



UNIVERSIDAD MICHOACANA  
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
*Cuna de héroes, crisol de pensadores*



INSTITUTO DE  
INVESTIGACIONES  
AGROPECUARIAS  
Y FORESTALES

**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES  
PROGRAMA DE MAESTRÍA PROFESIONALIZANTE EN PRODUCCIÓN  
AGROPECUARIA**

**ENSAYO DE PROGENIES Y EVALUACIÓN DE  
CARACTERES FISIOLÓGICOS EN *Agave cupreata* TREL.  
& BERGER EN MICHOACÁN**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA CON OPCIÓN EN EL  
ÁREA AGRÍCOLA**

**PRESENTA:**

**ING. JESÚS NICOLÁS CASTA MARTÍNEZ**

**DIRECTOR: DR. PHILIPPE CHRISTIAN MARC LOBIT  
CO-DIRECTOR: DR. NAHÚM MODESTO SÁNCHEZ VARGAS**

**MORELIA, MICHOACÁN, AGOSTO DE 2017.**

## PÁGINA DE APROBACIÓN

La presente tesis titulada: **“ENSAYO DE PROGENIES Y EVALUACIÓN DE CARACTERES FISIOLÓGICOS EN *Agave cupreata* TREL. & BERGER EN MICHOACÁN”** fue realizada por el alumno: **JESÚS NICOLÁS CASTA MARTÍNEZ**, bajo la dirección del Comité Sinodal indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el grado de:

**“MAESTRO EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA CON OPCIÓN EN EL ÁREA AGRICOLA”.**

	<b>COMITÉ SINODAL</b>	<b>FIRMA</b>
Director	DR. PHILIPPE CHRISTIAN MARC LOBIT	_____
Co-Director	DR. NAHÚM MODESTO SÁNCHEZ VARGAS	_____
Asesor	DR. ALEJANDRO MARTÍNEZ PALACIOS	_____
Asesor	DR. CUAUHTÉMOC SÁENZ ROMERO	_____
Asesor	DR. LUIS LÓPEZ PÉREZ	_____

Morelia, Michoacán, 18 de Agosto de 2017.

## AGRADECIMIENTOS

- ✚ Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por el apoyo económico otorgado a través de la beca para la realización de mis estudios de posgrado.
- ✚ Al **Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF)**, a la **Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH)** y a todo su personal por haberme brindado la oportunidad de realizar este trabajo.
- ✚ Al **Dr. Philippe Lobit** por su gran apoyo incondicional, dedicación, enseñanzas, asesoría y por la excelente dirección de este trabajo, pero sobre todo por haberme brindado el privilegio de su amistad.
- ✚ Al **Dr. Nahúm Sánchez**, por su gran apoyo, por los conocimientos transmitidos, sus valiosas observaciones, y por la excelente planeación de este trabajo.
- ✚ Al **Dr. Alejandro Martínez Palacios**, por su gran apoyo y dedicación, por asesorarme con su amplia experiencia en agaves, por la confianza y por haber hecho posible esta investigación.
- ✚ Al **Dr. Luís López** y al **Dr. Cuauhtémoc Sáenz** por su gran apoyo, sus conocimientos transmitidos, sus valiosos comentarios, observaciones y consejos durante la construcción y desarrollo de este trabajo.
- ✚ A la **Dra. Selene Ramos** por su amabilidad y confianza, su gran apoyo, sus enseñanzas, por tomarse el tiempo de revisar cuidadosamente este trabajo y por sus valiosas contribuciones para que este trabajo culminara exitosamente.

## DEDICATORIA

- ✚ **A Dios** por permitirme el haber llegado hasta este momento de mi formación profesional, por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas en los momentos difíciles, por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias, oportunidades y felicidad.
  
- ✚ **A mis Padres** por el apoyo incondicional a lo largo de mi vida, el cariño, amor, valores, principios, consejos y enseñanzas, quienes han estado presentes en todo momento y han sido un gran ejemplo de superación constante, les agradezco profundamente por sacarme adelante y haberme formado como persona.
  
- ✚ **A mi Abuela**, a quien quiero como una madre, por su gran apoyo incondicional, por ser una mujer excepcional, estar conmigo en todo momento y demostrarme la gran fé que tiene en mí.
  
- ✚ **A mis Hermanos** porque siempre han estado junto a mí, por el apoyo, confianza y consejos y sobre todo por ser mis amigos.
  
- ✚ **A mi Familia y Amigos** por su apoyo y motivación, por estar conmigo en los buenos y en los malos momentos.

- **Jesús Nicolás Casta Martínez**

## CONTENIDO

	Pág.
<b>RESUMEN</b> .....	xi
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
2.3. Hipótesis.....	3
<b>3. ANTECEDENTES</b> .....	4
3.1. Los Agaves.....	4
3.2. <i>Agave cupreata</i> .....	6
3.2.1. Clasificación taxonómica de <i>Agave cupreata</i> .....	7
3.2.2. Distribución del <i>Agave cupreata</i> .....	8
3.2.3. Aspectos fisiológicos de <i>Agave cupreata</i> .....	8
3.3. Fotosíntesis.....	9
3.4. Radiometría espectral como método de medición de la clorofila.....	11
3.4.1. Índices de reflectancia.....	13
3.5. Genética cuantitativa.....	15
3.5.1. Caracteres cuantitativos.....	15
3.5.2. Interacción genotipo – ambiente.....	16
3.5.3. Heredabilidad.....	16
3.6. Mejoramiento genético forestal.....	18
3.6.1. Productos forestales no maderables.....	18
3.6.2. Clases y fuentes de variación.....	18
3.6.3. Ensayos de progenies.....	19
3.6.4. Respuesta a la selección y ganancia genética.....	21

<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	22
4.1. Establecimiento del experimento.....	22
4.2. Material vegetal.....	23
4.3. Diseño experimental.....	24
4.4. Manejo del experimento.....	25
4.5. Fases del experimento.....	26
4.6. Variables evaluadas.....	26
4.6.1. Germinación.....	26
4.6.2. Variables de crecimiento.....	26
4.6.2.1. Tamaño de planta.....	27
4.6.2.2. Número de hojas.....	27
4.6.3. Variables fisiológicas.....	27
4.6.3.1. Dimensiones de las hojas.....	28
4.6.3.2. Contenido de clorofila y otros pigmentos.....	28
4.6.3.3. Contenido de azúcar en la hoja.....	29
4.7. Análisis de datos.....	30
4.8. Cálculo de parámetros genéticos.....	30
4.8.1. Heredabilidad.....	30
4.8.2. Respuesta a la selección y ganancia genética.....	31
<b>5. RESULTADOS</b> .....	32
5.1. Germinación.....	32
5.2. Crecimiento.....	34
5.2.1. Área foliar.....	34
5.2.2. Número de hojas.....	36
5.3. Variables fisiológicas.....	37
5.3.1. Peso de hoja.....	37
5.3.2. Tamaño de hoja.....	38
5.3.3. Peso específico.....	39
5.3.4. Grados Brix.....	40
5.3.5. Índices de reflectancia.....	41

5.3.5.1. REP (Red Edge Position).....	41
5.4. Parámetros genéticos.....	42
5.4.1. Heredabilidad de variables de crecimiento.....	42
5.4.2. Heredabilidad de variables fisiológicas.....	43
5.4.3. Ganancia genética.....	43
<b>6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>44</b>
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>49</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>59</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS, CUADROS Y GRÁFICAS

	Pág.
<b>FIGURAS</b>	
Figura 1. Plantación de <i>A. cupreata</i> en el rancho Mesa de las Azucenas, en el municipio de Madero Michoacán.....	7
Figura 2. Distribución potencial de <i>A. cupreata</i> en los municipios de Michoacán. ....	8
Figura 3. Ejemplo de espectro de reflectancia de un espectro-radiómetro, con regiones espectrales claves e índices marcados.....	12
Figura 4. Corte transversal de la cama de cultivo.....	23
Figura 5. Distribución de la siembra dentro de las parcelas experimentales.....	24
Figura 6. Ensayo en campo en Arroyo Colorado.....	59
Figura 7. Medición de área foliar en fotografía el método de selección de polígonos.....	62
Figura 8. Métodos de medición de Área Foliar.....	63
<b>CUADROS</b>	
Cuadro 1. Información de los progenitores y de las semillas.....	24
Cuadro 2. Significancia estadística para la variable: Porcentaje de germinación.....	33
Cuadro 3. Significancia estadística para la variable: Área Foliar – 14 meses.....	35
Cuadro 4. Significancia estadística para la variable: Área Foliar - 20 meses.....	36
Cuadro 5. Significancia estadística para la variable: No. de hojas – 9 meses.....	36
Cuadro 6. Significancia estadística para la variable: No. de hojas – 14 meses.....	37
Cuadro 7. Heredabilidad en sentido estricto. Variables de crecimiento...	42

Cuadro 8. Heredabilidad en sentido estricto. Variables fisiológicas.....	43
Cuadro 9. Ganancia genética.....	43
Cuadro 10. Análisis de varianza para la variable: Porcentaje de germinación.....	64
Cuadro 11. Niveles de significancia Tukey para la variable: Porcentaje de germinación.....	64
Cuadro 12a. Análisis de varianza global para la variable: Área Foliar – 9 meses.....	65
Cuadro 12b. Análisis de varianza para la variable: Área Foliar – 9 meses en IIAF-Posta.....	65
Cuadro 12c. Análisis de varianza para la variable: Área Foliar – 9 meses en Arroyo Colorado.....	65
Cuadro 13. Análisis de varianza para la variable: Área Foliar – 14 meses.....	67
Cuadro 14. Análisis de varianza para la variable: Área Foliar - 20 meses.....	68
Cuadro 15a. Análisis de varianza global para la variable: No. de hojas – 9 meses.....	69
Cuadro 15b. Análisis de varianza para la variable: No. de hojas en IIAF-Posta – 9 meses.....	69
Cuadro 15c. Análisis de varianza para la variable: No. de hojas en Arroyo Colorado – 9 meses.....	69
Cuadro 16. Análisis de varianza para la variable: No. de hojas – Campo - 14 meses.....	70
Cuadro 17. Análisis de varianza global para la variable: Peso de hoja – 9 meses.....	71
Cuadro 18. Análisis de varianza global para la variable: Peso de hoja – 14 meses.....	71
Cuadro 19. Análisis de varianza global para la variable: Peso de hoja – 20 meses.....	71

Cuadro 20. Análisis de varianza global para la variable: Tamaño de hoja – 9 meses.....	72
Cuadro 21. Análisis de varianza para la variable: Tamaño de hoja – 14 meses.....	72
Cuadro 22. Análisis de varianza para la variable: Tamaño de hoja – 20 meses.....	72
Cuadro 23. Análisis de varianza para la variable: Grados Brix – 9 meses.....	73
Cuadro 24. Análisis de varianza global para REP – 9 meses.....	74
Cuadro 25. Análisis de varianza para la variable: REP – 14 meses.....	74
Cuadro 26. Análisis de varianza para la variable: REP – 20 meses.....	74

## **GRÁFICAS**

Gráfica 1. Porcentaje de germinación.....	32
Gráfica 2. Área foliar en 3 periodos de evaluación.....	34
Gráfica 3. Peso de hoja.....	38
Gráfica 4. Tamaño de hoja.....	39
Gráfica 5. Peso específico.....	40
Gráfica 6. Grados Brix.....	40
Gráfica 7. REP (Red Edge Position).....	41
Gráfica 8. Correlación Área Foliar real – Área Foliar por fotos.....	61
Gráfica 9. Área Foliar – 9 meses.....	66
Gráfica 10. Área Foliar – 14 meses.....	67
Gráfica 11. Reducción de Área Foliar por estrés hídrico.....	68
Gráfica 12. No. de hojas – 9 meses.....	69
Gráfica 13. No. de hojas – Campo – 14 Meses.....	70
Gráfica 14. Correlación entre índices de reflectancia REP – MTCl.....	75

## RESUMEN

*Agave cupreata* es una planta endémica de Michoacán y Guerrero, utilizada para la producción de Mezcal artesanal. Para poder producir materia prima de buena calidad y económicamente rentable, se requiere obtener material genéticamente superior para establecer plantaciones intensivas. En el presente trabajo se estableció un ensayo de progenies en dos sitios, con el objetivo de evaluar el desarrollo de 24 familias (progenies de medios hermanos) procedentes de tres sitios de Michoacán, e identificar las mejores familias, con mayor potencial para el mejoramiento genético. El experimento consistió en dos fases de evaluación; la primera fase se evaluó en invernadero hasta los 9 meses de edad; en la segunda fase, el ensayo de los dos invernaderos se trasplantó a campo, en un mismo sitio, y se hicieron evaluaciones, a los 14 y 20 meses de edad. Se midieron variables de crecimiento, principalmente el área foliar y el número de hojas de las plantas, también se midieron variables fisiológicas, como el contenido de clorofila mediante índices de reflectancia de la hoja, y el contenido de azúcares de la hoja. Finalmente se calcularon parámetros genéticos como la heredabilidad de los caracteres medidos y se estimó la ganancia genética esperada a la selección. En la fase de invernadero, el área foliar promedio de las familias fue de 62.9 cm<sup>2</sup>, la familia más sobresaliente presentó un valor promedio de 84 cm<sup>2</sup>, mostrando diferencias significativas ( $P=0.0002$ ); las 24 familias presentaron un promedio de 6 hojas. Respecto al contenido de azúcares en hoja, el promedio general fue de 5.9° Brix, y la mejor familia tuvo un promedio de 6.24° Brix. Los índices de reflectancia (que indican contenido de clorofila) mostraron sus valores más altos en la evaluación en invernadero; en las evaluaciones de campo, el contenido de clorofila disminuyó gradualmente por la exposición a la radiación solar. A los 14 meses (en el mes de Noviembre), la familia que presentó el mayor tamaño en invernadero, también fue la más grande en campo, con un área foliar promedio de 273 cm<sup>2</sup>, mientras que el promedio general de las demás familias fue de 184 cm<sup>2</sup>. En esta etapa las plantas presentaron un promedio de 11.6 hojas. A los 20 meses (en el mes de Mayo), las plantas presentaron una reducción aparente en su tamaño por estrés hídrico, y se observaron diferencias significativas entre familias ( $P<.0001$ ). Respecto a los parámetros genéticos, se encontraron valores muy altos de heredabilidad a nivel de medias de familia; para el área foliar, fue de 0.84 en invernadero y 0.77 en campo; el número de hojas y las variables fisiológicas, también presentaron valores altos, mayores a 0.55. Si se seleccionara el mejor 20% de los mejores individuos del experimento a los 14 meses, se esperarí una ganancia genética en tamaño, del 17.9%.

**Palabras clave:** *Agave cupreata*, genética cuantitativa, progenies, crecimiento, índices de reflectancia, clorofila, heredabilidad.

## ABSTRACT

*Agave cupreata* is an endemic plant of Michoacán and Guerrero, used for the production of handcrafted Mezcal. In order to produce good quality and economically profitable raw material, it is necessary to obtain genetically superior material to establish intensive plantations. In the present work, a progeny trial was established in two sites, with the objective of evaluating the development of 24 families (progenies of half siblings) from three sites in Michoacán, and to identify the best families with the greatest potential for genetic improvement. The experiment consisted of two phases of evaluation; The first phase was evaluated in a greenhouse until 9 months of age; In the second phase, the two greenhouses were transplanted to the field in the same site and evaluations were carried out at 14 and 20 months of age. Growth variables, mainly leaf area and leaf number of plants, were also measured, as well as physiological variables such as chlorophyll content by leaf reflectance index and leaf sugar content. Finally genetic parameters such as the heritability of the measured characters were calculated and the expected genetic gain to the selection was estimated. In the greenhouse phase, the average leaf area of the families was 62.9 cm<sup>2</sup>, the most outstanding family had an average value of 84 cm<sup>2</sup>, showing significant differences (P=0.0002); The 24 families presented an average of 6 leaves. Regarding the content of leaf sugars, the overall average was 5.9° Brix, and the best family had an average of 6.24° Brix. The reflectance indices (indicating chlorophyll content) showed their highest values in the greenhouse evaluation; In the field evaluations, the chlorophyll content gradually decreased by exposure to solar radiation. At 14 months (in November), the family that presented the largest size in the greenhouse was also the largest in the field, with an average leaf area of 273 cm<sup>2</sup>, while the general average of the other families was 184 cm<sup>2</sup>. At this stage the plants presented an average of 11.6 leaves. At 20 months (in May), the plants presented an apparent reduction in their size due to water stress, and significant differences were observed between families (P<.0001). Regarding the genetic parameters, very high values of heritability were found at the level of family averages; For leaf area, was 0.84 in greenhouse and 0.77 in field; The number of leaves and the physiological variables, also presented high values, greater than 0.55. If the best 20% of the best individuals in the experiment were selected at 14 months, a genetic gain in size of 17.9% would be expected.

**Key words:** *Agave cupreata*, quantitative genetics, progenies, growth, reflectance index, chlorophyll, heritability.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las plantas del género *Agave* tienen gran importancia ecológica y cultural en los socio-ecosistemas de México, país donde existe la mayor riqueza de especies de este género en el mundo (75%, de acuerdo con García-Mendoza, 2002). Diversas culturas que se desarrollaron en el territorio del país los han aprovechado desde hace más de diez mil años (Gentry, 1982). Dentro de los principales productos que se obtienen de los agaves actualmente tenemos, alimentos, medicinas, materiales para la construcción y producción artesanal, fibras, y bebidas alcohólicas como el pulque y el Mezcal. La producción de Mezcal en Michoacán, es una actividad, tradicional que tiene una gran importancia como fuente de ingresos en algunas de las zonas más marginadas del estado. El Mezcal michoacano se produce principalmente a partir de *Agave cupreata*, una especie endémica de Michoacán y Guerrero. *A. cupreata* se distribuye en la sierra alrededor de la depresión del Río Balsas, entre los 1200 y 1900 m de altitud, en un hábitat de selva baja caducifolia.

En este contexto, para la producción de Mezcal, se requiere cosechar individuos en estado reproductivo (Aguirre-Rivera *et al.*, 2001; Zizumbo-Villarreal *et al.*, 2013), lo cual impide la reproducción sexual y reduce el tamaño de poblaciones. Esto se traduce en impactos negativos a nivel demográfico, ambiental y genético (Aguirre-Dugua & Eguiarte, 2013; Martínez-Salvador *et al.*, 2005; Martínez-Salvador *et al.*, 2007; Sánchez-Teyer *et al.*, 2009). Actualmente algunas especies de agaves están consideradas en riesgo, ya que su explotación se realiza única y exclusivamente de poblaciones silvestres (Eguiarte *et al.*, 2013). La pérdida de biodiversidad ocurre a través de la pérdida de especies y alelos. Por lo cual la disminución de la diversidad genética en las especies reduce los procesos de adaptación a cambios ambientales y afecta su supervivencia a largo plazo, lo cual incrementa el riesgo de extinción (Huang *et al.*, 2009; Bourguiba *et al.*, 2012).

Con la aprobación de la denominación de origen para el Mezcal michoacano, obtenida en 2012, se abren nuevas posibilidades de comercialización, por lo que se prevé que la demanda se incremente en los próximos años. Anticipando esta demanda, muchos productores han empezado el cultivo de *A. cupreata* en plantaciones comerciales o semi-comerciales. Sin embargo, muchas de estas plantaciones presentan un desempeño decepcionante, con un crecimiento lento y un bajo contenido de azúcar en las plantas. Parte de este bajo desempeño, se debe a una falta de evaluación genética y/o selección de las plantas utilizadas para la plantación. Ya que muchos productores aplican una selección disgénica, en donde las mejores plantas son cosechadas y las peores se dejan para su reproducción; por tal motivo obtienen las semillas de las plantas más pequeñas, no utilizables para la producción de Mezcal.

Para que los productores de Mezcal puedan producir materia prima de manera económicamente rentable y no tengan que abastecerse de plantas silvestre, se requiere obtener material genéticamente superior para sus plantaciones.

Para esto, se pueden aplicar técnicas de mejoramiento genético forestal a los agaves, cuyos objetivos consisten en aumentar la productividad y mejorar la calidad de las especies que integran los sistemas agroforestales, a través de la identificación y desarrollo de poblaciones genéticamente superiores de especies forestales, y el uso de estas poblaciones como fuentes de semilla (u otro materia propagativo) para establecer plantaciones mejoradas.

Estas técnicas consisten principalmente en ensayos de progenies, cuyo objetivo es identificar las progenies que permitan formar plantaciones mejor adaptadas y más productivas (Flores *et al.*, 2017).

Por otro lado, es posible que las diferencias de crecimiento entre progenies de *A. cupreata* resulten de diferencias en su fisiología, en particular su capacidad fotosintética y de adaptación a diferentes tipos de estrés en campo. En general, los agaves son plantas, que presentan metabolismo ácido de crasuláceas (CAM) (Gentry, 1982; Granados, 1999), en el que el CO<sub>2</sub> es absorbido durante la noche y almacenado en forma de ácido málico. Al día siguiente el CO<sub>2</sub> es liberado mediante la descarboxilación del ácido málico y es suministrado para la formación de hidratos de carbono en el ciclo de Calvin; para su asimilación, es utilizada la energía luminosa captada por la clorofila. Algunas variables susceptibles de ser utilizadas en ensayos de progenie para identificar diferencias entre estos procesos son, por ejemplo, el nivel de acumulación del ácido málico al final de la noche, el contenido de clorofila de la hoja, o su contenido de azúcares solubles.

El objetivo de este proyecto fue identificar las progenies más sobresalientes y con mayor potencial para mejoramiento mediante un ensayo de progenies en dos sitios. Además de las variables de crecimiento, se midieron variables fisiológicas para identificar características que pudieran estar relacionadas con el crecimiento de las plantas y que eventualmente pudieran ser usadas como criterios de selección.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

Evaluar parámetros genéticos cuantitativos de variables de crecimiento y fisiológicas en progenies de medios hermanos de *Agave cupreata*.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Identificar las familias más sobresalientes y con mayor potencial para mejoramiento con base a la calidad del material producido (tamaño de planta, biomasa, contenido de azúcares y contenido de clorofila).
- Evaluar la variabilidad genética entre y dentro de familias de medios hermanos para estimar parámetros genéticos.
- Analizar si existe interacción genotipo-ambiente, y si ésta es importante.
- Explorar la relación entre características fisiológicas y el crecimiento de la planta.

### **2.3. Hipótesis**

- Existen genotipos superiores en *A. cupreata*, cuyas características son heredables.
- Parte del desempeño (crecimiento) de las progenies se explica por características fisiológicas heredables (tales como composición en pigmentos fotosintéticos, forma de las hojas, etc.).

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1. Los Agaves

Los agaves son un grupo de plantas de gran importancia económica y ecológica para México (Gentry, 1982; Eguiarte *et al.*, 2000). El género *Agave* cuenta con más de 160 especies, 75% de las cuales se encuentran presentes en el país (Eguiarte *et al.*, 2000). El género *Agave* es originario de Mesoamérica, distribuyéndose desde los 34° Latitud Norte hasta los 60° Latitud Sur; coincidiendo en nuestro país el centro de origen con el centro de diversidad de especies (García-Herrera *et al.*, 2010).

El género *Agave* cuyo nombre proviene del griego y significa “noble” o “admirable”, fue dado a conocer por Carlos Linneo en 1753 (Háuad-Marroquín *et al.*, 2010). Los españoles los llamarían maguey, palabra adoptada de su paso por las Antillas. Los agaves viven entre cinco y sesenta años, según la especie, y pueden producir cientos de flores que ofrecen néctar a insectos, aves y murciélagos a cambio de polen de otros individuos de su especie (CONABIO, 2009). Los agaves mantienen relaciones biológicas y ecológicas complejas entre ellos y con otras especies de plantas y animales, proveyendo múltiples servicios ambientales, como el mantenimiento del suelo y de las poblaciones de polinizadores como los murciélagos (Colunga-GarcíaMarín *et al.*, 2007a).

