



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIODIVERSIDAD Y

CONSERVACIÓN

**Conservación de *Agave applanata* Hort. ex K. Koch
(Asparagaceae: Agavoideae) en su rango de
distribución: Una aproximación ecológica y molecular**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS EN BIODIVERSIDAD Y
CONSERVACIÓN**

P R E S E N T A:

M. en C. MARIO ADOLFO GARCÍA MONTES

DIRECTOR DE TESIS:

DR. PABLO OCTAVIO AGUILAR

MINERAL DE LA REFORMA, HGO., 2025

DEDICATORIA

“El hombre ahora puede volar por el cielo como un pájaro, puede nadar bajo el mar como un pez, puede excavar bajo la tierra como un topo. Ahora, si pudiera caminar por la tierra como un hombre, esto sería el paraíso.”

Esta tesis va dedicada a las tres mujeres más importantes de mi vida: Vero, Karen y Sari, quienes fungen como mi motor y motivación para continuar hacia adelante. Todo esto ha sido por y para ustedes... ¡Las amo! y como siempre se los digo, cuentan conmigo incondicionalmente.

En memoria de mis amigos y familiares que se han adelantado... Edith L.A.A., Daniel T.S., Mariano M.A. y Rubén M.A., siempre están en mi mente...

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis no hubiera sido posible sin el apoyo de varias personas a las que me gustaría mostrar mi agradecimiento:

En primer lugar, al Dr. Pablo Octavio Aguilar, por su labor como tutor demostrando no solo un gran conocimiento, sino también una comprensión, apoyo y empatía para formarme como un buen científico y persona. Agradezco recibirme como su alumno desde la licenciatura, por todas las pláticas, consejos y llamadas de atención. Como lo he venido diciendo y escribiendo: siempre estaré eternamente agradecido con usted.

Agradezco también a los miembros del comité por sus revisiones al trabajo y por sus consejos. De igual forma por haber aceptado unirse a este proyecto cuando ya estaba avanzado.

A mi familia, en especial a mamá Chique, mis tías, primos, primas y sobrinos; por comprenderme y apoyarme en momentos complicados. Sé que están muy orgullosos de mí, pues yo lo estoy de ustedes.

Al señor Leopoldo Cruz de BIOMATVI Laboratorio por compartirme sus conocimientos sobre *Agave applanata* en Hidalgo.

También quiero agradecer a mis amigos y compañeros de aventuras, Cynthia, Danny, Quique, Manu y Brandon. Los estimo mucho y siempre han estado ahí, en las buenas y en las malas para sacar una sonrisa y hacerme sentir que todo marcha bien. ¡Vivan los bio y geo amigos!

Además, me gustaría agradecer a Aura Ávila, por su apoyo incondicional, por estar ahí en los momentos más complicados de este proceso. Me has ayudado bastante en todos los sentidos, las palabras sobran para expresar todo lo que siento. ¡¡¡¡Continuemos hacia adelante mujercita!!!!

Por último agradezco a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tencología e Innovación (SECIHTI) por la beca número 892149.

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

School of Engineering and Basic Sciences

Área Académica de Biología

Department of Biology

Mineral de la Reforma, Hgo., a 18 de febrero de 2025

Número de control: ICBI-AAB/159/2025

Asunto: Autorización de impresión.

MTRA.OJUKY DEL ROCIO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

El Comité Tutorial de la tesis del programa educativo de posgrado titulado “**CONSERVACIÓN DE AGAVE APPLANATA HORT. Ex K. KOCH (ASPARAGACEAE: AGAVOIDEAE) EN SU RANGO DE DISTRIBUCIÓN: UNA APROXIMACIÓN ECOLÓGICA Y MOLECULAR**”, realizado por el sustentante **Mario Adolfo García Montes** con número de cuenta **238881** perteneciente al programa de **DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que el sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

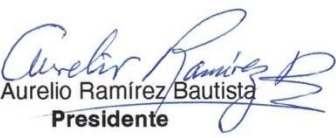
Atentamente
“Amor, Orden y Progreso”

El Comité Tutorial


Dr. Pablo Octavio Aguilar
Vocal


Dr. Arturo Sánchez González
Secretario




Dr. Aurelio Ramírez Bautista
Presidente


Dra. Dulce María Galván Hernández
Suplente

Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 40063, 40064 y 40065
aab_icbi@uaeh.edu.mx, maritzal@uaeh.edu.mx

uaeh.edu.mx



ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS	II
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN.....	III
ÍNDICE	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE TABLAS	VII
ABREVIATURAS	VIII
RESUMEN GENERAL	1
CAPÍTULO I:	4
DEMOGRAFÍA Y GENÉTICA DE POBLACIONES DEL GÉNERO AGAVE L. (ASPARAGACEAE: AGAVOIDEAE) EN MÉXICO E HIDALGO: UN PANORAMA GENERAL	4
INTRODUCCIÓN	5
El género <i>Agave</i>	7
Agaves en México	10
Demografía de agaves en México	12
Genética de poblaciones de agaves en México	13
Agaves en Hidalgo	14
Demografía de agaves en Hidalgo.....	17
Genética poblacional de agaves en Hidalgo.....	18
Uso y manejo de los recursos naturales.....	19
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
JUSTIFICACIÓN	21
OBJETIVO GENERAL	22
ESTRUCTURA DE LA TESIS	22
LITERATURA CITADA.....	24
CAPÍTULO II:	38
REVISIÓN SISTEMÁTICA PARA EL CONOCIMIENTO DE LA BIODIVERSIDAD MEXICANA: LOS AGAVES DE HIDALGO.....	38
CAPÍTULO III:	59
IMPACTO DE LA EXTRACCIÓN DE CHINICUIL (<i>Comadia redtenbacheri</i>) SOBRE LOS ASPECTOS DEMOGRÁFICOS DE POBLACIONES DEL MAGUEY DEL IXTLE (<i>Agave applanata</i>)	59
CAPÍTULO IV:	76
ANÁLISIS GENÉTICO POBLACIONAL DE <i>Agave applanata</i> HORT. EX K. KOCH. EN MÉXICO	76
INTRODUCCIÓN	77
HIPÓTESIS.....	79
OBJETIVOS PARTICULARES.....	79
MATERIALES Y MÉTODOS	79
Área de estudio.....	79
Colecta y procesamiento de material vegetal.....	81
Extracción de DNA	82
Amplificación de microsatélites.....	82
Análisis de los datos	83

Calidad de los datos.....	83
Diversidad genética	83
Estructura genética	84
RESULTADOS	85
Amplificación de microsatélites.....	85
Control de calidad de los datos	86
Diversidad genética	87
Estructura genética	89
Cuellos de botella	93
Análisis de neutralidad	93
DISCUSIÓN.....	96
Control de calidad de los datos	96
Diversidad genética	97
Estructura genética	100
Análisis de neutralidad	101
CONCLUSIONES	103
LITERATURA CITADA.....	104
CAPÍTULO V:	114
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES.....	114
INTRODUCCIÓN	115
Amenazas generales sobre los agaves	115
Amenazas puntuales sobre <i>Agave applanata</i>	117
Perspectivas sobre el aprovechamiento de <i>Agave applanata</i>	118
CONCLUSIONES	120
REFERENCIAS	122
ANEXOS	125
Anexo 1: Permiso de colecta	125
Anexo 2. Protocolo de extracción	129

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I:	4
DEMOGRAFÍA Y GENÉTICA DE POBLACIONES DEL GÉNERO AGAVE L. (ASPARAGACEAE: AGAVOIDEAE) EN MÉXICO E HIDALGO: UN PANORAMA GENERAL	4
Figura 1. Riqueza de especies del género <i>Agave</i> en México. Modificada de Eguiarte et al., 2021.	12
Figura 2. Ubicación de 21 especies en Hidalgo de acuerdo con Thiede, 2020.....	17
CAPÍTULO IV:	76
ANÁLISIS GENÉTICO POBLACIONAL DE AGAVE APPLANATA HORT. EX K. KOCH. EN MÉXICO	76
Figura 1. Localización de las poblaciones de <i>A. applanata</i> consideradas para los análisis genético-poblacionales. S.A.T.: San Agustín Tlaxiaca.	80
Figura 2. Proceso de secado de tejido foliar previo a la extracción de DNA. A: Corte de dientes laterales. B: Corte de tejido foliar. C: Tejido cortado y puesto en papel filtro. D: Etiquetado y asegurado con ligas. E: Secado en gel de sílice. F: Almacenamiento en bolsas Ziploc.....	81
Figura 3. Análisis DL entre loci. Azul: nula asociación; rojo intenso: mayor asociación.	87
Figura 4. Gráfico del Análisis de Varianza Molecular para <i>A. applanata</i> usando microsatélites.....	91
Figura 5. Árbol de agrupamiento basado en las distancias de diferenciación poblacional (F_{ST}) mediante el algoritmo Neighbour Joining. SAT: San Agustín Tlaxiaca.	91
Figura 6. Análisis de asignación genética. a) Método Gráfico del logaritmo natural de la probabilidad de asignación de los individuos a un grupo genético dado $\text{LnP}(D)$ propuesto por Evanno (2005). b) Distribución geográfica de los grupos obtenidos por el análisis de asignación. c) Asignación de los individuos considerando su procedencia, $K = 2$ grupos genéticos.	92
Figura 7. Análisis discriminante de componentes principales (DAPC). En color marrón se observan Zapotlán y Pachuca, de azul, el resto de las poblaciones.	93
Figura 8. Análisis de neutralidad. Se muestran los <i>loci</i> que se alejan de lo esperado para la neutralidad. Amarillo: <i>loci</i> neutrales, Blanco: <i>loci</i> influenciados por selección estabilizadora Rojo: <i>loci</i> influenciados por selección disruptiva.	95

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO IV:	76
ANÁLISIS GENÉTICO POBLACIONAL DE AGAVE APPLANATA HORT. EX K. KOCH. EN MÉXICO	76
Cuadro 1. Nombre y ubicación geográfica de ocho poblaciones de <i>A. applanata</i> consideradas para este estudio. ID Población: Abreviatura de la población.	80
Cuadro 2. Loci seleccionados para la evaluación genética poblacional de <i>A. applanata</i> en México. Ta (°C) R: Temperatura de alineamiento en grados Celsius reportada. Ta (°C) A: Temperatura de alineamiento en grados Celsius en este trabajo. Pb: Rango del tamaño en pares de bases de los alelos reportados en las referencias. En rojo: <i>Loci</i> que fallaron en la obtención de productos de PCR para todas las poblaciones de <i>A. applanata</i> aquí evaluadas.	86
Cuadro 3. Variación genética de 14 <i>loci</i> utilizados para la comparación de ocho poblaciones de <i>A. applanata</i> en México. Pb: Intervalo de tamaño de los amplificadores en pares de bases, N: Tamaño de muestra, NA: Número de alelos por locus, A: Promedio de alelos, Ta: Temperatura de alineamiento, Ne: Número efectivo de alelos, I: Índice de Shannon, H _O : Heterocigosis observada, H _E : Heterocigosis esperada, ECh: Estimador Chakraborty.	88
Cuadro 4. Descripción genética de cuatro poblaciones analizadas de <i>Agave applanata</i> en México. N: Tamaño de muestra, A: Promedio de alelos por locus, Ne: Número efectivo de alelos por locus, I: Índice de Shannon, H _O : Heterocigosis observada, H _E : Heterocigosis esperada, <i>f</i> : Coeficiente de fijación, %P: Porcentaje de polimorfismo, HW: Equilibrio de Hardy-Weimberg; χ^2/gl , ***: $p < 0.0001$, ES: Error estándar.	89
Cuadro 5. Alelos exclusivos en las ocho poblaciones de <i>A. applanata</i> analizadas. pb: pares de bases del alelo exclusivo, Freq: Frecuencia.	89
Cuadro 6. Número de individuos migrantes por generación (diagonal superior) e índices de diferenciación pareados (diagonal inferior) entre las poblaciones de <i>A. applanata</i> analizadas. Nm: Migrantes por generación, FST: Índice de diferenciación pareados. Las letras en negritas indican la mayor similitud poblacional.	90
Cuadro 7. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de <i>A. applanata</i> usando microsatélites.	90
Cuadro 8. Frecuencias alélicas para los <i>loci</i> alejados de la neutralidad en ocho poblaciones de <i>Agave applanata</i> . Pb: Tamaño en pares de bases del alelo, Mam: Mambrú, Zap: Zapotlán, SAT: San Agustín Tlaxiaca, Pach: Pachuca, Tul: Tulancingo, Tep: Tepelmeme, Cad: Cadereyta, Min: Mineral de Pozos.	94

ABREVIATURAS

µl	microlitros
µM	micromolar
AMOVA	Análisis Molecular de la Varianza
ANP	Área Natural Protegida
CITES	Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres
CONANP	Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas
CTAB-PVPP	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio-polivinilpolipirrolidona
DAPC	Análisis Discriminante de Componentes Principales
DNA	Ácido desoxirribonucleico
F_{IS}	Coefficiente de endogamia dentro de las poblaciones
F_{ST}	Coefficiente de diferenciación poblacional.
H'	Diversidad genética de Nei
H_O	Heterocigosis observada
H_s	Variación genética dentro de las poblaciones
ISSR	Secuencias Repetidas Intergénicas Simples.
ISTR	Repetición Etiquetada de Secuencia Inversa
IUCN	Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza
LC	Categoría de riesgo para preocupación menor
m	metros
m²	metros cuadrados
Ma	millones de años
Msnm	metros sobre el nivel del mar
Ng	nanogramos
Nm	Número de migrantes por generación
NOM	Norma Oficial Mexicana
pH	potencial de iones Hidrógeno
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
S.L.P.	San Luis Potosí
SEMARNAT	Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales
SSR	Secuencias Simples Repetidas
STE	Cloruro de sodio-Tris-EDTA
TE	Tris-EDTA
VU	Categoría de riesgo vulnerable
Λ	Tasa finita de crecimiento poblacional

RESUMEN GENERAL

Este trabajo se enmarca en una visión integradora entre la ecología poblacional, la genética de la conservación y la etnobiología. Ninguno de los tres ejes podría ser considerado único o prioritario, más bien cada uno aporta una visión propia para que el lector tenga un contexto general y pueda rescatar aquella información de valor en su propia formación.

Como antecedente necesario para enmarcar la investigación, es importante destacar que la información sobre el número de especies de agaves que se distribuyen en el estado Hidalgo era dudosa, muchas de ellas con manejo ornamental, para producción de fibras o bebidas alcohólicas; algunas autóctonas y otras introducidas. Por tal motivo, en el capítulo dos se muestran las especies registradas para la entidad mediante una búsqueda exhaustiva en literatura científica, bases de datos digitales y visitas a herbarios; esta información se muestra como artículo de revisión sistemática

El sujeto de estudio es *Agave applanata* Hort. Ex. K. Koch., con énfasis particular en las poblaciones Hidalguenses, sometidas a extracción de “chinicuil” (*Comadia redtenbacheri*), una larva de palomilla nocturna utilizada en la gastronomía del estado, cuyo valor cultural, alimenticio y económico para la gente local es imprescindible. Los datos obtenidos a nivel genético y demográfico fueron comparados con tres poblaciones sin extracción en los estados de Guanajuato, Oaxaca y Querétaro. El objetivo general del trabajo fue analizar demográfica y genéticamente ocho poblaciones de *Agave applanata* Hort. ex K. Koch., en México; para identificar los procesos antrópicos, ecológicos y evolutivos a los cuales está sometida esta especie. Con un enfoque particular sobre el uso para la extracción del chinicuil, mismo que queda circunscrito en la justificación y a lo largo del texto.

Si bien, dentro de este trabajo no hay un análisis propiamente etnobotánico, los resultados de una publicación previa alimentan toda la problemática y propuesta integradora de esta tesis. Allí, los autores mostramos la importancia del chinicuil, el efecto general de la extracción sobre las poblaciones y de su hospedero; así como un contexto general e histórico de esta tradición (García-Montes et al., 2023).

La primera parte del análisis evaluó la dinámica demográfica en estas ocho poblaciones considerando el efecto del manejo y la perturbación sobre los indicadores de crecimiento poblacional. La hipótesis de trabajo planteaba que la extracción del chinicuil condicionaba la persistencia de las poblaciones, lo cual fue corroborado, con particular énfasis en la categoría de juveniles, individuos menores de 20 centímetros, los cuales son los más atacados durante la extracción. Pero, en las poblaciones donde no existe este aprovechamiento dirigido, la perturbación antrópica parece favorecer el crecimiento poblacional, de tal manera que, *A. applanata* es una especie tolerante a la perturbación siempre que no se extraiga a los individuos antes de alcanzar su etapa reproductiva. Finalmente, es notorio que estas afectaciones se manifiestan cuando se considera la reproducción vegetativa, pues al considerar la reproducción sexual, las semillas difícilmente germinan y las plántulas no transitan a la etapa juvenil lo que incrementa la importancia de este trabajo.

En cuanto a la evaluación genética, las poblaciones son homogéneas aún cuando se encuentran separadas por cientos de kilómetros, las únicas dos poblaciones con mayor divergencia se encuentran en Hidalgo coincidiendo con las zonas con mayor extracción de chinicuil. La endogamia es alta y hay cuellos de botella, lo que coincide con la historia de extracción y el manejo asociado con el intercambio de individuos para introducirlos en Oaxaca con fin de producción de fibras. Podemos concluir que la extracción de chinicuil afecta la

persistencia de las poblaciones de *A. applanata* en el corto (aspectos demográficos) y largo (aspectos genéticos) plazo.

CAPÍTULO I:

DEMOGRAFÍA Y GENÉTICA DE POBLACIONES
DEL GÉNERO *AGAVE* L. (ASPARAGACEAE:
AGAVOIDEAE) EN MÉXICO E HIDALGO: UN
PANORAMA GENERAL

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad, en sus diferentes niveles, es la base para el desarrollo socioeconómico mundial, puesto que los ecosistemas ofrecen bienes y servicios básicos (Moncada-Rojas, 2019), como son materiales, alimenticios y medicinales; regulación del clima, prevención de erosión, aporta nutrientes al suelo, así como el control biológico de plagas y enfermedades. Además, aporta a la expresión cultural y religiosa de los pueblos, brinda valores estéticos y oportunidades de educación e investigación científica (Adebayo, 2019; Cofré y Atala, 2019).

Debido a que la biodiversidad es crucial para el desarrollo de las sociedades, su conservación debe ser de interés para toda la humanidad. Sin embargo, actualmente nos enfrentamos a una profunda crisis ambiental que se caracteriza por una acelerada erosión y pérdida de esta diversidad, pues de acuerdo con algunas estimaciones y centrándonos en las esporofitas, han desaparecido a una tasa de casi tres especies al año desde 1900 a nivel mundial. Actualmente, dicha tasa de extinción es hasta 500 veces más alta de lo que se esperaría (Normander, 2012; Humphreys et al., 2019; Nic-Lughadha et al., 2020).

Las amenazas y causas directas de tal extinción varían entre grupos taxonómicos, entre las más comunes se encuentran destrucción, fragmentación y perturbación del hábitat, contaminación, sobreexplotación, introducción de especies exóticas y el cambio climático (Aguilar et al., 2008; Baena et al., 2008; Vranckx et al., 2012; Martínez-Meyer et al., 2014; Pérez-García, 2020). De igual manera, impacta en otros factores ecológicos, como la polinización, pues se ha observado que las tasas de visitas disminuyen en los fragmentos más aislados, afectando parámetros demográficos importantes como la fecundidad (Breed et al., 2015; Pardini et al., 2018; Aguilar et al., 2019). Por lo tanto, estos factores pueden afectar procesos ecológicos (p.ej. dispersión de gametos, procesos demográficos) y evolutivos (p. ej. selección natural, diversidad genética).

Considerando que actualmente es casi imposible encontrar ambientes en condiciones prístinas, debido a que las actividades humanas son dominantes en la totalidad del globo; el efecto de la antropización sobre los procesos ecológicos y evolutivos que determinan la distribución y abundancia de las especies, no se puede contrastar adecuadamente contra ambientes naturales. No obstante, existe una gradualidad en las actividades que podrían establecer una magnitud del daño, conocer tal valoración, es importante para la conservación de plantas con importancia económica, ecológica y cultural (Harper, 1980; Silvertown y Charlesworth, 2009), pues la diversidad, tanto morfológica como genética, se asocia con el potencial evolutivo de las especies (Wright, 1984; Metcalf y Pavard, 2007).

Los magueyes son un grupo importante económica y culturalmente en México y el mundo. Los trabajos arqueológicos atestiguan su uso con fines alimenticios y para la obtención de fibras por parte de varios grupos que poblaron el continente desde Aridoamérica hasta el norte de Sudamérica, antes de la invasión española (De Balmis, 1794; Martín del Campo, 1938; MacNeish, 1967; Smith, 1967; Gonçalves-de Lima, 1978; Álvarez-Palma et al., 2008). Existe una antigua e íntima relación entre los grupos humanos y los agaves, conocidos y utilizados incluso antes que el maíz (Parsons y Darling, 2000).

Actualmente en México, es posible encontrar diversas técnicas de origen prehispánico de uso y manejo de los agaves que se han adecuado a las características regionales, muchas aún vigentes y de las cuales diversos grupos culturales dependen para su aprovechamiento. Los agaves son plantas comunes para diversos ecosistemas mexicanos, aunque existen pocos estudios formales que evalúen el efecto que ocasiona su manejo y aprovechamiento (Zizumbo-Villarreal et al., 2013; Delgado-Lemus et al., 2014; Torres et al., 2015; Torres-García et al., 2020).

Desafortunadamente, la creciente demanda de sus materias primas ha causado el declive de sus poblaciones naturales, junto con la fragmentación, el cambio de uso de suelo, prácticas poco

adecuadas y la sobreexplotación, entre otros (Martin et al., 2011; Gschaedler et al., 2017). Los resultados de estas presiones se han documentado en *Agave pelona*, *A. gypsophila*, *A. albopilosa*, *A. cupreata* y *A. titanota*, por mencionar algunos (IUCN, 2022).

