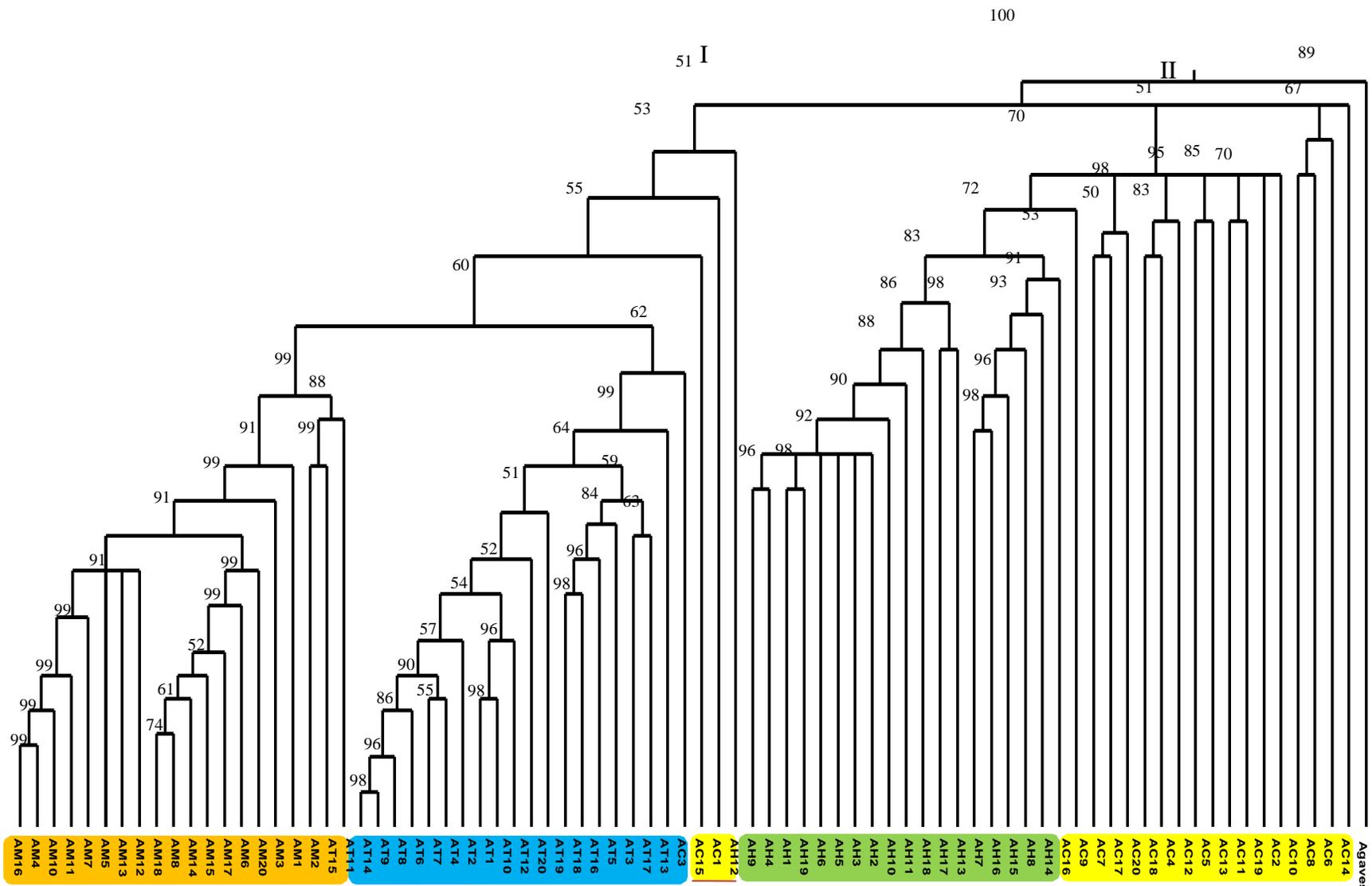


FIGURA 30. Relación de los grupos de agave AM, AT, AH y AC.

Se aplicó la prueba estadística Bootstrap/JackKnife y se muestran los valores de soporte de las rama. Se muestran en colores cada grupo: AM , AT y *A. salmiana*: AH y AC . Los AM y AT se encuentran en un grupo (I) diferente de

los AH y AC (II). Algunas excepciones del grupo de Charcas (AC) se encontraron en el grupo I (15%).

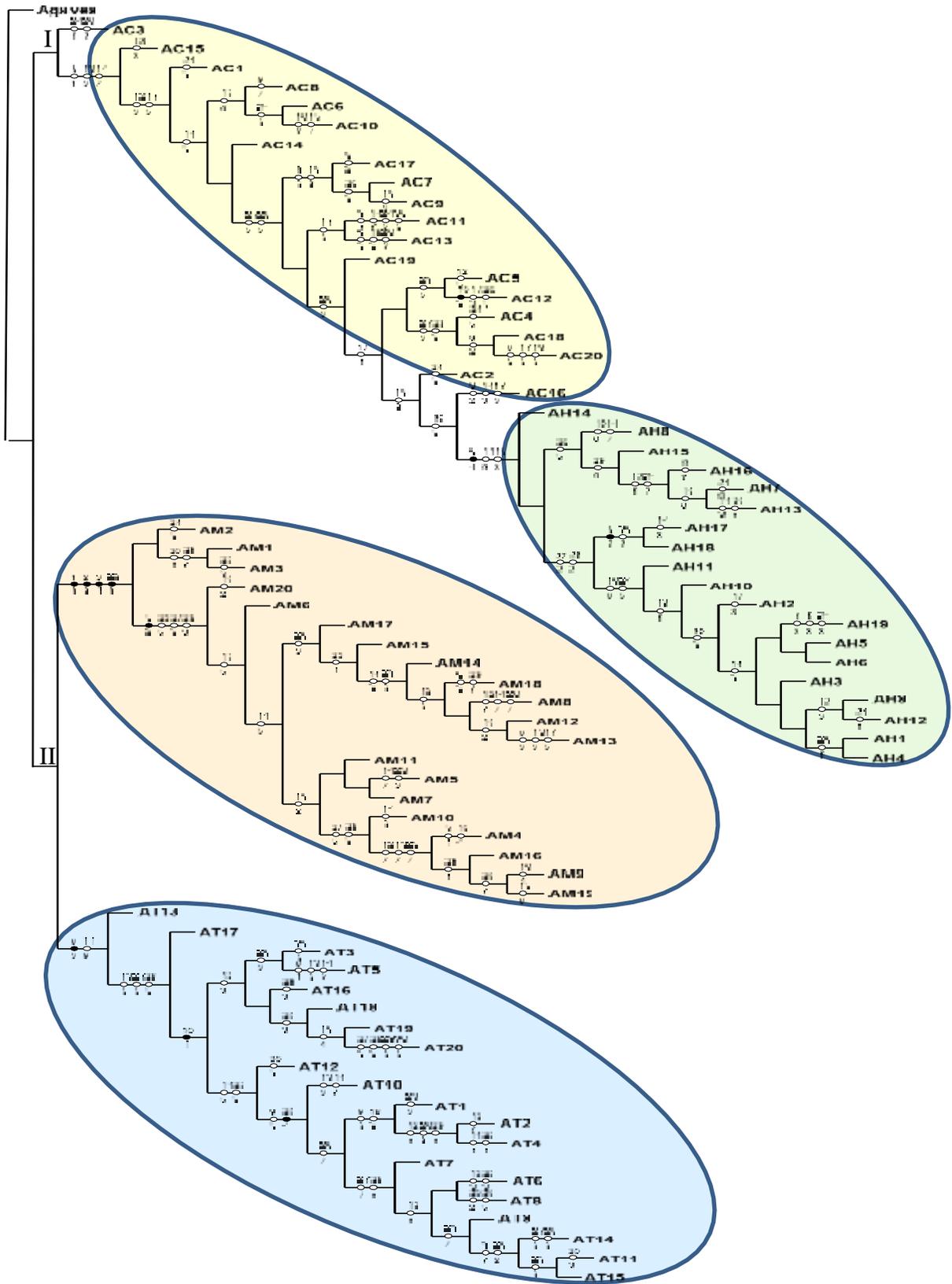


FIGURA 31. Cladograma que muestra las relaciones morfológicas de los grupos de agave AM, AT, AH y AC.

Finalmente, los datos obtenidos (tabla de tipos de agave y caracteres obtenidos) fueron analizados mediante PCA. Posteriormente fueron analizados los Scores, los cuales nos dan la relación existente entre los elementos u objetos (tipo o clase de agave) y loadings, los cuales nos indican que variables (caracteres) son las más influyentes en el comportamiento o estructura de los datos observados en los scores. Este análisis definió tres grupos (FIGURA 32), que coincide en parte con los resultados observados en la FIGURA 28. El primer análisis de PCA se llevó a cabo sobre los agaves denominados como AH y AB de las localidades de la Honda, AP de Pinos, AS de Saldaña y AC de Charcas.

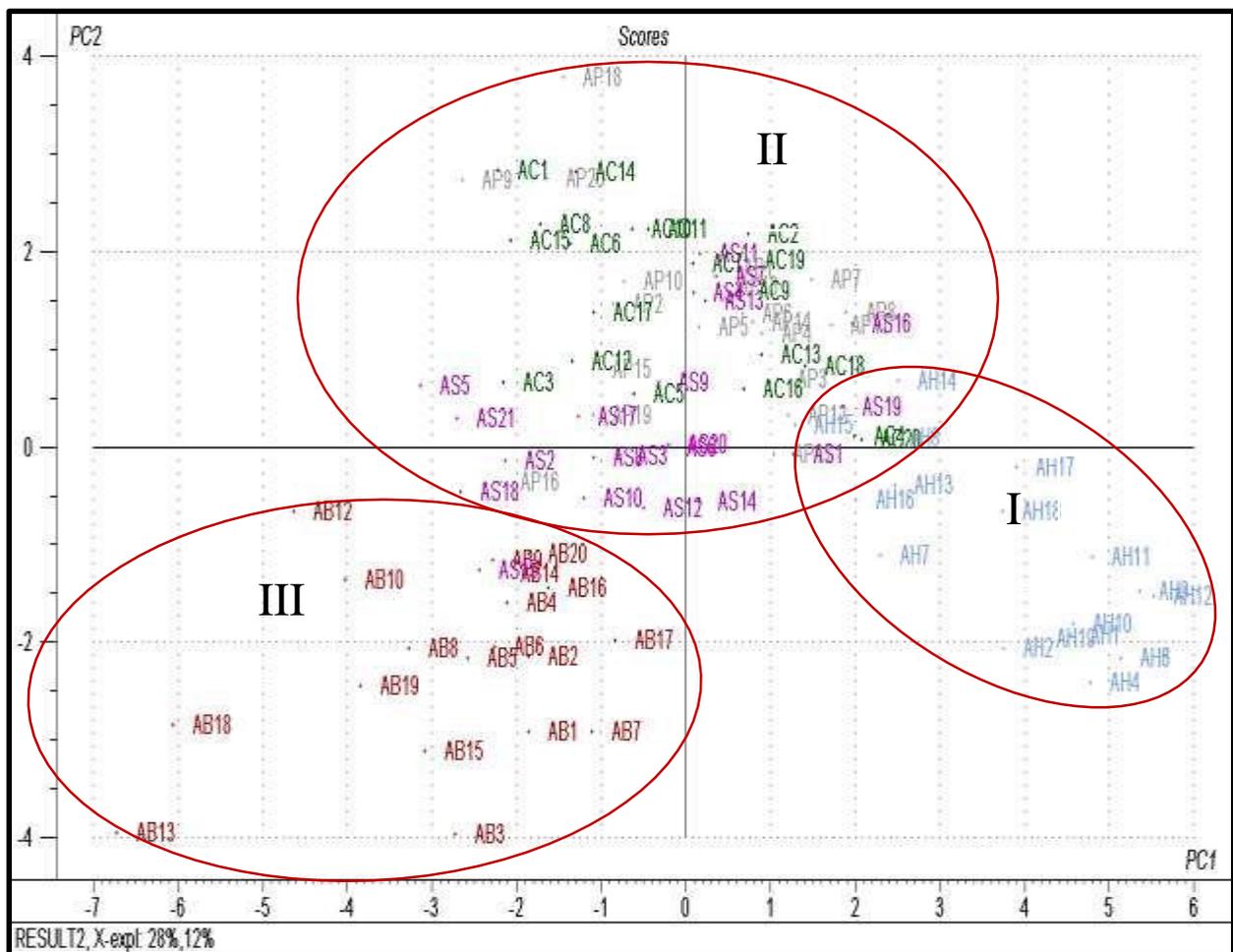


FIGURA 32. Gráfico de scores que muestran la dispersión de poblaciones de *A. salmiana* por análisis de componentes principales (n=100 agaves). Se muestran las poblaciones de *A. salmiana* AH (color azul) y AB (color rojo) de las localidades de la Honda, Pinos (AP, color gris), Saldaña (AS, color morado) y Charcas (AC, color verde). Las agrupaciones están marcadas en números romanos.

El gráfico de scores para PC1 y PC2 obtenido para estos agaves, muestra una evidente separación en tres grupos, los cuales denominamos como I, II y III, encerrados por elipses para una mejor identificación (véase la Figura 28). En el gráfico se puede observar que las componentes PC1 y PC2 explican el 40% de la varianza total de los datos, donde la primer componente (PC1) explicó el 28% de la variación de los datos; mientras que el segundo componente (PC2) el 12%. Asimismo, se puede observar que los *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la localidad de Charcas (AC), Pinos (AP) y Saldaña (AS) se encuentran relacionados entre sí (grupo II), indicándonos que, físicamente presentan características morfológicas similares entre ellos, y a su vez, diferentes a los *A. salmiana* ssp. *crassispina* (AH) y *A. salmiana* sp. (AB) de la localidad de la Honda, grupos marcados con I y III, respectivamente. La relación en el grupo II (AC, AP y AS), podría ser atribuido al intercambio directo o indirecto de material vegetativo entre los productores de agave-mezcal de la región de estudio. Lo anterior debido a que existen programas de reforestación para transplantar los hijuelos como un acto de conservación, recibiendo un pago económico por ello. En cuanto al grupo I (AH), podría ser por las características del sitio que varía de las demás localidades; además que no muestra mucho manejo en cuanto a su reproducción por parte de los productores. Se observa también que varios agaves de la localidad de la Honda, se mezclan con los del grupo II de las localidades de Pinos, Saldaña y Charcas (Agaves: AH8, AH14, AH15, AP11, AP12, AS1, AS19, AC4 y AC20). Para el caso de las poblaciones de AB (grupo III), es el único grupo de los *A. salmiana*, que no pertenece a la subespecie *crassispina*; ya que se le conoce como *A. salmiana* variante blanco y dentro del grupo se puede observar una excepción (Agave: AS15). También se muestran los caracteres morfológicos de los agaves, que mayormente influyeron en la distinción de los grupos en el componente 1 y 2 (FIGURAS 33 y 34). Entre ellos se encuentran los caracteres de textura (C4), tipo de margen de la hoja (C6), (C8), intensidad del color (C9), forma de la hoja (C10), glausencia (C11), longitud de la hoja (C12), anchura de la hoja (C13), relación largo/ancho de la hoja (C14), forma del corte transversal de la hoja (C15), longitud de la espina terminal (C17), forma de las espinas laterales (C18), número de espinas laterales (C23), distancia entre las espinas laterales (C24), diámetro de la roseta

(C26), número de hojas (C27 y C28), altura de la planta (C29) y prolificidad de hijuelos (C30).

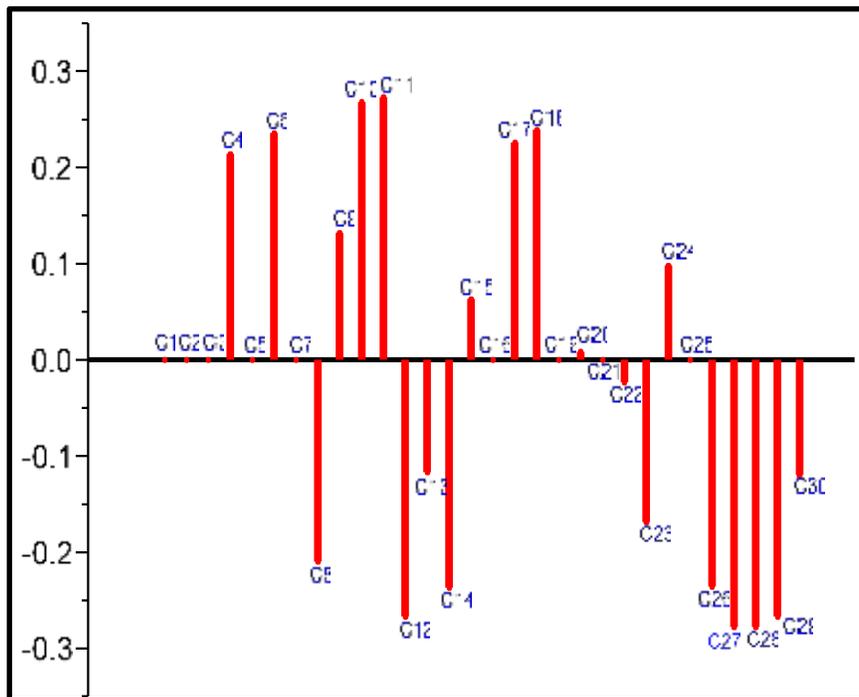


FIGURA 33. Gráfico de loadings en PC1, realizado sobre los caracteres morfológicos de *A. salmiana* (AH, AB, AP, AS y AC).

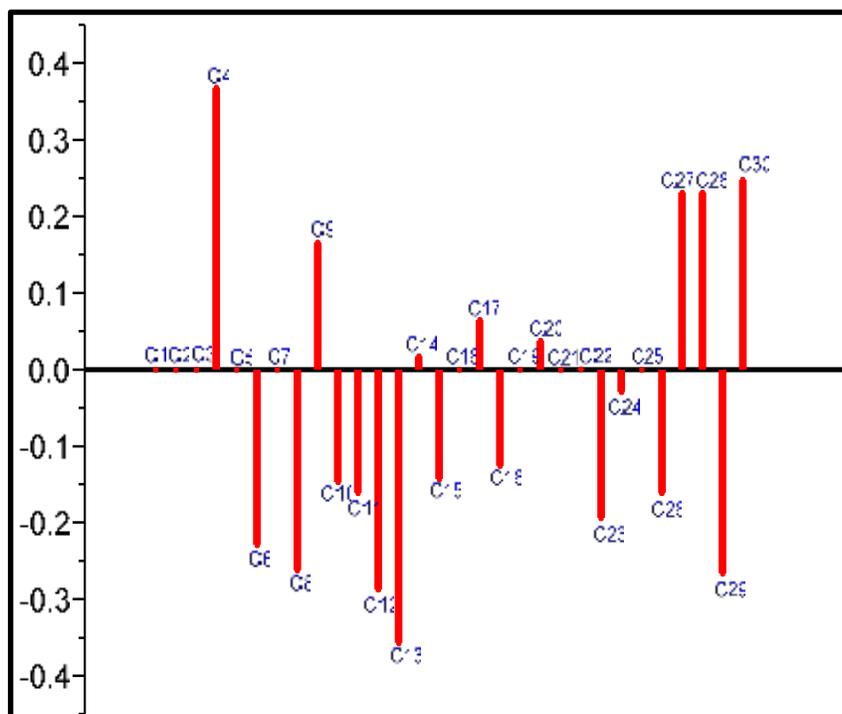


FIGURA 34. Gráfico de loadings en PC2, realizado sobre los caracteres morfológicos de *A. salmiana* (AH, AB, AP, AS y AC).

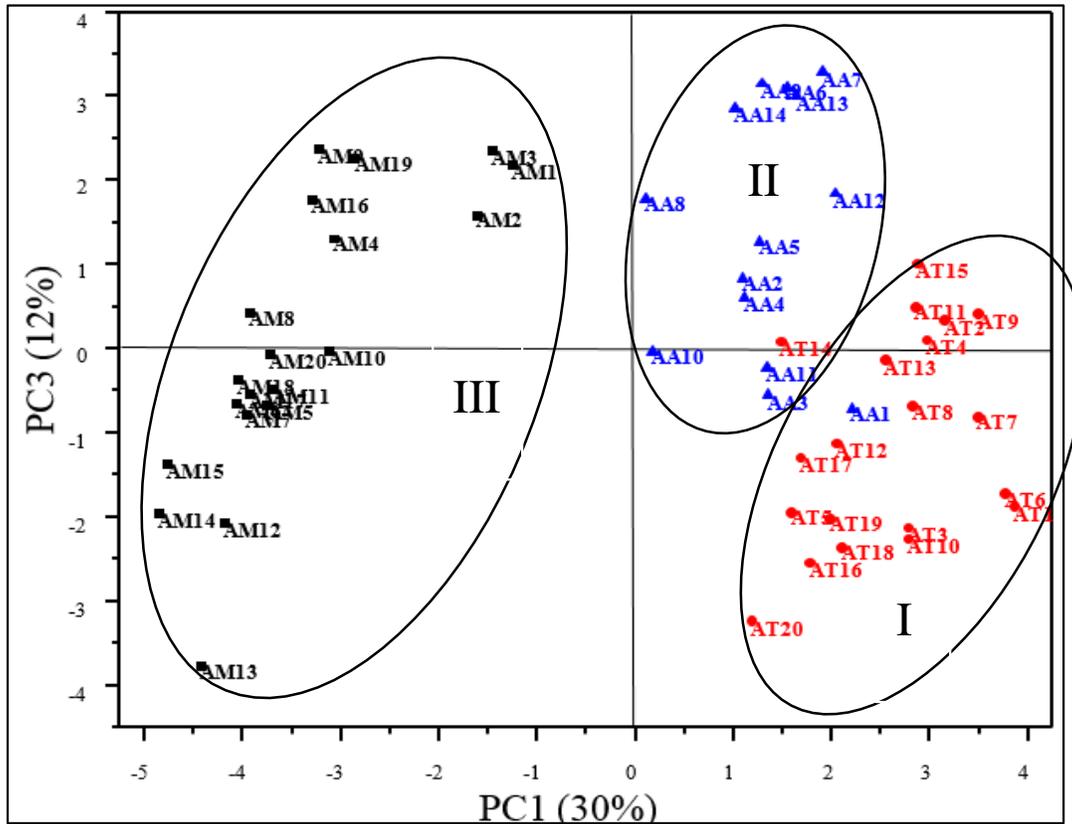


FIGURA 35. Gráfico de scores que muestran la dispersión de poblaciones de *A. spp.* por análisis de componentes principales. Se muestran las poblaciones de *A. americana* var. *marginata* (AM, color negro) de la localidad de Guadalupe, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT, color rojo) de las localidades de Apozol, Jalpa y Juchipila, así como de *A. sp.* “agave aguamielero” (AA, color azul) de las localidades de Hacienda Nueva y Pánuco. Las agrupaciones están marcadas en números romanos.

Los resultados indican que el primer componente (PC1) explicó el 30% de la variación de los datos; mientras que el segundo componente (PC3) el 12%. En el gráfico, se puede observar que la población de los *A. americana* var. *marginata*, están agrupados en un grupo (III); mientras que también los *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* (grupo I) y los *Agave* sp. “magueyes aguamieleros” (grupo II), solo que con algunas excepciones (agaves AA1 y AT14). Esto concuerda con lo observado en la FIGURA 29. También se muestran los caracteres morfológicos que mayormente influyeron en la distinción (FIGURAS 36 y 37). Entre ellos se encuentran los caracteres de textura (C4), diámetro de la roseta (C26), número de hojas (C27 Y C28) y altura de la planta (C29).

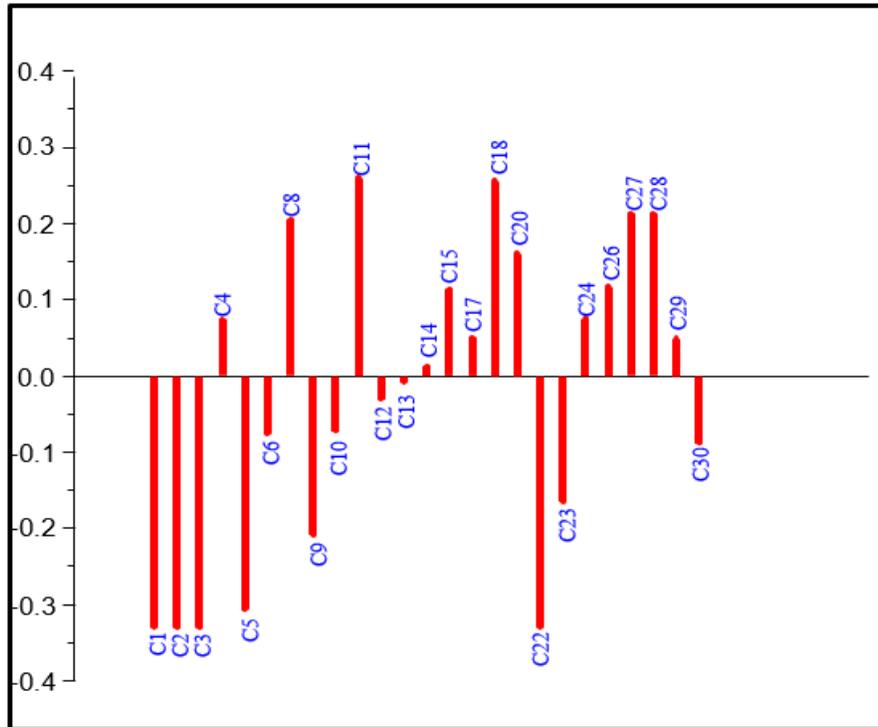


FIGURA 36. Gráfico de loadings en PC1, realizado sobre los caracteres morfológicos de AA, AM y AT.

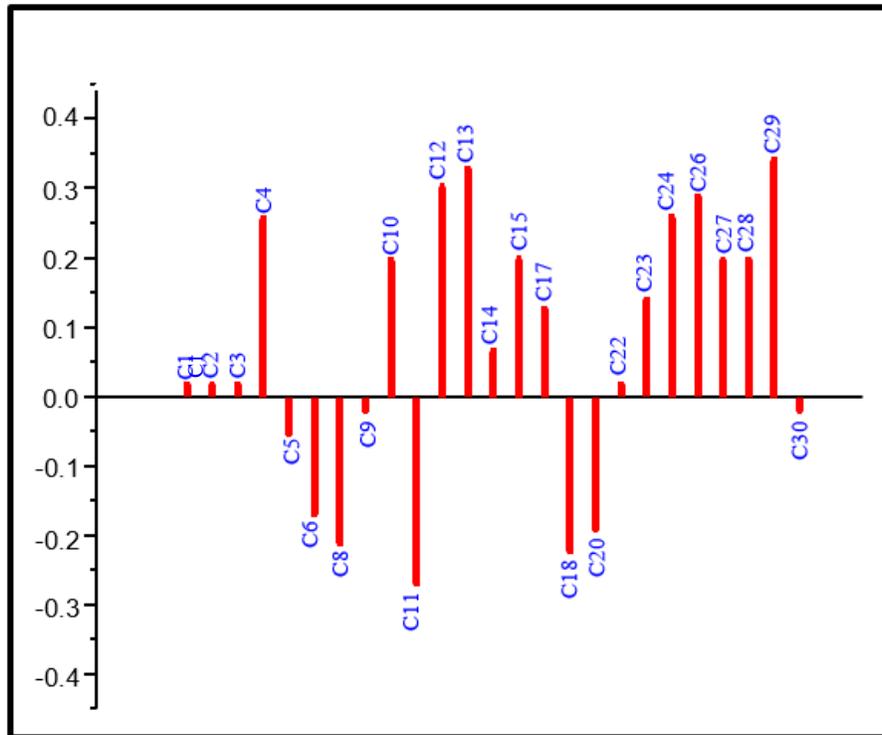


FIGURA 37. Gráfico de loadings en PC3, realizado sobre los caracteres morfológicos de AA, AM y AT.

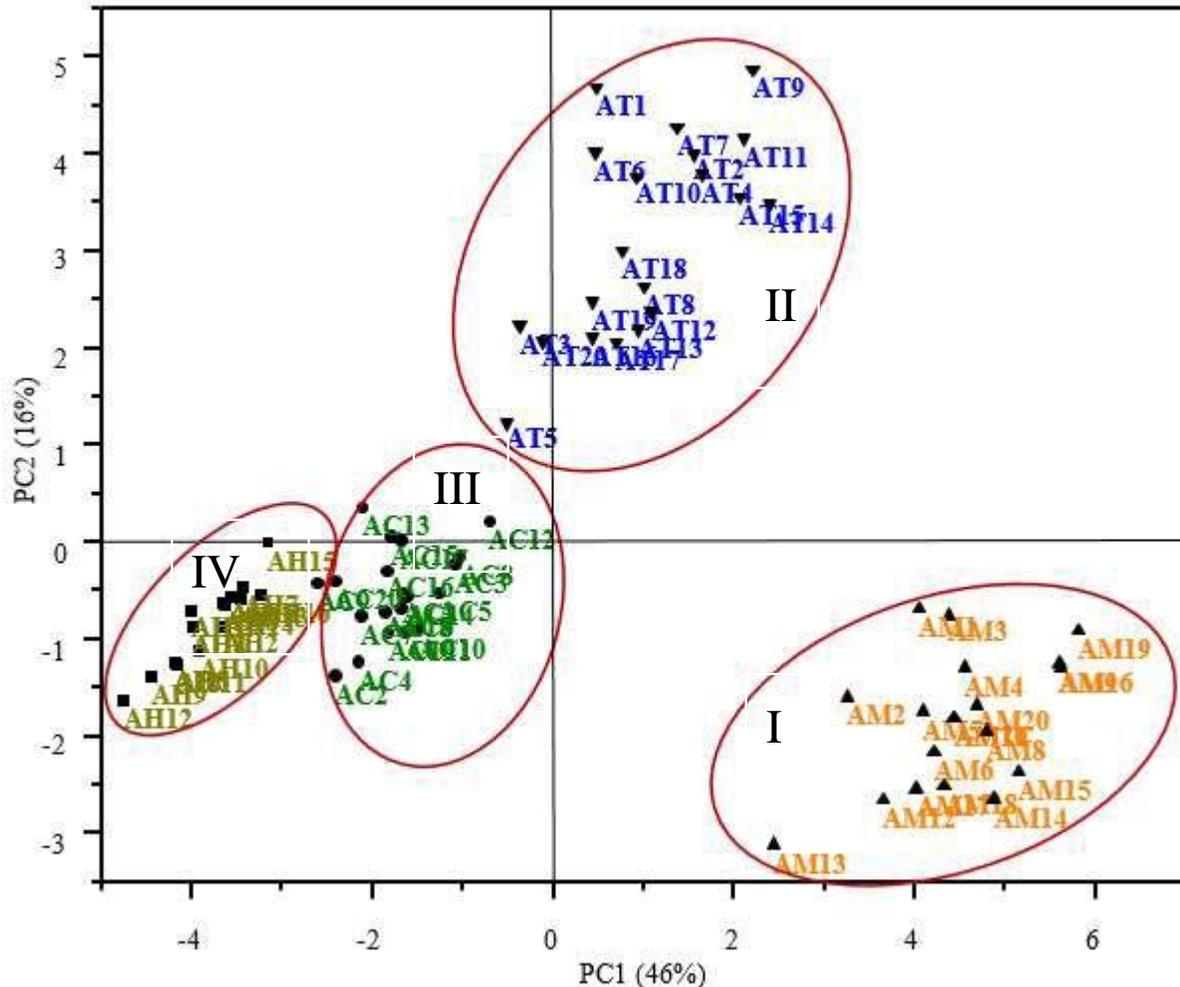


FIGURA 38. Gráfico de scores que muestran la dispersión de poblaciones de agaves por análisis de componentes principales. Se muestran las poblaciones de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de las localidades de la Honda (AH, color marrón) y Charcas (AC, color verde); así como de *A. americana* var. *marginata* de la localidad de Guadalupe (AM, color naranja) y *A. angustifolia* ssp. *tequilana* de las localidades de Apozol, Jalpa y Juchipila (AT, color azul). Las agrupaciones están marcadas en números romanos.

Los resultados indican que el primer componente (PC1) explicó el 46% de la variación de los datos; mientras que el segundo componente (PC2) el 16%. En el gráfico, se puede observar una comparación de los *A. salmiana* y los *A. spp.* los cuales cada población está concentrada en un grupo (I-IV). Se observa que los grupos de *A. salmiana* (AH y AC) están más relacionados por la cercanía de los grupos; mientras que el *A. americana* (grupo I), se encuentra más distante de los *A. salmiana*. Estos resultados concuerdan con lo visto en la FIGURA 30. También se muestran los caracteres morfológicos que mayormente influyeron en la distinción (FIGURAS 39 y 40).

PC1-loadings

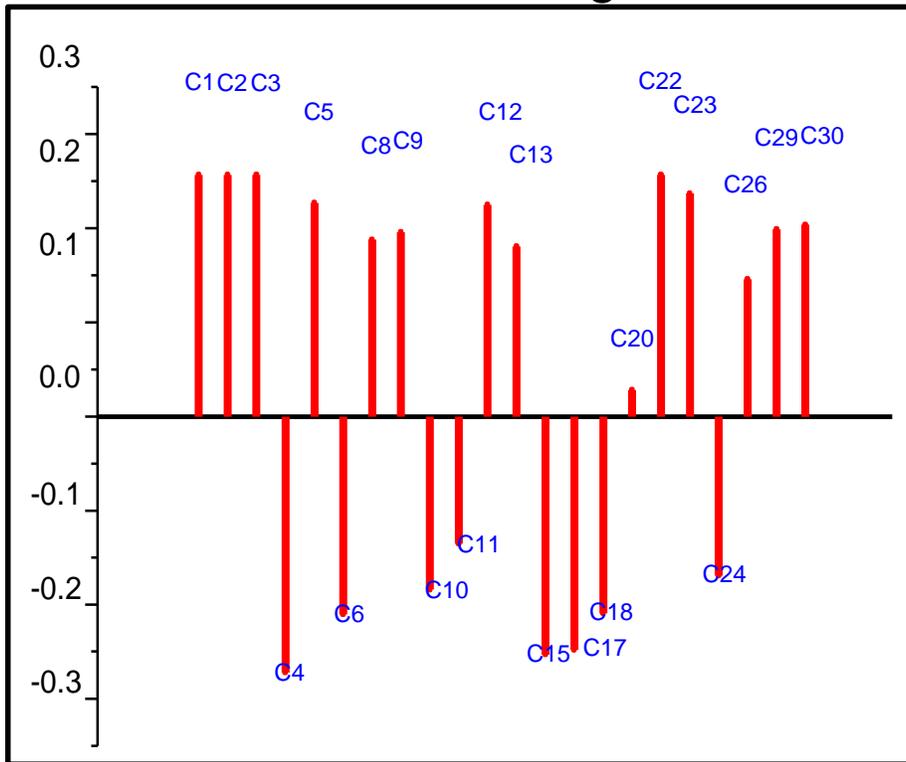


FIGURA 39. Gráfico de loadings en PC1, realizado sobre los caracteres morfológicos de los grupos de AH, AC, AM y AT.

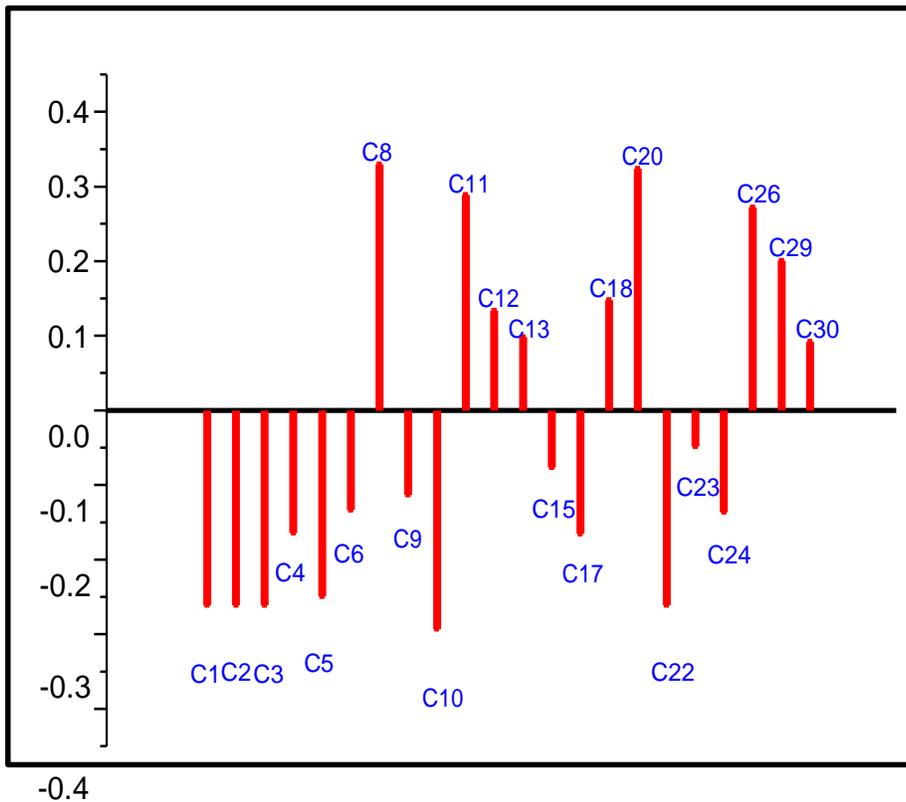


FIGURA 40. Gráfico de loadings en PC2, realizado sobre los caracteres morfológicos de los grupos de AH, AC, AM y AT.

Entre ellos se encuentran la presencia del segundo color en la hoja (C1), tonalidad del segundo color (C2), distribución del segundo color (C3), textura (C4), tipo de curvatura (C5), tipo de margen (C6), color (C8), intensidad del color (C9), forma de la hoja (C10), glausencia (C11), longitud (C12), anchura (C13), relación largo/ancho (C14), forma del corte transversal de la hoja (C15), longitud de la espina terminal (C17), forma de las espinas laterales (C18), color de las espinas laterales (C20), uniformidad en el tamaño de las espinas (C22), número de espinas (C23), distancia entre las espinas (C24), diámetro de la roseta (C26), número de hojas (C27 y C28), altura de la planta (C29) y prolificidad de hijuelos (C30).

Así mismo es posible que realizando otros estudios en los agaves como: una determinación física del color (midiendo la absorbancia en un colorímetro) o evaluando sus formas (tercera dimensión), complementaría a resolver las relaciones entre las poblaciones de agaves.

1.4. Conclusiones

El análisis adimensional permitió seleccionar las características morfológicas para hacer una comparación de valores morfológicos y bioquímicos relacionados con los azúcares, donde la variación no fue significativa en los diferentes poblaciones de magueyes mezcaleros de *A. salmiana* y de *A. americana* var. *marginata*, *A. agustifolia* ssp. *tequilana* y *Agave* sp.

El análisis de cladogramas y de componentes principales, resultó ser una herramienta útil para la agrupación de agaves con el fin de describir diferencias y semejanzas entre la misma especie de *A. salmiana* y otras especies como *A. americana* var. *marginata*, *A. agustifolia* ssp. *tequilana* y *Agave* sp. Encontrando que la mayor variación morfológica está en el complejo de *Agave salmiana*.

1.5. Literatura citada

AGUIRRE-RIVERA. J., S. CHARCAS, Y J. L. FLORES. 2001. El Maguey Mezcalero Potosino. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología, Gobierno del Estado de San Luis Potosí. Instituto de Investigaciones de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S.L.P, México. 87 p.

CADENA-IÑIGUEZ J. AVENDAÑO-ARRAZATE C., SOTO-HERNÁNDEZ M., RUIZ-POSADAS L.M., AGUIRRE-MEDINA J.F. ARÉVALO-GALARZA M. 2008. Intraspecific variation of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. in the state of Veracruz, Mexico. *Genet Resour Crop Evol* (2008) 55:835–847.

CADENA-IÑIGUEZ, J., SOTO-HERNÁNDEZ, M., ARÉVALO-GALARZA, MA. L., AVENDAÑO-ARRAZATE, C. H., AGUIRRE-MEDINA, J. F., & RUIZ POSADAS, L. 2011. Caracterización bioquímica de variedades domesticadas de chayote *Sechium edule* (Jacq.) Sw. comparadas con parientes silvestres. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 17, 45-55.

CONABIO: 2006. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Primera edición del Póster “Agave, mezcales y diversidad”. Página en red: <http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/mezcales/mMapa.html>; Sistema Integrado de Información Taxonómica (SIIT), Datos en línea <http://siit.conabio.gob.mx/> (consultada 15 enero, 2014).

EGUIARTE, L. E., SOUZA, V. S. Y SILVA M. A. 2000. Evolución de la familia *Agavaceae*: Filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 66:131-150.

ENDLICHER, S. F. L. 1841. *Genera plantarum secundum ordines naturales disposita*. Vienna (1836-1840): Beck.

ESBENSEN K.H. 2005. *Multivariate Data Analysis – In Practice*, fifth ed., CAMO Process AS, Esbjerg, Denmark.

GARCÍA-MENDOZA, A., 1995. Riqueza y endemismo de la familia *Agavaceae* en México, En Linares E., Dávila P., Chiang F., Bye R. y Elías T., eds. *Conservación de plantas en peligro de extinción: Diferentes enfoques*. Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, México. 51 – 75. pp.

GARCÍA M. A. J. 2007. Los agaves de México. *Ciencias*. 87:14-21.

GENTRY, H.S. 1982. *Agaves of Continental North America*. University of Arizona Press. Tucson, Arizona. USA.

GOLOBOFF, P. 1999. *NONA (NO NAME) ver. 2* Published by the author, Tucumán, Argentina.

GONZÁLEZ C., A. Y A. J. W. SCHEFFEY. 1964 Los recursos espontáneos y su economía en: E. Beltran (Ed.). *Las Zonas áridas del centro y noroeste de México* IMRNR. México. pp:29-95.

GRANADOS, S. D. 1993. *Los agaves en México*. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 252 p.

- LINDSAY, I. SMITH. "A tutorial on principal components analysis". *Cornell University, Ithaca* (2002).
- MACEDO E., M. 1950. Manual del magueyero. Ediciones Agrícolas Trucco. México. 160 p.
- MARTENS H, NAES T. 1989. Methods for Calibration, in *Multivariate Calibration*, Wiley, Chichester, England.
- MARTÍNEZ M., R. 1988. Dinámica poblacional de las magueyeras silvestres en el altiplano Potosino-Zacatecano. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Chapingo. México. 90 p.
- MARTÍNEZ-MORALES, R.; MEYER, B. E. 1985. A demographic study of maguey verde (*Agave salmiana* ssp. *Crassispina*) under conditions of intensive utilization. *Desert Plants* 7, 61-64.
- MARTÍNEZ-SALVADOR M., VALDEZ-CEPEDA R., BELTRÁN-MORALES L.F., MURILLO-AMADOR B., TROYO-DIÉGUEZ E. AND ORTEGA-RUBIO A. (2005). Distribution and Density of Maguey Plants in the Arid Zacatecas Plateau, México. *Journal of Arid Environments*. 61(4): 525-534.
- NARVÁEZ-ZAPATA J. A. AND SÁNCHEZ-TEYER. L.F. 2009. Agaves as a raw materials: recent technologies and applications. *Recent Patents on Biotechnology*. 3:185-191.
- NOBEL P. S. 1998. Los incomparables agaves y cactus. Ed. Trillas. México. 211 p.
- NIXON, K. C. 1999-2002. WinClada ver. 1.00.08 Published by the author, Ithaca, NY, USA.
- PEARSON K 1901. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *The London, Edinburgh and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, Sixth Series 2, 559-572.
- REYES A., J. A. 1987. Evaluación de plantaciones de maguey mezcalero *Agave salmiana* Otto ex salm., spp. *crassispina* (Trel) Gentry en el municipio de Pinos, Zacatecas, México. Tesis Profesional. Escuela de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich. 87 p.
- ROJAS, S.B. 1979. Guía para realizar investigaciones sociales. Facultad de Ciencias Políticas y Sociales. Universidad Autónoma de México. México. 271 p.
- SNICS. 2007. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Guía Técnica *Agave* spp. Página en red: <http://www.sagarpa.gob.mx/snics/>; consultada 18 septiembre, 2014).
- STEARNS, W.T. 1957. An introduction to the 'Species Plantarum' and cognate botanical works of Carl Linnaeus. En: Linné, C. [W.T. Stearn, (ed.)]. *Species Plantarum*. A facsimile of the first edition, 1753. vol. 1: 1-176, London: Ray Society,
- SUKHATME, V.P. 1970. Teoría de encuestas por muestreo con aplicaciones. Fondo de Cultura Económica, México. 495 p.

TELLO, B. J. 1988. Análisis gráfico – tabular de dos poblaciones silvestres de maguey mezcalero (*Agave salmiana* Otto ex Salm, ssp. *crassispina* (Trel) Gentry) en el altiplano Potosino – Zacatecano. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 128 p.

CAPÍTULO 2. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENOTIPOS DE *Agave* spp.

2.1. Resumen

En sentido amplio, un marcador molecular es cualquier característica química o molecular medible, que es heredada según un modelo Mendeliano simple. En sentido más restringido, los marcadores moleculares son segmentos de ADN que se consideran como marcas o puntos de referencia para el análisis del genoma. Estos segmentos usualmente tienen variantes o sitios polimórficos que pueden ser identificados empleando diferentes estrategias y técnicas. Los marcadores moleculares o marcadores del ADN revelan sitios de variación de la secuencia de ADN. A diferencia de los marcadores morfológicos, las variaciones no se muestran por sí mismas en el fenotipo, porque pueden tener diferencias en un sólo nucleótido del gen en una secuencia repetitiva del ADN. La detección y análisis de la variación genética puede ayudar a entender las bases moleculares de varios fenómenos biológicos en plantas. Debido a que muchas especies de plantas no son sometidas a proyectos de secuenciación en gran medida por sus altos costos, una alternativa son los marcadores moleculares y su correlación con los fenotipos, que proveen información para la elucidación de la variación genética. Con el fin de analizar la variación polimórfica entre grupos de genotipos del complejo de *A. salmiana* y su relación con *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp., se identificaron fragmentos polimórficos generados a partir de muestras de ADN extraídos de hojas de hijuelos provenientes de agaves maduros de las diferentes localidades. Con los datos generados, se hicieron análisis de agrupamiento y se construyeron dendogramas de similitud, con el objeto de observar de manera gráfica, las agrupaciones. El análisis de agrupamiento permitió separar y definir agrupamientos de agaves, encontrando la existencia de diversidad genética entre el complejo de genotipos de *A. salmiana* (97.20% de variación). El uso de los marcadores moleculares permitió el estudio en las poblaciones de todos los agaves, ya que se estimó la diversidad genética entre especies y dentro de ellas.

2.2. Introducción

El conocimiento de la diversidad genética dentro y entre las poblaciones vegetales, así como del tipo de variación que conduce a la formación de nuevas especies, es parte esencial de los estudios sobre evolución (Nei y Kumar, 2000). Para determinar el polimorfismo genético y los niveles de diferenciación, los marcadores moleculares se han consolidado como una herramienta confiable porque utilizan las diferencias existentes en la secuencia del ADN para generar perfiles o huellas genéticas únicas para cada organismo (Barrett *et al.*, 1998; Agarwal *et al.*, 1999; Arnold *et al.*, 2002). Los marcadores moleculares corresponden a cualquier gen cuya expresión permite un efecto cuantificable u observable, que además puede detectarse fácilmente. Este tipo de marcadores pueden evaluarse desde que los individuos están en sus primeros estadios de desarrollo, y se pueden aplicar usando a todo el individuo o sólo parte de él (Nei y Kumar, 2000). Estos marcadores tienen ventaja sobre los morfológicos, ya que no varían con el ambiente ni dependen del estado fisiológico del individuo (Arcade *et al.*, 2000). El desarrollo de marcadores moleculares genéticos ha llevado a una intensa investigación y caracterización a nivel genético no sólo de las plantas de cultivo tradicionales sino también de muchas especies de plantas exóticas además de otros organismos tales como hongos, bacterias e insectos. La ventaja de los marcadores moleculares es su habilidad para obtener y utilizar información sobre los pequeños cambios genéticos dentro de poblaciones (polimorfismos fenotípicamente neutrales que ocurren naturalmente). La mayoría de las poblaciones naturales tienen relativamente altas frecuencias de tales polimorfismos debido a pequeños cambios al nivel del DNA tales como mutaciones puntuales, sustituciones de bases, inserciones, deleciones y translocaciones. Las nuevas tecnologías han permitido la detección de estos polimorfismos y han probado ser extremadamente eficientes en la discriminación de individuos. Los polimorfismos y los marcadores moleculares que los detectan, siguen las bases de la herencia mendeliana. La abundancia de marcadores moleculares, su presencia a través del genoma y su independencia de tejido específico y de efectos de medio ambiente y de desarrollo los hacen los marcadores genéticos ideales. Los marcadores moleculares son ahora ampliamente usados en estudios de diversidad y

filogenéticos y están siendo cada vez más aceptados como herramientas para la clasificación taxonómica (Marhold *et al.*, 2004, Sasanuma *et al.*, 2004, Furini y Wunder, 2004), además de los tradicionales análisis genéticos para propósitos de mapeo y mejoramiento. Existen diferentes tipos de sistemas de marcadores moleculares y algunos marcadores son más adecuados para ciertas aplicaciones que otros.

Los marcadores de ADN (o DNA, siglas en inglés) constituyen la nueva generación de marcadores moleculares (Avisé, 2004). Existen varias técnicas para identificar marcadores de ADN, las que se pueden agrupar en tres categorías: las de hibridación tipo *Southern*, las de reacción de polimerización en cadena (PCR, siglas en inglés) y las que combinan PCR o sus productos de ADN con la hibridación tipo *Southern*. La hibridación consiste en la formación de una molécula de doble cadena mediante el apareamiento o unión de bases complementarias de dos moléculas de una sola cadena. La hibridación tipo *Southern* explora las variaciones en la longitud o tamaño de los fragmentos de ADN ocasionadas por la restricción del genoma mediada por una enzima particular llamada endonucleasa (Cornide, 2002). Esta técnica comprende las siguientes etapas: primero se extrae el ADN del material que deseamos estudiar; luego se le adicionan enzimas de restricción (endonucleasas), las cuales cortan el ADN en fragmentos de diferente longitud; estos fragmentos son separados en geles de agarosa, para después realizar por capilaridad o al vacío la transferencia de los fragmentos a una membrana de papel de nitrocelulosa o de nylon (transferencia tipo *Southern*). Finalmente, se hibridan los fragmentos de la membrana con sondas marcadas (radiactiva o no radiactivamente) para visualizar y detectar las bandas hibridadas (Guillamon, 1998). Dentro de esta técnica se encuentran los marcadores de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, siglas en inglés) y las secuencias adyacentes que se repiten en número variable (VNTR, siglas en inglés).

La técnica de PCR, o reacción en cadena de la polimerasa, es una tecnología utilizada para sintetizar (multiplicar) *in vitro* fragmentos específicos de ADN con la finalidad de detectar una secuencia o gen de interés en el genoma del individuo en estudio. Dentro de esta metodología se encuentran los marcadores de ADN polimórfico amplificado al azar (*Random amplified polymorphic DNA* or RAPD, por sus siglas en inglés), PCR

iniciada con microsatélites (MP-PCR), polimorfismos en longitud de fragmentos amplificados (*amplified fragment length polymorphism* or AFLP, por sus siglas en inglés) y amplificación de huellas del ADN (*DNA amplification fingerprinting* or DAF, por sus siglas en inglés), entre otros (Hierro, 2007). Las cuales son técnicas usadas rutinariamente en estudios genéticos de ecología, evolución, taxonomía y filogenia en plantas (Rodríguez y Arencibia, 2002). Estas técnicas están bien establecidas y sus ventajas como desventajas han sido analizadas. En años recientes, nuevas clases de técnicas avanzadas están emergiendo principalmente de la combinación de técnicas básicas, aumentando su sensibilidad y la resolución. Las nuevas técnicas de marcadores también utilizan nuevas clases de elementos de DNA tales como los retrotransposones, microsatélites y marcadores basados en DNA de mitocondrias y cloroplastos, revelando variación genética incrementada del genoma (Agarwal, *et al.*, 2008).

Entre las metodologías que combinan la PCR o sus productos de DNA más la hibridación tipo Southern, están los RAHM y RAMPO (amplificación aleatoria del polimorfismo de microsatélites) (Cornide, 2002). El desarrollo y subsiguiente aplicación de marcadores moleculares ha incrementado grandemente el número de marcadores que pueden ser identificados entre dos progenitores y por consecuencia aumentar el poder del análisis genético en plantas como en animales. Los marcadores moleculares han revolucionado el análisis genético de plantas de cultivo donde juegan un rol central en el análisis de ligamientos, mapeos físicos, análisis de QTL (de *quantitative trait loci*) y selección asistida por marcadores (Syed, *et al.*, 2005). Recientemente uno de los marcadores más ampliamente usado, está basado en retrotransposones y conocido como SSAP (de *sequence-specific amplification polymorphism*); este sistema explota el polimorfismo insercional de los fragmentos repetidos terminales (LTR) de los retrotransposones presentes en todo el genoma.

Polimorfismos en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP's)

AFLP es una técnica que combina PCR y análisis de fragmentos de restricción para detectar polimorfismos debidos a cambios en el genoma (Simpson, 1997). La técnica consiste en la amplificación de múltiples regiones arbitrarias del genoma (Vos *et al.*,

1995). Se basa en la amplificación selectiva de los fragmentos de restricción de ADN ligados a adaptadores; utiliza iniciadores (*primers*, en inglés) con la secuencia complementaria al adaptador en el extremo 5 *prima* (') de la molécula e involucra cinco etapas (FIGURA 41): 1) Digestión del ADN genómico con dos enzimas de restricción: una de corte raro *EcoRI* (que reconoce secuencias de 6 nucleótidos) y otra de corte frecuente *MseI* (que reconoce secuencias de 4 nucleótidos) generando pequeños fragmentos de ADN. 2) Ligación de adaptadores específicos de doble cadena a los extremos de los fragmentos de ADN generados por la digestión. 3) Pre-amplificación, en el cual dos oligonucleótidos complementarios a los extremos de los adaptadores-ligados con un nucleótido preseleccionado en el extremo 3 *prima*, es empleado para amplificar las regiones que contienen el sitio de unión al oligonucleótido y al sitio de restricción. 4) Amplificación selectiva, en el cual los oligonucleótidos complementarios con tres o cuatro nucleótidos extra en el extremo 3 *prima* de los oligonucleótidos de la pre-amplificación, son empleados para amplificar subgrupos de los templados pre-amplificados; y 5) Los fragmentos resultantes de la segunda amplificación, son visualizados en picos en un equipo de secuenciación por capilares o en bandas por electroforesis en geles de poliacrilamida. El polimorfismo detectado por la presencia o ausencia de bandas es debido a las mutaciones en los sitios de restricción ó por inserciones o deleciones dentro de los fragmentos amplificados. Los AFLP son marcadores moleculares confiables y reproducibles. El número de polimorfismos por reacción identificado por AFLP es mucho más alto que aquéllos realizados por RFLP o RAPD. Además, no es necesario predeterminedir las secuencias de ADN genómico y se puede usar para organismos procarióticos y eucarióticos (Lin y Kuo, 1995). Las ventajas que ofrece la técnica (Gil-Vega, 1997) sobre otras son: a) Reproducibilidad y robustez, b) No requiere conocimiento previo del genoma y c) El número de polimorfismos detectado por esta técnica es mucho mayor que en otras.