La mayoría de los magueyes desarrollan sus flores en ramas; otros en inflorescencia formada por un eje principal alargado llamado espiga, escape o qurote. Las flores producen las semillas, las cuales son dispersadas por la lluvia y el viento. Las semillas heredan y mezclan los genes de la planta madre y de la que proviene el polen. La mayoría de los agaves tienen una forma alternativa de reproducirse, que es por medio de bulbillos e hijuelos. Los bulbillos se desarrollan a partir de una yema y los hijuelos son los retoños más vigorosos, que nacen en el cuello de la planta. Ambos son clones de la planta que los produjo (CONABIO, 2009).

Los agaves pertenecen a la familia *Agavaceae* endémica de América (Calderón & Rzedowski, 2001), la cual se distribuye desde el sur de Canadá, México, Centro América, siguiendo principalmente la cadena montañosa de los Andes hasta Bolivia, Paraguay y las Islas del Caribe (García-Mendoza & Galván 1995). La República Mexicana se considera centro de origen de la familia *Agavaceae* (García-Mendoza, 1992): siendo un total de 310 especies que la conforman, de las cuales el 88% de las especies se encuentran en México y un poco más del 50% son endémicas (Granados, 1993).

La familia está integrada por ocho géneros: *Agave*, *Beschermeria*, *Furcraea*, *Hesperaloe*, *Manfreda*, *Polianthes*, *Prochnyanthes* y *Yucca*, (Calderón & Rzedowski, 2001).

En Michoacán se han registrado ocho especies del género *Agave*; *A. angustiarum*, *A. angustifolia*, *A. attenuata*, *A. cupreata*, *A. hookeri*, *A. inaequidens*, *A. pedunculifera* y *A. schidigera* (Gentry, 1982).

En México los agaves han tenido y tienen una gran importancia económica y cultural para numerosos pueblos indígenas y mestizos, que los han aprovechado durante siglos como fuente de alimento, bebida, medicina, combustible, cobijo, ornato, fibras duras extraídas de las hojas (ixtle), abono, construcción de viviendas y elaboración de implementos agrícolas, entre otros usos. Los magueyes fueron una de las primeras plantas aprovechadas por los pobladores de Mesoamérica para alimentarse, de lo cual se hallan restos en cuevas en el valle de Oaxaca, el de Tehuacán y en Coahuila (García-Mendoza, 2007).

El género *Agave* ha formado parte de los asentamientos humanos en México, sobre todo en aquellas regiones de sequía extrema, donde existen evidencias de hace más de 5,000 años, que han servido de alimento, medicina y vestido (Gentry, 1982).

La extracción de bebidas alcohólicas, ha permitido el desarrollo de la Industria con la producción de Tequila en Jalisco, el Bacanora en Sonora, el Mezcal en Oaxaca y en otros estados de la República Mexicana (Gentry, 1982; García-Mendoza, 1992).

La utilización de los agaves se remonta a hace más de 10,000 años, cuando los pueblos recolectores-cazadores de Meso y Aridamérica empezaron a cocer los quiotes y cabezas de los agaves en hornos de piso para preparar el mexcalli, alimento nutritivo que al conservarse por varios días aliviaba la necesidad de buscar comida para el plazo inmediato, permitiéndoles a la vez disponer de mayor tiempo para realizar otras actividades (Illsley *et al.*, 2009). El uso de los magueyes en México es amplio, son utilizados como alimento humano y del ganado, como materia prima para producir bebidas fermentadas (pulque), destiladas (Mezcal, Tequila, Bacanora), como medicamento (insulina y esteroides), mieles, jarabes, levadura, condimento para la barbacoa, fructosa; material para la construcción, cepillos para lavar, escobas, canastas, recipientes, las hojas secas se utilizan como combustible doméstico, las fibras obtenidas de las hojas de algunas especies de agave (*A. fourcroydes*, *A. lechuguilla*, *A. sisalana*), son utilizadas para producir cuerdas, sacos, artesanías, tapetes, tejer objetos, para producir papel; cobertura viva para la retención del suelo y sustratos entre muchos otros usos (Nobel, 1988; Nobel, 1998; Ruvalcaba & Rodríguez, 2002; Pardo, 2005; Colunga-GarcíaMarín *et al.*, 2007b; Berumen-Barbosa, 2009; García-Herrera *et al.*, 2010).

### 3.2. *Agave cupreata*

*Agave cupreata* Trel & Berger, es una planta endémica de la depresión del Río Balsas, la cual es utilizada en la elaboración de Mezcal de forma artesanal y rústica. Para la elaboración del mezcal se cortan las piñas antes de la floración, el Mezcal se obtiene del cocimiento del tallo (piña) del agave, la fermentación y la destilación. El nombre de *A. cupreata* responde al color cobre de sus espinas (Gentry, 1982).

Se considera una planta, semélpara, es decir, que solo produce una inflorescencia en su vida (Eguiarte *et al.*, 2000), caulescente, solitaria y dispersa que crece en forma de roseta la cual puede medir 1 m de alto por 80 cm de ancho, sus medidas pueden variar de acuerdo al sitio donde crezca. Su tallo es grande y carnoso. Las hojas son anchas, ampliamente lanceoladas u ovadas con una longitud de 40 a 80 cm y un ancho de 18 a 20 cm y estrechas, planas o ligeramente cóncavas en la base, de color verde brillante, carnosas, el margen ampliamente crenado, mamilado, con poca fibra, las espinas son agudas, dimórficas, fuertemente aplanadas, de color cobrizo a gris, de 10 a 15 cm de largo y separada de 3 a 6 cm; panícula de 4 a 7 m de altura, ancha, sus flores son de color amarillo, protándricas, dicogámicas, con 380 óvulos en promedio, cada escapo presenta de 13 a 17 umbelas. Cada umbela tiene aproximadamente 120 flores, de las cuales solo 30 de ellas se transforman en fruto (García, 2004). Los frutos son capsulares alargados con tres cavidades donde se localizan las semillas (Gentry, 1982). Cada fruto produce alrededor de 380 semillas y de estas, solo el 30% son viables, es decir 114 semillas aproximadamente. En total, un individuo de *A. cupreata* produce 60,480 semillas viables que se liberan cuando los frutos se abren poco a poco por las líneas de dehiscencia cuando son desecados por el sol. No obstante, solo el 10% tienen la oportunidad de germinar y llegar a la madurez (García, 2004). Las semillas tienen forma discoidal, de testa negra y delgada, y son dispersadas por el viento. Sus polinizadores son abejas, mariposas nocturnas, avispas, colibríes y murciélagos (Gentry, 1982).

Florece entre los meses de Enero a Marzo (Eguiarte *et al.*, 2003), aunque Aguirre (2004), reporta floración en el mes de Octubre. Tarda entre 7 y 15 años en llegar a la madurez sexual (Illsley *et al.*, 2007). Después de la floración la planta muere.



Figura 1. Plantación de *A. cupreata* en el rancho Mesa de las Azucenas, en el municipio de Madero Michoacán. Fuente: Mezcalistas, 2014.

### 3.2.1. Clasificación taxonómica de *Agave cupreata*

Posición taxonómica de *A. cupreata* Trel. & Berger (Gentry, 1982).

- División: Magnoliophyta
- Clase: Liliopsida (Monocotiledóneas)
- Subclase: Liliales
- Familia: Asparagaceae
- Subfamilia: Agavoideae
- Grupo: Crenatae
- Género: *Agave*
- Subgénero: *Agave*
- Especie: *Agave cupreata* Trel. & Berger

Nombre común: Maguey Chino en Michoacán y Maguey Papalote en Guerrero.

### 3.2.2. Distribución del *Agave cupreata*

*A. cupreata* Trel & Berger, es una planta endémica del suroccidente de México, en los estados de Michoacán y Guerrero. La especie se distribuye en las laderas de la depresión del Río Balsas entre 1200 y 1900 m, en la transición entre el bosque tropical seco a los encinares y en bosques de pino-encino, donde forma poblaciones aisladas (Gentry, 1982; Martin *et al.*, 2011). Con las georeferencias de algunas poblaciones silvestres y el Modelo Maxent 3.3.3k (Phillips *et al.*, 2006), se mapeó las distribuciones potenciales de la especie (Figura 2) (Martínez-Castro *et al.*, 2015).

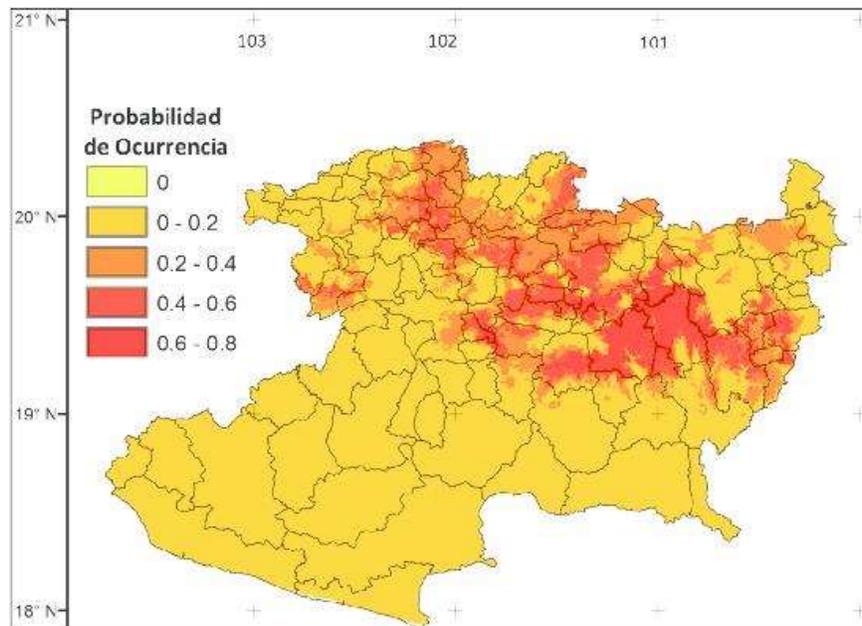


Figura 2. Distribución potencial de *A. cupreata* en los municipios de Michoacán. Los lugares de distribución natural están integrados en el sitio de la distribución potencial que se registra en color rojo más intenso con una mayor probabilidad de ocurrencia (0.6-0.8).

Fuente: Martínez-Castro *et al.*, 2015.

### 3.2.3. Aspectos fisiológicos de *Agave cupreata*

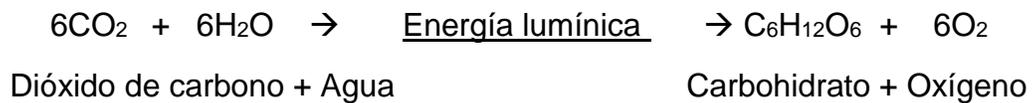
En general, los agaves son plantas perennes, suculentas, fibrosas, que presentan metabolismo ácido de crasuláceas (CAM) (Gentry, 1982; Granados, 1999).

De acuerdo con Barceló *et al.*, (1995), la fisiología vegetal estudia el funcionamiento de las plantas y los procesos que tienen lugar en el desarrollo y comportamiento de las plantas; estudia los mecanismos internos mediante los cuales realizan sus múltiples y complejos procesos de síntesis química y la forma en que se integran estos mecanismos; también se ocupa de los factores climáticos del medio y su interacción con las plantas. Por tal motivo es indispensable conocer algunos mecanismos para poder entender el comportamiento de *A. cupreata*.

### 3.3. Fotosíntesis

La fotosíntesis es un proceso por el cual la planta convierte dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) en azúcares. La energía necesaria para completar este proceso proviene de la luz, la cual es absorbida por los pigmentos (clorofilas primarias y carotenoides). Los electrones para este proceso provienen del agua, cuya molécula es descompuesta en oxígeno y protones mediante la fotólisis, produciendo un poder reductor en la forma de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) (Lopes *et al.*, 2013).

El balance de todas las reacciones que ocurren en la fotosíntesis podrían ser descritas de la siguiente manera:



En las plantas pueden distinguirse tres modelos fotosintéticos (C3, C4 y CAM) de acuerdo con las características fisiológicas, morfológicas y bioquímicas específicas de cada grupo (Taiz & Zeiger, 2002).

La fotosíntesis C3 (ciclo C3 o de Calvin-Benson) se realiza en los cloroplastos de todas las plantas con el uso de la enzima ribulosa 1, 5- difosfato carboxilasa (rubisco) como catalizador de la reacción del  $\text{CO}_2$  con la ribulosa 1, 5-difosfato, y se llama así porque se producen dos moléculas de tres carbonos. La fotosíntesis C4 se presenta en plantas con una anatomía foliar llamada 'Kranz', caracterizada por tener células del mesófilo que rodean a las células que envuelven al haz vascular, en un arreglo en forma de corona. En el citoplasma de las células del mesófilo el  $\text{CO}_2$  es ligado al aceptor fosfoenol piruvato (PEP, siglas en inglés) con el uso de la enzima fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPC) y se producen compuestos de cuatro carbonos, los cuales son transportados a los cloroplastos de las células que envuelven el haz vascular, donde se realiza el ciclo C3 (Taiz & Zeiger, 2002; Larcher, 2003). A diferencia de la fotosíntesis C3 y C4, en la fotosíntesis CAM las plantas fijan el  $\text{CO}_2$  principalmente por la noche con el uso de la enzima PEPC, pero el producto de la reacción de cuatro carbonos se almacena en vacuolas; luego, durante el periodo de luz consecutivo se asimila el  $\text{CO}_2$  en los cloroplastos por el ciclo C4 (Taiz & Zeiger, 2002; Larcher, 2003).

El metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM, siglas del nombre en inglés) es un ejemplo de adaptación al estrés ambiental y se presenta en plantas de sitios con periodos de escasa disponibilidad de agua o de  $\text{CO}_2$  (Andrade *et al.*, 2007). Aproximadamente 7% de las plantas vasculares presentan la fotosíntesis CAM (que incluye plantas del desierto, entre ellas los agaves; plantas acuáticas y epífitas), un

porcentaje mucho mayor que el de las plantas con la fotosíntesis C4 (aprox. 1%) (Nobel, 1991; Winter & Smith, 1996).

La fotosíntesis CAM consiste en los siguientes pasos metabólicos (Winter & Smith, 1996):

- **Por la noche:** (1) Formación del aceptor primario del CO<sub>2</sub>, fosfoenol-piruvato (PEP) a partir de carbohidratos no estructurales en las células fotosintéticas; (2) fijación del CO<sub>2</sub> por la enzima PEP carboxilasa (PEPC) en el citosol y síntesis del ácido málico; (3) almacenaje del ácido málico (como ion malato) en la vacuola central de las células fotosintéticas.
- **Durante el día:** (1) Liberación del malato de la vacuola hacia el citosol; (2) descarboxilación del malato en el citosol, liberación de CO<sub>2</sub> y formación de compuestos de tres carbonos (piruvato o PEP); (3) asimilación del CO<sub>2</sub> liberado en los cloroplastos por la enzima rubisco, seguida por el ciclo de Calvin-Benson y la regeneración de carbohidratos de almacén o gluconeogénesis.

La fotosíntesis C4 y la CAM son los mecanismos que han surgido en la evolución de las plantas para disminuir la pérdida de energía asociada a la fotorespiración (Griffiths, 1989; Leegood, 2002; Lüttge, 2002; Keeley & Rundel, 2003; Giordano *et al.*, 2005). Ambos tipos de fotosíntesis utilizan la PEPC para fijar el CO<sub>2</sub>, pero además esta enzima se encuentra en todas las células vegetales realizando funciones relacionadas con la síntesis de aminoácidos y regulación del pH (Hausler *et al.*, 2002; Nimmo, 2003). En particular, las células estomáticas tienen una alta concentración de PEPC y vacuolas de gran tamaño (otra de las características comunes en plantas CAM), por lo que se ha planteado que la evolución del CAM surge cuando los caracteres expresados en los estomas se presentan en las células del mesófilo (Cockburn, 1981, 1985). De esta manera, el desarrollo de la fotosíntesis CAM no involucra la creación de nuevos genes, sino modificaciones en la regulación de los genes existentes (Griffiths *et al.*, 2002; Nimmo, 2003).

Los estudios sobre las respuestas fisiológicas de las plantas CAM al ambiente han sido realizados principalmente en miembros adultos de tres familias: *Agavaceae*, *Bromeliaceae* y *Cactaceae* (Nobel, 1988; Benzing, 1990; Winter & Smith, 1996; Zotz & Hietz, 2001; Andrade *et al.*, 2004; Lüttge, 2004; Andrade *et al.*, 2007) y la mayoría son estudios a corto plazo con plantas de zonas áridas. Es necesario poner mayor atención en la fisiología ambiental de muchas otras especies CAM desde la germinación, hasta la vía fotosintética de las plántulas y la supervivencia de los individuos en diferentes microambientes (Schmidt *et al.*, 2001; Zotz & Hietz, 2001; Andrade *et al.*, 2004; Ayala-Cordero *et al.*, 2006; Cervera *et al.*, 2006; Méndez *et al.*, 2006; Hernández-González & Briones-Villareal, 2007).

Al considerar que las plantas CAM frecuentemente se encuentran en zonas áridas y semiáridas, o como las epífitas, en microambientes limitados por una baja disponibilidad de agua o temperaturas extremas, se podría pensar que su productividad es sustancialmente baja. Sin embargo, debido a que estas plantas fijan CO<sub>2</sub> durante la noche y algunas especies también lo hacen durante el día, cuando las condiciones ambientales son buenas, su productividad neta por día o por cosecha puede ser comparable a las de especies agrícolas C3 y C4 (Nobel, 2005).

Para que la energía luminosa pueda ser utilizada por los seres vivos, debe ser absorbida por los pigmentos fotosintéticos. Estos pigmentos son sustancias capaces de absorber la luz, en determinadas longitudes de onda, por ejemplo, la clorofila es el pigmento que le da el característico color verde a las plantas, absorbe la luz en longitudes de onda correspondientes al violeta, al azul y al rojo, reflejando la luz verde (Azcon & Talon, 1993).

Como ya se mencionó la clorofila *a* es el pigmento relacionado de forma directa con la conversión de energía luminosa en energía química. Sin embargo, también se encuentra otro tipo de clorofila, la clorofila *b* y los pigmentos denominados carotenoides, los cuales son rojos, anaranjados o amarillos, que en las hojas verdes se enmascaran por la abundancia de clorofilas. Estos pigmentos accesorios a la clorofila, le permiten a las plantas absorber una gama más amplia del espectro de luz disponible para realizar fotosíntesis, actuando como receptores que transfieren energía. Existe igualmente la clorofila *c*, que se halla en algas pardas. En algas rojas se ha encontrado clorofila *d*. Finalmente hay un tipo de clorofila (bacterioclorofila) que es el pigmento de las bacterias fototróficas (Cogua, 2011).

#### **3.4. Radiometría espectral como método de medición de la clorofila**

La radiometría espectral es el estudio de la radiación electromagnética y su interacción con la materia, como una función de la longitud de onda. El espectro electromagnético comprende un infinito rango de posibles frecuencias de radiación electromagnética. Por lo tanto, el espectro electromagnético de un objeto, tal como una hoja del dosel de un cultivo, es la distribución característica de la radiación electromagnética emitida, o absorbida, por ese objeto en particular (Mullan, 2013).

La radiometría espectral del dosel de un cultivo es obtenida de las mediciones de la radiación reflejada. La habilidad para detectar la radiación reflejada se deriva del hecho de cuando una sola onda de luz colisiona con un material, esta es restringida a tres procesos físicos. Puede ser reflejada desde la superficie, absorbida por el objeto, o transmitida a través del objeto (Mullan, 2013).

La reflectancia espectral de las hojas a diferentes longitudes de onda produce una firma espectral única que es influenciada por las propiedades ópticas de la planta. Los pigmentos en las hojas absorben fuertemente la luz en la región de la radiación fotosintéticamente activa (PAR, acrónimo del inglés *Photosynthetic Active Radiation*) del espectro electromagnético, pero no en la región del infrarrojo cercano o NIR (acrónimo del inglés *Near Infrared Radiation*) (750nm – 2500nm) (Knipling, 1970). Esto da como resultado una reflexión de radiación menor en el PAR comparado con la región NIR del espectro. Por ejemplo, las clorofilas *a* y *b* (Chl*a* y Chl*b*), que están presentes en las hojas verdes, absorben fuertemente la luz en la región roja (RED) del espectro ( $\approx 690\text{nm}$ ), mientras las paredes celulares fuertemente dispersan (reflejan y transmiten) esta luz en la región NIR ( $\approx 850\text{nm}$ ) del espectro (Figura 3) (Mullan, 2013).

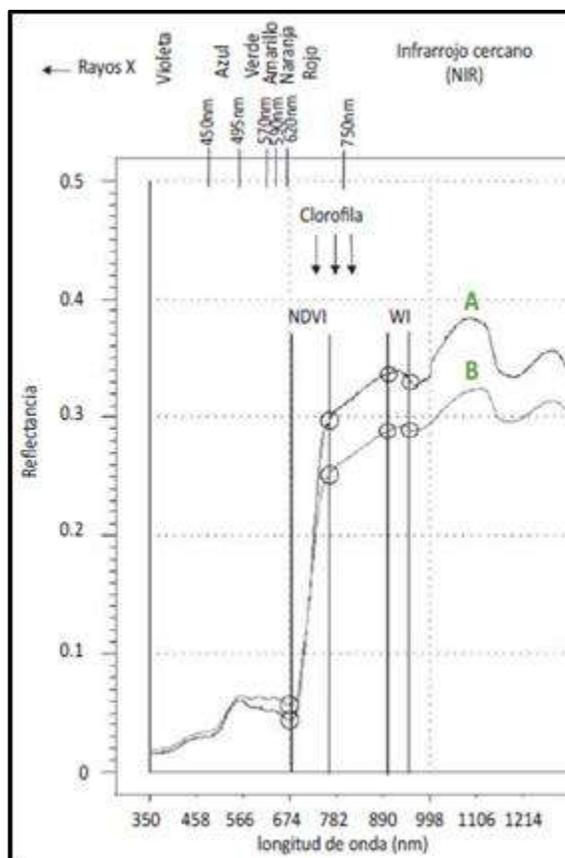


Figura 3. Ejemplo de espectro de reflectancia de un espectro-radiómetro, con regiones espectrales claves e índices marcados. El espectro ha sido obtenido de dos doses de trigo con (A) alta biomasa, y (B) baja biomasa. Fuente: Reynolds *et al.*, 2013.

Esto genera un contraste de absorción entre estas dos regiones espectrales, que pueden ser representadas por varios índices. Los espectros que son reflejados por el dosel de las plantas proveen información que puede ser usada para

determinar un rango de parámetros, que pueden incluir una estimación de la biomasa verde, tamaño fotosintético del dosel, la cantidad de PAR absorbida por el dosel y su potencial fotosintético (Wiegand & Richardson, 1990; Baret & Guyot, 1991; Price & Bausch, 1995; Araus *et al.*, 2001; Reynolds *et al.*, 2001).

El estado fisiológico del dosel puede ser medido también mediante la reflectancia espectral. Las medidas de reflectancia pueden ser utilizadas para evaluar los efectos de la deficiencia de nutrientes y estreses medioambientales mediante estimaciones de la concentración de clorofila y carotenoides, la eficiencia del uso de la radiación fotosintética (RUE) y el contenido de agua (Peñuelas *et al.*, 1993; Peñuelas *et al.*, 1995a; Peñuelas *et al.*, 1995b; Araus *et al.*, 2001; Reynolds *et al.*, 2001; Babar *et al.*, 2006; Prasad *et al.*, 2007).