Una forma de evaluar la persistencia (mantenerse estable en el tiempo, a pesar de las fluctuaciones en las condiciones ambientales y otros factores) y desempeño (capacidad para sobrevivir y reproducirse en un ambiente determinado) de las poblaciones de los agaves y otras plantas, es a través de información demográfica y genética. La primera, es la base para comprender la dinámica poblacional y la historia de vida de las especies, que describen la variación en la cantidad de individuos a lo largo del tiempo y/o el espacio, considerando la transición entre categorías, la permanencia de los individuos y la fecundidad poblacional (Carabias et al, 2009; Crone et al., 2011). Por su parte, la genética de poblaciones analiza y describe cómo se reparte la variación genética dentro y entre poblaciones (Wright, 1950), lo que permite inferir los procesos evolutivos operantes y sus consecuencias. Así, es posible integrar ambas disciplinas explorando la relación entre estructuras demográfica y genética (Lowe et al., 2017). Cabe resaltar que los estudios en agaves que utilizan de manera integral ambas aproximaciones son aún escasos (Martínez-Palacios, 1998; Scheinvar et al., 2016).

El género *Agave*

Los agaves, cuyo nombre proviene del griego “noble” o “admirable”, son plantas suculentas, monocotiledóneas, rosetófilas, en su mayoría monocárpicas y pertenecen a la subfamilia Agavoideae dentro de la familia Asparagaceae (Linnaeus, 1753; APG IV, 2016). Este género presenta el mayor número de especies en la subfamilia (273 de 637), (APG III, 2009; Stevens, 2017). Son endémicos de América, distribuidos desde el sur de Estados Unidos hasta Colombia y Venezuela e islas del Caribe. El género *Agave* se originó hace aproximadamente 7 millones de

años (Ma) y cuenta con 250 especies descritas, número que continua en aumento (Granados, 1993; Eguiarte et al., 2013; García-Mendoza et al., 2019; García-Morales et al., 2019; Basañez et al., 2020; Giraldo-Cañas, 2020; Jiménez-Barron et al., 2020; Starr, 2020; Eguiarte et al., 2021; Vázquez-García et al., 2022).

Existen dos subgéneros, que se diferencian morfológicamente por la inflorescencia espigada (*Littaea*) y paniculada (*Agave*). En general, su crecimiento es lento (8 a 20 años o más en alcanzar la madurez) emitiendo un pedúnculo floral largo de entre 8 y 10 m de altura que surge del centro del meristemo, con numerosos grupos de pequeñas flores tubulares en el subgénero *Agave*. Las espigas del *Littaea* llegan a medir de 3 a 5 m de alto (Gentry, 1982).

La polinización en los agaves la efectúan algunos animales, principalmente murciélagos nectarívoros y, en menor grado, aves como colibríes e insectos diurnos y nocturnos como abejas, abejorros y palomillas, lo que fomenta su capacidad de dispersión a otras áreas (Rocha y Eguiarte, 2005; Rocha, 2006; Rocha et al., 2006; Trejo-Salazar et al., 2015).

Debido a esto, en ambientes limitados hay cambios morfológicos del escapo que facilitan la polinización, lo que no es necesario en poblaciones abundantes, que por disponibilidad de recursos resultan atrayentes (Rocha et al., 2005; Avendaño, 2016). El número de flores y semillas varía entre especies, pero aun en aquellas en donde son abundantes, el establecimiento de plántulas es un fenómeno raro debido a que es la fase más vulnerable en su ciclo de vida, ya que tienen una cantidad limitada de reservas, baja capacidad para absorber agua y están expuestos a variaciones de temperatura en la superficie del suelo (Nobel, 1992; Arizaga y Ezcurra, 2002; Scheinvar et al., 2008; Rangel-Landa et al., 2015; Campos et al., 2020).

Al desarrollarse el escapo la planta madre muere, aunque muchas especies producen hijuelos en su base y en las axilas de la roseta, por lo que su monocarpía en sentido estricto aún es objeto de discusión (Simcha, 2007). Ante tal variación ambiental, poblacional y de

disponibilidad; muchas especies optan por la reproducción vegetativa, lo que reduce la competencia y garantiza la continuidad sin necesidad de la gran inversión que las estructuras reproductivas representan para la planta, aunque se sacrifica hasta cierto punto la recombinación genética (Barrett, 2015; Chen et al., 2019).

Es por ello por lo que, la mayoría de las especies del género *Agave* aseguran su reproducción con mecanismos como la generación de clones, producción de bulbilos cuando las flores son abortadas y estolones que emergen a alguna distancia de la planta madre, produciendo raíces que con el tiempo crecen de manera independiente, permitiendo así su propagación. Estas estrategias permiten a estas plantas dispersar un genet (grupo de individuos genéticamente idénticos). Unas de las ventajas de este tipo de propagación es que puede prolongar la vida de la roseta madre al distribuir el riesgo de mortalidad en el espacio al compartir algunas funciones fisiológicas, pero esto puede implicar el mantenimiento de las conexiones y el apoyo de numerosos hijuelos a expensas del clon parental pero, si estos clones son cortados de la planta madre, experimentan reducciones sustanciales en crecimiento, biomasa, sobrevivencia y reproducción comparado con clones intactos mientras que el clon parental incrementa significativamente su biomasa (Harnett y Bazzas, 1983, Callaghan, 1984).

Se ha comprobado que los *ramets* de agaves en ambientes desérticos (individuos independizados del clon parental) promueven la supervivencia de un genotipo en sitios donde el establecimiento de semillas es muy raro (Nobel, 1976; Raphael y Nobel, 1986). Por último, la reproducción vegetativa tiene la desventaja de que las plantas pueden tener una dispersión reducida en comparación con las semillas, aunque no en todos los casos sucede esto (Arizaga y Escurra, 1995, 2005; Mandujano, 2007). En conclusión, los agaves presentan ambos modos de reproducción y la frecuencia de uno u otro dependerá de la especie y las condiciones del hábitat,

pues algunas plantas crecen vegetativamente en condiciones ambientales desfavorables y sexualmente en condiciones ambientales favorables (Lei, 2010, Klimešová et al., 2021).

Agaves en México

De las más de 210 especies del género *Agave* en el mundo, 159 (75%) se encuentran en México y presentan una amplia distribución en la mayoría de los estados de la república (García-Mendoza et al., 2002). Estas plantas son muy comunes en las provincias áridas y semiáridas del centro y norte del país y su número disminuye hacia el sur de la república. Uno de los estados con mayor diversidad de magueyes en México es Oaxaca, pues no sólo conserva una gran riqueza de grupos taxonómicos sino también filogenéticos al contar con 43 especies de estas plantas distribuidas en su territorio, seguido de Jalisco con 38 y con 32 San Luis Potosí, Veracruz e Hidalgo (**Figura 1**). Aproximadamente el 61% de los 159 taxa son exclusivos del país, este alto grado de endemismo mexicano se debe a la heterogeneidad del territorio y a las propiedades intrínsecas de cada taxón, tales como su plasticidad genética, tolerancia ecológica, capacidad de dispersión, así como a sus interacciones bióticas con otros organismos como los polinizadores, y a eventos geoclimáticos históricos que han tenido lugar en Norteamérica, los cuales han influido en la distribución actual de las especies, debido a que es un grupo con una radiación relativamente reciente. Esta característica conlleva a que aún no estén bien establecidas las barreras de compatibilidad, lo cual permite que la hibridación entre especies sea un proceso recurrente en este grupo de plantas. Es por ello que representan un recurso genético importante para entender la diversificación taxonómica en plantas (Pinkava y Baker, 1995; Valverde et al., 1996; Good-Avila et al., 2006; Flores-Abreu et al., 2019; Jiménez-Barrón et al., 2020; Eguiarte et al., 2021).

Los agaves crecen en un gran número de hábitats en México, desde el nivel del mar hasta 3,400 metros de altitud, aunque son más comunes entre 1,000 y 2,000 metros. Abundan en

planicies y bases de las montañas de las zonas áridas y semiáridas, en sitios escarpados y expuestos dentro de los bosques templados y en paredes rocosas en las barrancas de las afluentes de las principales cordilleras montañosas del país. Son abundantes en diferentes tipos de matorral xerófilo, en bosque tropical caducifolio, bosque espinoso y pastizal, aunque también prosperan en tipos de vegetación templado, principalmente en bosques de encino y, en menor proporción, en el de coníferas y el mesófilo de montaña (Gentry, 1982; Granados, 1993). Los agaves no sólo tienen su máxima expresión de diversidad morfológica, filogenética y evolutiva en México, sino también cultural, puesto que los seres humanos que lo han poblado han sabido aprovechar al máximo los beneficios que producen. Estudios al respecto mencionan que, de todas las especies conocidas para México, aproximadamente 107 son usadas en la actualidad, repartidas en 22 categorías de uso, con cerca de 41 usos específicos (Colunga-GarcíaMarín et al., 2017).

Una de las acciones de conservación para el género, es la ocurrencia en áreas protegidas, como reservas de la biosfera y parques nacionales (Golubov, 2007). Cada vez es más evidente que aun cuando un hábitat esté protegido, las poblaciones naturales pueden desaparecer debido a la fragmentación, sin importar el tipo de protección del área, así como a otros factores que alteran la dinámica del ecosistema hasta que el hábitat sea inapropiado para un taxón. Los estudios demográficos ayudan a diseñar y dirigir programas de conservación *in situ* y *ex situ*, así como delimitar el aprovechamiento de especies amenazadas, por lo que integrarlos con estudios genéticos, es una estrategia para explorar la recuperación de especies o de determinados genotipos mexicanos (Allendorf y Luikart, 2009).

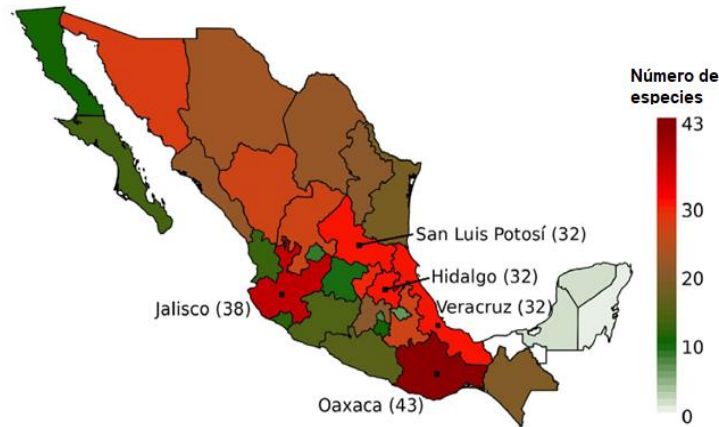


Figura 1. Riqueza de especies del género *Agave* en México. Modificada de Eguiarte et al., 2021.

Demografía de agaves en México

Se han encontrado densidades poblacionales de aproximadamente 9,240 individuos por hectárea en poblaciones de agaves mexicanos, lo cual puede considerarse como grande comparado con otras plantas suculentas y rosetófilas (Gentry, 1982; Martínez, 1985; Martínez et al., 1995; García-Mendoza, 2002; Martínez et al., 2005). En estas plantas, las semillas germinan rápidamente en contacto con el agua, aunque son pocas las que logran establecerse (Ramírez-Tobías et al., 2012; Ramírez-Tobías et al., 2014; Campos et al., 2020). Esto sugiere que la incorporación de nuevos individuos a partir de semillas es bajo y que este reclutamiento depende de eventos episódicos de abundante lluvia y de la protección por otras plantas que generen sombra, que las protejan del pisoteo por animales (efecto nodriza) y de la radiación solar (Rangel-Landa et al., 2015; Campos et al., 2020). De igual forma, se ha visto que las poblaciones bien conservadas tienen tasas de crecimiento poblacional cercanas al equilibrio (Torres-García et al., 2020). Además, algunos autores sugieren que la perturbación favorece de alguna manera a la tasa de crecimiento poblacional para algunas especies, así como la sobrevivencia de plántulas y semillas ya que los análisis de elasticidad muestran que la estasis y el crecimiento son los procesos demográficos que más aportan a la dinámica poblacional (Arias-Medellín et al., 2016).

Con esto, se concluye que la supervivencia de las plántulas, juveniles y adultos reproductivos es el factor de mayor importancia en el desempeño demográfico, pero simulaciones de viabilidad poblacional sugieren que las especies analizadas a este nivel peligran a corto plazo. Actualmente, análisis sobre la estructura poblacional de agaves mediante la restauración, han mostrado que la mortalidad se concentra en los individuos más pequeños y más grandes, y para generar diversas clases de tamaño en sitios perturbados, el trasplante parece ser un método adecuado, al mismo tiempo, mantener vegetación nativa y plantas nodrizas, facilita la conservación de la biodiversidad y de importantes interacciones para la restauración tanto en ecosistemas naturales como fragmentados y modificados a nivel de paisaje (Moreno-Calles y Casas, 2010; Arias-Medellín et al., 2016; Pavliscak y Fehmi, 2020).

Genética de poblaciones de agaves en México

Para las casi 150 especies de *Agave* conocidas en México, solo una baja proporción ha sido estudiada a nivel genético. En 22 especies de *Agave* distribuidos en México, Eguiarte y colaboradores (2013), encontraron altos niveles diversidad genética dentro de las poblaciones ($H_s = 0.19$) y una baja diferenciación ($F_{ST} = 0.15$) en comparación con otras monocotiledóneas (Hamrick y Godt, 1996). En su mayoría, estos estudios se abordaron con marcadores dominantes, los cuales tienen la desventaja de subestimar la diversidad genética, pues no se logra distinguir entre un genotipo homocigoto o heterocigoto.

En estudios más recientes con otro tipo de marcadores moleculares, como los microsatélites nucleares y secuencias; se han logrado registrar rangos mayores de diversidad genética tanto en poblaciones silvestres como cultivadas ($H_O = 0.30-0.87$), también se han encontrado valores más altos de diferenciación poblacional ($F_{ST} = 0.013- 0.49$) y coeficientes de endogamia ($F_{IS} = 0.05-0.42$) de moderados a altos (Eguiarte, 2000; Eguiarte et al., 2013; Eguiarte et al., 2021). Como

puede observarse, existe una amplia variación entre las especies analizadas, así como entre poblaciones silvestres y cultivadas.

Adicionalmente, este género de plantas se considera como un recurso genético potencial, debido a que algunas especies que se cultivan tienen su contraparte silvestre que tienen la característica de ser compatibles sexualmente, comparten la misma poza génica y son capaces de donar sus genes a través de estrategias reproductivas convencionales o bajo experimentos de laboratorio (Eguiarte et al., 2000; Pérez-Zavala et al., 2020)

Agaves en Hidalgo

Gentry (1982), en una de las primeras aproximaciones sobre la riqueza de agaves en el continente, registra para Hidalgo 15 especies, considerando variedades intraespecíficas de dos subgéneros y siete grupos: *Agave*: *Americanae* (1), *Ditepalae* (1), *Marginatae* (5) y *Salmianae* (4) y *Littaea*: *Filiferae* (1), *Polycephalae* (2) y *Striatae* (1). Cabe mencionar que *A. celsii* y su variedad *albicans* que se mencionan en dicho trabajo, cambiaron de nombre y ahora ambas pertenecen a la especie *A. mitis*, por lo que actualmente se considerarían 14 especies (Thiede, 2016). Por otra parte, Granados (1993) ubica a 15 especies del género *Agave*, tomando en cuenta el nombre común con el que se conocen en la localidad o la región. Villavicencio-Nieto y Pérez-Escandón (2003) en un estudio etnobotánico, encuentran solo ocho especies de agaves que se distribuyen en Hidalgo y muestran que seis de estas se usan de forma medicinal para diferentes afecciones. Golubov et al. (2007), con base en la clasificación de la CONANP, enlistan la riqueza de especies del género en diferentes áreas naturales protegidas por entidad federativa, y concluyen que en cuatro ANPs de Hidalgo se tienen registros de 27 especies de *Agave*.

Villaseñor y colaboradores (2016), mencionan que existen 32 especies de agaves en el estado y más recientemente, Thiede (2020) hace una recopilación de 21 taxa de este género en la

entidad, además, en dicho estudio no se encontraron sinonimias en los nombres. En los trabajos anteriores, se explica que algunos registros no han sido validados ni ubicados en campo, advierten que algunas identificaciones podrían ser erróneas, y por ello, la falta de datos y citas de varias muestras es común. En el proyecto de ciencia ciudadana “Naturalista” existen 590 observaciones que se traducen en un total de 26 especies del género para la entidad y en muy pocos casos es necesaria una identificación más robusta. Más recientemente Villaseñor et al., (2022) registran 21 especies de magueyes para el estado, dicho trabajo a pesar de aportar información relevante para el conocimiento de la flora de Hidalgo sigue una nomenclatura poco actualizada (APG III, 2009).

Como se observa, no hay un consenso sobre el número exacto de especies presentes en el estado y las aproximaciones de los diferentes autores varían mucho debido a los cambios taxonómicos que han ocurrido; además, en algunos trabajos se incluye a una especie que no cuenta con descripción formal pero sí presenta estudios sobre demografía y genética poblacional, este agave es llamado *A. “hidalguensis”* (Scheinvar et al., 2008). Debido a todo esto, los reportes de Thiede (2020) son los más confiables, ya que cuenta con los nombres actualizados y validados, además, muestra citas en donde se incluyen trabajos con especies que se distribuyen en Hidalgo (Galván y Hernández-Sandoval, 2002; González, 2004). Así, 21 especies son ubicadas y registradas en Hidalgo, en donde los sitios con mayor diversidad de estas plantas se encuentran en la reserva de la biosfera “Barranca de Metztitlán, el Valle del Mezquital” y algunos municipios cercanos a la capital estatal (**Figura 2**). Nuestra revisión sistemática de literatura científica de diversas fuentes de información nos permite proponer un número unificado de agaves en Hidalgo (García-Montes et al., 2024).

En este sentido, para el total de especies registradas para el estado, se ha evidenciado que algunas son ampliamente aprovechadas por comunidades humanas desde tiempos antiguos. Un

ejemplo es *Agave lechuguilla*, que es usado para obtener fibras para hacer artículos de limpieza y bolsas. Diversas variedades de las especies *A. salmiana*, *A. mapisaga* y *A. americana*, son usadas para producir pulque, forraje, fibras, como cercas vivas y con fines ornamentales (González, 1939; Álvarez-Palma et al., 1998; Reyes-Agüero et al., 2019). Uno de los principales usos que se les da a estas especies es el alimenticio, por ejemplo, sus *pencas* (hojas) como ingrediente para la barbacoa, los *mixiotes* (cutícula de las hojas) también como ingrediente y para obtener recursos alimenticios como son insectos comestibles como los *gusanos rojos* y *blancos de maguey*, ambos con un elevado valor cultural y económico entre las comunidades que hacen uso de esto (Ramírez et al., 2017; Molina-Vega et al., 2021). Los insectos comestibles son extraídos de especies de agaves que se encuentran en cultivo como son los agaves pulqueros, pero también de especies silvestres altamente demandada como el caso del *maguey cenizo*, *maguey del ixtle* o *chinicuilero* (*Agave applanata*) (Montiel, 2007; Llanderal-Cázares et al., 2017). De acuerdo con algunos autores, existe un uso intensificado de este agave, dada la cantidad de plantas que son removidas para la colecta de insectos y que no son replantados para que permanezcan vivos. Pasada la temporada de recolecta se puede apreciar una gran cantidad de estos ya muertos (Obs. Pers.), no obstante, no es claro si estas actividades de aprovechamiento afectan o no a las poblaciones silvestres de *A. applanata*.

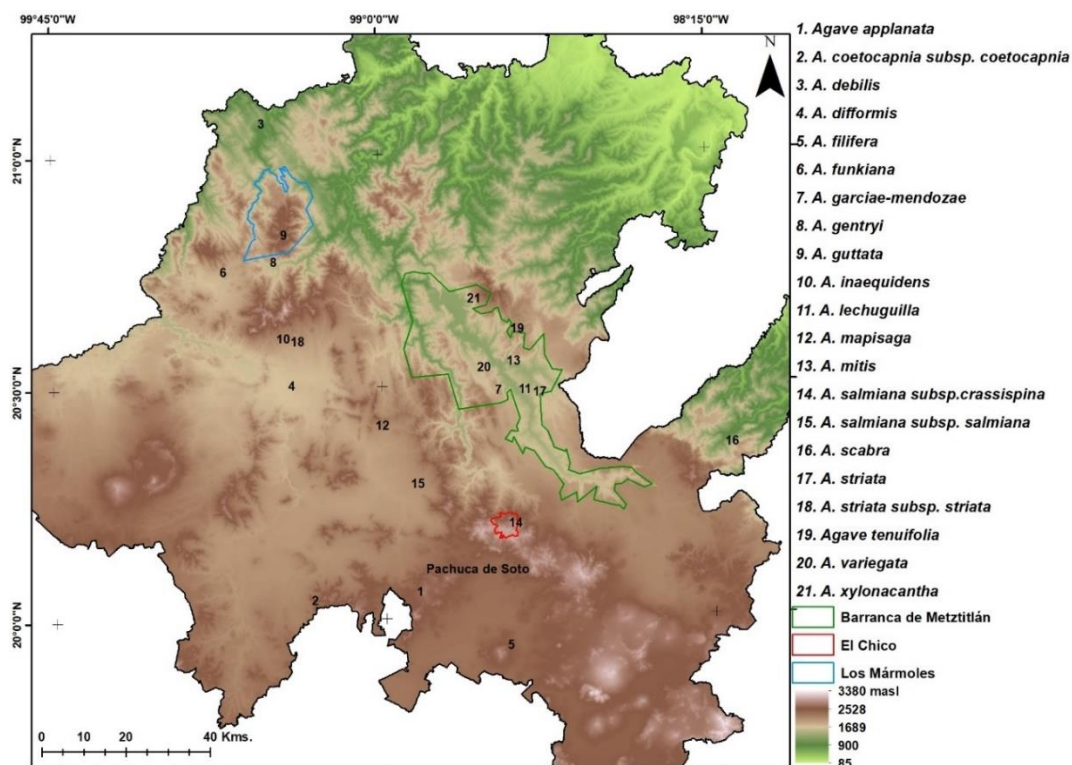


Figura 2. Ubicación de 21 especies en Hidalgo de acuerdo con Thiede, 2020.

Por último, es importante recalcar que ninguna de las 21 especies registradas en la entidad se encuentra en la NOM-059-SEMARNAT-2010, tampoco en los apéndices de la CITES. Aunque de acuerdo con los criterios de la lista roja de la IUCN, 10 de ellas son de preocupación menor (LC), una se encuentra como vulnerable (VU) y el resto no tienen datos suficientes para ser incluidas en alguna categoría de riesgo internacional (IUCN, 2019).