1. Digestión del ADN genómico con enzimas de restricción:
EcoRI y *MseI*

Mezcla de fragmentos:



2. Ligación de adaptadores *EcoRI* and *MseI* a fragmentos digeridos



3. Pre-amplificación por PCR utilizando iniciadores *EcoRI/MseI* +1



4. Amplificación selectiva por PCR utilizando iniciadores *EcoRI/MseI* +3

Iniciador *EcoRI* marcado con compuesto fluorescente



5. Visualización de fragmentos amplificados

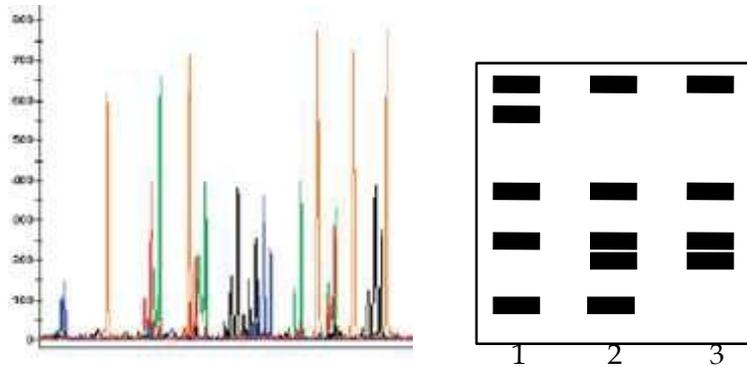


FIGURA 41. Etapas en el desarrollo de AFLP's.

En el presente trabajo se analizó la variación polimórfica entre grupos de genotipos del complejo de *A. salmiana* y su relación con *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp., para ello primero se probaron tres metodologías para la extracción de ADN de muestras de tejido de agaves que se colectaron *in situ*. Frecuentemente se requiere de ensayar diferentes métodos de aislamiento y aunque se cuenta con información sobre el aislamiento de ADN en agaves, la composición química entre especies del mismo género suele ser muy diversa (Mancilla y López, 2006), por lo que se probaron algunas metodologías en *A. salmiana* para garantizar aislar ADN de calidad amplificable para generar los polimorfismos. Una vez que se seleccionó la metodología de extracción, en la cual se obtuvo ADN integró, de pureza aceptable y en cantidad suficiente; se realizó el ensayo de AFLP. Los datos que se generaron, se vaciaron a una matriz para hacer un análisis de agrupamiento y de manera gráfica analizar la variación polimórfica de los genotipos entre y dentro de las especies de *A. salmisna* ssp. *crassispina*, *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* y *Agave* sp.

2.3. Materiales y métodos

2.2.1. Colecta de muestras.

CUADRO 15. Grupos de agaves.

Agave (código)*	Especie y lugar de muestreo
AS12	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Saldaña - Zacatecas
AS17	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Saldaña - Zacatecas
AS07	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Saldaña - Zacatecas
AS16	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Saldaña - Zacatecas
AS03	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Saldaña - Zacatecas
AP08	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Pinos - Zacatecas
AP19	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Pinos - Zacatecas
AP13	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Pinos - Zacatecas
AP17	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Pinos - Zacatecas
AP10	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Pinos - Zacatecas
AP11	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Pinos - Zacatecas
AP05	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Pinos - Zacatecas
AP06	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Pinos - Zacatecas
AH18	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de la Honda - Zacatecas
AH08	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de la Honda - Zacatecas
AH04	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de la Honda - Zacatecas
AH03	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de la Honda - Zacatecas
AH01	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de la Honda - Zacatecas
AH06	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de la Honda - Zacatecas
AH14	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de la Honda - Zacatecas
AH11	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de la Honda - Zacatecas
AC08	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Charcas – San Luis Potosí
AC17	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Charcas – San Luis Potosí
AC10	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Charcas – San Luis Potosí
AC20	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Charcas – San Luis Potosí
AC12	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Charcas – San Luis Potosí
AC14	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Charcas – San Luis Potosí
AC19	<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i> de la localidad de Charcas – San Luis Potosí
AB02	<i>A. salmiana</i> sp. (maguey blanco) de la localidad de la Honda - Zacatecas
AB06	<i>A. salmiana</i> sp. (maguey blanco) de la localidad de la Honda - Zacatecas
AB08	<i>A. salmiana</i> sp. (maguey blanco) de la localidad de la Honda - Zacatecas
AB01	<i>A. salmiana</i> sp. (maguey blanco) de la localidad de la Honda - Zacatecas
AB11	<i>A. salmiana</i> sp. (maguey blanco) de la localidad de la Honda - Zacatecas
AB16	<i>A. salmiana</i> sp. (maguey blanco) de la localidad de la Honda - Zacatecas
AA11	<i>A. sp.</i> (agave aguamielero) de la localidad de Panuco – Zacatecas
AA13	<i>A. sp.</i> (agave aguamielero) de la localidad de Panuco – Zacatecas
AA01	<i>A. sp.</i> (agave aguamielero) de la localidad de Hacienda Nueva – Zacatecas
AA03	<i>A. sp.</i> (agave aguamielero) de la localidad de Hacienda Nueva – Zacatecas
AM05	<i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> de la localidad de Guadalupe - Zacatecas
AM11	<i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> de la localidad de Guadalupe - Zacatecas
AM19	<i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> de la localidad de Guadalupe - Zacatecas
AT08	<i>A. angustifolia tequilana</i> Weber var. <i>azul</i> de Apozol – Zacatecas
AT12	<i>A. angustifolia tequilana</i> Weber var. <i>azul</i> de Jalpa – Zacatecas
ATOA	<i>A. angustifolia tequilana</i> Weber var. <i>azul</i> de Oaxaca
ANOA	<i>A. Angustifolia</i> Haw (maguey espadín) de Oaxaca

*Se pusieron en color para identificar los grupos de *A. spp.* y para su análisis en los dendogramas.

En el CUADRO 14, se muestran solo los agaves que se utilizaron para el análisis de marcadores moleculares y de los cuales se describieron previamente en el CUADRO 8 (Pág. 40) y la FIGURA 27 (Pág. 64). Se colectaron y transplantaron hijuelos a macetas con sustrato comercial (peat moss) previamente esterilizado en autoclave a 121 grados centígrados (°C) por 15 minutos (min); con el fin de transportar a un vivero cerca del laboratorio donde se procesaron las muestras para la caracterización molecular. Estos hijuelos provenían de los agaves que se utilizaron en la caracterización morfológica.

2.2.2 Aislamiento de ADN.

Para probar los tres métodos de extracción y aislamiento de ADN, se tomó con guantes y con un bisturí estéril, aproximadamente una porción de 10 gramos (g) de tejido fresco del tallo, cogollo y hoja de los agaves, previamente limpiado con alcohol etílico al 70 por ciento (%). Las muestras se pusieron inmediatamente en nitrógeno líquido y se molieron en mortero de porcelana hasta obtener un polvo fino, las cuales después se almacenaron en congelación a -80°C. Se trituró en un solo evento, para no remoler la muestra excesivamente y evitar que se fraccioné el ADN.

2.2.2.1. Protocolo *PlantDNAzol*®.

Se pesaron 0.3g de tejido en un tubo eppendorf estéril de 1.5ml sobre una balanza previamente tarada. Luego se le agregó *PlantDNAzol*® en la siguiente proporción: 300µl de *PlantDNAzol*® por cada 0.1g de muestra de tejido. Se agitó por inversión tres veces y se puso a incubar durante 5 min a 25°C con agitación manual moderada. Se agregaron 300µl de Cloroformo y se agitaron manualmente para incubar durante 5 min a 25°C. Para la precipitación del ADN se centrifugó a 12000xg durante 10 min., se recogió la fase acuosa y se agregaron 225µl de etanol absoluto, se agitó por inversión en 6 u 8 ocasiones y se dejaron reposar 5 min a 25°C. Posteriormente se centrifugó a 5000xg durante 5 min y se retiró del sobrenadante (En algunos casos el ADN precipitado no es visible después de la centrifugación). Para el lavado del ADN, se preparó la solución de lavado *PlantDNAzol*-Etanol: mezclando un volumen de etanol por 0.75 volúmenes de etanol absoluto frío. Se mezclaron 300µl de la solución de lavado *PlantDNAzol*-Etanol con el ADN precipitado y se agitaron con vortex para dejar

reposar 5 min a 25°C. Después se centrifugó a 5000xg durante 5 min y se eliminó la solución de lavado, luego la pastilla se lavó con 300µl de etanol al 70% mezclando vigorosamente. Luego se centrifugó a 5000xg durante 5 min y después se desechó la solución de etanol por decantación para dejar secar la pastilla. Se re suspendió la pastilla agregando 70µl de solución buffer TE. Se mantuvo la proporción en todas las soluciones respecto a la cantidad de tejido usado y en el segundo ensayo se agregaron 3µl de RNasa (10mg/ml). Protocolo original (en inglés) en el APÉNDICE J.

2.2.2.2. Protocolo CTAB-STE (Falcón y Valera, 2007).

En un tubo eppendorf de 1.5 mililitros (ml), se pusieron 0.3g de tejido molido y se le agregaron 500 microlitros (µl) de la solución de CTAB y 500µL de STE (Sodio-Tris-EDTA), agitando hasta su disolución. Posteriormente se le agregó 65µl de SDS al 20% agitando vigorosamente por 5 min e incubo a 65°C por 10 minutos. Después se le añadió 325µl de acetato de potasio 5 Molar (M) frío e incubo a -20°C por 40 min. Se centrifugaron los tubos a 12000 gravedades (xg) por 30 min., y se filtraron las fases acuosas con un trozo de algodón (o gasa) estéril insertado en la boca del tubo, y sobre éste se recupero el sobrenadante en un tubo nuevo. Después se le agregaron 2/3 del volumen de sobrenadante obtenido con isopropanol frío (-20°C), se mezcla suavemente e incubo a -20°C por 1 hora (h). Posteriormente se mezcló suavemente y se centrifugaron los tubos a 12000xg a 4°C por 10 min. Se descartó el sobrenadante para dejar secar el botón de ADN y re suspender en 500µl de buffer TE. Se incubo a 65°C por 10 min. Se centrifugó a 12000xg por 10 min y se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo en el que se le agregaron 30µl de acetato de sodio 3M y 300µl de isopropanol frío (-20°C), mezclándolo suavemente. Se incubó a -20°C por 30 min. Luego se mezcló suavemente y se centrifugo a 4°C por 10 min., hasta formar una pastilla o botón (pellet) pequeño traslúcido, el cual es limpiado con etanol frío (-20°C) al 70%, mezclando con agitación manual por inversión. En algunos casos se consideró necesario repetir el lavado con alcohol al 70 %. Limpio el botón se centrifugó a 1000xg durante 10 min y se desechó el sobrenadante. Se rehidrato el botón de ADN con buffer TE, con un volumen que puede ir de 15µl a 150µL (Las extracciones realizadas se suspendieron en 70µl de buffer TE).

2.2.2.3. Mini-prep CTAB (Edwards, 2001; Abraham, 2009).

En un tubo eppendorf frío de 1.5ml, se pesaron 0.3g de tejido pulverizado previamente en nitrógeno líquido y se le añadieron 500µl de buffer de extracción CTAB e incubaron por 15 min., en agua previamente calentada a 60°C, mezclando de vez en cuando por inversión, para dispersar los grumos. Después se le añadieron 500µl de cloroformo y se mezclaron por inversión hasta formar una emulsión. Se centrifugaron a 12000xg durante 10 minutos a temperatura ambiente y se colocó la fase acuosa en un tubo de 1.5 ml para mezclar 2.5 µl de RNasa suavemente e incubar a 37°C durante 30 min. Posteriormente se transfirió la fase acuosa (superior) a un tubo nuevo y se le añadieron 0.6 volúmenes de isopropanol y se mezclaron por inversión para precipitar el ADN. Después se colocó la muestra a -20°C durante 10 min y luego se centrifugó a 12000xg por 5 min. Se decantó el sobrenadante y se lavó la pastilla dos veces con 500µl de etanol al 70% frío, centrifugando a 12000xg por 5 min y decantando el sobrenadante. Por último, se invirtió el tubo sobre papel absorbente y se dejó secar la pastilla a temperatura ambiente entre 5-10 min, para posteriormente re suspender en 30µl de buffer TE y almacenar en refrigeración a 4°C o en congelación a -20°C.

2.2.3. Cuantificación de la concentración de ADN.

Es posible determinar la concentración del ADN mediante el uso de un rango de absorbancia de 260-280 nm en un espectrofotómetro o visualizando el ADN en un gel utilizando un estándar de concentración conocida. Se utilizó un espectrofotómetro (modelo Q 5000 de marca Quawell®) ultravioleta (UV), el cual posee la ventaja de poder realizar lecturas con pequeñas cantidades de muestra (1-2µl) y que las lecturas se van archivando en un software que incluye el equipo. Al encender el equipo se limpió el punto de lectura con agua estéril y papel absorbente, se cargó la muestra blanco (2µl) y se cerró el brazo o tapa. Se realizaron tres repeticiones de las lecturas por muestra y al final se promediaron para tener menor margen de error. Entre cada muestra, se hizo una lectura del blanco, para corroborar si se presentan anomalías, ya que si cambiaba la curva de calibración que presenta el software entre cada lectura de la muestra blanco, se tenía que volver a calibrar. Al terminar la medición, el software hace un reporte en formato Excel, para archivarlo para su posterior análisis.

2.2.4. Electroforesis en geles de agarosa.

Se pesaron 0.8g de agarosa y se vaciaron en un matraz Erlenmeyer disolviendo en 100 ml de buffer TAE 1 X (40 mM Tris-acetato, 1 mM EDTA) para obtener una concentración de 0.8%. La solución se calentó en un horno de microondas hasta que desaparecían los grumos formados; observando continuamente el matraz y agitando hasta disolver la agarosa. Se dejó enfriar hasta una temperatura cercana a los 60°C, y se adicionaron 4.5µl de bromuro de etidio (10mg/ml). Se mezclaron bien y se vació el contenido a una cámara de electroforesis sumergida, previamente armada con su peine y deja gelificar. Cada muestra de ADN se preparó con 10µl de la muestra más 2µl de buffer de carga para ácidos nucleicos. Después se retira el peine del gel y se carga cada pozo o carril, con la muestra. Se vierte con cuidado el buffer TAE 1X para el corrimiento y se aplica una corriente constante de 80 Volts por 45 minutos. Junto con las muestras se corrió un marcador de longitud nucleotídica (λ) poniendo 4µl equivalentes a 25 microgramos (μ g) de ADN, dando un total de 100µg. Concluida la electroforesis, se llevó el gel al transiluminador y se encendió la lámpara de luz ultravioleta para visualizar las bandas teñidas con el bromuro de etidio. Después se realizó la captura de imagen en un foto documentador y se verificó la calidad e integridad del ADN genómico aislado.

2.2.5. Análisis por marcadores moleculares tipo AFLP.

Para la obtención de resultados reproducibles en los marcadores AFLP es indispensable DNA genómico de alta calidad. Los contaminantes presentes en el DNA de mala calidad pueden inhibir la restricción, resultando en una digestión incompleta que produciría luego de llevar a cabo la amplificación, patrones variables en las bandas o picos de AFLP. Aunque la cantidad, no es tan crítica como la calidad, una cuantificación de forma confiable del DNA aseguraría la uniformidad de los datos de AFLP entre múltiples individuos. Generalmente 100ng de DNA genómico por templado es suficiente. Es importante en todos los pasos de la técnica de AFLP mantener en hielo todos los componentes de las reacciones, en cuanto se descongelen.

La técnica consta de los siguientes pasos:

a) Digestión de ADN genómico.

Para la digestión se tomó 1 µl de ADN a una concentración de 100 nanogramos (ng) por microlitro, 0.5µl de enzima *Eco RI* (10U/µl), 0.3µl de enzima *Mse I* (10U/µl), 1.25µl de buffer RL 10X y se llevó con agua desionizada estéril a un volumen final de 12.5µl, se mezcló y se incubó a 37°C por 3 horas. Luego, se inactivaron las enzimas con temperatura a 70°C por 15 min.

b) Ligación de adaptadores.

Los fragmentos resultantes de la digestión se ligaron en ambos extremos a unos adaptadores específicos, añadiendo 0.3µl del adaptador *EcoRI/EcoRI* a una concentración de 5 picomoles (pmol), 0.3µl del adaptador *MseI/MseI* a una concentración de 50pmol, 1.2µl de ATP 10 milimolar (mM), 1.2µl de buffer RL 10X, 0.5µl de la enzima T4 ligasa (10 U/µl) y finalmente se ajustó a un volumen total de 12.5µl con agua desionizada estéril. La reacción se realizó a 16°C toda la noche.

c). Preamplificación.

Se realizaron diluciones 1:10 de las ligaciones anteriores y se transfirieron 2.5µl de la dilución a tubos de PCR en hielo; a éstos se adicionaron oligonucleótidos más una base selectiva *Eco RI* + A y *Mse I* + A de 50ng/µl cada uno, dNTPs 0.2 mM, 0.2µl de Taq ADN polimerasa (10U/µl), 2.5µL de buffer 10X de la taq ADN polimerasa, 0.75µl de MgCl₂ (50 mM) y agua desionizada estéril hasta alcanzar un volumen total de 23.5µl. Las condiciones de PCR fueron las siguientes: 94°C por 30 segundos (s), 56°C por 1min y 72°C por 1 min; y una temperatura final de mantenimiento de 4° C.

d) Amplificación selectiva.

Generalmente la amplificación selectiva de los fragmentos se lleva a cabo en una placa para PCR de 96 pozos, antes de comenzar debe determinarse como se van a acomodar las muestras y las combinaciones de primers en la placa.

El siguiente protocolo de PCR dúplex (Un iniciador de *Mse1* con dos iniciadores *EcoR1* marcados con fluorescencia) está basado en un volumen total de reacción de 11µl por juego de iniciador-templado. Es recomendable que se utilicen pares de

iniciadores con una temperatura de fusión similar. Se realizaron diluciones 1:40 de la amplificación previa y se transfirieron 2µl de esta dilución a tubos de PCR, donde se añadieron 0.2µl de dNTPs (10mM), 0.2µl de Taq ADN polimerasa (5U/µl), 1µl de buffer 10X de amplificación, 0.6µl de MgCl₂ (50mM) y oligonucleótidos más tres bases selectivas, los cuales fueron: 1.0µl de iniciador Rev Mse1+3 (30ng/µl), 0.5µl de iniciador Fw1 marcado con Fam EcoR1+3 (1µM) y 0.5µl de iniciador Fw2 marcado con Ned EcoR1+3 (1µM). Se ajustaron a un volumen de 11µl con agua desionizada. Luego se mezclaron suavemente y se centrifugó brevemente para bajar la mezcla, luego se colocaron en hielo, cubriendo con papel aluminio de preferencia. El color de la señal que emiten los fluorocromos que se emplearon, se especifican en el CUADRO 16. Este paso siempre se realiza en oscuridad para evitar la exposición de la luz a los oligonucleótidos que son fotosensibles.

CUADRO 16. Fluorocromos empleados para el secuenciador AB modelo 3730xl.

Nombre	Color	Color	Color	Color	Color	Utilidad de la
Matriz	Azul	Verde	Amarillo	Rojo	Naranja	Matriz
C ¹	6-FAM TM	TET	HEX TM	TAMRA TM		Genotipaje y microsatélites
D	6-FAM TM	HEX TM	NED TM	ROX TM		Genotipaje y microsatélites
D**	6-FAM TM	VIC [®]	NED TM	ROX TM		Genotipaje y microsatélites
F	5-FAM TM	JOE TM	NED TM	ROX TM		Genotipaje (AFLP's; Forense)
PowerPlex [®]	JOE	FL	TMR	CXR		Genotipaje Forense
G5	6FAM TM	VIC [®]	NED TM	PET [®]	LIZ [®]	Genotipaje y microsatélites
E5	dR110	dR6G	dTAMRA TM	dROX TM	LIZ [®]	SNPs (ABI PRISM [®] SNaPshot [®] kit)

Para AFLP's se utilizaron los fluorocromos 5-FAM (494-530nm), JOE (528-554nm), NED (546-575nm) y ROX (587-607nm). Las condiciones de PCR fueron: 94° C por 30

s, 65° C por 30 s y 72° C por 1 min (1 ciclo). 94° C por 30 s, seguido por un gradiente

que empieza en 65° C y baja cada ciclo 0.7° C, 72° C por 1 min, esto por 12 ciclos. Luego, 94° C por 30 s, 56° C por 30 s y 72° C por 1 min hasta alcanzar 23 ciclos.

e) Preparación de placa para secuenciador y análisis de datos.

El secuenciador AB 3730xl (FIGURA 42) tiene integrado un apilador de placas (hasta para 16 al mismo tiempo) y cada placa cuenta con 96 o 384 pozos, accesible en cualquier momento. Los volúmenes de las muestras para 96 pozos son de 10 a 50µL y de 5 a 30µL en placas de 384 pozos. Se colocaron en una placa de 96 pozos 1µl de cada PCR marcado con fluorocromo, 0.5µl de marcador de peso molecular (size standard ROX-rojo) y se ajustó con la cantidad necesaria de formamida desionizada para tener un volúmen final de 10µl).



FIGURA 42. Secuenciador AB 3730xl de Applied Biosystem

Una vez que terminó de trabajar el secuenciador, se generan unos archivos tipo Fasta con extensión .fsa, se importan los datos (*panels* y *bins*) que contienen la información necesaria para que el software GeneMapper ejecute la comparación de las muestras, con la descripción de tamaños de los marcadores, marcación del iniciador, porcentajes y número de repeticiones, etc. Después se crea un proyecto y antes que nada hay que revisar el marcador de peso molecular (*size standard ROX*), al cual se le debe indicar los parámetros de unidades relativas de fluorescencia (RFU por sus siglas en inglés), los picos de preferencia deben de estar dentro de la misma altura del marcador de peso molecular. Luego de la lectura visual se pasaron los datos de cualitativos a cuantitativos. Se recomienda ampliamente que estas correcciones visuales se hagan con dos

personas que analicen juntos la presencia o ausencia de picos en el electroferograma. Los resultados fueron reportados en una matriz con la cual se identificó la presencia de picos como (1) y la ausencia como (0); finalmente se exportó esta matriz al programa excel 2013, con el formato txt, requerido para continuar con el análisis. Se revisaron poco más de 1800 datos para cada agave, después en la matriz se eliminaron las filas que contenían el valor de 0 quedando solo 896 datos, luego se marcaron aquellas filas en que todos los individuos contenían el valor de 1 para realizar el cálculo de polimorfismos (número de bandas polimórficas menos el número de bandas totales entre el número de bandas totales por cien) de los grupos de agaves (APÉNDICE H. CUADRO 1). Con la matriz de datos analizada y revisada, se calculó el coeficiente de similitud (similitud/disimilitud) de Nei-Li (1979) y de distancia genética (índice de Nei) (Sneath y Sokal, 1973, Sokal, 1979). Como la mayoría de los análisis involucran muchos individuos, las matrices no son visualmente gráficas ni prácticas, por lo que se utilizó el método de promedio aritmético de grupos de pares no ponderados (UPGMA, por sus siglas en inglés) para el agrupamiento y construir el dendrograma (árbol o fenograma). Para ello, se usaron tres softwares *FreeTree*, *TreeView* y *FigTree* (Hampel *et al.*, 2001). Además se realizó una prueba estadística de Bootstrap, que realiza un remuestreo aleatorio de los datos, contribuyendo a probar la consistencia de los árboles, mediante la robustez, que es el grado de confianza de la rama (Felsenstein, 1985). Normalmente se pide un mínimo de 1000 hasta 5000 remuestreos para este análisis. Finalmente se obtiene un número sobre la rama o nodo que indica el porcentaje de veces que se repitió el nodo. Para una publicación, generalmente se eliminan los valores menores a 50.

2.3. Resultados y discusión

2.3.1. Aislamiento de ADN en *A. salmiana*

2.3.1.1. Ensayo usando *PlantDNAzolReagent*®.

Como primer ensayo, se probó el método *PlantDNAzolReagent*®, que es un reactivo comercial, que se usa de manera general para la extracción de ADN en plantas. Además la extracción se realizó primero solo en el tejido del cogollo del hijuelo, que es la parte más protegida de la planta. La concentración de ácidos nucleicos suele determinarse midiendo en espectrofotómetro a 260nm en la región ultravioleta. Dado que las proteínas absorben 280nm de absorbancia (A), se emplea el cociente de A260/A280 para calcular la pureza de los ácidos nucleicos. Así también una absorción en 230nm significa que la muestra ésta mezclada con carbohidratos, péptidos, fenoles, compuestos aromáticos u otras sustancias. En el CUADRO 17, se observa que la concentración de ADN que se obtuvo es baja, ya que generalmente se obtienen de 50 a 100µg/µl por cada 100 mg de tejido.

CUADRO 17. Concentración promedio de ADN aislado con el protocolo *PlantDNAzolReagent*®

Muestra	A260/A280	µg/µl
S1 DNAzol	1.66	22.83

Además la pureza debe estar entre 1.8 a 2.0 en el cociente de A260/280, siendo por abajo o arriba de estos valores no de buena pureza, como es el caso por este método que se obtuvo de 1.66; y el cual se corroboró en la electroforesis de ADN en el gel de agarosa al 0.8% (FIGURA 43).

En la FIGURA 43, se observó que conforme se aumentaba la concentración de ADN se observaban que el ADN genómico, estaba contaminado con la presencia de otras bandas, que por la naturaleza de su tamaño, corresponden a las fracciones de los ARN ribosomales. Siendo una solución el adicionar enzima RNAsa con el fin de degradar cualquier RNA presente en la muestra.

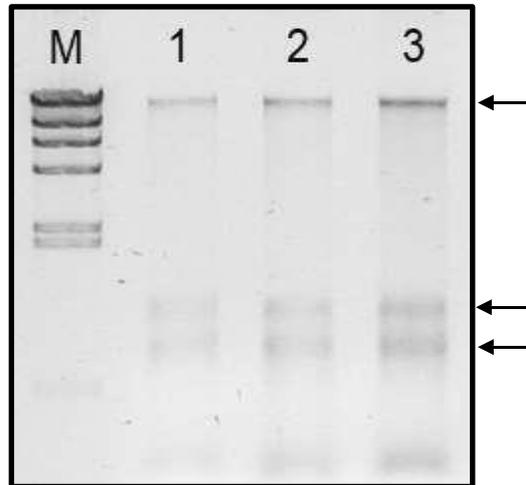


FIGURA 43. ADN aislado con *PlantDNAzolReagent®*.
M: 4µl de marcador Lambda/HindIII. Carriles 1: 2µl, 2: 4µl y 3: 6µl de ADN.

2.3.1.2. Ensayo con CTAB-STE y *PlantDNAzolReagent®*

Al realizar la extracción de ADN con el protocolo CTAB-STE y nuevamente con el protocolo *PlantDNAzolReagent®* pero adicionando enzima RNasa para degradar el ARN presente en la muestra, se obtuvieron los valores para las concentraciones que se muestran en el CUADRO 18.

CUADRO 18. Concentración promedio de ADN aislado con el protocolo CTAB-STE y *PlantDNAzolReagent®* mas RNasa.

Muestra	Descripción	A260/A280	A260/A230	µg/µl
1	S1 CTAB-STE	1.73	2.26	313.55
2	S2 CTAB-STE	1.82	2.23	361.07
3	S1 DNAzol	1.52	0.13	30.80

Se observó que con el método CTAB-STE, se obtienen rendimientos de ADN altos y con una pureza aceptable, en comparación con el método del *PlantDNAzolReagent®*. Solo que al realizar la electroforesis en el gel de agarosa (FIGURA 44), se observó que la muestra de ADN del cogollo de hijuelo de *A. salmiana* (carril 1), presentaba degradación, ello quizás porque la muestra de extracción ya tenía 10 días que se extrajo y solo estaba en refrigeración a 4°C. Así también la muestra del ADN del

cogollo de hijuelo de *A. salmiana* recién extraída (carril 2) presentó algunas impurezas; mientras que la muestra de ADN del cogollo de hijuelo de *A. salmiana* (carril 3) que fue extraída con el protocolo *PlantDNAzolReagent*® mas RNasa, solo se observa la banda del ADN genómico, ya sin las bandas de ARN ribosomales, anteriormente vistas.

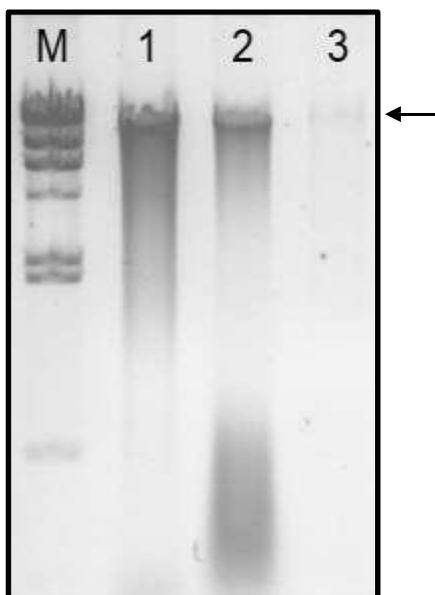


FIGURA 44. ADN aislado usando CTAB-STE.

M: 4µl de marcador Lambda/HindIII. Carriles 1: 2µl de ADN de 10 días, 2: 2µl de ADN recién extraído y 3: 2µl de ADN extraído con *PlantDNAzolReagent*® mas RNasa.

2.3.1.3. Ensayo por Mini-prep CTAB (Edwards, 2001).

Se realizó la extracción de ADN por el método del Mini-prep CTAB a partir de 0.1g de tejido del cogollo del hijuelo de *A. salmiana* (S1), como se realizó con los otros protocolos de extracción de los casos anteriores. Además se realizó la extracción aumentando la cantidad de tejido a 0.3g (S2) y 0.5g (S3). En el CUADRO 19, se observan los valores de las concentraciones de ADN que se obtuvieron con éste método.

CUADRO 19. Concentración promedio de ADN aislado con el protocolo Mini-prep CTAB.

Muestra	Descripción	A260/A280	A260/A230	µg/µl
1	S1 Mini-prep CTAB (0.1g)	1.66	1.99	310.41
2	S2 Mini-prep CTAB (0.3g)	1.58	1.42	351.87
3	S3 Mini-prep CTAB (0.4g)	1.69	2.02	401.41

En la FIGURA 45, se observa el corrimiento en un gel de agarosa al 0.8%, de los ADN extraídos por el método del Mini-prep CTAB.

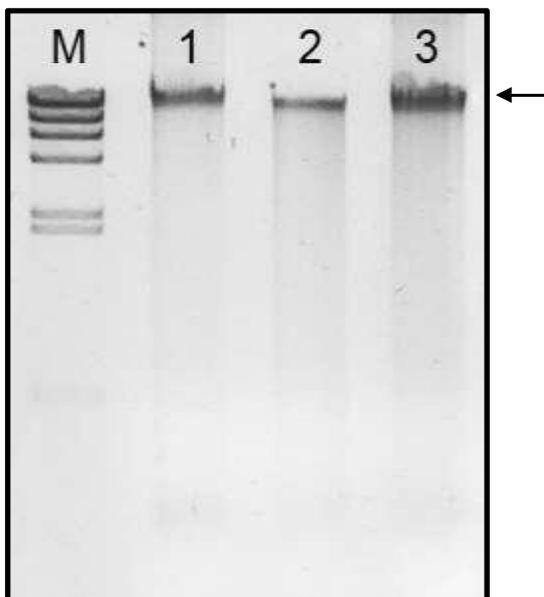


FIGURA 45. ADN aislado usando el método de Mini-prep CTAB.
M: 4 μ l de marcador Lambda/HindIII. Muestra de 2 μ l de ADN a partir de 0.1g (Carril 1), 0.3g (Carril 2) y 0.5g de tejido (Carril 3).

Se observó que al aumentar la concentración de tejido para la extracción de ADN por éste método, no aumentó substancialmente en los rendimientos de ADN obtenido (CUADRO 19) y en la electroforesis (FIGURA 45), se observa un barrido más pronunciado en la muestra que se obtuvo a partir de 0.5g de tejido (carril3), pudiendo ser algunos azucres, por lo que sería necesario ajustar el método para obtener más limpio nuestra muestra de ADN.

2.3.1.4. Ensayo con *PlantDNAzolReagent*® sobre diferentes tejidos.

Al ver que en los métodos de CTAB-STE y Mini-prep CTAB se obtuvieron mejores rendimientos en la extracción de ADN, pero con algo de impurezas, se optó por utilizar el método del *PlantDNAzolReagent*® más RNasa, ello porqué para realizar el ensayo de AFLP, es más importante tener un ADN de pureza aceptable, que la cantidad extraída. Una vez que se escogió el método, se probó también en diferentes tejidos (cogollo, hoja, raíz y tallo) y en otras especies de agave. En el CUADRO 20, se observan las concentraciones de ADN que se obtuvieron.

CUADRO 20. Concentración promedio de ADN extraído de varios tejidos de *A. spp.*

Muestra	Descripción	A260/280	Conc. µg/µl
1	Cogollo (<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i>)	1.69	102.82
2	Tallo (<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i>)	1.39	35.93
3	Raíz (<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i>)	1.63	34.35
4	Hoja proximal (<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i>)	1.86	38.47
5	Hoja distal (<i>A. salmiana</i> ssp. <i>crassispina</i>)	1.87	28.62
6	Cogollo (<i>A. tequilana</i> Weber var. <i>azul</i>)	1.67	169.78
7	Tallo (<i>A. tequilana</i> Weber var. <i>azul</i>)	1.57	122.53
8	Hoja proximal (<i>A. tequilana</i> Weber var. <i>azul</i>)	1.85	40.87
9	Cogollo (<i>A. americana</i> var. <i>marginata</i>)	1.67	142.92
10	Tallo (<i>A. americana</i> var. <i>marginata</i>)	1.64	21.35
11	Raíz (<i>A. americana</i> var. <i>marginata</i>)	1.63	16.47
12	Hoja proximal (<i>A. americana</i> var. <i>marginata</i>)	1.82	55.15

Se observó que en el cogollo (muestras 1, 6 y 9) de *A. spp.*, se obtuvo una concentración mayor de ADN que en los demás tejidos de la planta, sin embargo al realizar la electroforesis (FIGURA 45), se observó que el ADN extraído a partir de las hojas (carriles 4, 8 y 12) se encontraban de manera íntegra (sin degradación alguna) y con una mejor pureza, a diferencia que las muestras del cogollo (carriles 1, 6 y 9). Estos resultados también concuerdan con los obtenidos en el CUADRO 20, observando en la hoja un mejor valor de pureza en el cociente A260/A280; ello porque quizás el tejido de la hoja tenga menos carbohidratos que interfieren con el método de extracción.

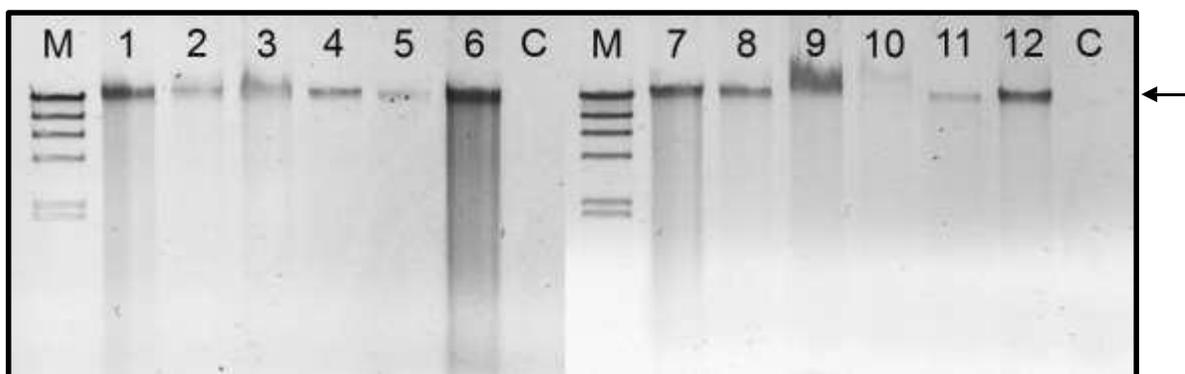


FIGURA 46. ADN aislado de varios tejidos de agaves.

M: 4µl de marcador Lambda/HindIII. C: control negativo. 2 µl de ADN de *A. salmiana* aislado de cogollo (carril 1), tallo (carril 2), raíz (carril 3), hoja proximal (carril 4) y hoja distal (carril 5). 2 µl de ADN de *A. tequilana* de cogollo (carril 6), tallo (carril 7) y hoja (carril 8). 2 µl de ADN de *A. americana* de cogollo (carril 9), tallo (carril 10), raíz (carril 11) y hoja (carril 12).

Los métodos CTAB-STE y *PlantDNAzolReagent*®+RNasa fueron quienes representaron un aislamiento de mayor calidad de acuerdo a los cocientes de pureza de mayor importancia, que son los de absorbancia A260/280 (Müller y Schweizer, 1994; Somma, 2007). El método mini-prep CTAB ha sido usado para aislar y posteriormente amplificar ADN en *A. tequilana* Weber var. *azul* por Abraham (2009) pero los resultados obtenidos en *A. salmiana* ssp. *crassispina*, no fueron favorables para garantizar la amplificación del material, estuvo próximo pero por debajo del valor mínimo (1.8) en cociente A260/280, por lo que se requiere hacer algunas modificaciones al protocolo, para evitar la presencia de proteínas en la muestra. De acuerdo a los ensayos realizados, se estimaron también los tiempos (CUADRO 21) para procesar las muestras para el aislamiento de ADN, según cada protocolo, en base a los registros de la bitácora de trabajo en laboratorio.

CUADRO 21. Tiempo empleado en varios métodos para aislar ADN de *A. spp.*

Protocolo	Tiempo estimado para procesar 10 muestras
<i>PlantDNAzolReagent</i> ®+RNasa	1 hora 40 min
CTAB-STE	4 horas 30 min
Miniprep CTAB	2 horas 15 min

La cantidad de ADN necesaria para una reacción de amplificación depende de la complejidad y del tipo de secuencia a amplificar. Normalmente en plantas se utilizan desde 10 ng hasta 200 ng dependiendo del rendimiento del ADN propio de la técnica de aislamiento y de la especie; por lo que se optó por utilizar el protocolo de *PlantDNAzolReagent*®+RNasa y en la hoja de *A. spp.*

Una vez que se contó con el método de extracción estandarizado (*PlantDNAzol Reagent*®+RNasa), se extrajieron los ADN en su mayoría solo del complejo de los *A. salmiana* (n=34), que son los del grupo de interés y también de algunos otros *A. spp* (n=11), a manera de comparación y como control. Estos se cuantificaron, se diluyeron a la concentración deseada y se volvieron a correr en geles de agarosa para verificar su integridad y pureza (FIGURA 47), para después someterlos a la metodología de los

AFLP (digestión, ligación, preamplificación, amplificación selectiva y visualización de los fragmentos generados).

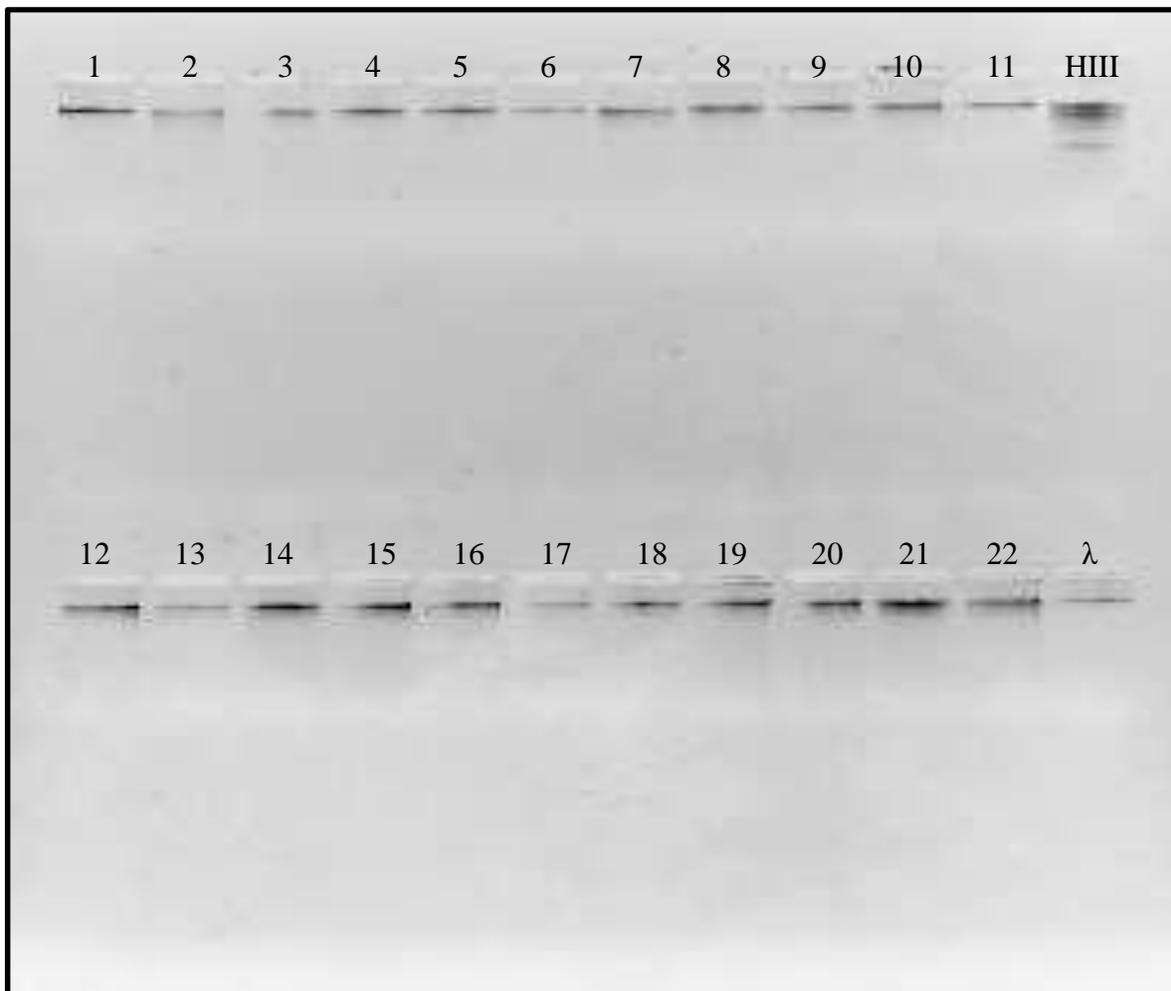


FIGURA 47. Electroforesis de ADN genómico de agaves. HIII (Hind III) y λ (Lambda).- son marcadores de ADN. Carriles 1-4: *Agave* sp (AA), 5-8: *A. americana* var. *marginata* (AM), 9-10: *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT), 12-16: *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Charcas (AC) y 17-22: *A. salmiana* sp. (AB).

2.3.2. Análisis de datos por marcadores moleculares tipo AFLP.

Con los datos de los marcadores moleculares, se generaron diferentes árboles (dendogramas o fenogramas) utilizando diferentes índices de similitud y distancia para su análisis individual y discusión (APÉNDICE I, FIGURAS I1-I12); aunque solo se discutió a manera de ejemplo un dendograma construido con el índice de similitud

(similitud/disimilitud) de Nei-Li (1978) y DICE (1945); y con una prueba estadística de bootstrap de 5000 réplicas (FIGURA 48), para obtener la robustez de los datos.

En el dendograma de similaridad (FIGURA 48), se observa que los agaves que corresponden a la misma especie, se agrupan entre sí (grupos marcados con líneas de diversos colores). Se observa en el árbol, que hay una separación en dos ramas. La I donde se encuentran los *A. angustifolia* (color azul claro) y la II, donde se encuentran la mayoría de los grupos de agaves y la cual a su vez se subdivide en el subgrupo A, donde se encuentran agrupados los *A. salmiana* sp. “maguey blanco” (líneas color rosa), los *A. americana* (líneas color amarillo) y los *A. sp.* “maguey aguamielero” (líneas color azul rey). Y el subgrupo B, en el cuál se encuentran todos los *A. salmiana* ssp. *crassispina* de los diferentes puntos geográficos (líneas color verde). Los datos muestran la consistencia de los resultados, ya que el análisis separó los agaves del complejo *A. salmiana* de todos los grupos de *A. spp.* (AA, AM y AT), que dieron valores de Bootstrap, todos por arriba de 97 (subgrupos c, d, e y f).

El grupo I, fue un control, ya que se pusieron cuatro *A. angustifolia*, siendo tres de ellos de la subespecie *tequilana* var. *azul*, pero de diferente localidad (Código AT06 de Apozol y AT12 de Jalpa Zacatecas; y ATOA donado de Oaxaca), los cuales se observan en la FIGURA 48, que se agruparon entre sí, ya que se ha estudiado que la subespecie *tequilana* var. *azul*, es considerada un clon y que existen reportes de que no presenta variabilidad genética significativa, entre ellos, así lo muestran los resultados de AFLP realizados para estos agaves (Gil *et al.*, 2001 y Abraham, 2004). También en este grupo se encuentra un *A. angustifolia* Haw o conocido también como “maguey espadín” (Código ANOA donado de Oaxaca), que es el antecesor de la subsp *tequilana* var. *azul* y que se encuentra en el mismo grupos de los *A. angustifolia* pero más distante con respecto a los otros agaves del mismo grupo (FIGURA 48, líneas color azul claro).

Con respecto a los *A. salmiana*, se agruparon en los *A. salmiana* sp. “maguey blanco” (líneas color rosa, subgrupo d) donde se observa que son similares entre ellos; y los *A. salmiana* ssp. *crassispina* (líneas color verde, grupo B), en los cuales observando el árbol se encontró divergencia entre los grupos de *A. salmiana* de diferentes localidades

(AH de la Honda, AP de Pinos, AS de Saldaña y AC de Charcas), ya que se puede observar que la mitad (50%) de los individuos de cada grupo de agave de cada localidad, se agrupó con los agaves de otros puntos geográficos de la misma subespecie. Las diferencias al interior de cada grupo, están relacionados entre sí, al analizar todas las localidades de donde provienen los *A. salmiana* y ello podría atribuirse al intercambio directo o indirecto de material vegetativo entre los productores de agave-mezcal, debido a que existen programas de reforestación para transplantar los hijuelos como un acto de reforestación o a las características del sitio que varía en las diferentes localidades; esto aunado a que se cruzan libremente entre ellos y con otras especies, además que existe el antecedente, que es la especie que tiene un mayor manejo por el hombre, desde hace miles de años (Aguirre, 2001). También presentaron valores de Bootstrap de 99, pero solo en los grupos de agaves de la Honda (AH). A pesar de estar dispersos entre los grupos, son similares entre ellos; ya que presentaron valores por debajo a 0.45 de disimilitud entre los mismos; aunque mayores que los de las otras especies (AA, AM y AT), donde se tuvieron valores de 0.1 de diferencia entre los *A. spp.*, presentando así una alta homología entre los agaves de cada grupo. Como referencia, cabe mencionar que valores de similitud más cercanos a la unidad (1), significa que son más similares genéticamente, contrario a que valores más cercanos al cero, significa que son más divergentes o distintos.

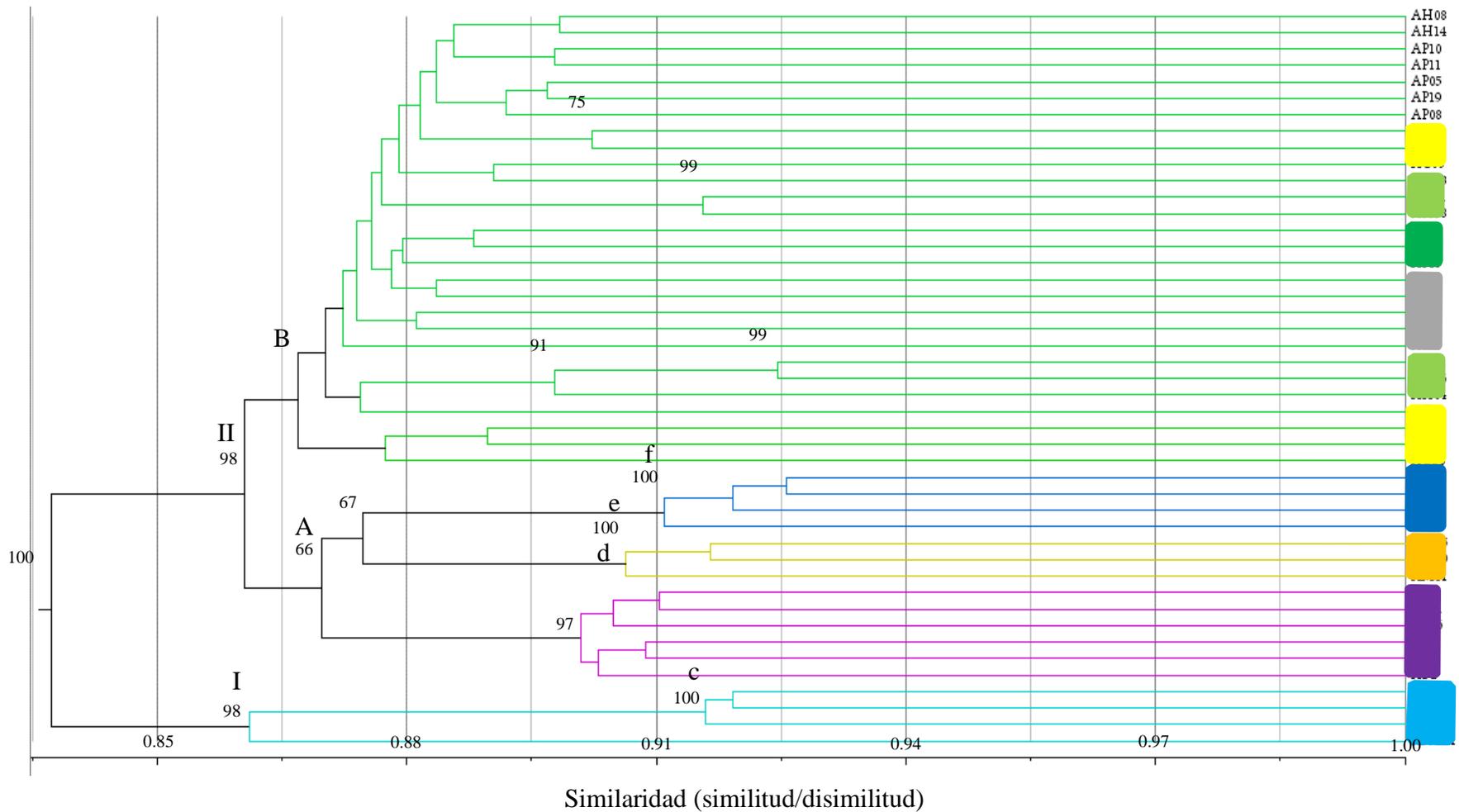


FIGURA 48. Dendrograma de similaridad entre grupos de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC, AB) y *A. spp.* (AA, AM y AT). Se construyó a partir de datos de aflp's utilizando el índice de similitud de Nei-Li (1978), DICE (1945) y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos. El número en los puntos de unión encima de los nodos, corresponden al valor de robustez de los datos (Bootstrap) que soporta a la rama del árbol después de 5000 réplicas. Se muestran en líneas de colores los grupos.

2.4. Conclusiones

El análisis por marcadores moleculares, agrupó a los genotipos de la misma especie y permitió analizar su variación genética; siendo *A. salmiana* ssp. *crassipina*, el grupo con mayor variación (97.20% de polimorfismo).

Con respecto *A. americana* var. *marginata* “maguey de ornato”, *A. salmiana* sp. “maguey blanco”, *Agave* sp. “maguey aguamielero” *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* cultivados, presentaron alta similitud en cada grupo, siendo los *A.* subespecie *tequilana* var. *azul* el grupo con menor variabilidad genética.

2.5. Literatura citada

ABRAHAM J., M. J. 2004. Estudios de Variabilidad Genética de *Agave tequilana* Weber var. Azul por Medio de Marcadores Moleculares. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Agrícolas. Universidad de Guanajuato. Guanajuato, Gto. México. 68 p.

AGUIRRE R., J. R.; CHARCAS S., H.; FLORES F., J. L. 2001. El Maguey Mezcalero Potosino. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología. Instituto de Investigaciones de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. S. L. P., México. 87 p.

AGARWAL, R K, D S BRAR, S NANDI, N HUANG, G S KHUSH. 1999. Phylogenetic relationships among *Oryza* species revealed by AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 98:1320-1328.

AGARWAL M., SHRIVASTAVA N., PADH, H. 2008. Advances in molecular marker techniques and their application in plant science. *Plant Cell Reports* 27: 617- 631.

ARCADE A, F ANSELIN, P F RAMPANT, M C LESAGE, L E PAQUES, D PRAT. 2000. Application of AFLP, RAPD and ISSR markers to genetic mapping of European and Japanese larch. *Theor. Appl. Genet.* 100:299-307.

ARNOLD C, M ROSETTO, J McNALLY, R J HENRY. 2002. The application of SSRs characterized for grape (*Vitis vinifera*) to conservation studies in Vitaceae. *Am. J. Bot.* 89:22-28.

AVISE J C. 2004. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. 2nd ed. Sinauer, Massachussets

BARRET B A, K K KIDWELL. 1998. AFLP-based genetic diversity assessment among wheat cultivars from the Pacific Northwest. *Crop Sci.* 38:1261-1271.

- BARRET B A, K K KIDWELL, P N FOX. 1998. Comparison of AFLP and pedigree-based genetic diversity assessment methods using wheat cultivars from the Pacific Northwest. *Crop Sci.* 38:1271-1278.
- CORNIDE H., M. T. 2002. Marcadores Moleculares. Nuevos Horizontes en la Genética y la Selección de las Plantas. Editorial Félix Varela. La Habana, Cuba. 367p.
- DICE, L. R. 1945. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology.* 26:297 - 302.
- GIL V., K. DEL C. 1997. Caracterización de *Agave spp.* Utilizando Marcadores Moleculares. Tesis de Maestría. Especialidad en Biotecnología de Plantas. CINVESTAV- Unidad Irapuato. Irapuato, Gto. México. 55 p.
- GIL VEGA, K., M. GONZÁLEZ CHAVIRA, O. MARTÍNEZ DE LA VEGA, J. SIMPSON Y G. VANDEMARK. 2001. Analysis of genetic diversity in *Agave tequilana* var. azul using RAPD markers. *Euphytica* 119:335-341.
- FALCÓN, I.; VALERA, A. 2007. "Extracción de ácidos nucleicos". En: Ecología Molecular (Eguiarte L. E., Souza V. y Aguirre X., compiladores) SEMARNAT-INE-UNAM-CONABIO, México, DF, pp. 499-515.
- FELSENSTEIN J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- GUILLAMON, J.M., SABATÉ, J., BARRUIO, E., CANO. J.; QUEROL, A. 1998. Rapid identification of wine yeast species based on RLFP analyses of the ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region. *Arch. Microbiol.* 169, 387-392
- EDWARDS, K. J. 2001. Molecular Tools for Screening Biodiversity. Kluwer Academic Publishers. Netherlands. P. 22-24.
- FURINI, A. y J. WUNDER. 2004. Analysis of eggplant (*Solanum melongena*)-related germplasm: morphological and AFLP data contribute to phylogenetic interpretation and germplasm utilization. *Theoretical and Applied Genetics* 108:197-208.