### **3.4.1. Índices de reflectancia**

Los índices de reflectancia espectral son indicadores numéricos que usan longitudes de onda específicas o bandas del espectro electromagnético, para relacionar cuantitativamente los cambios en la reflectancia espectral con los cambios en las variables fisiológicas. Los índices tienen la ventaja de resumir una gran cantidad de información en unos cuantos valores numéricos, los cuales pueden ser evaluados simultáneamente en cada muestra. Estas cualidades hacen ideal el uso de los índices de reflectancia espectral para evaluar grandes conjuntos de germoplasma de acuerdo a sus respuestas fisiológicas al estrés.

Para mejorar la interpretación, el espectro electromagnético muestreado por un espectrómetro de campo puede ser separado en tres regiones:

- I. Región de la luz visible (VIS) – que abarca la región de 350 nm hasta 750 nm del espectro que contiene Chla y Chlb, carotenos y pigmentos xantófilos.
- II. Infrarrojo Cercano (NIR) – que abarca el espectro de la longitud de onda entre 750 nm y 1350 nm y es afectado por la estructura interna de la hoja.
- III. Infrarrojo de onda corta – que abarca la región de 1350 nm hasta 2500 nm del espectro que es influenciada en pequeño grado por la estructura de la hoja, pero es altamente afectada por la concentración de agua en el tejido de la hoja, con bandas de fuerte absorción entre 1450 nm y 1950 nm.

La aplicación de los índices de reflectancia espectral es un medio práctico para adoptar la selección de los rasgos fisiológicos dentro del fitomejoramiento de cultivos y de programas de investigación. Estas tecnologías son capaces de identificar los mejores genotipos en materiales de generación temprana, antes de

que se lleven a cabo costosos ensayos de rendimiento (Reynolds *et al.*, 1999), y mejorar la selección de líneas ya superiormente avanzadas.

El prospecto del futuro fitomejoramiento genético, a través de la utilización de la radiometría espectral para identificar y rastrear rasgos fisiológicos, provee de nuevas oportunidades y de diversidad genética a los programas de fitomejoramiento para el incremento del potencial de rendimiento y para mejorar la respuesta de los cultivos al estrés (Knipling, 1970; Shorter *et al.*, 1991).

Los índices de vegetación son usados para estimar el tamaño fotosintético de un dosel, y están basados en la reflectancia espectral en las regiones RED y NIR del espectro electromagnético. La vegetación saludable absorbe la mayor parte de la luz visible que incide sobre ella, mientras que refleja la mayoría de la luz NIR. A la inversa, la vegetación no saludable o escasa, absorbe sólo una pequeña parte de la luz visible y gran parte de la luz NIR (Araus *et al.*, 2001). Por lo tanto, mientras mayor sea la diferencia entre la reflectancia NIR y RED, mayor es la vegetación presente en la muestra. Estas respuestas espectrales características pueden ser usadas para determinar el comportamiento de las plantas mediante el desarrollo de índices que sean sensibles a longitudes de onda específicas. Los índices de vegetación pueden ser usados para estimar índices de área foliar (LAI, acrónimo del inglés *Leaf Area Index*), biomasa verde y muchos más (Wiegand & Richardson, 1990; Baret & Guyot, 1991; Price & Bausch, 1995; Araus *et al.*, 2001).

Entre los índices de vegetación más comúnmente usados están el radio simple (SR) (Jordan, 1969) y el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI, acrónimo del inglés *Normalized Difference Vegetation Index*) (Rouse *et al.*, 1973; Araus *et al.*, 2002). El SR es un índice simple que divide la reflectancia NIR entre la reflectancia RED, mientras que el NDVI es un índice normalizado que cuenta por cambios en la radiación incidente. Un índice normalizado facilita las comparaciones entre mediciones tomadas bajo diferentes condiciones de luz, donde las mediciones hechas bajo radiación incidente alta (e.g. a pleno sol) podrían tener mayores valores (mayor diferencia absoluta entre la reflectancia de RED y NIR) que aquellos tomados bajo poca radiación incidente (e.g. cielo nublado).

Los índices de reflectancia espectral fueron desarrollados para medir la concentración de los pigmentos en hojas, como la clorofila y los carotenoides. Hay muchas longitudes de onda de reflectancia que son sensibles al contenido de clorofila. La reflectancia espectral a 675 nm es muy sensible a los cambios en el contenido de clorofila, pero esto limita su uso a sólo unas muestras con concentraciones muy bajas de clorofila ( $<10 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) (Araus *et al.*, 2001).

La estimación del contenido de clorofila a partir de la reflectancia del dosel provee una medición integrada a través de todas las hojas del dosel, con los beneficios añadidos de medición de parámetros adicionales, tales como el contenido de otros pigmentos, el estado hídrico y el tamaño del dosel (Mullan, 2013).

La posición del 'borde rojo' puede ser usada para estimar el contenido de clorofila del dosel y de la hoja en un rango de concentración más grande y más amplio que 675 nm y 550 nm. La posición del borde rojo (REP, acrónimo del inglés *Red Edge Position*) se refiere a la longitud de onda específica donde el cambio en la reflectancia llega a su máximo con el aumento de la longitud de onda desde RED hacia NIR, y se encuentra en la región de 680 – 780 nm del espectro. Con el incremento del contenido de clorofila, la REP cambia a longitudes de onda más largas y puede usarse para derivar índices tales como la longitud de onda del borde rojo ( $\lambda_{re}$ ), la máxima amplitud en la primera derivada del espectro de reflectancia ( $dR_{re}$ ), y la suma de las amplitudes entre 680 nm y 780 nm en la primera derivada del espectro ( $\Sigma dR_{680-780}$ ) (Araus *et al.*, 2001).

### **3.5. Genética cuantitativa**

La genética cuantitativa es la rama de la genética que estudia los caracteres controlados por muchos genes (poligénicos), e influenciados por el ambiente, por lo cual, muestran una variación continua (distribución normal). Estos caracteres cuantitativos pueden ser medidos en los individuos, y generalmente son de interés económico en la producción (Pierce, 2009).

Es posible afirmar, que la genética cuantitativa es un grupo de técnicas usadas para estudiar la variación en caracteres morfológicos, fisiológicos o conductuales que sigan un patrón de distribución continua (Silva, 2001). Es importante reconocer que los métodos de la genética cuantitativa no han sido concebidos para identificar genes o genotipos individuales, sino que se concentran en predicciones estadísticas basadas en grupos de individuos (Pierce, 2009).

Para los caracteres que se distribuyen de manera continua, la intensidad del parecido (semejanza) entre los padres y sus descendientes se conoce dentro de la terminología genetista como la varianza genética aditiva (Falconer & Mackay, 1989). Es aditiva porque es el resultado de la adición de varios genes que codifican para determinar la variación individual fenotípica de algún carácter en particular (Silva, 2001).

#### **3.5.1. Caracteres cuantitativos**

Muchos caracteres varían de manera continua a lo largo de una escala de medición con muchos fenotipos superpuestos. A estos caracteres continuos, también se denominan caracteres cuantitativos, porque el fenotipo de un individuo debe describirse utilizando una medida cuantitativa. Por ejemplo peso, tamaño, rendimiento, contenido de azúcares, etc.

Los caracteres cuantitativos surgen a partir de fenómenos. En primer lugar, muchos de ellos son poligénicos (están influidos por genes en muchos loci). Si participan muchos loci, existen muchos genotipos posibles, cada uno capaz de producir un fenotipo ligeramente diferente. En segundo lugar, los caracteres cuantitativos aparecen con frecuencia cuando los factores ambientales afectan el fenotipo, porque las variaciones ambientales, determinan que un único genotipo genere un rango de fenotipos. Los caracteres que varían en forma más continua son tanto poligénicos, como influidos por factores ambientales (Pierce, 2009).

### **3.5.2. Interacción genotipo - ambiente**

La interacción genotipo por ambiente (I G\*A), es frecuentemente descrita como la inconsistencia del comportamiento entre genotipos desde un ambiente a otro, es decir, es la respuesta diferencial de los genotipos a diversos ambientes, demostrándose que una gran interacción genotipo por ambiente reduce el progreso genético durante la selección (Magari & Kang 1993; Lozano-del-Río *et al.*, 2009; Salazar, 2014).

### **3.5.3. Heredabilidad**

La heredabilidad es la proporción de la varianza fenotípica que es originada por varianza genética aditiva. En otras palabras, es la cantidad de variación fenotípica que puede atribuirse a la variación genética y no a la variación ambiental (Falconer & Mackay, 1989). Por ser una proporción, toma valores de 0 a 1. La heredabilidad es una propiedad de las poblaciones y no de los individuos, y se estima como un parámetro estadístico.

Si la mayoría de la variación del carácter es de origen genético, entonces los descendientes de los padres serán muy parecidos entre sí y la heredabilidad será algo muy cercano a uno (cerca del 100% de la variación tiene una base genética). Por el contrario, si la mayoría de la variación de un carácter es ambiental, entonces los descendientes no serán muy parecidos entre sí y la heredabilidad será algún valor cercano a cero (Silva, 2001).

Existen dos formas de ver la heredabilidad: en un sentido amplio y en un sentido estricto (Falconer & Mackay, 1989). La heredabilidad en el sentido amplio es la proporción de la varianza genética sobre la varianza fenotípica total. La heredabilidad en el sentido estricto es la proporción de los factores genéticos aditivos sobre la varianza total.

Un concepto muy importante es que la unidad de selección no necesariamente tiene que ser el árbol individual. Frecuentemente se selecciona

entre familias enteras; en este caso la unidad de selección es la familia, y el criterio de selección es el promedio de la familia (Cornelius, 1996).

En la selección familiar, la varianza genotípica aditiva que se emplea como numerador de la heredabilidad no es la varianza genotípica aditiva total de la población, sino la varianza genotípica aditiva que existe entre los promedios de las familias, es decir,  $0.25 \sigma^2_A$ . De acuerdo con Falconer & Mackay (1989), la polinización libre genera familias de medios hermanos por árbol, por lo que el componente de varianza de familias ( $\sigma^2_f$ ), representa  $\frac{1}{4}$  de la varianza genética aditiva ( $\sigma^2_A$ ). Esta aseveración supone que los padres no están emparentados y que la endogamia es cero. Esto por lo general no se cumple en especies forestales, ya que la correlación interclase de hermanos obtenidos por polinización libre generalmente es mayor a  $\frac{1}{4}$  (Squillace, 1974), lo que generaría una sobreestimación de la varianza aditiva ( $\sigma^2_A$ ), y por lo tanto de la heredabilidad y de las ganancias genéticas esperadas (Namkoong, 1966). Por lo anterior, en ciertos casos, se emplea un coeficiente de determinación genética de 3 para el cálculo de la varianza genética aditiva, suponiendo que la correlación genética entre hermanos obtenidos por polinización libre es de 0.33 (Farfán *et al.*, 2002). Con los componentes de varianza obtenidos mediante análisis estadísticos, se estiman las heredabilidades en sentido estricto, tanto a nivel individual ( $h^2_i$ ), como de las medias de familia ( $h^2_f$ ), con las siguientes ecuaciones:

$$h^2_i = 3\sigma^2_f / (\sigma^2_f + \sigma^2_{b*f} + \sigma^2_e),$$

$$h^2_f = \sigma^2_f / [\sigma^2_f + (\sigma^2_{b*f} / b) + (\sigma^2_e / b*n)]$$

Donde:

- $h^2_i$  = Heredabilidad individual en sentido estricto
- $h^2_f$  = Heredabilidad de familia en sentido estricto
- $\sigma^2_f$  = Varianza de familia
- $\sigma^2_{b*f}$  = Varianza de la interacción bloque por familia
- $\sigma^2_e$  = Varianza del error
- b = Número de bloques
- n = Número de individuos por familia en cada bloque.

De la misma manera, la varianza fenotípica en el denominador, es la varianza entre los promedios de las familias. Se da entonces, que para el mismo ensayo de descendencias de medios hermanos, es posible calcular dos heredabilidades para la misma característica: heredabilidad individual y heredabilidad de familia. Las heredabilidades familiares son más altas para una característica dada que la heredabilidad individual para la misma característica en la misma población (a menos que  $h^2 = 1$ ). Sin embargo, siempre hay menos variación entre los promedios

de familias que entre los de árboles individuales, y por lo tanto, es más difícil lograr un diferencial de selección alto entre promedios. A veces se refiere a la selección entre familias como selección genotípica, por que el promedio de una familia estima su valor genotípico (Cornelius, 1996).

### **3.6. Mejoramiento genético forestal**

El mejoramiento genético forestal, se define como la identificación y desarrollo de poblaciones genéticamente superiores de especies forestales, y el uso de estas poblaciones como fuentes de semilla (u otro materia propagativo) para establecer plantaciones mejoradas. El término “poblaciones genéticamente superiores” se refiere a poblaciones con características genéticas tales que, la semilla o el material vegetativo procedente de ellas, produzca individuos mejores en cuanto a una o más características relacionadas con la calidad del producto final (Cornelius, 1994).

El principal objetivo del mejoramiento genético forestal es aumentar la productividad y mejorar la calidad de los árboles o especies que integran los sistemas agroforestales.

#### **3.6.1. Productos forestales no maderables**

Los Recursos Forestales No Maderables (RFNM) son las especies vegetales de las zonas forestales susceptibles de aprovechamiento, en función de su posible utilidad (Martínez *et al.*, 2016). Los Productos Forestales No Maderables (PFNM), se refieren a cualquier parte de dichas especies que está siendo aprovechada, a través de su extracción o por el servicio ambiental que presta (Wong *et al.*, 2001).

Los estudios sobre los PFNM son escasos. La Comisión Nacional Forestal (CONAFOR, 2010) realizó un catálogo de las especies no maderables de mayor importancia en México, entre estas, se encuentran especies del género *Agave*.

Los PFNM de climas áridos y semiáridos más importantes son: la lechuguilla, candelilla, orégano, sotol, yuca, agave, jojoba, gobernadora y cortadillo (Zamora *et al.*, 2001).

#### **3.6.2. Clases y fuentes de variación**

La apariencia de un árbol (el fenotipo) es el resultado de la acción conjunta de su constitución genética (genotipo) y del ambiente en el que se ha desarrollado (White *et al.*, 2007). Resulta entonces que las diferencias que observamos entre los árboles de una especie (variación fenotípica) tienen dos orígenes: la variación causada por las diferencias ambientales (variación ambiental) y la variación causada por diferencias genéticas (variación genética) (Cornelius, 1994).

La variación fenotípica es determinada por la varianza genética aditiva y por la varianza genética no aditiva. Esta última corresponde a la varianza fenotípica individual causada por el ambiente, donde nada tienen que ver los efectos aditivos de los genes. Esta varianza ambiental comprende toda la variación de origen no genético, que puede tener una gran variedad de causas y su naturaleza depende del carácter y del organismo en estudio (Falconer & Mackay, 1989). En general, la varianza ambiental es una fuente de error que reduce la precisión de los estudios genéticos (Arilla, 1998).

La base a partir de la cual se desarrollan los programas de mejoramiento genético, es la gran variación natural existente en los rasgos económicamente importantes de la mayoría de las especies forestales (Flores *et al.*, 2017). Esta variación es producto de las diferencias ambientales, las diferencias genéticas y las interacciones entre el ambiente y los genotipos (Moreno *et al.*, 1986; Zobel & Talbert, 1988).

### **3.6.3. Ensayos de progenies**

Las progenies corresponden al grupo de individuos descendientes de un progenitor; también pueden ser llamadas familias o descendencia (Cornelius, 1994).

El principal objetivo práctico de los ensayos de progenie es localizar, del modo más rápido y económico posible, las progenies que permitan formar bosques mejor adaptados y más productivos. Los ensayos de progenie consisten básicamente en producir plantas en vivero y establecerlas en campo, para comparar el crecimiento de las progenies de árboles seleccionados bajo un diseño experimental determinado (Flores *et al.*, 2017).

La aplicación de técnicas estadísticas como el análisis de varianza, permite separar la variación dada por las diferencias genéticas, las ambientales y las que resultan de la interacción entre ambas. Por lo tanto, es posible calificar objetivamente a los progenitores y/o a la progenie misma (Flores *et al.*, 2017).

Antes de iniciar programas de reforestación y un programa de mejoramiento genético forestal en sí, es importante desarrollar pruebas de progenies/procedencias, ya que las diferentes progenies/procedencias no necesariamente se comportan igual en ambientes diferentes, fenómeno común denominado interacción genotipo-ambiente, sobre todo en especies de distribución natural muy amplia (Mesen, 1994a).

Los objetivos principales de las pruebas de progenies implican las siguientes actividades (Flores *et al.*, 2017):

- 1) Identificar las progenies más sobresalientes en términos de volumen, forma y calidad del material producido, y capacidad para producción sostenida (adaptación fisiológica al sitio).
- 2) Determinar si existen interacciones genotipo-ambiente.
- 3) Si las interacciones son importantes, identificar las mejores progenies para cada sitio.
- 4) Identificar las progenies con mayor potencial para mejoramiento más avanzado y producir material de selección para construir la población de mejoramiento.
- 5) Conocer los patrones de variación genética entre poblaciones de la especie.

A nivel procedencia se seleccionan árboles de manera fenotípica, en este sentido, implica probar la descendencia, si esta es superior demuestra que su apariencia superior en el rodal era intrínseca (genética) y no debido a factores externos, estas pruebas se llaman pruebas de progenies, de descendencia o de familias, las cuales se establecen bajo un diseño experimental adecuado que garantice que las diferencias observadas entre las descendencias sean mayormente genéticas (Flores *et al.*, 2017). El diseño de bloques completos al azar, es el más utilizado en pruebas de progenies y procedencias (Burley & Wood, 1979). Una vez que se determina cuáles son los padres genéticamente superiores, se convierten en arboles elite y son los que finalmente se utilizan para la producción de semilla mejorada en los huertos clonales (Mesen, 1994b).

Por lo tanto los objetivos de las pruebas de pro genie implican (Sáenz & Plancarte, 1991):

- 1) Promover información para evaluar a los progenitores y realizar aclareos genéticos de los huertos semilleros.
- 2) Estimar parámetros genéticos.
- 3) Producir una población para la selección de generación avanzada. Esto implica la conversión de una prueba de pro genie en huerto semillero sexual o de plántulas una vez concluido el periodo de evaluación (Mesen, 1994b).
- 4) Estimar directamente la ganancia genética obtenida.
- 5) Producir semilla.

#### **3.6.4. Respuesta a la selección y ganancia genética**

El cambio producido por la selección que más nos interesa es el cambio de la media de la población. Esta es la respuesta a la selección, que es simbolizada por  $R$ ; es la diferencia entre el valor fenotípico medio entre la descendencia de los padres seleccionados y la totalidad de la generación parental antes de la selección (Falconer & Mackay, 1989); es decir, mide el grado de mejora que se ha logrado en un carácter a lo largo del ciclo de selección.

La medida de la selección aplicada es la superioridad media de los padres seleccionados, que se denomina diferencial de selección, y es simbolizada por  $S$  (Falconer & Mackay, 1989).

La respuesta a la selección es medida a través de la ganancia genética, que a su vez, es una función de la intensidad de selección ( $i$ ), de la desviación estándar ( $\sigma$ ) y de la heredabilidad del carácter ( $h^2$ ).

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS.

### 4.1. Establecimiento del experimento

El experimento se estableció de manera simultánea en dos sitios con diferentes características (elevación sobre el nivel del mar, temperatura, luminosidad), para determinar el efecto del ambiente sobre las diferentes progenies del experimento.

1. El primer sitio se ubica en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, en el municipio de Tarímbaro Michoacán, con coordenadas geográficas: 19.7681622, - 101.1513041. Elevación 1860 m.
2. El segundo sitio se ubica en un predio de la localidad de Arroyo Colorado, en el municipio de Morelia, Michoacán; con coordenadas geográficas: 19.5947343, - 101.2557329. Elevación 2080 m.

Ambos sitios, cuentan con invernaderos tipo túnel con las mismas características: cubiertos con malla antiáfidos color blanca, que proporciona un 20% de sombra, y permite conservar una temperatura uniforme dentro del invernadero, y a su vez, una buena ventilación. El suelo está recubierto con malla anti hierba “ground cover”.

Las medidas en la parte central son de 12 m de largo, por 8 m de ancho. Dentro de cada invernadero se construyeron cinco camas de cultivo, de 10 m de largo, por 1 m de ancho, dejando una distancia de 75 cm de separación entre cada cama.

Para la construcción de las camas se utilizaron tablas de madera, de 2.5 m de largo, por 25 cm de ancho y 2.5 cm de espesor.

El llenado de las camas se muestra en la figura 4, y se realizó de la siguiente manera:

1. Tepetate (una capa de aprox. 3 cm de espesor para un buen drenaje).
2. Tierra roja o “*polvilla*”, procedente de Tiripetío, Mich.
3. Fertilizante orgánico “OrganoDel” hecho a base de humus de lombriz y materia orgánica, se aplicaron 15 kg por cama.
4. Aserrín, un volumen de media carretilla por cama.

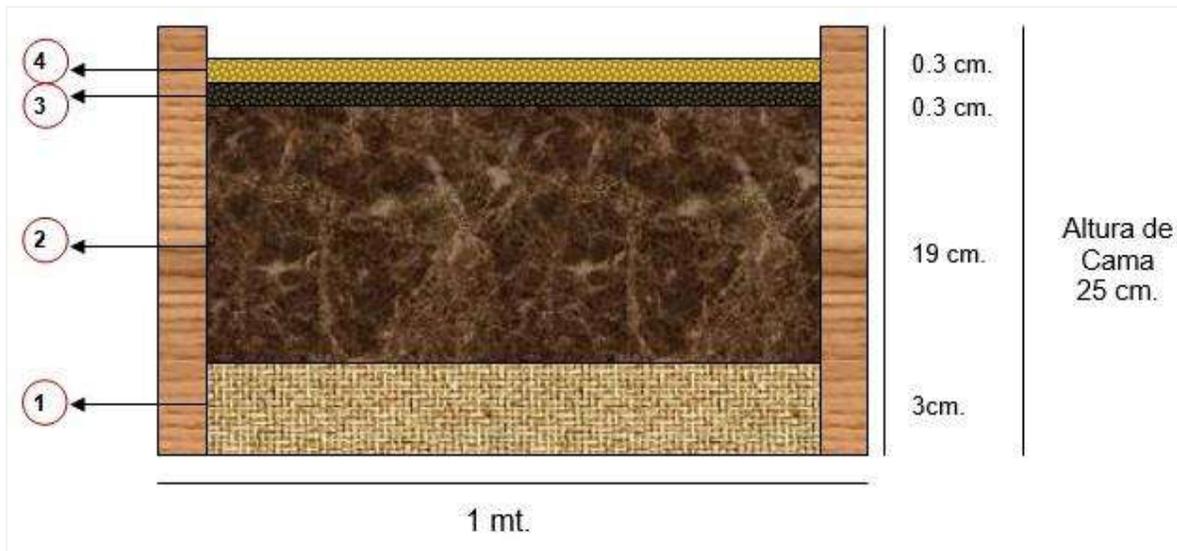


Figura 4. Corte transversal de la cama de cultivo

Posteriormente, las cinco camas de cultivo se dividieron a la mitad, para formar un total de 10 bloques en cada invernadero.

Cada bloque se dividió en 24 parcelas experimentales, con medidas de 1 m de largo por 20 cm de ancho; esto se realizó con la ayuda de un hilo fijado por clavos en los extremos del bloque.

#### 4.2. Material vegetal

En el mes de Abril de 2015, se colectó semilla de 24 plantas procedentes de tres lugares diferentes en Michoacán. Estas semillas corresponden a las 24 progenies o familias utilizadas en el experimento. Las familias se identificaron numéricamente, manteniendo cuidadosamente su identidad de acuerdo con la información de su progenitor. Las 24 familias son las siguientes:

- 19 procedentes del rancho “El durazno” en el poblado de Tafetán, municipio de Tzitzio (Familias 1-19).
- 4 procedentes del rancho “Mesa de las Azucenas” en el municipio de Madero (Familias 20-23).
- 1 procedente del poblado de Piedras de Lumbre, municipio de Tzitzio (Familia 24).