Demografía de agaves en Hidalgo

A la fecha en Hidalgo, solo existen estudios demográficos de dos especies (*Agave garciae-mendozae* y *A. striata*) que se distribuyen principalmente en la parte centro y norte de la Reserva de la Biosfera “Barranca de Metztitlán. Al conectarse geográficamente, los autores las consideraron dispersas en subpoblaciones (conjuntos de individuos filogenéticamente relacionados, aunque geográficamente dispersos en un área delimitada) solo algunas de estas subpoblaciones están expuestas a distintas amenazas. De manera general, algunas subpoblaciones

analizadas de ambas especies, presentan variación en el éxito reproductivo, otras subpoblaciones pueden considerarse como jóvenes, ya que presentan individuos pequeños y vigorosos, y otras más fuera de la reserva, han sido eliminadas debido a la erosión excesiva fomentada por la transformación del hábitat, por lo que demográficamente se podrían considerar metapoblaciones con dinámicas independientes con cierto grado de conectividad (González, 2004; Rocha et al., 2005; Schenivar et al., 2008). Además, cambios en el uso de suelo de matorral a campos para agricultura, ganadería y la perturbación han impactado ambas especies de agaves debido a la eliminación de individuos (González, 2004; Arzate, 2009; Trejo-Salazar et al., 2015).

Genética poblacional de agaves en Hidalgo

Genéticamente, seis especies (*Agave difformis*, *A. garciae-mendozae*, *A. "hidalguensis"*, *A. mitis*, *A. striata* y *A. xylonacantha*) han sido analizadas con marcadores dominantes ISSR's, teniendo en promedio una diversidad genética elevada ($H_s = 0.264$) y una diferenciación poblacional media a baja ($F_{ST} = 0.105$) en poblaciones dentro y fuera de la Reserva de la Biosfera "Barranca de Metztitlán", comparada con todas las especies de agaves mexicanas, pues las poblaciones más alejadas geográficamente también son divergentes comparadas con el resto de los agaves. Así mismo, los altos niveles de heterocigosis encontrados en algunas poblaciones, se pueden explicar debido al sistema de polinización cruzada que llevan a cabo los murciélagos, pues mantienen niveles de flujo génico suficiente entre las poblaciones para evitar una diferenciación genética importante, aunque la eliminación de alguna de estas, representaría una pérdida de variación genética para las especies estudiadas (González, 2004; Rocha, 2006; Trejo, 2006; Scheinvar et al., 2008; Eguiarte et al., 2013).

Uso y manejo de los recursos naturales

El uso y aprovechamiento de productos forestales no maderables (PFNM) representa una fuente de ingresos importante para millones de personas en todo el mundo, pero la información sobre las consecuencias ecológicas de la sobreexplotación de dichos recursos, solo está disponible en estudios de caso muy puntuales. Dichos estudios muestran que estas actividades pueden afectar los procesos ecológicos en muchos niveles que van desde el individuo hasta los ecosistemas, siendo hasta el momento, el nivel poblacional el más estudiado. Con esto, la consecuencia ecológica más directa de la extracción de PFNM es la alteración de las tasas de supervivencia, crecimiento y reproducción de los individuos, además, los cambios en estas tasas vitales pueden afectar a la estructura y dinámica de las poblaciones. Así, la tolerancia a la sobreexplotación dependerá del ciclo de vida y la parte del PFNM que se utiliza, esto a su vez, está mediado por variaciones en las condiciones ambientales y otras prácticas humanas.

Para poder soportar recolectas intensas, se necesitan prácticas de manejo específicas y altamente efectivas para fomentar la persistencia de las poblaciones. Es así como investigadores y políticos deben trabajar con los recolectores locales en el diseño y evaluación de prácticas de manejo que puedan mitigar los efectos negativos de la sobreexplotación (Hall y Bawa, 1993; Ticktin, 2004). El potencial para soportar la sobreexplotación depende en gran medida de cuán sensible sean las tasas de crecimiento poblacional a largo plazo a los cambios por la recolecta, ya que se ha demostrado que estas tasas varían ampliamente a lo largo de las historias de vida. Por ejemplo, las tasas de crecimiento poblacional de plantas perennes de larga vida suelen ser muy sensibles a los cambios en la supervivencia; por el contrario, las plantas monocárpicas y policárpicas de hábitats abiertos tienden a ser más sensibles a los cambios en el crecimiento y la fertilidad además de la supervivencia (Franco y Silvertown, 2004). Dicha sobreexplotación puede resultar en la mortalidad de adultos si es esta etapa la que proporciona el recurso. En algunos

casos es posible que el aprovechamiento solo sea de alguna parte de la planta que no mata a los individuos, pero puede generar una ralentización del crecimiento o mayor sensibilidad a enfermedades y depredación; aun cuando las partes como hojas, flores, frutos, pencas, etc, vuelvan a emerger, pues algunas especies tienen tasas de recuperación muy lentas (Raimondo y Donalson, 2003; Botha et al., 2004).

La recolección y selección de estos recursos, puede conducir a cambios evolutivos que pueden impactar en aspectos demográficos, afectando a alguna categoría o etapa de vida en específico. Por otro lado, los recolectores buscan características deseables, las cuales encuentran en poblaciones naturales con algún tipo de intervención humana y cuya intervención humana puede generar homogenización de la diversidad genética. Sin embargo, la extracción, así como el uso recurrente y descontrolado afecta directamente en este parámetro (Cruse-Saunders y Hamrick 2004; Casas et al., 2007; Ticktin y Shackleton, 2011).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, existe una larga tradición en el uso de plantas silvestres de ambientes áridos y semiáridos por comunidades humanas rurales (Medrano, 2012). Un grupo de plantas que tienen una fuerte relación con la cultura mexicana, es el género *Agave*, particularmente, *A. applanata*, que se utiliza para obtener al comúnmente conocido como gusano rojo de maguey o chinicuil, que no es más que un estado larvario de la palomilla *Comadia redtenbacheri* Hamm (Lepidoptera: Cossidae) (Llanderal-Cázares et al., 2017).

Es en temporada de lluvias cuando la palomilla hembra deposita masas de aproximadamente 118 huevecillos en la base de las pencas del maguey. Una vez depositados, la hembra muere y después de 30 a 35 días los huevecillos eclosionan. Cuando las larvas emergen, hacen galerías dentro del tallo o rizoma de los agaves donde completan su desarrollo (Camacho et

al 2003; Hernández-Livera et al., 2015; Llanderal-Cázares et al., 2017). Para su recolecta, se requiere sacar completamente al maguey del suelo, quitar las pencas y todo el tallo para encontrar la mayor cantidad de larvas, por lo que la planta muere (Espinoza-García et al., 2018). Generalmente, se utilizan individuos de no más de 30 cm de alto, aunque en ocasiones algunos recolectores vuelven a acomodar al maguey. Sin embargo, el daño y estrés que se le provoca a la planta normalmente también la mata (Esparza-Frausto et al., 2008).

La creciente demanda de chinicuiles tanto del mercado nacional como internacional ha impactado negativamente a las poblaciones silvestres de las plantas hospederas. Además, el número de insectos que pueden ser colectados ha disminuido debido a la sobre explotación del maguey y a la depredación de larvas, interfiriendo con su ciclo de vida (Esparza-Frausto et al., 2008). En esta propuesta, algunas soluciones planteadas incluyen manejo de magueyes en áreas naturales protegidas, selección de cierta etapa de desarrollo de la planta y la implementación de cultivos de magueyes bajo invernadero, esto con el fin de facilitar estudios de los diferentes instares larvales del insecto y su interacción con el agave hospedero (BIOMATVI, 2023).

JUSTIFICACIÓN

Los agaves son plantas multipropósito, con un alto valor cultural, ecológico y económico para México. Aún no es claro si la destrucción, modificación, uso y alteración de sus hábitats afecta directamente sobre parámetros demográficos y genéticos de las especies. Es por ello, que debe existir preocupación y concentrar esfuerzos para dirigir su conservación bajo leyes nacionales e internacionales adecuadas. Si se consideran las casi 200 especies que existen para el género, el número total de las analizadas a nivel genético es solo alrededor del 11% y aproximadamente el 5% a nivel demográfico, por lo que, incluir a *A. applanata* que no ha sido abordada a estos niveles en Hidalgo, la hace ideal para ser estudiada. Además, se aspira a aportar datos robustos

generados con metodologías actualizadas que permitan contribuir a la elaboración de estrategias de manejo y conservación en un momento en donde las actividades antropogénicas son una de las principales causas de pérdida de la biodiversidad. Esta propuesta de investigación plantea una serie de problemas que determinan la integración y el manejo de diversas disciplinas.

Aun cuando se cuenta con pocos estudios sobre demografía para especies del género *Agave* en el estado de Hidalgo, estos resultan limitados a una zona protegida y con pocas poblaciones dentro de dicha zona. Por otro lado, los estudios genético-poblacionales se han llevado a cabo en la misma reserva, con pocas poblaciones y pocos individuos, además del uso de marcadores moleculares de bajo polimorfismo.

OBJETIVO GENERAL

- Analizar la demografía, diversidad y estructura genética de *Agave applanata* Hort. ex K. Koch, en ocho poblaciones de México para identificar los procesos antrópicos, ecológicos y evolutivos a los cuales está sometida esta especie.

ESTRUCTURA DE LA TESIS

El manuscrito está conformado por cinco capítulos, en el primero se aborda el marco teórico, planteamiento del problema y algunas generalidades sobre la situación demográfica y genética actual de los agaves en México e Hidalgo. En el Capítulo II, se analiza qué especies son las más comunes en el estado, con ayuda de una revisión sistemática de literatura científica, artículo publicado en la Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. En el capítulo III, se presenta el análisis de perturbación de la especie. Esta evaluación podría inferir una breve historia de los cambios antrópicos a los que son o han sido sometidas las poblaciones analizadas. De igual forma, en este capítulo se presenta el análisis demográfico de *A. applanata* en ocho sitios de México mediante tablas de vida estática, parámetros poblacionales y curvas de supervivencia.

Para cerrar este capítulo se correlacionan indicadores demográficos y de perturbación para conocer si tienen efecto sobre las poblaciones estudiadas. Este capítulo fue publicado en la Revista Botanical Sciences. En el Capítulo IV, se analiza la genética poblacional de *A. applanata* en ocho de sus poblaciones utilizando microsatélites. Con esto, se evalúa la diversidad y se compara la estructura genética al interior y entre poblaciones considerando aspectos demográficos, para conocer los posibles factores ecológicos y evolutivos que moldean la estructura genética, así como corroborar si la perturbación del hábitat y/o la sobreexplotación de individuos silvestres por la recolecta de chinicuiles afectan su genética. Por último, en el Capítulo V se discute la importancia de integrar ambos enfoques (ecológico y molecular) como perspectivas de conservación para la especie.

LITERATURA CITADA

- Adebayo O. 2019. Loss of biodiversity: the burgeoning threat to human health. *Annals of Ibadan Postgraduate Medicine*, 17: 5-7.
- Aguilar R, Quesada M, Ashworth L, Herrerias- Diego Y. y Lobo J. 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology*, 17: 5177-5188.
- Aguilar R, Cristóbal- Pérez EJ, Balvino- Olvera FJ, de Jesús Aguilar- Aguilar M, Aguirre- Acosta N, Ashworth L. y Quesada M. 2019. Habitat fragmentation reduces plant progeny quality: a global synthesis. *Ecology Letters*, 22: 1163-1173.
- Álvarez-Palma A, Canssiano G, y Villa-Kamel A. 1998. La explotación del maguey pulquero en la zona de Metztlán: datos etnográficos y arqueológicos. *Dimensión Antropológica*, 13: 7-30.
- Allendorf FW. y Luikart G. 2009. *Conservation and the genetics of populations*. John Wiley & Sons.
- APG III 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 61: 105-121.
- APG IV. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181: 1-20.
- Arias-Medellín LA, Bonfil C. y Valverde T. 2016. Demographic analysis of *Agave angustifolia* (Agavaceae) with an emphasis on ecological restoration. *Botanical Sciences*, 94: 513-530.
- Arizaga, S. y Ezcurra. E. 1995. Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macroacantha* flowering stalks. *Oecologia*, 101: 329-334.

- Arizaga S. y Ezcurra E. 2002. Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid-land succulent rosette. *American Journal of Botany*, 89: 632-641.
- Arzate KM. 2009. Distribución de cinco especies de *Agave* y su relación con algunos parámetros ambientales en Metztitlán, Hidalgo (Tesis de maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México). Repositorio Institucional-UNAM.
- Avendaño M. 2016. La reproducción de las plantas: costos y beneficios. *Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*, 67: 80-84.
- Baena ML, Halfpeter G, Lira-Noriega A. y Soberón J. 2008. Extinción de especies. *Capital Natural de México*, 1: 263-282.
- Barrett SC. 2015. Influences of clonality on plant sexual reproduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112: 8859-8866.
- Basañez MC, Hernández JE. y Villalba CA. 2020. *Agave ghiesbreghtii* (Asparagaceae: Agavoideae), another new record for Veracruz, México. *International Cactus*, 1: 111-133.
- Benítez-Díaz HB. y Bellot-Rojas MB. 2004. Biodiversidad: Uso, Amenazas y Conservación. En: Sánchez, O., Vega, E., Peters, E. y Monroy-Vilchis, O., (Eds.). *Conservación de Ecosistemas Templados de Montaña en México*. Instituto Nacional de Ecología (INE). pp. 93–105.
- BIOMATVI, Laboratorio. 2023. *Las bondades del maguey*. [Ponencia oral]. Primer foro del día mundial del agua: "Humedales, los filtros naturales del agua". Tlapanaloya, Estado de México. México.
- Breed MF, Ottewell KM, Gardner MG, Marklund MH, Dormontt EE. y Lowe AJ. 2015. Mating patterns and pollinator mobility are critical traits in forest fragmentation genetics. *Heredity*, 115: 108-114.

- Botha J, Witkowski TF. y Shackleton CM. 2004. The impact of commercial harvesting on *Waburgia salutaris* ('pepper-bark tree') in Mpumalanga South Africa. *Biodiversity Conservation*, 13: 1675–1698.
- Callaghan TV. 1984. Growth and translocation in a clonal southern hemisphere sedge, *Uncinia meridensis*. *The Journal of Ecology*, 72: 529-546.
- Camacho AD, Sánchez HA, Jiménez JE. y Nolasco MA. 2003. Observaciones en condiciones de laboratorio de la biología del gusano rojo de maguey *Comadia redtenbacheri* Hamm. (Lepidoptera: Cossidae). *Entomología Mexicana*, 3: 281-287.
- Campos H, Trejo C, Peña-Valdivia CB, García-Nava R, Conde-Martínez FV. y Cruz-Ortega R. 2020. Water availability effects on germination, membrane stability and initial root growth of *Agave lechuguilla* and *A. salmiana*. *Flora*, 268: 151-163.
- Carabias J, Meave JA, Valverde T. y Canón Santana Z. 2009. *Ecología y medio ambiente en el siglo XXI*. Pearson Educación.
- Casas A, Otero-Arnaiz A, Pérez-Negrón E. y Valiente-Banuet A. 2007. *In situ* management and domestication of plants in Mesoamerica. *Annals of Botany*, 100: 1101-1115.
- Casas A, García-Mendoza A.J, Sandoval-Gutiérrez D. y Torres-García I. 2019. *Agave applanata*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019.
- Castro-Díaz AS. y Guerrero-Beltrán J. 2013. El agave y sus productos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7: 53-61.
- Chen D, Ali A, Yong XH, Lin CG, Niu XH, Cai AM y Yu FH. 2019. A multi-species comparison of selective placement patterns of ramets in invasive alien and native clonal plants to light, soil nutrient and water heterogeneity. *Science of the Total Environment*, 657: 1568-1577.

- Cofré H. y Atala C. 2019. ¿Qué es la Biodiversidad?: Patrones, teorías y amenazas. *Revista de Innovación en Enseñanza de las Ciencias*, 3: 104-127.
- Colunga-GarcíaMarín P, Torres-García I, Casas A, Figueredo-Urbina CJ, Rangel-Landa S, Delgado-Lemus A. y Carrillo-Galván G. 2017. Los agaves y las prácticas mesoamericanas de aprovechamiento, manejo y domesticación. En: Casas A, Parra-Rondinel F, Aguirre-Dugua X, Rangel-Landa S, Blancas J. y Vallejo M. (eds.), *Domesticación en el continente americano*, 2: 273-308.
- Crone EE, Menges ES, Ellis MM, Bell T, Bierzychudek P, Ehrlén J. y Williams JL. 2011. How do plant ecologists use matrix population models? *Ecology letters*, 14: 1-8.
- Cruse-Saunders J. y Hamrick JL. 2004. Genetic diversity in harvested and protected populations of American ginseng *Panax quinquefolius* L. (Araliaceae). *American Journal of Botany*, 91: 540-548.
- De Balmis FX. 1794. Demostración de las eficaces virtudes nuevamente descubiertas en las raíces de dos plantas de Nueva España, especie de agave y de begonia. Imprenta de la viuda de Joaquín Ibarra, Madrid, España. Recuperado de: <https://bit.ly/4k6r26g>.
- Delgado-Lemus A, Torres I, Blancas J. y Casas A. 2014. Vulnerability and risk management of *Agave* species in the Tehuacán Valley, México. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10: 1-15.
- Eguiarte LE, Aguirre-Planter E, Aguirre X, Colín R, González A, Rocha M. y Souza V. 2013. From isozymes to genomics: population genetics and conservation of *Agave* in Mexico. *The Botanical Review*, 79: 483-506.
- Eguiarte LE, Souza V. y Silva-Montellano A. 2000. Evolución de la familia Agavaceae: Filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 66: 131-151.

- Eguiarte LE, Jiménez Barrón OA, Aguirre- Planter E, Scheinvar E, Gámez N, Gasca- Pineda J. y Souza V. 2021. Evolutionary ecology of *Agave*: distribution patterns, phylogeny, and coevolution (an homage to Howard S. Gentry). *American Journal of Botany*. 108: 216-235.
- Esparza-Frausto G, Macias-Rodríguez FJ, Martínez-Salvador M, Jimenez-Guevara MA. y Méndez-Gallegos DJ. 2008 Edible insects associated to wild agave communities in the Ejido Tolosa, pinos, Zacatecas, Mexico. *Agrociencia*, 42: 243-252.
- Espinoza-García N, Llanderal-Cázares C, Miranda-Perkins K, Vargas-Hernández M, Gonzáles-Hernández H. y Romero-Nápoles J. 2018 Infestación inducida de gusano rojo *Comadia redtenbacheri* en *Agave salmiana*. *Southwestern Entomologist*, 43: 1009-1019.
- Flores-Abreu IN, Trejo-Salazar RE, Sánchez-Reyes LL, Good SV, Magallón S, García-Mendoza A. y Eguiarte LE. 2019. Tempo and mode in coevolution of *Agave sensu lato* (Agavoideae, Asparagaceae) and its bat pollinators, Glossophaginae (Phyllostomidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 133: 176-188.
- Franco M. y Silvertown J. 2004. A comparative demography of plants based on elasticities of vital rates. *Ecology*, 85: 532–538.
- Galván R. y Hernández-Sandoval L. 2002. *Agave garciae-mendozae*, a new species from central Mexico. *Cactus and Succulent Journal*, 74: 188-191.
- García-Mendoza AJ. 2002. Distribution of *Agave* (Agavaceae) in Mexico. *Cactus and Succulent Journal*, 74: 177-187.
- García-Mendoza AJ, Franco Martínez IS y Sandoval-Gutiérrez D. 2019. Cuatro especies nuevas de *Agave* (Asparagaceae, Agavoideae) del sur de México. *Acta Botánica Mexicana*, 126: 1-18.

- García-Montes MA, Figueredo-Urbina CJ, Bucio-Peña R. y Leonel-Cruz L. 2023. Los Chinicuiles o gusanos rojos del maguey: Alimento de origen prehispánico amenazado por su sobreexplotación. *Biología y Sociedad*, 6: 41-47.
- García-Morales LJ, García-Jiménez J. y Iamónico D. 2019. *Agave lexii* (Asparagaceae: Agavoideae), a new species from México. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, 27: 201-204.
- Gentry HS. 1982. *Agaves of Continental North America*. Tucson, AZ: The University of Arizona Press, pp. 670.
- Giraldo-Cañas D. 2020. A new species of *Agave* (Asparagaceae: Agavoideae) from Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 91: e913274.
- Golubov J, Mandujano MC, Arizaga S, Martínez PA y Koleff P. 2007. Inventarios y conservación de Agavaceae y Nolinaceae. En: Colunga-GarcíaMarín SP, Eguiarte LE, Larque SA, Zizumbo VD (Eds.). *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves*. CICY-CONACYT-CONABIO-SEMARNAT-INE. México. p. 133–152.
- Gonçalves-de Lima O. 1978. *El maguey y el pulque en los códigos mexicanos*. Fondo de Cultura Económica, México.
- González A. 2004. Biología reproductiva y genética de poblaciones de *Agave garciae-mendozae* (Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México. DF, México).
- González FR. 1939. Las industrias otomíes del Valle del Mezquital. *Revista Mexicana de Sociología*, 1: 88-96.
- Good-Avila SV, Souza V, Gaut BS. y Eguiarte LE. 2006. Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103: 9124-9129.
- Granados SD. 1993. Los agaves en México (No. 633.577 G7).

- Gschaedler AC, Mora AG, Ramos SM, Vázquez GD. y Valdez JG. 2017. Panorama del aprovechamiento de los Agaves en México. *Red Temática Mexicana Aprovechamiento Integral Sustentable y Biotecnología de los Agaves*. CIATEJ, Guadalajara, México. 302 p.
- Hall P. y Bawa K. 1993. Methods to assess the impact of extraction of non-timber tropical forest products on plant populations. *Economic botany*, 47: 234-247.
- Hamrick JL. y Godt JW. 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society: Biological Sciences*, 351: 1291-1298.
- Harper JL. 1980. Plant demography and ecological theory. *Oikos*, 35: 244-253.
- Hartnett DC. y Bazzaz FA. 1983. Physiological integration among intraclonal ramets in *Solidago canadensis*. *Ecology*, 64: 779-788.
- Hernández-Livera RA, Llanderal-Cazáres C, Castillo-Márquez LE, Valdez-Carrasco J. y Nieto-Hernández R. 2005. Identificación de instares larvales de *Comadia redtenbacheri* Hamm. (Lepidoptera: Cossidae). *Agrociencia*, 39: 539-544
- Humphreys AM, Govaerts R, Ficinski SZ, Lughadha EN. y Vorontsova MS. 2019. Global dataset shows geography and life form predict modern plant extinction and rediscovery. *Nature Ecology & Evolution*, 3: 1043-1047.
- IUCN Standards and Petitions Committee. 2019. Guidelines for Using the IUCN. Red List Categories and Criteria. Version 14. Prepared by the Standards and Petitions Committee.
- IUCN. 2022. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-2. <https://www.iucnredlist.org>. Acceso el [31 october 2022].
- Jiménez-Barron O, García-Sandoval R, Magallón S, García-Mendoza A, Nieto-Sotelo J, Aguirre-Planter E. y Eguiarte LE. 2020. Phylogeny, diversification rate, and divergence time of *Agave sensu lato* (Asparagaceae), a group of recent origin in the process of diversification. *Frontiers in Plant Science*, 11: 536135.