- HAMPL V., PAVLÍČEK A. y FLEGR J. 2001. Construction and bootstrap analysis of ADN fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program FreeTree: application to trichomonad parasites. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 51: 731-73.
- HIERRO, N. 2007. Tesis Doctoral: Quantificaió, identificació i tipificació de llevats vínics mitjançant l'ús de diferents tècniques moleculars. Universitat Rovira i Virgili, Tarragona.
- LIN J. J.; J. KUO. 1995. AFLP: A Novel PCR-based Assay for Plant and Bacterial DNA Fingerprinting. *FOCUS* Vol. 17(2):66-70.
- MANCILLA-MARGALLI, N.A. AND LÓPEZ, M.G. 2006. Non-structural Carbohydrates and Fructan Structure Patterns from *Agave* and *Dasyilirion* species. *J. Agric. Food Chem.* 54, 7832.
- MARHOLD, K., J. LIHOVA, M. PERNY AND W. BLEEKER. 2004. Comparative ITS and AFLP analysis of diploid Cardamine (Brassicaceae) taxa from closely related polyploidy complexes. *Annals of Botany (Lond.)* 93:507- 20.
- MÜLLER H. y B. SCHWEIZER. 1994. Biochemical Applications for UV/Vis Spectroscopy; DNA, Protein, and Kinetic Analysis. Perkin Elmer. Ueberlingen, Alemania. s/p.
- NEI M, A KUMAR. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press Inc., New York. 333 p.
- NEI, M. & LI, W. 1979. Mathematical Model for Studying Genetic Variation in Terms of Restricción Endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76(10):5269-5273.
- RODRÍGUEZ M, A ARENCIBIA. 2002. Principales tipos de marcadores del polimorfismo de los ácidos nucleicos. Técnicas analíticas. In: Marcadores Moleculares Nuevos Horizontes en la Genética y la Selección de las Plantas. M T Cornide et al. (eds). Editorial Félix Varela. La Habana. Cuba. pp:13-35.
- SASANUMA, T., K. CHABANE, T. R. ENDO and J. VALKOUN. 2004. Characterization of genetic variation in and phylogenetic relationships among diploid *Aegilops* species by

AFLP: incongruity of chloroplast and nuclear data. *Theoretical and Applied Genetic*. 108:612-618.

SIMPSON J. 1997. Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLPs). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 60:119-122.

SKROCH P., TIVANG J. NIENHUIS J. 1992. Analysis of genetic relationships using RAPD marker data. En: *Applications of RAPD Technology to Plant Breeding*. Joint Plant Breeding Symposium, Minneapolis. Pág. 26-30.

SOKAL R., 1979. Testing statistical significance of geographic variation patterns. *Systematic Zoology* 28:227-232.

SOMMA, M. 2007. Extraction and Purification of DNA. En Querci, M., M. Jermini y G. Van den Eede (eds.). *The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms*. World Health Organization, Regional Office for Europe. 238 p.

SNEATH, P. H. y SOKAL, R. R. 1973. *Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification*. San Francisco: W. H. Freeman. p. 573.

SYED N. H., SURESHSUNDAR S., WILKINSON M. J., BHAU B.S., CAVALCANTI J.J., FLAVELL A. J. 2005. Ty1-*copia* retrotransposon-based SSAP marker development in cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Theoretical Applied Genetic*. 110: 1195-1202.

VOS P.; R. HOGERS; M. BLEEKER; M. REIJANS; T.V. D. LEE; M. HORNES; A. FRIJTERS; J. POT; J. PELEMAN; M. KUIPER; M. ZABEAU. 1995. AFLP: A New Technique for DNA Fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.

CAPÍTULO 3. ANÁLISIS DE LA VARIACIÓN BIOLÓGICA DE *Agave* spp. CON BASE EN UN ESTUDIO MORFOBIOGENÉTICO

3.1. Discusión general

Una de las mayores aportaciones de Darwin fue su visión poblacional de la evolución, que no se refiere a los cambios que ocurren en un individuo; las alteraciones en la composición química, tamaño, forma o estructura en relación con el crecimiento y desarrollo de un individuo, son triviales en un sentido evolutivo, porque el individuo no puede evolucionar (Niklas, 1997). Es la población la que evoluciona, por un cambio en la frecuencia de los tipos presentes: al aparecer un carácter novedoso que aumenta la sobrevivencia y la reproducción de los individuos que lo portan, el carácter ancestral se vuelve menos numeroso con el paso del tiempo, mientras que el carácter novedoso se va volviendo cada vez más común. Pero además de la aparición de caracteres novedosos más benéficos en relación con los ancestrales, un cambio en las frecuencias de los tipos puede también deberse a una modificación ambiental que favorezca un carácter que existía en pequeña proporción en la población y desfavorezca el que era más frecuente.

La biología evolutiva sostiene que toda la biodiversidad comparte una historia común; siendo una sola genealogía para todos los organismos (De Luna, 1996), de tal manera que todos los individuos están relacionados y ello permite construir su filogenia. Para poder construir estas relaciones filogenéticas, se tienen escuelas en la taxonomía como la fenética, la filogenética y la cladística; que nos permiten obtener la mayor información posible a partir de similitudes o caracteres, que reconstruyen la historia y con ello poder clasificar la biodiversidad. La fenética o taxonomía numérica, tiene como finalidad la clasificación de los organismos basándose en su similitud, generalmente en su morfología, o en cualidades observables, sin tomar en cuenta hipótesis previas sobre su filogenia, como hipótesis *a priori* acerca de qué caracteres serán homologías u homoplasias al construir el fenograma. La filogenética se basa únicamente en las relaciones de proximidad evolutiva entre las distintas especies, reconstruyendo la historia de su diversificación (filogénesis) desde el origen de la vida en la Tierra hasta

la actualidad. Construye un sistema que contenga únicamente grupos monofiléticos, es decir, representar todas las relaciones entre grupos hermanos. La cladística o sistemática filogenética, busca entender la historia de toda la vida, esto por medio de: a) Proveer un sistema de clasificación que sirve para comunicar información acerca de los organismos. b) Se generan hipótesis para la interpretación de la evolución de la vida y c) estas hipótesis filogenéticas y su correspondiente clasificación nos ayudan a predecir propiedades de organismos nuevos y de aquellos que se conoce muy poco. Así la cladística puede también establecer relaciones que pueden existir entre los componentes de un complejo infraespecífico sin ser un enfoque puramente taxonómico. En el presente estudio, se aplicaron herramientas tanto de la escuela fenética como de la cladística.

Agave es un género muy reciente (con unos 10 millones de años) que sufrió últimamente una de las más espectaculares radiaciones adaptativas, con muchas especies (más de 200); de las cuales el 75% se encuentra presente en México (García-Mendoza, 2002). Algunas especies del género tienen una gran importancia económica, principalmente por la producción del tequila y recientemente por el mezcal, bacanora y sotol. Otras especies tienen una importancia ecológica, al ser dominantes y/o especies clave. Sin embargo, considerando la gran cantidad de especies y su importancia, se sabe poco de su ecología e historia natural, sólo se conocen aspectos de su biología para un puñado de todas estas especies. Sobre los recursos genéticos que representan, a pesar de su clara importancia económica, se sabe tal vez aún menos.

La mayoría de las especies de agave que se utilizan para elaborar el mezcal, se desarrollan en laderas, terrenos pedregosos y suelos de baja fertilidad; sin embargo, no es común fertilizar los cultivos de agave, por lo que se requiere conocer la condición nutrimental de las plantas adultas que se cosechan. Algunos factores ambientales que limitan el crecimiento y productividad de las plantas son la radiación solar, temperatura, disponibilidad de agua y el abastecimiento de nutrimentos (Enríquez del Valle, 2008). Enríquez del Valle (2007) menciona que plantas de *Agave angustifolia* que crecieron en vivero incrementaron su crecimiento en altura, diámetro de tallo, número de hojas, área foliar, acumulación de materia seca, en respuesta a un mayor abastecimiento de nutrimentos y cuando estas plantas llegan a la etapa adulta desarrollan tallos más

grandes y con mayor contenido de azúcares. Es por ello que interesa conocer las características bioquímicas, morfológicas, moleculares y la condición nutrimental de las plantas adultas de agave que los productores eligen para la elaboración del mezcal y que éstas han desarrollado en condiciones ambientales limitantes. En el altiplano Potosino-Zacatecano, el *A. salmiana* ssp. *crassispina* es la especie que es más intensamente utilizada para la elaboración de Mezcal principalmente, y en menor escala para múltiples usos como los mencionados en la introducción. La superficie plantada de esta especie es limitada a pesar de la necesidad de materia prima para la elaboración de las bebidas. Los productores mezcaleros y sus organizaciones, requieren de un programa de inventarios para conocer la estructura actual de las poblaciones de la especie, así como de un plan de manejo adecuado. Su utilización en esta industria implica la extracción constante de plantas adultas y, dado que se trata de plantas monocárpicas, la supresión de la floración y producción de polen y semillas. Lo anterior puede afectar los niveles de variación genética y estructuración de las poblaciones naturales, arriesgando su conservación a largo plazo. La producción de mezcal a partir de poblaciones naturales es indispensable para evitar la adopción de prácticas de monocultivo y propagación que deterioran genéticamente a las especies, pero ante el aumento de la demanda del mezcal es necesario incluir datos genéticos en los planes de manejo para no alterar la composición de las poblaciones y sus procesos evolutivos naturales. También en esta región existen otras especies de importancia como: *A. americana* var. *marginata* que es una planta de ornato, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* empleado para hacer mezcal y tequila, *A. salmiana* sp. usado para aguamiel y mezcal; así como *Agave* sp., utilizado para la elaboración de aguamiel y pulque. El conocimiento del nivel de variabilidad en el caso de las poblaciones de *A. salmiana*, es un factor determinante para la conservación y el manejo sostenible de los recursos naturales en la industria del mezcal en el altiplano Potosino-Zacatecano. Por lo que el trabajo se centró en caracterizar los magueyes mezcaleros *A. salmiana* ssp. *crassispina* del altiplano Potosino-Zacatecano; así como: *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul*, *A. salmiana* sp. y *Agave* sp, con base en la identificación de características bioquímicas, morfológicas y moleculares.

Para analizar la variación bioquímica y morfológica con base en la determinación de azúcares y la descripción de caracteres identificados en hoja, planta e hijuelos, en la FIGURA 49 se resume la metodología y en el capítulo I se aborda su descripción. Para el caso del análisis de la variación molecular de genotipos FIGURA 50 se resume la metodología y en el capítulo II se aborda su descripción

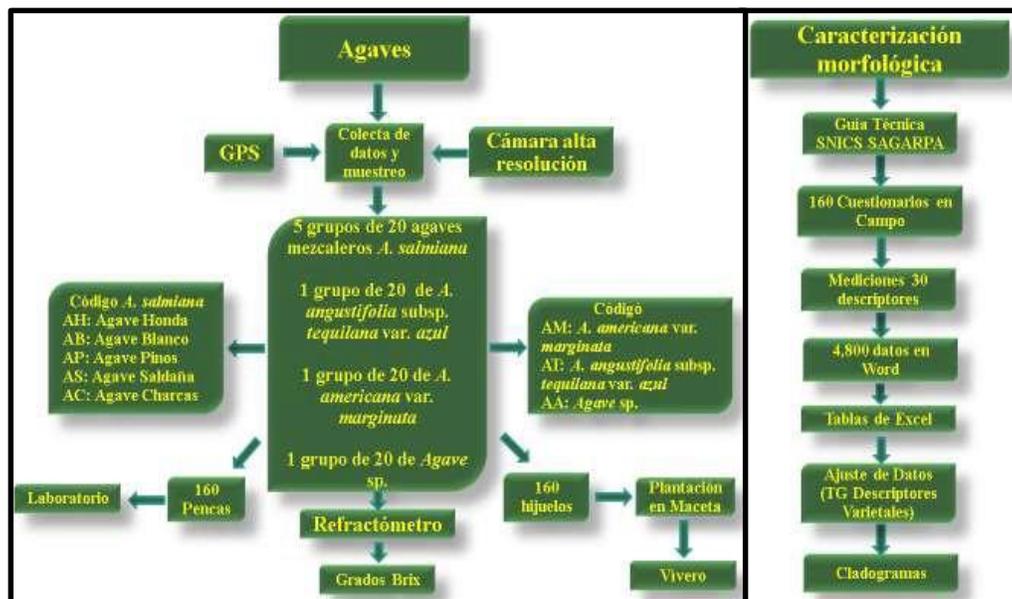


FIGURA 49. Resumen metodológico de la caracterización morfo-bioquímica.

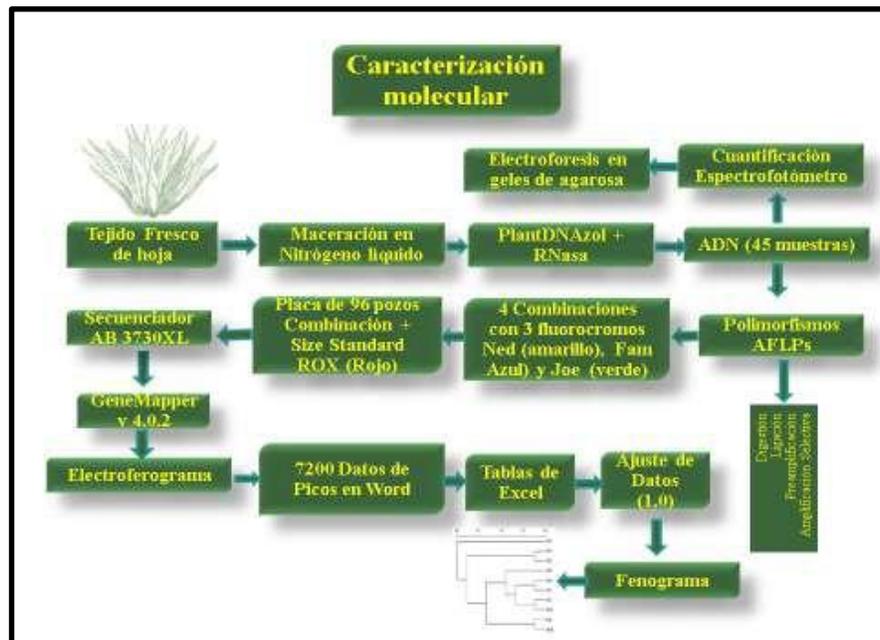


FIGURA 50. Resumen metodológico de la caracterización molecular.

El uso de los métodos moleculares es especialmente útil en estudios de especies con ciclos de vida longevos, perennes y en donde los episodios de floración y reproducción sexual son únicos o escasos. En general, la mayoría de las especies de la familia Agavaceae son de este tipo. Esto nos indica una excelente correlación entre una clasificación hecha morfológicamente y la hecha por marcadores AFLP. Por otro lado, los marcadores basados en DNA tienen la ventaja de que pueden ser usados para analizar rápidamente un gran número de muestras empleando cantidades mínimas de tejido vegetal, y son especialmente útiles para llevar a cabo clasificaciones rápidas usando tejido inmaduro o tejido que de otra manera es difícil de clasificar. Un pequeño grupo de huellas genéticas tipo estándar de individuos representando cada género y subgénero puede ser desarrollado, contra el cual, nuevas muestras puedan ser fácilmente comparadas, y después se pueden comparar con más detalle especímenes con muestras de grupos específicos o especies, y en el momento adecuado, con las características morfológicas.

Como resultado de ambas caracterizaciones se resumen en las FIGURAS 51 y 52. Donde en el análisis cladístico se puede ver que dentro del grupo *A. salmiana* se encuentran individuos de diferentes localidades en un mismo grupo (FIGURA 51 grupo VIII) y esto es en parte, debido a que los productores de agave mezcal, se comparten material vegetativo (hijuelos) entre sí. También podemos ver claramente que se separan en varios grupos los *Agave* sp. “magueyes aguamieleros” (grupo III) y en otro grupo más distante los *A. americana* var. *marginata* y *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* (grupo I). Cabe mencionar que en el cladograma de la FIGURA 51, no se encuentran todos los agaves del estudio, solo están aquellos a los cuales se les hizo el análisis molecular, siendo en su mayoría los del complejo de *A. salmiana*, mientras que los demás grupos, solo están representados por pocos individuos (Para ello ver cladogramas del capítulo I). Con respecto al análisis molecular (FIGURA 52) coincide que el complejo de *A. salmiana* (líneas verdes) es que mayor diversidad de distancias entre los agaves de las diferentes localidades y esto se debe a que se propagan por una parte de manera asexual (hijuelos) y sexual (por semilla); siendo esta última forma de reproducción la que resulta en una mayor variación genética.

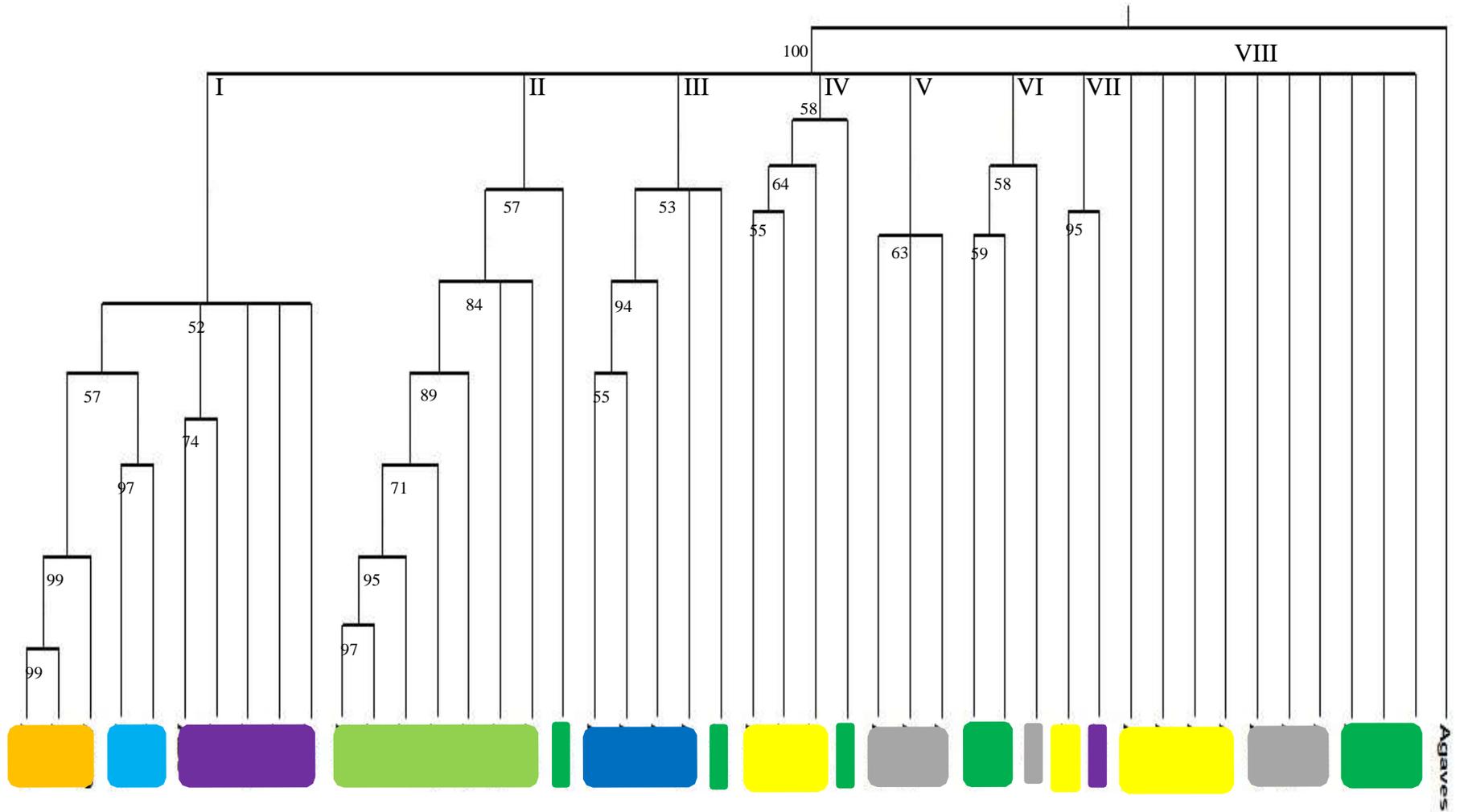


FIGURA 51. Cladograma de relaciones entre grupos de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC, AB) y *A. americana* var. *marginata* (AM), *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* (AT) y *Agave* sp. (AA). Se obtuvo utilizando la prueba estadística Bootstrap/JackKnife/CR-NONA, con base en un análisis de 30 caracteres morfológicos de hoja, planta e hijuelo. El número en los puntos de unión encima de los nodos, corresponden al valor de robustez (Bootstrap) que soporta a la rama del árbol después de 1000 réplicas

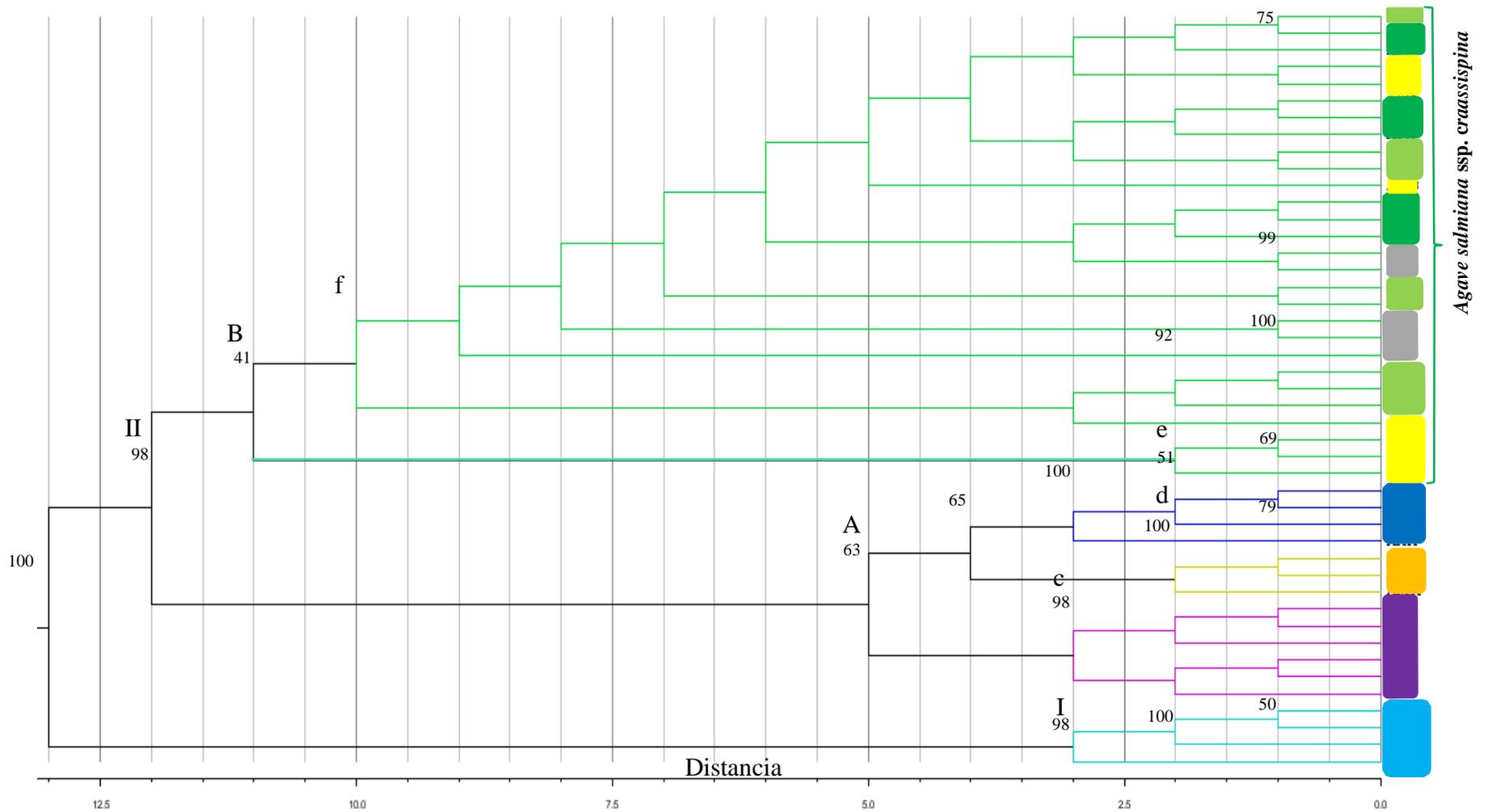


FIGURA 52. Dendrograma de distancia entre grupos de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC, AB) y *A. americana* var. *marginata* (AM), *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* (AT) y *Agave* sp. (AA). Se utilizó el índice de diversidad genética Nei's standard distance D_s y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos. El número en los puntos de unión encima de los nodos, corresponden al valor de robustez (Bootstrap) que soporta a la rama del árbol después de 1000 réplicas.

También se encontró que en el grupo A (FIGURA 52) lo integran los *A. salmiana* sp. “maguey blanco” (AB), *Agave* sp “maguey aguamielero” (AA) y *A. americana* var. *marginata* (AM) se encuentran a las mismas distancias, lo cual hace suponer que todos pertenecen a la especie de *A. americana*. En el caso del *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul*, entre la misma subespecie no hay variabilidad genética y es que es conocido que es un clon, lo cual lo muestran los resultados en el que se pusieron dos agaves de Zacatecas (AT08 y AT12) y otro de Oaxaca (ATOA); pero si hay una gran distancia de su antecesor *A. angustifolia* Haw o “maguey espadín” (ANOA).

Como se puede observar en el análisis molecular, estos resultados confirman la utilidad de los marcadores AFLP como una herramienta de apoyo para la clasificación taxonómica del género *Agave* y la familia Agavaceae y serán útiles para obtener una rápida orientación taxonómica aun en materiales que no están en una etapa adecuada de desarrollo para una precisa caracterización morfológica. También si fuera el caso en explotar de manera comercial alguna de las variantes de *A. salmiana* o de otro agave de interés, los resultados de la descripción morfológica, son un primer paso su registro y protección legal.

Por otro lado, la totalidad de plantas disponibles para la producción de mezcal, proviene de la propagación vegetativa a través de vástagos (hijuelos). Aun cuando se ha recolectado semilla de algunos ejemplares, no se ha iniciado la reproducción sexual para conocer la viabilidad de la semilla y el porcentaje de germinación que pudiera dar origen a nuevos individuos, que se pueden cultivar en áreas de exclusión o sitios protegidos. De esta manera se podrán fortalecer, en el futuro, las plantaciones de *Agave salmiana* que puedan garantizar la disponibilidad de la materia prima para la producción del mezcal. El método de propagación del agave mediante semillas (reproducción sexual) es el más recomendado para mantener la variabilidad genética de la especie, ya que de esta manera se dejan ejemplares adultos para que produzcan flores y semillas que permitirán una reproducción natural de la especie.

Para garantizar la disponibilidad de las plantas adultas requeridas para la producción del mezcal, deberán establecerse medidas para fomentar la propagación y protección

de las poblaciones y clones en los sitios donde crecen actualmente (*in situ*) y fuera de estos (*ex situ*).

Entre las medidas de conservación *in situ*, podrían establecerse áreas de exclusión de actividades agrícolas y pastoreo en los sitios donde se distribuyen actualmente las especies, y fomentar la creación de nuevas áreas para el cultivo de los magueyes o plantar los hijuelos producidos por las plantas adultas para levantar nuevos cercos o delimitar terrenos. También podrían seleccionarse algunas plantas adultas en el campo para utilizarlas como plantas madre, es decir, dejarlas florecer y fructificar para la obtención de semillas.

La reintroducción de individuos en las áreas donde crece de manera natural, es una forma también de conservar poblaciones del agave salmiana con las características fisiológicas y de variabilidad genética suficientes, que después de una serie de filtros ambientales, establecerán una población mínima viable. Se considera que 50 es el número de individuos en una población mínima viable para tener los principios evolutivos aplicables a la conservación (Sánchez et al., 1995).

Entre los mecanismos de conservación *ex situ*, se debe contemplar la creación de un invernadero piloto, el cual reduzca la presión ejercida sobre las poblaciones naturales, al tener a disposición para la obtención de materia prima, especímenes cultivados. De esta manera, al habilitar la reintroducción de plantas desarrolladas en el invernadero, se permitirá la recuperación de las poblaciones que han sido disminuidas por el saqueo y destrucción del hábitat. El uso de la reproducción *in vitro* del salmiana, permitiría superar la baja cantidad de materia prima que a la fecha existe. Es necesaria la generación de paquetes tecnológicos para la reproducción artificial de esta especie que asegure la producción de plantas altamente productivas y la calidad de ellas a través de un control de las condiciones de crecimiento.

El contar con un programa regional de plantaciones con fines comerciales, permitiría asegurar la producción regional e incursionar con mayor eficacia en los mercados internacionales. La denominación de origen otorgada a la producción de mezcal a diferentes regiones de México, es un aliciente para buscar consolidar la industria mezcalera y promover mejores niveles de vida a los habitantes de las regiones donde crece esta especie.

3.2. Conclusiones generales

El análisis cladístico, el de componentes principales y los AFLP, mostraron ser de gran utilidad para los análisis de diversidad genética, ya que mostraron claramente la separación entre las especies *salmiana*, *americana* y *angustifolia*. Además son comparables estas metodologías por el método de análisis adimensional, cumpliendo con la metodología científica de la lógica dispersa.

El análisis de agrupamiento conjunto de datos morfológico y moleculares permitió separar y definir grupos; detectando una importante diversidad dentro de la especie *salmiana*, resultando de gran importancia para la valoración de recursos genéticos, dada la posibilidad de su utilización en el mejoramiento de especies.

Los resultados obtenidos en las diferentes plantaciones de agaves, indican que la reserva genética de *A. salmina* ssp. *crassispina*, no es tan estrecha como se pensaba y que la diversidad observada podría ser explotado para mantener una amplia base genética y, finalmente para la selección y propagación de individuos con características agronómicas útiles.

APÉNDICE A



FIGURA A1. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la Honda en Villa Hidalgo – Zacatecas (AH).

APÉNDICE A

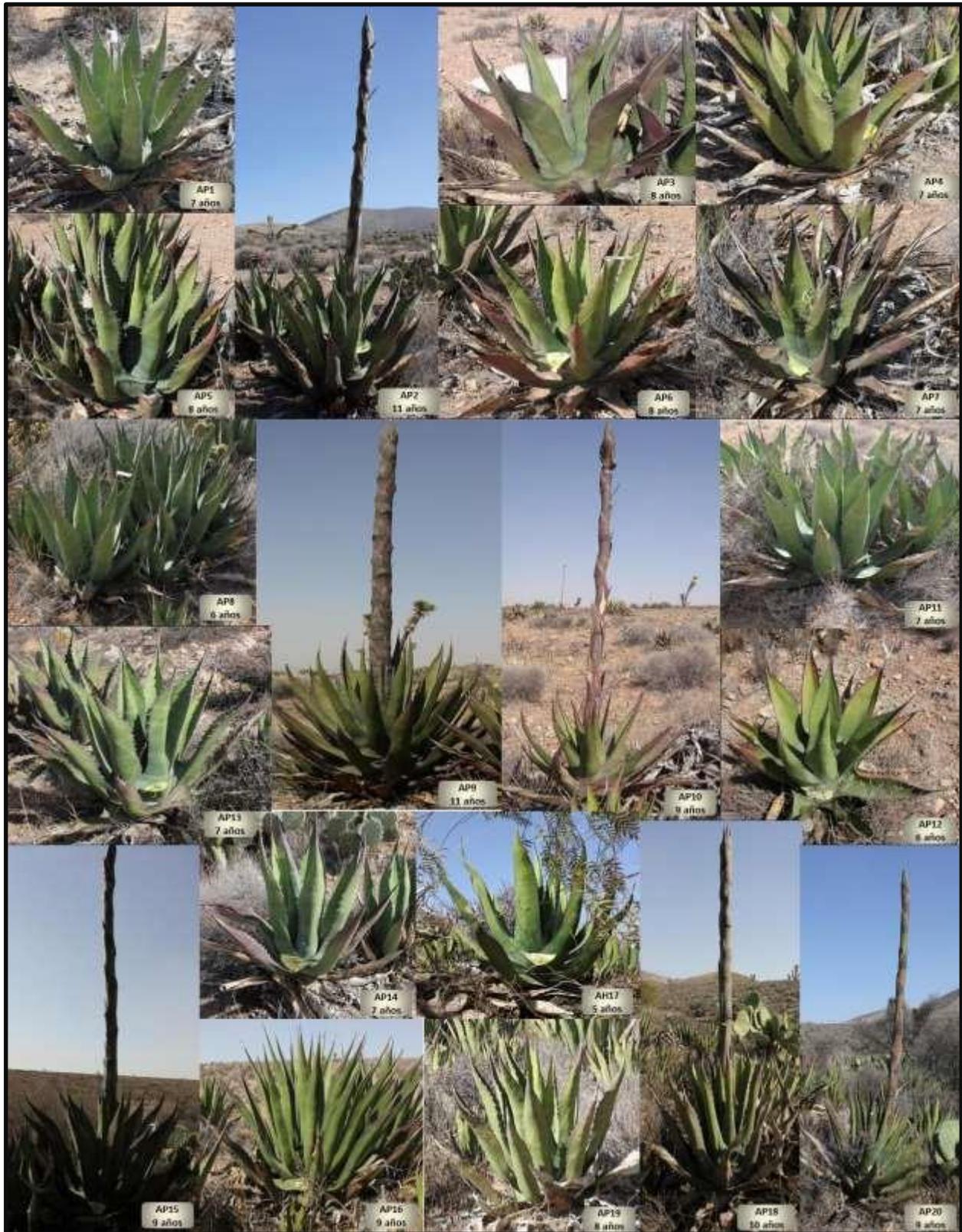


FIGURA A2. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Pinos – Zacatecas (AP).

APÉNDICE A



FIGURA A3. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Saldaña en Pinos - Zacatecas (AS).

APÉNDICE A



FIGURA A4. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la comunidad de Charcas-San Luis Potosí (AC).

APÉNDICE A



FIGURA A5. *A. salmiana* sp. (blanco) de la Honda en Villa Hidalgo – Zacatecas (AB).

APÉNDICE A



FIGURA A6. *A. americana* var. *marginata* de Guadalupe – Zacatecas (AM).

APÉNDICE A



FIGURA A7. *A. angustifolia* subsp. *tequilana* var. *azul* de Juchipila, Apozol y Jalpa en Zacatecas (AT).

APÉNDICE A

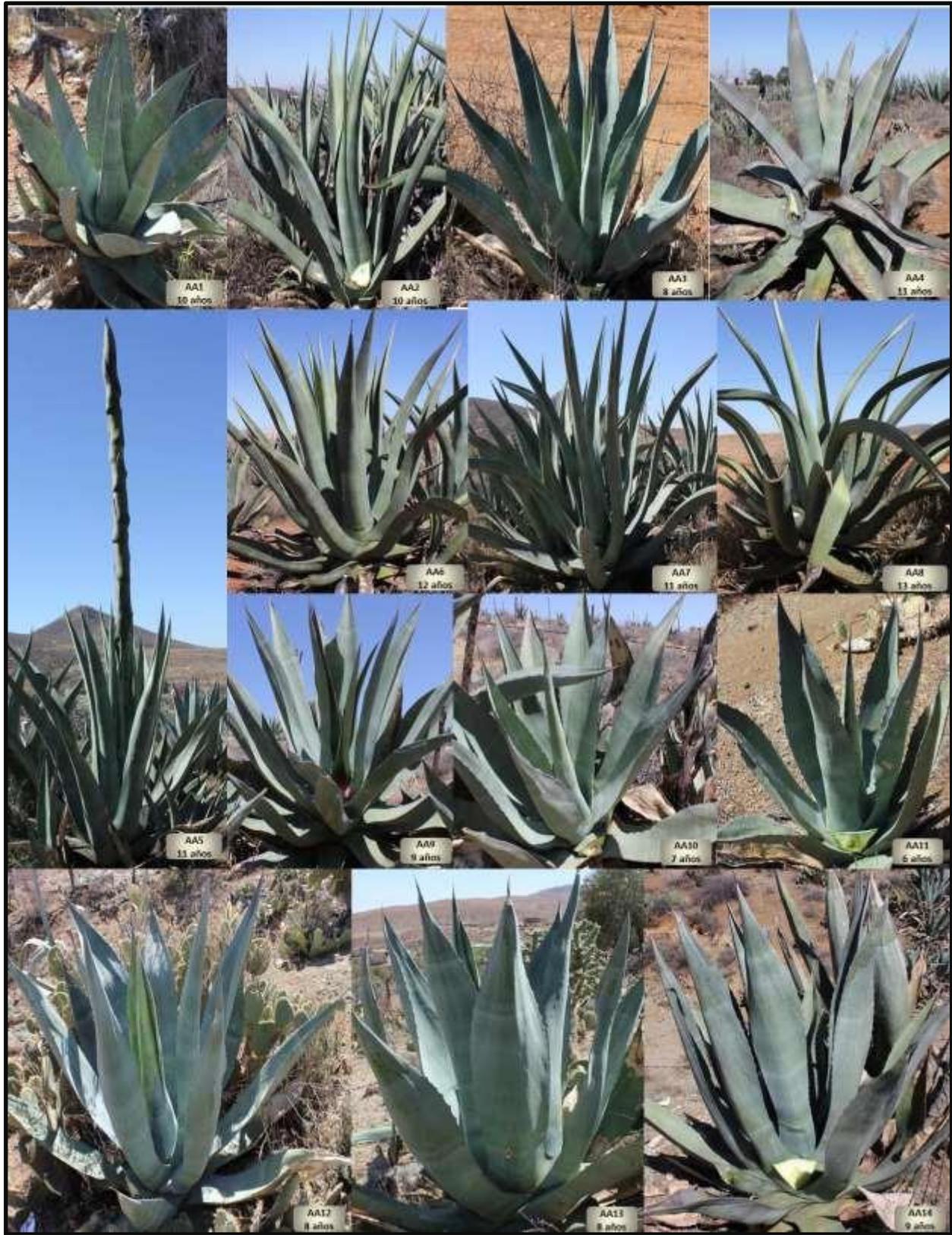


FIGURA A8. Agaves aguamieleros (*Agave* sp.) de Hacienda Nueva y Pánuco-Zacatecas (AA).

APÉNDICE A

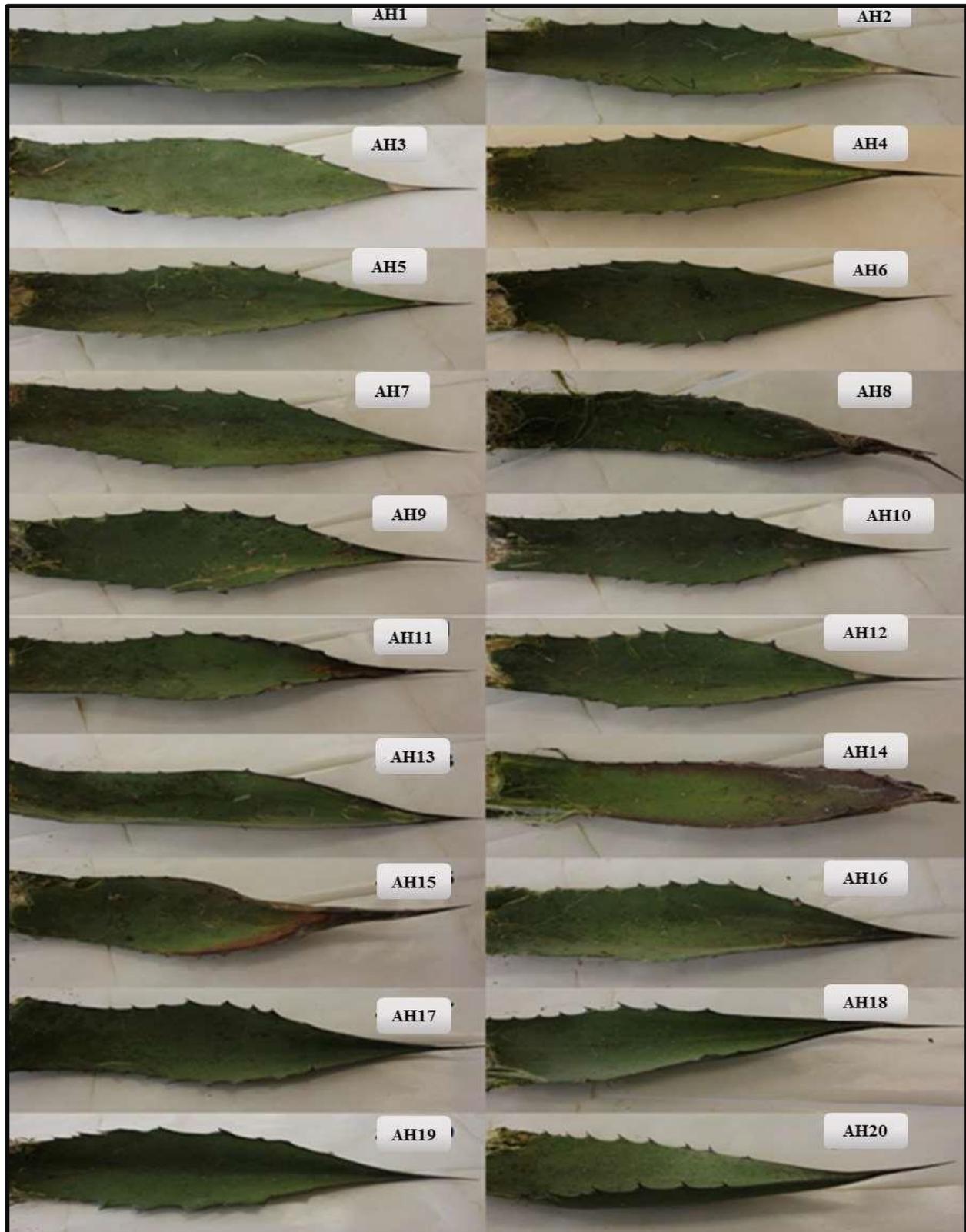


FIGURA A9. Hojas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la Honda – Zacatecas (AH).

APÉNDICE A



FIGURA A10. Hojas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Pinos – Zacatecas (AP).

APÉNDICE A

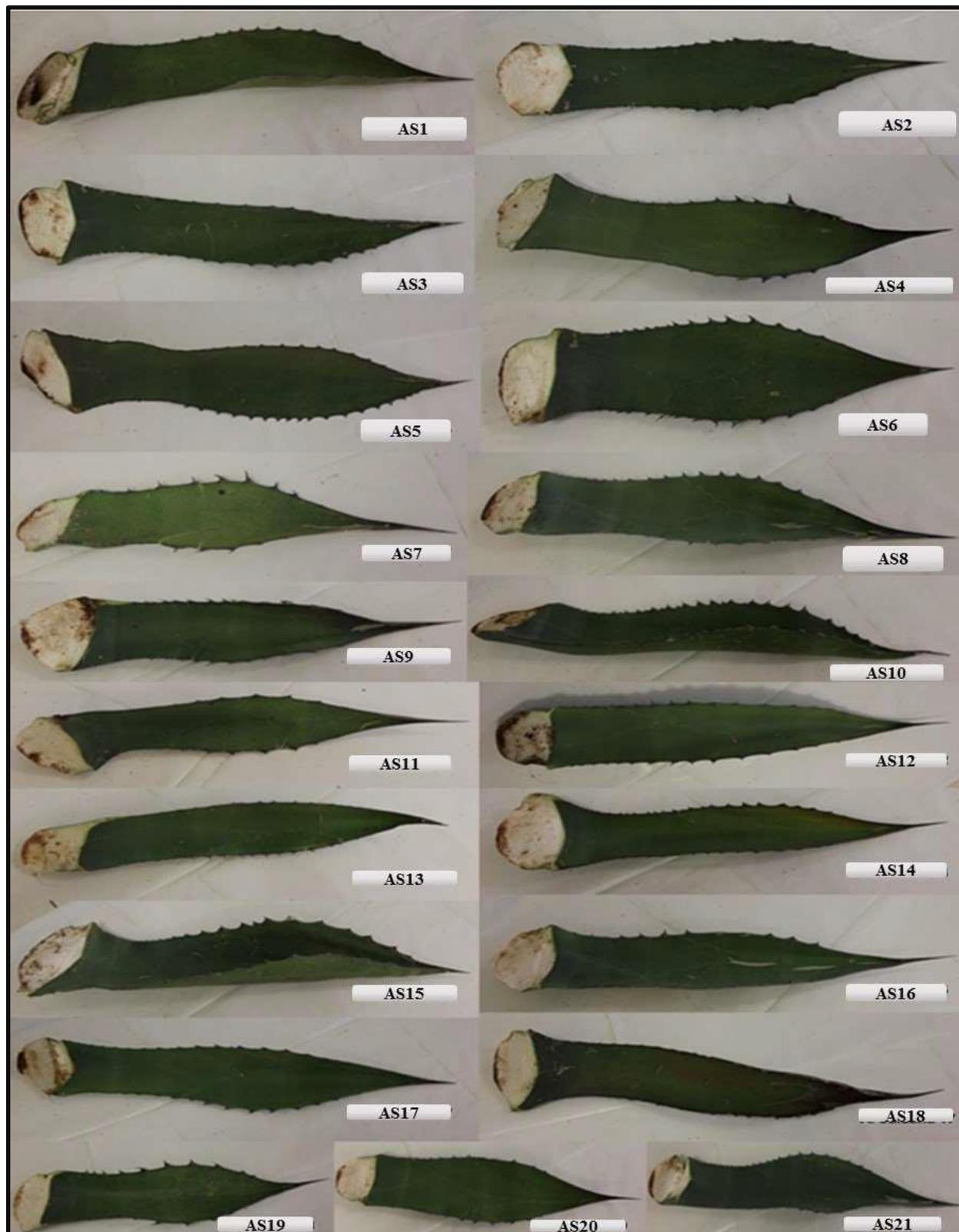


FIGURA A11. Hojas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Saldaña - Zacatecas (AS).

APÉNDICE A



FIGURA A12. Hojas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Charcas- San Luis Potosí (AC).

APÉNDICE A



FIGURA A13. Hojas de *A. salmiana* sp. (blanco) de la Honda – Zacatecas (AB).

APÉNDICE A

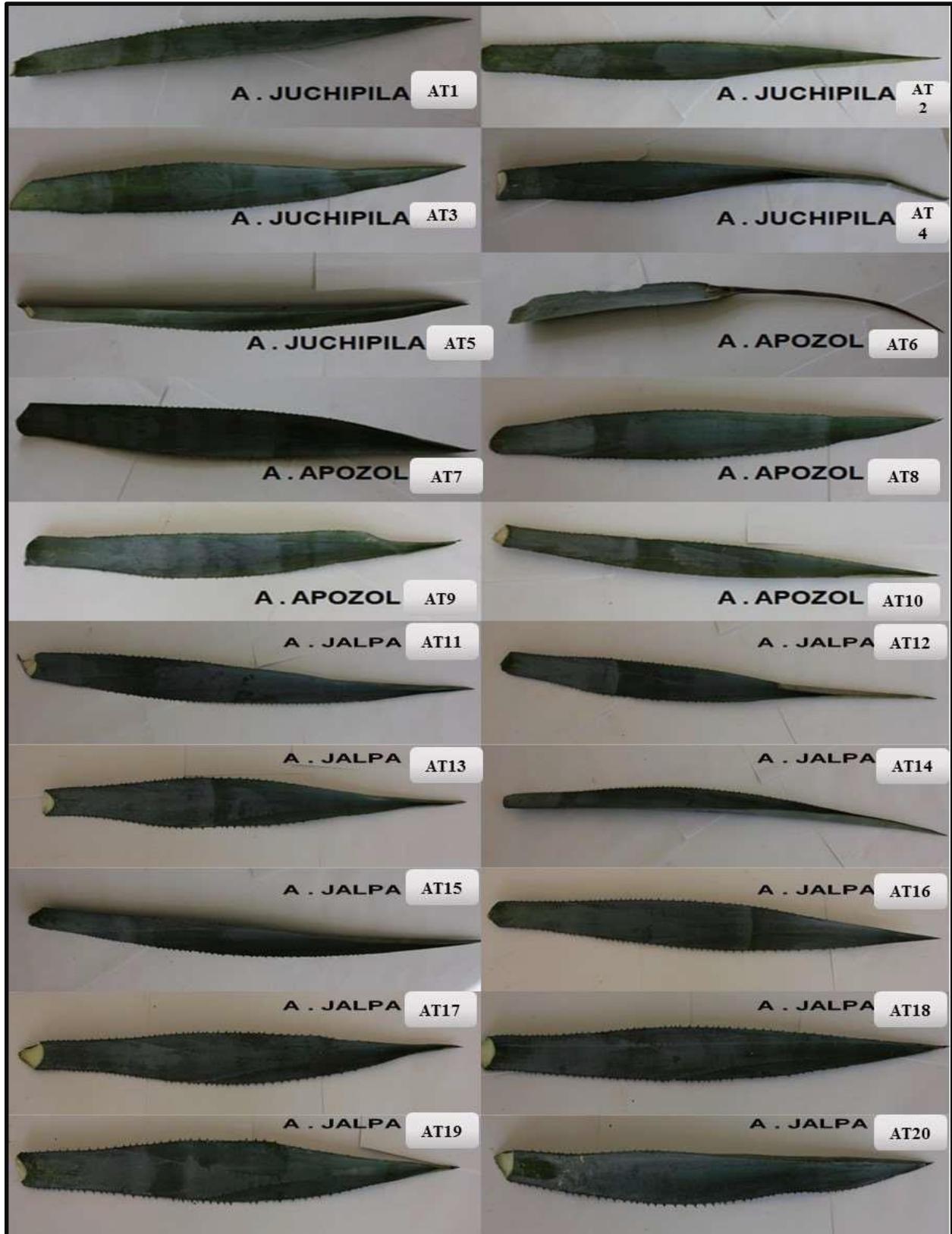


FIGURA A14. Hojas de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* del sureste de Zacatecas (AT).

APÉNDICE A

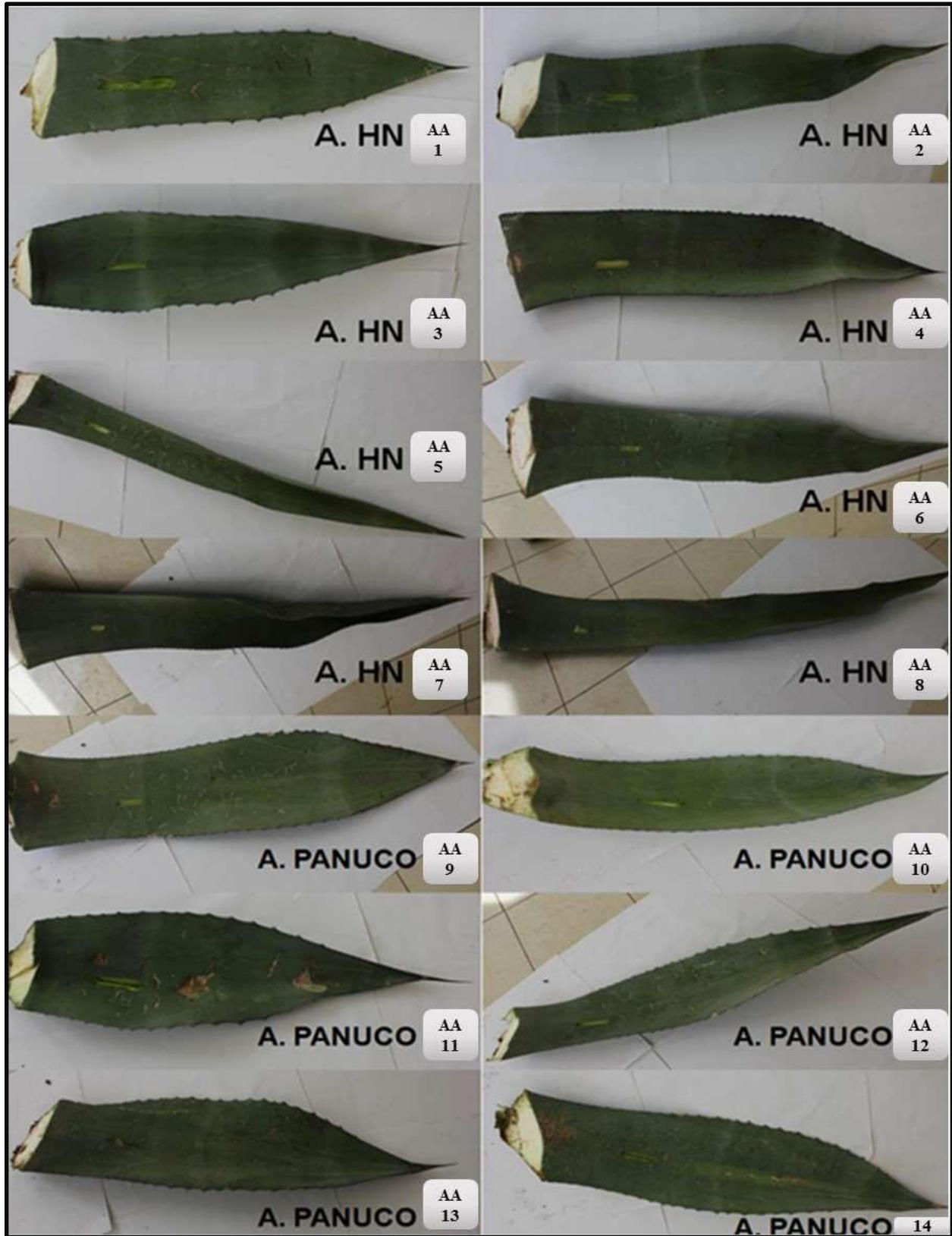


FIGURA A15. Hojas de Agaves aguamieleros (*Agave* sp.) de Zacatecas (AA).

APÉNDICE A

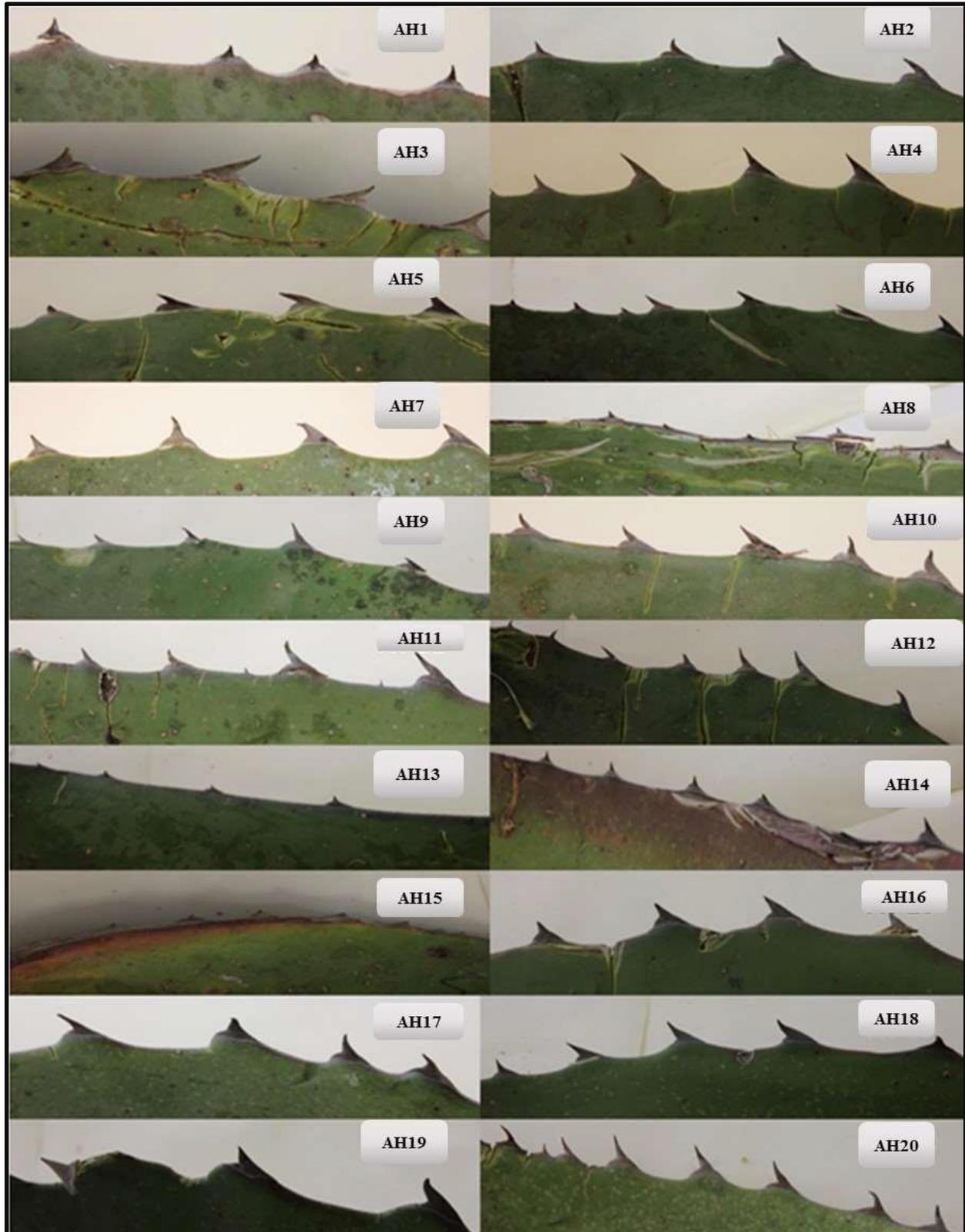


FIGURA A16. Espinas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la Honda – Zacatecas (AH).