En el cuadro 1, se muestran las características medidas de las plantas progenitoras al momento de la cosecha de semilla, así como también las características de dichas semillas.

Cuadro 1. Información de los progenitores y de las semillas

Características de la planta	Características de la semillas
Diámetro de planta	Peso de semilla
Altura de planta	% Germ. En laboratorio
Ancho de Hoja	Área
Espesor de Hoja	Diámetro
Contenido de azúcares en hoja	Espesor
Tamaño de Quiote	Forma (Circularidad)

### 4.3. Diseño experimental

El ensayo de progenies se estableció mediante un diseño de bloques completamente al azar. En cada bloque se ubicaron las 24 familias de manera aleatoria en cada sitio.

En cada parcela experimental se ubicaron dos filas con 10 cavidades (Figura 5), con una separación de 10 cm entre cavidad. Se sembraron dos semillas por cavidad, con un total de 40 semillas, esto para asegurar la germinación de por lo menos el 50% de las semillas.



Figura 5. Distribución de la siembra dentro de las parcelas experimentales

La siembra en el invernadero del IIAF-Posta se realizó entre los días 25 y 30 de Septiembre de 2015, mientras que en Arroyo Colorado se realizó entre los días 10 y 14 de Octubre de 2015.

#### **4.4. Manejo del experimento**

Una vez terminada la siembra, en ambos invernaderos se proporcionaron riegos de manera homogénea en las camas, manteniendo una humedad constante para propiciar una buena germinación. La eclosión de algunas semillas inició entre los 15 y 20 días posteriores a la siembra.

Se continuó con el manejo de los invernaderos durante todo el invierno, realizando labores periódicas como el retiro de malezas y riegos, los cuales fueron disminuyendo debido a la baja evapotranspiración por la temporada, ya que aumento la nubosidad y el suelo se mantenía húmedo, por algunas lloviznas repentinas.

Una vez que las plantas desarrollaron dos hojas, se procedió a realizar el trasplante y reacomodo de plantas en las parcelas experimentales. Al momento de la siembra, se depositaron dos semillas por cavidad; en algunas cavidades germinaron las dos semillas y en algunas otras no germinó ninguna. El trasplante consistió en retirar las plantas que germinaron en una misma cavidad, y reubicarlas en las cavidades vacías. En las parcelas con más de 20 plantas germinadas, se retiró el número excedente de plantas, dejando únicamente 20 plantas en cada parcela. El trasplante se realizó en el IIAF-Posta a mediados del mes de Febrero, cuando aumentó la temperatura, para evitar la muerte de las plantas debido al frío y al estrés causado por el trasplante. En el invernadero de Arroyo Colorado, se realizó a principios de Marzo.

Para medir cada uno de los individuos del ensayo, se tomaron fotografías, a partir de las cuales se hicieron las mediciones.

Al finalizar el trasplante en ambos invernaderos se inició con la captura de fotografías para su análisis. Estas se tomaron con un teléfono celular modelo LG-G3 stylus con cámara de alta resolución de 13 mega píxeles. De acuerdo con Rincón *et al.*, (2012), indican que a partir de fotografías capturadas con teléfonos celulares puede medirse el área foliar en forma relativamente rápida, precisa y a bajo costo, en comparación con el uso de medidores de área foliar, utilizados tradicionalmente en las investigaciones.

En la fase de invernadero, las fotografías se tomaron a una distancia aproximada de 1.5 m del nivel de las plantas. Para tomar las fotografías en campo a la misma distancia, se fabricó un soporte especial para sostener la cámara, la distancia del suelo a la cámara fue de 1.25 m, en la base se colocó una referencia de tamaño de 20 cm.

Una vez capturadas las fotografías se procedieron a analizar con el software para análisis de imágenes ImageJ versión 1.50i.

#### **4.5. Fases del experimento**

De acuerdo con Illsley *et al.* (2007), *A. cupreata* tarda entre 7 y 15 años en llegar a la madurez sexual. Para evaluar el desarrollo de esta planta, el proyecto se dividió en 3 fases. En el presente proyecto se presentan los resultados de la primera fase y una parte de la segunda fase de evaluación.

Las fases de evaluación del proyecto y el tiempo estimado, son los siguientes:

- Fase 1.- Evaluación en invernadero – 9 meses.
- Fase 2.- Evaluación en campo bajo ensayo de jardín común – 1 a 2 años.
- Fase 3.- Evaluación en campo en su hábitat natural – 7 a 10 años.

A principios del mes de Julio, inicio de la temporada de lluvias, y se llevó a cabo el trasplante a campo, con esta parte se dio inicio de la fase 2 de evaluación. En el anexo 1, se describe detalladamente la metodología del trasplante a campo.

#### **4.6. Variables evaluadas**

La primera fase de evaluación corresponde al periodo comprendido a partir de la fecha de siembra, hasta los 9 meses, en invernadero.

En la fase 2 posteriormente al trasplante a campo, se hicieron dos evaluaciones, a los 14 y 20 meses.

##### **4.6.1. Germinación**

Se determinó el porcentaje de germinación de las progenies. Esto se hizo mediante la cuantificación de semillas germinadas en las parcelas, para esto se realizaron conteos en cuatro fechas diferentes. Las fechas del conteo fueron las siguientes:

- 24 - Octubre
- 06 - Noviembre
- 27 - Noviembre
- 14 - Diciembre

##### **4.6.2. Variables de crecimiento**

Estas mediciones se hicieron por medio de las series de fotografías.

La serie de fotografías para la fase de evaluación de invernadero, fue capturada el día 14 de Junio en el IIAF-Posta y el día 5 de Julio de 2016 en Arroyo Colorado, a los 9 meses de desarrollo.

En la segunda fase de evaluación, se hicieron dos mediciones en campo, la primera medición hizo el 17 de Noviembre de 2016, al final del periodo de lluvias, a los 14 meses de desarrollo. La segunda medición se hizo el 9 de Mayo de 2017, al final del periodo de secas, a los 20 meses de desarrollo.

#### **4.6.2.1. Tamaño de planta**

En la fase 1 de invernadero, se midió el área foliar (AF) de cada una de las plantas del ensayo, siendo un total de 4615 plantas en ambos invernaderos, 2224 en el IIAF-Posta y 2391 en Arroyo C.

Las mediciones de crecimiento en campo, se hicieron únicamente en los primeros 6 bloques, en un total de 574 plantas.

En los anexos 2 y 3, se describe detalladamente los métodos de medición de las plantas en las diferentes fases de evaluación, invernadero y en campo.

#### **4.6.2.2. Número de hojas**

Por medio de las fotografías, se cuantificó el número de hojas emitidas de cada una de las plantas de cada familia.

#### **4.6.3. Variables fisiológicas**

Para medir las variables fisiológicas en invernadero, se hizo un muestreo de hojas, se seleccionaron los 3 bloques centrales y más homogéneos de cada invernadero, se etiquetaron cada una de las plantas, marcando su hoja con plumón permanente.

La etiqueta consistió en los códigos de procedencia del invernadero, el número de bloque dentro del invernadero, el número de progenie dentro del bloque, y el número de planta dentro de la parcela (ubicación). Posteriormente se seleccionaron 3 plantas de cada parcela, y se colectó la primera hoja madura (la tercera hoja más joven), muestreando un total de 9 hojas por progenie. El muestreo se realizó al amanecer, entre las 7 - 8:30 am para coleccionar las hojas al final de la fase de acumulación nocturna de CO<sub>2</sub>. Al momento de la colecta, las hojas se guardaron en bolsas con cierre hermético y se depositaron en un contenedor obscuro con hielo. El muestreo se realizó al final de la fase de invernadero, en el

IIF-Posta el día 23 de Junio y otro en Arroyo Colorado el 30 de Junio de 2016. Se muestrearon 216 hojas en cada invernadero.

Para medir las variables fisiológicas en campo, se colectó una hoja de cada planta en 3 bloques completos, un total de 96 hojas por bloque; esto se hizo a los 14 y 20 meses, se midieron dimensiones de las hojas (peso y área), y contenido de pigmentos mediante los índices de reflectancia hiperespectral.

Tanto para las muestras de invernadero como las de campo, se utilizó la misma metodología

Las muestras se llevaron a laboratorio, donde se pesó cada una de las hojas, se tomó el espectro de reflectancia, y se fotografiaron para ser medidas.

#### **4.6.3.1. Dimensiones de las hojas**

Se midieron las dimensiones de las hojas cosechadas, de la siguiente manera: las hojas recién cortadas fueron pesadas en una balanza analítica (Ohaus®) y colocadas sobre una hoja de papel blanco para fotografiarlas. En la hoja de papel, se dibujó una marca de referencia de tamaño de 5 cm para tener la escala de la fotografía.

Las fotografías se analizaron con el software ImageJ. Para medir las dimensiones de las hojas, se procedió de la siguiente manera: primero, se convirtió la imagen de color a escala de grises, luego se aplicó la función "*Threshold*", que detecta las zonas de la imagen cuya intensidad de color es superior a cierto umbral (en este caso distingue los píxeles pertenecientes a la hoja del fondo de papel). Finalmente se seleccionó la zona correspondiente a cada hoja y se obtuvo el número de píxeles que la componían. El área foliar se calculó en cm<sup>2</sup> después de aplicar una calibración mediante la referencia de tamaño.

#### **4.6.3.2. Contenido de clorofila y otros pigmentos**

El contenido de clorofila y otros pigmentos se estimó de manera indirecta a través de índices de reflectancia hiperespectral, calculados a partir de los espectros medidos sobre las hojas en laboratorio.

Para medir los espectros, se usó un espectrofotómetro portátil de marca FieldSpec®, equipado con una fuente de luz artificial. El funcionamiento del espectrofotómetro consiste básicamente en iluminar la muestra con luz blanca y calcular la cantidad de luz que refleja dicha muestra en una serie de intervalos de longitudes de onda cada 2 nm.

La medición se hace gracias a una fibra óptica equipada de un objetivo que permite apuntar con precisión a una zona de alrededor de 10 mm<sup>2</sup> de la hoja. La reflectancia se expresa en porcentaje, usando una superficie de reflexión difusa perfecta (control), que se calibra con una muestra o loseta blanca.

#### **4.6.3.3. Contenido de azúcar de la hoja**

Los grados Brix (abreviatura °Bx) miden el contenido total de sacarosa disuelta en un líquido. Una solución de 25 °Bx tiene 25 gr de azúcar (sacarosa) por 100 gr de líquido, o dicho de otro modo, hay 25 gr de sacarosa y 75 gr de agua en los 100 gr de la solución. Los grados brix se pueden medir con un sacarímetro, que mide la gravedad específica de un líquido, o, más fácilmente, con un refractómetro (Medidor de pH, 2014). En este trabajo se utilizó un refractómetro manual para medir los grados Brix del jugo extraído de la hoja.

Para obtener una muestra representativa de la hoja, la hoja congelada fue cortada en cuatro partes (en forma de cruz) y de cada parte se cortaron dos pedazos pequeños para obtener una muestra de alrededor de 0.5 gr (el resto de la hoja se regresó nuevamente al ultra congelador para posterior análisis). Los pedazos obtenidos se dejaron descongelar un tiempo suficiente para que estén a temperatura ambiente antes de la medición. Se extrajo la savia exprimiendo los dos pedazos juntos con unas pinzas y esa savia se colocó en el refractómetro para obtener los grados brix.

Cabe mencionar que durante el tiempo en congelación las hojas muestreadas se cubrieron de escarcha. Para saber si esta escarcha correspondía a una ganancia de humedad que pudiera afectar la medición, previo a la medición de °Bx las hojas fueron pesadas dos veces: una con escarcha y otra después de limpiar la escarcha. Se encontró una diferencia de peso mínima que no afectó la medición.

#### 4.7. Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza para cada variable mediante el procedimiento GLM (Generalized Linear Models) con el software estadístico SAS®.

Los componentes de varianzas genéticas y parámetros afines, fueron estimados con las esperanzas de los cuadrados medios generadas por los análisis de varianza y covarianza, conforme la metodología propuesta por Nevado & Ortiz (1985).

Para el análisis estadístico, se utilizó el modelo genético propuesto por Yamada, (1962):

$$Y = \mu + S + F + B(S) + S * F + F * B(S) + e$$

Donde:

Y = variable

$\mu$  = media general

S = efecto del sitio

B(S) = efecto del bloque dentro de sitio

F = efecto de la familia

F\*S = efecto de la interacción familia por sitio

F\*B(S) = efecto de la interacción familia por bloque dentro de sitio

e = efecto del error aleatorio

#### 4.8. Cálculo de parámetros genéticos

##### 4.8.1. Heredabilidad

La heredabilidad se obtuvo con las fórmulas propuestas por Falconer & Mackay (1989):

$$h^2_i = 3\sigma^2_f / (\sigma^2_f + \sigma^2_{b*f} + \sigma^2_e),$$

$$h^2_f = \sigma^2_f / [\sigma^2_f + (\sigma^2_{b*f} / b) + (\sigma^2_e / b*n)]$$

Donde:

- $h^2_i$  = Heredabilidad individual en sentido estricto
- $h^2_f$  = Heredabilidad de familia en sentido estricto
- $\sigma^2_f$  = Varianza de familia
- $\sigma^2_{b*f}$  = Varianza de interacción bloque por familia
- $\sigma^2_e$  = Varianza del error
- b = Número de bloques
- n = Número de individuos por familia en cada bloque.

#### 4.8.2. Respuesta a la selección y ganancia genética

La respuesta a la selección y ganancia genética se estimó mediante la selección del mejor 20% de la población con las fórmulas propuestas por Falconer & Mackay (1989):

$$R = i \sigma h^2$$

Donde:

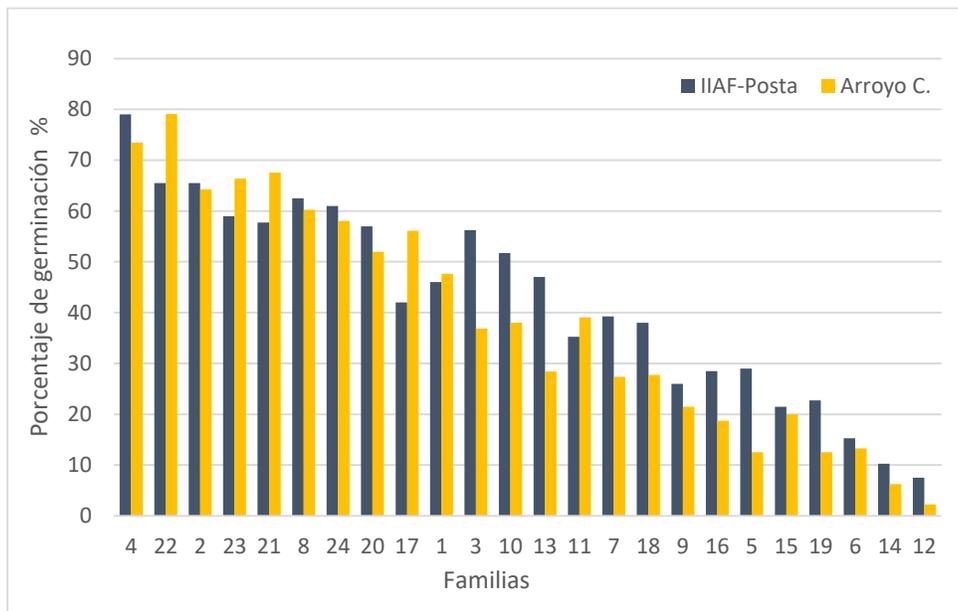
- $R$  = Respuesta a la selección (Ganancia genética)
- $i$  = Intensidad de selección; en este caso el 20% corresponde a 1.4 (Zobel & Talbert, 1988)
- $\sigma$  = Desviación estándar
- $h^2$  = Heredabilidad individual en sentido estricto

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Germinación

La germinación de las semillas inició entre los 15 y 20 días posteriores a la siembra. El promedio general del porcentaje de germinación (PG) en ambos sitios fue del 40%, la causa principal de la baja germinación se atribuye a las bajas temperaturas por la época de siembra. La temperatura promedio durante los meses de Octubre y Noviembre fue de 17°C, y esta fue descendiendo durante el invierno.

Aproximadamente un 20% de las semillas que no germinaron, entraron en un periodo de latencia, ya que se observó la germinación de éstas 9 meses después, en el periodo de lluvias durante los meses de Junio y Julio.



Gráfica 1. Porcentaje de germinación. Se muestra el promedio obtenido en cada sitio.

En la gráfica 1 se muestran las medias del PG, en donde se observó un comportamiento muy similar en ambos sitios. En general se presentó un mayor PG en el invernadero del IIAF-Posta. Las familias procedentes de Mesa de las Azucenas (21-23) germinaron mejor en el invernadero de Arroyo C. Entre las familias más sobresalientes en ambos invernaderos, se encuentra principalmente la familia 4, procedente de Tafetán, la 22, 21, 23, procedentes de Mesa de las Azucenas, también la 2, 8, 20 y 24. En todas las demás familias se observó una tasa de germinación inferior al 50%.

Cuadro 2. Significancia estadística para la variable: Porcentaje de germinación

<b>Fuente</b>	<b>F-Valor</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Sitio</b>	13.33	0.0003
<b>Bloq(Sitio)</b>	3.50	<.0001
<b>Fam</b>	62.55	<.0001
<b>Sitio*Fam</b>	3.04	<.0001

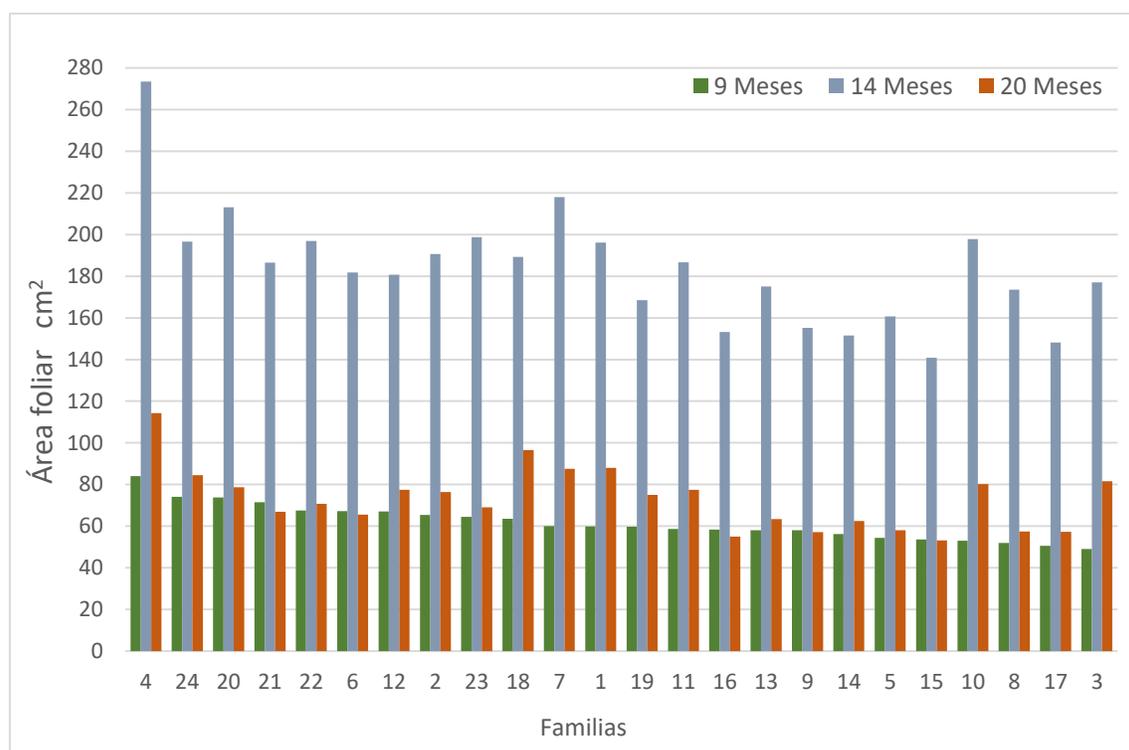
En el cuadro 2, se observaron diferencias altamente significativas para todos los casos; el análisis de varianza se muestra en el anexo 4. Entre sitios influyeron factores como la temperatura principalmente; en Arroyo C. se sembró 15 días después que en el IIAF-Posta, y probablemente durante este periodo la temperatura descendió uno o dos grados aproximadamente.

Las diferencias entre bloques pudieron ser causadas debido a los gradientes de sombra dentro del invernadero, esto debido la presencia de algunos árboles en los alrededores del invernadero del IIAF-Posta, los cuales proporcionaron sombra en algunos bloques, estos se mantuvieron más fríos y húmedos que otros la mayor parte del tiempo, también se observó que algunas familias que estaban en los bordes de los bloques presentaron un PG menor, esto pudo ser causado debido a corrientes de aire frío del exterior.

## 5.2. Crecimiento

### 5.2.1. Área Foliar

En la gráfica 2, se presentan los resultados del AF evaluada en los 3 periodos:



Gráfica 2. Área foliar en 3 periodos de evaluación. Las familias se muestran ordenadas de mayor a menor, partiendo de los resultados obtenidos en la primera evaluación (invernadero).

A los 9 meses, la familia 4, procedente de Tafetán, fue la más destacada, con un AF promedio de 84 cm<sup>2</sup>, siguiendo la familia 24 procedente de piedras de lumbre con 74.1 cm<sup>2</sup>, la familia 20 con 73.8 cm<sup>2</sup>, la familia 21 con 71.5 cm<sup>2</sup>, y la familia 22 con 67.6 cm<sup>2</sup>, todas procedentes de Mesa de las Azucenas.

A los 14 meses, la familia 4 se siguió mostrando superior a las demás familias, con un AF promedio de 273.5 cm<sup>2</sup>, esta familia presentó individuos con AF de hasta 482 cm<sup>2</sup>, siendo los individuos con mayor tamaño registrados en todo el experimento. Las familias 7 y 20, se observaron con AF promedio de 218 y 213 cm<sup>2</sup>, respectivamente. El resto de las familias presentaron promedios de AF por debajo de los 200 cm<sup>2</sup>. Las familias que se observaron con menor tamaño, fueron la 5, 9, 16, 14, 17, 15, con AF menores a 160 cm<sup>2</sup>, un poco más de 100 cm<sup>2</sup> de diferencia a la familia 4. Cabe mencionar que tanto las mejores familias (4 y 7) como las peores ya mencionadas anteriormente, son procedentes de Tafetán. En esta evaluación, las plantas presentaron un diámetro promedio de 15 cm.

A los 20 meses, el AF promedio de las rosetas de las plantas, fue de 73.14 cm<sup>2</sup>, con un diámetro promedio de 9.35 cm. La familia con mayor tamaño, incluso con la reducción por estrés fue la 4, con AF promedio de 114 cm<sup>2</sup> y un diámetro promedio de 12 cm; otra familia destacada fue la 18, con AF promedio de 96.5 cm<sup>2</sup> y 11 cm de diámetro; la familia 15 que presentó el AF más pequeña, mostró un diámetro de roseta de 8 cm.

En el análisis de varianza global del AF a los 9 meses en invernadero (Anexo 5), se obtuvo un promedio general de 62.9 cm<sup>2</sup> en ambos sitios; con un coeficiente de variación de 45.4%. En dicho análisis se observaron diferencias altamente significativas en sitios, en los bloques dentro de sitios, entre familias, y entre los bloques por familias dentro de sitios. No se presentaron diferencias estadísticas en la interacción de las familias por sitio. Esto nos indica que las condiciones ambientales de cada sitio influyeron de la misma manera sobre todas las familias, sin mostrar diferencias estadísticas significativas entre sitios. En el IIAF-Posta, el AF promedio fue de 46.8 cm<sup>2</sup>, mientras que en Arroyo C. el promedio fue de 77.85 cm<sup>2</sup>, en donde todas las familias presentaron un mayor tamaño que en el IIAF-Posta. Algunas de las condiciones que influyeron en Arroyo C. fueron las siguientes: mayor homogeneidad en los bloques debido a la iluminación recibida; respecto al manejo agronómico, los riegos fueron más constantes. El invernadero del IIAF-Posta, presentó distintos gradientes de sombra y humedad en los bloques, debido a la presencia de árboles en el exterior.