- Klimešová J, Ottaviani G, Charles-Dominique T, Campetella G, Canullo R, Chelli S. y Herben T. 2021. Incorporating clonality into the plant ecology research agenda. *Trends in Plant Science*, 26: 1236-1247.
- Lei SA. 2010. Benefits and costs of vegetative and sexual reproduction in perennial plants: a review of literature. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science*, 42: 9-14.
- Linnaeus C. 1753. *Species Plantarum*. Laurentii Salvii, Stockhom, 560 pp.
- Llanderal-Cázares C, Castro-Torres R. y Miranda-Perkins K. 2017. Bionomics of *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt, 1847) (Lepidoptera: Cossidae). *SHILAP Revista de Lepidopterología*, 45: 373-383.
- Lowe W, Kovach R y Allendorf FW. 2017. Population genetics and demography unite ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*. 32: 141-152.
- MacNeish RS. 1967. A summary of the subsistence. En: Byers D. (Ed). *The Prehistory of the Tehuacan Valley. Volume 1: Environment and Subsistence*. Austin: University of Texas Press.
- Magurran AE. y Dornelas M. 2010. Biological diversity in a changing world. *Philosophical Transactions of the Royal Society: Biological Sciences*, 36: 3593-3597.
- Mandujano MC. 2007. *La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones*. En: Eguiarte LE, Sousa V. y Aguirre X. (eds.). *Ecología Molecular*. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT. México Distrito Federal. México. 215-250 p.
- Martín del Campo R. 1938. El pulque en el México precortesiano. *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México*, 9: 5-23.
- Martin MP, Peters CM, Palmer MI. y Illsley C. 2011. Effect of habitat and grazing on the regeneration of wild *Agave cupreata* in Guerrero, Mexico. *Forest Ecology and Management*, 262: 1443-1451.

- Martínez AA, Martínez CM, Palma FJ. y Córdoba F. 1995 La distribución, usos y algunas características químicas de los agaves de Oaxaca (México). *Interciencia*, 20: 14-19.
- Martínez MR. 1985. Demografía en una población silvestre de maguey mezcalero (*Agave salmiana* ssp. *crassispina* (Trel.) Gentry), bajo condiciones de utilización intensiva. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana.
- Martínez SM, Valdéz CR. y Arias H. 2005. Distribution and density of maguey plants in the arid Zacatecas Plateau, Mexico. *Journal of Arid Environments*, 61: 525-534.
- Martínez-Meyer E, Sosa-Escalante JE. y Álvarez F. 2014. El estudio de la biodiversidad en México: ¿una ruta con dirección? *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 1-9.
- Martínez-Palacios A. 1998. Evaluación genética y demográfica de *Agave victoriae-reginae* T. Moore y aplicación del cultivo de tejidos para su conservación. Tesis de Doctorado en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México).
- Medrano, F.G. 2012. *Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación*. Instituto Nacional de Ecología. 145-156 p.
- Metcalf JE. y Pavard S. 2007. Why evolutionary biologists should be demographers. *Trends in Ecology & Evolution*, 22: 205-212.
- Molina-Vega A, Hernández-Domínguez EM, Villa-García M. y Álvarez-Cervantes J. 2021. *Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae) and *Aegiale hesperiaris* (Lepidoptera: HesperIIDae), two important edible insects of *Agave salmiana* (Asparagales: Asparagaceae): a review. *International Journal of Tropical Insect Science*, 41: 1977-1988.
- Moncada-Rojas JR. 2019. Líneas estratégicas para la conservación de la biodiversidad. *Revista de Ciencia y Tecnología Agrollanía*, 18: 49-55.

- Montiel E. 2008. The traditional flavors of Hidalgo. *Voices of Mexico*. 102: 88-91.
- Moreno-Calles AI. y Casas A. 2010. Agroforestry systems: restoration of semiarid zones in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *Ecological Restoration*, 28: 361-368.
- Naturalista, CONABIO <http://www.naturalista.mx>. Acceso 14 de abril de 2021.
- Nic-Lughadha E, Bachman SP, Leão TC, Forest F, Halley JM, Moat J. y Walker BE. 2020. *Extinction risk and threats to plants and fungi. Plants, People, Planet*, 2: 389-408.
- Nobel PS. 1976. Water relations and photosynthesis of a desert CAM plant, *Agave deserti*. *Plant Physiology*, 58: 576-582.
- Nobel PS. 1992. Annual variations in flowering percentage, seedling establishment, and ramet production for a desert perennial. *International Journal of Plant Sciences*, 153: 102-107.
- Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010: Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo.
- Normander B. 2012. Biodiversidad: combatir la sexta extinción masiva. *La Situación del Mundo*, 16: 311-322
- Pardini R, Nichols E. y Püttker T. 2018. Biodiversity response to habitat loss and fragmentation. *Encyclopedia of the Anthropocene*, 3: 229–239.
- Parsons JR. y Darling JA. 2000. Maguey (*Agave* spp.) utilization in Mesoamerican civilization: a case for Pre-columbian “pastoralism”. *Boletín Sociedad Botánica de México*, 66: 81–91.
- Pavlisca LL. y Fehmi JS. 2020. *Agave palmeri* restoration: salvage and transplantation of population structure. *Arid Land Research and Management*, 35: 177-188.
- Pérez-García JN. 2020. Causas de la pérdida global de biodiversidad. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 1: 183-198.

- Pérez- Zavala MD, Hernández- Arzaba JC, Bideshi DK. y Barboza- Corona JE. 2020. *Agave*: a natural renewable resource with multiple applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100: 5324-5333.
- Pinkava DJ. y Baker MA. 1985. Chromosome and hybridization studies of *Agave*. *Desert Plants*, 7: 93–100.
- Raimondo D. y Donaldson JS. 2003. Responses of cycads with different life histories to the impact of plant collecting. *Biology Conservation*, 111: 345–358.
- Ramírez CÁ, Mendoza BM, Hernández EG, María E. y Domínguez H. 2017. *Comadia redtenbacheri*, individuo del Altiplano Hidalguense. *Ciencias Multidisciplinarias*. 51.
- Ramírez- Tobías HM, Peña- Valdivia CB, Aguirre JR, Reyes- Agüero JA, Sánchez- Urdaneta AB. y Valle GS. 2012. Seed germination temperatures of eight Mexican *Agave* species with economic importance. *Plant Species Biology*, 27: 124-137.
- Ramírez-Tobías HM, Peña-Valdivia CB, Trejo C. y Vaquera H. 2014. Seed germination of *Agave* species as influenced by substrate water potential. *Biological Research*, 47: 1-9.
- Rangel-Landa S, Casas A. y Dávila P. 2015. Facilitation of *Agave potatorum*: An ecological approach for assisted population recovery. *Forest Ecology and Management*, 347: 57-74.
- Raphael DO. y Nobel PS. 1986. Growth and survivorship of ramets and seedlings of *Agave deserti*: influences of parent-ramet connections. *Botanical Gazette*, 147: 78-83.
- Reyes-Agüero J, Valdivia CB, Rivera J. y López LM. 2019. Intraspecific variation of *Agave mapisaga* Trel. and *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck. (Asparagaceae) related to ancestral usages at the Hñähñu region in central Mexico. *Agrociencia*, 53:563-579.
- Rocha M, Valera A. y Eguiarte LE. 2005. Reproductive ecology of five sympatric *Agave Littaea* (Agavaceae) species in central Mexico. *American Journal of Botany*, 92: 1330-1341.

- Rocha M. 2006. Ecología evolutiva comparada en cinco especies de *Agave*. (Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México). Repositorio Institucional-UNAM.
- Rocha M, Good-Ávila SV, Molina-Freaner F, Arita HT, Castillo A, García-Mendoza A. y Eguiarte LE. 2006. Pollination biology and adaptive radiation of Agavaceae, with special emphasis on the genus *Agave*. *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany*, 22: 329-344.
- Scheinvar E, Eguiarte LE, Jiménez-Sierra C, Matias-Palafox M, Munive M, Arzate K, Salazar R, Pineda J, Olson M, Abreu N, Trejo L, González-González A, Tamariz N. y Chauvet R. 2008. *Agaves y Cactáceas de Metztitlán: Ecología, Evolución y Conservación*. Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. Mexico.
- Silvertown J. y Charlesworth D. 2009. *Introduction to plant population biology*. Blackwell Science, Oxford. 368 pp.
- Simcha LY. 2017. How monocarpic is *Agave*? *Flora*, 230: 12-13.
- Smith EC. 1967. Plant Remains. En: Byers D. (ed). *The Prehistory of the Tehuacan Valley: Environment and Subsistence*. Austin: University of Texas Press.
- Starr GD. 2020. A new *Agave* species (Asparagaceae, Agavoideae), from southern Oaxaca, Mexico. *Phytotaxa*, 428: 73-80.
- Stevens PF. 2017. Angiosperm Phylogeny Website. Version 14. Acceso 13 de mayo de 2021.
- Thiede J. 2016. A review of *Agave mitis* (Asparagaceae/Agavaceae). *Bradleya*, 34: 200-216.
- Thiede J. 2020. *Agave* AGAVACEAE. En: Eggli, U., Nyffeler, R. (Eds.). *Monocotyledons. Illustrated Handbook of Succulent Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ticktin T. 2004. The ecological implications of harvesting non- timber forest products. *Journal of Applied Ecology*, 41: 11-21.

- Ticktin T. y Shackleton C. 2011. Harvesting non-timber forest products sustainably: opportunities and challenges. *Journal of Applied Ecology*, 41: 11-21.
- Torres I, Casas A, Delgado-Lemus A. y Rangel-Landa S. 2013. Aprovechamiento, demografía y establecimiento de *Agave potatorum* en el Valle de Tehuacán, México: Aportes ecológicos y etnobiológicos para su manejo sustentable. *Zonas Áridas*, 15: 92-109.
- Torres I, Blancas J, León A. y Casas A. 2015. TEK, local perceptions of risk, and diversity of management practices of *Agave inaequidens* in Michoacán, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 11: 1-20.
- Torres-García I, León-Jacinto A, Vega E, Moreno-Calles AI. y Casas A. 2020. Integral projection models and sustainable forest management of *Agave inaequidens* in Western Mexico. *Frontiers in Plant Science*, 11: 1224.
- Trejo L. 2006. Genética de poblaciones de *Agave striata* Zucc. (Tesis de maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México). Repositorio Institucional-UNAM.
- Trejo-Salazar RE, Scheinvar E. y Eguiarte, LE. 2015. ¿Quién poliniza realmente los agaves? Diversidad de visitantes florales en 3 especies de *Agave* (Agavoideae: Asparagaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86: 358-369.
- Valverde PL, Vite F. y Zavala-Hurtado JA. 1996. A morphometric analysis of a putative hybrid between *Agave marmorata* Roezl and *Agave kerchovei* Lem.: *Agave peacockii* Croucher. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 122: 155-161.
- Vázquez-García JA, Thiede J, Etter J. y Kristen M. 2022. *Agave rosalesii* (sect. Inermes, Asparagaceae), segregated from *Agave ellemeetiana* K. Koch (sect. Choritepalae): a new species from the Mixteca Alta of western Oaxaca, Mexico. *Botanical Sciences*, 100: 765-778.

- Villaseñor JL. 2016. Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87: 559-902.
- Villaseñor JL, Ortiz E. y Sánchez-González A. 2022. Riqueza y distribución de la flora vascular del estado de Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 93: e933920.
- Villavicencio Nieto MA. y Pérez Escandón BE. 2003. *Plantas útiles del estado de Hidalgo III*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Biológicas. Hidalgo, México.
- Vranckx G, Jacquemyn H, Muys B. y Honnay O. 2012. Metaanalysis of susceptibility of woody plants to loss of genetic diversity through habitat fragmentation. *Conservation Biology*, 26: 228-237.
- Wright S. 1984. *Evolution and the genetics of populations: experimental results and evolutionary deductions*. University of Chicago Press.
- Zizumbo-Villarreal D, Vargas-Ponce O, Rosales-Adame JJ. y Colunga-GarcíaMarín 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: 33-47.

CAPÍTULO II:

REVISIÓN SISTEMÁTICA PARA EL CONOCIMIENTO DE LA BIODIVERSIDAD MEXICANA: LOS AGAVES DE HIDALGO

Systematic Review for Understanding Mexican Biodiversity: The Agaves of Hidalgo

Revisión sistemática para el conocimiento de la biodiversidad mexicana: Los agaves de Hidalgo

Mario A. García-Montes^{1*}; Carmen J. Figueredo-Urbina²; Pablo Octavio-Aguilar³

¹Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Posgrado en Ciencias en Biodiversidad y Conservación. Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, col. Carboneras. C. P. 42184. Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

²Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias. Av. Universidad km 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa. C. P. 43600. Tulancingo, Hidalgo, México.

³Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Laboratorio de Genética. Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, col. Carboneras. C. P. 42184. Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

*Corresponding author: ga238881@uaeh.edu.mx; tel.: +52 552 092 4118.

Abstract

Introduction: The genus *Agave*, a biological group of cultural and economic importance, is most diverse in Mexico. However, the exact number of species in the state of Hidalgo remains uncertain.

Objective: The aim of this study is to conduct a systematic literature review to examine the diversity of agave species found in the state of Hidalgo.

Materials and methods: A comprehensive literature review was conducted using the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis) protocol, herbarium collections and digital databases were reviewed. A total of 65 information sources were identified, from which 22 were selected to create a database. Species names were reviewed and updated to avoid synonyms and repetitions.

Results and discussion: A total of 55 species were identified, with 26 having a 'very likely' presence in the region. *Agave mitis* Mart. was the most frequently recorded maguey (19), followed by *A. lechuguilla* Torr. (17). The species are primarily concentrated in the Barranca de Metztitlán Biosphere Reserve, Valle del Mezquital, and the central part of the state. *Agave peacockii* Croucher is subject to special protection according to NOM-059-SEMARNAT-2010.

Conclusions: Hidalgo can be considered among the states with a considerable number of *Agave* species. The generated information is useful; however, it should be used with caution, as it may be subject to spatial, temporal, and taxonomic biases in inventory data, collections, and lists.

Keywords: maguey; Asparagaceae; Agavaceae; *Agave mitis*; *Agave lechuguilla*.

Resumen

Introducción: El género *Agave*, grupo biológico de importancia cultural y económica, presenta su mayor riqueza en México, aunque en el estado de Hidalgo aún no es claro el número de especies presentes.

Objetivo: Analizar el número de especies de magueyes que se distribuyen en el estado de Hidalgo a través de una revisión sistemática de literatura científica.

Materiales y métodos: Se hizo una revisión exhaustiva de literatura científica mediante el protocolo PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis) y se revisaron colecciones de herbarios y bases de datos digitales. Se encontraron 65 fuentes de información, de las cuales se eligieron 22 y con ellos se creó una base de datos. Los nombres de las especies se revisaron y actualizaron para evitar sinonimias y repeticiones.

Resultados y discusión: Se encontraron 55 especies, de las cuales 26 tienen presencia 'muy probable' en la entidad. *Agave mitis* Mart. fue el maguey con mayor frecuencia de registro (19), seguido de *A. lechuguilla* Torr. (17). Las especies se concentran principalmente en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Valle del Mezquital y el centro de la entidad. *Agave peacockii* Croucher se encuentra sujeta a protección especial de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010.

Conclusiones: Hidalgo se puede considerar entre los estados con un número considerable de especies de *Agave*. La información generada es de utilidad; sin embargo, debe utilizarse con cautela, ya que pueden estar sujetos a sesgos espaciales, temporales y taxonómicos en datos de inventarios, colecciones y listas.

Palabras clave: Maguey; Asparagaceae; Agavaceae; *Agave mitis*; *Agave lechuguilla*.

Please cite this article as follows (APA 7): García-Montes, M. A., Figueredo-Urbina, C. J., & Octavio-Aguilar, P. (2024). Systematic Review for Understanding Mexican Biodiversity: The Agaves of Hidalgo. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 30(1). <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2023.06.030>

Received: June 1, 2023 / Accepted: January 19, 2024



<https://revistas.chapingo.mx/forestales>

Introduction

Since the year 2000, systematic reviews have been incorporated into the field of conservation, and to date, they remain relevant and effective in decision-making, demonstrating their impact in various scientific domains (Berger-Tal et al., 2019; Collaboration for Environmental Evidence [CEE], 2013). These reviews encompass studies on nurse plant conservation, dispersal, invasive species, and distribution models in protected areas (CEE, 2018; Driscoll et al., 2014; Filazzola & Lortie, 2014; Haddaway et al., 2015; Mačić et al., 2018; Ordóñez-Delgado et al., 2019; Robinson et al., 2017; Ханугин, 2020). Systematic review, as a synthesis method, aims to address a specific question with the utmost precision; all relevant evidence available is critically assessed using the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis) protocol. These guidelines help enhance the reporting of reviews, making them more reliable and solid, such that the final document can be shown as a literature review or a meta-analysis (Haddaway et al., 2015; Liberati et al., 2009; Molina, 2018).

Entities or countries often require reports generated through this type of analysis to ascertain the number of species, the quantity of individuals, and the geographical locations of their populations. Furthermore, these reports serve as foundational information for conservation programs. Integrating this information helps identify which species should be included in specific programs and which areas are crucial for conservation, because evaluations to assign some type of risk to species use criteria of distribution and population characteristics, as well as geographic location data (International Union for the Conservation of Nature [IUCN], 2017; Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2010).

The genus *Agave* is endemic to the Americas and is distributed from the southern United States to northern Venezuela. This biologically significant group, with cultural and economic importance, exhibits its greatest diversity in Mexico, although the number of species present in the state of Hidalgo is still unclear. Gentry (1982) identified 15 species of agaves (considering intra-specific varieties) from two subgenera and seven groups in Hidalgo. Later, Granados (1993) listed 13 *Agave* species in the region. Years afterward, Villavicencio Nieto and Pérez Escandón (2006) documented eight agave species used medicinally for various conditions. Golubov et al. (2007), based on the classification of the Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), reported the species richness of the genus per state in protected natural areas (NPA) and concluded that 27 *Agave* species were recorded in four NPAs from Hidalgo, without specifying names. On the other hand,

Introducción

A partir del año 2000, las revisiones sistemáticas se incluyeron en el campo de la conservación y hasta la fecha siguen vigentes y efectivas en la toma de decisiones, pues han demostrado su alcance en varios campos de la ciencia (Berger-Tal et al., 2019; Collaboration for Environmental Evidence [CEE], 2013). Estas revisiones incluyen estudios sobre conservación de plantas nodrizas, dispersión, especies invasoras y modelos de distribución en áreas protegidas (CEE, 2018; Driscoll et al., 2014; Filazzola & Lortie, 2014; Haddaway et al., 2015; Mačić et al., 2018; Ordóñez-Delgado et al., 2019; Robinson et al., 2017; Ханугин, 2020). La revisión sistemática, como método de síntesis, tiene el objetivo de responder una pregunta específica con la mayor precisión; toda la evidencia relevante disponible se evalúa de forma crítica mediante el protocolo PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis). Estos lineamientos ayudan a mejorar los reportes de las revisiones para hacerlas más fiables y robustas, de tal modo que el documento final se pueda mostrar como una revisión bibliográfica o un metanálisis (Haddaway et al., 2015; Liberati et al., 2009; Molina, 2018).

Los reportes obtenidos con este tipo de análisis son requeridos por cualquier entidad o país para conocer su número de especies, la cantidad de individuos y la ubicación geográfica de sus poblaciones; además, pueden ser un punto de partida para los programas de conservación. La integración de dicha información permite conocer cuáles especies deben considerarse en algunos programas y qué áreas son de importancia para la conservación, ya que, por lo general, las evaluaciones para asignar algún tipo de riesgo a especies utilizan criterios de distribución y características poblacionales, así como datos de ubicación geográfica (International Union for the Conservation of Nature [IUCN], 2017; Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2010).

El género *Agave* es endémico de América y se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Venezuela. Este grupo biológico de importancia cultural y económica presenta su mayor riqueza en México, aunque en el estado de Hidalgo todavía no es claro el número de especies presentes. En Hidalgo, Gentry (1982) encontró 15 especies de magueyes (considerando variedades intraespecíficas) de dos subgéneros y siete grupos. Después, Granados (1993) ubicó 13 especies del género *Agave* en la entidad. Años más tarde, Villavicencio Nieto y Pérez Escandón (2006) registraron ocho especies de magueyes que se usan de forma medicinal para varias afecciones. Por su parte, Golubov et al. (2007), con base en la clasificación de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), enlistan la riqueza de especies del género por entidad federativa en áreas

Villaseñor (2016), in his checklist of native vascular plants in Mexico, mentioned the existence of 32 agave species in this state. Subsequently, Thiede (2020) compiled information and identified 20 taxa of this genus in the region, while more recently, Villaseñor et al. (2022), in their work on richness and distribution of vascular flora in the state of Hidalgo, recorded 21 agave species, with 14 of them being endemic to Mexico. These studies note that some records have not been validated or located in the field, cautioning that certain identifications may be incorrect, leading to common data gaps and variability in the reports.

Clearly, there is no unanimous agreement on the precise number of agave species in the state, with significant variations among authors attributed to publication years and taxonomic changes (The Angiosperm Phylogeny Group, 2016; Thiede, 2016). Furthermore, the digital database of the Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) records up to 37 species, subspecies, and varieties (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO], 2022). Some of these are classified as nationally and internationally at risk, underscoring the importance of consolidating and updating this information to develop more effective plans for the use, management, and conservation of this pivotal biological group in Mexico. In this context, the following question arises: How many agave species are officially recorded in Hidalgo? Thus, the primary goal of this study was to comprehensively review the distribution of agave species in the region, employing the synthesis of scientific literature, herbarium collections, and digital databases. This information enhances understanding of the natural resource in the region and proves valuable for proposing management and conservation plans.