APÉNDICE A

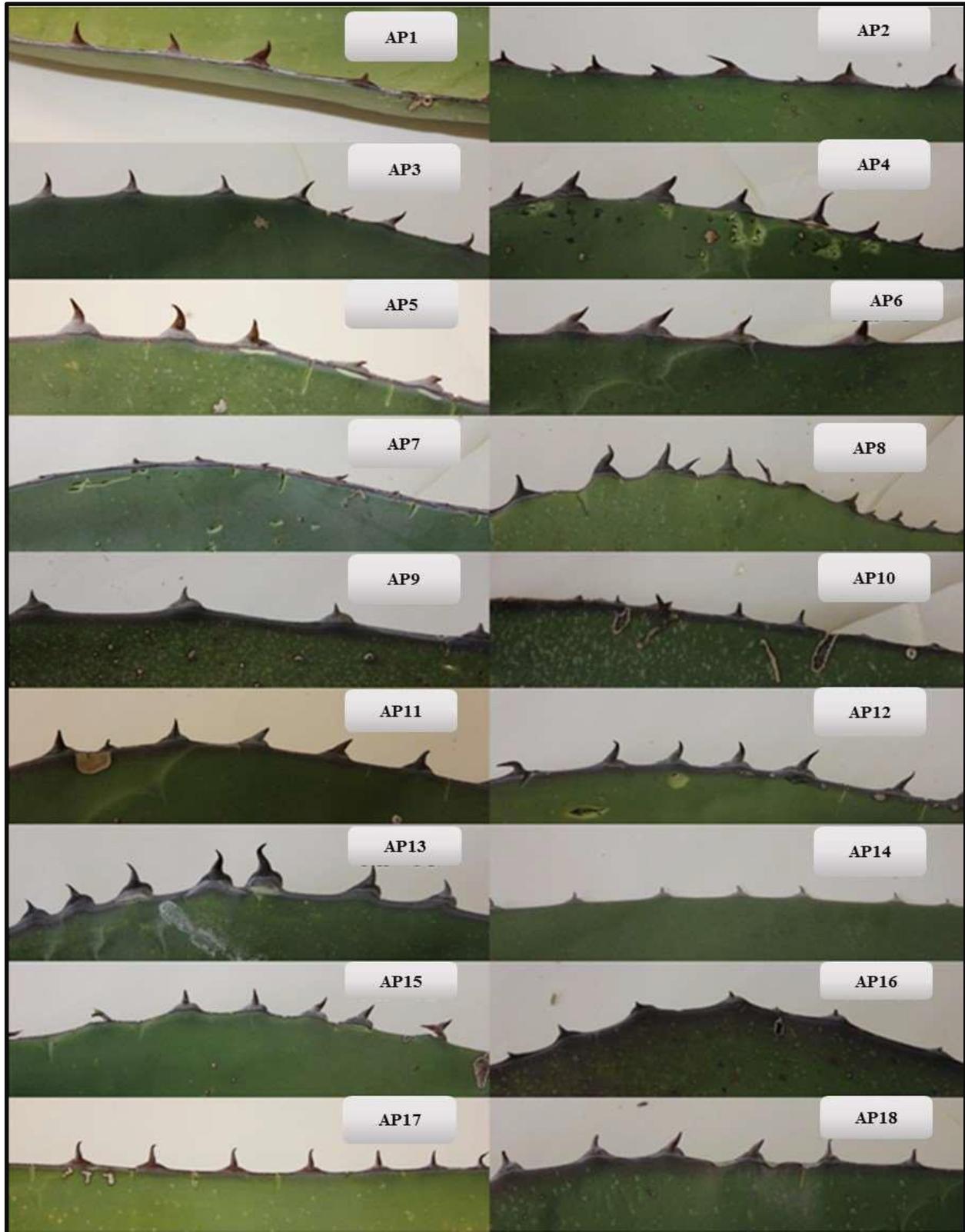


FIGURA A17. Espinas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Pinos – Zacatecas (AP).

APÉNDICE A

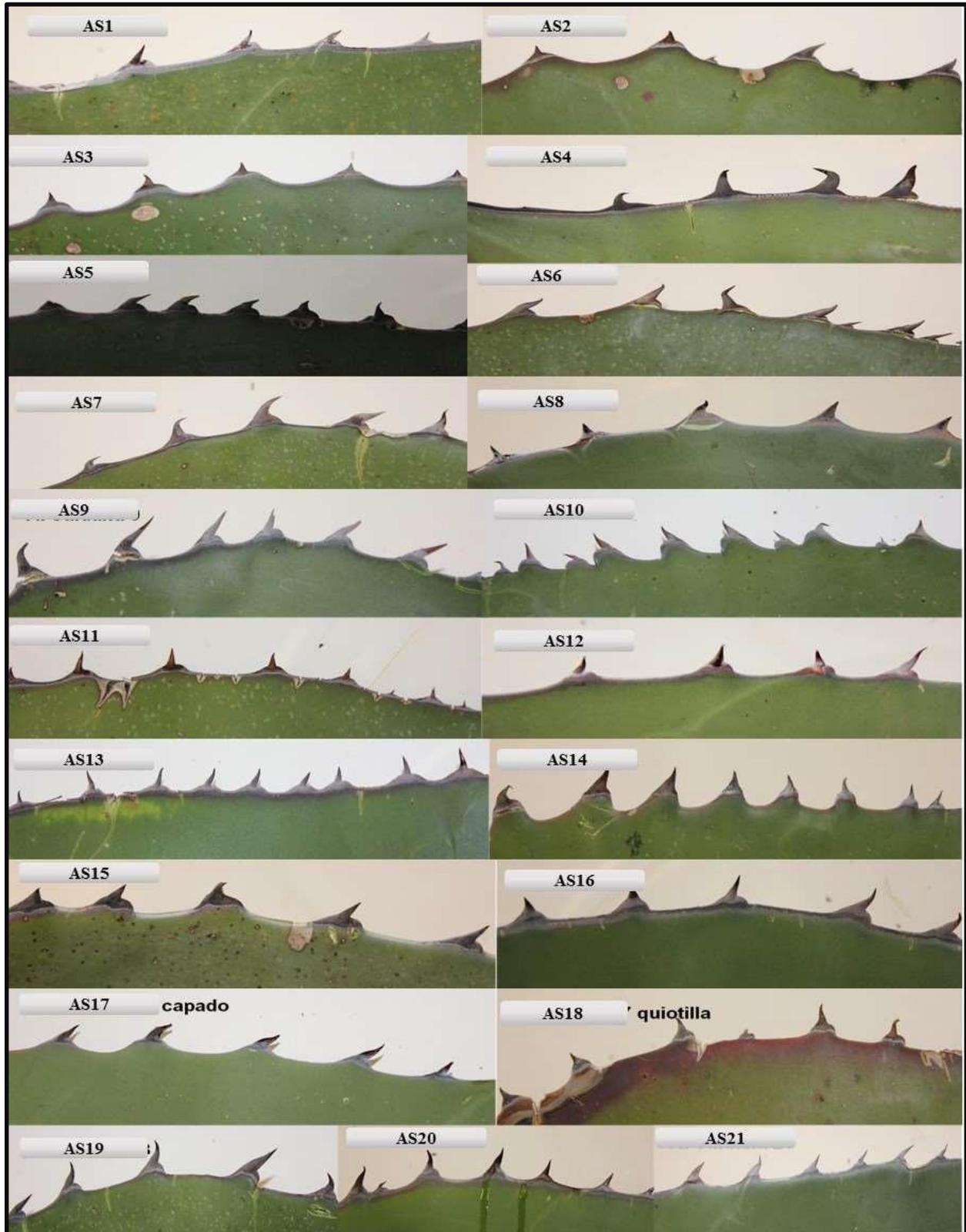


FIGURA A18. Espinas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Saldaña en Pinos-Zacatecas (AS).

APÉNDICE A

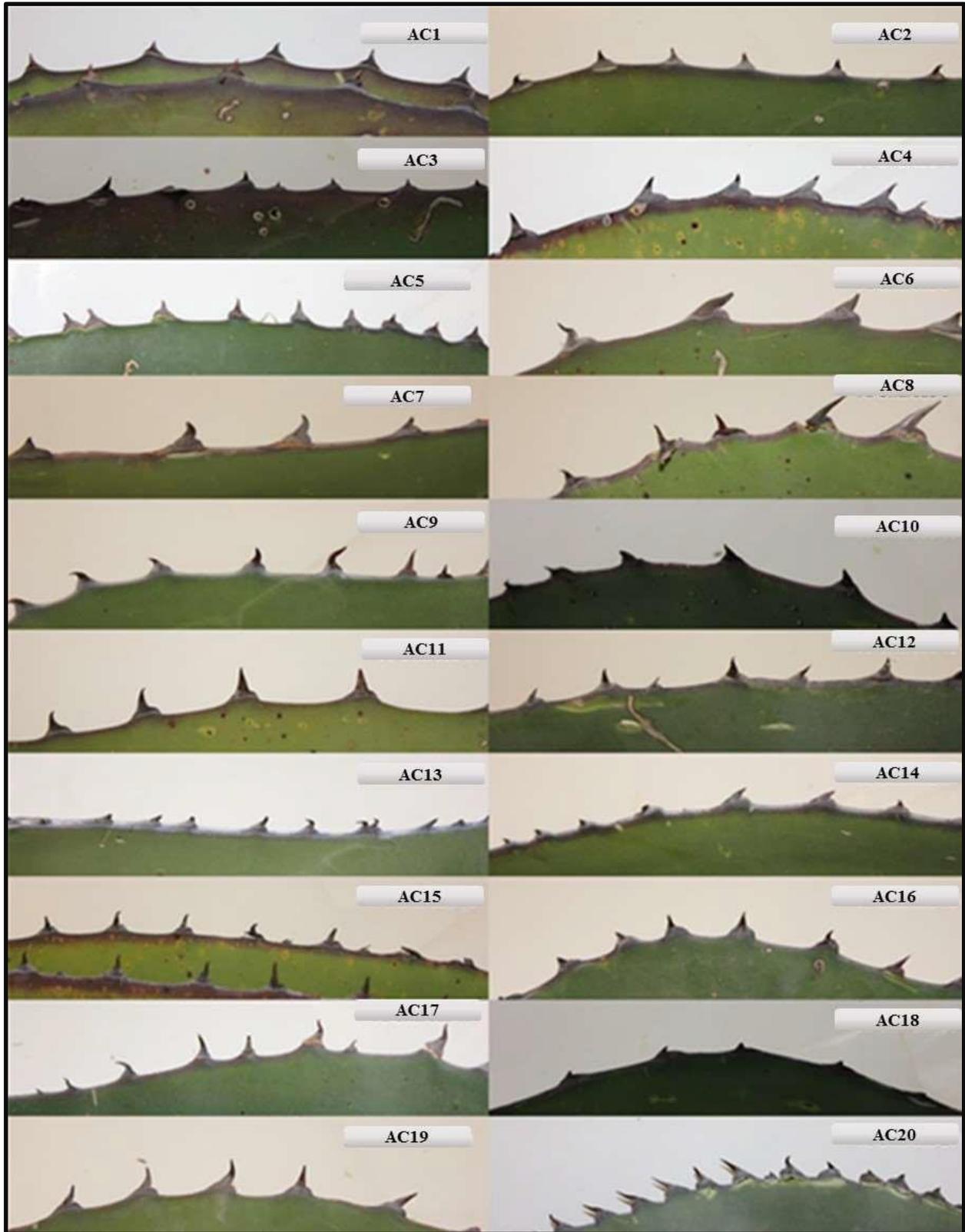


FIGURA A19. Espinas de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Charcas- San Luis Potosí (AC).

APÉNDICE A

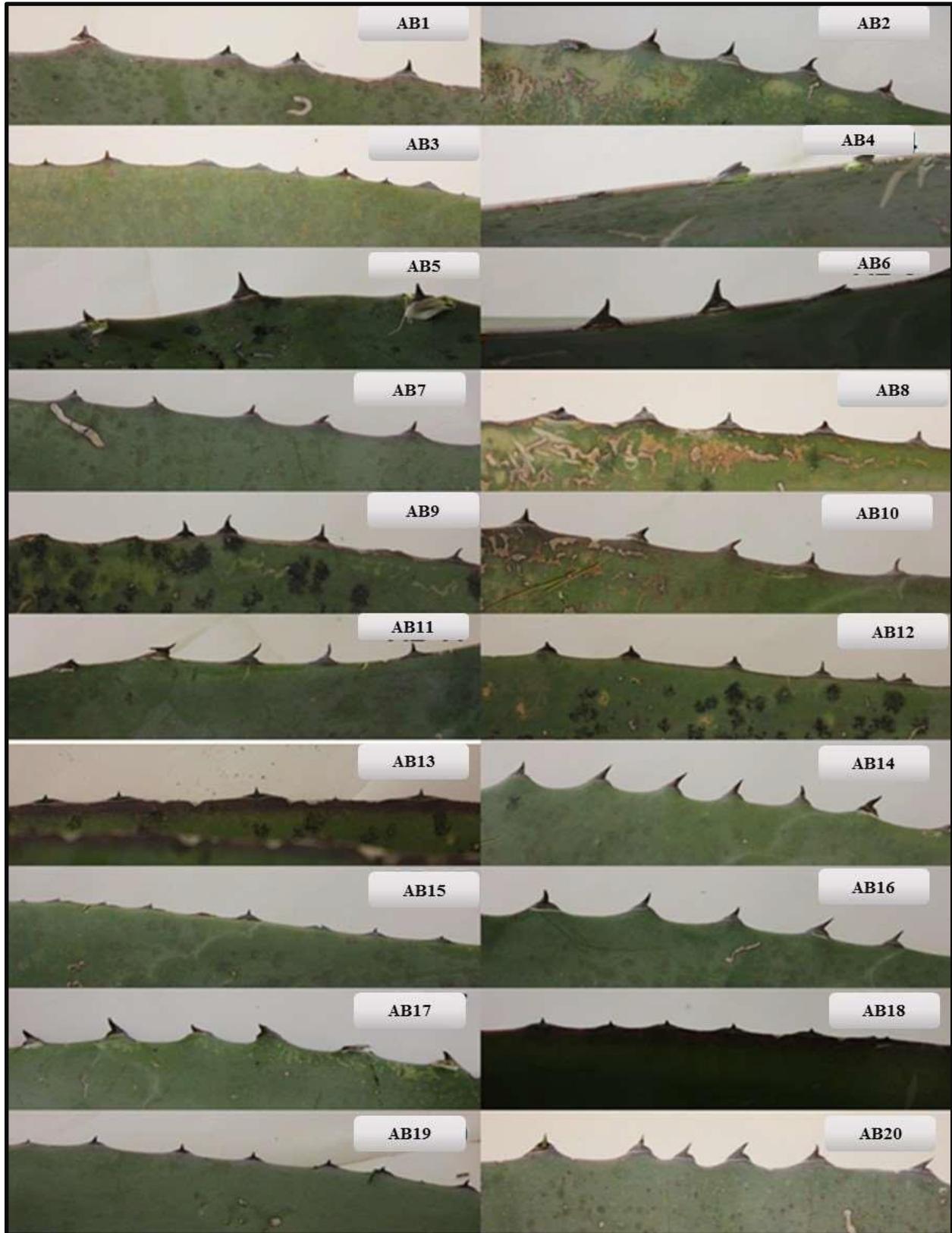


FIGURA A20. Espinas de *A. salmiana* sp. (blanco) de la Honda – Zacatecas (AB).

APÉNDICE A

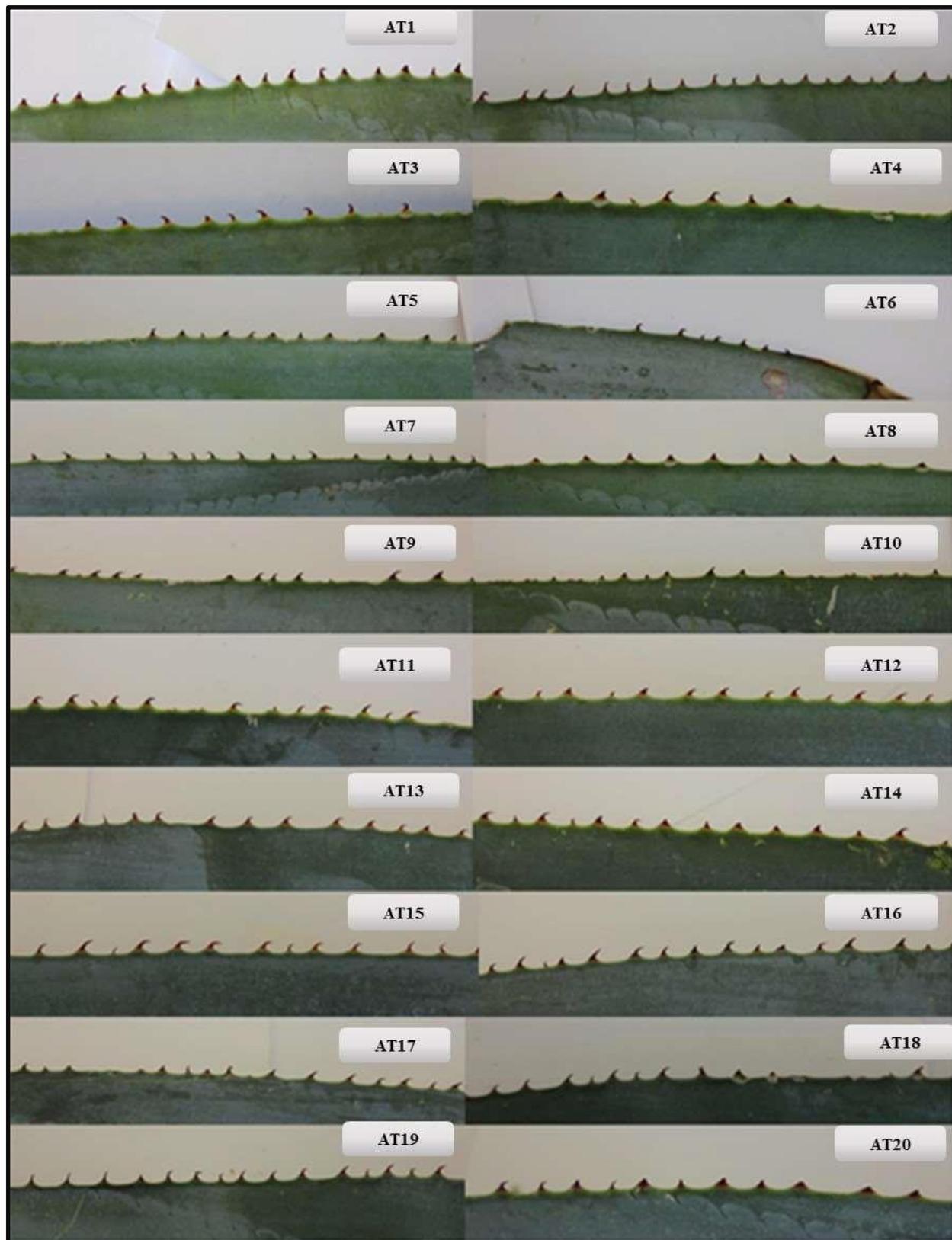


FIGURA A21. Espinas de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* del sureste de Zacatecas (AT).

APÉNDICE A

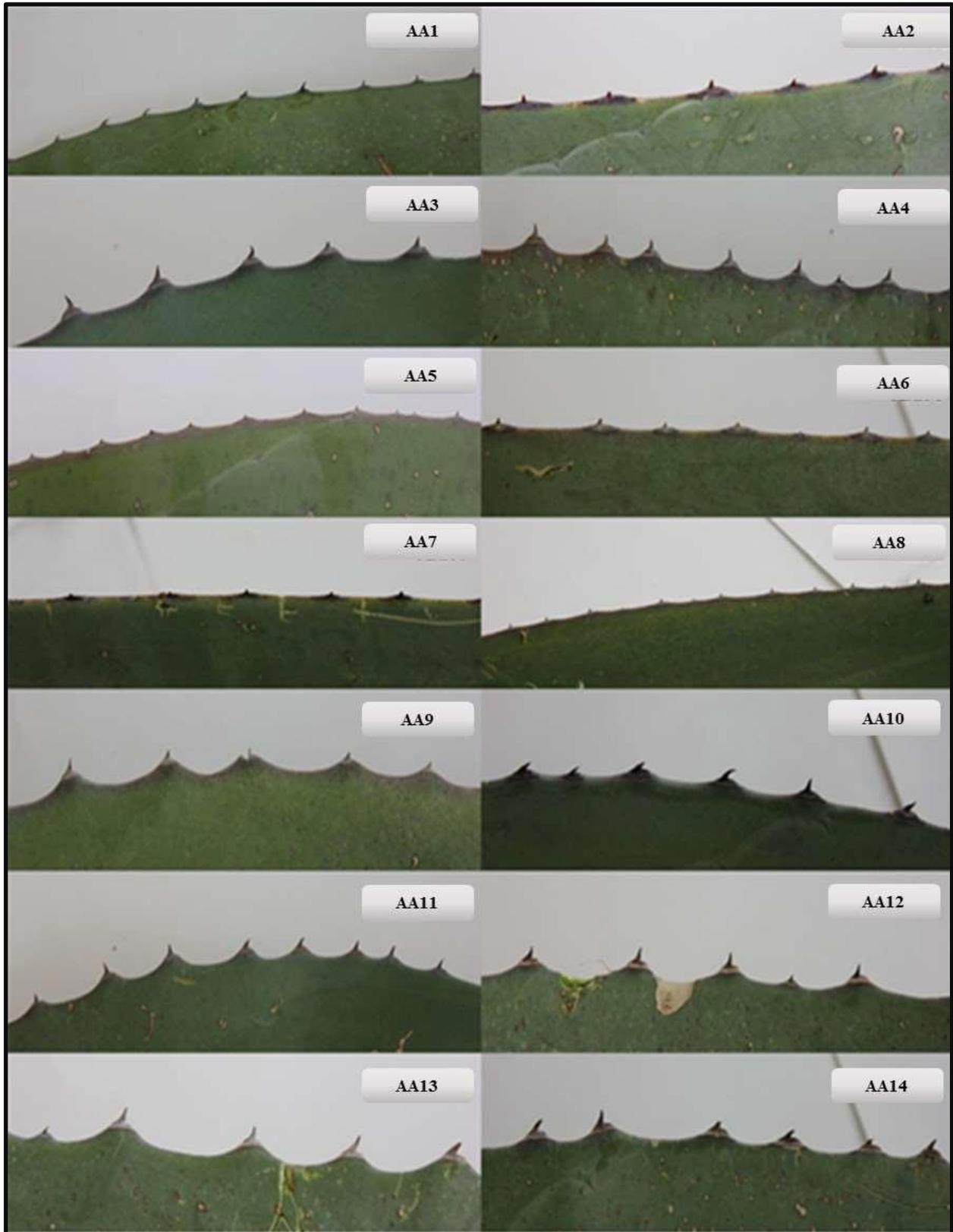


FIGURA A22. Espinas de Agaves aguamieleros (*Agave* sp.) de Zacatecas (AA).



TG/AGAVE (proj.1)
ORIGINAL: Español
FECHA: 2007-04-30

UNIÓN INTERNACIONAL PARA LA PROTECCIÓN DE LAS OBTENCIONES VEGETALES
GINEBRA

PROYECTO

AGAVE
UPOV Código: AGAVE_SPP
Agave spp

DIRECTRICES

PARA LA EJECUCIÓN DEL EXAMEN

DE LA DISTINCIÓN, LA HOMOGENEIDAD Y LA ESTABILIDAD

preparado por un experto de México

para ser considerado por el

*Grupo Técnico de Especies Agrícolas (TWA) en la trigésimasexta sesión que
tendrá lugar en Budapest, Hungría, del 28 de mayo al 1 de junio de 2007*

Nombre alternativo:*

Botanical name	English	French	German	Spanish
Agave spp	Agave			Agave

La finalidad de estas directrices (“directrices de examen”) es elaborar los principios que figuran en la introducción general (documento TG/1/3) y sus documentos TGP conexos, con objeto de que sirvan de orientación práctica y detallada para el examen armonizado de la distinción, homogeneidad y estabilidad (DHE) y en particular, para identificar los caracteres apropiados para el examen DHE y producir descripciones armonizadas de variedades.

DOCUMENTOS CONEXOS

Estas directrices (directrices de examen) deberán leerse en conjunto con la Introducción General y sus documentos TGP conexos.

* Estos nombres eran correctos en el momento de la adopción de estas directrices de examen pero podrían ser objeto de revisión o actualización. [se aconseja a los lectores consultar el código UPOV en el sitio web de la UPOV (www.upov.int) donde encontrará información más reciente.]

1. Objeto de estas directrices de examen
2. Material necesario
3. Método de examen
4. Evaluación de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad
5. Modo de agrupar las variedades y organización de los ensayos en cultivo
6. Introducción a la tabla de caracteres
7. Characteristics/Tableau des caractères /Merkmalstabelle /Tabla de caracteres
8. Explicaciones de la tabla de caracteres
 - 8.1 Explicaciones relativas a varios caracteres
 - 8.2 Explicaciones relativas a caracteres individuales
9. Bibliografía
10. Cuestionario Técnico

1. Objeto de estas directrices de examen

Las presentes directrices se aplican a todas las variedades de las especies *Agave americana*, *A. scabra*, *A. inaequidens*, *A. maximiliana*, *A. cupreata*, *A. atrovirens*, *A. potatorum*, *A. tequilana*, *A. angustifolia*, *A. karwinski*, *A. fourcroydes*, *A. macroacantha*, *A. aktites*, *A. salmiana*, *A. mapisaga*, *A. weberi*, *A. sisalana*, *A. desmetiana*, *A. valenciana*, *A. vazquezgarciae*, *A. attenuata*, *A. pedunculifera*, *A. geminiflora*, *A. schidigera*, *A. filifera*, *A. colimana*, *A. lechuguilla*, *A. victoriae-reginae*, *A. impresa*, *A. albomarginata*, *A. schottii*, *A. parviflora*, *A. toumeyana*, *A. stricta*, *A. rzdowskiana*, *A. striata*, *A. guadalajarana* y *A. eduardi*.

2. Material necesario

2.1 Las autoridades competentes deciden cuándo, dónde y en qué cantidad y calidad se deberá entregar el material vegetal necesario para la ejecución del examen de la variedad.

2.2 Los solicitantes que presenten material procedente de un país distinto de aquel en el que se efectuará el examen, deberán asegurarse de que se han cumplido todas las formalidades aduaneras y fitosanitarias.

2.3 El material se entregará en forma de hijuelos obtenidos por rizoma, bulbilo o semilla botánica según la especie.

2.4 Según la especie, la cantidad mínima de material vegetal que ha de entregar el solicitante deberá ser de 30 hijuelos, 30 bulbilos ó 100 gr de semilla botánica.

2.5 El material de propagación deberá satisfacer, por lo menos, los requisitos mínimos de la especie y de procedencia (que la planta madre tenga entre dos y cuatro años de edad), sanidad y los hijuelos con 15 cm. de diámetro en la “piña” (base de la roseta), más otros (p. ejemplo. cicatrización) que especifiquen las autoridades competentes.

2.6 El material vegetal proporcionado deberá presentar una apariencia saludable, vigorosa y no estar afectado por enfermedades o plagas importantes.

2.7 El material vegetal deberá estar exento de todo tratamiento que afecte la expresión de los caracteres de la variedad, salvo autorización en contrario o solicitud expresa de las autoridades competentes. Si ha sido tratado, se deberá indicar en detalle del tratamiento aplicado.

3. Método de examen

3.1 Número de ciclos de cultivo

La duración mínima de los ensayos deberá ser normalmente de dos ciclos de cultivo independientes.

3.2 Lugar de ejecución de los ensayos

Normalmente los ensayos deberán efectuarse en un solo lugar. En el documento TGP/9 “Examen de la distinción” se ofrece orientación respecto a los ensayos realizados en más de un lugar.

3.3 Condiciones para efectuar el examen

3.3.1 Se deberán efectuar los ensayos en condiciones que aseguren un desarrollo satisfactorio para la expresión de los caracteres pertinentes de la variedad y para la ejecución del examen.

3.3.2 El método recomendado para observar los caracteres se indica en la segunda columna de la tabla de caracteres mediante la siguiente clave:

MG: medición única de un grupo de plantas o partes de plantas

MS: medición de varias plantas o partes de plantas individuales

VG: evaluación visual mediante una única observación de un grupo de plantas o partes de plantas

VS: evaluación visual mediante observación de varias plantas o partes de plantas individuales

3.4 Diseño de los ensayos

3.4.1 Cada ensayo deberá tener por finalidad la obtención de al menos 20 plantas aisladas que deberán dividirse en dos o más repeticiones.

3.4.2 Los ensayos deberán concebirse de tal manera que se permita la extracción de plantas o partes de plantas para efectuar medidas y conteos, sin perjudicar las observaciones ulteriores que deberán efectuarse hasta el final del ciclo de cultivo. Cada ensayo deberá tener por finalidad la obtención de al menos 20 plantas aisladas que deberán dividirse en dos o más repeticiones.

3.5 Número de plantas/partes de plantas que se han de examinar

3.5.1 Salvo indicación en contrario, todas las observaciones en plantas individuales deberán efectuarse en 20 plantas o partes de cada una de las 20 plantas

3.6 Ensayos adicionales

Se podrán efectuar ensayos adicionales para estudiar caracteres pertinentes.

4. Evaluación de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad

4.1 Distinción

4.1.1 Recomendaciones generales

Es de particular importancia para los usuarios de estas directrices de examen consultar la Introducción General antes de tomar decisiones relativas a la distinción. Sin embargo, a continuación se citan una serie de aspectos que han de tenerse en cuenta en las directrices de examen.

4.1.2 Diferencias consistentes

Las diferencias observadas entre variedades pueden ser tan evidentes que no sea necesario más de un ciclo de cultivo. Asimismo, en algunas circunstancias, la influencia del medio ambiente no reviste la importancia suficiente como para requerir más de un único ciclo de cultivo con el fin de garantizar que las diferencias observadas entre variedades son suficientemente consistentes. Una manera de garantizar que una diferencia en un carácter, observada en un ensayo en cultivo, sea lo suficientemente consistente es examinar el carácter en al menos dos ciclos de cultivo independientes.

4.1.3 Diferencias claras

Determinar si una diferencia entre dos variedades es clara depende de muchos factores y, para ello se tendría que considerar, en particular, el tipo de expresión del carácter que se esté examinando, es decir, si éste se expresa de manera cualitativa, cuantitativa o pseudocualitativa. Por consiguiente, es importante que los usuarios de estas directrices de examen estén familiarizados con las recomendaciones contenidas en la Introducción General antes de tomar decisiones relativas a la distinción.

4.2 Homogeneidad

4.2.1 Es particularmente importante que los usuarios de estas directrices de examen consulten la Introducción General antes de tomar decisiones relativas a la homogeneidad. Sin embargo, a continuación se citan una serie de aspectos que han de tenerse en cuenta en las directrices de examen.

4.2.2 Para la evaluación de la homogeneidad deberá aplicarse una población estándar del 1% y una probabilidad de aceptación del 95%, como mínimo. En el caso de un tamaño de muestra de 20 plantas, se permitirá una planta fuera de tipo.

4.3 Estabilidad

4.3.1 En la práctica no es frecuente que se conduzcan exámenes de la estabilidad que brinden resultados tan fiables como los obtenidos en el examen de la distinción y la homogeneidad. No obstante, la experiencia ha demostrado que en muchos tipos de variedades, cuando una variedad haya demostrado ser homogénea, también podrá considerarse estable.

5. Modo de agrupar las variedades y organización de los ensayos en cultivo

5.1 Los caracteres de agrupamiento contribuyen a seleccionar las variedades notoriamente conocidas que se han de cultivar en el ensayo con las variedades candidatas y a la manera en que estas variedades se dividen en grupos para facilitar la evaluación de la distinción.

5.2 Los caracteres de agrupamiento son aquellos en los que los niveles de expresión documentados, aun cuando hayan sido registrados en distintos lugares, pueden utilizarse, individualmente o en combinación con otros caracteres similares: a) para seleccionar las variedades notoriamente conocidas que puedan ser excluidas del ensayo en cultivo utilizado para el examen de la distinción; y b) para organizar el ensayo en cultivo de manera tal que variedades similares queden agrupadas conjuntamente.

5.3 Se ha acordado la utilidad de los siguientes caracteres de agrupamiento:

- a. Hoja: presencia del segundo color (carácter 1)
- b. Hoja: tonalidad del segundo color (carácter 2)
- c. Hoja: distribución del segundo color (carácter 3)
- d. Hoja: textura (carácter 4)
- e. Hoja: tipo de margen (carácter 6)
- f. Tallo: visibilidad (carácter 7)
- g. Hoja: color (carácter 8)
- h. Hoja: intensidad del color (carácter 9)
- i. Hoja: longitud de la espina terminal (carácter 17)
- j. Hoja: forma de las espinas laterales (carácter 18)
- k. Hoja: perfil de la espina lateral (carácter 19)
- l. Hoja: estrías en las espinas laterales (carácter 21)
- m. Planta: Hábito de crecimiento (carácter 25)

5.4 En la Introducción General se dan orientaciones sobre el uso de los caracteres de agrupamiento en el proceso de examen de la distinción.

6. Introducción a la tabla de caracteres

6.1 Categorías de caracteres

6.1.1 Caracteres estándar de las directrices de examen

Los caracteres estándar de las directrices de examen son aquellos que han sido aprobados por la UPOV para el examen DHE y de los cuales los Miembros de la Unión pueden elegir los que convengan para determinadas circunstancias.

6.1.2 Caracteres con asterisco

Los caracteres con asterisco (señalados con *) son los caracteres incluidos en las directrices de examen que son importantes para la armonización internacional de las descripciones de variedades y que deberán utilizarse siempre en el examen DHE e incluirse en la descripción de la variedad por todos los Miembros de la Unión, excepto cuando el nivel de expresión de un carácter precedente o las condiciones medioambientales de la región lo imposibiliten.

6.2 Niveles de expresión y notas correspondientes

Se atribuyen a cada carácter niveles de expresión con el fin de definir el carácter y armonizar las descripciones. A cada nivel de expresión corresponde una nota numérica para facilitar el registro de los datos y la elaboración y el intercambio de la descripción.

6.3 Tipos de expresión

En la Introducción General figura una explicación de los tipos de expresión de los caracteres (cualitativo, cuantitativo y pseudocualitativo).

6.4 Variedades ejemplo

6.4.1 En caso necesario, se proporcionan variedades ejemplo con el fin de aclarar los niveles de expresión de un carácter.

6.5 Leyenda

(*) Caracter con asterisco – véase el capítulo 6.1.2

QL: caracter cualitativo – véase el capítulo 6.3

QN: caracter cuantitativo – véase el capítulo 6.3

PQ: caracter pseudocualitativo – véase el capítulo 6.3

MG, MS, VG, VS: véase el capítulo 3.3.2

(a)-(b) véase “Explicaciones de la tabla de caracteres”, capítulo 8.1

(+) Véase “Explicaciones de la tabla de caracteres”, capítulo 8.2.

7. Characteristics/Tableau des caractères/Merkmalstabelle/Tabla de caracteres

	English	français	deutsch	español	Example Varieties/ Exemples/ Beispielssorten/ Variedades ejemplo	Note/ Nota
1.	VS			Hoja: presencia del segundo color		
(*)						
(+)						
	(a)			ausente		1
				presente		9
2.	VS			Hoja: tonalidad del segundo color		
(*)						
QL	(a)			blanco		1
				amarillo		2
3.	VG			Hoja: distribución del segundo color		
(*)						
(+)						
QL	(a)			marginal		1
				central		2
				reticulado		3
4.	VS			Hoja: textura		
(*)						
QL	(a)			lisa		1
				rugosa		2
5.	VG			Hoja: tipo de curvatura		
(+)						
QN	(a)			ausente		1
				recurvado		2
				incurvado		3
				ondulado		4

English	français	deutsch	español	Example Varieties/ Exemples/ Beispielsorten/ Variedades ejemplo	Note/ Nota
6. VS (* (+)			Hoja: tipo de margen		
			liso		1
PQ (a)			ondulado		2
			dentado		3
			crenado		4
7. VG (*			Tallo: visibilidad		
QL (b)			no visible		1
			conspicuo		9
8. VG (* (+)			Hoja: color		
QL (b)			verde amarillento		1
			verde		2
			azul		3
9. (*			Hoja: intensidad del color		
QN (b)			débil		3
			medio		5
			fuerte		7
10. VS (+)			Hoja: forma		
PQ (b)			espatulada		1
			deltoide		2
			oblonga		3
			ovada		4

English	français	deutsch	español	Example Varieties/ Exemples/ Beispielssorten/ Variedades ejemplo	Note/ Nota
11. VG			Hoja: glaucescencia		
(+)					
QL (b)			ausente		1
			presente		9
12. MS			Hoja: longitud		
(+)					
QN (b)			corta		3
			media		5
			larga		7
13. MS			Hoja: anchura		
(+)					
QN (b)			estrecha		3
			media		5
			ancha		7
14. MS			Hoja: relación largo/ancho		
QN (b)			pequeña		3
			media		5
			grande		7

English	français	deutsch	español	Example Varieties/ Exemples/ Beispielssorten/ Variedades ejemplo	Note/ Nota
15. VG (+)			Hoja: forma del corte transversal		
QL (b)			plano		1
			en forma de “v”		2
			en forma de “u”		3
			cóncavo		4
			quillado		5
			obdeltado		6
			oblato		7
			hemioblato		8
			circular		9
16. VG (+)			Hoja: forma de la espina terminal		
QN (b)			recta		1
			curvada		2
			filiforme		3
			polifurcada		4
17. VS (* (+)			Hoja: longitud de la espina terminal		
PQ (b)			corta		3
			media		5
			larga		7

	English	français	deutsch	español	Example Varieties/ Exemples/ Beispielssorten/ Variedades ejemplo	Note/ Nota
18.	VS				Hoja: forma de las espinas laterales	
(*)						
QL	(b)				recta	1
					curva	2
					ganchuda	3
					filífera	4
19.	VS				Hoja: perfil de la espinas lateral	
(*)						
QL	(b)				única	1
					bifurcada	2
					trifurcada	3
					polifurcada	4
20.	VS				Hoja: color de las espinas laterales	
PQ	(b)				blanco	1
					marrón	2
					rojizo	3
					negro	4
21.	VS				Hoja: estrías en las espinas laterales	
(*)						
QL	(b)				ausente	1
					presente	9
22.	VS				Hoja: uniformidad en el tamaño de las espinas laterales	
(+)						
QL	(b)				homogenea	1
					heterogenea	9

English	français	deutsch	español	Example Varieties/ Exemples/ Beispielsorten/ Variedades ejemplo	Note/ Nota
23. MS (+)			Hoja: número de espinas laterales		
QN (b)			pequeño		3
			medio		5
			grande		7
24. MS			Hoja: distancia entre las espinas laterales		
QN (b)			baja		3
			media		5
			alta		7
25. VG (* (+)			Planta: hábito de crecimiento		
QL (b)			rosetófila acaulescente		1
			rosetófila caulescente		2
26. MS			Planta: diámetro de la roseta		
QN (b)			pequeño		3
			medio		5
			grande		7
27. MS (+)			Planta: número de hojas por filotaxia		
QN (b)			bajo		3
			medio		5
			alto		7

	English	français	deutsch	español	Example Varieties/ Exemples/ Beispielssorten/ Variedades ejemplo	Note/ Nota
28.	MS			Planta: número de hojas		
QN	(b)			bajo		3
				medio		5
				alto		7
29.	MS			Planta: altura		
	(+)					
QN	(b)			baja		3
				media		5
				alta		7
30.	VS			Hijuelos: prolificidad		
	(+)					
QN	(b)			ausente		1
				baja		3
				media		5
				alta		7
31.	VG			Planta: ciclo a inicio de floración		
	(+)					
QN	(c)			precoz		3
				intermedio		5
				tardío		7

8. Explicaciones de la tabla de caracteres

8.1 Explicaciones relativas a varios caracteres

Los caracteres que contengan la siguiente clave en la segunda columna de la tabla de caracteres deberán examinarse como se indica a continuación:

- (a) Observaciones en estado joven, cuando la planta tiene 3 años de edad
- (b) Observaciones en estado maduro, cuando el escapo floral es evidente
- (c) Observaciones al inicio de la floración; cuando el 50 % de las plantas presenten en el escapo la aparición del ápice de la inflorescencia

8.2 Explicaciones relativas a caracteres individuales

Ad. 1: Hoja: presencia de segundo color



1
ausente



9
presente

Ad. 3: Hoja: distribución del segundo color



1



2



3

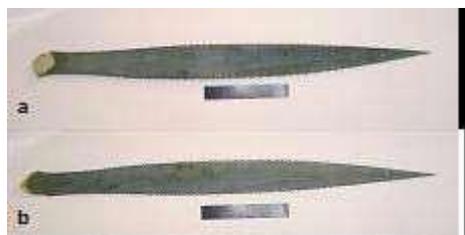
marginal

TG/AGAVE(proj.1)

Agave 2007104-30
central

reticulado

Ad. 5: Hoja: tipo de curvatura



1
ausente



2
recurvado



4
ondulado

Ad. 6: Hoja: tipo de margen.



1
liso



2
ondulado



3
dentado



4
crenado

Ad. 8: Hoja: color

El color se observará en las hojas bien desarrolladas en la parte media de la planta.



1
Verde amarillento

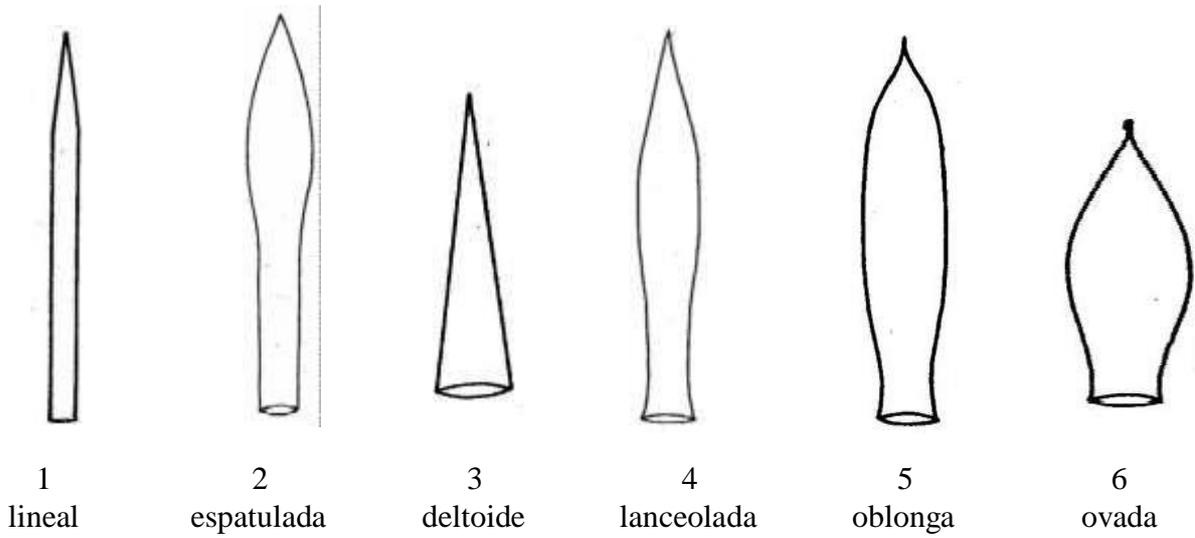


2
verde



3
azul

Ad. 10: Hoja: forma



Ad. 11: Hoja: glaucescencia



ausente



presente

Ad. 12: Hoja: longitud

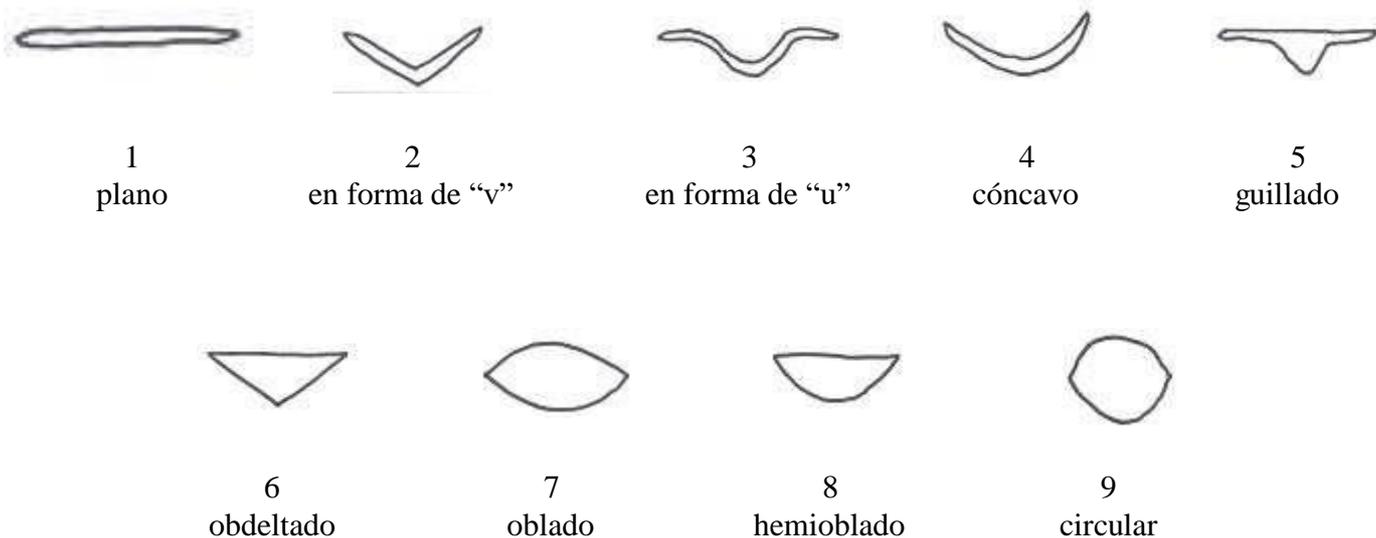
Medir desde la base hasta la punta de la hoja.

Ad. 13: Hoja: anchura

Medir en la parte media de la hoja.

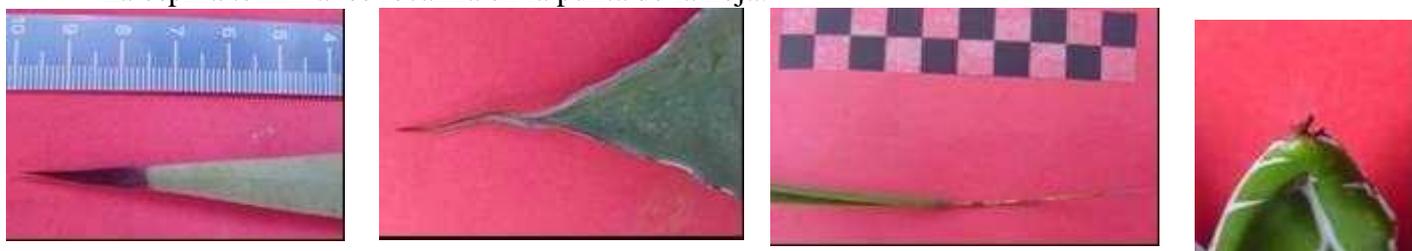
Ad. 15: Hoja: forma en corte transversal

Observado a la mitad del plano longitudinal de la hoja.



Ad. 16: Hoja: forma de la espina terminal

La espina terminal se localiza en la punta de la hoja.

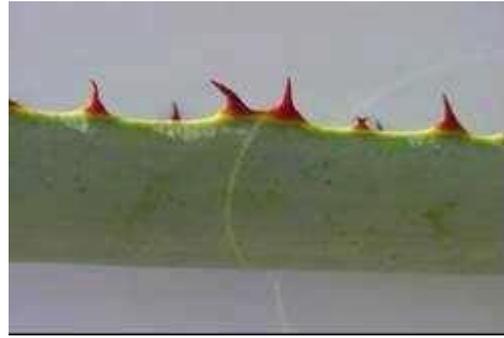


Ad. 17: Hoja: longitud de la espina terminal

Medir desde la zona oscurecida hasta la punta de la espina.

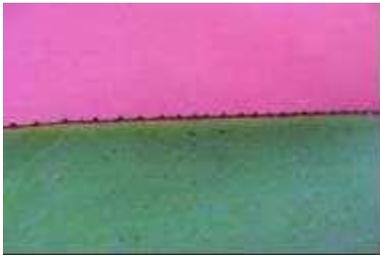


1
Homogénea



2
Heterogénea

Ad. 23: Hoja: número de espinas laterales



3
pequeño



5
medio



7
grande

Ad. 25: Planta: hábito de crecimiento



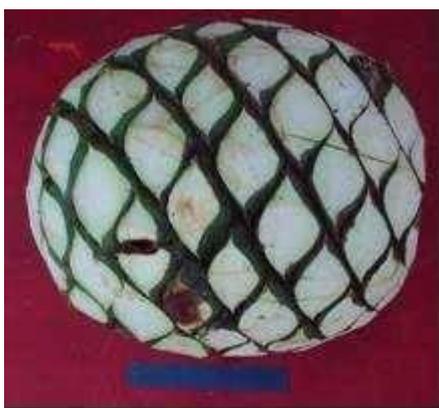
1
acaulescente



2
caulescente

Ad. 27: Planta: número de hojas por filotaxia

El arreglo de las hojas en sus ejes; por lo general expresado numéricamente por una fracción, en la que el numerador representa el número de revoluciones de una espiral para llegar de una hoja, pasando por cada una sucesiva, hasta alcanzar la que está directamente sobre la hoja inicial, y el denominador representa el número de hojas encontradas al hacer dicha espiral. Se recomienda contarlas en planta jimada (en la figura siguiente se aprecia una plata jimada).



Ejemplo de filotaxia

Ad. 29: Planta: altura

La altura se deberá observar desde el nivel del suelo hasta el ápice de la planta.

Ad. 30: Hijuelos: prolificidad

Se debe observar la cantidad de hijuelos que nacen alrededor de la planta.

Ad. 31: Planta: ciclo a inicio de floración

Observaciones al inicio de la floración; cuando el 50 % de las plantas presenten la aparición del ápice de la inflorescencia

9. Bibliografía

Gentry, H.S., 1982: Agaves of Continental North America. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona, U.S.A. 670 pp.

Gonzalez de Cosío, M., 1995: Especies vegetales de importancia económica en México. 2ª. Ed. Porrúa. México.

Henández-López, L., 1995: The endemic flora of Jalisco, México, centers of endemism and implications for conservation. Thesis. University of Wisconsin-Madison. 76 pp.

Martínez, M., 1994: Catálogo de nombres vulgares y científicos de las plantas mexicanas. Fondo de Cultura.

McVaugh, R., 1989: Agave. In Flora Novo-Galiciana. The University of Michigan Herbarium, Ann Arbor. 126-148 pp.

Moreno, N.P., 1984: Glosario Botánico Ilustrado. Compañía Editorial Continental. 300 pp.

Standley, P.C., 1920-1926: Trees and shrubs of México. Contr. U.S. Natl. Herb. Vol. 23. Washington.

10. Cuestionario Técnico

CUESTIONARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
		Fecha de aplicación: (no debe ser rellenado por el solicitante)
CUESTIONARIO TÉCNICO		
Proporcionar la información acorde a la solicitud para la protección de los derechos del obtentor de variedades vegetales		
1. Objeto del cuestionario técnico (sírvese indicar las especies pertinentes)		
1.1 Nombre botánico	<input type="text" value="Agave spp."/>	
1.2 Nombre común	<input type="text" value="Agave"/>	
2. Solicitante		
Nombre	<input type="text"/>	
Dirección	<input type="text"/>	
Número telefónico	<input type="text"/>	
Número de fax	<input type="text"/>	
Dirección de correo electrónico	<input type="text"/>	
Obtentor (si no es el solicitante)	<input type="text"/>	
3. Denominación propuesta y referencia del obtentor		
Denominación propuesta (si procede)	<input type="text"/>	
Referencia del obtentor	<input type="text"/>	

CUESTIONARIO TÉCNICO	Página {x} de {y}	Número de referencia:
----------------------	-------------------	-----------------------

#4. Información sobre el método de obtención y la reproducción de la variedad		
4.1 Método de obtención		
Variedad resultante de:		
4.1.1 Cruzamiento		
a)	cruzamiento controlado (sírvese mencionar las variedades parentales)	[]
b)	cruzamiento parcialmente conocido (sírvese mencionar la(s) variedad(es) parental(es) conocida(s))	[]
c)	cruzamiento desconocido	[]
4.1.2	Mutación (sírvese mencionar la variedad parental)	[]
4.1.3	Descubrimiento y desarrollo (sírvese mencionar dónde y cuándo ha sido descubierta y cómo ha sido desarrollada la variedad)	[]
4.1.4	Otro (sírvese proporcionar detalles)	[]

Las autoridades podrán disponer que parte de esta información se suministre en una sección confidencial del Cuestionario Técnico.

CUESTIONARIO TÉCNICO

Pagina {x} de {y}

Número de referencia:

4.2	Método de reproducción de la variedad	
4.2.1	Propagación por semilla de la variedad	
(a)	Autopolinización	[]
(b)	Polinización cruzado	[]
(c)	Híbrido	[]
(d)	Otro	[]
	(sírvese proporcionar detalles)	
4.2.2	Otro	[]
	(sírvese proporcionar detalles)	

5. Caracteres de la variedad que se deben indicar (el número entre paréntesis indica el carácter correspondiente en las Directrices de examen; especifíquese la nota apropiada).		
Caracteres	Variedades ejemplo	Nota
5.1 Hoja: presencia del segundo color (1)		
ausente		1 []
presente		9 []
5.2 Hoja: tonalidad del segundo color (2)		
blanco		1[]
amarillo		2[]
5.3 Hoja: distribución del color (3)		
marginal		1[]
central		2[]
reticulado		3[...]