En la evaluación a los 14 meses, las condiciones del ensayo en campo se mostraron muy homogéneas, por tal motivo no se observaron diferencias significativas entre bloques, ni entre las plantas provenientes del vivero del IIAF-Posta y las del vivero de Arroyo C. (Cuadro 3). Sin embargo se observaron diferencias altamente significativas entre las familias. En el análisis de varianza, se obtuvo una media general de 183.8 cm<sup>2</sup> (Anexo 6). Respecto a los niveles de significancia de Tukey, las familias 4, 7 y 20 fueron las más destacadas.

Cuadro 3. Significancia estadística para la variable: Área foliar – 14 meses

Fuente	F-Valor	Pr > F
<b>Bloque</b>	0.7	0.6269
<b>Vivero</b>	0.07	0.7988
<b>Familia</b>	4.26	<.0001

La última medición de AF, se hizo en el mes de mayo a los 20 meses, y únicamente se observaron diferencias estadísticas entre las familias (Cuadro 4), al igual que en la medición anterior en campo. El análisis de varianza se presenta en el anexo 7.

Cuadro 4. Significancia estadística para la variable: Área foliar - 20 meses

Fuente	F-Valor	Pr > F
<b>Bloque</b>	1.95	0.0838
<b>Vivero</b>	0.27	0.6040
<b>Familia</b>	3.93	<.0001

La reducción del AF, se estimó en porcentaje, y se hizo en relación al AF medida a los 14 meses en el mes de Noviembre. La familia que redujo su AF en menor medida fue la familia 18, con el 48%, mientras que la familia 8 fue la que más se redujo, con un 68% en comparación a su tamaño alcanzado a los 14 meses. En promedio las plantas redujeron su tamaño 60% (Anexo 7).

### 5.2.2. Número de hojas

A los 9 meses, se evaluaron plantas con un mínimo de 3 hojas bien desarrolladas en adelante. En donde se observó en el IIAF-Posta un promedio general de 5.7 hojas, mostrando plantas con 11 hojas como máximo. Mientras que en Arroyo C. el promedio fue de 6.5 hojas, y se observaron plantas hasta con 15 hojas. Se observaron diferencias significativas entre sitios, entre los bloques dentro de sitios, entre familias y entre la interacción bloque por familia dentro de sitios (Cuadro 5). Sin embargo no se presentaron diferencias entre la interacción familias por sitio.

Cuadro 5. Significancia estadística para la variable: No. de hojas – 9 meses

Fuente	F-Valor	Pr > F
<b>Sitio</b>	14.54	0.0012
<b>Bloq(sitio)</b>	17.73	<.0001
<b>Fam</b>	4.81	0.0002
<b>Sitio*Fam</b>	1.07	0.3763
<b>Bloq*Fam(Sitio)</b>	1.9	<.0001

En el análisis de varianza por sitios (Anexo 8), se observaron diferencias altamente significativas entre bloques, entre familias y en la interacción bloques por familias. En el invernadero del IIAF-Posta, las familias más sobresalientes fueron la 19 y 6, con un promedio de 6.4 y 6.3 hojas respectivamente, mostrando diferencias significativas en comparación con las demás familias. En Arroyo C., se observaron diferencias altamente significativas entre bloques, se podría pensar que en los bloques cercanos a los bordes del invernadero, las plantas tenían mayor contacto con las corrientes de aire frío del exterior. También se observaron diferencias significativas entre familias, y en la interacción de bloque por familias. Las familias 18 y 6, fueron las más sobresalientes, estas presentan una media general de 7.3 y

7.2 hojas, seguidas por las familias 7 y 19 con 7.2 hojas; las familias con menor número de hojas fueron la 9, 13 y 24, con un promedio de 6 hojas.

El número promedio de hojas a los 14 meses, fue de 11.6, no se observaron diferencias significativas entre bloques, ni entre plantas producidas en diferentes viveros; únicamente entre familias (Cuadro 6). El análisis de varianza se presenta en el anexo 8. En esta etapa, la familia 18, presentó un promedio de 14.5 hojas, seguida por la 7 con 13.7 hojas, y la familia 4 con un promedio de 13 hojas. La familia 21, presentó buen tamaño respecto al AF, y en cuestión de número de hojas fue la que presentó un promedio menor, con solo 10 hojas.

Cuadro 6. Significancia estadística para la variable: No. de hojas – 14 meses

Fuente	F-Valor	Pr > F
<b>Bloque</b>	0.23	0.9482
<b>Vivero</b>	0.19	0.6663
<b>Familia</b>	5.30	<.0001

### 5.3. Variables Fisiológicas

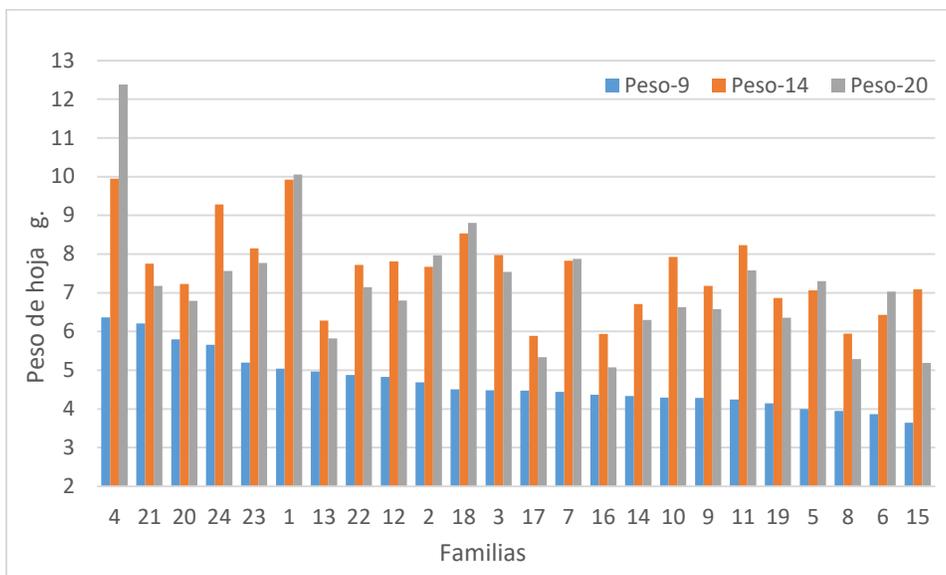
#### 5.3.1. Peso de hoja

En los análisis realizados para la variable peso de hoja, a los 9 meses se observaron diferencias significativas entre sitios, y entre familias, a los 14 y 20 meses, las diferencias significativas únicamente se observaron entre familias. Los cuadros de análisis de varianza se presentan en el anexo 9.

A los 9 meses, en el IIAF-Posta, el peso promedio de las hojas fue de 3.92 g, mientras que en Arroyo C., el peso promedio fue de 5.51 g. En la fase de evaluación de invernadero, la familia 4 presentó las hojas más pesadas, con 6.36 g, seguida por la familia 21, 20 y 24, con 6.21, 5.79 y 5.66 g, respectivamente (Gráfica 3).

A los 14 meses la familia 4 se mantuvo con el promedio de hoja más pesada, con 10 g, casi igual que la familia 1, con 9.9 g, siguiendo la familia 24, que presentó un promedio de 9.3 g. Las familias 18, 7, 10, 11 y 15 presentaron un aumento de peso significativo en relación a la evaluación hecha a los 9 meses.

A los 20 meses, ante el periodo de estrés por sequía, la familia 4 presentó un aumento en el peso promedio de hoja de casi 2.5 g esto fue estadísticamente significativo. Otras familias que ganaron peso en hojas, fueron la 1, 18, 2, 7, 5 y 6, sin embargo, esta ganancia no fue mayor a 0.2 g. Las demás familias presentaron una baja mínima en relación a la evaluación de los 14 meses, lo cual se considera completamente normal debido al estrés hídrico.



Gráfica 3. Peso de hoja. Las familias se muestran ordenadas de mayor a menor, partiendo de los resultados obtenidos en la primera evaluación (invernadero).

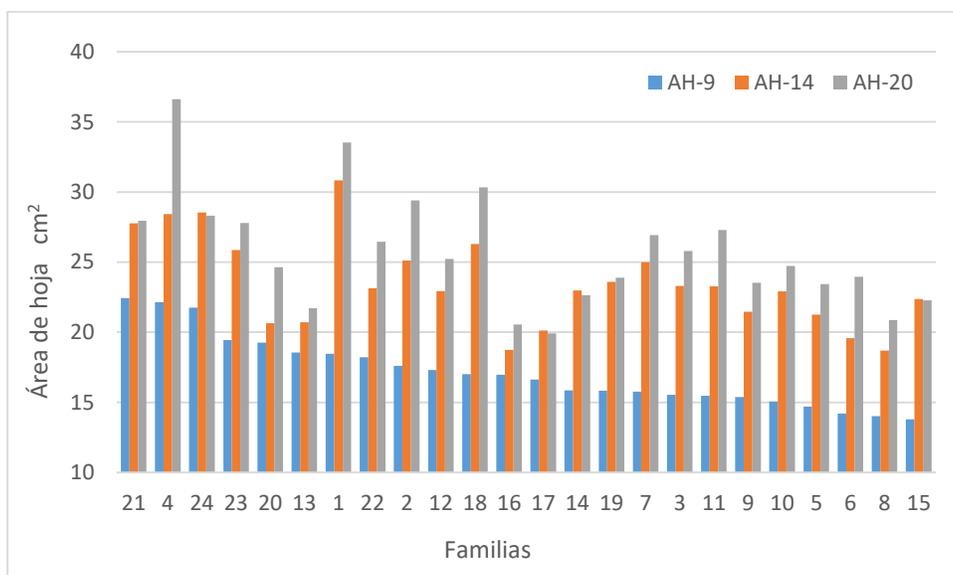
### 5.3.2. Tamaño de hoja

Para el tamaño de hoja, a los 9 meses, se observaron diferencias significativas entre sitios, y entre familias, a los 14 y 20 meses, únicamente se presentaron diferencias entre familias. Los cuadros de análisis de varianza se presentan en el anexo 10.

A los 9 meses, el promedio en el IIAF-Posta fue de 15.2 cm<sup>2</sup>, y en Arroyo C. fue de 19.2 cm<sup>2</sup>. Las familias con hojas más grandes en promedio, fueron la 21 con 22.44 cm<sup>2</sup>, la 4 con 22.15 cm<sup>2</sup>, y la 24 con 21.77 cm<sup>2</sup>, las demás familias presentaron AF inferiores a los 20 cm<sup>2</sup>. La familia 15 presentó las hojas más pequeñas en promedio, con AF de 13.8 cm<sup>2</sup> (Gráfica 4).

A los 14 meses, la familia 1 presentó el promedio mayor de tamaño de hoja, con 30.8 cm<sup>2</sup>, siguiendo la familia 24 con 28.5 cm<sup>2</sup>, y la familia 4 con 28.4 cm<sup>2</sup>. Todas las familias procedentes de Tafetán, presentaron un aumento considerable en relación a la evaluación hecha en invernadero a los 9 meses, a excepción de las familias 13, 16 y 17, cuyo tamaño de hojas se mantuvo casi igual en las 3 evaluaciones.

En la evaluación de los 20 meses, la familia 4, presentó un promedio de tamaño en hojas de 36.6 cm<sup>2</sup>, lo que nos indica que hubo un aumento en el tamaño de hoja de 8.2 cm<sup>2</sup>. La familia 1 presentó en promedio hojas de 33.5 cm<sup>2</sup>, y la familia 18, 30.3 cm<sup>2</sup>. En general en esta etapa todas las familias presentaron aumentos menores en el tamaño de sus hojas en comparación a la evaluación de los 14 meses.



Gráfica 4. Tamaño de hoja. Las familias se muestran ordenadas de mayor a menor, partiendo de los resultados obtenidos en la primera evaluación (invernadero).

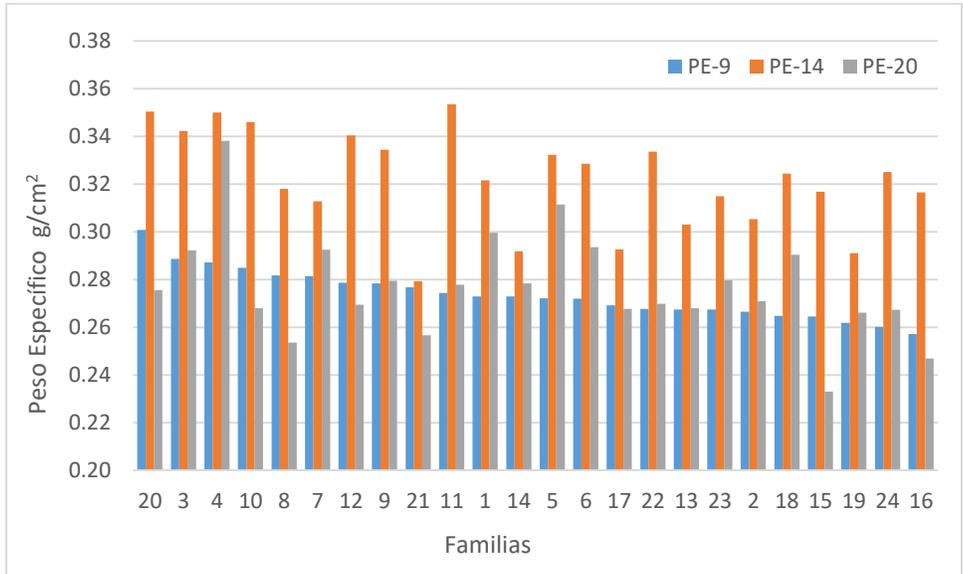
### 5.3.3. Peso específico

El peso específico (PE) se obtuvo dividiendo el peso de la hoja, entre el AF de la misma; este nos indica el espesor de la hoja. En la gráfica 5, se muestran los promedios por familia del PE de las hojas en las 3 evaluaciones.

A los 9 meses, el PE promedio fue de 0.27 g/cm<sup>2</sup>; la familia 20 fue la que presentó un mayor espesor con 0.3 g/cm<sup>2</sup>, y la familia 16 fue la que presentó menor espesor, con 0.26 g/cm<sup>2</sup>, sin presentar diferencias estadísticas.

A los 14 meses, todas las familias presentaron un engrosamiento en sus hojas en comparación a la evaluación de los 9 meses, a excepción de las familias 21 y 14, que se mantuvieron casi con el mismo espesor. Este periodo corresponde al final de la época de lluvias, donde todas las plantas crecieron considerablemente a comparación de su tamaño en invernadero; las familias 4, 20, 11 y 10, presentaron el mayor espesor de hoja, todas con un promedio de 0.35 g/cm<sup>2</sup>, la familia 21 presentó las hojas más delgadas, con 0.28 g/cm<sup>2</sup>. No se observaron diferencias significativas entre familias.

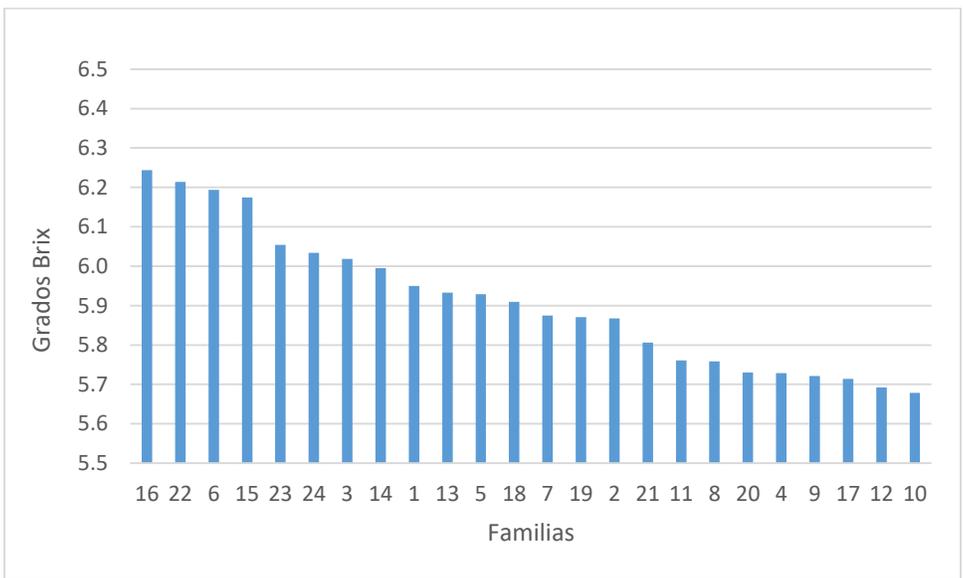
A los 20 meses, la mayor parte de las familias presentaron un espesor muy similar al que tenían en la etapa de invernadero, a los 9 meses, este adelgazamiento fue causado por el estrés hídrico. Las familias 4, 5, 1, 6 y 18 presentaron espesores mayores que las demás familias, sin mostrar diferencias estadísticas. La familia 4 presentó las hojas más gruesas, con un espesor de 0.34 g/cm<sup>2</sup>.



Gráfica 5. Peso específico. Las familias se muestran ordenadas de mayor a menor, partiendo de los resultados obtenidos en la primera evaluación (invernadero).

#### 5.3.4. Grados Brix

Los grados brix se midieron únicamente a los 9 meses, no se observaron diferencias significativas en este análisis, el análisis de varianza se presenta en el anexo 11. El promedio general fue de 5.9° Bx. Aunque se observan algunas familias con mayor contenido de azúcar, esas diferencias no sobrepasan ni 0.5° Bx (Gráfica 6).



Gráfica 6. Grados Brix. Evaluación a los 9 meses.

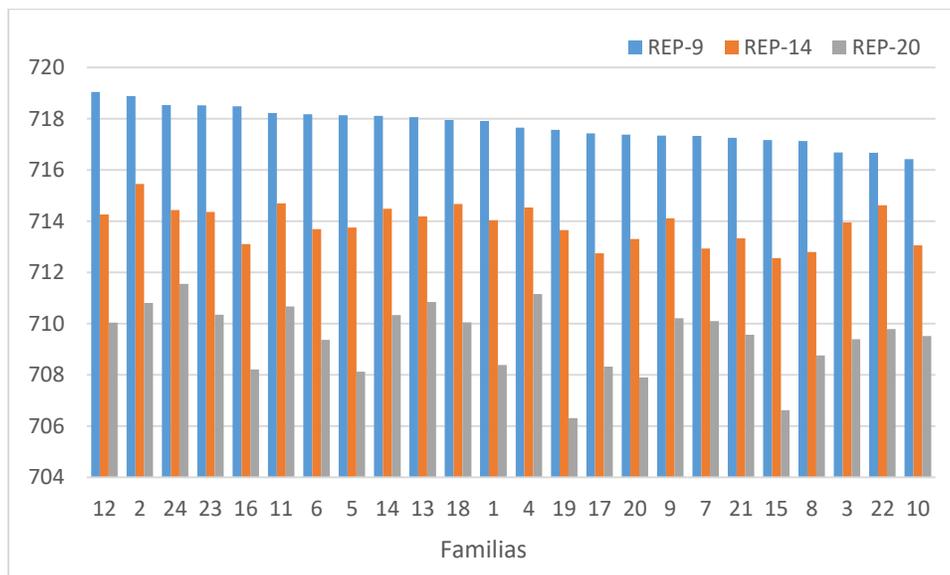
### 5.3.5. Índices de reflectancia

#### 5.3.5.1. REP (Red Edge Position)

El índice de posición del 'borde rojo' (REP, Red Edge Position), es usado para estimar el contenido de clorofila del dosel de la hoja, en un rango de concentración más grande y amplio que 675 nm y 550 nm.

En la evaluación de los 9 meses, este índice se mostró más alto que en las etapas posteriores, con un promedio de 717.7 (Gráfica 7); se observaron diferencias significativas entre familias, entre la interacción bloque por sitio, y entre la interacción bloque por familia dentro de sitio. Los análisis de varianza se muestran en el anexo 12.

A los 14 meses, el promedio de este índice bajó hasta 713.8; en esta evaluación se observaron diferencias significativas entre viveros de procedencia y entre familias. A los 20 meses, se observaron diferencias significativas únicamente entre familias. En esta etapa el índice presentó su promedio más bajo, con 709.4



Gráfica 7. REP (Red Edge Position). Las familias se muestran ordenadas de mayor a menor, partiendo de los resultados obtenidos en la primera evaluación (invernadero).

Los índices de reflectancia medidos (REP, NDVI, MTCI), presentaron el mismo comportamiento que el índice REP, todos mostraron que el contenido de clorofila disminuyó progresivamente en las etapas de campo debido a la mayor incidencia de luz sobre las plantas. Estos índices presentaron una correlación directa entre ellos (Anexo 12).

## 5.4. Parámetros genéticos

### 5.4.1. Heredabilidad de variables de crecimiento

Con los componentes de la varianza obtenidos, se estimó la heredabilidad en sentido estricto de las variables, tanto a nivel individual, como de las medias de familia, (Cuadro 7).

Cuadro 7. Heredabilidad en sentido estricto. Variables de crecimiento

	Heredabilidad	9 Meses - Invernadero		14 meses
		IIAF Posta	Arroyo C.	Campo
Área Foliar	h <sup>2</sup> Ind	0.29	0.26	0.36
	h <sup>2</sup> Fam	0.83	0.85	0.77
N° de Hojas	h <sup>2</sup> Ind	0.12	0.12	0.46
	h <sup>2</sup> Fam	0.68	0.72	0.81

En la fase de invernadero, a los 9 meses de desarrollo, la heredabilidad de medias de familia para el AF se observó de 0.83 en el IIAF-Posta y 0.85 en Arroyo C., lo cual se considera una heredabilidad muy alta. También se observó una muy alta heredabilidad de familia para el número de hojas, con 0.675 para el IIAF-Posta y de 0.72 para Arroyo C.

A los 14 meses, en la fase de evaluación de campo, se observaron niveles altos de heredabilidad, tanto a nivel de medias de familia. Para el caso de AF fue de 0.77; el número de hojas, también se muestra como un carácter altamente heredable, con valores de 0.81 a nivel de familia y 0.46 a nivel individual.

Respecto a la heredabilidad estimada a los 14 meses en comparación con los valores estimados a los 9 meses, para el AF, la heredabilidad a nivel de medias de familias disminuyó un poco, pero a su vez aumentó a nivel individual. Para el número de hojas aumento considerablemente a nivel individual, y un poco a nivel de medias de familia.

No se tiene conocimiento de la estimación de parámetros genéticos en especies del género *Agave*. Sin embargo estos valores se consideran válidos, ya que son muy similares a los encontrados en ensayos de progenies en especies forestales; estudios como los de Farfán *et al.*, (2002) en *Pinus ayacahuite*, Viveros-Viveros *et al.*, (2005) en *Pinus ocarpa* y Salaya-Domínguez *et al.*, (2012) en *Pinus patula*, han reportado valores de heredabilidad a nivel individual en rangos de 0.17 a 0.4; a nivel de medias de familias, reportan valores en rangos de 0.6 hasta 0.89.

### 5.4.2. Heredabilidad de variables fisiológicas

Se estimó la heredabilidad en sentido estricto de las variables fisiológicas, tanto a nivel individual, como de las medias de familia, (Cuadro 8).

De acuerdo con los valores observados, las variables fisiológicas se consideran variables altamente heredables, principalmente por los valores de medias de familias, que en la mayoría de los casos se encontraron valores mayores a 0.6. Se observó variación entre los 3 periodos de evaluación, sin embargo en todos los periodos, se presentan valores mayores a 0.5.