Materials and Methods

An exhaustive review of scientific literature and data from publicly accessible databases was undertaken. Using this information, an updated list of accepted scientific names was generated. This process followed the outlined scheme below.

Delimiting search and sources

Only the state of Hidalgo was considered as the study area. The search for information on agaves in Hidalgo was conducted in both primary and secondary sources. As primary sources we considered the scientific literature of indexed articles, books with ISBN (International Standard Book Number), gray literature (books without ISBN and articles without DOI [Digital Object Identifier], undergraduate and graduate theses from universities that have repositories (Universidad

naturales protegidas (ANP) y concluyen que en cuatro ANP de Hidalgo se tienen registros de 27 especies de *Agave*, pero no mencionaron nombres. Por otro lado, Villaseñor (2016), en su catálogo sobre plantas vasculares nativas de México, menciona que existen 32 especies de agaves en el estado. Posteriormente, Thiede (2020) hace una recopilación y ubica 20 taxones de este género en la entidad y, más recientemente, Villaseñor et al. (2022), en su trabajo sobre riqueza y distribución de la flora vascular del estado de Hidalgo, registran 21 especies de magueyes,

14 de ellas endémicas de México. En los trabajos anteriores se explica que algunos registros no han sido validados ni ubicados en campo, advierten que algunas identificaciones podrían ser erróneas y, por ello, la falta de datos y la variabilidad de los reportes es común.

Como se aprecia, no hay consenso sobre el número exacto de especies en el estado y las aproximaciones de los autores varían mucho debido al año de sus publicaciones y a los cambios taxonómicos (The Angiosperm Phylogeny Group, 2016; Thiede, 2016). Por otra parte, en la base digital del Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) se pueden encontrar registros de hasta 37 especies, subspecies y variedades (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO], 2022); algunas de ellas se encuentran en categorías de riesgo nacional e internacional, por lo que es importante concentrar y actualizar la información para proponer mejores planes de uso, manejo y conservación de este importante grupo biológico para México. En tal contexto surge la pregunta ¿Cuántas especies de magueyes están registradas en Hidalgo?, por lo que el objetivo principal de este trabajo fue revisar qué especies de agaves se distribuyen en la entidad, utilizando como herramienta la síntesis de literatura científica, colectas de herbarios y bases de datos digitales. Esta información aumenta el conocimiento sobre el recurso natural en la entidad y es de utilidad para propuestas de planes de manejo y conservación.

Materiales y métodos

Se hizo una revisión sistemática de literatura científica e información de bases de datos disponibles en la red. Con esta información se generó una lista actualizada de los nombres científicos aceptados. Este proceso se realizó bajo el esquema que se describe a continuación.

Delimitación de la búsqueda y fuentes

Se consideró únicamente al estado de Hidalgo como área de estudio. La búsqueda sobre agaves en Hidalgo se hizo en fuentes primarias y secundarias. Como fuente primaria se consideró la literatura

Nacional Autónoma de México [UNAM], Instituto Politécnico Nacional [IPN], Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo [UAEH]), all following the PRISMA protocol (Liberati et al., 2009). As secondary sources of information, some online databases of biological collections were considered, such as the National Herbarium of Mexico (MEXU) of the Institute of Biology of the Universidad Nacional Autónoma de México (IBUNAM, 2021), the Herbarium of the Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (HGOM) was visited, databases of observations and identification were consulted on the website Naturalista (iNaturalist, 2022) and SNIB (CONABIO, 2022).

Search criteria

Keywords and Boolean operators used in the search for information in primary sources were: "Agave", "Asparagaceae", "Agavaceae", "Agavoideae" "Agave* Hidalgo", "Agave* diversidad", "Agave*, lista", "Agave AND Hidalgo", "Agave AND especies", "Agave AND lista", "Agave SAME especies SAME Hidalgo", "Agave SAME especies SAME México". The "*" operator is used for the search engine to identify the word when it is not complete, "AND" was used to find two different terms and finally "SAME" was used to search for words found in the same sentence. Each search and its combinations were conducted in both Spanish and English. The search engines Google Scholar, Web of Science and Dimensions were chosen. An additional method was the search for articles of interest identified in the reference list of the documents analyzed.

Exclusion criteria

Articles with compatible keywords but not developed in Mexico or in the study area were considered of low relevance and were discarded. At least three databases were consulted and, for the most part, geographic data were taken from these secondary information sources; in addition, data from the visit to the HGOM herbarium were considered. The records of *Agave* sp. were discarded due to the lack of information they provide for this study.

Collection and systematization of information

Information was filtered by reviewing abstracts and results of articles, particularly focusing on national presence lists, and no restrictions were imposed based on the publication year. These lists were required to include species records per state, their scientific names, and geographical coordinates or the name of the nearest locality. To update the information and avoid synonymies, the scientific name of all recorded species was cross-referenced with the Royal Botanic Gardens Kew website (2022), which displays currently accepted scientific names.

licenciatura y posgrado de universidades que cuentan con repositorios (Universidad Nacional Autónoma de México [UNAM], Instituto Politécnico Nacional [IPN], Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo [UAEH]), todo esto siguiendo el protocolo PRISMA (Liberati et al., 2009). Como fuentes de información secundaria se contemplaron algunas bases de datos en línea de colecciones biológicas como la del Herbario Nacional de México (MEXU) del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBUNAM, 2021), se visitó el Herbario de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (HGOM), se consultaron bases de datos de observaciones e identificación en el sitio web Naturalista (iNaturalist, 2022) y SNIB (CONABIO, 2022).

Criterios de búsqueda

Las palabras clave y los operadores booleanos utilizados en la búsqueda de información en fuentes primarias fueron: "Agave", "Asparagaceae", "Agavaceae", "Agavoideae" "Agave* Hidalgo", "Agave* diversidad", "Agave*, lista", "Agave AND Hidalgo", "Agave AND especies", "Agave AND lista", "Agave SAME especies SAME Hidalgo", "Agave SAME especies SAME México". El operador "*" es utilizado para que el buscador identifique la palabra cuando no está completa, "AND" se usó para hallar dos términos diferentes y por último "SAME" se empleó para buscar palabras que se encuentran en la misma oración. Cada búsqueda y sus combinaciones se hicieron en español e inglés. Se eligieron los motores de búsqueda Google Académico, Web of Science y Dimensions. Un método adicional fue la búsqueda de artículos de interés identificados en el listado de referencias de los documentos analizados.

Criterios de exclusión

Los artículos con palabras clave compatibles pero que no se desarrollaban en México o en el área de estudio se consideraron de poca relevancia y se descartaron. Al menos tres bases de datos se consultaron y, en su mayoría, los datos geográficos se tomaron de estas fuentes de información secundaria; además, se consideraron los datos de la visita al herbario HGOM. Los registros de *Agave* sp. se descartaron debido a la falta de información que aportan para este estudio.

Recopilación y sistematización de la información

La información se filtró leyendo los resúmenes y los resultados de los artículos cuando se trataba de listas de presencia a nivel nacional y no se impuso restricción basada en el año de publicación. Dichas listas debían incluir los registros de especies por estado, su nombre científico y las coordenadas geográficas o nombre de la localidad más cercana. Para actualizar la información y evitar sinonimias, el nombre científico de todas las especies registradas se consultó en la página del

To gather information from secondary sources such as SNIB (CONABIO, 2022) and Naturalista (iNaturalist, 2022), the search included the following criteria: kingdom Plantae, family Asparagaceae, genus *Agave*, and the state of Hidalgo. Species with a 'degree of investigation' were recorded, indicating proper identification and acceptance by a specialist. For the MEXU (IBUNAM, 2021), the criteria were vascular plant collection, family Asparagaceae, genus *Agave*, and the state of Hidalgo. Since the search with these parameters yielded no results, the family name was replaced with Agavaceae, resulting in records of specimens collected under that classic denomination.

Based on the gathered information, a data table was constructed, including the following elements: study number, authors, title of the study, publication date, document type (article, thesis, book, list, web), found scientific names, municipality, geographical coordinates, and national and international risk category. The subgenus to which each species belongs, along with the taxonomic descriptor, was also reviewed and included.

Data analysis

A map was created to visualize the species obtained in the review. When a species occurred in more than two locations without georeferences, the geographical coordinates of the municipality with the highest number of records were selected (Figure 1). Subsequently, total number of studies, number of studies with included species lists, overall number of species, and frequency with which these were mentioned in the consulted studies were quantified. Finally, each species with its updated name was cross-referenced with the Mexican Official Standard NOM-059- SEMARNAT-2010 regarding species at risk of extinction (SEMARNAT, 2010), updated as of November 14, 2019, with a modification to normative annex III, as well as the Red List of Threatened Species of the International Union for Conservation of Nature (IUCN, 2023).

Species were considered present in Hidalgo when mentioned in five or more studies. In the same category, some species recorded in four or fewer studies were included if their presence in the region was known from other sources (field validations and herbarium collections). Records with these characteristics were labeled as 'very likely.' A species labeled 'unlikely' was mentioned in one to four studies, and its distribution in the region remained uncertain. Subsequently, a word cloud was generated using the 'wordcloud' package (Fellows et al., 2018) in the R programming language (R Development Core Team, 2012) for visual identification of species with the highest number of records.

Jardín Botánico Real de Kew (Royal Botanic Gardens Kew, 2022), la cual muestra los nombres científicos aceptados actualmente.

Para recopilar información de las fuentes secundarias del SNIB (CONABIO, 2022) y Naturalista (iNaturalist, 2022), la búsqueda contempló los criterios siguientes: reino Plantae, familia Asparagaceae, género *Agave* y estado Hidalgo y se registraron las especies que mostraban 'grado de investigación', lo cual significa que están debidamente identificadas y aceptadas por un especialista. En el MEXU (IBUNAM, 2021), los criterios fueron: colección de plantas vasculares, familia Asparagaceae, género *Agave* y estado Hidalgo. Debido a que la búsqueda con estos parámetros no mostró resultados, el nombre de la familia se sustituyó por Agavaceae. De esta forma se obtuvieron registros de ejemplares colectados bajo esa denominación clásica.

A partir de la información obtenida se elaboró un cuadro de datos con los elementos siguientes: número del estudio, autores, título del trabajo, fecha de publicación, tipo de documento (artículo, tesis, libro, lista, web), nombres científicos encontrados, municipio, coordenadas geográficas y categoría de riesgo nacional e internacional. También se revisó e incluyó el subgénero al cual pertenece cada especie, así como el descriptor taxonómico.

Análisis de la información

Se construyó un mapa de las especies obtenidas en la revisión. Cuando la especie se presentaba en más de dos localidades sin georreferencias, se eligieron las coordenadas geográficas del municipio con el número mayor de registros (Figura 1). Después, se cuantificaron el número total de estudios, número de estudios con listas de especies incluidas, número total de especies, así como la frecuencia con que estas fueron mencionadas en los trabajos consultados. Por último, cada especie con su nombre actualizado se buscó en la Norma Oficial Mexicana NOM-059- SEMARNAT-2010 sobre especies en peligro de extinción (SEMARNAT, 2010), actualizada al 14 de noviembre de 2019 con una modificación del anexo normativo III, así como en la lista roja de especies amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, 2023).

Las especies se consideraron presentes en Hidalgo cuando fueron mencionadas en cinco trabajos o más; en esta misma categoría, se incluyeron algunas especies registradas en cuatro estudios o menos, pero que se sabe por otras fuentes (validaciones en campo y colectas de herbario) de su presencia en la entidad. A los registros con estas características se les colocó la etiqueta de 'muy probable'. La especie 'poco probable'

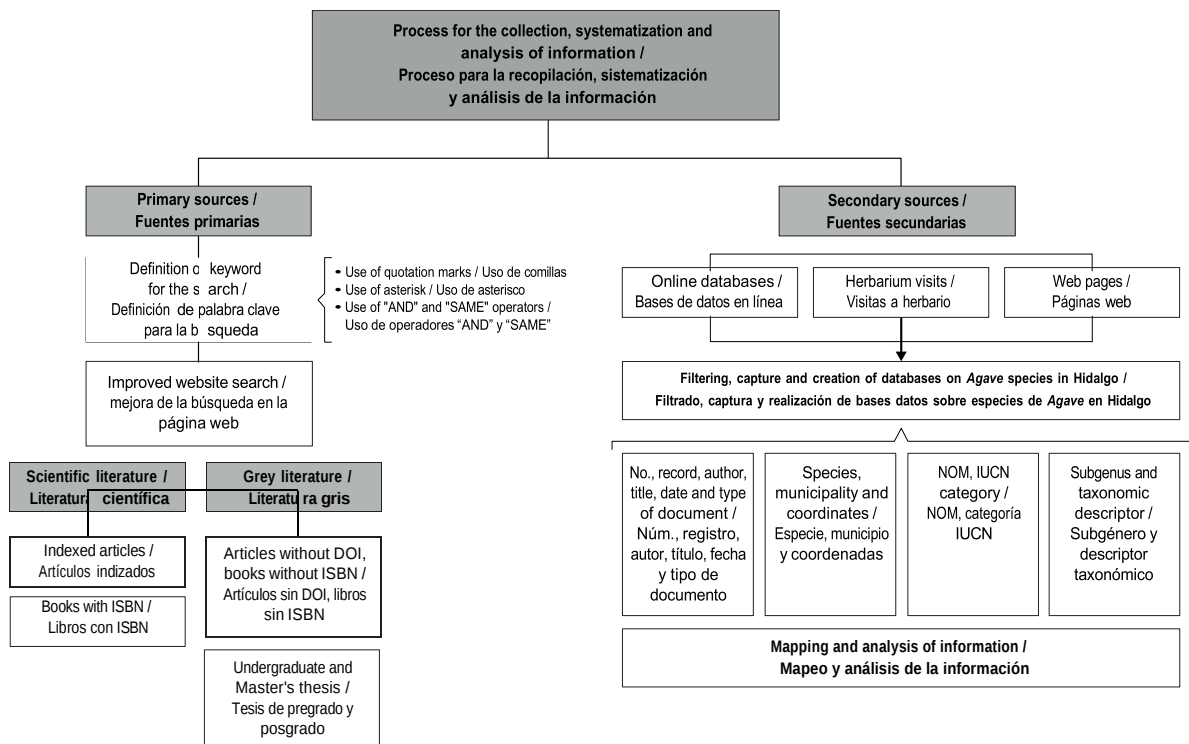


Figure 1. Methodological Process Outline for the Systematic Analysis of the State of Knowledge of the *Agave* Genus in Hidalgo, Mexico. Adapted from Ordóñez-Delgado et al. (2019). ISBN: International Standard Book Number, DOI: Digital Object Identifier, NOM: Mexican Official Standard NOM-059-SEMARNAT-2010; IUCN: International Union for Conservation of Nature.

Figura 1. Esquema del proceso metodológico para el análisis sistemático del estado de conocimiento del género *Agave* en Hidalgo, México. Tomado y modificado de Ordóñez-Delgado et al. (2019). ISBN: International Standard Book Number, DOI: Digital Object Identifier, NOM: Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010; IUCN: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.

Results

Number of studies and records

Table 1 contains data on the diversity of *Agave* species in Hidalgo, derived from 22 sources of primary and secondary information. Out of the total selected publications, 13 are indexed articles (59 %), mostly presenting lists and catalogs of species per federal entity. Four correspond to digital databases of herbaria and websites (18 %); three are books with ISBNs (14 %), providing information on the presence of some agave species in the region and geographical data. Finally, two referenced studies are undergraduate theses (9 %), primarily focusing on the reproductive biology of some species.

In the 22 analyzed studies, 293 records were identified, representing 55 species, subspecies, or intraspecific varieties present in the region. The information is summarized in Table 2 and Figure 2. *Agave mitis* Mart. had the highest frequency of records (19), followed by

es aquella que se mencionó en uno a cuatro estudios y cuya distribución en la entidad aún es dudosa. Posteriormente, se construyó una nube de palabras con ayuda del paquete 'wordcloud' (Fellows et al., 2018) en el lenguaje de programación R (R Development Core Team, 2012), para la identificación visual de las especies que obtuvieron mayor número de registros.

Resultados

Número de estudios y registros

El Cuadro 1 contiene datos sobre la diversidad de especies de *Agave* en Hidalgo, provenientes de 22 fuentes de información primaria y secundaria. Del total de las publicaciones elegidas, 13 corresponden a artículos indexados (59 %) que, en su mayoría, mostraban listas y catálogos de especies por entidad federativa; cuatro corresponden a bases de datos digitales de herbarios y páginas web (18 %); tres libros con ISBN (14 %), los cuales brindaron información de presencia de algunas especies de agaves en la

Table 1. Primary and secondary information sources used in the systematic review for understanding the biodiversity of agaves in Hidalgo.

Cuadro 1. Fuentes de información primarias y secundarias utilizadas en la revisión sistemática para el conocimiento de la biodiversidad de agaves en Hidalgo.

Study number / Número estudio	Species number / Número de especies	Reference / Referencia	Title / Título	Source of reference / Fuente de consulta
1	15	Gentry (1982)	Agaves of continental North America	ISBN
2	17	Espejo-Serna and López-Ferrari (1998)	Las monocotiledóneas mexicanas: una sinopsis florística	ISBN
3	4	Barrios-Rodríguez and Medina-Cota (1996)	Estudio florístico de la Sierra de Pachuca, estado de Hidalgo	Article
4	8	Villavicencio Nieto and Pérez Escandón (2006)	Plantas útiles del estado de Hidalgo	Article
5	28	Villaseñor et al. (2016)	Checklist of the native vascular plants of Mexico	Article
6	11	Peña and Peña (2007)	Estudio etnofarmacológico de las diferentes especies endémicas de <i>Agave</i> en la medicina tradicional del estado de Hidalgo	Undergraduate thesis
7	7	Pérez-Escandón (2003)	Lista de las plantas útiles del estado de Hidalgo	ISBN book
8	2	Espejo-Serna (2012)	El endemismo en las Liliopsidas mexicanas	Article
9	21	Thiede (2020)	Agavaceae: <i>Agave</i>	Article
10	1	Villaviencio-Nieto et al. (2010)	Plants traditionally used as pesticides in the state of Hidalgo, Mexico	Article
11	3	Rojas et al. (2013)	Florística y relaciones fitogeográficas del matorral xerófilo en el Valle de Tecozautla, Hidalgo, México	Article
12	2	Juárez (2014)	The current state of <i>Agave salmiana</i> and <i>A. mapisaga</i> in the valley of Mexico	Article
13	10	Rangel (1987)	Etnobotánica de los agaves del Valle del Mezquital	Undergraduate thesis
14	6	Eguiarte and Sheinvar (2008)	Agaves y cactáceas de Metztitlán: Ecología, evolución y conservación	Article
15	12	Cornejo-Latorre et al. (2011)	Abundancia estacional de los murciélagos herbívoros y disponibilidad de los recursos quiropterófilos en dos tipos de vegetación de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México	Article
16	2	Gerardo Salazar (colector, 2009)	Herbario de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (HGOM)	Herbarium specimen
17	35	Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO, 2022)	Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB). Agaves en Hidalgo.	Digital database
18	26	iNaturalist (2022)	Agaves de Hidalgo	Digital database
19	20	Universidad Nacional Autónoma de México-Instituto de Biología (IBUNAM, 2021)	IBdata v3 «Helia Bravo Hollis» Herbario Nacional de México (MEXU).	Digital herbarium data
20	21	Villaseñor et al. (2022)	Riqueza y distribución de la flora vascular del estado de Hidalgo, México	Article
21	6	Figueredo-Urbina et al. (2021)	Morphological and genetic diversity of traditional varieties of agave in Hidalgo State, Mexico	Article
22	37	Villavicencio et al. (1998)	Lista florística del estado de Hidalgo	Article
Total	293			

ISBN (International Standard Book Number).

A. lechuguilla Torr. (17), *A. striata* Zucc. and *A. mapisaga* Trel. (15), while *A. filifera* Salm-Dyck, *A. difformis* Berger and *A. xylonacantha* Salm-Dyck had the same number of records (12). Four agaves (*A. americana* L., *A. applanata* Hort. ex K. Koch, *A. funkiana* K. Koch & C. D. Bouché and *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck) had nine records. On the other hand, there were 10 species with only one record each [*A. coetocapnia* [M. Roem.] Govaerts & Thiede

entidad y datos geográficos, y, por último, dos trabajos consultados son tesis de licenciatura (9 %). Estos últimos se han centrado principalmente en la biología de la reproducción de algunas especies.