CUESTIONARIO TÉCNICO

Pagina {x} de {y}

Número de referencia:

	Caracteres	Variedades ejemplo	Nota
5.4	Hoja: textura		
(4)			
	lisa		1[...]
	rugosa		2[...]
5.5	Hoja: tipo de margen		
(6)			
	liso		1[...]
	ondulado		2[...]
	dentado		3[...]
	crenado		4 []
5.6	Tallo: visibilidad		
(7)			
	no visible		1 []
	conspicuo		2 []
5.7	Hoja: color		
(8)			
	verde amarillento		1 [...]
	verde		2 [...]
5.8	Hoja: intensidad del color		
(9)			
	débil		3 [...]
	medio		5 [...]
	fuerte		7 []
5.9	Hoja: longitud de la espina terminal		
(17)			
	corta		3 [...]
	media		5 [...]
	larga		7 []

Caracteres	Variedades ejemplo	Nota
5.10 Hoja: forma de las espinas laterales (18)		
recta		1 []
curva		2 []
ganchuda		3 []
filífera		4 []
5.11 Hoja: perfil de la espina lateral (19)		
monofurcada		1 []
difurcada		2 []
trifurcada		3 []
polifurcada		4 []
5.12 Hoja: estrías en las espinas laterales (21)		
ausentes		1 []
presentes		9 []
5.13 Planta: hábito de crecimiento (25)		
rosetófila acaulescente		1 []
rosetófila caulescente		2 []

CUESTIONARIO TÉCNICO

Pagina {x} de {y}

Número de referencia:

6. Variedades similares y diferencias con respecto a esas variedades			
<i>Sírvase utilizar la tabla y el recuadro de comentarios siguientes para suministrar información acerca de la diferencia entre su variedad candidata y la variedad o variedades que, a su leal saber y entender, es o son más similares. Esta información puede ser útil para que las autoridades encargadas del examen realicen el examen de la distinción.</i>			
Denominación(es) de la(s) variedad(es) similar(es) a la variedad candidata	Carácter(es) respecto del (de los) que la variedad candidata difiere de la(s) variedad(es) similar(es)	Describa la expresión del (de los) carácter(es) de la(s) variedad(es) similar(es)	Describa la expresión del (de los) carácter(es) de su variedad candidata
<i>Ejemplo</i>	<i>Hoja: Color en la hoja bien desarrollada</i>	<i>Azul</i>	<i>Verde amarillento</i>
Comentarios:			
#7. Información complementaria que pueda facilitar el examen de la variedad			
7.1 Además de la información suministrada en los Capítulos 5 y 6, ¿existen caracteres adicionales que puedan contribuir a distinguir la variedad?			
Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>			
(En caso afirmativo, sírvase especificar)			
(i) Inflorescencia: tipo			
Paniculada			1 <input type="checkbox"/>
Espiga			2 <input type="checkbox"/>

Las autoridades podrán disponer que parte de esta información se suministre en una sección confidencial del Cuestionario Técnico.

CUESTIONARIO TÉCNICO

Página {x} de {y}

Número de referencia:

(ii) Inflorescencia: bulbilos	
Ausentes	1 []
Presentes	2 []
(iii) Fibra: longitud del haz	
Corta	3 []
Media	5 []
Larga	7 []
(iv) Fibra: densidad por cm ² en el tercio medio de la base de la hoja	
Pocas	3 []
Media	5 []
Muchas	7 []
(v) Fibra: resistencia	
Baja	3 []
Media	5 []
Alta	7 []
(vi) Fibra: textura	
Lisa	1 []
Rugosa	2 []
7.2 ¿Existen condiciones especiales de cultivo de la variedad o de realización del examen?	
Si []	No []
(En caso afirmativo, sírvase especificar)	
7.3 Otra información	
Una fotografía representativa del color de la variedad debe acompañar el cuestionario técnico.	

8. Autorización para el lanzamiento

(a) ¿Se exige una autorización previa para poder diseminar la variedad en virtud de la legislación relativa a la protección del medio ambiente y la salud humana y animal?

Si [] No []

(b) ¿Se ha obtenido dicha autorización?

Si [] No []

Si la segunda respuesta es afirmativa, sírvase presentar una copia de la autorización.

9. Información sobre el material vegetal que se examinará o que será presentado para ser examinado.

9.1 La expresión de un carácter o de varias características de una variedad pueden ser afectadas por factores, por ejemplo plagas y enfermedades, tratamiento químico (E.g. retardadores del crecimiento o pesticidas), efectos del cultivo de tejidos, etc.

9.2 El material vegetal deberá estar exento de todo tratamiento que afecte la expresión de los caracteres de la variedad, salvo autorización en contra o solicitud expresa de las autoridades competentes. Si el material vegetal ha sido tratado, se deberá indicar en detalle el tratamiento aplicado. Por consiguiente, sírvase indicar a continuación si, a su leal saber y entender, el material vegetal que será examinado ha estado

expuesto a: (a) Microorganismos (por ejemplo, virus, bacterias, fitoplasma)

Si [] No []

(b) Tratamiento químico (e.g. retardadores del crecimiento, pesticida) Si [] No []

(c) Cultivo de tejidos

Si [] No []

(d) Otros factores

Si [] No []

Si ha contestado afirmativamente a alguna de las preguntas sírvase suministrar detalles.

9.3 ¿El material de planta que se examinará se ha probado para la presencia de virus o de otros patógenos?

Si []

(proporcione por favor los detalles según lo especificado por la autoridad)

No []

~~10. Por la presente declaro que, a mi leal saber y entender, la información proporcionada en este formulario es correcta:~~

Nombre del solicitante

APÉNDICE C

CUADRO C1. *A. salmiana* del Predio de la Honda (AH). (Datos guía técnica).

C	4 1/2 años	AH1:	6 ½ años	AH:2	4 años	AH:3	4 años	AH:4 C/Q	4 1/2	AH:5
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	poco rugosa	2	rugosa	2	poco rugosa	2	rugosa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	4	craneado	4	craneado	4	craneado	4	craneado	4	craneado
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento
9	5	medio	5	medio	5	medio	5	medio	5	medio
10	4	ovada	4	ovada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente
12	74.5cm		72.5 cm		61cm		63cm		73cm	
13	24cm		20.5cm		18.5cm		19cm		22cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	7	larga	3	corta	7	larga	7	larga	7	larga
18	3	ganchuda	3	ganchuda	3	ganchuda	3	ganchuda	3	ganchuda
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	14 espinas		25		23 espinas		20 espinas		23 espinas	
24	5	media	5	media	5	media	5	media	5	media
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	138.5cm		103.5 cm		107cm		135cm		101cm	
27	22 hojas		27 hojas		22hojas		26hojas		20hojas	
28	22hojas		27 hojas		22 hojas		26 hojas		20 hojas	
29	103cm		105.5cm		83 cm		89 cm		104cm	
30	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja

C.- Carácter.

CUADRO C1: Continuación (AH).

C	4 1/2	AH:6	6 años	AH:7	8 años	AH:8	3 años	AH:9	5 2/2 años	AH:10
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	rugosa	2	poco rugosa	2	poco rugosa	2	poco rugosa	2	poco rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	4	craneado	4	craneado	4	craneado	4	craneado	4	craneado
7	1	no visible	1	no visible	1	No visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento
9	5	medio	5	poco verde	5	poco verde	5	medio	5	medio
10	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	ovada
11	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente
12	58cm		80cm		71cm		54cm		74cm	
13	18.5cm		23.5 cm		10.5 cm		17.5cm		20cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	7	larga	7	larga	7	larga	7	larga	7	larga
18	3	ganchuda	3	ganchuda	3	ganchuda, espinas más pequeñas	3	ganchuda	3	ganchuda
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	25 espinas		26 espinas		30 espinas		18 espinas		35 espinas	
24	5	media	5	media	3	baja	5	media	5	media
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	Rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	104 cm		140 mas 1 muy extendida		123 cm		83.5cm		100cm	
27	19 hojas		33-34 hojas		33 hojas		14 hojas		25 hojas	
28	19 hojas		33-34 hojas		33 hojas		14 hojas		25 hojas	
29	85cm		134.5cm		115cm		79cm		100 más 1 cuarta	
30	3	baja	5	media	5	media	3	baja	5	media

CUADRO C1: Continuación (AH).

C	5 años	AH:11	4 años	AH:12	6 años	AH:13	6 ½ años	AH:14	8 ½ años	AH:15
1	1	ausente								
2	NA	no visible								
3	NA	no visible								
4	2	poco rugosa								
5	1	ausente								
6	4	craneado								
7	1	no visible								
8	1	verde amarillento								
9	5	medio	5	poco verde	5	poco verde	5	medio	5	medio
10	4	ovada	4	lanceolada	6	ovada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	9	presente								
12	71cm		47cm		76 cm		53.5cm		63cm	
13	17cm		14cm		24cm		11cm		16cm	
15	8	hemioblato								
16	1	recta								
17	7	larga								
18	3	ganchuda	3	ganchuda	3	ganchuda	3	ganchuda pequeñas	3	ganchuda pequeñas
19	1	única								
20	2	marrón								
21	1	ausente								
22	1	homogénea								
23	34 espinas		21 espinas		19 espinas		23 espinas		21 espinas	
24	5	media	7	baja	7	alta	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente								
26	105.5cm		84cm		156cm		93cm		127cm	
27	24 hojas		19hojas		30hojas		30 hojas		40 hojas	
28	24 hojas		19 hojas		30 hojas		30 hojas		40 hojas	
29	91cm		60cm		128cm		100cm		136cm	
30	5	media	3	baja	7	alta	5	media	5	media

AH13: C22 en la base las espinas son pequeñas y en la parte media son grandes

AH14: El agave en la punta de todas sus hojas tiene una coloración rosada. C18: Espinas pequeñas.

CUADRO C1: Continuación (AH).

C	7 1/2 años	AH:16	4 1/2 años	AH:17	3 1/2 años	AH:18	6 años	AHV:19
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	poco rugosa	2	poco rugosa	2	poco rugosa	2	poco rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	4	craneado	2	ondulado	2	ondulado	3	dentado
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento
9	7	fuerte	5	medio	5	poco verde	3	verde limón
10	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	6	ovada
11	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente
12	74cm		55cm		51cm		60cm	
13	21cm		17cm		14cm		23.5cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	7	larga	7	larga	7	larga	7	larga
18	3	ganchuda	3	ganchuda	3	ganchuda	3	ganchudas grandes
19	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	26 espinas		28 espinas		17 espinas grandes		18 espinas	
24	7	alta	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	119cm		72 cm		75cm		108cm	
27	39 hojas		23 hojas		20 hojas		27 hojas	
28	39 hojas		23 hojas		20 hojas		27 hojas	
29	122cm		68cm		72cm		106cm	
30	5	media	3	baja	3	baja	3	baja

AH 16: C18: Espinas grandes.

AH17: C18 Espinas grandes.

AH18: C18: Espinas grandes.

AH19: C18 Espinas grandes pocas.

CUADRO C2. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Pinos – Zacatecas (AP). (Datos guía técnica).

C	7 años	AP:1	10 ½ años C/Q	AP:2	8 años	AP:3	7 años	AP:4	8 años	AP:5
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	lisa	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde amarillento	1	verde amarillento	2	verde oscuro	1	verde amarillento	1	verde amarillento
9	5	medio	3	débil	7	fuerte	3	débil	3	débil
10	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	1	ausente	1	ausente	9	presente	1	ausente	1	ausente
12	43cm		38cm		79cm		47cm		66cm	
13	9cm		15cm		16cm		15cm		16cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	5	media	5	media	5	media	3	corta	3	corta
18	1	recta	3	ganchuda	3	ganchuda	3	ganchuda	1	recta
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	23 espinas		44 espinas		56 espinas		34cm		38 espinas	
24	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja	5	media
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila
26	86cm		1.54ms		1.22m		1 m		1.21m	
27	38 hojas		46 hojas		32 hojas		30 hojas		35 hojas	
28	13verdes,25secas		46 hojas		32hojas		30 hojas		35 hojas	
29	75cm		134cm		117cm		78cm		100cm	
30	5	Media	5	media	5	media	5	media	7	alta

Características del lugar: La población de un agave de muestreo a otra; están muy alejadas entre sí. En simple apreciación los agaves se ven poco desarrollados y pequeños. La tierra está muy apretada y pedregosa. **AP1:** C6 el borde de la hoja tiene coloración marrón. La elevación de la espina da una apariencia al margen de la hoja en forma ondulada. C10: La hoja esta enrroscada hacia dentro. C18: Las espinas tienen forma irregular (rectas y ganchudas) en la parte terminal de la hoja. C22: Las espinas en la parte media son más grandes y en la base pequeñas. **AP2:** C/Q.C6: Todo el borde de la hoja tiene coloración marrón. Las hojas más próximas al suelo tienen en toda la hoja una coloración marron. C10: La hoja esta enrroscada hacia dentro. C18: Espinas muy evidentes y grandes. C22: En la base las espinas son pequeñas. **AP3:** C10: La hoja esta enrroscada en la parte media hacia dentro. La hoja en el borde tiene una coloración marrón alrededor de toda la hoja; y en la parte terminal se hace más evidente. C18: Espinas evidentes y delgadas. C22: En la base las espinas son pequeñas.

CUADRO C2: Continuación (AP).

C	8 años	AP:6	7 años	AP7	6 años	AP:8	11 años C/Q	AP:9	9 años C/Q	AP:10
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	ni visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento	2	verde	2	verde
9	3	débil	5	medio	5	medio	5	medio	5	medio
10	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	poco lanceolada	3	deltoides
11	1	ausente	9	presente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	55cm		52 cm		53cm		84cm		42cm	
13	12cm		11cm		16cm		15cm		6cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	5	quillado	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	5	media	7	larga	7	larga	5	media	7	larga
18	1	recta	2	curva	1	recta	1	recta	1	recta
19	1	única	1	bifurcada	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	9	heterogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	23 espinas		25 espinas		33 espinas		38 espinas		29 espinas	
24	5	media	3	baja	3	baja	7	alta	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	110cm		91cm		102cm		167cm		77cm	
27	39 hojas		32 hojas		25 hojas		52 hojas		42 hojas	
28	39 hojas		32 hojas		25 hojas		52 hojas		42 hojas	
29	94		85cm		76cm		1.47m		82cm	
30	5	media	7	alta	7	alta	5	media	7	tardío

AP6: C6: Todo el margen de la hoja tiene tonalidad marrón, más evidente en la parte terminal. Las hojas más próximas al suelo están en gran parte con la tonalidad marrón. C10: La hoja esta enrollada hacia dentro en la parte media. C18: Forma irregular; algunas rectas y otras curvas. C22: En la base las espinas son pequeñas. **AP7:** C6: Todo el margen de la hoja tiene tonalidad marrón, más evidente en la parte terminal C10: La parte media de la hoja esta enrollada hacia dentro. C18: Espinas pequeñas y poco desarrolladas. C22: En la base las espinas son pequeñas. **AP8:** Las hojas del agave tienen manchas blancas. C6: En la parte media la elevación de la espina da una apariencia ondulada. C18: su forma es irregular; existen curvas y rectas y tienen orientación diferente. En la parte media de la hoja las espinas son muy grandes. **AP9:** El agave tiene pecas blancas. C6: Todo el margen de la hoja tiene tonalidad marron. C10: La parte media de la hoja esta enrollada hacia dentro. C18: Espinas muy grandes en la parte media y pequeñas en la base

CUADRO C2: Continuación (AP).

C	7 años	AP:11	6 años	AP:12	7 años	AP:13	7 años	AP:14	9 años C/Q	AP:15
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	3	dentado	1	liso	3	dentado
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento
9	5	medio	3	débil	3	débil	3	débil	7	fuerte
10	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	67cm		56cm		56cm		68cm		95cm	
13	19cm		13cm		14cm		14cm		21cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	5	media	3	corta	5	media	5	media	5	media
18	1	recto	2	curva	1	recta	3	ganchuda	2	curva
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	35 espinas		37 espinas		35 espinas		28 espinas		54 espinas	
24	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	rosetófila acaulescente		1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	117cm		97cm		105cm		98cm		7	grande
27	26 hojas		27 hojas		35 hojas		28 hojas		55 hojas	
28	26 hojas		27 hojas		35 hojas		28hojas		55 hojas	
29	102cm		81cm		100cm		99cm		152cm	
30	7	alta	3	baja	5	media	5	media	5	media

AP10: El agave tiene pecas blancas. Agave poco desarrollado y pecas muy pequeñas y delgadas. C6: Todo el margen de la hoja tiene tonalidad marrón. C18: Espinas pequeñas

AP11: C6: Todo el margen de la hoja tiene tonalidad marrón. C18: su forma es irregular; existen curvas y rectas. En la parte media son muy grandes y en la base pequeñas

AP12: C6: Todo el margen de la hoja tiene tonalidad marrón

AP13: C6: Todo el margen de la hoja tiene tonalidad marrón. El margen en la base es liso y en la parte media de la hoja es dentado. C10: La parte media de la hoja esta enroscada hacia dentro

AP14: C6: Todo el margen de la hoja tiene tonalidad marrón. C10: La parte media de la hoja esta enroscada hacia dentro. C18: Las espinas son grandes en la parte media y tienen forma irregular (curva y ganchuda). C22: En la base las espinas son pequeñas

CUADRO C2: Continuación (AP).

C	9Años	AP:16	9 años	AP:17	10 años C/Q	AP:18	8 años	AP:19	9 años	AP:20 C/Q
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	asunte	1	ausente
2	NA	no visible	Na	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no aplica
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no aplica
4	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento	2	verde alimonado	1	verde amarillento
9	7	fuerte	5	medio	3	débil	5	medio	3	débil
10	4	lanceolado	4	lanceolada	4	lanceolada	4	poco lanceolada, casi lineal	4	lanceolada
11	9	presente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	134cm		67cm		59cm		100cm		65cm	
13	20cm		13cm		12cm		13cm		11cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	4	cóncavo	8	hemioblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	7	larga	7	larga	5	media	7	larga	3	media
18	3	curva	2	curva	1	recta	2	curva	2	curva
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	73 espinas		38 espinas		29		62 espinas		37 espinas	
24	5	media	5	media	5	media	5 media		3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	195cm		112cm		97cm		1.52m		1.10m	
27	65 hojas		30 hojas		48 hojas		40 hojas		52 hojas	
28	65 hojas		30 hojas		48 hojas		40 hojas		52 hojas	
29	180cm		95cm		113cm		147cm		117cm	
30	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta	5	media

AP16: C10: En la parte media de la hoja está muy extendida y en la parte final larga y picuda. C18: Espinas pequeñas. **AP17:** C8: La parte trasera de la hoja tiene una coloración más amarilla. C18: Irregulares (curvas y rectas). **AP18:** C6: El margen tiene coloración marrón y es más evidente y en mayor proporción en la punta. C15: La hoja está muy seca y tiene la forma cóncava. C18: Espinas poco evidentes y poco desarrolladas. **AP19:** C8 El agave parece estarse secando; posiblemente esto se deba su coloración más amarillenta. C10: Poco lanceolada casi lineal. C18: Espinas de tamaño mediano.

CUADRO C3. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Saldaña en Pinos – Zacatecas (AS).
(Datos guía técnica).

C	5 ½ años	AS:1	9 años	AS:2	8 años	AS:3	6 años	AS:4	9 años	AS:5
1	1	ausente								
2	NA	no visible								
3	NA	no visible								
4	2	rugosa								
5	1	ausente								
6	1	liso	3	dentado	3	dentado	1	liso	1	liso
7	1	no visible								
8	1	verde amarillento								
9	5	medio	5	medio	7	fuerte	5	medio	5	medio
10	4	lanceolada								
11	1	ausente								
12	79cm		94cm		105cm		68cm		110cm	
13	21cm		21cm		18cm		14cm		24cm	
15	8	hemioblato								
16	1	recta								
17	5	media								
18	1	recta								
19	1	única								
20	2	marrón								
21	1	ausente								
22	1	homogénea								
23	38 espinas		45 espinas		42 espinas		45 espinas		74 espinas	
24	5	media	3	baja	5	media	3	baja	3 baja	
25	1	rosetófila acaulescente								
26	127cm		198cm		121cm		137cm		117cm	
27	24 hojas		52 hojas		45 hojas		42 hojas		56 hojas	
28	24 hojas		52 hojas		45 hojas		42 hojas		56 hojas	
29	113cm		150cm		159cm		106cm		160cm	
30	5	media	3	baja	3	baja	5	media	5	media

AS1: C6 Existe una elevación en la espina dando la apariencia ondulada, pero el margen sigue siendo liso. La penca poco carnosa. C10: En la parte media la hoja se enrosca hacia adentro. C18: Espinas de tamaño medio.

AS2: Maguey quietilla. Penca carnosa. C6: En la parte media de la hoja tiene una apariencia orientada debido a la orientación de la espina. C10: En la parte media de la hoja es extendida.

AS3: Penca poco carnosa. C6: En la parte media de la hoja es dentada y en la base es lisa. C10: En la parte media de la hoja se enrosca hacia adentro.

AS4: Agave poco desarrollado y la penca poco carnosa. C6: El margen de la hoja tiene una tonalidad Marrón y es más evidente en la punta. C18: Espinas muy grandes en la parte media y terminal. Tienen orientación hacia abajo.

C22: En la base son pequeñas.

CUADRO C3: Continuación (AS).

C	8 Años	AS:6	6, Años	AS:7	5 1/2 Años	AS:8	8 Años	AS:9	8 años	AS:10
1	1	ausente								
2	NA	no visible								
3	NA	no visible								
4	2	rugosa								
5	1	ausente								
6	1	liso								
7	1	no visible								
8	1	verde amarillento	1	verde alimonado	1	verde amarillento	2	verde	2	verde
9	5	medio	3	débil	5	medio	7	fuerte	5	medio
10	4	lanceolada								
11	9	presente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	80cm		55cm		90cm		67cm		100cm	
13	22cm		14cm		20cm		19cm		19cm	
15	8	hemioblato								
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	hemioblato	1	recta
17	3	corta	5	media	5	media	1	media	7	larga
18	1	recta	2	curva	1	recta	1	recta	1	recta
19	1	única								
20	2	marrón								
21	1	ausente								
22	1	homogénea								
23	51 espinas		24 espinas		43 espinas		38 espinas		65 espinas	
24	3	baja								
25	1	rosetófila acaulescente								
26	1.72cm		1 m		1.37cm		1.19m		1.29m	
27	38 hojas		35 hojas		28 hojas		33 hojas		32 hojas	
28	38 hojas		35 hojas		28 hojas		33 hojas		32 hojas	
29	125cm		79cm		124cm		102cm		132cm	
30	5	media	7	alta	5	media	5	media	5	media

AS6: Agave quietilla penca poco carnosa. C10: En la parte media, la hoja es muy extendida. C18: Espinas muy grandes en la parte media y terminal. Tienen orientación hacia abajo.

AS7: Penca poco carnosa y con pequeñas pecas blancas. C18: Espinas muy grandes en la parte media y terminal. Tienen orientación hacia abajo.

AS8: Penca grande, poco carnosa y flexible. C6: El margen de la hoja tiene una tonalidad marrón y es más evidente en la punta. C18: Espinas muy grandes en la parte media. Tienen orientación hacia abajo.

CUADRO C3: Continuación (AS).

C	6 años	AS:11	7 años	AS:12	6 años	AS:13	6 Años	AS:14	8. Años	AS:15
1	1	ausente								
2	NA	no visible								
3	NA	no visible								
4	2	rugosa								
5	1	ausente								
6	1	liso	1	liso	1	liso	3	dentado	3	dentado
7	1	no visible								
8	1	verde amarillento	1	verde alimonado	2	verde oscuro	1	verde amarillento	2	verde claro
9	3	débil	5	medio	7	fuerte	3	débil	3	débil
10	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada, casi lineal	4	lanceolada	4	lanceolada
11	1	ausente								
12	55cm		87cm		69cm		75cm		92cm	
13	11cm		18cm		14cm		19cm		23cm	
15	8	hemioblato								
16	1	recta								
17	5	media	5	media	3	corta	3	corta	3	corta
18	1	recta	2	curva	1	recta	2	curva	1	recta
19	1	única								
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón oscuro	1	blanco	2	marrón
21	1	ausente								
22	1	homogénea								
23	26 espinas		35 espinas		36 espinas		56 espinas		47 espinas	
24	5	media	5	media	3	baja	3	baja	5	media
25	1	rosetófila acaulescente								
26	70cm		121cm		105cm		147cm		209cm	
27	34 hojas		29 hojas		24 hojas		29 hojas		53 hojas	
28	34 hojas		29 hojas		24 hojas		29 hojas		53 hojas	
29	86cm		123cm		95cm		107cm		135cm	
30	5	media	3	baja	7	alta	3	baja	3	baja

AS11: Agave poco desarrollado. Penca seca (poco carnosa). C6: El margen de la hoja tiene una tonalidad marrón y es más evidente y en mayor proporción en la parte terminal.

P10: En la parte media de la hoja está más extendida. C18 Espinas poco desarrollada.

AS12: Penca poco carnosa en la parte media-alta y en la base es carnosa. C6: Las hojas más secas del agave tienen todo el borde con tonalidad marron-rijizo. C18: Espinas grandes con forma irregular (rectas y curvas) con orientación hacia abajo.

AS13: Penca poco carnosa y flexible. C6: El margen de la hoja tiene una tonalidad marrón y es más evidente en la punta. C10: Poco lanceolada casi lineal. C18: Espinas pequeñas poco desarrolladas

AS14: Penca dura y seca en la parte media- alta y carnosa en la base. C6: El margen de la hoja tiene una tonalidad marrón y es más evidente en la punta. C18:Espinas grandes con forma irregular(rectas y curvas) con orientación hacia abajo.

CUADRO C3: Continuación (AS).

C	5 1/2 años AS:16		9 Años capado AS:17		81/2 Años. sin capar		6.Años AS:19		8 años AS:20		9 años AS:21	
	1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausenta	1	ausente	1
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	No visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	No visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	3	dentado	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	No visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde amarillento	1	verde amarillento	2	verde	1	verde amarillento	2	verde	2	verde oscuro
9	5	medio	3	débil	3	débil	5	medio	5	medio	7	fuerte
10	4	poco lanceolada casi lineal	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	65cm		86cm		95cm		62cm		78cm		117cm	
13	13cm		18cm		20cm		13cm		21cm		24cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	7	oblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	7	larga	5	media	3	corta	3	corta	5	media	5	media
18	1	recta	1	recta	1	recta	3	ganchuda	1	recta	1	recta
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	31	espinas	45 espinas		40 espinas		24 espinas		36 espinas		52 espinas	
24	5	media	3 baja		5	media	5	media	5	media	5	media
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	86cm		150cm		159cm		100cm		128cm		187cm	
27	27 hojas		34 hojas		48 hojas		22 hojas		32 hojas		55 hojas	
28	27 hojas		34 hojas		48 hojas		22 hojas		32 hojas		55 hojas	
29	80cm		72cm		133cm		72cm		103cm		157cm	
30	7	alta	5	media	5	media	3	baja	3 baja		5	media

AS16: Agave chaparro y poco desarrollado. Penca seca (poco carnosa). C6: Todo el margen tiene tonalidad marrón rojizo. C10: Poco lanceolada; casi lineal. C18: espinas de tamaño mediano.

AS17: Agave capado. Penca muy pesada, grande y carnosa. C6: Todo el margen tiene tonalidad de marrón rojizo. C10: En la parte media de la hoja, se enrosca hacia dentro. C18: Espinas poco desarrolladas y de término medio.

AS 17: Agave quotilla. Sin capar. Penca grande y carnosa en la base. En la parte media de la hoja está muy extendida. C6: Un poco dentado en la parte media con margen en tonalidad marrón. C18: En la parte media son muy grandes con orientación hacia abajo. **AS18:** Agave poco desarrollado y poco carnoso. C6: Todo el margen tiene tonalidad marrón. C18: Espinas irregulares (rectas y ganchudas con orientación en diferentes sentidos). **AS19:** Penca poco carnosa solo en la base. C6: Todo el margen tiene tonalidad marrón. C10: En la parte media, la hoja está muy extendida. C18: Las espinas tienen orientación hacia abajo.

CUADRO C4. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Charcas – San Luis Potosí (AC).
(Datos guía técnica).

C	9 años	AC:1	6 años	AC:2	10 años C/Q	AC:3	5 años	AC:4	6 años	AC:5
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	tonalidad mas amarilla	1	verde alimonado	2	verde	1	verde alimonado	1	verde amarillento
9	5	medio	5	medio	5	medio	5	medio	5	medio
10	4	poco lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	78cm		68cm		94cm		70cm		100cm	
13	13 cm		15cm		45cm		19cm		19cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblado	8	hemioblado	8	hemioblado	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	5	media	7	larga	7	larga	7	larga	7	larga
18	1	recta	1,2	recta, curva	1	recta	1	recta	1	recta
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	48 espinas		25 espinas		56 espinas		46 espinas		63 espinas	
24	5	media	5	media	5	media	5	media	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	133cm		88cm		109cm		86cm		105cm	
27	53 hojas		33 hojas		47 hojas		25 hojas		34 hojas	
28	53 hojas		33hojas		47 hojas		26 hojas		35 hojas	
29	131cm		93cm		146cm		84cm		132cm	
30	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta

CUADRO C4: Continuación (AC).

C	10 años C/Q	AC:6	8 años	AC:7	9 años	AC:8	6 años	AC:9	8 años	AC:10
1	1	ausente	1	Ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde amarillento	1	verde amarillo	1	verde amarillento	1	verde amarillento	1	verde amarillento
9	5	medio	3	débil	7	fuerte	3	débil	5	medio
10	4	lanceolada	4	poco lanceolada casi lineal	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	78cm		72 cm		83 cm		49cm		75cm	
13	23cm		16cm		23cm		10cm		20cm	
15	8	hemioblado	8	hemioblado	8	hemioblado	8	hemioblado	7	oblado
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	5	media	5	media	5	media	5	media	5	Media
18	1	recta	1,2	recta, curva	1,2	recta, curva	3	ganchuda	1,2	rectas y curvas
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogenea	1	homogénea	1	homogénea
23	36 espinas		39 espinas		62 espinas		39 espinas		43 espinas	
24	5	media	3	baja	3	baja	3	baja	5	media
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila	1	rosetófila caulescente
26	132cm		109cm		175cm		95cm		138cm	
27	58 hojas		44 hojas		46 hojas		35 hojas		52 hojas	
28	58 hojas		44hojas		46 hojas		39 hojas		52 hojas	
29	108cm		118m		132cm		80cm		106cm	
30	7	alta	7	alta	7	alta	alta		7	Alta

CUADRO C4: Continuación (AC).

C	8 años	AC:11	8 años	AC:12	8 años	AC:13	9 años C/Q	AC:14	11 años C/Q	AC15
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	3	dentado, la parte terminal tiene coloración rojiza	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde alimonado	1	verde amarillo, con mas tonalidad verde	1	verde amarillento	1	verde alimonado(tonalidad amarilla)	1	verde alimonado
9	7	fuerte	5	medio	5	medio	5	medio	5	medio
10	4	lanceolada	3	deltoide	4	lanceolada	4	lanceolados	4	poco lanceolada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	75cm		85 cm		66cm		78cm		100cm	
13	14cm		22cm		16cm		16cm		15cm	
15	8	hemioblado	8	hemioblado	8	hemioblato	8	hemioblado	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	3	corta	3	corta	3	corta	5	media	7	larga
18	1	recta	1	recta	2,3	curva ganchuda	1	recta	3	ganchuda
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2,3	marrón, rojizo	2	marrón	3	rojizo	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	hemioblato	1	homogénea	1	homogénea
23	48 espinas		48 espinas		47 espinas		69 espinas		60 espinas	
24	5	media	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	3	rosetófila acaulescente
26	138 cm		133cm		123cm		117cm		148cm	
27	44 hojas		38 hojas		44 hojas		51 hojas		61 hojas	
28	44 hojas		38 hojas		44 hojas		51 hojas		61 hojas	
29	116cm		128cm		117cm		103cm		133cm	
30	5	media	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta

CUADRO C4: Continuación (AC).

C	6 años	AC:16	9 años	AC:17	5 años	AC:18	5 ½ años	AC:19	5 años	AC:20
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visibles	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visibles	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa			2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente			1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso	3	Dentado, gran elevación en la espina, gran margen color marrón obscuro en la parte trasera de la hoja, gran cantidad de tonalidad marrón
7	1	no visible	1	no visibles	1	no visible	1	no visible	1	No visible
8	2	verde opaco	2	poco verde	2	poco verde	1	verde alimonado	3	verde azulado
9	5	medio	3	débil	5	medio	5	medio	5	medio
10	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceoladas	4	lanceolada	4	lanceolado
11	1	ausente	1	Ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	47cm		82cm		52 cm		64 cm		60 cm	
13	16cm		16cm		12cm		16cm		16 cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	Hemioblado	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	3	corta	5	media	7	larga	5	media	5	media
18	1,2	curvas y rectas	1,2	irregulares curvas y rectas	1	recta	1	recta, con orientación hacia abajo	3	Ganchuda
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón con capa grisácea	2,3	Marrón rojizo	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	homogénea	1
23	22 espinas		55 espinas		22 espinas		40 espinas		46 espinas	
24	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	76cm		133cm		60cm		103cm		76cm	
27	30 hojas		38 hojas		27 hojas		28 hojas		24 hojas	
28	30 hojas		38 hojas		27 hojas		28 hojas		24 hojas	
29	67cm		116cm		62cm		87cm		80cm	
30	5	media	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta

CUADRO C5. *A. salmiana* sp. (maguey blanco) de la Honda en Villa Hidalgo – Zacatecas (AB).
(Datos guía técnica).

C	6 años	AB:1	6 años	AB:2	6 años	AB:3	8 años	AB:4	7 años	AB:5
1	1	ausente								
2	NA	no visible								
3	NA	no visible								
4	1	lisa								
5	1	ausente								
6	3	dentado	3	dentado	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible								
8	2	verde cenizo	2	verde cenizo	2	verde cenizo	2	verde pálido cenizo	2	verde cenizo
9	1	débil	3	débil	3	débil	3	débil	3	débil
10	4	lanceolada								
11	1	ausente								
12	113 cm		89cm		144cm		36cm		1.09 m	
13	21cm		20cm		20cm		21cm		18cm	
15	8	hemioblato								
16	1	recta								
17	3	corta								
18	2	curva	2	curva	1	recta	3	ganchuda	2	curva
19	1	única								
20	2	marrón								
21	1	ausente								
22	1	homogénea								
23	49 espinas		46 espinas		96 espinas		50 espinas		46 espinas	
24	5	media	5	media	3	baja	5	media	3	baja
25	1	rosotófila acaulescente								
26	143cm		153cm		152cm		231cm		163cm	
27	30		28		25		39		35	
28	30 hojas		28 hojas		25 hojas		39 hojas		35 hojas	
29	147cm		140cm		193cm		203 cm		151cm	
30	5	media	7	alta	5	media	7	alta	7	alta

AB1: en el carácter 22 conforme se alejan las espinas de la base, son más grandes, pero conservan la misma forma. En el carácter 24 en la base la distancia es más pequeña. **AB2:** Las pencas son muy altas y delgadas. **AB3:** C10: lanceolada, muy poco lanceolada. C18: no son muy visibles (muy pequeñas y delgadas). **AB 4:** Parámetro 6, en la porción de la espina, el margen se eleva un poco. C18: las espinas son muy grandes en la parte media de la hoja. C22: conforme se alejan las espinas de la base son más grandes. **AB 5:** C 22: conforme se alejan las espinas de la base son más grandes. **AB6:** C6: En la espina forma una elevación. C23: Las espinas tienen diferente sentido. **AB7:** C10 la hoja es más abierta y tiene la misma anchura excepto por la base y la punta es más delgada. C18: Las espinas tienen diferente sentido y no son muy grandes. C22: conforme se alejan de la base son más grandes.

CUADRO C5: Continuación (AB).

C	7 años	AB:6	8 años	AB:7	9 Años C/Q	AB:8	10 años C/Q	AB:9	10 años C/Q	AB:10
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso. en la punta tiene una pequeña elevación
7	1	no visible	2	verde cenizo	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	2	verde cenizo	3	débil	2	verde cenizo	2	verde cenizo	2	verde cenizo
9	3	débil	3	débil	3	débil	3	débil	3	débil
10	4	lanceolada	5	oblonga	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	93cm		93cm		134cm		80cm		124cm	
13	22cm		22cm		22cm		18cm		20cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	3	corta	7	larga	3	corta	3	corta	3	corta
18	2	curva	2	curva	2	curva	1	puntiaguda	2	curva
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	9	heterogénea
23	33 espinas		41 espinas		50 espinas		51 espinas		51	espinas
24	3	baja	3	baja	5	media	5	media	3	media
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	163cm		127cm		200cm		138cm		200cm	
27	32 hojas		21 hojas		42 hojas		43 hojas		48 hojas	
28	32 hojas		21 hojas		42 hojas		43 hojas		40 verdes 8 secas	
29	130cm		143cm		181cm		142cm		171cm	
30	5	media	7	alta	5	media	5	media	5	media

AB8: C/Q C6: En la espina el margen tiene una pequeña elevación. C10, Muy larga. C22: En la base de la hoja son más pequeñas y menor la distancia entre ellas. C23: las espinas en la parte media son más grandes en comparación con la base.

AB9: C/Q Nota: en la cámara las fotos que corresponden al agave numero 9 son las fotos del agave 10. El agave se encontraba muy pecoso. C6: En la espina tiene una pequeña elevación. C12: Las hojas son más pequeñas, poco desarrolladas probable a que el agave se encuentra enfermo. C18: Espinas muy puntiagudas. C22: En la base son más pequeñas.

CUADRO C5. Continuación (AB).

C	4 años	AB:11	10 años C/Q	AB:12	11 AÑOS C/Q	AB:13	7 1/2 años	AB:14	8 años	AB:15
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	Liso, en la esquina tiene una pequeña elevación	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	2	verde cenizo	2	verde	2	verde	2	verde	2	verde cenizo
9	3	débil	3	débil	3	débil	3	débil	3	débil
10	4	lanceolada, la hoja es pequeña	4	lanceolada, hoja larga	1	lineal, muy larga y delgada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	62cm		105cm		196cm		82cm		140cm	
13	14cm		19cm		21cm		20cm		20cm	
15	8	hemioblato	7	oblato	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	5	media	3	corta	3	corta	3	corta	5	media
18	1,2	irregulares unas curvas y unas rectas	1	recta	1	recta y filifera	1	recta	1	recta
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	Ausente
22	1	las espinas son grandes	1	pequeños en la base	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	28 espinas		46 espinas		194 espinas		42 espinas		92 espinas	
24	3	baja	5	media	2	baja	1	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	89cm		215cm		222cm		138cm		63 cm	
27	14 hojas		48 hojas		37 hojas		33 hojas		28 hojas 10 secas	
28	14 hojas		48 hojas		37 hojas		33 hojas		28 hojas 10 secas	
29	83cm		163cm		252cm		131cm		204cm	
30	5	media	7	alta	3	baja	5	media	5	media

AB10 El parámetro 6 en la espina tiene una pequeña elevación. C10, La hoja es larga y delgada. C18: en la parte media de la hoja las espinas son curvas y en la base tienen forma recta. En la parte media-alta la espina es muy grande. **AB11**: Agave poco desarrollado. C6: En la espina el margen tiene una pequeña elevación. C18: Tiene forma irregular (Algunas rectas y otras curvas). C22: Las espinas son grandes. **AB12**: C/Q Agave enfermo (presenta manchas negras) C10: La hoja es larga. C18 las espinas en la parte alta de la hoja son grandes, tienen forma curva y son escasas. C22: son pequeñas en la base de la hoja. **AB: 13** C/Q (Apenas saliendo) el agave es muy alto. C10 La hoja es muy larga y delgada. C18 La forma de la espina es recta y filifera (delgadas) espinas muy pequeñas y abundantes. C22: En toda la hoja las espinas tienen la misma forma y tamaño. **AB14**: El agave es pequeño y tiene las hojas muy anchas. C6: El margen en la espina tiene una pequeña elevación. C10: La forma es lanceolada pero corta y es muy ancha en la parte media. C18: Las espinas son muy evidentes y grandes. **AB16**: El C10 La forma lanceolada no es muy evidente y al ser muy larga aparenta ser lineal. C18: Espinas con forma recta y puntiaguda poco evidentes y pequeñas.

CUADRO C5: Continuación (AB).

C	4,1/2 años	AB:16	4 años	AB:17	9 años	AB:18	9 años	AB:19	6 años	AB:20
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	
4	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	3	dentado	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	2	verde cenizo	2	verde cenizo	2	verde cenizo alimonado	2	verde	2	verde
9	3	débil	3	débil	3	débil	3	débil	3	débil
10	4	lanceolada	4	lanceolada	4	poco lanceolado	4	lanceolada	4	ovada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	78cm		70cm		1.82m		1.38 m		1.05m	
13	18cm		18cm		24cm		24cm		28cm	
15	6	obdeltado	8	hemioblato	entre 7, 8	oblato y hemioblato	7 y 8	oblato, hemioblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	5	media	3	corta	3	corta	3	corta	5	media
18	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	2	curva
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	36 espinas		32 espinas		124 espinas		119 espinas		41 espinas	
24	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	105cm		105cm		230cm		168cm		197cm	
27	28 hojas		43hojas		52 hojas		42 hojas		41 Hojas	
28	28 hojas		43 hojas		52 hojas		42 hojas		41 hojas	
29	120cm		100cm		250cm		161cm		157cm	
30	7	alta	7	alta	5 media		7	alta	3	baja

AB17: Agave poco desarrollado. **C6:** El borde en la espina es muy grande por lo que se opta por seleccionar el tipo de margen dentado. **C10:** En la parte media de la hoja es muy ancha. **C18:** Son muy evidentes y grandes. **AB18:** **C10** La hoja es muy larga y da la apariencia de forma lineal. **C18:** Espinas pequeñas y poco evidentes. **AB19:** agave muy alto. **C10:** La hoja es muy alta y parece dar forma lineal. La hoja en la parte media es muy ancha y se encurva hacia adentro. **C18:** Poco evidentes y pequeñas pero hay muchas espinas en la hoja. **AB20:** Agave con hojas muy anchas. **C6:** La elevación en la espina es muy evidente. **C10:** La hoja es muy ancha en la parte media. **C18:** Las espinas son muy evidentes en la parte media.

CUADRO C6. *A. americana* var. *marginata* de Guadalupe – Zac. (AM). (Datos guía técnica).

C	9 Años	AM:1	8 años	AM:2	9años	AM:3	6 años	AM:4	6 años	AM:5
1	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente
2	2	amarillo	2	amarillo	2	amarillo	2	amarillo	2	amarillo
3	1	marginal	1	marginal	1	marginal	1	marginal	1	marginal
4	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	2	recurvado
6	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	2	verde	2	verde	2	verde	2	verde	2	verde
9	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte
10	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	127cm		126cm		126cm		146cm		130cm	
13	185cm		19cm		19cm		18cm		14cm	
15	7	oblato	7	oblato	7	oblato	7	oblato	7	oblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	3	corta	3	corta	3	corta	3	corta	3	corta
18	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	9	heterogénea	9	heterogénea	9	heterogénea	9	heterogénea	9	heterogénea
23	103 espinas		95 espinas		125 espinas		128 espinas		107 espinas	
24	3	baja	5	media	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	164cm		117cm		161cm		115cm		111cm	
27	48 hojas		38 hojas		46 hojas		28 hojas		25 hojas	
28	48 hojas		38 hojas		46 hojas		28 hojas		25 hojas	
29	180cm		158cm		180cm		159cm		147cm	
30	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta

Característica general de todos los agaves: Agaves muy flexibles, poco rígidos. Con espinas pequeñas, delgadas y muy filosas. Todos los agaves están muy desarrollados y grandes.

AM1: Agave muy desarrollado y frondoso. El agave tiene algunas hojas caídas. **C5:** Algunas hojas presentan el tipo de curvatura recurvado. **C6:** En la espina tiene una pequeña elevación el margen. **C10:** Hojas largas. **C18:** Espinas pequeñas y poco desarrolladas. **C20:** Marrón oscuro casi tonalidad cercana a negro.

CUADRO C6: Continuación (AM).

C	6 años	AM:6	6 años	AM:7	6 1/2 años	AM:8	6 1/2 años	AM:9	7 años	AM:10
1	9	presente								
2	2	amarillo								
3	1	marginal								
4	1	lisa								
5	2	recurvado	2	recurvado	2	recurvado	2	recurvado	3	recurvado
6	1	liso								
7	1	no visible								
8	2	verde								
9	7	fuerte								
10	4	lanceolada	2	espatulada	4	lanceolada	4	poco lanceolada	2	espatulada
11	1	ausente								
12	120cm		127cm		151cm		154cm		116cm	
13	16cm		15cm		15cm		18cm		17cm	
15	7	oblato								
16	1	recta								
17	3	corta								
18	1	recta								
19	1	única								
20	2	marrón								
21	1	ausente								
22	9	heterogénea								
23	118 espinas		122 espinas		142 espinas		136 espinas		118 espinas	
24	3	baja								
25	1	rosotófila acaulescente								
26	105cm		105 cm		143cm		145 cm		116cm	
27	23 hojas		25 hojas		26 hojas		27 hojas		31 hojas	
28	23 hojas		25 hojas		26 hojas		27 hojas		31 hojas	
29	134cm		139cm		168cm		187cm		146cm	
30	7	alta	7 alta		7		7	alta	7	alta

AM6: C6: En la espina tiene una pequeña elevación el margen

AM8: El agave su mayoría de las hojas están caídas y muy pocas permanecen rectas. C5: En su mayoría las hojas son recurvadas y pocas con curvatura ausente. C10: Hoja muy larga. C18: Algunas espinas en forma curva.

CUADRO C6: Continuación (AM).

C	7 años	AM:11	6 años	AM:12	5 años	AM:13	6 años	AM:14	6 años	AM:15
1	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente
2	2	amarillo	2	amarillos	2	amarillo	2	amarillo	2	amarillo
3	1	marginal	1	marginal	1	marginal	1	marginal	1	marginal
4	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa
5	2	recurvado	2	recurvado	2	recurvado	2	recurvado	2	recurvado
6	1	liso	1	liso	3	dentado	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	2	verde	2	verde	2	verde	2	verde	2	verde
9	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte
10	2	espatulada	2	espatulada	2	espatulada	4	lanceolada	4	lanceolada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	119cm		102cm		72 cm		110cm		115cm	
13	15cm		15cm		11cm		15cm		14cm	
15	7	oblato	7	oblato	5	quillado	5	quillado	5	quillado
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	3	corta	3	corta	5	media	3	corta	3	corta
18	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	9	heterogénea	9	heterogénea	9	heterogénea	9	heterogénea	9	heterogénea
23	114 espinas		113 espinas		98 espinas		128 espinas		130 espinas	
24	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	110cm		68cm		55cm		71 cm		71cm	
27	23 hojas		23 hojas		17 hojas		21 hojas		21 hojas	
28	23 hojas		23 hojas		17 hojas		21 hojas		21 hojas	
29	143cm		98cm		76cm		113cm		123cm	
30	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta

AM12: C6: En la espina tiene una pequeña elevación el margen.

AM13: C18: Espinas en forma irregular (recta y curva).

AM14: C6: En la espina tiene una pequeña elevación el margen.

CUADRO C6: Continuación (AM).

C	8 años	AM:16	6 1/2	AM:17	7 años	AM:18	10 años	AM:19	7 años	AM:20
1	9	presente								
2	2	amarillo								
3	1	marginal								
4	1	lisa								
5	2	recurvado								
6	1	liso								
7	1	no visible								
8	2	verde								
9	7	fuerte								
10	2	espatulado	4	lanceolada	4	lanceolada	2	espatulada	2	espatulada
11	1	ausente								
12	148cm		117cm		95cm		178cm		137cm	
13	18cm		14cm		14cm		20cm		18cm	
15	7	oblado	7	oblato	7	oblato	7	oblato	7	oblato
16	1	recta								
17	3	corta								
18	1	rectas	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
19	1	única								
20	2	marrón								
21	1	ausente								
22	9	heterogénea								
23	142 espinas		115 espinas		129 espinas		133 espinas		115 espinas	
24	3	baja								
25	1	rosetófila acaulescente								
26	135cm		78cm		66cm		183cm		111cm	
27	29 hojas		20 hojas		23 hojas		36 hojas		25 hojas	
28	29 hojas		20 hojas		23 hojas		36 hojas		25 hojas	
29	171cm		122cm		173cm		207cm		155cm	
30	7	alta								
31	?		?		?		?		?	

AM16: C10: Hoja muy larga. C18: Espinas en forma irregular (recta y ganchudas). **AM17:** Agave poco desarrollado y en su mayoría, sus hojas caídas solo cuatro permanecen rectas y firmes. P6: En la espina tiene una pequeña elevación el margen. C18: Espinas en forma irregular (recta y curva). **AM18:** Agave poco desarrollado y en su mayoría, sus hojas caídas. C6: En la espina tiene una pequeña elevación el margen. C18: Espinas en forma irregular (recta y curva). Las espinas son muy delgadas y muy picudas.

CUADRO C7. *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var azul de Juchipila, Apozol y Jalpa en Zacatecas (AT). (Datos guía técnica).

C	9Años	AT: 1	10 años	AT:2	9 años	AT:3	11 años	AT:4	10 año	AT:5
1	1	Ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	presente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	3	azul pardo	3	azul	3	azul pardo	3	azul pardo	1	verde amarillento
9	3	débil	3	débil	3	débil	3	débil	5	medio
10	1	lineal	1	lineal, muy poco lanceolada	1	lineal, poco lanceolada	1	lineal, poco lanceolada	1	lineal
11	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente
12	93cm		108cm		78.5cm		126cm		72cm	
13	8 cm		8.9cm		8cm		8.2cm		6cm	
14	?		?		?		?		?	
15	7	oblato	7	oblato	7	oblato	7	oblato	7	oblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	3	corta, muy pequeña	3	corta, muy corta	3	corta muy pequeña	3	muy corta	3	corta muy pequeña
18	3	ganchuda	3	entre curva y ganchuda	2	curva	3	ganchuda	3	curva
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	4	negro	2	marrón	2	marrón	2	obscura casi tonalidad negra	2	marrón rojizo
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	presente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	espinas pequeñas	1	homogénea	1	homogénea
23	114 espinas		172 espinas		129 espinas		210 espinas		119 espinas	
24	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	87cm		90cm		51m		94cm		40cm	
27	75 hojas		89 hojas		88 hojas		66 hojas		77 hojas	
28	75 hojas		89 hojas		88 hojas		66 hojas		77 hojas	
29	124cm		146cm		110cm		171cm		93cm	
30	7	alta	7	alta	5	media	7	alta	7	alta

Todos los agaves son de Juchipila (AT1 a AT5) y tienen la hoja muy delgada, las espinas muy pequeñas y muy frágiles. La coloración de las espinas laterales, mucho depende del ángulo de la luz

AT1: C10, un poco espatulado. C17: Muy pequeña.

AT2: Agave no muy desarrollado y tiene muchas hojas secas. C10: Muy poco lanceolada. C17: Muy corta. C18 entre curva y ganchuda.

AT3: Agave poco desarrollado con muchas hojas secas. C10: Poco lanceolada. C17: muy pequeña

AT4: Agave grande y pocas hojas secas. Las espinas de las hojas frescas tienen una coloración marrón rojiza. C10 poco lanceolada. C17: Muy corta. C20: Marrón obscura casi tonalidad negra.

CUADRO C7: Continuación (AT).

C	10 años C/Q	AT: 6	10 años	AT: 7	9 años	AT: 8	9 años	AT: 9	9 años	AT: 10
1	1	ausente	1	ausente	1	Presente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	lisa	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	3	azul	3	azul pardo	3	azul panelo	3	azul	3	azul
9	5	medio	5	medio	5	medio	5	medio	5	medio
10	1	lineal	1	lineal	1	lineal	1	lineal	1	lineal poco lanceolada
11	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente
12	80cm		97cm		82cm		108cm		87cm	
13	5cm		8.5cm		8.5cm		10cm		6cm	
15	7	oblato	7	oblato	7	oblato	7	oblato	7	oblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	3	corta muy pequeña	3	corta muy pequeña	3	corta muy pequeña	3	corta muy pequeña	3	corta muy pequeña
18	2	curva	3	ganchuda	3	ganchuda	3	ganchuda	2	curva
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	4	negro	4	negro	2	marrón rojiza	4	negro	4	negro
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	110 espinas		157 espinas		156 hojas		170 espinas		157 espinas	
24	3	baja	3	media	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	95cm		94cm		84cm		89cm		71cm	
27	135 hojas		135 hojas		110 hojas		125 hojas		105 hojas	
28	135 hojas		50 verdes 135 hojas		110 hojas		125 hojas		105 hojas	
29	117cm		130cm		125cm		150cm		125cm	
30	7	muy alta	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta

Todos los agaves son de Apozol (AT6 a AT10). **AT6 C/Q:** C10: las hojas están secas en la punta y en la parte más próxima a la piña están verdes. C17: Muy pequeña. C23: El número de espinas no se puede apreciar bien porque la mayor parte de la hoja está seca. **AT 7:** Agave grande. C17 Muy pequeña. C18: Curva y ganchuda. **AT8:** P17 Muy pequeña. C18 curva y ganchuda. **AT9:** Agave grande. Las hojas más nuevas tienen coloración verde amarillenta. C17: Muy pequeña. C18: Curvas y ganchudas. **AT10:** Agave término medio, no muy grande ni pequeño. C10: poco lanceolada. C17: muy pequeña. C18: curva y ganchuda. C20: En las hojas más jóvenes la coloración es marrón rojizo.

CUADRO C7: Continuación (AT).

C	8 años	AT:11	9 años	AT:12	9 años	AT:13	10 años	AT:14	10 años	AT:15
1	1	Ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa
5	1	ausente, la hoja está más extendida	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	3	azul	3	azul	3	azul	3	azul	3	azul
9	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte
10	1	lineal, poco lanceolada	1	lineal hoja extendida	4	lanceolada	1	lineal, poco lanceolada	1	lineal
11	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente
12	110cm		100cm		87cm		111cm		117cm	
13	9.2cm		8cm		8.1cm		9cm		9cm	
15	7	oblato	7	oblato	7	hemioblato	7	oblato	7	oblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	3	muy corta	?		3	corta	3	corta	3	corta muy pequeña
18	2	algunas ganchudas	2	curvas y pocas lineales	3	curva	2	curva	2	curva
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	3	negro, en la base de la espina tiene color rojizo	2	marrón rojizo	2	marrón en la base de la espina color rojiza	2	marrón, base rojiza	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	132 cm		157 espinas		110 espinas		171cm		128 espinas	
24	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	1.06m		84cm		78cm		88cm		95cm	
27	140 hojas		10 hojas		122 hojas		33 hojas		132 hojas	
28	140 hojas		102 hojas		122 hojas		33 hojas		132 hojas	
29	151cm		132cm		126cm		145cm		157cm	
30	7	alta	5	media	7	alta	7	alta	7	alta

Todos los agaves son de Jalpa (AT11 a AT20). Las espinas se ven de color diferente con la luz de la tarde.

AT11: C5: La hoja está más extendida. P10: Poco lanceolada. C18: Algunas ganchudas. C20: en la base de la espina tiene coloración rojiza.

AT12: C10: Hoja extendida. C18: curvas y algunas son lineales.

AT13: C10: La forma lanceolada no es muy evidente. C18: Algunas son lineales. Algunas espinas tienen orientación hacia arriba. C20: en la base de la espina la coloración es rojiza.

AT14: C10: POCO lanceolada. Hoja extendida. C17: Muy pequeña. C18: Algunas son rectas; todas tienen orientación hacia arriba. C20: La base de la espina tiene coloración rojiza.

AT15: C10: Poco lanceolada. C17: Muy pequeña. C20: base de la espina rojiza.

CUADRO C7: Continuación (AT).