Cuadro 8. Heredabilidad en sentido estricto. Variables fisiológicas

Variables Fisiológicas	Heredabilidad	9 Meses Invernadero		14 Meses Campo	20 Meses Campo
		IIAF-Posta	Arroyo C.		
Peso de Hojas	h <sup>2</sup> Ind	0.29	0.63	0.34	0.42
	h <sup>2</sup> Fam	0.72	0.89	0.76	0.79
Tamaño de Hoja	h <sup>2</sup> Ind	0.41	0.71	0.35	0.32
	h <sup>2</sup> Fam	0.79	0.90	0.76	0.74
Peso Específico	h <sup>2</sup> Ind	-	-	0.17	0.04
	h <sup>2</sup> Fam	-	-	0.58	0.23
Grados Brix	h <sup>2</sup> Ind	0.05	0.14	-	-
	h <sup>2</sup> Fam	0.31	0.58	-	-
REP (Red Edge Position)	h <sup>2</sup> Ind	0.12	0.74	0.15	0.36
	h <sup>2</sup> Fam	0.46	0.86	0.56	0.76

### 5.4.3. Ganancia genética

Se estimó la ganancia genética para la variable AF, si se seleccionara el mejor 20% de la población (Cuadro 9). A los 9 meses, lo cual es un tiempo muy corto para hacer una selección en esta especie, se esperarían ganancias genéticas para el AF de 8.3 cm<sup>2</sup> en el IIAF-Posta y 14 cm<sup>2</sup> en Arroyo C.

A los 14 meses, se esperaría una ganancia genética de 32.89 cm<sup>2</sup>, lo cual corresponde a un 17.9% de aumento de tamaño en relación a la media general de la población, que presenta un AF promedio de 183.8 cm<sup>2</sup>.

Cuadro 9. Ganancia genética

Área Foliar (cm <sup>2</sup> )	9 Meses		14 Meses Campo
	IIAF-Posta	Arroyo C.	
	8.3	14	32.89

## 6. DISCUSIÓN

El estudio se llevó a cabo cuidadosamente en cada una de sus fases de evaluación. Se observaron resultados para cada una de las variables evaluadas. Cabe mencionar que no se conocen trabajos que describan el desarrollo de esta especie en sus diferentes etapas fenológicas, por lo tanto no fue posible comparar el crecimiento registrado con el de otras investigaciones. Tampoco se conocen trabajos sobre ensayos de progenies en el género *Agave*, por lo que este trabajo marca una pauta importante en los estudios de genética cuantitativa y fisiología de esta especie.

En la germinación se observaron familias con mejor desempeño que otras; el porcentaje de germinación promedio fue del 40%, sin embargo esta baja germinación puede atribuirse a las bajas temperaturas por la temporada en que fueron sembradas las semillas. Orea Lara *et al.*, (2006), mencionan una temperatura óptima para la germinación de *Agave duranguensis* es de 20 a 25°C. Martínez-Vargas *et al.*, (2015) reportan para *A. cupreata* y *A. inaequidens* más del 90% de germinación de las semillas viables, después de los 8 días incubadas a 25°C. Temperaturas de 12°C o inferiores, y de 35°C o superiores, inhibieron la germinación. En semillas de *A. cupreata* recién colectadas y después de ser conservadas, Golubov *et al.*, 2007 reportan porcentajes de germinación por arriba del 92%. Por otro lado, Baskin & Baskin, (1988) y Hilhorst, (1998), postulan que el factor ambiental más importante que regula la germinación y latencia es la temperatura. Todas las familias procedentes de Mesa de las Azucenas y Piedras de Lumbre (20-24) tuvieron una germinación alta (superior al 50 o 60%) (Anexo 4). Las familias que presentaron bajo nivel de germinación (inferior al 50%), provinieron de Tafetán; es probable que las semillas de estas familias, se hayan colectado en estados de inmadurez, sin embargo, una excepción que destaca es la familia 4, quien presentó la germinación más alta de todas; las familias 2 y 8, procedentes del mismo sitio, también presentaron buenos niveles de germinación.

En los análisis de crecimiento a los 9 meses, en la fase de evaluación en invernadero, se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sitios. Todas las familias se vieron favorecidas de la misma manera en Arroyo C., en comparación con el IIAF-Posta, sin embargo, el comportamiento de las familias fue muy similar en ambos sitios; no se presentaron diferencias significativas en la interacción sitio por familia, por tal motivo no hubo interacción genotipo-ambiente. Las condiciones ambientales que favorecieron en Arroyo C, principalmente fue la incidencia de la radiación solar dentro del invernadero de manera muy homogénea, respecto a las condiciones de manejo, hubo una mayor constancia de los riegos en Arroyo C., lo cual también influyó en el experimento.

La familia 4 destacó en tamaño desde la evaluación en invernadero, mostrándose significativamente sobresaliente ante las demás familias con un AF

promedio de 84 cm<sup>2</sup> (Anexo 5); las familias procedentes de Mesa de las Azucenas y Piedras de Lumbre, también mostraron buen desempeño, con AF en promedio de 72 cm<sup>2</sup>. Posteriormente, en la evaluación en campo, a los 14 meses, todas las plantas aumentaron su tamaño considerablemente, en promedio su crecimiento fue del 200% en comparación con la evaluación anterior, la temporada de lluvias favoreció en gran medida el crecimiento. Las condiciones del experimento en campo fueron muy homogéneas, por lo tanto las diferencias significativas observadas, fueron únicamente entre familias; la familia 4 mostró un comportamiento excepcional, presentando un AF promedio de 273 cm<sup>2</sup>, y un diámetro de roseta de 18 cm, siendo la familia más destacada de todas. El tamaño de las familias 7, 1, 10, 3, y 11, no fue sobresalientes en el periodo de invernadero, sin embargo, su crecimiento y aumento de tamaño en campo fue mayor que lo esperado, destacando entre las demás familias. Con esto se observa que las condiciones ambientales de campo influyen sobre algunos genotipos, los cuales a lo largo de su desarrollo, pueden mostrar resultados interesantes en comparación con sus etapas fenológicas más tempranas.

La última medición del AF, se hizo a los 20 meses, tras un periodo de sequía de 6 meses; las plantas plegaron sus hojas en posición vertical para reducir la incidencia de radiación solar sobre sus hojas, lo que aparentemente redujo su tamaño, presentando AF promedio de 73 cm<sup>2</sup>, una reducción promedio del 60% en comparación con la medición anterior; la familia que presentó mayor tamaño, incluso con la reducción por estrés fue la 4, con 114 cm<sup>2</sup>, otra familia destacada fue la 18, con 96.5 cm<sup>2</sup>. Las familias 7, 1, 10, 3, 11 y 19, que destacaron por su crecimiento a los 14 meses, también se observaron resistentes ante el estrés hídrico, y presentaron AF superiores a las demás familias.

En la evaluación del número de hojas, a los 9 meses, se registró un promedio general de 6 hojas, siendo las familias 18 y 6 las que presentaron un promedio mayor con 7.3 hojas. A los 14 meses, el promedio de hojas fue de 11.6, en donde la familia 18 se mantuvo superior que las demás familias, presentando el mayor promedio, con 14.5 hojas. La familia 21, presentó buen tamaño respecto al AF, y en cuestión de número de hojas fue la que presentó un promedio menor, con solo 10 hojas. A los 20 meses, algunas plantas desplegaron solo 1 hoja más; no se registraron pérdida de hojas por el estrés hídrico. De acuerdo con lo observado, el número de hojas no es un indicador del tamaño de la planta.

Respecto a las dimensiones de las hojas, a los 9 meses, las plantas presentaron hojas con AF promedio de 17.2 cm<sup>2</sup> y un peso promedio de 4.7 g, el PE promedio de las hojas fue de 0.27 g/cm<sup>2</sup>; las familias con hojas más grandes fueron la 21 con 22.4 cm<sup>2</sup> y un peso de 6.2 g, siguiendo la familia 4, que presentó hojas con AF de 22.1 cm<sup>2</sup>, con un peso de 6.6 g. A los 14 meses, el AF promedio por hoja, fue de 23.5 cm<sup>2</sup>, y el peso promedio de 7.6 g, en esta etapa el PE de las hojas en promedio fue de 0.32 g/cm<sup>2</sup>. La familia 1 presentó las hojas más grandes, con un promedio de 30.8 cm<sup>2</sup>, mientras que la familia 4 presentó las hojas más

pesadas con un promedio de 10 g. Finalmente en la evaluación a los 20 meses, la familia 4, presentó un promedio de tamaño en hojas de 36.6 cm<sup>2</sup>, y con peso promedio de 12.4 g. En esta etapa las hojas se adelgazaron debido al estrés hídrico, las familias presentaron un PE promedio de 0.28 g/cm<sup>2</sup>. El mayor crecimiento observado fue en el periodo de lluvias, tanto en tamaño, peso y espesor de hojas, lo que demuestra que el agua es un factor determinante en el crecimiento de las plantas.

En un principio, se planeó hacer análisis de acidez titulable, pero no fue posible hacer estos análisis por causas externas al experimento; estos análisis podrían dar una pauta importante para distinguir familias con mayor capacidad de fijación de CO<sub>2</sub>, ya que el contenido de ácido málico está en función de la cantidad de CO<sub>2</sub> fijado, y se relaciona con la productividad de azúcares de la planta. En el análisis del contenido de azúcares en hoja realizado a los 9 meses, se observó un promedio de 5.9° Brix, sin presentarse diferencias estadísticas significativas. El rango de valores observados fue de 5.7 a 6.2° Brix. Estos resultados son muy similares a los reportados por Avendaño-Arrazate *et al.* (2016), quienes encontraron valores promedio de 5.8 – 7.4° Brix en plantas de *A. cupreata* adultas, con diámetros de roseta promedio de 216 cm. La comparación de estos resultados, indican que la mayor acumulación de azúcares no se presenta en la hojas, por tal motivo, para evaluar el contenido de azúcares de importancia comercial, es necesario hacer análisis del tallo (piña) de la planta.

El contenido de clorofila fue evaluado mediante los índices de reflectancia espectral de la hoja; se midieron tres índices: REP (Índice de posición del ‘borde rojo’), NDVI (Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada) y MTCI (Índice de Clorofila Terrestre de MERIS). Los tres índices mostraron resultados muy similares, en donde sus valores más altos se observaron en la evaluación a los 9 meses, fase de invernadero. En las evaluaciones de campo, los niveles de clorofila disminuyeron debido al aumento de la incidencia de la radiación solar. De acuerdo con Kozłowski *et al.*, (1991), los valores de clorofila total son controlados por la luz, de modo que en intensidades más elevadas de irradiación, las moléculas de clorofila son más expuestas a procesos foto-oxidativos; por ello, en irradiancias más elevadas ocurre mayor degradación de la clorofila. Por tal motivo, las plantas en condiciones de menor luminosidad, en la fase de invernadero, presentaron mayor contenido de clorofilas en relación con las evaluaciones en fase de campo a plena exposición solar. Estos resultados coincidieron con los reportados por: Yeh & Wang, (2000); Paiva *et al.*, (2003); Nemali & Van Iersel, (2004); Carvalho *et al.*, (2006); Arboleda, (2011), quienes encontraron valores más altos de clorofila bajo condiciones de menor luminosidad en comparación con las de sol.

No se encontraron relaciones entre las variables de crecimiento y los índices de reflectancia, es posible que las evaluaciones realizadas hayan sido en etapas muy tempranas de desarrollo, por lo tanto estos índices no fueron capaces de explicar el crecimiento de las plantas en función del contenido de clorofila; posiblemente, en

etapas más avanzadas, estos índices pudieran ser indicadores de la productividad de las plantas. Por otra parte, se observó que los niveles de clorofila de algunas de las familias que crecen bien, no disminuyen tanto, principalmente la 24, 4, 2, 11, 7 y 18; y las familias que presentan menor crecimiento, pierden más clorofila, es posible que estas familias sean más susceptibles al estrés, o que su capacidad de captación y/o fijación de CO<sub>2</sub>, sea menor.

Respecto a los parámetros genéticos evaluados, se encontró que el tamaño de las plantas, el número de hojas y sus dimensiones, son caracteres altamente heredables, al igual que los niveles de clorofila. Los valores más altos de heredabilidad se presentaron a nivel de medias de familia. Estos resultados son comparables con trabajos en especies forestales, principalmente del género *Pinus*; estudios como los de Farfán *et al.*, (2002); Viveros-Viveros *et al.*, (2005) y Salaya-Domínguez *et al.*, (2012), muestran valores de heredabilidad muy similares tanto a nivel individual, como de medias de familia. No se conocen estudios sobre genética cuantitativa en el género *Agave*, por tal motivo estos resultados podrían marcar una pauta importante para la estimación de parámetros genéticos de esta especie.

Finalmente se estimó la ganancia genética esperada, si se seleccionara el mejor 20% de la población. Las evaluaciones realizadas corresponden a etapas muy tempranas del desarrollo de esta especie, sin embargo, a los 14 meses se esperaría una ganancia del 17.9% en relación a la media general de la población.

Las diferentes familias evaluadas en el experimento, manifestaron respuestas distintas en su desarrollo; en general, las familias procedentes de Mesa de las Azucenas y Piedras de Lumbre presentaron mayor crecimiento que las de Tafetán; a excepción de la familia 4, la cual presentó un desarrollo excepcional, durante todo el experimento, desde la germinación, hasta su desarrollo, presentando las plantas más grandes de todas, con hojas grandes y gruesas, destacando evidentemente como la mejor familia. Este comportamiento puede deberse en mayor medida a causas genéticas, lo que demuestra que sí existen genotipos superiores de esta especie, los cuales es posible reproducir de manera rápida, mediante técnicas de propagación vegetativa, manteniendo las características más deseables de estos individuos, ya que se producen individuos genéticamente iguales; sin embargo, es necesario realizar evaluaciones posteriores durante el crecimiento y desarrollo de estas plantas, para poder seleccionar con mayor certeza a la mejor familia.

## 7. CONCLUSIONES

- Las 24 familias de *A. cupreata* estudiadas en este trabajo de genética cuantitativa presentaron diferencias marcadas en su desarrollo.
- La familia más destacada fue la 4, siendo la más sobresaliente desde la germinación, y presentando el mayor tamaño en los tres periodos de evaluación, también se mostró como la más resistente al estrés en campo.
- El desarrollo de algunas familias se vio beneficiado por las condiciones de campo; es importante continuar con evaluaciones posteriores a lo largo del desarrollo de esta especie, ya que es posible que existan características de interés, las cuales se presenten en etapas más tardías.
- Los índices de reflectancia pueden dar pautas importantes como el estado de salud de la planta, el contenido de clorofila y otros pigmentos, la eficiencia en el uso de la radiación, y la capacidad de fotosíntesis de la planta. Sin embargo, no se encontraron relaciones entre las variables de crecimiento y los índices de reflectancia; posiblemente, en etapas más avanzadas, estos índices pudieran ser indicadores de la productividad de las plantas.
- Se encontró que el tamaño de las plantas, el número de hojas y sus dimensiones, son caracteres altamente heredables, al igual que los niveles de clorofila; de tal manera que la mayor parte de la variación de las familias corresponde a causas genéticas.
- *A. cupreata* posee un gran potencial para iniciar procesos de mejoramiento genético; por lo tanto, se acepta la hipótesis de que existen genotipos de esta especie con características superiores.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- **Aguirre, X., 2004.** Genética de poblaciones de *Agave cupreata* y *Agave potatorum*: aportaciones para el manejo y conservación de dos especies mezcaleras. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de México. México. (pp.73).
- **Aguirre-Dugua, X. & Eguiarte L.E., 2013.** Genetic diversity, conservation and sustainable use of wild *Agave cupreata* and *Agave potatorum* extracted for Mezcal production in México. *Journal of Arid Environments*, 90:(pp.36-44).
- **Aguirre-Rivera, J.R., Charcas-Salazar H. & Flores-Flores J.L., 2001.** El Maguey Mezcalero Potosino. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí. (pp.78).
- **Andrade, J.L., De la Barrera E., Reyes-García C., Ricalde M.F., Vargas-Soto G.U.S.T.A.V.O., & Cervera J.C., 2007.** El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 81:(pp.37-50).
- **Andrade, J.L., Graham E.A. & Zotz G., 2004.** Determinantes morfofisiológicos y ambientales de la distribución de epifitas en el dosel de bosques tropicales. En: 'Fisiología Ecológica en Plantas. Mecanismos y Respuestas a Estrés en Los Ecosistemas'. (Ed. Marino-Cabrera H.) (pp.139-156). *Ediciones Universitarias de Valparaíso*, Valparaíso, Chile.
- **Araus, J.L., Casadesus J. & Bort J., 2001.** Recent tools for the screening of physiological traits determining yield. In 'Application of physiology in wheat breeding'. (Eds. Reynolds, M., Ortiz-Monasterio, JI. y McNab, A.). (pp.59–77). CIMMYT: México D.F.
- **Araus, J.L., Slafer G.A., Reynolds M.P. & Royo C., 2002.** Plant breeding and drought in C3 cereals: What should we breed for? *Annals of Botany* 89:(pp.925–940).
- **Arboleda, M.E., 2011.** Efecto de la irradiancia en el crecimiento y desarrollo de *Aptenia cordifolia* (L.f.) Schwantes como cobertura ornamental. *Bioagro*, 23:(pp.175-184).
- **Arilla, J.P., 1998.** Notas sobre teoría de mejora genética (Vol. 49). Univ. Autónoma de Barcelona.
- **Avendaño-Arrazate, C.H., Iracheta-Donjuan L., Gódinez-Aguilar J.C., López-Gómez P., & Barrios-Ayala A., 2016.** Caracterización morfológica de *Agave cupreata*, especie endémica de México. *Phyton, International Journal of Experimental Botany*, 84:(1), (pp.148-162).
- **Ayala-Cordero, G., Terrazas T., López-Mata L. & Trejo C., 2006.** Morpho-anatomical changes and photosynthetic metabolism of *Stenocereus beneckeii* seedlings under soil water deficit. *Journal of Experimental Botany* 57:(pp.3165-3174).

- **Azcon, J. & Talon M., 1993.** Fisiología y bioquímica vegetal. McGraw Hill – Interamericana de España. Madrid. (pp.581).
- **Babar, M.A., Van Ginkel M., Klatt A.R., Prasad B. & Reynolds M.P., 2006.** The potential of using spectral reflectance indices to estimate yield in wheat grown under reduced irrigation. *Euphytica* 150:(pp.155–172).
- **Barceló, C.J., Nicolás R.G., Sabater G.B. & Sánchez R.T., 1995.** Nutrición mineral. En: Fisiología vegetal. (7ªEd.) Ediciones Pirámide S.A., Madrid. (pp.151-167).
- **Baret, F. & Guyot G., 1991.** Potentials and limits of vegetation indices for LAI and APAR assessment. *Remote Sensing of Environment* 35:(pp.161–173).
- **Baskin, C.C., & Baskin J.M., 1988.** Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany*. 75:(pp.286-305).
- **Benzing, D.H., 1990.** *Vascular Epiphytes*. Cambridge University Press, Cambridge.
- **Berumen-Barbosa, M.E., 2009.** Oaxaca: La actividad productiva Maguey-Mezcal. Santiago Matatlán, Tlacolula, Oaxaca, México. (pp.43).
- **Bourguiba H., Audergon J.M., Krichen L., Trifi-Farah N., Mamouni A., Trabelsi S., D'Onofrio C., Asma B.M., Santoni S. & Khadari B., 2012.** Loss of genetic diversity as a signature of apricot domestication and diffusion into the Mediterranean Basin. *BMC Plant Biology*. (pp.12:49).
- **Burley, J. & Wood P.J., 1979.** Manual sobre investigaciones de especies y procedencias con referencia especial a los trópicos. Commonwealth Forestry Institute, Oxford. *Tropical Forestry papers*. 10, 10ª. (pp.297).
- **Calderón, G. & Rzedowski J., 2001.** Flora Fanerogámica del Valle de México. (2ªEd). Instituto de Ecología, A. C. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán. México. (pp.1406).
- **Carvalho, N., Pelacani C.I., M. de Souza & Crepaldí I. 2006.** Crescimento inicial de plantas de licuri (*Syagrus coronata* (MART.) BECC.) Em diferentes níveis de luminosidade. *R. Árvore* 30:(3), (pp.351–357).
- **Cervera, J.C., Andrade J.L., Simá J.L. & Graham E.A., 2006.** Microhabitats, germination, and establishment for *Mammillaria gaumeri* (Cactaceae), a rare species from Yucatan. *International Journal of Plant Sciences* 167:(pp.311-319).
- **Cockburn, W., 1981.** The evolutionary relationship between stomatal mechanism, crassulacean acid metabolism and C4 photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 4:(pp.417-418).
- **Cockburn, W., 1985.** Stomatal mechanism as the basis of evolution of crassulacean acid metabolism. *Nature* (pp.314:200).
- **Cogua, J., 2011.** Curso virtual de fisiología vegetal. Bogotá, D.C.: Universidad Nacional de Colombia.

- **Colunga-García Marín, P., Larqué-Saavedra A., Eguiarte, L.E. & Zizumbo-Villarreal D., 2007a.** El futuro de lo ancestral. (pp.395-402). En: 'En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves'. (Eds. Colunga-García Marín, P., Larqué-Saavedra A., Eguiarte, L.E., Zizumbo-Villarreal D.). CICY, CONACYT; CONABIO; SEMARNAT; INE. Mérida, Yucatán, México.
- **Colunga-García Marín, P., Zizumbo-Villarreal D. & Martínez T.J., 2007b.** Tradiciones en el aprovechamiento de los agaves mexicanos: una aportación a la protección legal y conservación de su diversidad biológica y cultural. (pp.229-248). En: 'En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves'. (Eds. Colunga-García Marín, P., Larqué-Saavedra A., Eguiarte, L.E., Zizumbo-Villarreal D.). CICY, CONACYT; CONABIO; SEMARNAT; INE. Mérida, Yucatán, México.
- **Comisión Nacional Forestal (CONAFOR), 2010.** Catálogo de recursos forestales maderables y no maderables, áridos, tropicales y templados. SEMARNAT.
- **Cornelius, J.P., 1994.** Introducción al mejoramiento genético forestal. En: Manual sobre mejoramiento genético forestal con referencia especial a América Central (Cornelius, JP; Mesén, JF; Corea, E., Eds.). Proyecto Mejoramiento Genético Forestal, CATIE. *Turrialba*. (pp.1-23).
- **Cornelius, J.P., 1996.** Selección, heredabilidad y ganancia genética. In Curso para Profesores Mejoramiento Genético, Selección y Manejo de Fuentes Semilleras y de Semillas Forestales. Turrialba. Costa Rica. *Proyecto Semillas Forestales*.
- **Curtis, H. & Barnes S., 2001.** Biología. Editorial Panamericana. (pp.961-964).
- **Eguiarte, L.E., Aguirre X., Rocha M., Torres C., Silva A. & Valera A., 2003.** Diversidad genética en dos especies mezcaleras. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología. Informe final SNIB-CONABIO Proyecto No. V038. México D. F.
- **Eguiarte, L.E., Aguirre-Planter E., Aguirre X., Colín R., González A., Rocha M., Scheinvar E., Trejo L. & Souza V., 2013.** From isozymes to genomics: population genetics and conservation of Agave in México. *The Botanical Review* 79:(pp.483-506).
- **Eguiarte, L.E., Silva A. & Souza V., 2000.** Biología evolutiva de la familia Agavaceae: biología reproductiva, genética de poblaciones y filogenia. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 166:(pp.131-150).
- **Falconer, D.S. & Mackay T.C., 1989.** Introduction to quantitative genetics. John Willey and Sons. Inc., New York.
- **Farfán Vázquez, E.D.G., Jasso Mata J., López Upton J., Ramírez Herrera C., & Vargas Hernández J.J., 2002.** Parámetros genéticos y eficiencia de la selección temprana en *Pinus ayacahuite Ehren. var. ayacahuite*. *Revista Fitotecnica Mexicana*.