En los 22 estudios analizados se encontraron 293 registros que se traducen en 55 especies, subespecies o variedades intraespecíficas presentes en

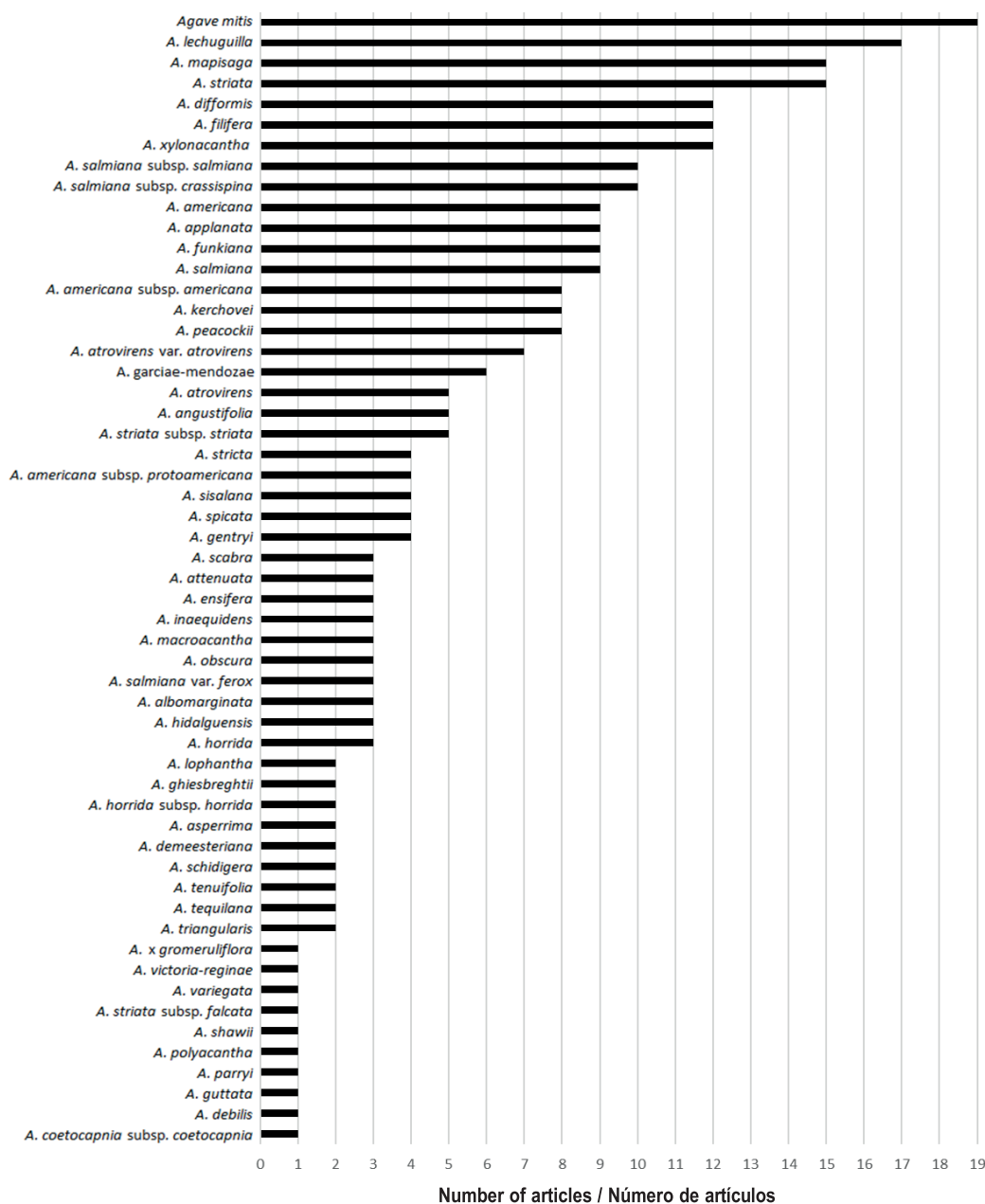


Figure 2. Number of articles where *Agave* species with presence in the state of Hidalgo are mentioned.
Figura 2. Número de artículos donde son mencionadas las especies de agave con presencia en el estado de Hidalgo.

Table 2. Species recorded in the systematic review of agave biodiversity in Hidalgo. *Records not considered due to the limited information they provide.

Cuadro 2. Especies registradas en la revisión sistemática de biodiversidad de agaves en Hidalgo. *Registros no considerados debido a la poca información que aportan.

No. / Núm.	Species/ subspecies/var. / Especie/ subsp./var.	Subgenus / Subgénero	Taxonomic descriptor / Descriptor taxonómico	Municipality with the most records / Municipio con más registros	Risk category / Categoría de riesgo		Source of information ¹ / Fuente de información ¹	Presence / Presencia
					NOM-059	IUCN		
1	<i>Agave albomarginata</i>	<i>Littaea</i>	Gentry	Huasca	No	EN	5, 7, 18	Unlikely / Poco probable
2	<i>A. americana</i>	<i>Agave</i>	Linneo	Tizayuca	No	LC	1, 5, 10, 11, 17, 18, 19, 20, 22	Very likely / Muy probable
3	<i>A. americana</i> subsp. <i>americana</i>	<i>Agave</i>		Tula	No	ND	2, 4, 6, 7, 13, 17, 22	Very likely / Muy probable
4	<i>A. americana</i> subsp. <i>protamericana</i>	<i>Agave</i>	Gentry	Eloxochitlán	No	ND	6, 13, 17, 22	Very likely / Muy probable
5	<i>A. angustifolia</i>	<i>Agave</i>	Haw	Nicolás Flores	No	LC	5, 17, 18, 19, 20	Very likely / Muy probable
6	<i>A. applanata</i>	<i>Agave</i>	Hort. ex K. Koch	Tulancingo	No	LC	1,2,5,9,17,18,19,20,22	Very likely / Muy probable
7	<i>A. asperrima</i>	<i>Agave</i>	Jacobi	Ixmiquilpan	No	LC	17,18	Unlikely / Poco probable
8	<i>A. atrovirens</i>	<i>Agave</i>	Karw. ex Salm-Dyck	Tepeapulco	No	LC	5,17,18,20,22	Very likely / Muy probable
9	<i>A. atrovirens</i> var. <i>atrovirens</i>	<i>Agave</i>		Actopan	No	LC	1, 2, 3, 5, 17, 20, 22	Very likely / Muy probable
10	<i>A. attenuata</i>	<i>Littaea</i>	Salm-Dyck	Metztitlán	No	LC	5, 18	Unlikely / Poco probable
11	<i>A. coetocapnia</i> subsp. <i>coetocapnia</i>	<i>Manfreda</i>		Pachuca	No	ND	9	Unlikely / Poco probable
12	<i>A. debilis</i>	<i>Manfreda</i>	Berger	Zempoala	No	ND	9	Unlikely / Poco probable
13	<i>A. demeesteriana</i>		Jacobi	Alfajayucan	No	ND	17, 18	Unlikely / Poco probable
14	<i>A. difformis</i>	<i>Littaea</i>	Berger	Metztitlán	No	LC	1, 2, 5, 9, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 22	Very likely / Muy probable
15	<i>A. ensifera</i>	<i>Littaea</i>	Jacobi	Pachuca	No	ND	2, 5, 22	Unlikely / Poco probable
16	<i>A. filifera</i>	<i>Littaea</i>	Salm-Dyck	Zempoala	No	LC	1, 2, 3, 5, 9, 15, 17, 18, 19, 20, 22	Very likely / Muy probable
17	<i>A. funkiana</i>	<i>Littaea</i>	K. Koch & C. D. Bouché	Alfajayucan	No	LC	1, 2, 5, 9, 17, 18, 19, 20, 22	Very likely / Muy probable
18	<i>A. garciae- mendozae</i>	<i>Littaea</i>	Galván & L. Hern.	Metztitlán	No	VU	9, 14, 17, 18, 19, 20	Very likely / Muy probable
19	<i>A. gentryi</i>	<i>Agave</i>	B. Ullrich	Zimapán	No	LC	5, 9, 18, 19	Unlikely / Poco probable
20	<i>A. ghiesbreghtii</i>	<i>Littaea</i>	Verschaff.	Zapotlán	No	LC	4, 22	Unlikely / Poco probable
21	<i>A. guttata</i>	<i>Manfreda</i>	Jacobi & C. D. Bouché	Zimapán	No	ND	9	Unlikely / Poco probable
22	<i>A. "hidalguensis"</i>	<i>Littaea</i>	No publicado	Metztitlán	No	ND	14, 15, 19	Very likely / Muy probable

NOM: Official Mexican Standard NOM-059-SEMARNAT-2010 (Pr = special protection); IUCN: International Union for Conservation of Nature (EN = endangered, VU = vulnerable, LC = least concern, ND = no data). ¹Source of information corresponding to the list indicated in Table 1.

NOM: Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (Pr = protección especial); IUCN: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (EN = en peligro, VU vulnerable, LC = preocupación menor, ND = sin datos). ¹Fuente de información correspondiente al listado señalado en el Cuadro 1.

Table 2. Species recorded in the systematic review of agave biodiversity in Hidalgo. *Records not considered due to the limited information they provide. (cont.)

Cuadro 2. Especies registradas en la revisión sistemática de biodiversidad de agaves en Hidalgo. *Registros no considerados debido a la poca información que aportan. (cont.)

No. / Núm.	Species/ subspecies/var. / Especie/ subsp./var.	Subgenus / Subgénero	Taxonomic descriptor / Descriptor taxonómico	Municipality with the most records / Municipio con más registros	Risk category / Categoría de riesgo		Source of information ¹ / Fuente de información ¹	Presence / Presencia
					NOM-059	IUCN		
23	<i>A. horrida</i>	<i>Littaea</i>	Lem. ex Jacobi	Mixquiahuala	No	LC	5, 17, 18, 22	Unlikely / Poco probable
24	<i>A. horrida</i> subsp. <i>horrida</i>	<i>Littaea</i>		Metztlitlán	No	ND	15	Unlikely / Poco probable
25	<i>A. inaequidens</i>	<i>Agave</i>	K. Koch	San Agustín Tlaxiaca	No	LC	5, 9, 22	Unlikely / Poco probable
26	<i>A. kerchovei</i>	<i>Littaea</i>	Lem.	Metztlitlán	No	ND	1, 2, 5, 15, 17, 18, 20, 22	Very likely / Muy probable
27	<i>A. lechuguilla</i>	<i>Littaea</i>	Torr.	Metzquititlán	No	LC	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22	Very likely / Muy probable
28	<i>A. lophantha</i>	<i>Littaea</i>	Schiede	San Salvador	No	LC	22	Unlikely / Poco probable
29	<i>A. macroacantha</i>	<i>Agave</i>	Zucc.	Metztlitlán	No	EN	5, 15	Unlikely / Poco probable
30	<i>A. mapisaga</i>	<i>Agave</i>	Trel.	El Cardonal	No	ND	1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 21	Very likely / Muy probable
31	<i>A. mitis</i>	<i>Littaea</i>	Mart.	Metztlitlán	No	LC	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 22	Very likely / Muy probable
32	<i>A. obscura</i>	<i>Littaea</i>	Schiede ex Schltdl.	El Cardonal	No	LC	2, 5	Unlikely / Poco probable
33	<i>A. parryi</i>	<i>Agave</i>	Engelm.	Pachuca	No	LC	5	Unlikely / Poco probable
34	<i>A. peacockii</i>	<i>Littaea</i> x <i>Agave</i>	Croucher	Mixquiahuala	Pr	VU	5, 6, 13, 15, 17, 19, 20	Very likely / Muy probable
35	<i>A. polyacantha</i>	<i>Littaea</i>	Haw.	Tepeapulco	No	LC	17	Unlikely / Poco probable
36	<i>A. salmiana</i>	<i>Agave</i>	Otto ex Salm-Dyck	Epazoyucan	No	ND	5, 6, 12, 15, 17, 18, 19, 20, 21	Very likely / Muy probable
37	<i>A. salmiana</i> subsp. <i>crassispina</i>	<i>Agave</i>		Mineral del Monte	No	ND	1, 2, 3, 6, 7, 9, 13, 17, 21	Very likely / Muy probable
38	<i>A. salmiana</i> subsp. <i>salmiana</i>	<i>Agave</i>		San Salvador	No	ND	1, 2, 4, 6, 9, 13, 17, 21, 22	Very likely / Muy probable
39	<i>A. salmiana</i> var. <i>ferox</i>	<i>Agave</i>		Eloxochitlán	No	ND	14, 17, 21	Very likely / Muy probable
40	<i>A. scabra</i>	<i>Manfreda</i>	Ortega	Mineral del Chico	No	ND	9, 20, 22	Unlikely / Poco probable
41	<i>A. schidigera</i>	<i>Littaea</i>	Lem.	Mineral del Monte	No	LC	17, 18	Unlikely / Poco probable
42	<i>A. shawii</i>	<i>Agave</i>	Engelm.	Pachuca	No	LC	18	Unlikely / Poco probable
43	<i>A. sisalana</i>	<i>Agave</i>	Perrine	Metztlitlán	No	ND	5, 17, 19, 20	Unlikely / Poco probable

NOM: Official Mexican Standard NOM-059-SEMARNAT-2010 (Pr = special protection); IUCN: International Union for Conservation of Nature (EN = endangered, VU = vulnerable, LC = least concern, ND = no data). ¹Source of information corresponding to the list indicated in Table 1.

NOM: Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (Pr = protección especial); IUCN: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (EN = en peligro, VU vulnerable, LC = preocupación menor, ND = sin datos). ¹Fuente de información correspondiente al listado señalado en el Cuadro 1.

Table 2. Species recorded in the systematic review of agave biodiversity in Hidalgo. *Records not considered due to the limited information they provide. (cont.)

Cuadro 2. Especies registradas en la revisión sistemática de biodiversidad de agaves en Hidalgo. *Registros no considerados debido a la poca información que aportan. (cont.)

No. / Núm.	Species/ subspecies/var. / Especie/ subsp./var.	Subgenus / Subgénero	Taxonomic descriptor / Descriptor taxonómico	Municipality with the most records / Municipio con más registros	Risk category / Categoría de riesgo		Source of information ¹ / Fuente de información ¹	Presence / Presencia
					NOM-059	IUCN		
*	<i>Agave</i> sp.	-	-	Chilcuautla	-	-	6, 13, 19	-
44	<i>A. spicata</i>	<i>Littaea</i>	Cav.	Mineral del Monte	No	ND	2, 5, 8	Unlikely / Poco probable
45	<i>A. striata</i>	<i>Littaea</i>	Zucc.	Mineral del Monte	No	LC	2,4,5,6,7,9,11,14, 15, 16, 17, 18, 19, 20	Very likely / Muy probable
46	<i>A. striata</i> subsp. <i>falcata</i>	<i>Littaea</i>		Metztitlán	No	ND	17	Very likely / Muy probable
47	<i>A. striata</i> subsp. <i>striata</i>	<i>Littaea</i>		Ixmiquilpan	No	ND	1, 9, 13, 17	Very likely / Muy probable
48	<i>A. stricta</i>	<i>Littaea</i>	Salm-Dyck	Metztitlán	No	LC	17, 18, 20	Unlikely / Poco probable
49	<i>A. tenuifolia</i>	<i>Littaea</i>	Zamudio & E. Sánchez	Metztitlán	No	LC	5, 9	Unlikely / Poco probable
50	<i>A. tequilana</i>	<i>Agave</i>	F. A. C. Weber	Atotonilco de Tula	No	ND	17, 18	Unlikely / Poco probable
51	<i>A. triangularis</i>	<i>Littaea</i>	Jacobi	Huasca	No	VU	17, 18	Unlikely / Poco probable
52	<i>A. variegata</i>	<i>Manfreda</i>	Jacobi	El Cardonal	No	ND	9	Unlikely / Poco probable
53	<i>A. victoria-reginae</i>	<i>Littaea</i>	T. Moore	Zapotlán	No	LC	17	Unlikely / Poco probable
54	<i>A. x gromeruliflora</i>	<i>Littaea</i>	(Engelm.) A. Berger	Zempoala	No	ND	20	Very likely / Muy probable
55	<i>A. xylonacantha</i>	<i>Littaea</i>	Salm-Dyck	Metztitlán	No	LC	1, 2, 5, 7, 9, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 22	Very likely / Muy probable

NOM: Official Mexican Standard NOM-059-SEMARNAT-2010 (Pr = special protection); IUCN: International Union for Conservation of Nature (EN = endangered, VU = vulnerable, LC = least concern, ND = no data). ¹Source of information corresponding to the list indicated in Table 1.

NOM: Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (Pr = protección especial); IUCN: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (EN = en peligro, VU vulnerable, LC = preocupación menor, ND = sin datos). ¹Fuente de información correspondiente al listado señalado en el Cuadro 1.

subsp. *coetocapnia*, *A. debilis* Berger, *A. horrida* Lem. ex Jacobi subsp. *horrida*, *A. parryi* Engelm., *A. polyacantha* Haw., *A. scabra* Ortega, *A. shawii* Engelm., *A. striata* subsp. *falcata*, *A. variegata* Jacobi, *A. victoria-reginae* T. Moore). Nine records were found without identification (*Agave* sp.) but were excluded. Through a word cloud, Figure 3 illustrates the number of species records based on the size of the font.

According to Table 2, most species belong to the subgenus *Littaea* (28), followed by *Agave* (20), *Manfreda* (5), and finally, the natural hybrid *Littaea* x *Agave* (1). The information about the group to which *A. demeesteriana* Jacobi belongs is not clear. Finally, 26 species are classified as 'very likely' to be present in Hidalgo, while 29 are categorized as 'unlikely.' The data reported for species with a 'very likely' distribution include

la entidad; la información se resume en el Cuadro 2 y Figura 2. *Agave mitis* Mart. fue el maguey con mayor frecuencia de registro (19), seguido de *A. lechuguilla* Torr. (17), *A. striata* Zucc. y *A. mapisaga* Trel. (15), mientras que *A. filifera* Salm-Dyck, *A. difformis* Berger y *A. xylonacantha* Salm-Dyck presentaron el mismo número de registros (12). Cuatro agaves (*A. americana* L., *A. applanata* Hort. ex K. Koch, *A. funkiana* K. Koch & C. D. Bouché y *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck) obtuvieron nueve registros. Por otra parte, hubo 10 especies con un solo registro (*A. coetocapnia* [M. Roem.] Govaerts & Thiede subsp. *coetocapnia*, *A. debilis* Berger, *A. horrida* Lem. ex Jacobi subsp. *horrida*, *A. parryi* Engelm., *A. polyacantha* Haw., *A. scabra* Ortega, *A. shawii* Engelm., *A. striata* subsp. *falcata*, *A. variegata* Jacobi, *A. victoria-reginae* T. Moore). Se encontraron nueve registros sin identificación (*Agave* sp.), pero fueron descartados. A través de una nube de

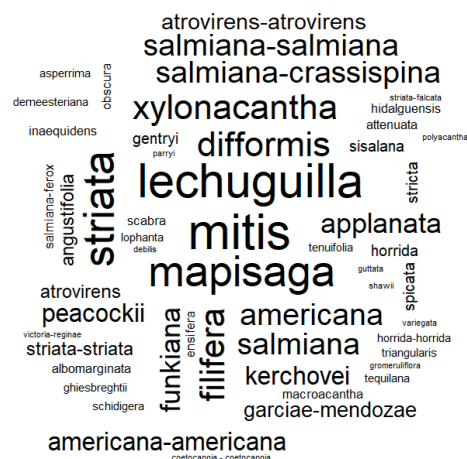


Figure 3. Word cloud of species of agaves recorded in Hidalgo. The symbol '-' was added to subspecies and varieties to recognize them as a single word.

Figura 3. Nube de palabras de las especies de agaves registradas en Hidalgo. A las subespecies y variedades se les agregó el símbolo '-' para que fuesen reconocidas como una sola palabra.

demographic, ecological, and population georeference information that ensures their presence in the region.

Regarding risk categories, *A. peacockii* Croucher is subject to special protection according to NOM-059-SEMARNAT-2010, and the remaining species are not listed in this standard. In the IUCN Red List (2023), *A. albomarginata* Gentry and *A. macroacantha* Zucc. are classified as endangered; *A. garciae-mendozae* Galván & L. Hern., *A. kerchovei* Lem., *A. peacockii* and *A. triangularis* Jacobi fall under the vulnerable category. Twenty-eight species are classified as least concern, and the remaining 21 species do not have information available in this regard.

Time frame of studies and geographic distribution

With respect to the temporal scale, most studies relevant to this research were published between 2004 and 2014. The most recent data corresponds to 2022, and digital databases were only reviewed in 2021. Some of the most recent studies and database records provide relevant information. Figure 4 shows that the species are distributed throughout the entire state but are concentrated mainly in the Biosphere Reserve Barranca de Metztlán, Valle del Mezquital, and the central part of the region. Specifically, Metztlán, Ixmiquilpan, and some municipalities near the state capital have the highest number of recorded species. The northeast region (Huejutla, Huehuetla, and Atlapexco) lacks records due to its warm-humid climate (Figure 5).

palabras, la Figura 3 dimensiona el número de registros de las especies con base en el tamaño de la letra.

De acuerdo con el Cuadro 2, la mayoría de las especies pertenecen al subgénero *Littaea* (28), seguido de *Agave* (20), *Manfreda* (5) y por último el híbrido natural *Littaea x Agave* (1). La información sobre el grupo al que pertenece *A. demeesteriana* Jacobi no es clara. Finalmente, 26 especies cuentan con una distribución 'muy probable' en Hidalgo y a 29 se les asignó la categoría 'poco probable'. Los datos reportados para las especies de distribución 'muy probable' incluyen información demográfica, ecológica y georreferencias poblacionales que aseguran su presencia en la entidad.

En cuanto a las categorías de riesgo, *A. peacockii* Croucher se encuentra sujeta a protección especial de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010 y el resto de las especies no aparecen en dicha norma. En la lista roja de la IUCN (2023), *A. albomarginata* Gentry y *A. macroacantha* Zucc. aparecen en peligro; *A. garciae-mendozae* Galván & L. Hern., *A. kerchovei* Lem., *A. peacockii* y *A. triangularis* Jacobi aparecen bajo la categoría de vulnerable; 28 especies son de preocupación menor y el resto (21) no presentan información al respecto.