C	7 años	AT:16	7 años	AT:17	7 años	AT:18	8 años	AT:19	5 años	AT:20
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	presente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	3	azul	3	azul	3	azul	3	azul	3	azul
9	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte	7	fuerte	7	alta
10	1	lineal lanceolada	4	lanceolada	1	lineal	4	lanceolada	4	lanceolada
11	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente	9	presente
12	78cm		83cm		80cm		77cm		63cm	
13	7 cm		8cm		7cm		7cm		7cm	
15	7	oblato	7	oblato	7	oblato	7	oblato	7	oblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	3	corta	3	corta muy pequeña	3	corta	3	corta	3	corta
18	2	curva	2	curva, con orientación hacia arriba	2	curva y ganchuda	2	algunas ganchudas	2	curva, algunas ganchudas
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón, base rojiza	2	marrón rojizo	3	rojizo	3	rojizo	3	rojizo
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	117cm		131 espinas		124 espinas		113 espinas		114 espinas	
24	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja	3	baja
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	70cm		84cm		84cm		81cm		65cm	
27	88 hojas		85 hojas		92 hojas		80 hojas		55 hojas	
28	88 hojas		85 hojas		92 hojas		80 hojas		55 hojas	
29	49cm		112cm		125cm		115cm		83cm	
30	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta	5	media

AT 16: C10 Poco lanceolada. C20 Base de la espina rojiza.

AT 17: C10 hoja extendida. P17: Muy pequeña. C18: Con orientación hacia arriba.

AT 18: C10 hoja extendida. C17: Muy pequeña. C18: algunas curvas y ganchudas. C26: No se pudo medir ya que fue muy difícil el acceso.

AT 19: C10 hoja extendida. C17: muy pequeña. C18: algunas ganchudas.

AT 20: C17 Muy pequeña. C18: algunas ganchudas.

CUADRO C8. Agaves aguamieleros (*Agave* sp.) de Hda. Nueva y Pánuco en Zacatecas (AA).
(Datos guía técnica).

C	10 Años	AA:1	10 años	AA:2	8 años	AA:3	11 años	AA:4	11 Años	AA:5
1	1	Ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	No visible	NA	No visible	NA	No visible	NA	No visible	NA	No visible
3	NA	No visible	NA	No visible	NA	No visible	NA	No visible	NA	No visible
4	2	rugosa	1	lisa	1	lisa	1	lisa	1	lisa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso, en la espina tiene una pequeña elevación	1	liso	1	liso
7	1	No visible	1	No visible	1	No visible	1	No visible	1	No visible
8	2	verde	2	verde	2	verde	2	verde	2	verde
9	5	medio	7	fuerte	7	fuerte	5	medio	5	medio
10	5	oblonga	4	lanceolada	5	oblonga	5	oblonga	4	poco lanceolada poco lineal
11	9	presente	9	presente	9	presente	1	ausente	1	ausente
12	47cm		159cm		89cm		126cm		144cm	
13	12cm		19cm		23cm		23cm		17cm	
15	8	oblato	8	hemioblato	8	hemioblato	5	quillado	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	5	media	5	media	5	media	5	media	3	corta
18	2	curva, con orientación hacia abajo	1	recta, algunas curvas	1	recta, algunas curvas con orientación hacia abajo	1	recta	1	recta
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón	2	marrón, con una capa grisácea	2	marrón	2	marrón	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea, en la parte media las espinas son mas grandes	1	homogénea
23	40 espinas		132 espinas		47 espinas		90 espinas		108 espinas	
24	5	media	5	media	5	media	5	media	5	media
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	87cm		141cm		104cm		108cm		260cm	
27	70 hojas		64 hojas		62 hojas		64 hojas		69 hojas	
28	30 verdes 40 secas		24 verdes, 40 secas		62 hojas		64 hojas		69 hojas	
29	96cm		210cm		82cm		194cm		219cm	
30	5	media	7	alta	3	baja	3	baja	7	alta

Todos los agaves son de Hacienda Nueva (AA1 a AA8). **AA1**: hoja muy extendida y carnosa. Agave pequeño poco desarrollado. C18: con orientación hacia abajo. C20: Tienen una capa grisácea. C22 Espinas pequeñas y duras.

AH3: Hojas muy extendidas en la base muy carnosa y en la parte media poco carnosa. Agave muy extendido. C6: En la espina tiene una pequeña elevación. C16 la espina tiene coloración negra

AH4 C6: Todo el margen de la hoja tiene coloración grisácea. En la espina tiene una elevación dando apariencia ondulada. C22: en la parte media las espinas son un poco más grandes.

AH5: C5 Todo el margen de la hoja tiene coloración marrón rojiza.

CUADRO C8: Continuación (AA).

C	12 Años	AA:6	11 años	AA:7	13 años	AA:8	9 años	AA:9	7 Años	AA:10
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	1	lisa	2	rugosa	1	lisa	2	rugosa	1	lisa
5	1	ausente en la parte terminal un poco lanceolada	1	ausente, un poco curva en la parte terminal	2	recurvado	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	Liso	1	Liso	1	liso, el margen de la hoja tiene una coloración azulada	1	liso
7	1	no visible	1	No visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	1	verde amarillo	2	verde	2	verde	2	verde azulado	2	verde-azulado
9	5	medio	5	medio	7	fuerte	5	medio	5	medio
10	1	lineal	6	ovada	1	lineal. En la parte media de la hoja se enrosca hacia el centro	6	ovada, pero muy larga	6	ovada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	182cm		219cm		257cm		165cm		109 cm	
13	20cm		22cm		20cm		31cm		25cm	
15	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato	7	oblato	8	hemioblato
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	3	corta	3	corta	3	corta	5	media	7	larga
18	1	recta, pequeños y poco desarrollados	1	recta	1	recta, espinas pequeñas	1	recta	1	recta, algunas curvas
19	1	única	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón con coloración grisácea	2	marrón, con capa grisácea	2	marrón, con una capa grisácea	2	marrón con capa grisácea	2	marrón
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea	1	homogénea
23	130 espinas		205 espinas		243 espinas		95 espinas		65 espinas	
24	5	media	3	entre baja y media	3	baja	5	media	5	media
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	240cm		239cm		233cm		261cm		122cm	
27	82 hojas		82 hojas		69 hojas		65 hojas		46 hojas	
28	82 hojas		82 hojas		69 hojas		65 hojas		46 hojas	
29	254cm		290cm		310cm		252cm		148cm	
30	7	alta	7	alta	7	alta	7	alta	5	media

AA6: Agave grande y muy desarrollado. C5 en la parte terminal un poco recurvado. C6 todo el margen tiene coloración marrón. **AA7:** Agave grande y desarrollado Hoja muy carnosa de la parte media a la base

Nota: se recomienda el peso de la penca. C10: En la parte media de la hoja se enrosca hacia el centro. C18: Espinas pequeñas y poco desarrolladas. **AA8:** Agave muy grande y desarrollado. C10 En la parte media de la hoja se enrosca hacia el centro. **Nota:** La parte de la penca al hacer el corte es diferente dependiendo donde se haga.

CUADRO C8: Continuación (AA).

C	6 años	AA:11	8 años	AA:12	8 años	AA:13	9 años	AA:14
1	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
2	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
3	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible	NA	no visible
4	1	lisa	2	rugosa	2	rugosa	2	rugosa
5	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
6	1	liso	1	liso	1	liso, en la espina tiene una elevación	1	liso
7	1	no visible	1	no visible	1	no visible	1	no visible
8	2	verde azulado	3	azul fuerte	2	verde azulado	2	verde
9	5	medio	7	fuerte	5	medio	5	medio
10	6	ovada	5	oblonga	6	ovada	6	ovada
11	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
12	61cm		122cm		109cm		118cm	
13	18cm		25cm		27cm		27cm	
15	8	hemioblato, con apariencia un poco quillado	8	hemioblato	8	hemioblato	8	hemioblato con forma triangular
16	1	recta	1	recta	1	recta	1	recta
17	7	larga	5	media	7	larga	7	larga
18	2	curva, algunas ganchudas	2	curva, algunas ganchudas	1	recta	1	recta algunas curvas
19	1	única	1	única	1	única	1	única
20	2	marrón con capa grisácea	2	marrón capa grisácea	2	marrón	2	marrón, capa grisácea
21	1	ausente	1	ausente	1	ausente	1	ausente
22	1	homogénea, en la parte media son mas grandes	1	homogénea, en la parte media son más grande	1	homogénea, en la parte media son más grande	1	homogénea
23	35 espinas		68 espinas		51 espinas		60 espinas	
24	5	media	5	media	7	alta	7	alta
25	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente	1	rosetófila acaulescente
26	87cm		162cm		170cm		177cm	
27	65 hojas		58 hojas		62 hojas		54 hojas	
28	65 hojas		58 hojas		62 hojas		54 hojas	
29	77cm		170cm		151cm		187cm	
30	3	baja	3	baja	5	media	5	media

Todos los agaves son de Pánuco (AA9 a AA14).

AA11: Agave pequeño. C6: Todo el margen tiene coloración marrón.

En la espina tiene una pequeña elevación. **AA12:** Agave grande y desarrollado.

AA13: Agave grande y desarrollado. C18 Algunas curvas con orientación hacia abajo.

C22: en la parte media so más grandes.

APÉNDICE D

CUADRO D1. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la Honda en Villa Hidalgo–Zacatecas (AH).

Agave / Carácter	Eddad	°Brix	1 (Hoja)	2 (Hoja)	3 (Hoja)	4 (Hoja)	5 (Hoja)	6 (Hoja)	7 (Tallo)	8 (Hoja)	9 (Hoja)	10 (Hoja)	11 (Hoja)	12 (Hoja)	13 (Hoja)	14 (Hoja)	15 (Hoja)	16 (Hoja)	17 (Hoja)	18 (Hoja)	19 (Hoja)	20 (Hoja)	21 (Hoja)	22 (Hoja)	23 (Hoja)	24 (Hoja)	25 (Planta)	26 (Planta)	27 (Planta)	28 (Planta)	29 (Planta)	30 (Hijuelo)
AH1	5	9	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	74.5	24	3	8	1	7	3	1	2	1	1	14	5	1	138.5	22	22	103	3
AH2*	7	7	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	72.5	205	5	8	1	3	3	1	2	1	1	25	5	1	103.5	27	27	105.5	3
AH3	4	7	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	61	18.5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	23	5	1	107	22	22	83	3
AH4	4	6	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	63	19	3	8	1	7	3	1	2	1	1	20	5	1	135	26	26	89	3
AH5	5	8	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	73	22	3	8	1	7	3	1	2	1	1	23	5	1	101	20	20	104	3
AH6	5	8	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	58	18.5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	25	5	1	104	19	19	85	3
AH7	6	11	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	80	23.5	5	8	1	7	3	1	2	1	1	26	5	1	141	34	34	134.5	5
AH8*	8	10	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	71	10.5	7	8	1	7	3	1	2	1	1	30	3	1	123	33	33	115	5
AH9	3	5	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	54	17.5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	18	5	1	83.5	14	14	79	3
AH10	6	8	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	74	20	5	8	1	7	3	1	2	1	1	35	5	1	100	25	25	104	5
AH11	5	6	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	71	17	5	8	1	7	3	1	2	1	1	34	5	1	105.5	24	24	91	5
AH12	4	6	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	47	14	3	8	1	7	3	1	2	1	1	21	7	1	84	19	19	60	3
AH13	6	14	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	76	24	3	8	1	7	3	1	2	1	1	19	7	1	156	30	30	128	7
AH14*	7	10	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	53.5	11	5	8	1	7	3	1	2	1	1	23	3	1	93	30	30	100	5
AH15*	9	10	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	63	16	5	8	1	7	3	1	2	1	1	21	3	1	127	40	40	136	5
AH16*	8	10	1	0	0	2	1	4	1	1	7	4	9	74	21	5	8	1	7	3	1	2	1	1	26	7	1	119	39	39	122	5
AH17	5	10	1	0	0	2	1	2	1	1	5	4	9	55	17	3	8	1	7	3	1	2	1	1	28	3	1	72	23	23	68	3
AH18	4	6	1	0	0	2	1	2	1	1	5	4	9	51	14	5	8	1	7	3	1	2	1	1	17	3	1	75	20	20	72	3
AH19	6	8	1	0	0	2	1	3	1	1	3	6	9	60	23.5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	18	3	1	108	27	27	106	3

*.- Con Quiote. (Datos cualitativos y cuantitativos sin uniformizar, obtenidos aplicando la guía técnica para *Agave* spp.).

APÉNDICE D

CUADRO D2. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Pinos – Zacatecas (AP).

Agave / Carácter	Edad	°Brix	1 (Hoja)	2 (Hoja)	3 (Hoja)	4 (Hoja)	5 (Hoja)	6 (Hoja)	7 (Tallo)	8 (Hoja)	9 (Hoja)	10 (Hoja)	11 (Hoja)	12 (Hoja)	13 (Hoja)	14 (Hoja)	15 (Hoja)	16 (Hoja)	17 (Hoja)	18 (Hoja)	19 (Hoja)	20 (Hoja)	21 (Hoja)	22 (Hoja)	23 (Hoja)	24 (Hoja)	25 (Planta)	26 (Planta)	27 (Planta)	28 (Planta)	29 (Planta)	30 (Hijuelo)
AP1	7	11	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	43	9	5	8	1	5	3	1	2	1	1	23	3	1	86	38	38	75	5
AP2*	11	10	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	38	15	3	8	1	5	3	1	2	2	1	44	3	1	154	46	46	134	5
AP3	8	10	1	0	0	2	1	1	1	2	7	4	9	79	16	5	8	1	5	3	1	2	1	1	56	3	1	122	32	32	117	5
AP4	7	13	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	47	15	3	8	1	3	3	1	2	1	1	34	3	1	100	30	30	78	5
AP5	8	12	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	66	16	5	8	1	3	3	1	2	1	1	38	5	1	121	35	35	100	7
AP6	8	12	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	55	12	5	8	1	5	2	1	2	1	1	23	5	1	110	39	39	94	5
AP7	7	12	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	9	52	11	5	8	1	7	2	1	2	1	1	25	3	1	91	32	32	85	7
AP8	6	9	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	53	16	3	8	1	7	2	1	2	1	2	33	3	1	102	25	25	76	7
AP9*	11	15	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	84	15	7	5	1	5	1	1	2	1	1	38	7	1	167	52	52	147	5
AP10*	9	8	1	0	0	2	1	1	1	2	5	3	1	42	6	7	8	1	7	1	1	2	1	1	29	3	1	77	42	42	82	7
AP11	7	6	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	67	19	5	8	1	5	2	1	2	1	1	35	3	1	117	26	26	102	7
AP12	6	10	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	56	13	5	8	1	3	2	1	2	1	1	37	3	1	97	27	27	81	3
AP13	7	16	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	56	14	5	8	1	5	1	1	2	1	1	35	3	1	105	35	35	100	5
AP14	7	10	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	68	14	5	8	1	5	3	1	2	1	1	28	3	1	98	28	28	99	5
AP15*	9	10	1	0	0	2		3	1	1	7	4	1	95	21	5	8	1	5	3	1	2	1	1	54	3	1	77	55	55	152	5
AP16	9	12	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	9	134	20	7	8	1	7	3	1	2	1	1	73	5	1	195	65	65	180	7
AP17	7	8	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	9	67	13	5	8	1	7	2	1	2	1	1	38	3	1	112	30	30	95	7
AP18*	10	9	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	59	12	5	4	1	5	1	1	2	1	1	29	5	1	97	48	48	113	7
AP19	8	10	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	1	13	7	8	1	7	2	1	2	1	1	62	5	1	152	40	40	147	7
AP20*	9	16	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	65	11	7	8	1	3	2	1	2	1	1	37	3	1	110	52	52	117	5

*.- Con Quiote. (Datos cualitativos y cuantitativos sin uniformizar, obtenidos aplicando la guía técnica para *Agave* spp.).

APÉNDICE D

CUADRO D3. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Saldaña en Pinos – Zacatecas (AS).

Agave / Carácter	Edad	°Brix	1 (Hoja)	2 (Hoja)	3 (Hoja)	4 (Hoja)	5 (Hoja)	6 (Hoja)	7 (Tallo)	8 (Hoja)	9 (Hoja)	10 (Hoja)	11 (Hojas)	12 (Hoja)	13 (Hoja)	14 (Hoja)	15 (Hoja)	16 (Hoja)	17 (Hoja)	18 (Hoja)	19 (Hoja)	20 (Hoja)	21 (Hoja)	22 (Hoja)	23 (Hoja)	24 (Hoja)	25 (Planta)	26 (Planta)	27 (Planta)	28 (Planta)	29 (Planta)	30 (Hijuelo)
AS1	6	10	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	79	21	5	8	1	5	1	1	2	1	1	38	5	1	127	24	24	113	3
AS2	9	13	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	94	21	5	8	1	5	1	1	2	1	1	45	3	1	198	52	52	150	3
AS3	8	14	1	0	0	2	1	1	1	1	7	4	1	105	18	7	8	1	5	1	1	2	1	1	42	5	1	121	45	45	45	3
AS4	6	11	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	68	14	5	8	1	5	1	1	2	1	1	45	3	1	137	42	42	106	5
AS5	9	14	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	110	24	5	8	1	5	1	1	2	1	1	74	3	1	117	56	56	160	5
AS6	8	12	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	9	80	22	5	8	1	3	1	1	2	1	1	51	3	1	172	38	38	125	5
AS7	6	10	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	55	14	5	8	1	5	2	1	2	1	1	24	3	1	100	35	35	79	7
AS8	6	9	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	90	20	5	8	1	5	1	1	2	1	1	43	3	1	137	28	28	124	5
AS9	8	11	1	0	0	2	1	1	1	2	7	4	1	67	19	5	8	1	5	1	1	2	1	1	38	3	1	119	33	33	102	5
AS10	8	10	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	100	19	5	8	1	7	1	1	2	1	1	65	3	1	129	32	32	132	5
AS11	6	15	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	55	11	5	8	1	5	1	1	2	1	1	26	5	1	70	34	34	86	5
AS12	7	10	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	87	18	5	8	1	5	1	1	2	1	1	35	5	1	121	29	29	123	3
AS13	6	9	1	0	0	2	1	1	1	2	7	4	1	69	14	5	8	1	3	1	1	2	1	1	36	3	1	105	24	24	95	7
AS14	6	11	1	0	0	2	1	3	1	1	3	4	1	75	19	5	8	1	3	1	1	1	1	1	56	3	1	147	29	29	107	3
AS15	8	11	1	0	0	2	1	3	1	2	3	4	1	92	23	5	8	1	3	1	1	2	1	1	47	5	1	209	53	53	135	3
AS16	6	12	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	65	13	5	8	1	7	1	1	2	1	1	31	5	1	86	27	27	80	7
AS17	9	11	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	86	18	5	8	1	5	1	1	2	1	1	45	3	1	150	34	34	0	5
AS18	9	9	1	0	0	2	1	3	1	2	3	4	1	95	20	5	8	1	3	1	1	2	1	1	40	5	1	159	48	48	133	5
AS19	6	9	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	62	13	5	8	1	3	1	1	2	1	1	24	5	1	100	22	22	72	3
AS20	8	9	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	78	21	5	8	1	5	1	1	2	1	1	36	5	1	128	32	32	103	3
AS21	9	10	1	0	0	2	1	1	1	2	7	4	1	117	24	5	8	1	5	1	1	2	1	1	52	5	1	187	55	55	157	5

(Datos cualitativos y cuantitativos sin uniformizar, obtenidos aplicando la guía técnica para *Agave* spp.).

APÉNDICE D

CUADRO D4. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la comunidad de Charcas – San Luis Potosí (AC).

Agave / Carácter	Edad	°Brix	1 (Hoja)	2 (Hoja)	3 (Hoja)	4 (Hoja)	5 (Hoja)	6 (Hoja)	7 (Tallos)	8 (Hoja)	9 (Hoja)	10 (Hoja)	11 (Hoja)	12 (Hoja)	13 (Hoja)	14 (Hoja)	15 (Hoja)	16 (Hoja)	17 (Hoja)	18 (Hoja)	19 (Hoja)	20 (Hoja)	21 (Hoja)	22 (Hoja)	23 (Hoja)	24 (Hoja)	25 (Planta)	26 (Planta)	27 (Planta)	28 (Planta)	29 (Planta)	30 (Hijuelo)
AC1	9	17	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	78	13	7	8	1	5	1	1	2	1	1	48	5	1	133	53	53	131	7
AC2	6	10	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	68	15	5	8	1	7	1	1	2	1	1	25	5	1	88	33	33	93	7
AC3*	10	15	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	94	45	3	8	1	7	1	1	2	1	1	56	5		109	47	47	146	7
AC4	5	8	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	70	19	5	8	1	7	1	1	2	1	1	46	5	1	86	25	26	84	7
AC5	6	10	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	100	19	5	8	1	7	1	1	2	1	1	63	3	1	105	34	35	132	7
AC6*	10	12	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	78	23	5	8	1	5	1	1	2	1	1	36	5	1	132	58	58	108	7
AC7	8	11	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	72	16	5	8	1	5	1	1	2	1	1	39	3	1	109	44	44	118	7
AC8	9	14	1	0	0	2	1	1	1	1	7	4	1	83	23	5	8	1	5	1	1	2	1	1	62	3	1	175	46	46	132	7
AC9	6	10	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	49	10	5	8	1	5	3	1	2	1	1	39	3	1	95	35	39	80	7
AC10	8	16	1	0	0	2	1	1	1	1	5	0	1	75	20	5	7	1	5	1	1	2	1	1	43	5	1	138	52	52	106	7
AC11	8	17	1	0	0	2	1	1	1	1	7	4	1	75	14	7	8	1	3	1	1	2	1	1	48	5	1	138	44	44	116	5
AC12	8	10	1	0	0	2	1	1	1	1	5	3	1	85	22	5	8	1	3	1	1	2	1	1	48	3	1	133	38	38	128	7
AC13	8	8	1	0	0	2	1	3	1	1	5	4	1	66	16	5	8	1	3	3	1	3	1	1	47	3	1	123	44	44	117	7
AC14*	9	10	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	78	16	5	8	1	5	1	1	2	1	1	69	3	1	117	51	51	103	7
AC15*	11	22	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	100	15	7	8	1	7	3	1	2	1	1	60	3	3	148	61	61	133	7
AC16	6	8	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	47	16	3	8	1	3	1	1	2	1	1	22	3	1	76	30	30	67	5
AC17	9	10	1	0	0	2	1	1	1	2	3	4	1	82	16	5	8	1	5	1	1	2	1	1	55	3	1	133	38	38	116	7
AC18	5	11	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	52	12	5	8	1	7	1	1	2	1	1	22	3	1	60	27	27	62	7
AC19	6	10	1	0	0			1	1	1	5	4	1	64	16	5	8	1	5	1	1	2	1	1	40	3	1	103	28	28	87	7
AC20	5	12	1	0	0	2	1	3	1	3	5	4	1	60	16	5	8	1	5	3	1	2	1	1	46	3	1	76	24	24	80	7

*.- Con Quiote. (Datos cualitativos y cuantitativos sin uniformizar, obtenidos aplicando la guía técnica para *Agave* spp.).

APÉNDICE D

CUADRO D5. *A. salmiana* sp. (blanco) de la Honda en Villa Hidalgo – Zacatecas (AB).

Agave / Carácter	Edad	°Brix	1 (Hoja)	2 (Hoja)	3 (Hoja)	4 (Hoja)	5 (Hoja)	6 (Hoja)	7 (Tallo)	8 (Hoja)	9 (Hoja)	10 (Hoja)	11 (Hoja)	12 (Hoja)	13 (Hoja)	14 (Hoja)	15 (Hoja)	16 (Hoja)	17 (Hoja)	18 (Hoja)	19 (Hoja)	20 (Hoja)	21 (Hoja)	22 (Hoja)	23 (Hoja)	24 (Hoja)	25 (Planta)	26 (Planta)	27 (Planta)	28 (Planta)	29 (Planta)	30 (Hijuelo)
AB1	6	8	1	0	0	1	1	3	1	2	1	4	1	113	21	7	8	1	3	2	1	2	1	1	49	5	1	143	30	30	147	5
AB2	6	9	1	0	0	1	1	3	1	2	3	4	1	89	20	5	8	1	3	2	1	2	1	1	46	5	1	153	28	28	140	7
AB3	6	7.5	1	0	0	1	1	1	1	3	3	4	1	144	20	7	8	1	3	0	1	2	1	1	96	3	1	152	25	25	193	5
AB4	8	15	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	36	21	3	8	1	3	3	1	2	1	1	50	5	1	231	39	39	203	7
AB5	7	7	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	109	18	7	8	1	3	2	1	2	1	1	46	3	1	163	35	35	151	7
AB6	7	10	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	93	22	5	8	1	3	2	1	2	1	1	33	3	1	163	32	32	13	5
AB7	8	12	1	0	0	1	1	1	2	3	3	5	1	93	22	5	8	1	7	2	1	2	1	1	41	3	1	127	21	21	143	7
AB8*	9	11	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	134	22	7	8	1	3	2	1	2	1	1	50	5	1	200	42	42	181	5
AB9*	10	11	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	80	18	5	8	1	3	1	1	2	1	1	51	5	1	138	43	43	142	5
AB10*	10	11	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	124	20	5	8	1	3	2	1	2	1	9	51	3	1	200	58	58	171	5
AB11	4	9	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	62	14	5	8	1	5	2	1	2	1	1	28	3	1	89	14	14	83	5
AB12*	10	12	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	105	19	7	7	1	3	1	1	2	1	1	46	5	1	215	48	48	163	7
AB13*	11	13	1	0	0	1	1	1	1	2	3	0	1	196	21	7	8	1	3	1	1	2	1	1	194	2	1	222	37	37	252	3
AB14	8	9	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	82	20	5	8	1	3	1	1	2	1	1	42	1	3	138	33	33	131	5
AB15	8	8	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	140	20	7	8	1	5	1	1	2	1	1	92	3	1	63	38	38	204	5
AB16	5	8	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	78	18	5	6	1	5	1	1	2	1	1	36	3	1	105	28	28	120	7
AB17	4	7	1	0	0	1	1	3	1	2	3	4	1	70	18	5	8	1	3	1	1	2	1	1	32	3	1	105	43	43	100	7
AB18	9	13	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	182	24	7	8	1	1	1	1	2	1	1	124	3	1	230	52	52	250	5
AB19	9	8	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	138	24	7	8	1	3	1	1	2	1	1	119	3	1	168	42	42	161	7
AB20	6	15	1	0	0	2	1	1	1	2	3	4	1	105	28	5	8	1	5	2	1	2	1	1	41	3	1	197	41	41	157	3

*.- Con Quiote. (Datos cualitativos y cuantitativos sin uniformizar, obtenidos aplicando la guía técnica para *Agave* spp.).

APÉNDICE D

CUADRO D6. *A. americana* var. *marginata* de Guadalupe – Zacatecas (AM).

Agave / Carácter	Edad	°Brix	1 (Hoja)	2 (Hoja)	3 (Hoja)	4 (Hoja)	5 (Hoja)	6 (Hoja)	7 (Tallo)	8 (Hoja)	9 (Hoja)	10 (Hoja)	11 (Hoja)	12 (Hoja)	13 (Hoja)	14 (Hoja)	15 (Hoja)	16 (Hoja)	17 (Hoja)	18 (Hoja)	19 (Hoja)	20 (Hoja)	21 (Hoja)	22 (Hoja)	23 (Hoja)	24 (Hoja)	25 (Planta)	26 (Planta)	27 (Planta)	28 (Planta)	29 (Planta)	30 (Hijuelo)
AM1	9	14	9	2	1	1	1	1	1	2	7	4	1	127	185	5	7	1	3	1	1	2	1	9	103	3	1	164	48	48	180	7
AM2	8	15	9	2	1	1	1	1	1	2	7	4	1	126	19	5	7	1	3	1	1	2	1	2	95	5	1	117	38	38	158	7
AM3	9	14	9	2	1	1	1	1	1	2	7	4	1	126	19	3	7	1	3	1	1	2	1	9	125	3	1	161	46	46	180	7
AM4	6	11	9	2	1	1	1	1	1	2	7	4	1	146	18	7	7	1	3	1	1	2	1	9	128	3	1	115	28	28	159	7
AM5	6	9	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	130	14	5	7	1	3	1	1	2	1	9	107	3	1	111	25	25	147	7
AM6	6	14	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	120	16	7	7	1	3	1	1	2	1	9	118	3	1	105	23	23	134	7
AM7	6	15	9	2	1	1	2	1	1	2	7	1	1	127	15	5	7	1	3	1	1	2	1	9	122	3	1	105	25	25	139	7
AM8	7	7	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	151	15	3	7	1	3	1	1	2	1	9	142	3	1	143	26	26	168	7
AM9	7	8	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	154	18	3	7	1	3	1	1	2	1	9	136	3	1	145	27	27	187	7
AM10	7	10	9	2	1	1	3	1	1	2	7	2	1	116	17	7	5	1	3	1	1	2	1	9	118	3	1	116	31	31	146	7
AM11	7	10	9	2	1	1	2	1	1	2	7	2	1	119	15	5	7	1	3	1	1	2	1	9	114	3	1	110	23	23	143	7
AM12	6	10	9	2	1	1	2	1	1	2	7	2	1	102	15	5	7	1	3	1	1	2	1	9	113	3	1	68	23	23	98	7
AM13	6	10	9	2	1	1	2	3	1	2	7	1	1	72	11	3	5	1	5	1	1	2	1	9	98	3	1	55	17	17	76	7
AM14	6	15	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	110	15	5	5	1	3	1	1	2	1	9	128	3	1	71	21	21	113	7
AM15	6	14	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	115	14	5	5	1	3	1	1	2	1	9	130	3	1	71	21	21	123	7
AM16	8	9	9	2	1	1	2	1	1	2	7	1	1	148	18	3	7	1	3	1	1	2	1	9	142	3	1	135	29	29	171	7
AM17	7	8	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	117	14	3	7	1	3	1	1	2	1	9	115	3	1	78	20	20	122	7
AM18	7	7	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	95	14	3	7	1	3	1	1	2	1	9	129	3	1	66	23	23	173	7
AM19	10	10	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	178	20	3	7	1	3	1	1	2	1	9	133	3	1	183	36	36	207	7
AM20	7	11	9	2	1	1	2	1	1	2	7	1.4	1	137	18	3	7	1	3	3	1	2	1	9	115	3	1	111	25	25	155	7

(Datos cualitativos y cuantitativos sin uniformizar, obtenidos aplicando la guía técnica para *Agave* spp.).

APÉNDICE D

CUADRO D7. *Agave angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* de Juchipila, Apozol y Jalpa en Zacatecas (AT).

Agave / Carácter	Edad	°Brix	1 (Hoja)	2 (Hoja)	3 (Hoja)	4 (Hoja)	5 (Hoja)	6 (Hoja)	7 (Tallo)	8 (Hoja)	9 (Hoja)	10 (Hoja)	11 (Hoja)	12 (Hoja)	13 (Hoja)	14 (Hoja)	15 (Hoja)	16 (Hoja)	17 (Hoja)	18 (Hoja)	19 (Hoja)	20 (Hoja)	21 (Hoja)	22 (Hoja)	23 (Hoja)	24 (Hoja)	25 (Planta)	26 (Planta)	27 (Planta)	28 (Planta)	29 (Planta)	30 (Hijuelo)
AT1	1	0	0	1	1	1	1	3	3	1	9	93	8	5	7	1	3	3	1	4	1	1	114	3	1	87	75	75	124	7	9	14
AT2	1	0	0	1	1	1	1	3	3	1	9	108	9	5	7	1	3	3	1	2	1	1	172	3	1	90	89	89	146	7	10	14
AT3	1	0	0	1	1	1	1	3	3	1	9	785	8	3	7	1	3	2	1	2	1	1	129	3	1	51	88	88	110	5	9	12
AT4	1	0	0	1	1	1	1	3	3	1	9	126	8	7	7	1	3	2.3	1	2	1	1	210	3	1	94	66	66	171	7	11	14
AT5	1	0	0	1	1	1	1	1	5	1	9	72	6	5	7	1	3	3	1	2	1	1	119	3	1	40	77	77	93	7	10	17
AT6*	1	0	0	1	1	1	1	3	5	1	9	80	5	7	7	1	3	2	1	4	1	1	100	3	1	95	135	135	117	7	10	8
AT7	1	0	0	1	1	1	1	3	5	1	9	97	8	5	7	1	3	2	1	4	1	1	157	3	1	94	135	135	130	7	9	14
AT8	1	0	0	1	1	1	1	3	5	1	9	82	8.5	3	7	1	3	2	1	2	1	1	156	3	1	84	110	110	125	7	9	18
AT9	1	0	0	1	1	1	1	3	5	1	9	108	10	3	7	1	3	2	1	4	1	1	170	3	1	89	125	125	150	7	9	21
AT10	1	0	0	1	1	1	1	3	5	1	9	87	6	7	7	1	3	2	1	4	1	1	157	3	1	71	105	105	125	7	9	20
AT11	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	110	9.2	5	7	1	3	2	1	3	1	1	132	3	1	106	140	140	151	7	8	16
AT12	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	100	8	5	7	1	?	2	1	2	1	1	157	3	1	84	10	102	132	5	9	14
AT13	1	0	0	1	1	1	1	3	7	4	9	87	8.1	3	7	1	3	3	1	2	1	1	110	3	1	78	122	122	126	7	9	17
AT14	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	111	9	5	7	1	3	2	1	2	1	1	171	3	1	88	33	33	145	7	10	12
AT15	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	117	9	5	7	1	3	2	1	2	1	1	128	3	1	95	132	132	157	7	10	14
AT16	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	78	7	3	7	1	3	2	1	2	1	1	117	3	1	70	88	88	49	7	7	14
AT17	1	0	0	1	1	1	1	3	7	4	9	83	8	3	7	1	3	2	1	2	1	1	131	3	1	84	85	85	112	7	3	14
AT18	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	80	7	3	7	1	3	2	1	3	1	1	124	3	1	0	92	92	92	7	7	12
AT19	1	0	0	1	1	1	1	3	7	4	9	77	7	3	7	1	3	2	1	3	1	1	113	3	1	81	80	80	115	7	8	16
AT20	1	0	0	1	1	1	1	3	7	4	9	63	7	3	7	1	3	2	1	3	1	1	114	3	1	65	55	55	83	5	5	13

*.- Con Quiote. (Datos cualitativos y cuantitativos sin uniformizar, obtenidos aplicando la guía técnica para *Agave* spp.).

APÉNDICE D

CUADRO D8. Agaves aguamieleros (*Agave* sp.) de Hacienda Nueva y Pánuco en Zacatecas (AA).

Agave / Carácter	Edad	°Brix	1 (Hoja)	2 (Hoja)	3 (Hoja)	4 (Hoja)	5 (Hoja)	6 (Hoja)	7 (Tallo)	8 (Hoja)	9 (Hoja)	10 (Hoja)	11 (Hoja)	12 (Hoja)	13 (Hoja)	14 (Hoja)	15 (Hoja)	16 (Hoja)	17 (Hoja)	18 (Hoja)	19 (Hoja)	20 (Hoja)	21 (Hoja)	22 (Hoja)	23 (Hoja)	24 (Hoja)	25 (Planta)	26 (Planta)	27 (Planta)	28 (Planta)	29 (Planta)	30 (Hijuelo)
AA1	10	11	1	0	0	2	1	1	1	2	5	5	9	47	12	3	8	1	5	2	1	2	1	1	40	5	1	87	70	70	96	5
AA2	10	10	1	0	0	1	1	1	1	2	7	4	9	159	19	5	8	1	5	1	1	2	1	1	132	5	1	141	64	64	210	7
AA3	8	10	1	0	0	1	1	1	1	2	7	5	9	89	23	3	8	1	5	1	1	2	1	1	47	5	1	104	62	62	82	3
AA4	11	9	1	0	0	1	1	1	1	2	5	5	1	126	23	3	5	1	5	1	1	2	1	1	90	5	1	188	64	64	194	3
AA5*	11	9	1	0	0	1	1	1	1	2	5	4	1	144	17	5	8	1	3	1	1	2	1	1	108	5	1	260	69	69	219	7
AA6	12	11	1	0	0	1	1	1	1	1	5	4	1	182	20	5	8	1	3	1	1	2	1	1	130	5	1	240	82	82	2.54	7
AA7	11	15	1	0	0	2	1	1	1	2	5	1	1	219	22	7	8	1	3	1	1	2	1	1	205	3	1	239	82	82	2.90	7
AA8	13	13	1	0	0	1	2	1	1	2	7	1	1	257	20	7	8	1	3	1	1	2	1	1	243	3	1	233	69	69	310	7
AA9	9	11	1	0	0	2	1	1	1	2	5	6	1	165	31	3	7	1	5	1	1	2	1	1	95	5	1	261	65	65	252	7
AA10	7	12	1	0	0	1	1	1	1	2	5	4	1	109	25	3	8	1	7	1	1	2	1	1	65	5	1	122	46	46	148	5
AA11	6	9	1	0	0	1	1	1	1	2	5	6	1	61	18	3	8	1	7	2	1	2	1	1	35	5	1	87	65	65	77	3
AA12	8	10	1	0	0	2	1	1	1	9	7	5	1	122	25	3	8	1	5	2	1	2	1	1	68	5	1	162	58	58	170	3
AA13	8	10	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	109	27	3	8	1	7	1	1	2	1	1	0	7	1	170	62	62	151	5
AA14	9	9	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	118	27	3	8	1	7	1	1	2	1	1	60	7	1	177	54	54	187	5

*.- Con Quiote. (Datos cualitativos y cuantitativos sin uniformizar, obtenidos aplicando la guía técnica para *Agave* spp.).

APÉNDICE E

CUADRO E1. Cálculo del rango de los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas de la guía técnica de UPOV para agave. Carácter No. 12, descriptor varietal: longitud de la hoja (valor: 3-corta, 5- media y 7-larga).

#	AH	AB	AP	AS	AC	AM	AT	AA								
1	74.5	3	113	5	43	3	79	3	78	3	127	5	93	3	47	3
2	72.5	3	89	5	38	3	94	3	68	3	126	5	108	5	159	5
3	61	3	144	5	79	3	105	3	94	3	126	5	78.5	3	89	3
4	63	3	36	3	47	3	68	3	70	3	146	5	126	5	126	5
5	73	3	109	5	66	3	110	5	100	3	130	5	72	3	144	5
6	58	3	93	3	55	3	80	3	78	3	120	5	80	3	182	5
7	80	3	93	3	52	3	55	3	72	3	127	5	97	3	219	7
8	71	3	134	5	53	3	90	3	83	3	151	5	82	3	257	7
9	54	3	80	3	84	3	67	3	49	3	154	5	108	5	165	5
10	74	3	124	5	42	3	100	3	75	3	116	5	87	3	109	5
11	71	3	62	3	67	3	55	3	75	3	119	5	110	5	61	3
12	47	3	105	3	56	3	87	3	85	3	102	3	100	3	122	5
13	76	3	196	7	56	3	69	3	66	3	72	3	87	3	109	5
14	53.5	3	82	3	68	3	75	3	78	3	110	5	111	5	118	5
15	63	3	140	5	95	3	92	3	100	3	115	5	117	5		
16	74	3	78	3	134	5	65	3	47	3	148	5	78	3		
17	55	3	70	3	67	3	86	3	82	3	117	5	83	3		
18	51	3	182	5	59	3	95	3	52	3	95	3	80	3		
19	60	3	138	5	100	3	62	3	64	3	178	5	77	3		
20			105	3	65	3	78	3	60	3	137	5	63	3		
21							117	5								

Intervalo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	Máximo
1	22.1875	36	49.8125	36	49.8125
2	49.8125	63.625	77.4375	49.8125	77.4375
3	77.4375	91.25	105.0625	77.4375	105.0625
4	105.0625	118.875	132.6875	105.0625	132.6875
5	132.6875	146.5	160.3125	132.6875	160.3125
6	160.3125	174.125	187.9375	160.3125	187.9375
7	187.9375	201.75	215.5625	187.9375	215.5625
8	215.5625	229.375	243.1875	215.5625	243.1875
9	243.1875	257	270.8125	243.1875	270.8125

3 de 22 a 105 = corta
 5 de 106 a 188 = media
 7 de 189 a 270 = larga

APÉNDICE E

CUADRO E2. Cálculo del rango de los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas de la guía técnica de UPOV para agave. Carácter No. 13, descriptor varietal: anchura de la hoja (valor: 3-estrecha, 5- media y 7-ancha).

#	AH	AB	AP	AS	AC	AM	AT	AA								
1	24	5	21	5	9	3	21	5	13	3	18.5	5	8	3	12	3
2	20.5	5	20	5	15	3	21	5	15	3	19	5	9	3	19	5
3	18.5	5	20	5	16	3	18	5	45	7	19	5	8	3	23	5
4	19	5	21	5	15	3	14	3	19	5	18	3	8	3	23	5
5	22	5	18	5	16	3	24	5	19	5	14	3	6	3	17	3
6	18.5	5	22	5	12	3	22	5	23	5	16	3	5	3	20	5
7	23.5	5	22	5	11	3	14	3	16	3	15	3	8	3	22	5
8	10.5	3	22	5	16	3	20	5	23	5	15	3	8.5	3	20	5
9	17.5	3	18	5	15	3	19	5	10	3	18	3	10	3	31	5
10	20	5	20	5	6	3	19	5	20	5	17	3	6	3	25	5
11	17	3	14	3	19	5	11	3	14	3	15	3	9.2	3	18	3
12	14	3	19	5	13	3	18	5	22	5	15	3	8	3	25	5
13	24	5	21	5	14	3	14	3	16	3	11	3	8.1	3	27	5
14	11	3	20	5	14	3	19	5	16	3	15	3	9	3	27	5
15	16	3	20	5	21	5	23	5	15	3	14	3	9			
16	21	5	18	5	20	5	13	3	16	3	18	3	7			
17	17	3	18	5	13	3	18	5	16	3	14	3	8			
18	14	3	24	5	12	3	20	5	12	3	14	3	7			
19	23.5	5	24	5	13	3	13	3	16	3	20	5	7			
20			28	5	11	3	21	5	16	3	18	3	7			
21							24	5								

Intervalo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	6
1	3.5625	6	8.4375	Máximo	45.00
2	8.4375	10.875	13.3125	Max-Min	39
3	13.3125	15.75	18.1875	Intervalo de 7	4.875
4	18.1875	20.625	23.0625	Intervalo ±	2.4375
5	23.0625	25.5	27.9375	Intervalo de 3	19.5
6	27.9375	30.375	32.8125	Intervalo ±	9.75
7	32.8125	35.25	37.6875	Intervalo de 5	9.75
8	37.6875	40.125	42.5625	Intervalo ±	4.875
9	42.5625	45	47.4375		

3 de 4 a 18 = estrecha
 5 de 18 a 33 = media
 7 de 33 a 47 = ancha

APÉNDICE E

CUADRO E3. Cálculo del rango de los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas de la guía técnica de UPOV para agave. Carácter No. 14, descriptor varietal: relación largo/ancho de la hoja (valor: 3-pequeña, 5- media y 7-grande).

#	AH		AB		AP		AS		AC		AM	AT	AA			
1	3.1	3	5.38	3	4.77	3	3.76	3	6	3	6.86	5	11.6	7	3.91	3
2	3.53	5	4.45	3	2.53	3	4.47	3	4.53	3	6.63	5	12	7	8.36	5
3	3.29	3	7.2	5	4.93	3	5.83	3	2.08	3	6.63	5	9.81	5	3.86	3
4	3.31	3	1.71	3	3.13	3	4.85	3	3.68	3	8.11	5	15.8	7	5.47	3
5	3.31	3	6.05	3	4.12	3	4.58	3	5.26	3	9.28	5	12	7	8.47	5
6	3.13	3	4.22	3	4.58	3	3.63	3	3.39	3	7.5	5	16	7	9.1	5
7	3.4	5	4.22	3	4.72	3	3.92	3	4.5	3	8.46	5	12.1	7	9.95	5
8	6.76	7	6.09	5	3.31	3	4.5	3	3.6	3	10.1	5	9.64	5	12.85	7
9	3.08	3	4.44	3	5.6	3	3.52	3	4.9	3	8.55	5	10.8	5	5.32	3
10	3.7	5	6.2	5	7	5	5.26	3	3.75	3	6.82	5	14.5	7	4.36	3
11	4.17	5	4.42	3	3.52	3	5	3	5.35	3	7.93	5	12	7	3.38	3
12	3.35	3	5.52	3	4.3	3	4.83	3	3.86	3	6.8	5	12.5	7	4.88	3
13	3.16	3	9.33	5	4	3	4.92	3	4.12	3	6.54	5	10.7	5	4.03	3
14	4.86	5	4.1	3	4.85	3	3.94	3	4.87	3	7.33	5	12.3	7	4.37	3
15	3.93	5	7	5	4.52	3	4	3	6.66	5	8.21	5	13	7		
16	3.52	5	4.33	3	6.7	5	5	3	2.93	3	8.22	5	11.1	5		
17	3.23	3	3.88	3	5.15	3	4.77	3	5.12	3	8.35	5	10.4	5		
18	3.64	5	7.58	5	4.91	3	4.75	3	4.33	3	6.78	5	11.4	7		
19	2.55	3	5.75	3	7.69	5	4.76	3	4	3	8.9	5	11	5		
20			3.75	3	5.9	3	3.71	3	3.75	3	7.61	5	9	5		
21							4.87	3								

Intervalo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	1.71
1	0.8325	1.71	2.5875	Máximo	15.75
2	2.5875	3.465	4.3425	Max-Min	14.04
3	4.3425	5.22	6.0975	Intervalo de 7	1.755
4	6.0975	6.975	7.8525	Intervalo ±	0.8775
5	7.8525	8.73	9.6075	Intervalo de 3	7.02
6	9.6075	10.485	11.3625	Intervalo ±	3.51
7	11.3625	12.24	13.1175	Intervalo de 5	3.51
8	13.1175	13.995	14.8725	Intervalo ±	1.755
9	14.8725	15.75	16.6275		

3 de 0.83 a 6.09 = pequeña
 5 de 6.09 a 11.36 = media
 7 de 11.36 a 16.62 = grande

APÉNDICE E

CUADRO E4. Cálculo del rango de los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas de la guía técnica de UPOV para agave. Carácter No. 23, descriptor varietal: número de espinas laterales de la hoja (valor: 3-baja, 5- media y 7-abundante).

#	AH	AB	AP	AS	AC	AM	AT	AA		
1	14	3	49	3	23	3	38	3	48	3
2	25	3	46	3	44	3	45	3	25	3
3	23	3	96	5	56	3	42	3	56	3
4	20	3	50	3	34	3	45	3	46	3
5	23	3	46	3	38	3	74	3	63	3
6	25	3	33	3	23	3	51	3	36	3
7	26	3	41	3	25	3	24	3	39	3
8	30	3	50	3	33	3	43	3	62	3
9	18	3	51	3	38	3	38	3	39	3
10	35	3	51	3	29	3	65	3	43	3
11	34	3	28	3	35	3	26	3	48	3
12	21	3	46	3	37	3	35	3	48	3
13	19	3	194	7	35	3	36	3	47	3
14	23	3	42	3	28	3	56	3	69	3
15	21	3	92		54	3	47	3	60	3
16	26	3	36	3	73	3	31	3	22	3
17	28	3	32	3	38	3	45	3	55	3
18	17	3	124	5	29	3	40	3	22	3
19	18	3	119	5	62	3	24	3	40	3
20			41	3	37	3	36	3	46	
21							52	3		

Intervalo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	14
1	-0.3125	14	28.3125	Máximo	243.00
2	28.3125	42.625	56.9375	Max-Min	229
3	56.9375	71.25	85.5625	Intervalo de 7	28.625
4	85.5625	99.875	114.1875	Intervalo ±	14.3125
5	114.1875	128.5	142.8125	Intervalo de 3	114.5
6	142.8125	157.125	171.4375	Intervalo ±	57.25
7	171.4375	185.75	200.0625	Intervalo de 5	57.25
8	200.0625	214.375	228.6875	Intervalo ±	28.625
9	228.6875	243	257.3125		

3 de 0 a 86 = baja
 5 de 86 a 171 = media
 7 de 171 a 257 = abundante

APÉNDICE E

CUADRO E5. Cálculo del rango de los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas de la guía técnica de UPOV para agave. Carácter No. 26, descriptor varietal: diámetro de la roseta de la planta (valor: 3-pequeño, 5- medio y 7-grande).

#	AH	AB	AP	AS	AC	AM	AT	AA								
1	138.5	5	143	5	86	3	127	5	133	5	164	5	87	3	87	3
2	103.5	5	153	5	154	5	198	7	88	3	117	5	90	3	141	5
3	107	3	152	5	122	5	121	5	109	5	161	5	51	3	104	3
4	135	5	231	7	100	3	137	5	86	3	115	5	94	3	188	5
5	101	3	163	5	121	5	117	5	105	3	111	5	40	3	260	7
6	104	3	163	5	110	5	172	5	132	5	105	5	95	3	240	7
7	141	5	127	5	91	3	100	3	109	5	105	5	94	3	239	7
8	123	5	200	7	102	3	137	5	175	5	143	5	84	3	233	7
9	83.5	3	138	5	167	5	119	5	95	3	145	5	89	3	261	7
10	100	3	200	7	77	3	129	5	138	5	116	5	71	3	122	5
11	105.5	3	89	3	117	5	70	3	138	5	110	5	106	3	87	3
12	84	3	215	7	97	3	121	5	133	5	68	5	84	3	162	5
13	156	5	222	7	105	3	105	3	123	5	55	5	78	3	170	5
14	93	3	138	5	98	3	147	5	117	5	71	5	88	3	177	5
15	127	5	63	3	70	3	209	7	148	5	71	5	95	3		
16	119	5	105	3	195	7	86	3	76	3	135	5	70	3		
17	72	3	105	3	112	5	150	5	133	5	78	5	84	3		
18	75	3	230	7	97	3	159	5	60	3	66	5	84	3		
19	108	3	168	5	152	5	100	3	103	3	183	5	81	3		
20			197	7	110	5	128	5	76	3	111	5	65	3		
21							187	5								

Intervalo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	Máximo
1	26.1875	40	53.8125	40	261.00
2	53.8125	67.625	81.4375	Max-Min	221
3	81.4375	95.25	109.0625	Intervalo de 7	27.625
4	109.0625	122.875	136.6875	Intervalo ≠	13.8125
5	136.6875	150.5	164.3125	Intervalo de 3	110.5
6	164.3125	178.125	191.9375	Intervalo ≠	55.25
7	191.9375	205.75	219.5625	Intervalo de 5	55.25
8	219.5625	233.375	247.1875	Intervalo ≠	27.625
9	247.1875	261	274.8125		

3 de 26 a 109 = pequeño
 5 de 109 a 192 = medio
 7 de 192 a 275 = grande

APÉNDICE E

CUADRO E6. Cálculo del rango de los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas de la guía técnica de UPOV para agave. Carácter No. 27, descriptor varietal: número de hojas por filotaxia de la planta (valor: 3-bajo, 5- medio y 7-alto).

#	AH	AB	AP	AS	AC	AM	AT	AA		
1	22	3	30	3	38	3	24	3	53	5
2	27	3	28	3	46	3	52	3	33	3
3	22	3	25	3	32	3	45	3	47	3
4	26	3	39	3	30	3	42	3	26	3
5	20	3	35	3	35	3	56	5	35	3
6	19	3	32	3	39	3	38	3	58	5
7	34	3	21	3	32	3	35	3	44	3
8	33	3	42	3	25	3	28	3	46	3
9	14	3	43	3	52	3	33	3	35	3
10	25	3	58	5	42	3	32	3	52	3
11	24	3	14	3	26	3	34	3	44	3
12	19	3	48	3	27	3	29	3	38	3
13	30	3	37	3	35	3	24	3	44	3
14	30	3	33	3	28	3	29	3	51	3
15	40	3	38	3	55	5	53	5	61	5
16	39	3	28	3	65	5	27	3	30	3
17	23	3	43	3	30	3	34	3	38	3
18	20	3	52	3	48	3	48	3	27	3
19	27	3	42	3	40	3	22	3	28	3
20			41	3	52	3	32	3	24	3
21							55	5		

Intervalo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	
1	6.125	14	21.875	Máximo	140.00
2	21.875	29.75	37.625	Max-Mín	126
3	37.625	45.5	53.375	Intervalo de 7	15.75
4	53.375	61.25	69.125	Intervalo ±	7.875
5	69.125	77	84.875	Intervalo de 3	63
6	84.875	92.75	100.625	Intervalo ±	31.5
7	100.625	108.5	116.375	Intervalo de 5	31.5
8	116.375	124.25	132.125	Intervalo ±	15.75
9	132.125	140	147.875		

3 de 6 a 53 = bajo
 5 de 53 a 101 = medio
 7 de 101 a 148 = alto

APÉNDICE E

CUADRO E7. Cálculo del rango de los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas de la guía técnica de UPOV para agave. Carácter No. 28, descriptor varietal: número de hojas de la planta (valor: 3-bajo, 5- medio y 7-alto).

#	AH	AB		AP		AS		AC		AM	AT	AA				
1	22	3	30	3	38	3	24	3	53	5	48	3	75	5	70	5
2	27	3	28	3	46	3	52	3	33	3	38	3	89	5	64	5
3	22	3	25	3	32	3	45	3	47	3	46	3	88	5	62	5
4	26	3	39	3	30	3	42	3	26	3	28	3	66	5	64	5
5	20	3	35	3	35	3	56	5	35	3	25	3	77	5	69	5
6	19	3	32	3	39	3	38	3	58	5	23	3	135	7	82	5
7	34	3	21	3	32	3	35	3	44	3	25	3	135	7	82	5
8	33	3	42	3	25	3	28	3	46	3	26	3	110	7	69	5
9	14	3	43	3	52	3	33	3	35	3	27	3	125	7	65	5
10	25	3	58	5	42	3	32	3	52	3	31	3	105	7	46	5
11	24	3	14	3	26	3	34	3	44	3	23	3	140	7	65	5
12	19	3	48	3	27	3	29	3	38	3	23	3	102	7	58	5
13	30	3	37	3	35	3	24	3	44	3	17	3	122	7	62	5
14	30	3	33	3	28	3	29	3	51	3	21	3	33	3	54	5
15	40	3	38	3	55	5	53	5	61	5	21	3	132			
16	39	3	28	3	65	5	27	3	30	3	29	3	88			
17	23	3	43	3	30	3	34	3	38	3	20	3	85			
18	20	3	52	3	48	3	48	3	27	3	23	3	92			
19	27	3	42	3	40	3	22	3	28	3	36	3	80			
20			41	3	52	3	32	3	24	3	25	3	55			
21							55	5								

Intervalo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	
1	6.125	14	21.875	Máximo	140.00
2	21.875	29.75	37.625	Max-Min	126
3	37.625	45.5	53.375	Intervalo de 7	15.75
4	53.375	61.25	69.125	Intervalo ±	7.875
5	69.125	77	84.875	Intervalo de 3	63
6	84.875	92.75	100.625	Intervalo ±	31.5
7	100.625	108.5	116.375	Intervalo de 5	31.5
8	116.375	124.25	132.125	Intervalo ±	15.75
9	132.125	140	147.875		

3 de 6 a 53 = bajo
 5 de 53 a 101 = medio
 7 de 101 a 148 = alto

APÉNDICE E

CUADRO E8. Cálculo del rango de los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas de la guía técnica de UPOV para agave. Carácter No. 29, descriptor varietal: altura de la planta (valor: 3-baja, 5- media y 7-alta).