- **Flores Flores, C., López Upton J. & Valencia Manzo S., 2017.** Manual técnico para el establecimiento de ensayos de procedencias y progenies. CONAFOR.
- **García, P., 2004.** Reproducción y germinación de *Agave cupreata* Trel. & Berger (*Agavaceae*) en la localidad de Ayahualco, Guerrero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. (pp.78).
- **García-Herrera, E.J., Méndez-Gallegos S.J., & Talavera-Magaña D., 2010.** El género *Agave spp.* en México: principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. *Revista Salud Pública y Nutrición, Special Ed. 5:*(pp.109-129).
- **García-Mendoza, A. & Galván V.R., 1995.** Riqueza de las Familias *Agavaceae* y *Nolinaceae* en México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 56:(pp.7-24).
- **García-Mendoza, A., 1992.** Con Sabor a Maguey, Guía de la colección Nacional de *Agavaceae* y *Nolinaceae* del Jardín Botánico, Instituto de Biología UNAM, Jardín Botánico, IB-UNAM. México. (pp.47).
- **García-Mendoza, A.J., 2007.** Los Agaves de México. *Ciencias-Universidad Nacional Autónoma de México*, 87:(pp.14–23).
- **Gentry, H.S., 1982.** Agaves of Continental North America. The University of Arizona Press, Tucson, Arizona.
- **Giordano, M., Beardall J. & Raven J.A., 2005.** CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annual Review of Plant Biology* 56:(pp.99-131).
- **Golubov, J., Mandujano M.C., Arizaga S., Martínez-Palacios A. & Koleff P., 2007.** Inventarios y conservación de *Agavaceae* y *Nolinaceae*. (pp.133-152). En: 'En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves'. CICY-CONACYT-CONABIO-INE. México.
- **Granados, S.D., 1993.** Los agaves de México. Universidad Autónoma de Chapingo. México. (pp.252).
- **Griffiths, H., 1989.** Carbon dioxide concentrating mechanisms and the evolution of CAM in vascular epiphytes. En: Lüttge U. Ed. *Vascular Plants as Epiphytes: Evolution and Ecophysiology*, Springer, Nueva York.
- **Griffiths, H., Helliker B., Roberts A., Haslam R.P., Girnus J., Robe W.E., Borland A.M. & Maxwell K., 2002.** Regulation of rubisco activity in crassulacean acid metabolism plants: better late than never. *Functional Plant Biology* 29:(pp.689-696).
- **Háuad-Marroquín, L.A., Pérez-Liñán A., Resendez-Pérez D., Moreno C., Lara-Vásquez S., & Lázaro-López D., 2010.** Determinación química y estudio terapéutico de *Agave tequilana weber*. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 5:(pp.254-265).
- **Hausler, R.E., Hirsch H.J., Kreuzaler F. & Peterhänsel C., 2002.** Overexpression of C4-cycle-enzymes in transgenic C3 plants: a

biotechnological approach to improve C3 photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 53:(pp.591-607).

- **Hernández-González, O. & Briones-Villarreal O., 2007.** Crassulacean acid metabolism photosynthesis in columnar cactus seedlings during ontogeny: the effect of light on nocturnal acidity accumulation and chlorophyll fluorescence. *American Journal of Botany* 94:(pp.1344-1351).
- **Hilhorst, H.W.M., 1998.** The regulation of secondary dormancy: The membrane hypothesis revised. *Seed Science Research*. 8:(pp.77-90).
- **Huang Y., Zhang C.Q. & Li D.Z., 2009.** Low genetic diversity and high genetic differentiation in the critically endangered *Omphalogramma souliei* (Primulaceae): implications for its conservation. *Journal of Systematics and Evolution* 47:(pp.103-109).
- **Illsley, C., Vega E., Pisanty I., Tlacotempa A., García P., Morales P., Rivera G., García J., Jiménez V., Castro F., Calzada M., 2007.** Maguey papalote: hacia el manejo campesino sustentable de un recurso colectivo en el trópico seco de Guerrero, México. (pp.319-340). En: 'En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves'. (Eds. Colunga-García Marín, P., Larqué-Saavedra A., Eguiarte, L.E., Zizumbo-Villarreal D.). CICY, CONACYT; CONABIO; SEMARNAT; INE. Mérida, Yucatán, México.
- **Illsley, G.C., Giovannucci D. & Bautista C., 2009.** La dinámica territorial de la zona mezcalera de Oaxaca entre la cultura y el comercio. Grupo de Estudios Ambientales A.C. México D.F. (pp.37).
- **Jordan, C.F., 1969.** Derivation of leaf area index from quality measurements of light on the forest floor. *Ecology* 50:(pp.663–666).
- **Keeley, J.E. & Rundel P.W., 2003.** Evolution of CAM and C4 carbon-concentrating mechanisms. *International Journal of Plant Sciences* 164:(pp.55-77).
- **Knipling, E., 1970.** Physical and physiological basis for the reflectance of visible and near-infrared radiation from vegetation. *Remote Sensing and Environment* 1:(pp.155–159).
- **Kozlowski, T., Kramer P. & Pallardy S. 1991.** The physiological ecology of woody plants. San Diego, Academic Press. (pp.657).
- **Larcher, W., 2003.** Physiological Plant Ecology. Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups. Springer, Berlín.
- **Leegood, R.C., 2002.** C4 photosynthesis: principles of CO<sub>2</sub> concentration and prospects for its introduction into C<sub>3</sub> plants. *Journal of Experimental Botany* 53:(pp.581-590).
- **Lopes, M.S., Nogués S., & Molero G., 2013.** Intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila—principios y aplicaciones. *TRIGO*. 8:(pp.81).
- **Lozano-del Rio, A.J., Zamora-Villa V.M., Ibarra-Jiménez L., Rodríguez-Herrera S.A., De la Cruz-Lázaro E. & De la Rosa-Ibarra M., 2009.** Análisis de la interacción genotipo-ambiente mediante el modelo AMMI y potencial de

producción de triticales forrajeros (X Triticosecale Wittm.). *Universidad y ciencia*. 25,1:(pp.81-92).

- **Lüttge, U., 2002.** CO<sub>2</sub> concentrating: consequences in crassulacean acid metabolism. *Journal of Experimental Botany* 53:(pp.2131-2142).
- **Lüttge, U., 2004.** Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). *Annals of Botany* 93:(pp.629-652).
- **Magari, R., & Kang M.S., 1993.** Genotype selection via a new yield-stability statistic in maize yield trials. *Euphytica*, 701:(pp.105-111).
- **Martin, M. P., Peters C.M., Palmer M.I., & Illsley C., 2011.** Effect of habitat and grazing on the regeneration of wild *Agave cupreata* in Guerrero, Mexico. *Forest Ecology and Management*, 262,8:(pp.1443-1451).
- **Martínez, N.D.A., Maass S.F., Pacheco E.V., & Bernal G.N., 2016.** Aprovechamiento de productos forestales no maderables en los bosques de montaña alta, centro de México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 7,37:(pp.21-38).
- **Martínez-Castro, L.E., Martínez-Palacios A., Sánchez Vargas N.M., Lobit P., Nápoles Álvarez C.R., Martínez Avalos J.G., Golubov J., 2015.** Poblaciones silvestres de Maguey Chino (*Agave cupreata*) en el Estado de Michoacán. (pp.167-176). En: 'Aspectos sobre el Manejo y Conservación de Agaves Mezcaleros en Michoacán'. (Eds. Martínez-Palacios A., J.L. Morales-García y S. Guillén Rodríguez). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo – Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación - Consejo Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación. Michoacán México. ISBN: 9786078116430.
- **Martínez-Salvador, M., Beltrán-Morales L., Valdéz-Cepeda R., Arias-Rubio H., Troyo-Diegez E., Murillo-Amador B., Galindo-Jiménez J., & Ortega-Rubio A., 2007.** Assessment of sustainability performance on the utilization of Agave (*Agave salmiana* ssp. *crassispina*) in Zacatecas, México. *International Journal of Sustainable Development & World Ecology* 14:(pp.362-371).
- **Martínez-Salvador, M., Rubio-Arias H. & Ortega-Rubio A., 2005.** Population structure of maguey (*Agave salmiana* ssp. *crassispina*) in southeast Zacatecas, Mexico. *Arid Land Research and Management* 19:(pp.101-109).
- **Martínez-Vargas, E.J., Martínez-Palacios A., Guillén Rodríguez S., Martínez Castro L.E., Sánchez Vargas N.M. & Ambríz Cervantes L., 2015.** Efecto de la temperatura y la humedad en el almacenamiento y la germinación de semillas de *Agave cupreata* y *A. inaequidens*. (pp.127-139), En: 'Aspectos sobre el Manejo y Conservación de Agaves Mezcaleros en Michoacán' (Eds. Martínez-Palacios A., J.L. Morales-García y S. Guillén Rodríguez). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo – Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación - Consejo Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación. Michoacán México. ISBN: 9786078116430.

- **Mejía-Salazar, J.R., 2014.** Evaluación de la interacción genotipo por ambiente para variedades transgénicas de algodón *Gossypium hirsutum*. Doctoral dissertation, Universidad Nacional De Colombia.
- **Méndez, M., Dorantes A., Dzib G., Argáez J. & Durán R., 2006.** Germinación y establecimiento de plántulas de *Pterocereus gaumeri*, una cactácea columnar, rara y endémica de Yucatán, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 79:(pp.33-41).
- **Mesen, F., 1994a.** Selección de especies y procedencias forestales. En: 'Curso nacional sobre identificación, selección y manejo e rodales semilleros'. Memorias. Agosto 1 al 5 de 1994. PROFESOR, CATIE/Danida. Baja Verapaz, Guatemala. (pp.11-28).
- **Mesen, F., 1994b.** Introducción al mejoramiento genético forestal. En: 'Curso nacional sobre identificación, selección y manejo e rodales semilleros'. Memorias. Agosto 1 al 5 de 1994. PROFESOR, CATIE/Danida. Baja Verapaz, Guatemala. (pp.29-44).
- **Moreno, V., Mercadet A., & Anton M., 1986.** Principios del mejoramiento genético forestal. En: 'Genética y mejoramiento arbóreo'. (Eds. Noda J., Moreno A.L.V., Gonzales A., Álvarez R.A., Mercadet B.A., Antón M. & Pérez S.). Centro universitario de Pinar del Rio. Ministerio de educación superior. Enpes. La Habana, Republica de Cuba. (pp.297).
- **Mullan, D., 2013.** Radiometría espectral. TRIGO Fitomejoramiento fisiológico I: enfoques interdisciplinarios para mejorar la adaptación del cultivo. CIMMYT. 7:(pp.69).
- **Namkoong, G., 1996.** Inbreeding effects on estimation of genetic additive variance. *For. Sci.* 12,1:(pp.8-13).
- **Nemali, K. & Van Iersel M., 2004.** Acclimation of wax begonia to light intensity: Changes in photosynthesis, respiration, and chlorophyll concentration. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 129,5:(pp.745-751).
- **Nevado, M. & Ortiz R., 1985.** Prueba de hipótesis en serie de ensayos. *AgroCiencia*, 1:(pp.23-37).
- **Nimmo, H.G., 2003.** How to tell the time: the regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase in crassulacean acid metabolism (CAM) plants. *Biochemical Society Transactions.* 31:(pp.728-730).
- **Nobel, P.S., 1988.** Environmental Biology of Agaves and Cacti. USA, Cambridge University Press, (pp.270).
- **Nobel, P.S., 1991.** Achievable productivities of certain CAM plants: basis for high values compared with C3 and C4 plants. *New Phytologist* 119:(pp.183-205).
- **Nobel, P.S., 1998.** Los Incomparables Agaves y Cactus. Trillas, México.
- **Nobel, P.S., 2005.** Physicochemical and Environmental Plant Physiology. Elsevier/Academic Press. San Diego.
- **Orea Lara, G.A., Cifuentes Díaz de León S., Gómez Ortiz V. & Hernández-Vargas, 2006.** Germinación de semillas (*Agave durangensis*) a diferentes

temperaturas y efecto de la fertilización en el desarrollo de las plántulas. Vid Supra vol. 1 N°.2.

- **Paiva, E., Isaías R., Vale F. & Queiroz C., 2003.** The influence of light intensity on anatomical structure and pigment contents of *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. Purpurea Boom (*Commelinaceae*) leaves. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 46,4:(pp.617-624).
- **Pardo, O., 2005.** El agave americano (*Agave americana L.*): Uso alimentario en el Perú. *Chloris Chilensis* Año 8 N°.2.
- **Peñuelas, J., Filella I. & Gamon J. A., 1995a.** Assessment of photosynthetic radiation-use efficiency with spectral reflectance. *New Phytologist* 131:(pp.307-315).
- **Peñuelas, J., Baret F. & Filella I., 1995b.** Semi-empirical índices to assess carotenoids/chlorophyll a ratio from leaf spectral reflectance. *Photosynthetica* 31:(pp.221-230).
- **Peñuelas, J., Filella I., Biel C., Serrano L. & Savé R., 1993.** The reflectance at the 950-970 nm region as an indicator of plant water status. *International Journal of Remote Sensing* 14:(pp.1887-1905).
- **Phillips, S.J., Anderson R.P. & Scaphire R.E., 2006.** Máximo entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190:(pp.231-259).
- **Pierce, B.A., 2009.** Genética: Un enfoque conceptual. Ed. Médica Panamericana.
- **Prasad, B., Carver B.F., Stone M.L., Babar M.A., Raun W.R. & Klatt A.R., 2007.** Potential use of spectral reflectance indices as a selection tool for grain yield in winter wheat under Great Plains conditions. *Crop Science*. 47:(pp.1426-1440).
- **Price, J.C. & Bausch W.C., 1995.** Leaf area index estimation from visible and near-infrared reflectance data. *Remote Sensing of Environment*. 52:(pp.55-65).
- **Rasband, W.S., 2007.** ImageJ, US National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA.
- **Reynolds, M.P., Ortiz-Monasterio J.I. & McNab A., 2001.** Application of Physiology in Wheat Breeding. CIMMYT. México, D.F. (pp.1-240).
- **Reynolds, M.P., Pask A.J.D., Mullan D.M., & Chavez-Dulanto P.N., 2013.** Fitomejoramiento fisiológico I: enfoques interdisciplinarios para mejorar la adaptación del cultivo. CIMMYT.
- **Reynolds, M.P., Rajaram S. & Sayre K.D., 1999.** Physiological and genetic changes of irrigated wheat in the post-green revolution period and approaches for meeting projected global demand. *Crop Science*. 39:(pp.1611-1621).
- **Rincón Guerrero, N., Olarte Quintero M.A., & Pérez Naranjo J.C., 2012.** Determinación del Área Foliar en Fotografías Tomadas con una Cámara

Web, un Teléfono Celular o una Cámara Semiprofesional. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 65,1:(pp.6399-6405).

- **Rouse, J.W., Haas R.H., Schell J.A. & Deering D.W., 1973.** Monitoring vegetation systems in the great plains with ERTS. In: 'Third ERTS Symposium' (NASA). 1:(pp.309-317).
- **Ruvalcaba, R.D. & Rodríguez B.G., 2002.** Aberrant meiotic behavior in *Agave tequilana* Weber var. Azul. *Plant Biology*. 2:(pp.10-14).
- **Sáenz, R.C., & Plancarte B.A., 1991.** Metodología para el establecimiento y evaluación de ensayos de progenies en especies forestales. Serie de apoyo académico No. 46. División de Ciencias Forestales. Chapingo. México. (pp.47).
- **Salaya-Domínguez, J.M., López-Upton J., & Vargas-Hernández J.J., 2012.** Variación genética y ambiental en dos ensayos de progenies de *Pinus patula*. *Agrociencia*, 46,5:(pp.519-534).
- **Sánchez-Teyer, F., Moreno-Salazar S., Esqueda M., Barraza A. & Robert M.L., 2009.** Genetic variability of wild *Agave angustifolia* populations based on AFLP: A basic study for conservation. *Journal of Arid Environments* 73:(pp.611-616).
- **Schmidt, G., Stuntz S. & Zotz G., 2001.** Plant size ¿An ignored parameter in epiphyte ecophysiology? *Plant Ecology* 153:(pp.65-72).
- **Shorter, R., Lawn R.J. & Hammer G.L., 1991.** Improving genotypic adaptation in crops – a role for breeders, physiologists and modellers. *Experimental Agriculture*. 27:(pp.155–175).
- **Silva, J.M., 2001.** Selección natural, genética cuantitativa y evolución en culebras. *CIENCIA ergo-sum*. 8,1:(pp.56-61).
- **Squillace, A.E., 1974.** Average genetic correlations among offspring from open-pollinated forest trees. *Silvae gen*. 23,5:(pp.149-156).
- **Taiz, L. & Zeiger E., 2002.** Plant Physiology. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts.
- **Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero C., & Guzmán-Reyna R.R., 2005.** Control genético de características de crecimiento en vivero de plántulas de *Pinus oocarpa*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28:(pp.4).
- **White, T.L., Adams W.T., & Neale D.B., 2007.** Forest genetics. Cabi
- **Wiegand, C.L. & Richardson, A.J., 1990.** Use of spectral vegetation indices to infer leaf area, evapotranspiration and yield: II. Results. *Agronomy Journal* 82:(pp.630-636).
- **Winter, K. & Smith J.A.C., 1996.** An introduction to crassulacean acid metabolism: biochemical principles and biological diversity. En: 'Crassulacean Acid Metabolism' (Eds. Winter K. & Smith J.A.C). *Biochemistry, Ecophysiology and Evolution*. (pp.1-13), Springer, Berlín.
- **Wong, J., Thornber K. & Baker N., 2001.** Resource assessment of non-wood forest products. Non-wood Forest Products. Rome, FAO. (pp.124).

- **Yamada, Y., 1962.** Genotype by environment interaction and genetic correlation of the same trait under different environments. *遺伝学雑誌* 37,6:(pp.498-509).
- **Yeh, D. & Wang H., 2000.** Effects of irradiance on growth, net photosynthesis and indoor performance of the shade-adapted plant, maidenhair fern. *J. Hort. Sci. & Biotech.* 75,3:(pp.293-298).
- **Zamora Martínez, M.C., Torres R.J.M. & Zamora-Martínez L.I., 2001.** Análisis de la información sobre productos forestales no madereros en México. FAO. Santiago de Chile, Chile. (pp.120).
- **Zizumbo-Villarreal, D., Vargas-Ponce O., Rosales-Adame J.J. & Colunga-García-Marín P., 2013.** Sustainability of the traditional management of *Agave* genetic resources in the elaboration of mezcal and tequila spirits in western Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60:(pp.33-47).
- **Zobel, B.J., & Talbert J.T., 1988.** Técnicas de Mejoramiento Genético de Árboles Forestales. Limosa. México, D. F.
- **Zotz, G. & Hietz P., 2001.** The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52:(pp.2067-2078).

#### Consultas de internet:

- **CONABIO, 2009.** Mezcales. Historia natural. Biodiversidad Mexicana. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Último acceso en Abril, 2017. [En línea]. Sitio web: <http://www.biodiversidad.gob.mx/ usos/mezcales/mHistoria.html>
- **Medidor de pH, 2014.** El azúcar y los grados brix. Último acceso en Abril, 21, 2017. [En línea]. Sitio web: <http://medidordeph.com/blog/2014/09/el-azucar-y-los-grados-brix/>
- **Mezcalistas, 2014.** Mexico Cooks! guest blogs Michoacán Mezcal Uasisi, Brought to You By Mayahuel–The Goddess of Maguey. Último acceso en Mayo, 27, 2017. [En línea]. Sitio web: <http://mezcalistas.com/mexico-cooks-guest-blogs-michoacan-mezcal-uasisi-brought-to-you-by-mayahuel-the-goddess-of-maguey/>

## 9. ANEXOS

### Anexo 1. Trasplante a campo

Al finalizar la fase de evaluación en invernadero, las plantas del experimento se trasplantaron a campo bajo un ensayo de jardín común (Figura 6). El sitio de trasplante fue en Arroyo Colorado, justo a un lado del invernadero de dicho sitio. El trasplante se realizó durante los primeros 15 días de Julio del año 2016, justo en la temporada de lluvias.



Figura 6. Ensayo en campo en Arroyo Colorado

Previamente al trasplante, al momento de hacer las evaluaciones fisiológicas en invernadero, todas las plantas fueron etiquetadas, identificando en sus hojas su invernadero de origen, el bloque dentro del invernadero, la progenie dentro del bloque, y su posición (ubicación) dentro de la parcela experimental, esto se hizo para llevar su seguimiento en campo.

### Diseño experimental en campo

El ensayo en campo se estableció bajo un diseño experimental de bloques completamente al azar. Se establecieron 35 bloques con 96 plantas por bloque, cada bloque tiene cuatro repeticiones de cada progenie. Los bloques constan de cuatro filas con las 24 progenies colocadas aleatoriamente, alternando dos filas de plantas procedentes del invernadero del IIAF-Posta, y dos filas de plantas procedentes del invernadero de Arroyo Colorado.

Cabe mencionar que únicamente los primeros 6 bloques contienen todas y cada una de las 24 progenies, esto debido a la cantidad de planta existente de algunas progenies. En los bloques siguientes 7 – 35, a medida que se iban acabando algunas progenies, se colocaron plantas de las progenies con mayor número de individuos, por lo tanto, en esos bloques hay progenies que tienen más de cuatro repeticiones.

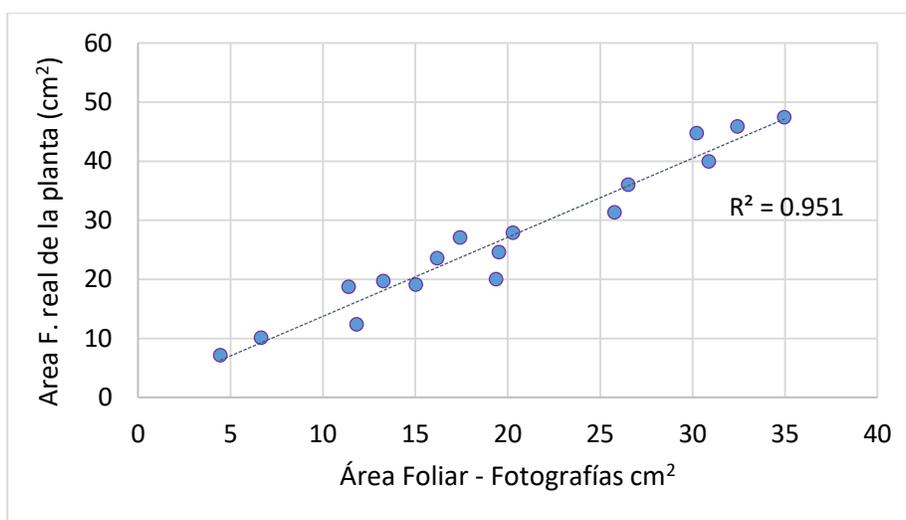
## Anexo 2. Método de medición de Área Foliar (AF) a los 9 meses

Para la medición del AF en invernadero, se capturaron series de fotografías, en donde cada fotografía abarca tres parcelas completas, siendo necesarias ocho fotografías para capturar un bloque completo, y un total de 80 fotografías para cada invernadero.

Para medir las plantas se utilizó el software para análisis de imágenes ImageJ (Rasband, 2007), que permite determinar el área de objetos gráficos en los que se introduce una referencia de tamaño conocido.

Previamente al análisis de las fotografías, se midieron 17 plantas mediante este método, y después se hizo un análisis destructivo en estas mismas plantas, en donde se midió el área de cada una de sus hojas para obtener el área total, con la ayuda de un papel con escala milimétrica. Posteriormente se hizo una correlación entre los dos métodos de medición para observar las relaciones alométricas de las fotos y las dimensiones reales de las plantas, de esta manera asegurar que las mediciones en las fotografías funcionaran correctamente para el experimento.