Temporalidad de los estudios y distribución geográfica

Con respecto a la escala temporal, el mayor número de estudios útiles para esta investigación se publicaron entre 2004 y 2014. Los datos más recientes corresponden

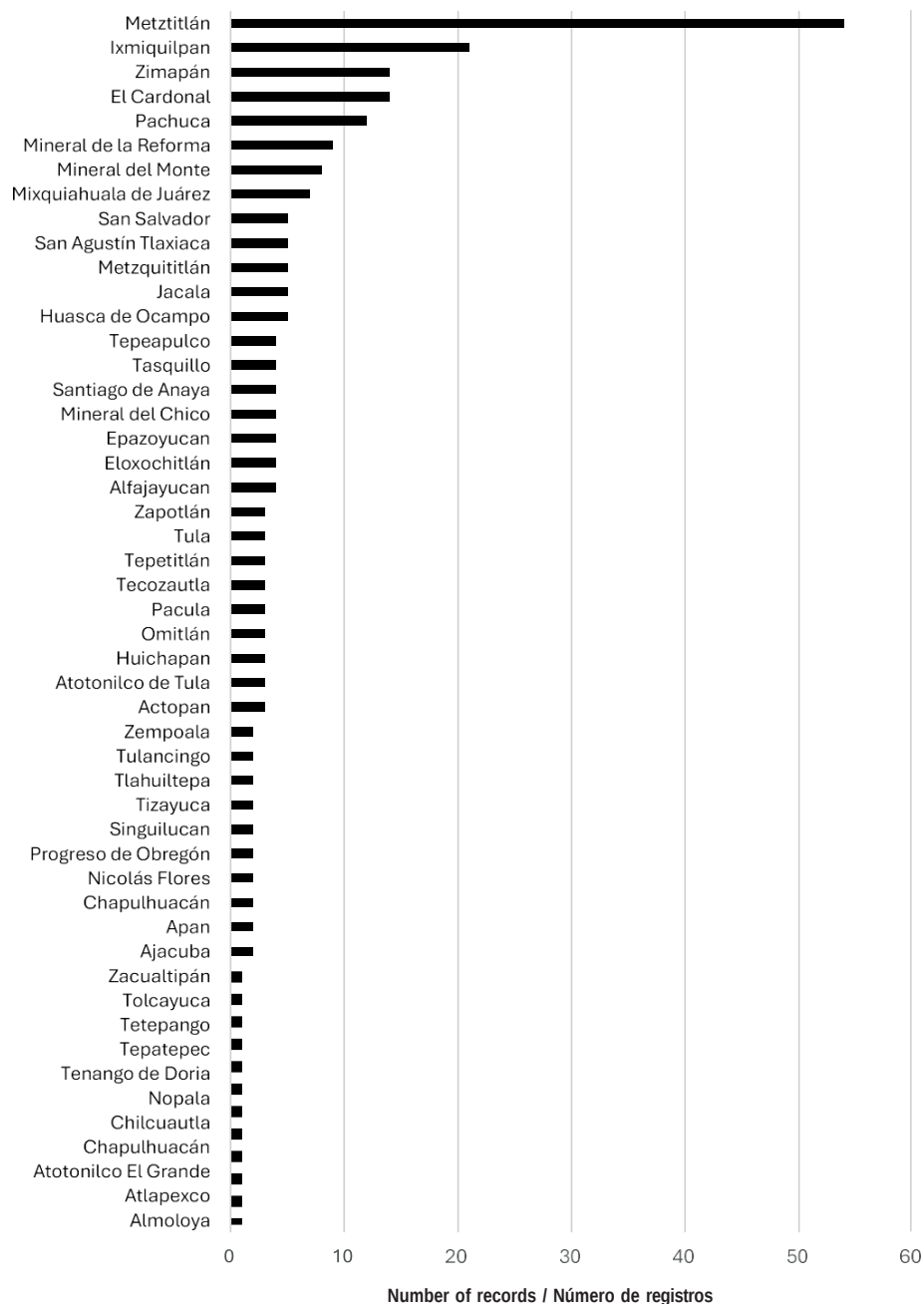


Figure 4. The frequency of 293 records of *Agave* species by municipalities in Hidalgo
Figura 4. Frecuencia de 293 registros de especies de *Agave* por municipios en Hidalgo.

Discussion

This study marks the initial systematic exploration of agave diversity in Hidalgo, based on the review of scientific literature, although the topic has already been addressed in other places (Arulnayagam et al., 2021; Jakobsson et al., 2018; Spafford et al., 2013; Szewczyk &

a 2022 y las bases de datos digitales se revisaron solo en 2021. Algunos de los trabajos más recientes y registros de bases de datos aportan información relevante. La Figura 4 muestra que las especies se distribuyen por casi todo el estado, pero se concentran mayormente en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztlán, Valle del Mezquital y el centro de la entidad; específicamente, Metztlán,

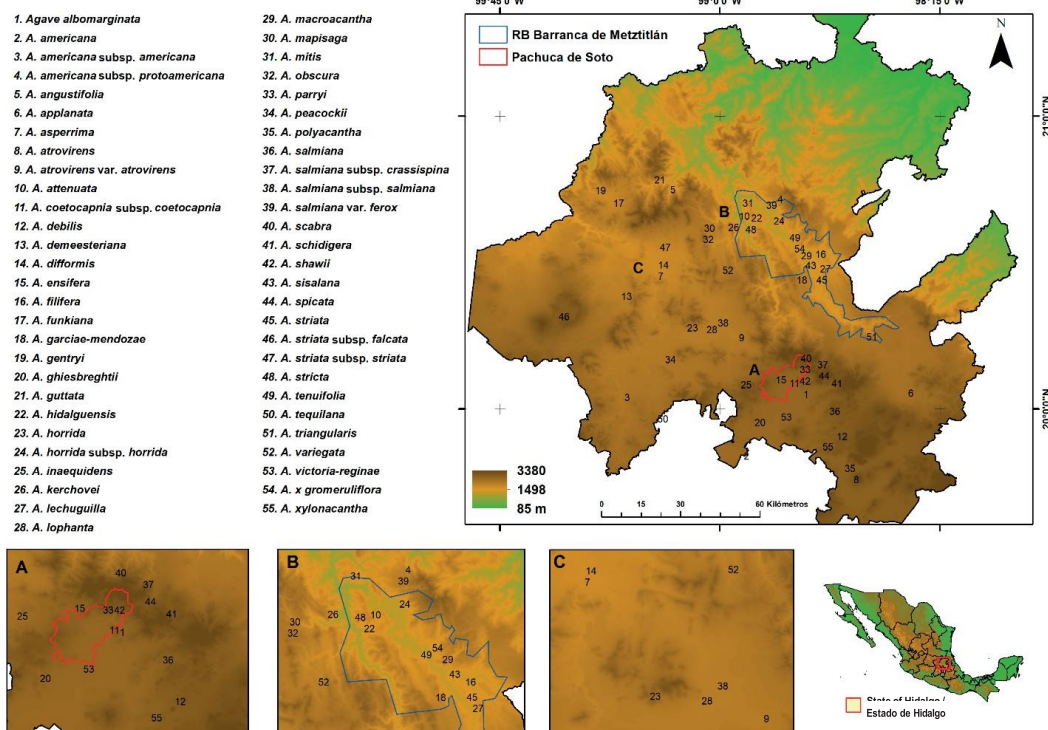


Figure 5. Distribution of the 55 *Agave* species in the state of Hidalgo according to the records from 22 analyzed sources of information. A: Central Zone; B: Barranca de Metztitlán; C: Valle del Mezquital
 Figura 5. Distribución de las 55 especies de *Agave* en el estado de Hidalgo de acuerdo con el registro en 22 fuentes de información analizadas. A: Zona centro; B: Barranca de Metztitlán, C: Valle del Mezquital.

McCain, 2016; Yan & Yang, 2017). These reviews analyzed the available evidence regarding a specific, structured and specific research question, either only in scientific literature (primary) or in any available source such as databases, books, web pages and theses (secondary). The systematic review is qualitative because it shows the evidence in a descriptive way, without a statistical analysis (meta-analysis). Systematic reviews have an explicit and reproducible methodology, provide an accurate and reliable evaluation, and also allow comparison of results between studies; however, they are time-consuming and limited by the quantity and quality of the studies (Aguilera-Eguía & Arroyo-Jofre, 2016). On the other hand, updated species inventories provide information about the distribution of their richness for macroecological analysis and provide tools for planning priority conservation areas. With respect to online databases, their use has expanded rapidly, as the number of species that can be consulted in electronic format has increased since the beginning of the year 2000.

In the present study, one of the advantages of considering both primary and secondary sources of

Ixmiquilpan y algunos municipios cercanos a la capital del estado cuentan con el mayor número de especies registradas. La región noreste (Huejutla, Huehuetla y Atlapexco) no cuenta con registros debido a su clima cálido-húmedo (Figura 5).

Discusión

Este trabajo constituye el primer análisis sistemático de diversidad de agaves de Hidalgo, con base en la revisión de literatura científica, aunque en otros lugares ya se ha abordado el tema (Arulnayagam et al., 2021; Jakobsson et al., 2018; Spafford et al., 2013; Szewczyk & McCain, 2016; Yan & Yang, 2017). Estas revisiones analizaron la evidencia disponible con respecto a una pregunta de investigación específica, estructurada y explícita, ya sea solo en literatura científica (primaria) o en cualquier fuente disponible como bases de datos, libros, páginas web y tesis (secundaria). La revisión sistemática es cualitativa debido a que muestra la evidencia en forma descriptiva, sin un análisis estadístico (metanálisis). Las revisiones sistemáticas tienen una metodología explícita y reproducible, brindan una evaluación precisa y fiable, además que permiten comparar resultados

information is that it led to the recording of a greater number of species; in addition, it was visualized which type of source provided more information on the number of records. The primary source providing the highest number of records was the article by Villaseñor et al. (2016), who initially mention 32 species. However, when reviewing the valid and updated names, it was reduced to 28 species reported for Hidalgo; in this case, considering one or the other number will depend on the researcher's criteria. The secondary source of information that provided the most species records was the SNIB online database (CONABIO, 2022) with 35 species; however, this high number is because it includes species outside their natural distribution and, sometimes, these records are an individual of the species in a garden or on a walkside. For instance, *A. tequilana* Weber serves as an example, being naturally present in Jalisco and less common in Sonora, Sinaloa, Michoacán and Oaxaca (Thiede, 2020). Similar cases occur with *A. shawii*, as this species is naturally distributed in Sonora, Baja California, Baja California Sur, in addition to California in the United States (Morin et al., 2015). In the case of *A. demeesteriana*, the species is considered native to Veracruz and Sinaloa, so its presence in other states is still doubtful. *Agave ghiesbreghtii* Verschaff. according to García-Mendoza (2011), is an agave distributed in Estado de México, Puebla, Oaxaca, and even Guatemala. In the same study, *A. triangularis* is reported only in the southwest of the country, in Puebla, Oaxaca, and Guerrero.

Finally, *A. sisalana* Perrine is exclusively recorded in the Yucatán Peninsula (Brown, 2002). For some agaves with one to four records, such as *A. victoriae-reginae*, *A. coetocapnia* subsp. *coetocapnia*, *A. parryi*, *A. debilis*, *A. guttata* Jacobi & C. D. Bouché, *A. gentryi* Ullrich, *A. obscura* Schiede ex Schltdl., *A. albomarginata* y *A. ensifera* Jacobi field validations of natural populations and more rigorous identifications are recommended. This is particularly crucial for species like *A. gentryi*, as there are botanical collections deposited in the MEXU herbarium, which were consulted on its website.

Nomenclature Updates

Espejo-Serna (2012) identifies two agave species as endemic to Hidalgo. One of them is *A. scabra*, and the accepted names database of the Royal Botanic Gardens, Kew, confirms the exclusivity of this plant to the region. The other species is *A. mitis* var. *albidior*, but due to recent changes in the nomenclature and taxonomy of this species and subspecies complex, only the name *A. mitis* is currently considered valid. Consequently, the notion that this species is endemic to the state is dismissed. The decision not to impose restrictions on the publication year was crucial to observe the increasing studies on agaves in the state based on

entre estudios; sin embargo, consumen gran cantidad de tiempo y está limitada por la cantidad y calidad de los estudios (Aguilera-Eguía & Arroyo-Jofre, 2016). Por otro lado, los inventarios de especies actualizados proveen información acerca de la distribución de su riqueza para análisis macroecológicos y proporcionan herramientas para la planeación de áreas prioritarias de conservación. Con respecto a las bases de datos en línea, su uso se ha expandido de forma acelerada, debido a que el número de especies que puede ser consultado en formato electrónico ha incrementado desde inicios del año 2000.

En el presente estudio, una de las ventajas de tomar en cuenta fuentes de información primarias y secundarias es que se logró el registro de un número mayor de especies; además, se visualizó qué tipo de fuente aportó más información sobre el número de registros. La fuente primaria que aportó el mayor número de registros fue el artículo de Villaseñor et al. (2016), quienes inicialmente mencionan 32 especies. No obstante, al revisar los nombres válidos y actualizados se redujo a 28 especies reportadas para Hidalgo; en este caso, tomar en cuenta uno u otro número dependerá del criterio del investigador. La fuente de información secundaria que aportó más registros de especies fue la base de datos en línea del SNIB (CONABIO, 2022) con 35 especies; sin embargo, este número alto se debe a que incluye a especies fuera de su distribución natural y, en ocasiones, esos registros son un individuo de la especie en algún camellón o jardín. Un ejemplo de esto es *A. tequilana* Weber que se puede encontrar de manera natural en Jalisco y es menos abundante en Sonora, Sinaloa, Michoacán y Oaxaca (Thiede, 2020). Casos similares se presentan con *A. shawii*, pues esta especie se distribuye naturalmente en Sonora, Baja California, Baja California Sur, además de California en Estados Unidos (Morin et al., 2015). En el caso de *A. demeesteriana*, la especie se considera nativa de Veracruz y Sinaloa, por lo que su presencia en otros estados aún es dudosa. *Agave ghiesbreghtii* Verschaff., de acuerdo con García-Mendoza (2011), es un maguey que se distribuye en el Estado de México, Puebla, Oaxaca y hasta Guatemala; en ese mismo trabajo, *A. triangularis* se reporta únicamente en el suroeste del país, en Puebla, Oaxaca y Guerrero.

Por último, *A. sisalana* Perrine está registrada únicamente en la península de Yucatán (Brown, 2002). Para algunos agaves que tuvieron de uno a cuatro registros como *A. victoriae-reginae*, *A. coetocapnia* subsp. *coetocapnia*, *A. parryi*, *A. debilis*, *A. guttata* Jacobi & C. D. Bouché, *A. gentryi* Ullrich, *A. obscura* Schiede ex Schltdl., *A. albomarginata* y *A. ensifera* Jacobi se recomienda hacer validaciones en campo de poblaciones naturales e identificaciones más rigurosas, ya que algunas de ellas podrían estar presentes potencialmente en la entidad.

seasonality. On the other hand, this strategy allowed for the observation of changes in some scientific names and rearrangements over the years. However, it also reflects that these taxonomic updates are not always accepted by some more conservative scientists.

The earliest study recorded 15 species distributed in the region (Gentry, 1982) and showed some changes in the nomenclature of only one of them. In contrast, more recent studies (excluding online databases) reported 21 species for Hidalgo (Thiede, 2020; Villaseñor et al., 2022), which also exhibit taxonomic errors. However, these studies assert that their findings are grounded in classifications and nomenclatures. As evident, the magnitude of differences among recorded species is not directly proportional to the difference in years between them, given the 38-year gap between the studies. *A. mitis* had the highest number of records, being mentioned in 19 out of the 22 sources consulted. Recently, this species has been cataloged with an expanded distribution range, and its name has been modified to account for its subspecies and varieties; it was previously recognized under the name *A. celsii* Hook (Thiede, 2016).

Geographic Distribution of Agaves in Hidalgo

The georeferences of each record reveal the collecting trends and how geographic information systems are employed for species analysis in the region (Greene & Pick, 2012). In this study, the Metztitlán ravine and the Mezquital Valley have the highest concentration of records.

Out of the 55 species records for Hidalgo, 26 have a category of 'very likely' and are naturally distributed in the state. As mentioned, *A. lechuguilla* was the second most common species in the studies and databases, which is due to its natural history, because of its natural history, as it is a widely distributed, abundant species with large population densities (Gentry, 1982). Furthermore, this species is of importance to some communities in the region, as there is evidence of the use of its fiber to produce bags and cleaning utensils. *Agave hidalguensis* is also included, which, despite having few records and no formal description, has specimens deposited in herbarium and has been the subject of a study (Eguiarte & Sheinvar, 2008). Other examples of this type are *A. salmiana* var. *ferox* and *A. americana* subsp. *protoamericana*, since they obtained three and four records respectively, which may be due to a taxonomic bias, but these data are considered reliable due to the information source; in addition, it is known from other sources that these two species of magueys are harvested and managed in the state. Similarly, *A. striata* subsp. *falcata*, despite having only one mention, was included in the 'very likely' category, because the information

Tal es el caso de *A. gentryi*, ya que existen colectas botánicas depositadas en el herbario MEXU, las cuales se consultaron desde su sitio web.

Actualizaciones en la nomenclatura

Espejo-Serna (2012) indica que existen dos especies de agaves endémicas de Hidalgo. Una de ellas es *A. scabra*; al respecto, la base de nombres aceptados del Jardín Botánico Real de Kew confirma lo exclusivo de la planta para la entidad. La otra especie es *A. mitis* var. *albidior*, pero con los cambios recientes en la nomenclatura y taxonomía de este complejo de especies y subespecies, actualmente solo es válido el nombre de *A. mitis*, por lo que se descarta que esta especie sea endémica del estado. Con base en la temporalidad, el hecho de no poner restricciones en el año de publicación fue determinante para observar cómo es que los estudios sobre agaves en el estado han aumentado. Por otro lado, esta estrategia permitió observar el cambio en algunos nombres científicos y reacomodos conforme avanzan los años, pero también refleja que no siempre estas actualizaciones taxonómicas son aceptadas por algunos científicos más conservadores.

El estudio más antiguo registró 15 especies distribuidas en la entidad (Gentry, 1982) y mostró algunos cambios en la nomenclatura de solo una de ellas; por otra parte, los estudios más recientes (sin considerar bases de datos en línea) registraron 21 especies para Hidalgo (Thiede, 2020; Villaseñor et al., 2022), los cuales también cuentan con errores taxonómicos, pero en dichos trabajos argumentan que se basan en clasificaciones y nomenclaturas anteriores. Como puede apreciarse, la magnitud de las diferencias entre especies registradas no es la misma comparada con la diferencia de años que existe entre ellas, ya que transcurrieron 38 años entre un estudio y otro. De igual forma, *A. mitis* fue el agave con más registros, pues se mencionó en 19 de las 22 fuentes consultadas. Recientemente, esta especie fue catalogada con una mayor amplitud en su área de distribución y se modificó el nombre tomando en cuenta sus subespecies y variedades; esta era reconocida con el nombre de *A. celsii* Hook (Thiede, 2016).

Distribución geográfica de agaves en Hidalgo

Las georreferencias de cada registro muestran la tendencia de colectas y cómo es que los sistemas de información geográfica se usan para el análisis de las especies en la entidad (Greene & Pick, 2012). En este estudio la barranca de Metztitlán y el Valle del Mezquital cuentan con la mayor concentración de registros.

De los 55 registros de especies para Hidalgo, 26 tienen categoría de 'muy probable' y se distribuyen de manera natural en el estado. Como se ha mencionado, *A.*

source presented field validation of natural populations and other necessary information (Table 2). Finally, the species in the article published by Thiede (2020) do not show detailed geographic information, but despite this, almost all of them fall into the 'very likely' category, so they could be a very good reference when consulting about magueyes in Mexico and Hidalgo. Similarly, the digital database of MEXU (IBUNAM, 2021) and the social network Naturalista (iNaturalist, 2022) show a similar number of species.

The results of this review stem from information sources that, despite being useful, should be approached with caution, as they may be subject to three types of bias in inventory data, collections, and lists. 1) Spatial Bias: There is a clear tendency for collections to be strongly associated with roads, protected natural areas, and large human settlements. Additionally, less accessible sites are generally less collected and, consequently, less known. 2) Temporal Bias: collected only once at any given locality, making it very challenging to track the presence/absence of the species over time. 3) Taxonomic Bias: There is a clear pattern of collecting and studying the 'preferred' species of researchers or the most common and abundant species of economic or cultural importance compared to a collection that includes many species of the same genus. Sometimes dubious or erroneous identifications are made, due to the complexity of distinguishing between species, subspecies and varieties; in addition, synonymies and recently described or not yet formally described species are part of these taxonomic biases (Golubov et al., 2007; Soberón, 1999). If we take these already refined data, Hidalgo can be considered among the states with a considerable number of *Agave* species (26) if we compare it with Oaxaca, the state with the greatest richness (35 species) of the genus in the country (García- Mendoza & Franco-Martínez, 2018).

Conclusions

Twenty-six species of *Agave* have a 'very likely' distribution in the state of Hidalgo, according to the information available in the records. On the contrary, 29 species mentioned in different studies have 'unlikely' distribution, due to the omission of important data to corroborate their presence. This could be attributed to the fact that they are mentioned only once in older works or included for ornamental purposes.

Acknowledgments

Corresponding authors thank CONAHCYT for their support during the study program.

End of English version

lechuguilla fue la segunda especie que más aparece en los estudios y bases de datos, lo cual se debe a su historia natural, ya que es una especie de distribución amplia, abundante y con densidades poblacionales grandes (Gentry, 1982). Además, esta especie es de importancia para algunas comunidades de la entidad, pues se tiene evidencia del uso de su fibra para la elaboración de bolsas y utensilios de limpieza (Ramsay, 2004). También se incluye *A. hidalguensis* que, a pesar de tener pocos registros y de no tener una descripción formal, cuenta con ejemplares depositados en herbario y ha sido objeto de estudio en un trabajo (Eguiarte & Sheinvar, 2008). Otros ejemplos de este tipo son *A. salmiana* var. *ferox* y *A. americana* subsp. *protoamericana*, ya que obtuvieron tres y cuatro registros respectivamente, lo cual puede deberse a un sesgo taxonómico, pero dichos datos se consideran confiables debido a la procedencia de la información; además, se conoce por otras fuentes que estas dos especies de magueyes son aprovechadas y manejadas en la entidad. De igual forma, *A. striata* subsp. *falcata*, a pesar de tener una sola mención, se consideraron en la categoría 'muy probable', debido a que la fuente de información presentaba la validación en campo de poblaciones naturales y demás información necesaria (Cuadro 2). Por último, las especies en el artículo publicado por Thiede (2020) no muestran información geográfica detallada, pero a pesar de ello, casi todas entran en la categoría 'muy probable', así que podría ser una muy buena referencia cuando se quiera consultar sobre magueyes en México e Hidalgo. De igual forma, la base de datos digital del MEXU (IBUNAM, 2021) y la red social Naturalista (iNaturalist, 2022) arrojan un número similar de especies.