#	AH	AB	AP	AS	AC	AM	AT	AA		
1	103	3	147	5	75	3	113	3	131	5
2	106	3	140	5	134	5	150	5	93	3
3	83	3	193	5	117	3	45	3	146	5
4	89	3	203	5	78	3	106	3	84	3
5	104	3	151	5	100	3	160	5	132	5
6	85	3	130	3	94	3	125	3	108	3
7	134.5	5	143	5	85	3	79	3	118	3
8	115	3	181	5	76	3	124	3	132	5
9	79	3	142	5	147	5	102	3	80	3
10	104	3	171	5	82	3	132	5	106	3
11	91	3	83	3	102	3	86	3	116	3
12	60	3	163	5	81	3	123	3	128	3
13	128	3	252	7	100	3	95	3	117	3
14	100	3	131	5	99	3	107	3	103	3
15	136	5	204	5	152	5	135	5	133	5
16	122	3	120	3	180	5	80	3	67	3
17	68	3	100	3	95	3	72	3	116	3
18	72	3	250	7	113	3	133	5	62	3
19	106	3	161	5	147	5	72	3	87	3
20			157	5	117	3	103	3	80	3
21						157	5			

Intervalo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	49
1	32.6875	49	65.3125	Máximo	310.00
2	65.3125	81.625	97.9375	Max-Min	261
3	97.9375	114.25	130.5625	Intervalo de 7	32.625
4	130.5625	146.875	163.1875	Intervalo ±	16.3125
5	163.1875	179.5	195.8125	Intervalo de 3	130.5
6	195.8125	212.125	228.4375	Intervalo ±	65.25
7	228.4375	244.75	261.0625	Intervalo de 5	65.25
8	261.0625	277.375	293.6875	Intervalo ±	32.625
9	293.6875	310	326.3125		

3 de 33 a 131 = baja
 5 de 131 a 228 = media
 7 de 228 a 326 = alta

APÉNDICE E

CUADRO E9. Cálculo del rango de los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas de la edad de la planta (valor: 3-pequeño, 5- medio y 7-grande).

#	AH	AB		AP	AS		AC		AM	AT	AA			
1	4.5	3	6	5	7	5	5.5	3	9	5	9	5	10	7
2	6.5	5	6	5	10.5	7	9	5	6	5	8	5	10	7
3	4	3	6	5	8	5	8	5	10	7	9	5	8	5
4	4.5	3	8	5	7	5	6	5	5	3	6	5	11	7
5	4.5	3	7	5	8	5	9	5	6	5	6	5	10	7
6	4.5	3	7	5	8	5	8	5	10	7	6	5	9	5
7	6	5	8	5	7	5	6	5	8	5	6.5	5	9	5
8	8	5	9	5	6	5	5.5	3	9	5	6.5	5	9	5
9	3	3	8.5	5	11	7	8	5	6	5	7	5	9	5
10	5.5	3	10	7	9	5	8	5	8	5	7	5	8	5
11	5	3	4	3	7	5	6	5	8	5	7	5	6	5
12	4	3	10	7	6	5	7	5	8	5	6	5	9	5
13	6	5	11	7	7	5	6	5	8	5	5	3	9	5
14	6.5	5	7.5	5	7	5	6	5	9	5	6	5	10	7
15	8.5	5	8	5	9	5	8	5	11	7	6	5	10	7
16	7.5	5	4.5	3	9	5	5.5	3	6	5	8	5	7	5
17	4.5	3	4	3	7	5	9	5	9	5	6.5	5	7	5
18	3.5	3	9	5	10	7	8.5	5	5	3	7	5	7	5
19	6	5	9	5	8	5	6	5	5.5	3	10	7	8	5
20			6	5	9	5	8	5	5	3	7	5	5	3
21							9	5						

Intervalo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	
1	2.375	3	3.625	Máximo	3
2	3.625	4.25	4.875	Max-Min	10
3	4.875	5.5	6.125	Intervalo de 7	1.25
4	6.125	6.75	7.375	Intervalo ±	0.625
5	7.375	8	8.625	Intervalo de 3	5
6	8.625	9.25	9.875	Intervalo ±	2.5
7	9.875	10.5	11.125	Intervalo de 5	2.5
8	11.125	11.75	12.375	Intervalo ±	1.25
9	12.375	13	13.625		

3 de 2 a 6 = bajo
 5 de 6 a 10 = medio
 7 de 10 a 14 = grande

APÉNDICE E

CUADRO E10. Cálculo del rango de los valores máximos, mínimos y medios para las variables cualitativas y cuantitativas del contenido de grados Brix de la planta (valor: 3-bajo, 5- medio y 7-abundante).

#	AH	AB	AP	AS	AC	AM	AT	AA		
1	9	3	8	3	11	5	10	5	17.5	7
2	7	3	9	3	10	5	13	5	10	5
3	7	3	7.5	3	10	5	14	5	15	5
4	6	3	15	5	13	5	11	5	8	5
5	8	3	7	3	12	5	14	5	10	5
6	8	3	10	5	12	5	12	5	12	5
7	11	5	12	5	12	5	10	5	11	5
8	10	5	11	5	9	3	9	3	14	5
9	5	3	11	5	15	5	11	5	10	5
10	8	3	11	5	8	3	10	5	16	5
11	6	3	9	3	6	3	15	5	17	7
12	6	3	12	5	10	5	10	5	10	5
13	14	5	13	5	16	5	9	3	8	3
14	10	5	9	3	10	5	11	5	10	5
15	10	5	8	3	10	5	11	5	22	7
16	10	5	8	3	12	5	12	5	8	3
17	9.5	3	7	3	8	3	11	5	10	5
18	6	3	13	5	9	3	9	3	11	5
19	8	3	8	3	10	5	9	3	10	5
20			15	5	16	5	9	3	12	5
21							10	5		

Intervalo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	5
1	3.9375	5	6.0625	Máximo	22.00
2	6.0625	7.125	8.1875	Max-Min	17
3	8.1875	9.25	10.3125	Intervalo de 7	2.125
4	10.3125	11.375	12.4375	Intervalo \pm	1.0625
5	12.4375	13.5	14.5625	Intervalo de 3	8.5
6	14.5625	15.625	16.6875	Intervalo \pm	4.25
7	16.6875	17.75	18.8125	Intervalo de 5	4.25
8	18.8125	19.875	20.9375	Intervalo \pm	2.125
9	20.9375	22	23.0625		

3 de 4 a 10 = bajo
 5 de 10 a 17 = medio
 7 de 17 a 23 = abundante

APÉNDICE F

CUADRO F1. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la Honda en Villa Hidalgo – Zacatecas (AH).

Agave / Caracteres	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4	Hoja 5	Hoja 6	Tallo 7	Hoja 8	Hoja 9	Hoja 10	Hoja 11	Hoja 12	Hoja 13	Hoja 14	Hoja 15	Hoja 16	Hoja 17	Hoja 18	Hoja 19	Hoja 20	Hoja 21	Hoja 22	Hoja 23	Hoja 24	Planta 25	Planta 26	Planta 27	Planta 28	Planta 29	Hijuelos 30	Edad	
AH1	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	3	5	1	5	3	3	3	3	3	5
AH2*	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	5	5	8	1	3	3	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	3	5	3
AH3	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	3	3	3
AH4	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	3	5	1	5	3	3	3	3	3	3
AH5	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	3	3	3
AH6	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	3	3	3
AH7	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	5	5	8	1	7	3	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	5	5	5	5
AH8*	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	3	7	8	1	7	3	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	3	5	5	5
AH9	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	3	3	8	1	7	3	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	3	3	3
AH10	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	5	5	8	1	7	3	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	5	3	3
AH11	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	3	5	8	1	7	3	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	5	3	3
AH12	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	3	3	8	1	7	3	1	2	1	1	3	7	1	3	3	3	3	3	3	3
AH13	1	0	0	2	1	4	1	1	5	6	9	3	5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	3	7	1	5	5	5	5	7	5	7
AH14*	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	3	3	5	8	1	7	3	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	5	5	5
AH15*	1	0	0	2	1	4	1	1	5	4	9	3	3	5	8	1	7	3	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	5	5	7	5
AH16*	1	0	0	2	1	4	1	1	7	4	9	3	5	5	8	1	7	3	1	2	1	1	3	7	1	5	5	5	5	5	5	5
AH17	1	0	0	2	1	2	1	1	5	4	9	3	3	3	8	1	7	3	1	2	1	1	3	3	1	3	3	3	3	3	3	5
AH18	1	0	0	2	1	2	1	1	5	4	9	3	3	5	8	1	7	3	1	2	1	1	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3
AH19	1	0	0	2	1	3	1	1	3	6	9	3	5	3	8	1	7	3	1	2	1	1	3	3	1	3	3	3	3	3	5	3

*.- Agave con escapeo floral. (Valores máximos, mínimos y medios uniformizados para las variables cualitativas y cuantitativas).

APÉNDICE F

CUADRO F2. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de Pinos – Zacatecas (AP).

Agave / Caracteres	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4	Hoja 5	Hoja 6	Tallo 7	Hoja 8	Hoja 9	Hoja 10	Hoja 11	Hoja 12	Hoja 13	Hoja 14	Hoja 15	Hoja 16	Hoja 17	Hoja 18	Hoja 19	Hoja 20	Hoja 21	Hoja 22	Hoja 23	Hoja 24	Planta 25	Planta 26	Planta 27	Planta 28	Planta 29	Hijuelos 30	Edad	
AP1	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	3	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	5	5	5
AP2*	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	3	8	1	5	3	1	2	1	1	3	3	1	5	7	7	5	5	7	5
AP3	1	0	0	2	1	1	1	2	7	4	9	3	3	5	8	1	5	3	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	3	5	5	5
AP4	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	3	8	1	3	3	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	5	5	5
AP5	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	5	8	1	3	3	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	3	7	5	5
AP6	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	5	8	1	5	2	1	2	1	1	3	5	1	3	5	5	3	5	5	5
AP7	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	9	3	3	5	8	1	7	2	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	7	5	5
AP8	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	3	3	8	1	7	2	1	2	1	9	3	3	1	3	3	3	3	7	5	5
AP9*	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	3	3	7	5	1	5	1	1	2	1	1	3	7	1	5	7	7	5	5	7	7
AP10*	1	0	0	2	1	1	1	2	5	3	1	3	3	7	8	1	7	1	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	7	7	3
AP11	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	5	5	8	1	5	2	1	2	1	1	3	3	1	5	3	3	3	7	5	3
AP12	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	5	8	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	3	3	3	3	3	5	5
AP13	1	0	0	2	1	3	1	1	3	4	1	3	3	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	5	5	7
AP14	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	5	8	1	5	3	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	5	5	5
AP15*	1	0	0	2	1	3	1	1	7	4	1	5	5	5	8	1	5	2	1	2	1	1	3	3	1	3	7	7	5	5	7	5
AP16	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	9	5	5	7	8	1	7	3	1	2	1	1	5	5	1	7	7	7	5	7	7	5
AP17	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	9	3	3	5	8	1	7	2	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	7	5	3
AP18*	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	5	4	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	3	7	7	3	7	7	5
AP19	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	5	3	7	8	1	7	2	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	5	7	5	5
AP20*	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	7	8	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	3	7	7	3	5	7	7

*.- Agave con escapeo floral. (Valores máximos, mínimos y medios uniformizados para las variables cualitativas y cuantitativas).

APÉNDICE F

CUADRO F3. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la comunidad de Saldaña en Pinos – Zacatecas (AS).

Agave/ Caracteres	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4	Hoja 5	Hoja 6	Tallo 7	Hoja 8	Hoja 9	Hoja 10	Hoja 11	Hoja 12	Hoja 13	Hoja 14	Hoja 15	Hoja 16	Hoja 17	Hoja 18	Hoja 19	Hoja 20	Hoja 21	Hoja 22	Hoja 23	Hoja 24	Planta 25	Planta 26	Planta 27	Planta 28	Planta 29	Hijuelos 30	Edad	
AS1	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	5	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	5	3	3	3	5	3	5
AS2	1	0	0	2	1	3	1	1	5	4	1	5	5	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	7	7	7	5	3	7	5
AS3	1	0	0	2	1	3	1	1	7	4	1	5	5	7	8	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	5	3	5	7
AS4	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	3	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	3	5	5	5
AS5	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	5	5	5	8	1	5	1	1	2	1	1	5	3	1	5	7	7	5	5	7	7
AS6	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	9	3	5	5	8	1	3	1	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	5	5	5	5
AS7	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	5	8	1	5	2	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	7	5	5
AS8	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	5	5	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	5	5	5	5
AS9	1	0	0	2	1	1	1	2	7	4	1	3	5	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	3	5	5	5
AS10	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	5	5	5	8	1	7	1	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	5	5	5	5
AS11	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	3	5	5	3	5	5	7
AS12	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	5	5	5	8	1	5	2	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	5	3	5	5
AS13	1	0	0	2	1	1	1	2	7	4	1	3	3	5	8	1	3	1	1	2	1	1	3	3	1	3	4	4	3	7	5	5
AS14	1	0	0	2	1	3	1	1	3	4	1	3	5	5	8	1	3	2	1	1	1	1	3	3	1	5	5	5	3	3	5	5
AS15	1	0	0	2	1	3	1	2	3	4	1	5	5	5	8	1	3	1	1	2	1	1	3	5	1	7	7	7	5	3	5	5
AS16	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	3	5	8	1	7	1	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	7	3	5
AS17	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	5	5	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	3	5	7	5
AS18	1	0	0	2	1	3	1	2	3	4	1	5	5	5	8	1	3	1	1	2	1	1	3	5	1	5	7	7	5	5	7	5
AS19	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	3	5	8	1	3	3	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	3	5	5
AS20	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	3	5	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	3	3	5	5
AS21	1	0	0	2	1	1	1	2	7	4	1	5	5	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	7	7	7	5	5	7	5

(Valores máximos, mínimos y medios uniformizados para las variables cualitativas y cuantitativas).

APÉNDICE F

CUADRO F4. *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la comunidad de Charcas – San Luis Potosí (AC).

Agave / Caracteres	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4	Hoja 5	Hoja 6	Tallo 7	Hoja 8	Hoja 9	Hoja 10	Hoja 11	Hoja 12	Hoja 13	Hoja 14	Hoja 15	Hoja 16	Hoja 17	Hoja 18	Hoja 19	Hoja 20	Hoja 21	Hoja 22	Hoja 23	Hoja 24	Planta 25	Planta 26	Planta 27	Planta 28	Planta 29	Hijuelos 30	Edad	
AC1	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	3	7	8	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	5	7	7	5	7	7	7
AC2	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	3	5	8	1	7	1	1	2	1	1	3	5	1	3	5	5	3	7	5	5
AC3*	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	5	7	3	8	1	7	1	1	2	1	1	3	5	1	3	7	7	5	7	7	7
AC4	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	5	5	8	1	7	1	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	7	3	3
AC5	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	5	5	5	8	1	7	1	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	5	7	5	5
AC6*	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	5	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	5	7	7	3	7	7	5
AC7	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	7	5	5
AC8	1	0	0	2	1	1	1	1	7	4	1	3	5	5	8	1	5	2	1	2	1	1	3	3	1	5	7	7	5	7	7	7
AC9	1	0	0	2	1	1	1	1	3	4	1	3	3	5	8	1	5	3	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	7	5	5
AC10	1	0	0	2	1	1	1	1	5	6	1	3	5	5	7	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	5	7	7	3	7	5	7
AC11	1	0	0	2	1	1	1	1	7	4	1	3	3	7	8	1	3	1	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	3	5	5	7
AC12	1	0	0	2	1	1	1	1	5	3	1	3	5	5	8	1	3	1	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	5	7	5	5
AC13	1	0	0	2	1	3	1	1	5	4	1	3	3	5	8	1	3	3	1	3	1	1	3	3	1	5	5	5	3	7	5	3
AC14*	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	3	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	5	7	7	3	7	7	5
AC15*	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	5	3	7	8	1	7	3	1	2	1	1	3	3	1	5	7	7	5	7	7	7
AC16	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	3	3	3	8	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	5	5	3
AC17	1	0	0	2	1	1	1	2	3	4	1	3	3	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	3	7	7	5
AC18	1	0	0	2	1	1	1	2	5	4	1	3	3	5	8	1	7	1	1	2	1	1	3	3	1	3	3	3	3	7	3	5
AC19	1	0	0	2	1	1	1	1	5	4	1	3	3	5	8	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	7	3	5
AC20	1	0	0	2	1	3	1	2	5	4	1	3	3	5	8	1	5	3	1	2	1	1	3	3	1	3	3	3	7	3	5	

*.- Agave con escape floral. (Valores máximos, mínimos y medios uniformizados para las variables cualitativas y cuantitativas).

APÉNDICE F

CUADRO F5. *A. salmiana* sp. (blanco) de la Honda en Villa Hidalgo – Zacatecas (AB).

Agave/ Caracteres	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4	Hoja 5	Hoja 6	Tallo 7	Hoja 8	Hoja 9	Hoja 10	Hoja 11	Hoja 12	Hoja 13	Hoja 14	Hoja 15	Hoja 16	Hoja 17	Hoja 18	Hoja 19	Hoja 20	Hoja 21	Hoja 22	Hoja 23	Hoja 24	Planta 25	Planta 26	Planta 27	Planta 28	Planta 29	Hijuelos 30	Edad	
AB1	1	0	0	1	1	3	1	2	3	4	1	5	5	7	8	1	3	2	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	5	5	5	3
AB2	1	0	0	1	1	3	1	2	3	4	1	5	5	5	8	1	3	2	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	5	7	5	5
AB3	1	0	0	1	1	1	1	3	3	4	1	5	5	7	8	1	3	1	1	2	1	1	3	3	1	5	3	3	7	5	5	3
AB4	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	3	5	3	8	1	3	3	1	2	1	1	3	5	1	7	5	5	7	7	5	7
AB5	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	5	5	7	8	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	5	7	5	3
AB6	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	5	5	5	8	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	5	5	5	5
AB7	1	0	0	1	1	1	1	3	3	5	1	5	5	5	8	1	7	2	1	2	1	1	3	3	1	5	3	3	5	7	5	5
AB8*	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	5	5	7	8	1	3	2	1	2	1	1	3	5	1	7	5	5	5	5	7	5
AB9*	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	3	5	5	8	1	3	1	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	5	5	7	5
AB10*	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	5	5	5	8	1	3	2	1	2	1	9	3	3	1	7	7	7	5	5	7	5
AB11	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	3	3	5	8	1	5	2	1	2	1	1	3	3	1	3	3	3	3	5	3	5
AB12*	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	5	5	7	7	1	3	1	1	2	1	1	3	5	1	7	7	7	5	7	7	5
AB13*	1	0	0	1	1	1	1	2	3	1	1	7	5	7	8	1	3	1	1	2	1	1	7	2	1	7	5	5	7	3	7	5
AB14	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	3	5	5	8	1	3	1	1	2	1	1	3	1	1	5	5	5	5	5	5	5
AB15	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	5	5	7	8	1	5	1	1	2	1	1	5	3	1	3	5	5	7	5	5	3
AB16	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	5	5	5	6	1	5	1	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	5	7	3	3
AB17	1	0	0	1	1	3	1	2	3	4	1	5	5	5	8	1	3	1	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	3	7	3	3
AB18	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	7	5	7	8	1	3	1	1	2	1	1	5	3	1	7	7	7	7	5	7	5
AB19	1	0	0	1	1	1	1	2	3	4	1	5	5	7	8	1	3	1	1	2	1	1	5	3	1	5	5	5	5	7	7	3
AB20	1	0	0	2	1	1	1	2	3	4	1	5	5	5	8	1	5	2	1	2	1	1	3	3	1	7	5	5	5	3	5	7

*.- Agave con escapo floral. (Valores máximos, mínimos y medios uniformizados para las variables cualitativas y cuantitativas).

APÉNDICE F

CUADRO F6. *A. americana* var. *marginata* de Guadalupe – Zacatecas (AM).

Agave / Caracteres	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4	Hoja 5	Hoja 6	Tallo 7	Hoja 8	Hoja 9	Hoja 10	Hoja 11	Hoja 12	Hoja 13	Hoja 14	Hoja 15	Hoja 16	Hoja 17	Hoja 18	Hoja 19	Hoja 20	Hoja 21	Hoja 22	Hoja 23	Hoja 24	Planta 25	Planta 26	Planta 27	Planta 28	Planta 29	Hijuelos 30	Edad	
AM1	9	2	1	1	1	1	1	2	7	4	1	5	7	3	7	1	3	1	1	2	1	9	3	3	1	7	7	7	7	7	7	7
AM2	9	2	1	1	1	1	1	2	7	4	1	5	7	3	7	1	3	1	1	2	1	9	3	5	1	5	7	7	5	7	5	7
AM3	9	2	1	1	1	1	1	2	7	4	1	5	7	3	7	1	3	1	1	2	1	9	5	3	1	7	7	7	7	7	7	7
AM4	9	2	1	1	1	1	1	2	7	4	1	7	7	5	7	1	3	1	1	2	1	9	7	3	1	5	5	5	5	7	3	5
AM5	9	2	1	1	2	1	1	2	7	2	1	5	5	7	7	1	3	1	1	2	1	9	3	3	1	5	3	3	5	7	3	3
AM6	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	5	5	3	7	1	3	1	1	2	1	9	5	3	1	5	3	3	5	7	3	7
AM7	9	2	1	1	2	1	1	2	7	2	1	5	5	5	7	1	3	1	1	2	1	9	5	3	1	5	3	3	5	7	3	7
AM8	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	7	5	7	7	1	3	1	1	2	1	9	7	3	1	7	3	3	3	7	5	3
AM9	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	7	7	5	7	1	3	1	1	2	1	9	7	3	1	7	5	5	7	7	5	3
AM10	9	2	1	1	2	1	1	2	7	2	1	5	5	3	7	1	3	1	1	2	1	9	5	3	1	5	5	5	5	7	5	5
AM11	9	2	1	1	2	1	1	2	7	2	1	5	5	5	7	1	3	1	1	2	1	9	5	3	1	5	3	3	5	7	5	5
AM12	9	2	1	1	2	1	1	2	7	2	1	3	5	3	7	1	3	1	1	2	1	9	5	3	1	3	3	3	3	7	3	5
AM13	9	2	1	1	2	3	1	2	7	2	1	3	3	3	7	1	5	1	1	2	1	9	3	3	1	3	3	3	3	7	3	5
AM14	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	5	5	3	5	1	3	1	1	2	1	9	7	3	1	3	3	3	3	7	3	7
AM15	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	5	5	5	5	1	3	1	1	2	1	9	7	3	1	3	3	3	5	7	3	7
AM16	9	2	1	1	2	1	1	2	7	2	1	7	7	5	7	1	3	1	1	2	1	9	7	3	1	5	5	5	7	7	5	3
AM17	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	5	5	5	7	1	3	1	1	2	1	9	5	3	1	3	3	3	5	7	5	3
AM18	9	2	1	1	2	1	1	2	7	4	1	3	5	3	7	1	3	1	1	2	1	9	7	3	1	3	3	3	7	7	5	3
AM19	9	2	1	1	2	1	1	2	7	2	1	7	7	5	7	1	3	1	1	2	1	9	7	3	1	7	5	5	7	7	7	5
AM20	9	2	1	1	2	1	1	2	7	2	1	5	7	3	7	1	3	1	1	2	1	9	5	3	1	5	3	3	5	7	5	5

(Valores máximos, mínimos y medios uniformizados para las variables cualitativas y cuantitativas).

APÉNDICE F

CUADRO F7. *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* de Juchipila, Apozol y Jalpa en Zacatecas (AT).

Agave / Caracteres	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4	Hoja 5	Hoja 6	Tallo 7	Hoja 8	Hoja 9	Hoja 10	Hoja 11	Hoja 12	Hoja 13	Hoja 14	Hoja 15	Hoja 16	Hoja 17	Hoja 18	Hoja 19	Hoja 20	Hoja 21	Hoja 22	Hoja 23	Hoja 24	Planta 25	Planta 26	Planta 27	Planta 28	Planta 29	Hijuelos 30	Edad		
AT1	1	0	0	1	1	1	1	3	3	1	9	5	5	5	7	1	3	3	1	4	1	1	3	3	1	7	5	5	5	5	7	7	5
AT2	1	0	0	1	1	1	1	3	3	1	9	7	7	5	7	1	3	3	1	2	1	1	5	3	1	7	5	5	7	7	7	5	
AT3	1	0	0	1	1	1	1	3	3	1	9	3	5	3	7	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	5	5	7	5	
AT4	1	0	0	1	1	1	1	3	3	1	9	7	5	7	7	1	3	3	1	2	1	1	7	3	1	7	5	5	7	7	7	5	
AT5	1	0	0	1	1	1	1	1	5	1	9	3	3	5	7	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	3	5	5	5	5	7	7	7
AT6*	1	0	0	1	1	1	1	3	5	1	9	3	3	7	7	1	3	2	1	4	1	1	3	3	1	7	7	7	5	7	7	3	
AT7	1	0	0	1	1	1	1	3	5	1	9	5	5	5	7	1	3	2	1	4	1	1	5	3	1	7	7	7	5	7	7	5	
AT8	1	0	0	1	1	1	1	3	5	1	9	3	7	3	7	1	3	2	1	2	1	1	5	3	1	5	7	7	5	7	7	7	
AT9	1	0	0	1	1	1	1	3	5	1	9	7	7	3	7	1	3	2	1	4	1	1	5	3	1	7	7	7	7	7	7	7	
AT10	1	0	0	1	1	1	1	3	5	1	9	5	3	7	7	1	3	2	1	4	1	1	5	3	1	5	5	5	5	5	7	7	7
AT11	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	7	7	5	7	1	3	2	1	3	1	1	3	3	1	7	7	7	7	7	5	5	
AT12	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	5	5	5	7	1	3	2	1	2	1	1	5	3	1	5	5	5	5	5	5	7	5
AT13	1	0	0	1	1	1	1	3	7	4	9	5	7	3	7	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	5	7	7	5	7	7	7	
AT14	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	7	7	5	7	1	3	2	1	2	1	1	5	3	1	7	3	3	7	7	7	5	
AT15	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	7	7	5	7	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	7	7	7	7	7	7	5	
AT16	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	3	5	3	7	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	3	7	5	5	
AT17	1	0	0	1	1	1	1	3	7	4	9	5	5	3	7	1	3	2	1	2	1	1	3	3	1	5	5	5	5	5	7	5	5
AT18	1	0	0	1	1	1	1	3	7	1	9	3	5	3	7	1	3	2	1	3	1	1	3	3	1	5	5	5	5	5	7	5	5
AT19	1	0	0	1	1	1	1	3	7	4	9	3	5	3	7	1	3	2	1	3	1	1	3	3	1	5	5	5	5	5	7	5	5
AT20	1	0	0	1	1	1	1	3	7	4	9	3	5	3	7	1	3	2	1	3	1	1	3	3	1	5	3	3	3	5	3	5	

*.- Agave con escape floral. (Valores máximos, mínimos y medios uniformizados para las variables cualitativas y cuantitativas).

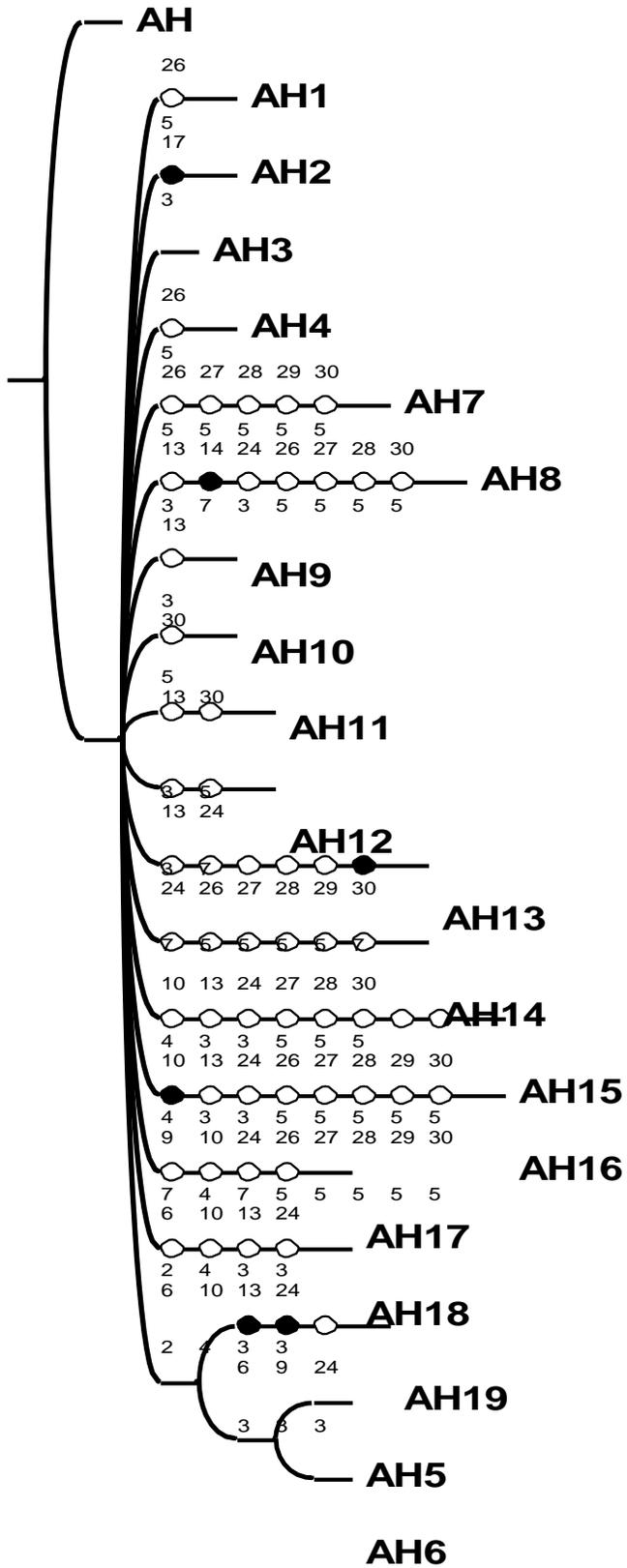
APÉNDICE F

CUADRO F8. Agaves aguamieleros (*Agave* sp.) de Hacienda Nueva y Pánuco en Zacatecas (AA).

Agave/ Caracteres	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4	Hoja 5	Hoja 6	Tallo 7	Hoja 8	Hoja 9	Hoja 10	Hoja 11	Hoja 12	Hoja 13	Hoja 14	Hoja 15	Hoja 16	Hoja 17	Hoja 18	Hoja 19	Hoja 20	Hoja 21	Hoja 22	Hoja 23	Hoja 24	Planta 25	Planta 26	Planta 27	Planta 28	Planta 29	Hijuelos 30	Edad	
AA1	1	0	0	2	1	1	1	2	5	5	9	3	3	3	8	1	5	2	1	2	1	1	3	5	1	3	5	5	3	5	5	5
AA2	1	0	0	1	1	1	1	2	7	4	9	5	5	5	8	1	5	1	1	2	1	1	5	5	1	5	5	5	5	7	5	3
AA3	1	0	0	1	1	1	1	2	7	5	9	3	5	3	8	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	3	5	5	3	3	5	3
AA4	1	0	0	1	1	1	1	2	5	5	1	5	5	3	5	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	5	3	7	3
AA5*	1	0	0	1	1	1	1	2	5	4	1	5	3	5	8	1	3	1	1	2	1	1	5	5	1	7	5	5	5	7	7	3
AA6	1	0	0	1	1	1	1	1	5	4	1	5	5	5	8	1	3	1	1	2	1	1	5	5	1	7	7	7	7	7	7	5
AA7	1	0	0	2	1	1	1	2	5	1	1	7	5	7	8	1	3	1	1	2	1	1	7	3	1	7	7	7	7	7	7	7
AA8	1	0	0	1	2	1	1	2	7	1	1	7	5	7	8	1	3	1	1	2	1	1	7	3	1	7	5	5	7	7	7	7
AA9	1	0	0	2	1	1	1	2	5	6	1	5	7	3	7	1	5	1	1	2	1	1	3	5	1	7	5	5	7	7	5	5
AA10	1	0	0	1	1	1	1	2	5	6	1	3	7	3	8	1	7	1	1	2	1	1	3	5	1	3	3	3	3	5	3	5
AA11	1	0	0	1	1	1	1	2	5	6	1	3	5	3	8	1	7	2	1	2	1	1	3	5	1	3	5	5	3	3	3	3
AA12	1	0	0	2	1	1	1	3	7	5	1	5	7	3	8	1	5	2	1	2	1	1	3	5	1	5	5	5	5	3	5	3
AA13	1	0	0	2	1	1	1	2	5	6	1	3	7	3	8	1	7	1	1	2	1	1	3	7	1	5	5	5	5	5	5	3
AA14	1	0	0	2	1	1	1	2	5	6	1	5	7	3	8	1	7	1	1	2	1	1	3	7	1	5	3	3	5	5	5	3

*.- Agave con escape floral. (Valores máximos, mínimos y medios uniformizados para las variables cualitativas y cuantitativas).

APÉNDICE G



APÉNDICE G

FIGURA G1. Árbol de consenso de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la localidad de la Honda (AH).

APÉNDICE G

AP

18

AP1

1
14 18 26 27 28 29

AP2

3 3 5 7 7 5
8 9 11 18 26

AP3

2 7 9 3 5
14 17 18

AP4

3 3 3
17 18 24 26 30

AP5

3 3 5 5 7
24

AP6

5
11 17 30

AP7

9 7 7
14 17 22 27 28 30

AP8

3 7 9 3 3 7
8 14 15 18 24 26 27 28 29

AP9

2 7 5 1 7 5 7 7 5
8 10 14 17 18 30

AP10

2 3 7 7 1 7
13 26 27 28 30

AP11

5 5 3 3 7
17 27 28 30

AP12

3 3 3 3
6 18

AP13

3 1
18

AP14

3
6 9 12 13 27 28 29

AP15

3 7 5 5 7 7 5
11 12 13 14 17 18 23 24 26 27 28 29 30

AP16

9 5 5 7 7 3 5 5 7 7 7 5 7
11 17 30

AP17

9 7 7
15 18 24 27 28 30

AP18

4 1 5 7 7 7
8 12 14 17 24 26 29 30

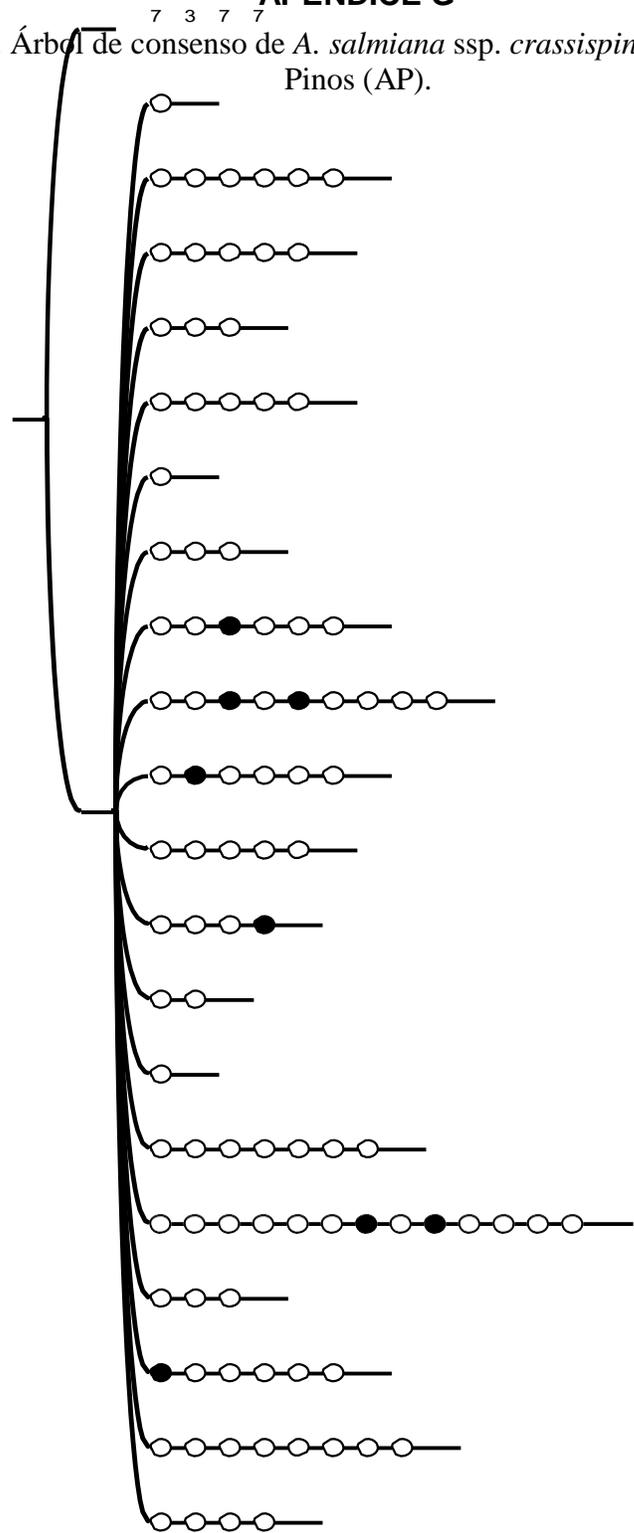
AP19

2 5 7 7 5 5 5 7
14 17 27 28

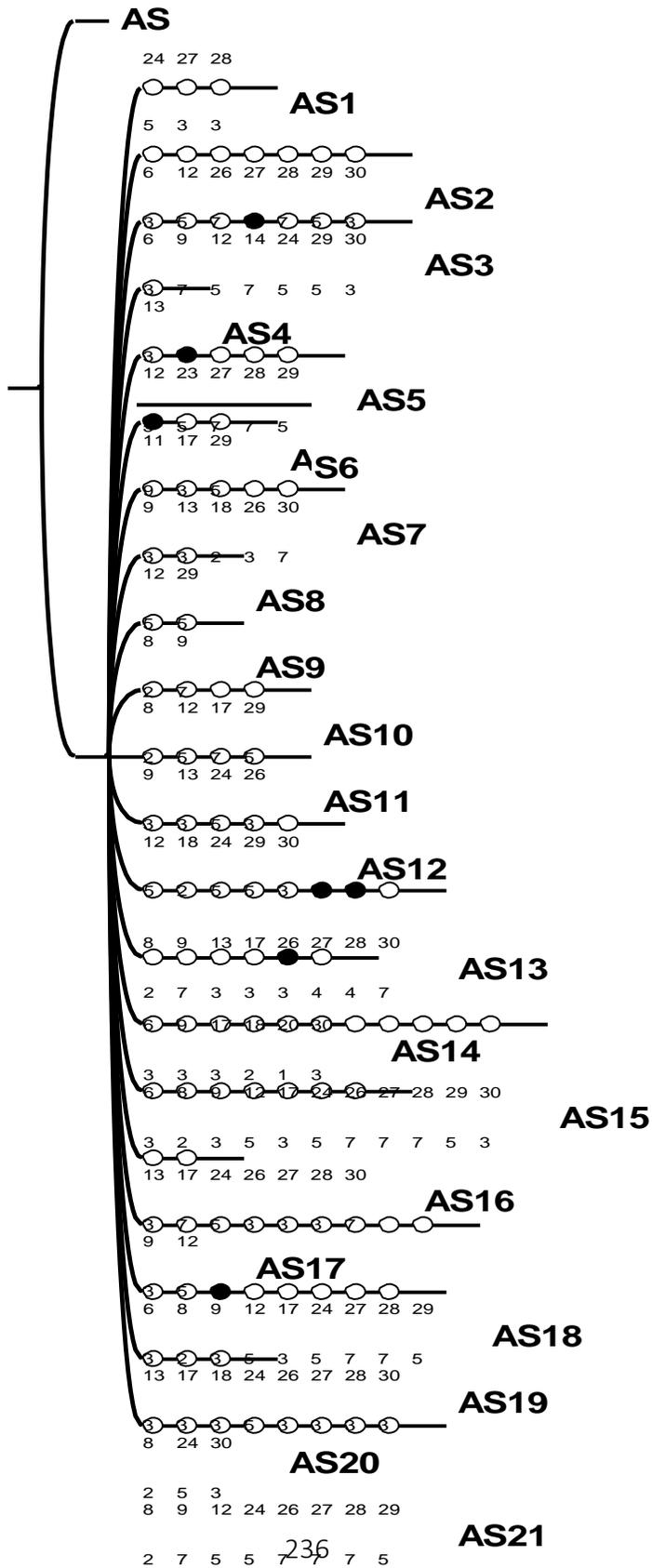
AP20

APÉNDICE G

FIGURA G2. Árbol de consenso de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la localidad de Pinos (AP).



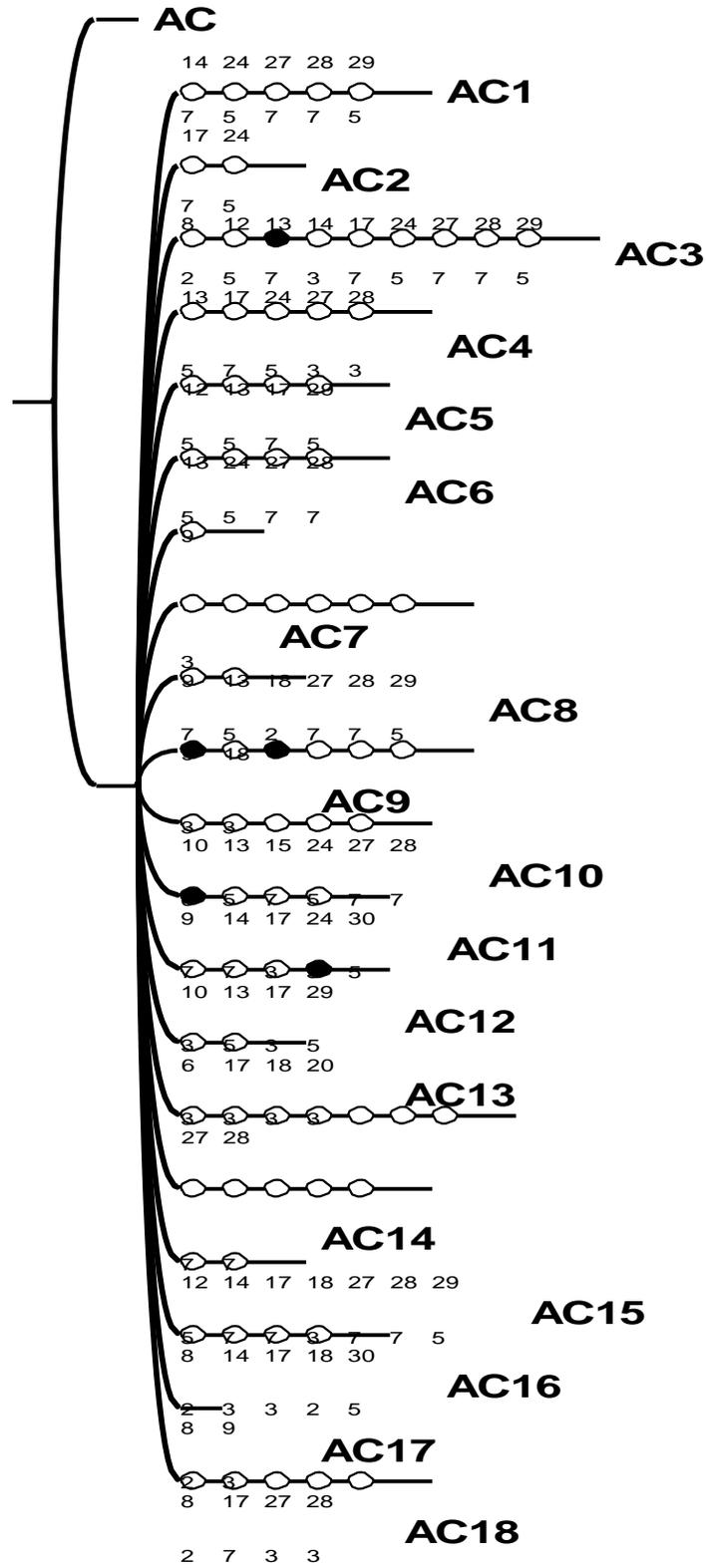
APÉNDICE G



APÉNDICE G

FIGURA G3. Árbol de consenso de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la localidad de Saldaña (AS).

APÉNDICE G



APÉNDICE G

AC19

6 8 18 27 28

3 2 3 3 3

AC20

FIGURA G4. Árbol de consenso de *A. salmiana* ssp. *crassispina* de la localidad de Charcas (AC).

APÉNDICE G

----> AB

6 14 18 24

AB1

3 7 2 5
6 18 24 30

AB2

3 2 5 7
8 14 27 28 29

AB3

3 7 3 3 7

12 14 18 24 26 29 30

AB4

3 3 3 5 7 7 7
14 18 30

AB5

7 2 7
18

AB6

2

8 10 17 18 27 28 30

AB7

3 5 7 2 3 3 7
14 18 24 26

AB8

7 2 5 7
12 24

AB9

3 5

18 22 26 27 28

AB10

2 9 7 7 7
12 13 17 18 26 27 28 29

AB11

3 3 5 2 3 3 3 3
14 15 24 26 27 28 30

AB12

7 7 5 7 7 7 7
10 12 14 23 24 26 29 30

AB13

1 7 7 7 2 7 7 3
12 24

AB14

3 1
14 17 23 26 29

AB15

7 5 5 3 7
15 17 26 30

AB16

6 5 3 7
6 26 29 30

AB17

3 3 3 7

12 14 23 26 27 28 29

7 7 5 7 7 7 7
14 23 30

APÉNDICE G

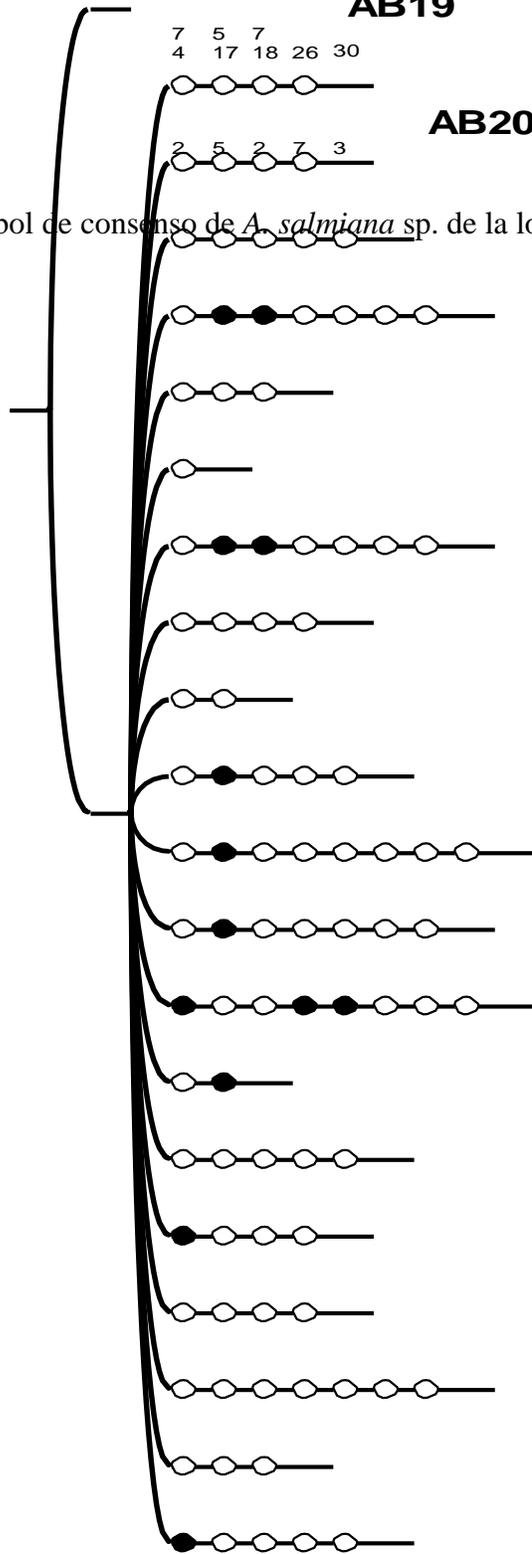
AB19

7 5 7
4 17 18 26 30

AB20

2 5 2 7 3

FIGURA G5. Árbol de consenso de *A. salmiana* sp. de la localidad de la Honda (AB).



APÉNDICE G

AM

5 13 23 26 27 28 29

AM1

1 7 3 7 7 7 7

5 13 23 24 27 28

AM2

1 7 3 5 7 7

5 13 26 27 28 29

AM3

1 7 7 7 7 7
5 12 13 14 27 28

AM4

1 7 7 5 5 5
10 14 23

AM5

2 7 3

AM6

10 14

AM7

2 5
12 14 26 29

AM8

7 7 7 3
12 13 14 26 27 28 29

AM9

7 7 5 7 5 5 7
10 27 28

AM10

2 5 5

10 14

AM11

2 5
10 12 26 29

AM12

2 3 3 3
6 10 12 13 17 23 26 29

AM13

3 2 3 3 5 3 3 3

15 26 29

AM14

5 3 3
14 15 26

AM15

5 5 3
10 12 13 14 27 28 29

AM16

2 7 7 5 5 5 7

14 26

AM17

5 3
12 26 29

AM18

3 3 7
10 12 13 14 15 26 27 28 29

AM19

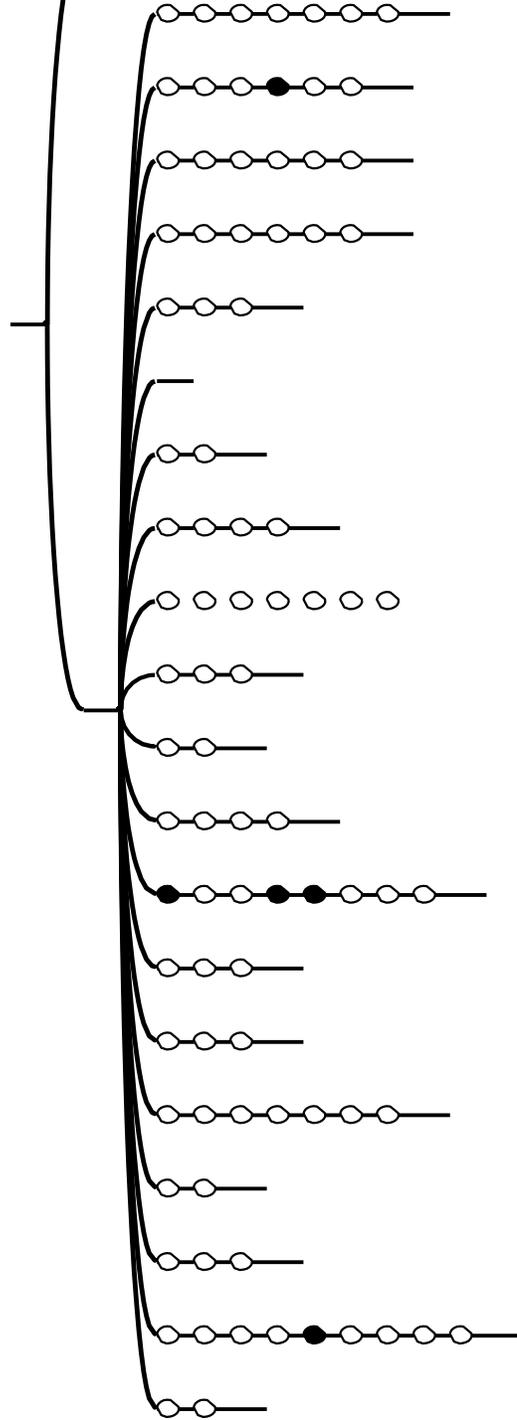
2 7 7 5 8 7 5 5 7

10 13

AM20

APÉNDICE G

FIGURA G6. ^{2 7}Árbol de consenso de *A. americana* var. *marginata* de la localidad de Guadalupe (AM).



APÉNDICE G

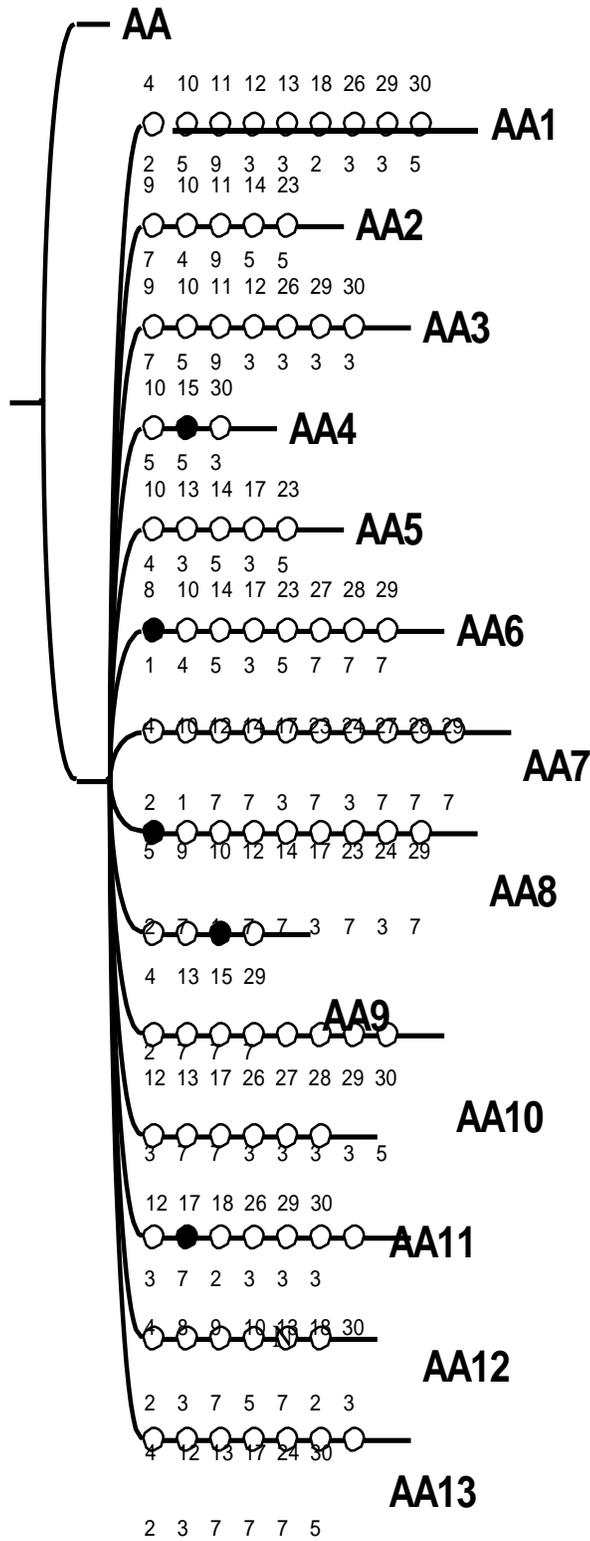


FIGURA G8. Árbol de consenso de *A. sp.* (maguey aguamielero) de Hacienda Nueva y Pánuco (AA).