En la gráfica 8, se muestra la correlación entre el AF de las plantas medidas mediante las fotos y el AF real; en donde el AF medida en las fotos se muestra un poco menor que el AF real, debido a los traslapes de las hojas y a la perspectiva de la foto; sin embargo fue un buen estimador del área foliar de la planta.



Gráfica 8. Correlación Área foliar real – Área foliar por fotos

Cada fotografía muestra tres parcelas, y en cada parcela se pueden observar las 20 plantas ordenadas en dos filas con 10 plantas cada una. En las parcelas que había menos de 20 plantas, se dibujó un círculo rojo para indicar la posición de plantas faltantes, esto permitió llevar un orden para el seguimiento de cada una de

las plantas a lo largo del experimento. Para realizar las mediciones, las plantas se numeraron en cada parcela comenzando de izquierda a derecha y de arriba a abajo.

Para analizar las fotografías, se tomó como referencia de tamaño la distancia entre los hilos divisores de las parcelas, correspondiente a 20 cm.

Para medir las plantas, se utilizó la herramienta "*Polygon selections*", con esta herramienta se seleccionaron diferentes puntos, rodeando la periferia de la planta (Figura 7); finalmente el software calculó el área foliar a partir del perímetro seleccionado, el área se obtuvo en centímetros cuadrados.



Figura 7. Medición de área foliar en fotografía por el método de selección de polígonos. Se muestran los puntos que rodean la periferia de la planta, para el cálculo del área foliar.

### Anexo 3. Método de medición de AF a los 14 y 20 meses

Las plantas en campo, a los 14 meses, presentaban un mayor número de hojas, y por lo tanto, su forma de roseta más definida; por tal motivo se optó por utilizar la herramienta “*Oval selections*” para realizar su medición. Esta herramienta permite estimar el área y el diámetro dentro de la circunferencia seleccionada.

Previamente al análisis se hizo una correlación entre las mediciones hechas por el método de circunferencia, y el método utilizado anteriormente de selección de polígonos. En la figura 8, se muestran los 2 métodos de medición.

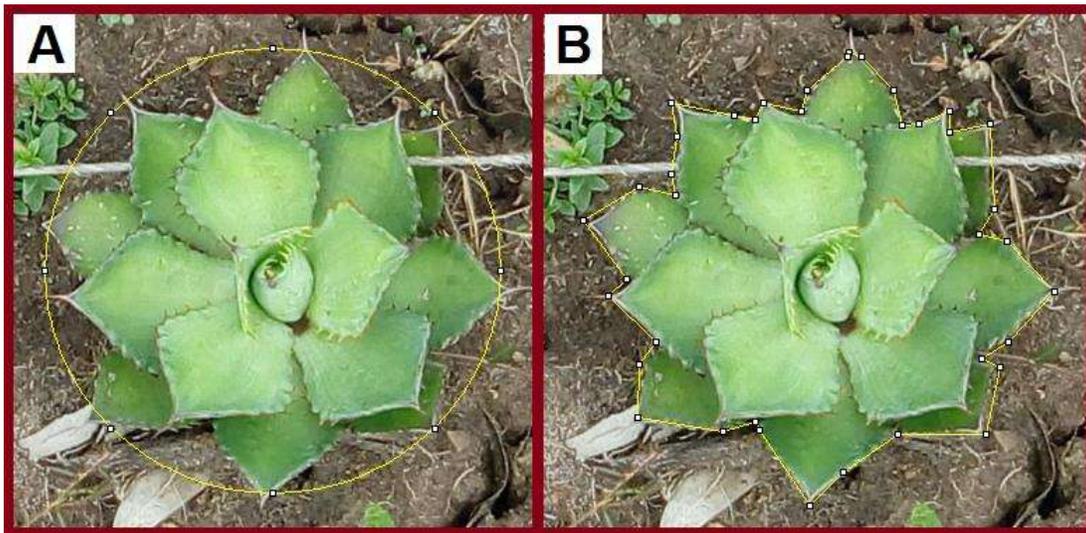


Figura 8. Métodos de medición de Área foliar. (A) Método de circunferencia. (B) Método de selección de polígonos.

#### Anexo 4. Análisis de varianza para la variable: Porcentaje de germinación (PG)

Cuadro 10. Análisis de varianza para la variable: Porcentaje de germinación

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Sitio	1	1856	1856	13.33	0.0003
Bloq(Sitio)	18	8784	488	3.50	<.0001
Fam	23	200388	8712	62.55	<.0001
Sitio*Fam	23	9742	424	3.04	<.0001
Error	414	57667	139		
Total	479	278438			

Cuadro 11. Niveles de significancia Tukey para la variable: Porcentaje de germinación

Tukey Agrupamiento					Media	Fam	
			A		76.2	4	
	B		A		72.3	22	
	B		A	C	64.9	2	
	B	D	A	C	62.7	23	
	B	D	A	C	62.7	21	
	B	D	A	C	61.4	8	
E	B	D	A	C	59.5	24	
E	B	D	A	C	54.5	20	
E	B	D	F	C	49.0	17	
E	B	D	F	C	G	46.8	1
E	B	D	F	C	G	46.6	3
E		D	F	C	G	44.9	10
E	H	D	F		G	37.7	13
E	H	D	F		G	37.1	11
E	H		F	I	G	33.3	7
E	H		F	I	G	32.9	18
	H	J	F	I	G	23.8	9
	H	J	F	I	G	23.6	16
	H	J		I	G	20.8	15
	H	J		I	G	20.8	5
	H	J		I		17.6	19
	H	J		I		14.3	6
		J		I		8.3	14
		J				4.9	12

## Anexo 5. Análisis de varianza para la variable: Área foliar – 9 meses

Cuadro 12a. Análisis de varianza global para la variable: Área foliar – 9 meses

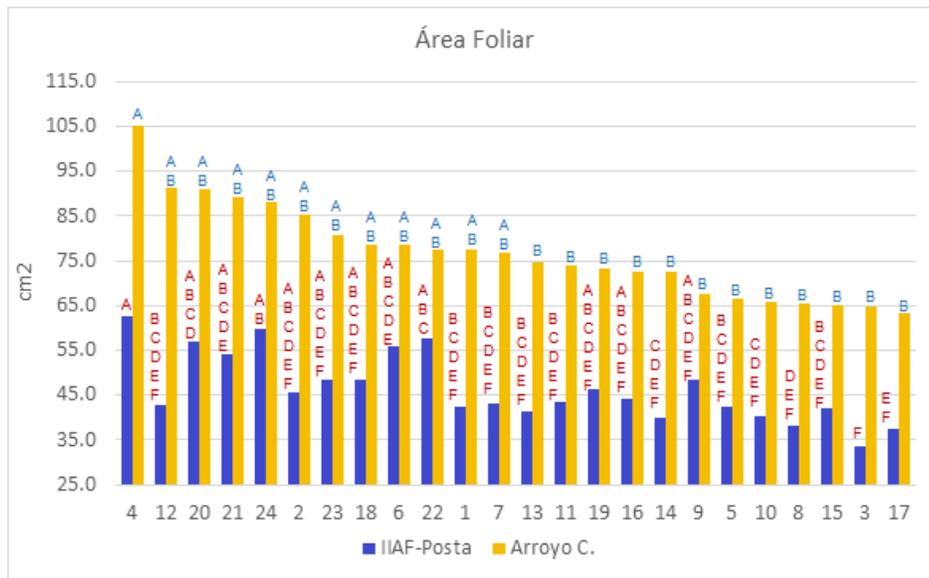
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Sitio	1	636128	636128	37.65	<.0001
Bloq(Sitio)	18	360675	20037	16.37	<.0001
Fam	23	389851	16950	9.50	<.0001
Sitio*Fam	23	41042	178	1.34	0.1366
Bloq*Fam(Sitio)	397	582745	1468	1.80	<.0001
Error	4152	3383802	815		
Total	4614	6197831			

Cuadro 12b. Análisis de varianza para la variable: Área foliar – 9 meses en IIAF-Posta

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloq	9	127704	14189	18.01	<.0001
Fam	23	109987	4782	5.71	<.0001
Bloq*Fam	196	180467	921	1.67	<.0001
Error	1995	1099973	551		
Total	2223	1642016			

Cuadro 12c. Análisis de varianza para la variable: Área foliar – 9 meses en Arroyo Colorado

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloq	9	232971	25886	15.80	<.0001
Fam	23	349614	15201	8.01	<.0001
Bloq*Fam	201	402279	2001	1.89	<.0001
Error	2157	2283830	1059		
Total	2390	3445145			

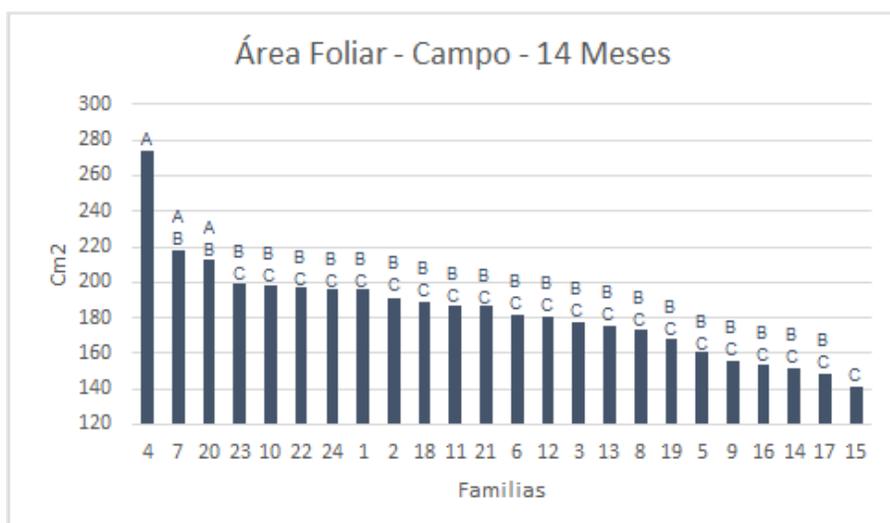


Gráfica 9. Área foliar – 9 meses. Se muestran los niveles de significancia de Tukey.

## Anexo 6. Análisis de varianza para la variable: Área foliar – 14 meses

Cuadro 13. Análisis de varianza para la variable: Área foliar – 14 meses

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloque	5	15286	3057	0.7	0.6269
Vivero	1	286	286	0.07	0.7988
Familia	23	430907	18735	4.26	<.0001
Error	544	2390636	4395		
Total	573	2837207			

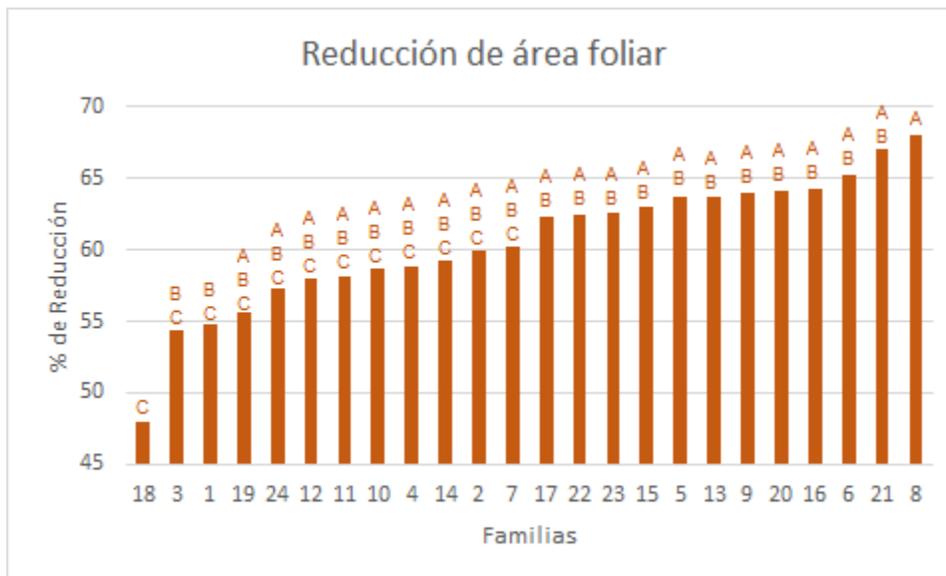


Gráfica 10. Área foliar – 14 meses. Se muestran los niveles de significancia de Tukey.

## Anexo 7. Análisis de varianza para la variable AF – 20 meses

Cuadro 14. Análisis de varianza para la variable: AF - 20 meses

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
<b>Bloque</b>	5	13057	2611	1.95	0.0838
<b>Vivero</b>	1	360	360	0.27	0.6040
<b>Familia</b>	23	120658	5246	3.93	<.0001
<b>Error</b>	544	726878	1336		
<b>Total</b>	573	860937			



Gráfica 11. Reducción de AF por estrés hídrico. Se muestran los niveles de significancia de Tukey.

## Anexo 8. Análisis de varianza para la variable: Número de hojas

Cuadro 15a. Análisis de varianza global para la variable: No. de hojas – 9 meses

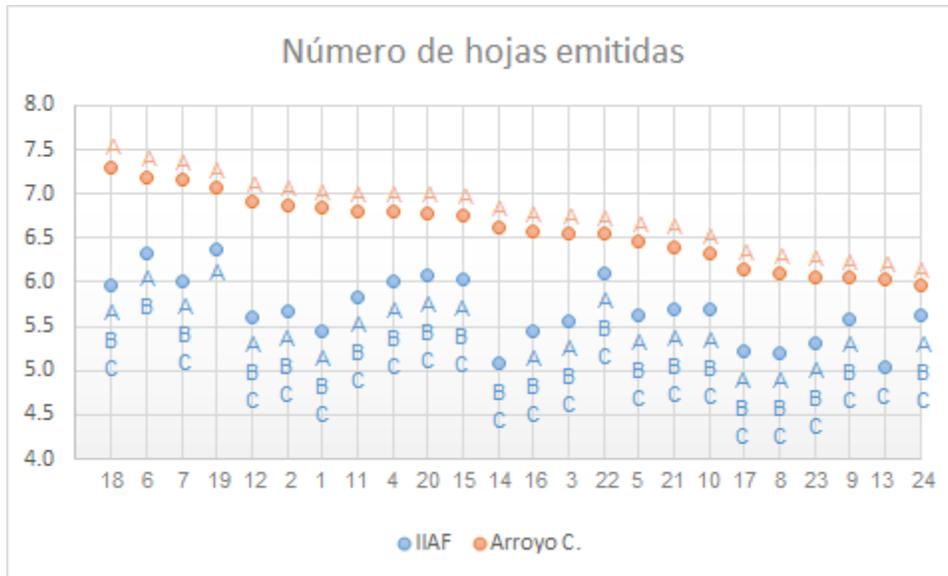
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Sitio	1	725	725	14.54	0.0012
Bloq(Sitio)	18	1080	60	17.73	<.0001
Fam	23	439	19.11	4.81	0.0002
Sitio*Fam	23	91	3.97	1.07	0.3763
Bloq*Fam(Sitio)	397	1632	4.11	1.9	<.0001
Error	4152	8968	2.16		
Total	4614	13978			

Cuadro 15b. Análisis de varianza para la variable: No. de hojas en IIAF-Posta – 9 meses

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloq	9	537	60	18.63	<.0001
Fam	23	207	8.98	2.59	0.0002
Bloq*Fam	196	767	3.91	2.02	<.0001
Error	1995	3872	1.94		
Total	2223	5861			

Cuadro 15c. Análisis de varianza para la variable: No. de hojas en Arroyo Colorado – 9 meses

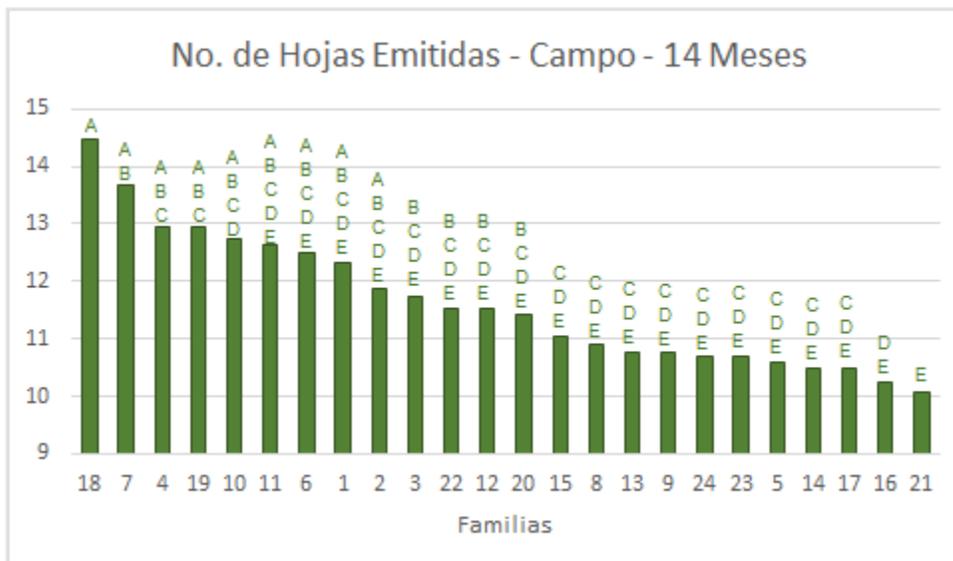
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloq	9	543	60.32	16.95	<.0001
Fam	23	334	14.50	3.54	<.0001
Bloq*Fam	201	866	4.31	1.82	<.0001
Error	2157	5097	2.36		
Total	2390	7281			



Gráfica 12. No. de hojas – 9 meses. Se muestran los niveles de significancia de Tukey.

Cuadro 16. Análisis de varianza para la variable: No. de hojas – Campo - 14 meses

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloque	5	7.14	1.43	0.23	0.9482
Vivero	1	1.14	1.14	0.19	0.6663
Familia	23	749	32.58	5.30	<.0001
Error	544	3341	6.14		
Total	573	4099			



Gráfica 13. No. de hojas – Campo – 14 Meses. Se muestran los niveles de significancia de Tukey.

## Anexo 9. Análisis de varianza para la variable: Peso de hoja

Cuadro 17. Análisis de varianza global para la variable: Peso de hoja – 9 meses.

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Sitio	1	231	231	67.30	0.0005
Bloq(Sitio)	4	11.67	2.92	1.35	0.2580
Fam	23	211	9.16	3.39	0.0025
Sitio*Fam	23	62.21	2.70	1.24	0.2275
Bloq*Fam(Sitio)	91	199	2.18	1.14	0.2148
Error	267	512	1.92		
Total	409	1253			

Cuadro 18. Análisis de varianza global para la variable: Peso de hoja – 14 meses.

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloque	3	4.94	1.65	0.25	0.8648
Vivero	1	0.87	0.87	0.13	0.7182
Familia	23	467.3	20.32	3.03	<.0001
Error	352	2364	6.71		
Total	379	2837			

Cuadro 19. Análisis de varianza global para la variable: Peso de hoja – 20 meses.

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloque	2	29.94	14.97	1.43	0.2424
Vivero	1	3.75	3.75	0.36	0.5505
Familia	23	713.28	31.01	2.95	<.0001
Error	259	2721	10.5		
Total	285	3467			

## Anexo 10. Análisis de varianza para la variable: Tamaño de Hoja (TH)

Cuadro 20. Análisis de varianza global para la variable: Tamaño de hoja – 9 meses

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Sitio	1	1481	1481	26.74	0.0075
Bloq(Sitio)	4	223	55.83	2.50	0.0474
Fam	23	2453	106.64	4.84	0.0002
Sitio*Fam	23	507	22.03	0.98	0.4938
Bloq*Fam(Sitio)	91	2050	22.53	1.14	0.2095
Error	267	5268	19.73		
Total	409	12205			

Cuadro 21. Análisis de varianza para la variable: Tamaño de hoja – 14 meses

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloque	3	3.13	1.04	0.02	0.9964
Vivero	1	7.52	7.52	0.14	0.7093
Familia	23	3821	166.14	3.07	<.0001
Error	352	19027	54.05		
Total	379	22857			

Cuadro 22. Análisis de varianza para la variable: Tamaño de hoja – 20 meses

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloque	2	89.17	44.58	0.55	0.5774
Vivero	1	19.98	19.98	0.25	0.6198
Familia	23	4487	195.07	2.41	0.0005
Error	259	20977	80.99		
Total	285	25569			

## Anexo 11. Análisis de varianza para la variable: Grados Brix

Cuadro 23. Análisis de varianza para la variable: Grados Brix – 9 meses

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Sitio	1	0.12	0.12	0.27	0.6399
Bloq(Sitio)	4	1.99	0.50	1.52	0.2031
Fam	23	12.25	0.53	1.86	0.0723
Sitio*Fam	23	6.60	0.29	0.86	0.6439
Bloq*Fam(Sitio)	91	30.08	0.33	1.21	0.1251
Error	267	73.62	0.28		
Total	409	124.45			

## Anexo 12. Análisis de varianza para la variable: REP (Red Edge Position)

Cuadro 24. Análisis de varianza global para REP – 9 meses

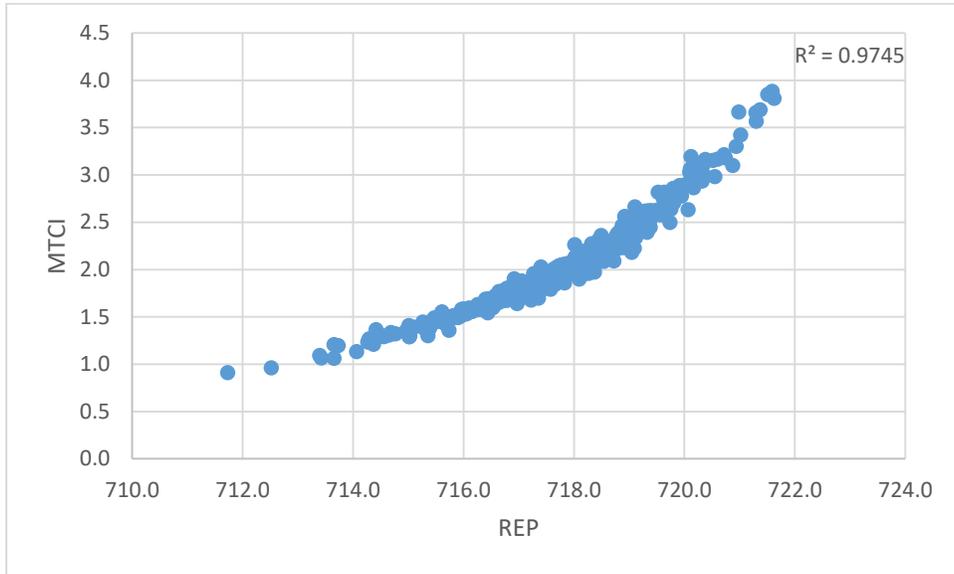
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Sitio	1	93	93	5.51	0.0760
Bloq(Sitio)	4	66	16.42	5.68	0.0004
Fam	23	204	8.87	2.65	0.0118
Sitio*Fam	23	77	3.35	1.15	0.3136
Bloq*Fam(Sitio)	91	272	2.99	2.21	<.0001
Error	267	361	1.352		
Total	409	1039			

Cuadro 25. Análisis de varianza para la variable: REP – 14 meses

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloque	3	29.9	9.98	2.07	0.1037
Vivero	1	30.64	30.64	6.36	0.0121
Familia	23	203	8.83	1.83	0.0119
Error	352	1696	4.81		
Total	379	1962			

Cuadro 26. Análisis de varianza para la variable: REP – 20 meses

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bloque	2	48.42	24.21	2.87	0.0585
Vivero	1	1.9	1.9	0.23	0.6353
Familia	23	504	21.91	2.60	0.0001
Error	259	2185	8.43		
Total	285	2742			



Gráfica 14. Correlación entre índices de reflectancia REP - MTCI