APÉNDICE I

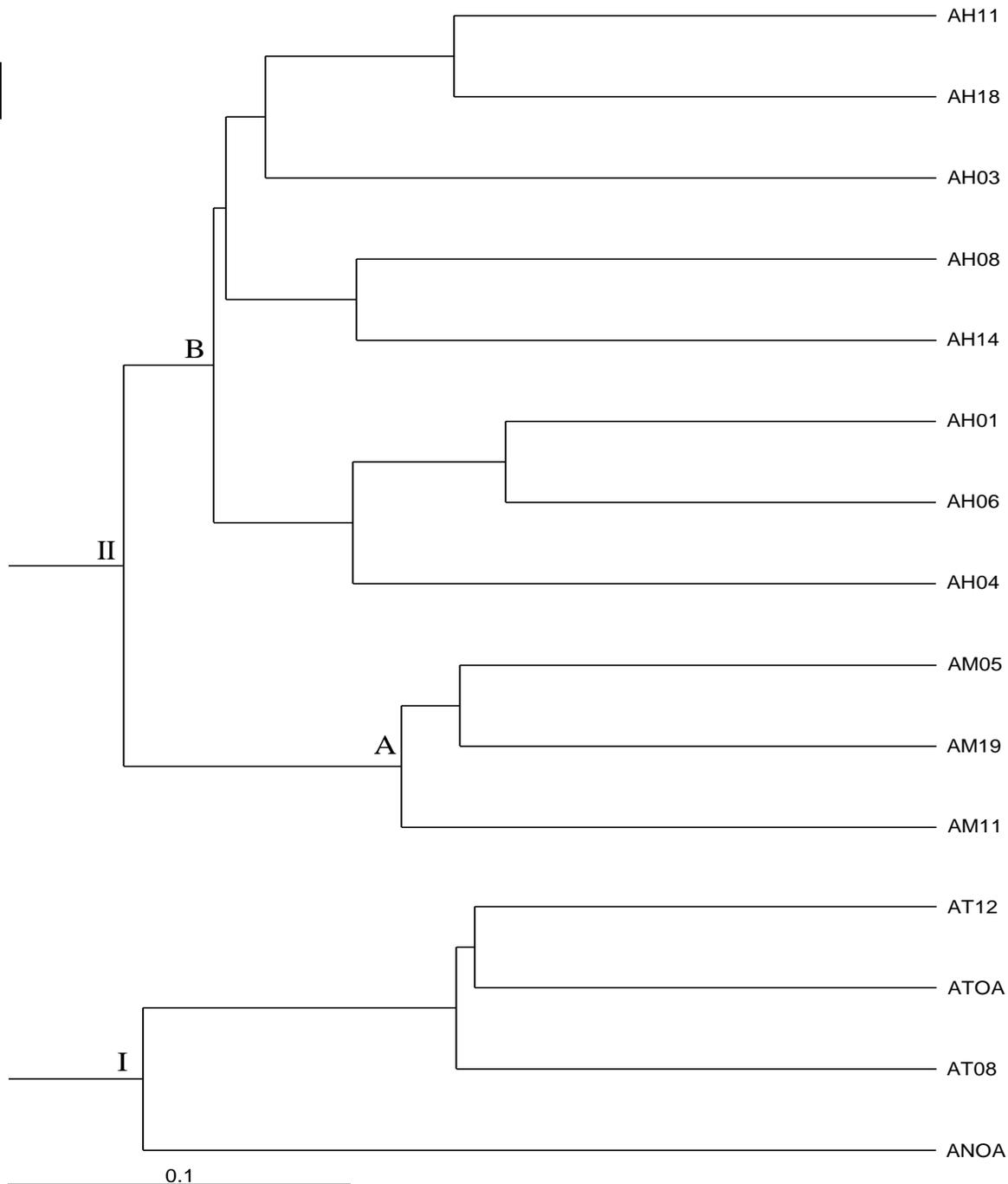


FIGURA II. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* subsp. *crassispina* de la comunidad de la Honda (AH), *A. americana* var. *marginata* (AM) y *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT); obtenido utilizando el índice de similitud de Nei-Li (1978), DICE (1945) y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos.

APÉNDICE I

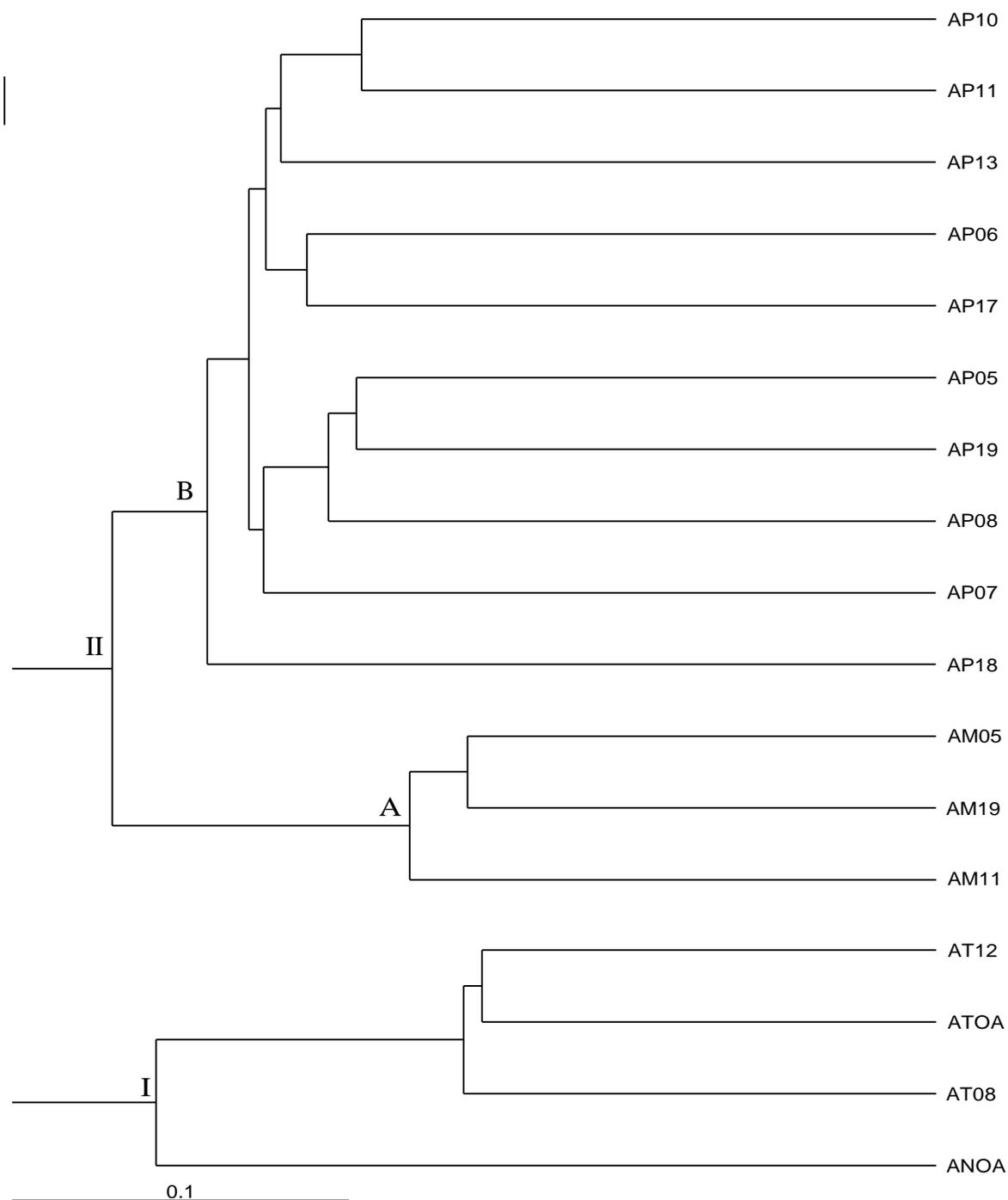


FIGURA I2. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* subsp. *crassispina* de la comunidad de Pinos (AP), *A. americana* var. *marginata* (AM) y *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT); obtenido utilizando el índice de similitud de Nei-Li (1978), DICE (1945) y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos.

APÉNDICE I

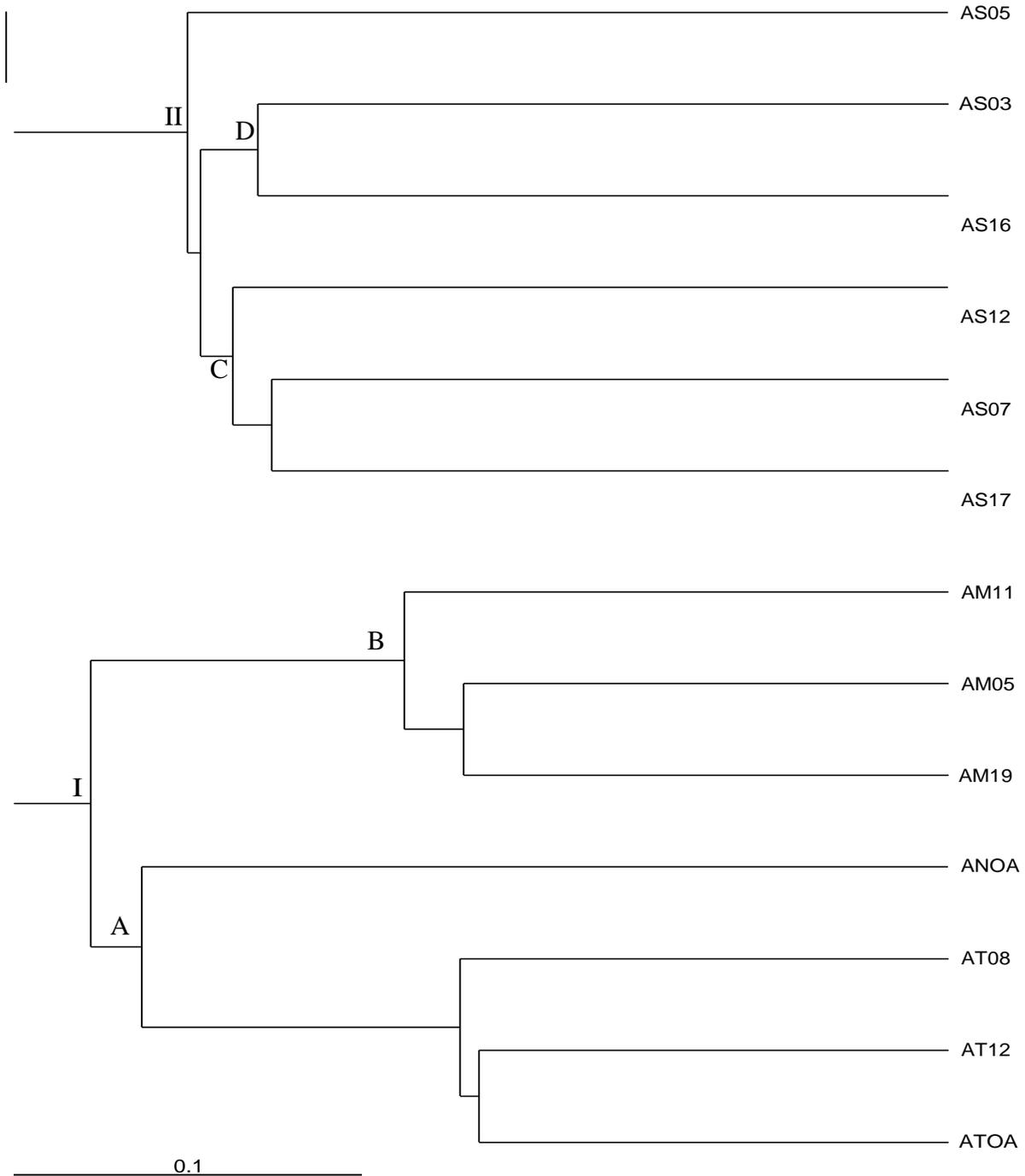


FIGURA I3. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* subsp. *crassispina* de la comunidad de Saldaña (AS), *A. americana* var. *marginata* (AM) y *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT); obtenido utilizando el índice de similitud de Nei-Li (1978), DICE (1945) y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos.

APÉNDICE I

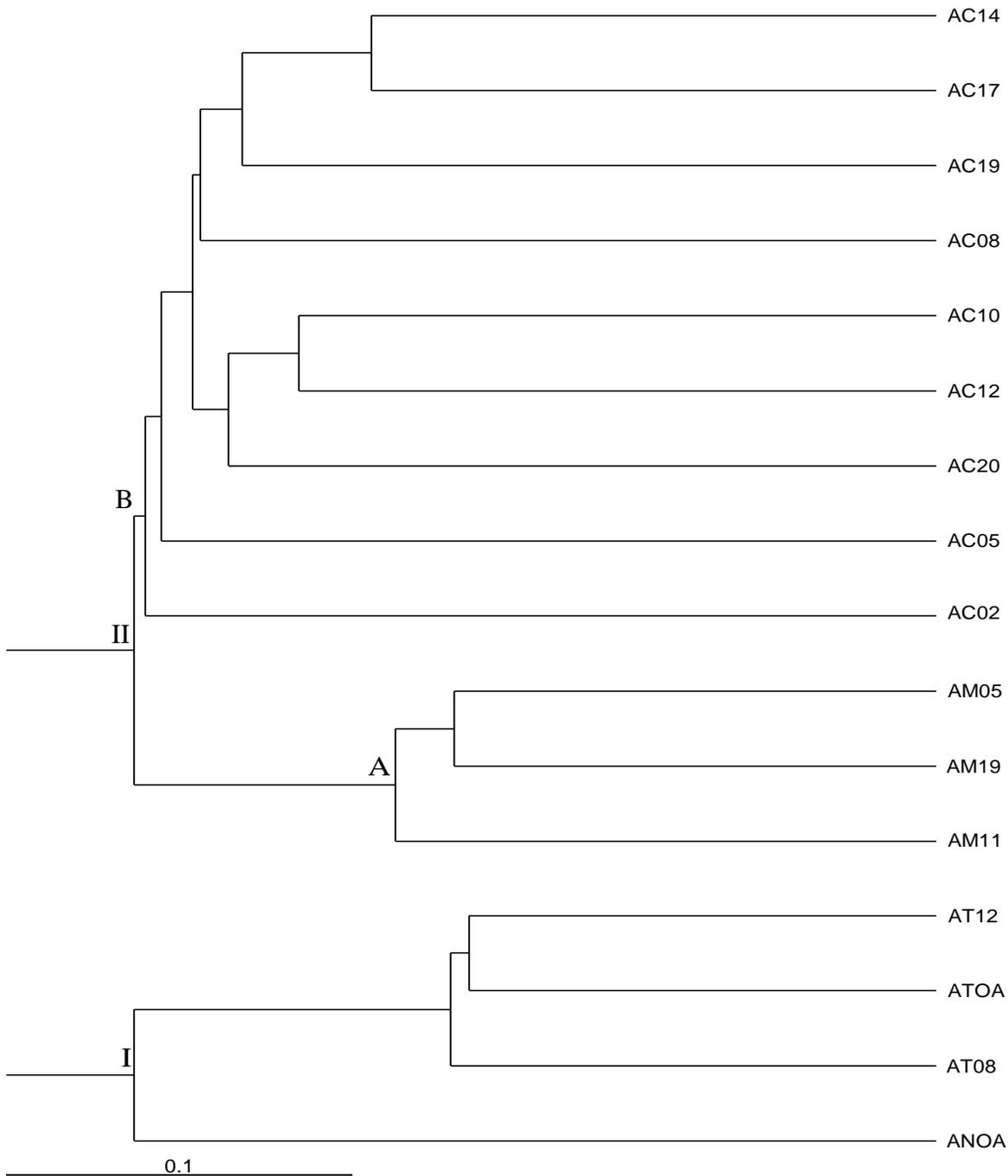


FIGURA I4. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* subsp. *crassispina* de la comunidad de Charcas (AC), *A. americana* var. *marginata* (AM) y *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT); obtenido utilizando el índice de similitud de Nei-Li (1978), DICE (1945) y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos.

APÉNDICE I

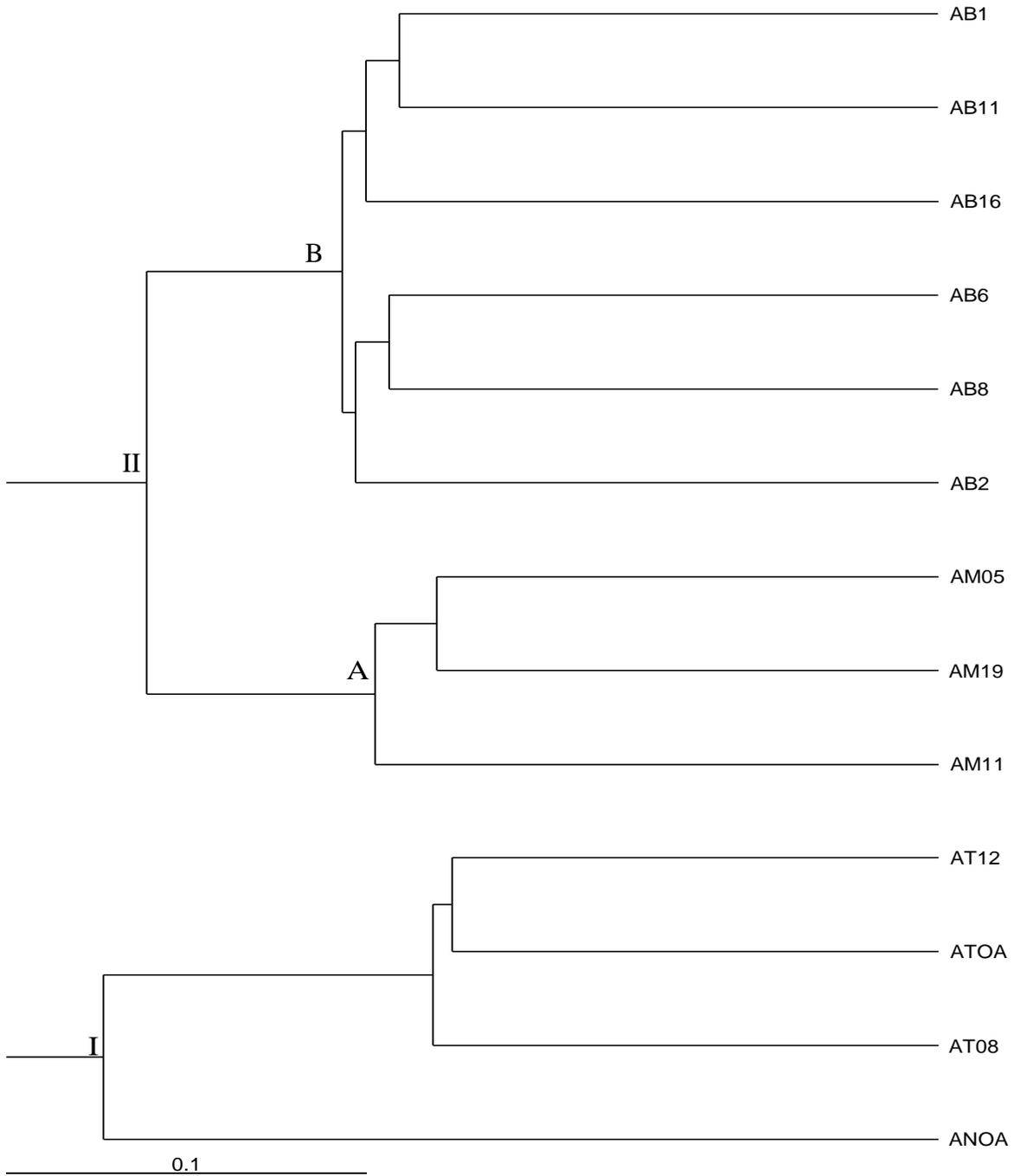


FIGURA I5. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* sp. de la comunidad de la Honda (AB), *A. americana* var. *marginata* (AM) y *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT); obtenido utilizando el índice de similitud de Nei-Li (1978), DICE (1945) y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos.

APÉNDICE I

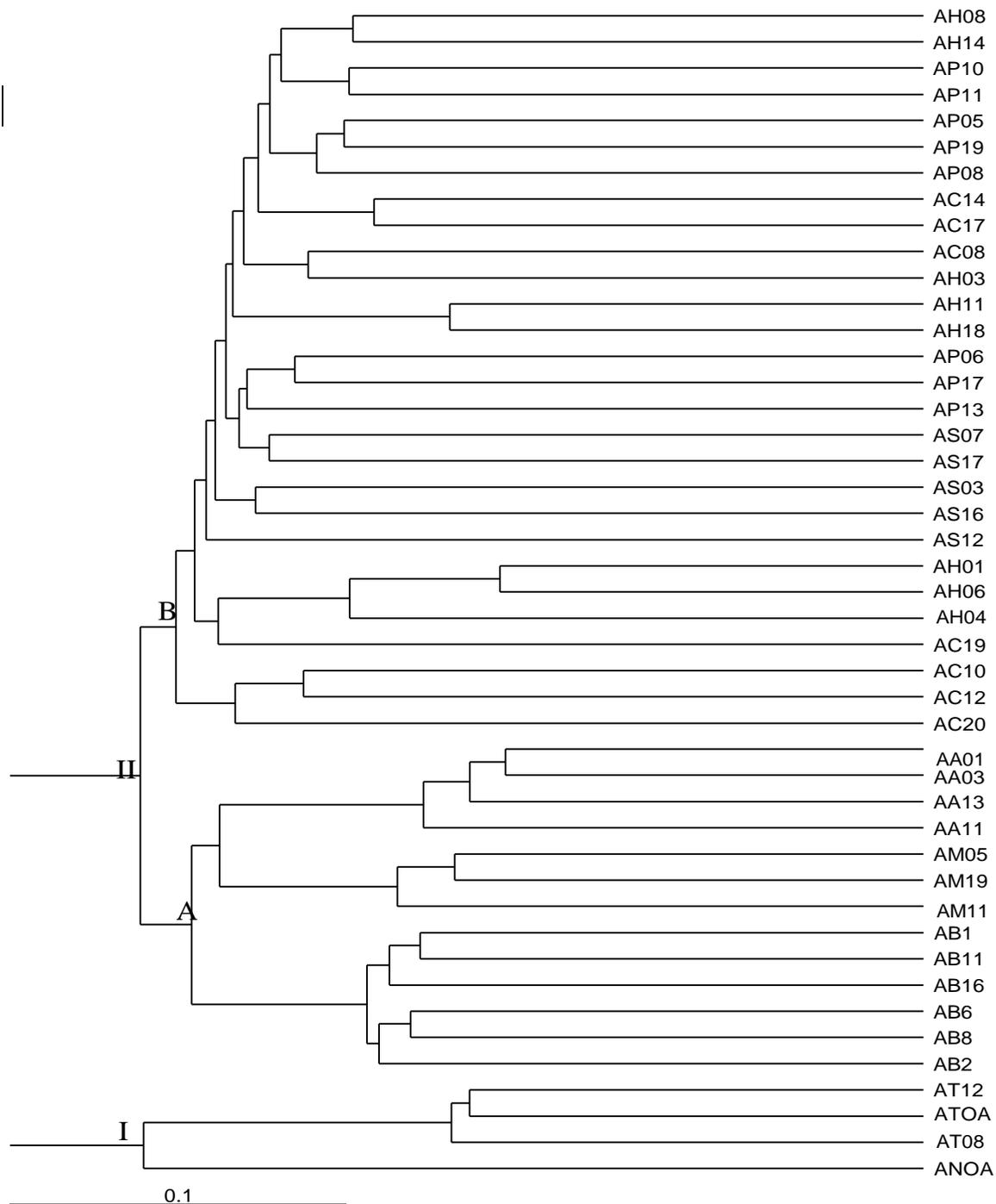


FIGURA I6. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC, AB), *A. americana* var. *marginata* (AM), *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT) y *Agave* sp. (AA); obtenido utilizando el índice de similitud de Nei-Li (1978), DICE (1945) y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos.

APÉNDICE I

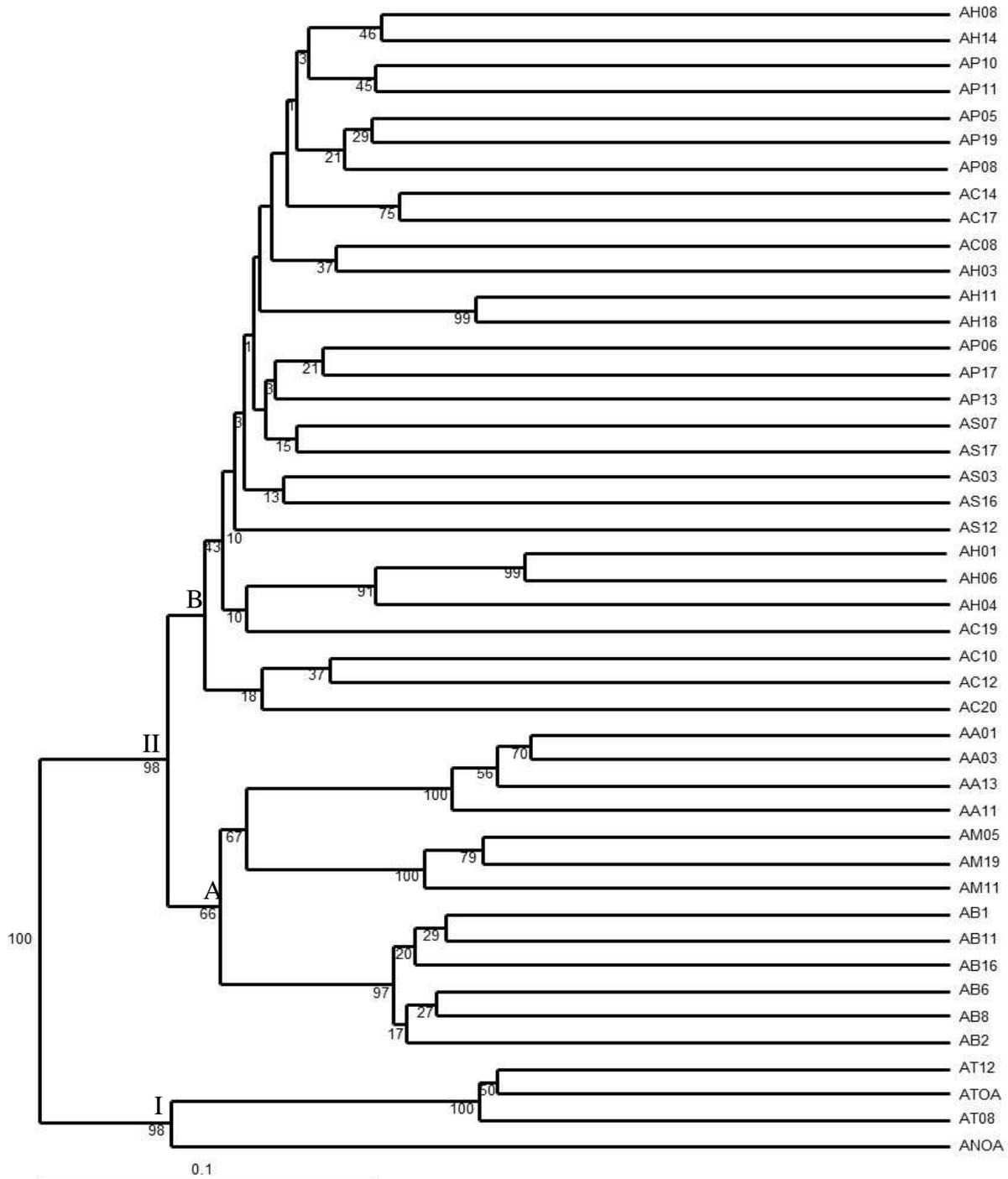


FIGURA 17. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC, AB), *A. americana* var. *marginata* (AM), *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT) y *Agave* sp. (AA); obtenido utilizando el índice de similitud de Nei-Li (1978), DICE (1945) y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos. El número en los puntos de unión encima de los nodos, corresponden al valor de robustez (Bootstrap) que soporta a la rama del árbol después de 1000 réplicas.

APÉNDICE I

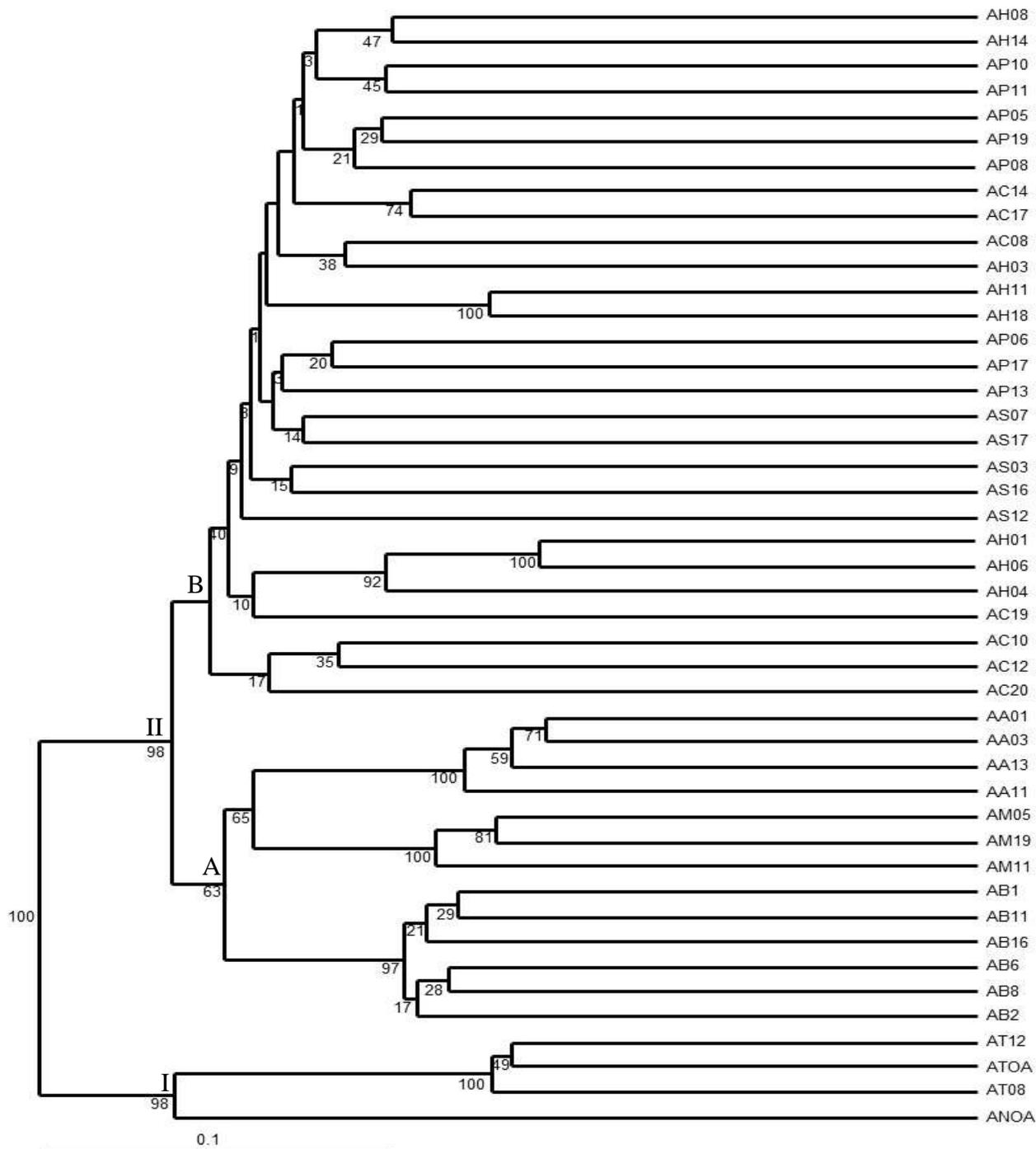


FIGURA I8. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC, AB), *A. americana* var. *marginata* (AM), *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT) y *Agave* sp. (AA); obtenido utilizando el índice de similitud de Nei-Li (1978), DICE (1945) y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos. El número en los puntos de unión encima de los nodos, corresponden al valor de robustez (Bootstrap) que soporta a la rama del árbol después de 5000 réplicas.

APÉNDICE I

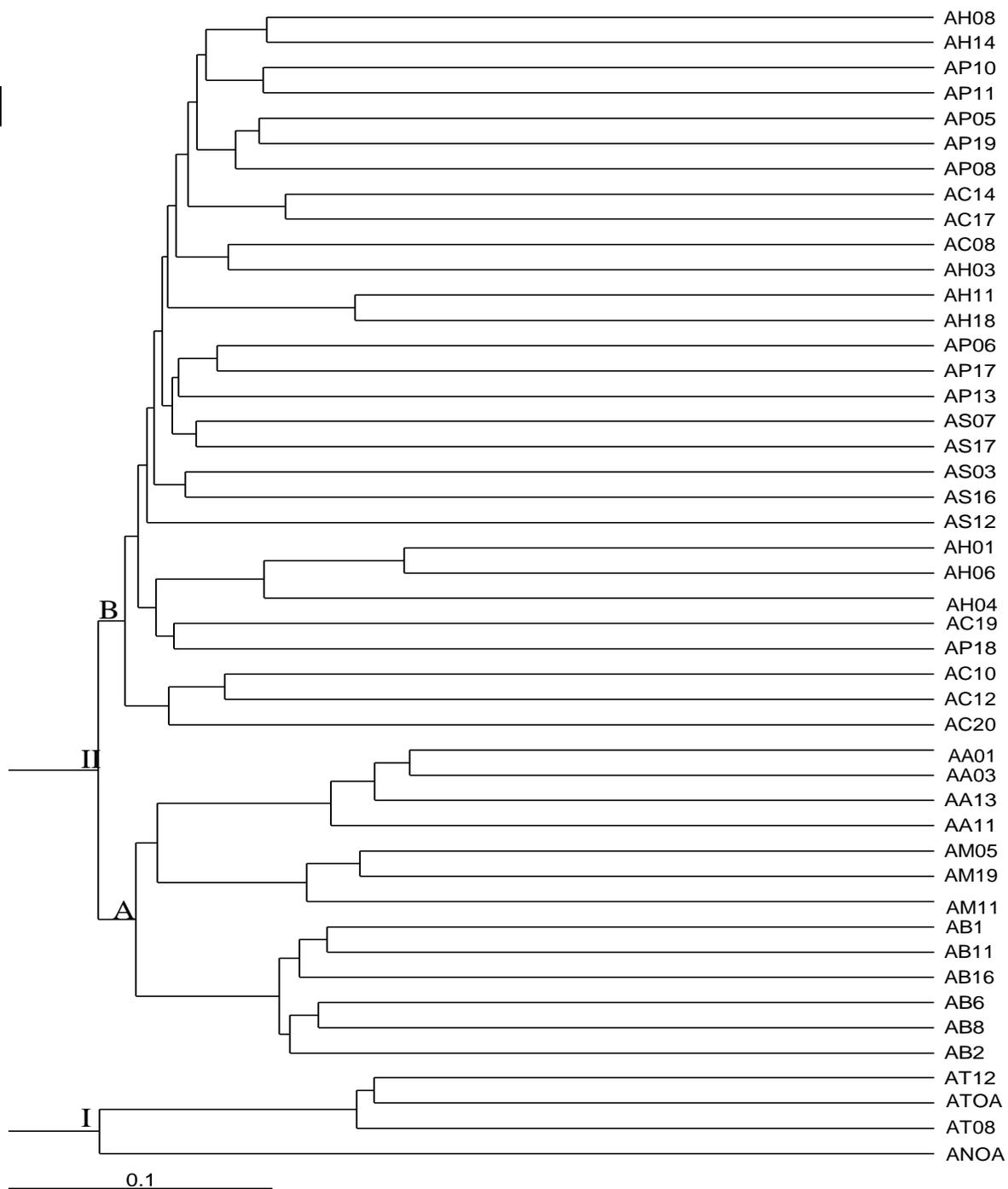


FIGURA I9. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC, AB), *A. americana* var. *marginata* (AM), *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT) y *Agave* sp. (AA); obtenido utilizando el índice de similitud/disimilitud de Jaccard y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos.

APÉNDICE I

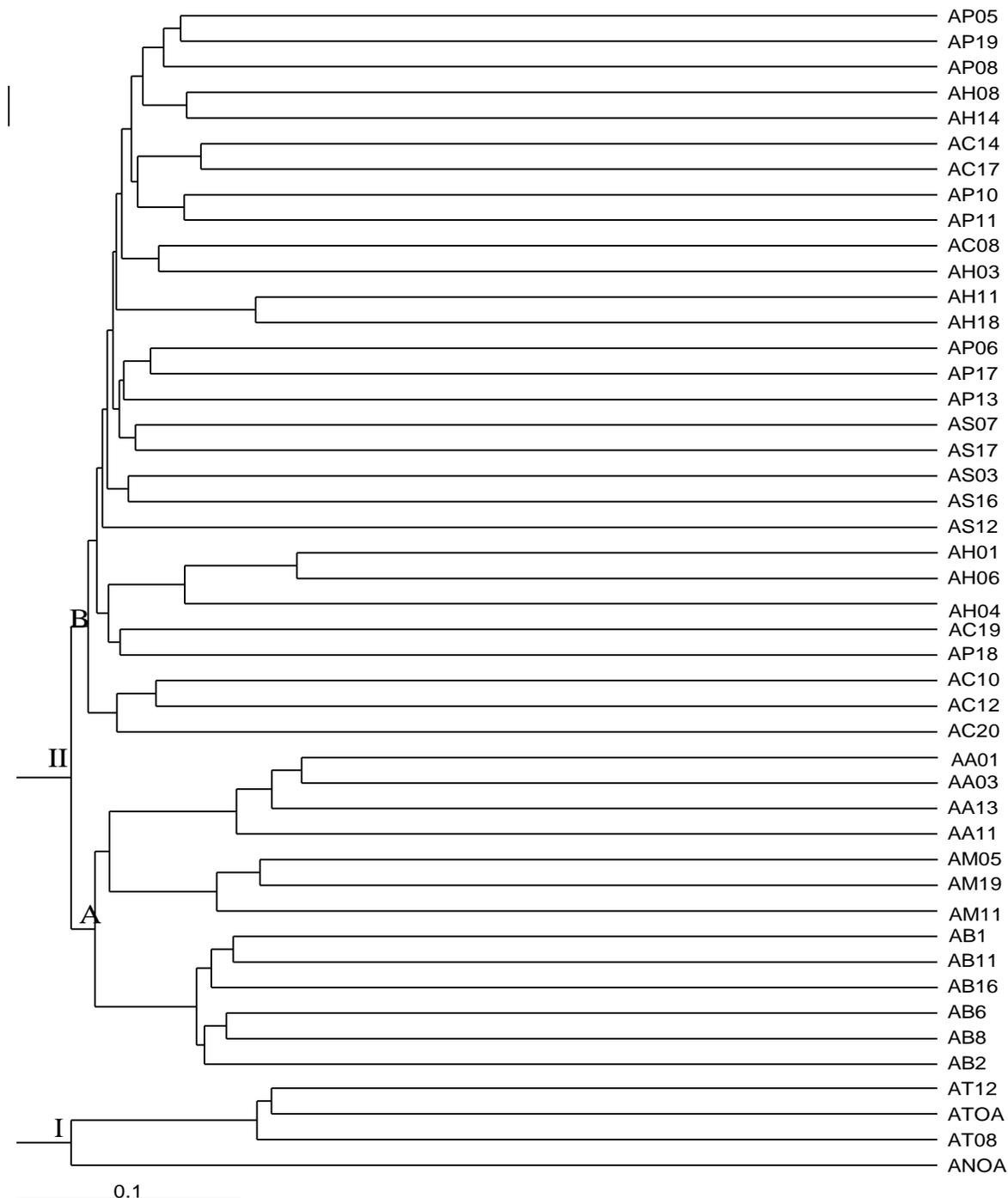


FIGURA I10. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC, AB), *A. americana* var. *marginata* (AM), *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT) y *Agave* sp. (AA); obtenido utilizando el índice de similaridad de Sokal - Sneath 1 / Anderbeg y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos.

APÉNDICE I

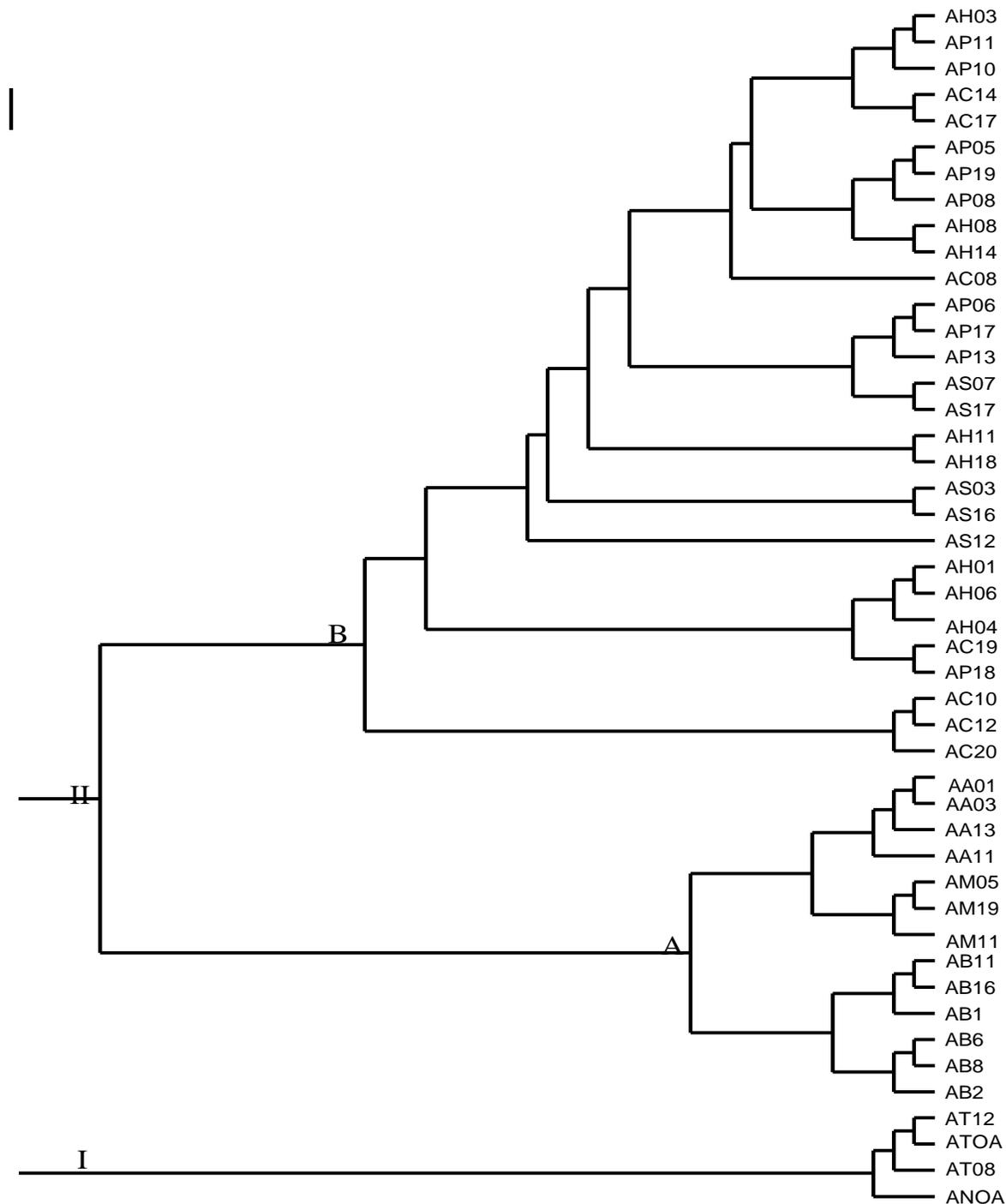


FIGURA I11. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC, AB), *A. americana* var. *marginata* (AM), *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT) y *Agave* sp. (AA); obtenido utilizando el índice de diversidad genética Nei's standard distance D_s y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos.

APÉNDICE I

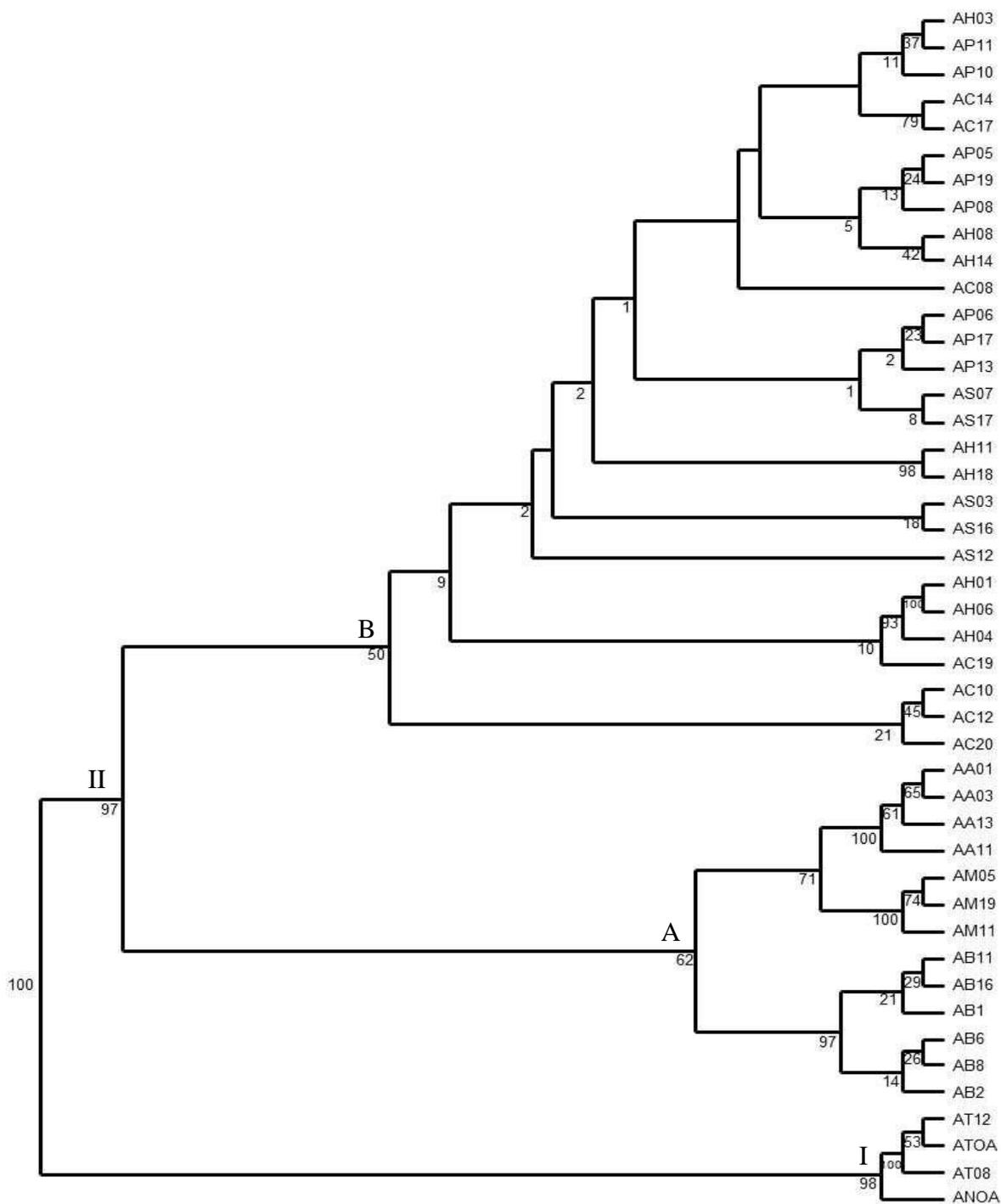


FIGURA I12. Dendrograma de relaciones entre individuos de *A. salmiana* (AH, AP, AS, AC, AB), *A. americana* var. *marginata* (AM), *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (AT) y *Agave* sp. (AA); obtenido utilizando el índice de distancia genética Nei Da y el método de agrupamiento UPGMA. Los números romanos indican los grupos y las letras, los subgrupos. El número en los puntos de unión encima de los nodos, corresponden al valor de robustez (Bootstrap) que soporta a la rama del árbol después de 5000 réplicas.

APÉNDICE J

Plant DNAZOL[®] Reagent

WARNING: Harmful in contact with skin and if swallowed. Contact with acid liberates very toxic gas. Avoid contact with skin and eyes.

Cat. No.: 10978-021

Size: 100 ml

CAS No.: 593-84-0

Store at 15 to 30°C.

Description:

Plant DNAZOL is an extra-strength-DNAZOL reagent (patent pending) specifically formulated for the isolation of genomic DNA from plants. The Plant DNAZOL procedure is based on the use of a novel guanidine-detergent lysing solution which hydrolyzes RNA and allows the selective precipitation of DNA from the lysate. The Plant DNAZOL protocol is fast and permits efficient isolation of genomic DNA from a variety of plant tissues.

In the Plant DNAZOL procedure, plant samples are pulverized in liquid nitrogen or homogenized, and genomic DNA is extracted from the homogenate with Plant DNAZOL. Following extraction, plant debris is removed by centrifugation and DNA is precipitated from the supernatant with ethanol. The resulting DNA pellet is washed with ethanol and solubilized. The entire procedure can be completed in ~60 min and the isolated DNA can be used for Southern analysis, dot blot hybridization, molecular cloning, PCR, molecular mapping, and other biology and biotechnology applications.

Stability:

Plant DNAZOL is stable at room temperature for at least one year after the date of purchase.

Handling Precautions:

Plant DNAZOL contains irritants. Handle with care, avoid contact with skin, use eye protection (shield, safety goggles). In case of contact, wash skin with a copious amount of water; seek medical attention.

Protocol:

Reagents required, but not supplied: ethanol, TE buffer (pH 8.0) or 8 mM NaOH or chloroform.

1. Extraction	0.3 ml Plant DNAZOL + 0.1 g pulverized plant tissue; 0.3 ml chloroform	12,000 × g, 10 min
2. DNA Precipitation	supernatant + 0.225 ml 100% ethanol	5,000 × g, 4 min
3. DNA Wash	0.3 ml Plant DNAZOL-ethanol solution 0.3 ml 75% ethanol	5,000 × g, 4 min 5,000 × g, 4 min
4. DNA Solubilization	TE buffer (pH 8.0) or 8 mM NaOH	12,000 × g, 4 min

The procedure is carried out at room temperature. Centrifugation can be performed at 4°C to 25°C.

1. Extraction:

- 1.1 Pulverize plant tissue in liquid nitrogen using a mortar and pestle. Replenish the liquid nitrogen in the mortar 2 to 3 times and continue to grind sample until a fine, homogenous powder is obtained. Using a spatula, transfer the frozen powder to a microcentrifuge tube containing Plant DNAZOL. (Use 0.3 ml Plant DNAZOL for 0.1 g of plant tissue.) Mix the solution thoroughly by gentle inversion a few times and incubate at 25°C with shaking for 5 min. Add 0.3 ml chloroform, mix vigorously, and further incubate at 25°C with shaking for another 5 min. Centrifuge as described below (1.2).

- 1.2 Following extraction, centrifuge the extracts at 12,000 × g for 10 min and transfer the resulting supernatant, or the aqueous phase after the chloroform extraction, to a fresh tube.
 - For procedures such as PCR which require limited amounts of DNA addition of chloroform is optional.
 - Protocol is written for isolation of DNA from 0.1 g of plant tissue. For larger amounts of plant tissue, scale up volume of reagent proportionately.

2. DNA Precipitation:

- 2.1 Following centrifugation, precipitate DNA by mixing the aqueous phase with 0.225 ml of 100% ethanol.

After addition of ethanol (2.1), mix samples by inverting the tubes 6 to 8 times and store them at room temperature for 5 min. Sediment precipitated DNA at 5,000 × g for 4 min, and remove the resulting supernatant. In some samples, DNA precipitate is not visible before centrifugation.

This product is distributed for laboratory research use only. CAUTION: Not for diagnostic use. TM

3. DNA Wash:

- 3.1 *Plant DNAZOL-ethanol wash.* Prepare Plant DNAZOL-ethanol wash mixture by mixing 1 volume of Plant DNAZOL with 0.75 volume of 100% ethanol. Mix 0.3 ml of Plant DNAZOL-ethanol wash solution with the DNA precipitate by vortexing. Store samples for 5 min and centrifuge at 5,000 × g for 4 min.
 - When processing large samples (>0.5 g) disperse the DNA pellet in the wash solution with a transfer pipette.
 - The volume of wash solution equals the volume of DNAZOL used for the original extraction. When processing plant material with a small amount of contaminants, the volume of the wash solution can be decreased by 50%.
- 3.2 *Ethanol wash.* Remove the DNAZOL wash solution, and wash the DNA pellet by vigorous mixing with 0.3 ml of 75% ethanol followed by centrifugation at 5,000 × g for 4 min.
 - For large samples (>0.5 g), an additional ethanol wash might be necessary to remove chlorophyll and other pigments from the DNA pellet.

4. DNA Solubilization:

- Remove the ethanol wash by decanting, store tubes vertically for 1-2 min and remove the remaining ethanol with a micropipette. Air dry the DNA pellet. Dissolve the DNA pellet in 70 µl TE buffer (pH 8.0). If the DNA pellet is difficult to dissolve, use 8 mM NaOH instead of TE buffer. In a typical DNA preparation, the DNA solution is cloudy and may contain insoluble material. This insoluble material is removed by centrifugation at 12,000 × g for 4 min.
- Typical yield is 50 - 300 µg of DNA/g of plant leaf material. Add an adequate amount of TE buffer (pH 8.0) or 8 mM NaOH to achieve a DNA concentration of 0.1 - 0.3 µg/µl.
 - Genomic DNA is difficult to solubilize and repeated pipetting is required for its complete solubilization. Incomplete solubilization will result in loss of DNA during the final centrifugation step.
 - Alkaline solutions are neutralized by CO₂ from the air. Once a month, prepare 8 mM NaOH from a 2 - 4 M NaOH stock solution that is less than 6 months old.
 - If DNA solubilized in 8 mM NaOH, adjust the DNA solution to a desired pH by the addition of HEPES. Use the following amounts of 0.1 M or 1 M HEPES (free acid) per ml of 8 mM NaOH:

Final pH	0.1 M HEPES (µl)	Final pH	1.0 M HEPES (µl)
8.4	86	7.2	23
8.2	93	7.0	32
8.0	101		
7.8	117		
7.5	159		

Quantitation of DNA And Results:

- Mix an aliquot of the solubilized DNA with 1 ml of TE buffer (pH 8.0) or 8 mM NaOH and measure A₂₆₀ and A₂₈₀ of the resulting solution. Calculate the DNA content assuming that one A₂₆₀ unit equals 50 µg of double-stranded DNA/ml (2).
- Molecular weight of the isolated DNA ranges from 20 to 100 kb with the A₂₆₀/A₂₈₀ ratio ranging 1.6 - 1.9. The molecular weight of the isolated DNA is influenced by the extent of DNA shearing during tissue grinding.

Notes:

1. The isolated DNA may contain degraded RNA. To avoid RNA contamination, add RNase to Plant DNAZOL at the beginning of the isolation procedure (100 µg RNase A/ml Plant DNAZOL).
2. The isolation procedure can be interrupted and samples can be stored as follows:
 - a. Plant DNAZOL extract, before or after the initial centrifugation step (step 1.2), can be stored for at least one week at room temperature, and at least one month or one year at 4°C or -20°C, respectively.
 - b. The DNA pellet can be stored in 95% ethanol for at least one week at room temperature or for one year at 4°C.

References:

1. Wiltfinger, W.W., Mackey, K., and Chomczynski, P. (1997) *BioTechniques* 22, 474 and 478.
2. Ausubel F.M., Brent R., Kingston R.E., Moore, D.D., Seidmann, J.G., and Struhl, K. (1990) in *Current Protocols in Molecular Biology*, vol 3, p. A.3D.1, John Wiley & Sons, Inc. New York, NY.

DNAZOL[®] is a registered trademark of Molecular Research Center, Inc.

Doc. Rev 04/23/01

APÉNDICE J

Reactivos para protocolo de aislamiento de ADN con CTAB-STE

(Esterilizar todas las soluciones)

Buffer de extracción CTAB

Tris-HCl 100 mM pH8

NaCl 1.5 M

EDTA 20 mM pH8

CTAB 4%

PVP40 4%

Ac. Ascórbico 0.1%

DIECA 0.1%

b-mercaptoetanol 0.3% (no agregar este reactivo hasta el momento de usar el buffer)

Buffer de extracción STE

Tris-HCl 100 mM pH8

EDTA 50 mM pH8

NaCl 100mM

b-mercaptoetanol 0.3% (no agregar este reactivo hasta el momento de usar el buffer)

Buffer TE

10mL 1M Tris HCl pH 8.02 mL de EDTA 0,5 M Aumentar el volumen total de 1 L con agua bidestilada