Los resultados de esta revisión provienen de fuentes de información que, a pesar de ser de utilidad, deben ser tomados con cautela, ya que pueden estar sujetos a tres tipos de sesgo en datos de inventarios, colecciones y listas. 1) espaciales: la tendencia apunta a que las colectas se encuentran fuertemente asociadas a caminos, áreas naturales protegidas y grandes asentamientos humanos; además, los sitios poco accesibles son generalmente los menos colectados y, por ende, los menos conocidos. 2) temporales: se colecta una sola vez en alguna localidad, lo cual hace muy difícil el seguimiento de la presencia/ausencia de la especie a lo largo del tiempo. 3) taxonómicos: hay un patrón claro de colecta y estudio de especies 'preferidas' de los investigadores o las más comunes y abundantes de importancia económica o cultural con respecto a una colecta que abarque muchas especies del mismo género. En ocasiones se hacen identificaciones dudosas o erróneas, debido a la complejidad para distinguir entre especies, subespecies y variedades; además, las sinonimias y especies recién descritas o aun no descritas formalmente son parte de estos sesgos taxonómicos (Golubov et al., 2007; Soberón, 1999). Si tomamos estos datos ya depurados, Hidalgo se puede considerar entre

References / Referencias

- Aguilera-Eguía, R., & Arroyo-Jofre, P. (2016). ¿Revisión sistemática? ¿metaanálisis? O ¿resumen de revisiones sistemáticas? *Nutrición Hospitalaria*, 33(2), 503 %—504. <https://doi.org/10.20960/nh.528>
- The Angiosperm Phylogeny Group (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1–20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Arulnayagam, A., Khim, J. S., & Park, J. (2021). Floral and faunal diversity in Sri Lankan mangrove forests: A systematic review. *Sustainability*, 13(17), 9487. <https://doi.org/10.3390/su13179487>
- Barrios-Rodríguez, M. A., & Medina-Cota, J. M. (1998). *Estudio florístico de la Sierra de Pachuca, estado de Hidalgo*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad e Instituto Politécnico Nacional. <https://www.snib.mx/iptconabio/resource?r=SNIB-G014>
- Berger-Tal, O., Greggor, A. L., Macura, B., Adams, C. A., Blumenthal, A., Bouskila, A., & Blumstein, D. T. (2019). Systematic reviews and maps as tools for applying behavioral ecology to management and policy. *Behavioral Ecology*, 30(1), 1 %—8. <https://doi.org/10.1093/beheco/ary130>
- Brown, K. (2002). *Agave sisalana* Perrine. <https://www.se-eppc.org/wildlandweeds/pdf/summer2002-brown-pp18-21.pdf>
- Collaboration for Environmental Evidence (CEE). (2013). *Guidelines for systematic review and evidence synthesis in environmental management. Version 4.2. Environmental evidence*. <https://www.environmentalevidence.org/Documents/Guidelines/Guidelines4.2.pdf>
- Collaboration for Environmental Evidence (CEE). (2018). *Guidelines and standards for evidence synthesis in environmental management. Version 5.0*. <https://www.environmentalevidence.org/information-for-authors>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2021). *Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad. Registros de ejemplares*. <https://www.snib.mx/ejemplares/descarga/>
- Cornejo-Latorre, C., Rojas-Martínez, A. E., Aguilar-López, M., & Juárez-Castillo, L. G. (2011). Abundancia estacional de los murciélagos herbívoros y disponibilidad de los recursos quiropterófilos en dos tipos de vegetación de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México. *Therya*, 2(2), 169 %—182. <https://doi.org/10.12933/therya-11-38>
- Driscoll, D. A., Banks, S. C., Barton, P. S., Ikin, K., Lentini, P., Lindenmayer, D. B., & Westgate, M. J. (2014). The trajectory of dispersal research in conservation biology. Systematic review. *PloS ONE*, 9(4), e95053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095053>
- Eguiarte, L., & Scheinvar, E. (2008). *Agaves y cactáceas de Metztitlán: ecología, evolución y conservación*. https://www.researchgate.net/publication/316631605_Agaves_y_Cactaceas_de_Metztitlan_Ecologia_Evolucion_y_Conservacion
- Espejo Serna, A. (2012). El endemismo en las Liliopsida mexicanas. *Acta Botánica Mexicana*, 100, 195 %—257. <http://www.scielo.org.mx/pdf/abm/n100/n100a8.pdf>

los estados con un número considerable de especies de *Agave* (26) si lo comparamos con Oaxaca, el estado con mayor riqueza (35 especies) del género en el país (García-Mendoza & Franco-Martínez, 2018).

Conclusiones

Veintiséis especies de *Agave* tienen una distribución ‘muy probable’ en el estado de Hidalgo, de acuerdo con la información disponible en los registros. Por el contrario, 29 especies mencionadas en diversos trabajos tienen distribución ‘poco probable’, debido a la omisión de datos importantes que permitan corroborar su presencia, porque son menciones únicas en trabajos antiguos o porque fueron introducidas con fines ornamentales.

Agradecimientos

Se agradece al CONAHCYT por el apoyo otorgado durante el programa de estudios.

Fin de la versión en español

- Fellows, I., Fellows, M. I., Rcpp, L., & Rcpp, L. (2018). *Package ‘wordcloud’*. *R package version*, 2, 331. <https://cran.r-project.org/web/packages/wordcloud/index.html>
- Figueredo-Urbina, C. J., Álvarez-Ríos, G. D., García-Montes, M. A., & Octavio-Aguilar, P. (2021). Morphological and genetic diversity of traditional varieties of agave in Hidalgo State, Mexico. *PloS ONE*, 16(7), e0254376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254376>
- Filazzola, A., & Lortie, C. J. (2014). A systematic review and conceptual framework for the mechanistic pathways of nurse plants. *Global Ecology and Biogeography*, 23(12), 1335 %—1345. <https://doi.org/10.1111/geb.12202>
- García-Mendoza, A. J. (2011). *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 88. AGAVACEAE*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. www.ibiologia.unam.mx/barra/publicaciones/floras-tehuacan/2012/F88_Agav.pdf
- García-Mendoza, A. J., & Franco-Martínez, I. S. (2018). *Actualización de la información de las especies y subespecies de magueyes de Oaxaca, con énfasis en las especies mezcaleras* [conjunto de datos]. SNIB-CONABIO. <https://www.snib.mx/iptconabio/resource?r=SNIB-NE012>
- Gentry, H. S. (1982). *Agaves of continental North America*. The University of Arizona Press.
- Golubov, J., Mandujano, M. C., Arizaga, S., Martínez, P. A., & Koleff, P. (2007). Inventarios y conservación de Agavaceae y Nolinaceae. In S. P. Colunga-García Marín, L. E. Eguiarte, S. A. Larque, & V. D. Zizumbo (Eds.), *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves* (pp. 133–152). CICY-CONACYT-CONABIO-SEMARNAT-INE. https://www.academia.edu/1198453/Inventarios_y_conservacion%C3%B3n_de_Agavaceae_y_Nolinaceae
- Granados, D. (1993). *Los agaves en México*. Universidad Autónoma Chapingo.

- Greene, R. P., & Pick, J. B. (2012). *Exploring the urban community: A GIS approach*. Prentice Hall. <https://inspire.redlands.edu/work/ns/f151725a-ce70-4f41-ae20-eee63388aad7>
- Haddaway, N. R., Woodcock, P., Macura, B., & Collins, A. (2015). Making literature reviews more reliable through application of lessons from systematic reviews. *Conservation Biology*, 29(6), 1596 %—1605. <https://doi.org/10.1111/cobi.12541>
- International Union for the Conservation of Nature (IUCN). (2017). In L. M. Bland, D. A. Keith, R. M. Miller, N. J. Murray, & J. P. Rodríguez (Eds.), *Guidelines for the application of IUCN Red List of ecosystems categories and criteria, version 1.1*. <https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2016.RLE.3.en>
- International Union for Conservation of Nature (IUCN). (2023). *The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2023-1* [conjunto de datos]. <https://www.iucnredlist.org>
- Jakobsson, S., Bernes, C., Bullock, J. M., Verheyen, K., & Lindborg, R. (2018). How does roadside vegetation management affect the diversity of vascular plants and invertebrates? A systematic review. *Environmental Evidence*, 7, 1 %—14. <https://doi.org/10.1186/s13750-018-0129-z>
- Juárez, B. A. (2014). The current state of *Agave salmiana* and *A. mapisaga* in the valley of Mexico. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 1(2), 106 %—120. <https://rmae.voaxaca.tecnm.mx/wp-content/uploads/2020/11/RMAE-2014-11-Agave.pdf>
- Liberati, A., Altman, D. G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gøtzsche, P. C., Ioannidis, J. P., & Moher, D. (2009). The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *Journal of Clinical Epidemiology*, 151(4), e1-e34. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2009.06.006>
- Mačić, V., Albano, P. G., Almpnidou, V., Claudet, J., Corrales, X., Essl, F., & Katsanevakis, S. (2018). Biological invasions in conservation planning: a global systematic review. *Frontiers in Marine Science*, 5, e178. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00178>
- Molina, M. (2018). El todo es mayor que la suma de las partes. Revisión sistemática y metaanálisis. *Revista Electrónica AnestesiAR*, 10(9), 1 %—7. <https://doi.org/10.30445/rear.v10i9.663>
- Morin N. R., Brouillet, L., & Levin, G. A. (2015). Flora of North America North of Mexico. *Rodriguésia*, 66(4), 973 %—981. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201566416>
- iNaturalist. (January 8, 2022). Naturalista. https://www.naturalista.mx/observations?locale=es-MX&place_id=11167&preferred_place_id=6793&taxon_id=290804
- Ordóñez-Delgado, L., Ramón-Vivanco, C., & Ortiz-Chalan, V. (2019). Systematic review of the state about the knowledge of the Vertebrates of the Podocarpus National Park. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, 30(2), 7 %—18. <https://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.0>
- Peña, A., & Peña, A. (2007). *Estudio etnofarmacológico de las diferentes especies endémicas de agave en la medicina tradicional del estado de Hidalgo* [Tesis de pregrado]. <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/biblioteca/digital/handle/231104/1725>
- Pérez-Escandón, B. E. (2003). *Lista de las plantas útiles del estado de Hidalgo*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- R Development Core Team (2012). *R: A language and environment for statistical computing* [software]. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Ramsay, R. M. (2004). El maguey en Gundhó, Valle del Mezquital (Hidalgo, México): variedades, propagación y cambios en su uso. *Etnobiología*, 4(1), 54 %—66. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5294404>
- Robinson, N. M., Nelson, W. A., Costello, M. J., Sutherland, J. E., & Lundquist, C. J. (2017). A systematic review of marine-based species distribution models (SDMs) with recommendations for best practice. *Frontiers in Marine Science*, 4, 421. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00421>
- Rojas, S., Castillejos-Cruz, C., & Solano, E. (2013). Florística y relaciones fitogeográficas del matorral xerófilo en el Valle de Tecozautla, Hidalgo, México. *Botanical Sciences*, 91(3), 273 %—294. <https://doi.org/10.17129/botsci.8>
- Royal Botanic Gardens Kew (2022). *Plants of the world online*. www.plantsoftheworldonline.org
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental— Especies nativas de México de flora y fauna silvestres— Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4254/semarnat/semarnat.htm>
- Soberón, J. (1999). Linking biodiversity information sources. *Trends in Ecology & Evolution*, 14(7), 291. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01617-1](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01617-1)
- Spafford, R. D., Lortie, C. J., & Butterfield, B. J. (2013). A systematic review of arthropod community diversity in association with invasive plants. *NeoBiota*, 16, 81 %—102. <http://doi.org/10.3897/neobiota.16.4190>
- Szewczyk, T., & McCain, C. M. (2016). A systematic review of global drivers of ant elevational diversity. *PloS ONE*, 11(5), e0155404. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155404>
- Thiede, J. (2016). A review of *Agave mitis* (Asparagaceae/Agavaceae). *Bradleya*, (34), 200 %—216. <https://doi.org/10.25223/brad.n34.2016.a8>
- Thiede J. (2020) *Agave* AGAVACEAE. In U. Eggli, & R. Nyffeler (Eds.), *Monocotyledons. Illustrated handbook of succulent plants* (pp. 21 %—311). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-56486-8_111
- Universidad Nacional Autónoma de México-Instituto de Biología (IBUNAM). (2021). *IBdata v3 «Helia Bravo Hollis» Herbario Nacional de México (MEXU). Plantas vasculares. Portal de datos abiertos UNAM. Colecciones universitarias*. <https://www.ibdata.abaco3.org/web/web-content/admin-queryfilter/queryfilter.php>
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3), 559 %—902. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.017>
- Villaseñor, J. L., Ortiz, E., & Sánchez-González, A. (2022). Riqueza y distribución de la flora vascular del estado de Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 93(1), 1870 %—3453. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2022.93.3920>

- Villavicencio, M. A., Pérez, B. E., & Ramírez, A. A. (1998). *Lista florística del estado de Hidalgo*. Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Villavicencio Nieto, M. Á., & Pérez Escandón, B. E. (2006). *Plantas útiles del estado de Hidalgo* (vol. 3). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Villavicencio-Nieto, M. Á., Pérez-Escandón, B. E., & Gordillo-Martínez, A. J. (2010). Plants traditionally used as pesticides in the state of Hidalgo, Mexico. *Polibotánica*, 30, 193 %—238. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62114250012>
- Ханугин, А. А. (2020). A global systematic review on orchid data in protected areas. *Nature Conservation Research*. Заповедная наука, 5(1), 19 %—33. <https://dx.doi.org/10.24189/ncr.2020.019>
- Yan, P., & Yang, J. (2017). Species diversity of urban forests in China. *Urban Forestry & Urban Greening*, 28, 160 %—166. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2017.09.0>

CAPÍTULO III:

IMPACTO DE LA EXTRACCIÓN DE CHINICUIL
(*Comadia redtenbacheri*) SOBRE LOS ASPECTOS
DEMOGRÁFICOS DE POBLACIONES DEL MAGUEY
DEL IXTLE (*Agave applanata*)



THE IMPACT OF CHINICUIL EXTRACTION (*COMADIA REDTENBACHERI*) ON THE DEMOGRAPHIC TRAITS OF IXTLE Maguey POPULATIONS (*AGAVE APPLANATA*)

MARIO ADOLFO GARCÍA-MONTES¹, PABLO OCTAVIO-AGUILAR^{1*}, ALFREDO SÁNCHEZ-GONZÁLEZ^{2, 3}

¹ Laboratorio de Genética, Área Académica de Biología, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

² Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México.

³ Hospital Regional de Alta Especialidad de Ciudad Victoria, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México.

*Corresponding author: pablo_aguilar9900@uaeh.edu.mx

Abstract

Background: Some Agave populations suffer the adverse effects of human pressure to use them. Among these species, *Agave applanata* stands out, which generates a habitat for the moth *Comadia redtenbacheri* larva named “Chinicuil,” a species used in traditional Mexican cuisine. For its extraction, the individual must be sacrificed to remove the greatest number of larvae, preventing the plant from reaching sexual maturation and affecting the population dynamics of the agaves.

Questions: Does the chinicuil’s extraction negatively impact *Agave applanata* populations?

Study species: *Agave applanata* is a maguey used in Oaxaca’s ixtle production and chinicuil extraction in Hidalgo state. Is distributed from Guanajuato to Oaxaca.

Study site: The study was conducted in eight populations, three without extraction and five with extraction, along of the species’ distribution.

Method: Several polygons of density-dependent size were carried out at each site to the demographic evaluation. All individuals were classified based on size, life stage, and reproduction type. In addition, anthropogenic disturbance indicators, including extraction of chinicuil, were evaluated in each transect.

Results: Populations without extraction have the highest growth rates, while larvae extraction decreases the populations of this species by up to 57 %. Juveniles are the most important for the population’s persistence since they produce the highest number of offshoots. However, juvenile agaves are commonly the most harvested to obtain larvae.

Conclusion: The results show that responsible management should be recommended to protect the ixtle maguey, which chinicuil extraction threatens.

Keywords: Harvesting, chinicuiles, asexual reproduction, static life tables, use of natural resources.

Resumen

Antecedentes: Algunas poblaciones de Agave sufren los efectos adversos del aprovechamiento. Entre estas destaca *Agave applanata*, hábitat para la polilla *Comadia redtenbacheri* denominada “Chinicuil”, especie utilizada en la cocina tradicional mexicana. Para su extracción se sacrifica a la planta para retirar el mayor número de larvas, impidiendo que el maguey alcance la maduración sexual, afectando la dinámica poblacional de los agaves.

Pregunta: ¿La extracción del chinicuil impacta negativamente a las poblaciones de *Agave applanata*?

Especie de estudio: *Agave applanata*, un maguey utilizado en la producción de ixtle de Oaxaca y la extracción del chinicuil en el estado de Hidalgo. Se distribuye desde Guanajuato hasta Oaxaca.

Sitio de estudio: El estudio se realizó en ocho poblaciones, tres sin extracción y cinco con extracción, a lo largo de la distribución de la especie.

Método: Varios polígonos de tamaño dependiente de la densidad, se establecieron en cada sitio para la evaluación demográfica. Todos los individuos fueron clasificados con base en tamaño, etapa de vida y tipo de reproducción. Además, en cada transecto se evaluaron indicadores de perturbación antropogénica, incluyendo la extracción de chinicuil.

Resultados: Las poblaciones sin extracción presentan mayor tasa de crecimiento. La extracción disminuye las poblaciones hasta en un 57 %. Los juveniles son importantes para la persistencia poblacional pues producen el mayor número de vástagos. Sin embargo, son los más cosechados para la obtención de larvas.

Conclusión: Los resultados muestran que se debe recomendar un manejo responsable para proteger al maguey ixtle, que la extracción de chinicuil amenaza.

Palabras clave: Cosecha, chinicuiles, reproducción asexual, tablas de vida estáticas, uso de recursos naturales.

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License CCBY-NC (4.0) international.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



The use of wild plants is often considered necessary, particularly in rural communities that rely heavily on these resources for subsistence. However, the impact of this usage on plant populations is rarely assessed unless there is doubt about the safety of these practices (Hall & Bawa 1993). In Mexico, human communities have a long tradition of utilizing wild plants from arid and semi-arid environments. The genus *Agave* is the most prominent among these plants, with 159 species accounting for 75 % of its global diversity (García-Mendoza *et al.* 2007, González-Medrano 2012).

Around 61 % of the species found in Mexico are exclusive to the country. This is because of the diverse nature of the land and the unique characteristics of each species, such as their genetic adaptability, ecological tolerance, and ability to disperse, as well as their interactions with other living beings such as pollinators. Furthermore, geological and climate events that occurred in North America in the past also shaped the current distribution of these species (Pinkava & Baker 1985, Valverde *et al.* 1996, Good-Avila *et al.* 2006, Flores-Abreu *et al.* 2019, Jiménez-Barón *et al.* 2020, Eguiarte *et al.* 2021).

Agaves are highly diverse in Mexico, both in terms of their morphology, phylogeny, and evolution, as well as culturally, as humans have learned to derive benefits from them. Their significance is such that there are approximately 107 species in Mexico that are currently being used in some way (García-Marín *et al.* 2017).

Agave applanata Hort. ex K.Koch., commonly known as “maguey de ixtle”, “maguey blanco” or “maguey cenizo”, is distributed in semi-arid areas and dry tropical and temperate forests of Guanajuato, Hidalgo, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tlaxcala, and Veracruz (García-Mendoza 2007, Vázquez-García *et al.* 2007). Despite its being relatively uncommon in its expected range, humans have likely dispersed this species towards the southwest and north of the country, where some isolated populations have been discovered. These populations may have interbred with *A. durangensis* (Gentry 1982).

It is a medium-sized agave with broad, flattened, rigid, lanceolate blue-green leaves, the lateral teeth are prominent, dark, and slightly curved at the margins, the terminal spine or mucro is long and rigid, its rosette dies several months after fruiting (Figure 1A), so for a long time the leaves remain turgid (Gentry 1982, Simcha 2017, Casas *et al.* 2019, García-Mendoza *et al.* 2019). This agave is in the category of Least Concern (LC) based on IUCN criteria, because its populations and range are relatively large (Casas *et al.* 2019). According to Mexican legislation NOM-059 (SEMARNAT 2010), it is not in any risk category. In Hidalgo, populations are known in the municipalities of Pachuca, San Agustín Tlaxiaca, Singuilucan, Tezontepec de Aldama, Tulancingo, and Zapotlán (GBIF 2021).

A. applanata is particularly significant for the economy of the state of Hidalgo in Mexico. This is because it provides a habitat for the larva of a type of nocturnal moth called “chinicuil” or “agave red worm” (*Comadia redtenbacheri* Hamm., Lepidoptera: Cossidae), which has long been used in traditional Mexican cuisine (Montiel 2008, Llanderal-Cázares *et al.* 2017, Figure 1B). During the rainy season, female moths lay masses of approximately 118 eggs at the base of maguey stalks. The female moth dies after depositing the eggs, and after 30 to 35 days, the eggs hatch. When the larvae emerge, they create galleries inside the stem or rhizome of the agave, where they complete their development (Camacho *et al.* 2003, Hernández-Livera *et al.* 2005, Llanderal-Cázares *et al.* 2017). Usually, people harvest the larvae from maguey plants that are not more than 30 cm high. However, to obtain the largest number of larvae, it is necessary to uproot the entire maguey and remove the stalks and the whole stem, which unfortunately causes the death of the plant (Espinoza-García *et al.* 2018). Some collectors attempt to replant the maguey, but the success rate is usually low (Esparza-Frausto *et al.* 2008, Figure 1C).

It is believed that the increasing demand for chinicuiles from both domestic and international markets has had a detrimental effect on the host because the larvae are collected extensively from wild maguey populations. Furthermore, the number of insects that can be gathered has decreased, likely because of overexploitation and predation of larvae, which disrupts their life cycle (Esparza-Frausto *et al.* 2008). Several solutions have been proposed to address this. These include managing in protected natural areas, choosing a specific stage of development of the plant, and cultivating magueys in greenhouses to facilitate the study of the different larval stages of the insect and its interaction with the agave host (Serrano 2023). The aim of this study was to assess eight populations of *Agave applanata*, both with and without chinicuil extraction, and to examine other disturbance factors in these locations to determine the

impact of human activities on the populations. Harvesting chinicuil is expected to reduce agave's population growth rates. However, the effect on sexual and asexual reproduction is not anticipated to be equal. This is because harvesting occurs on juvenile individuals, who do not reach reproductive size but can still propagate vegetatively.



Figure 1. *Agave applanata*. A) Individuals in Hidalgo. B) Chinicuiles and individual turned over for collection. C) Magueyes possibly used in the collection of chinicuiles. Photographs: MAGM.

Material and methods

Study area. One population was analyzed in Oaxaca, one in Guanajuato, one in Querétaro, and five in Hidalgo (Table 1, Figure 2). All are between 2,200 and 2,700 m asl, characterized by arid and semiarid climates and vegetation, including xerophytic scrub, grasslands, and transformed landscapes (companion species belonging to genera *Acacia*, *Agave*, *Cenchrus*, *Chloris*, *Dasyllirion*, *Mammillaria*, *Melinis*, *Opuntia*, *Pinus*, *Prosopis*, *Quercus*, *Schinus* and *Yucca*, to mention a few). In addition, some of these populations are found in the middle strata and/or on the slopes of the surrounding hills.

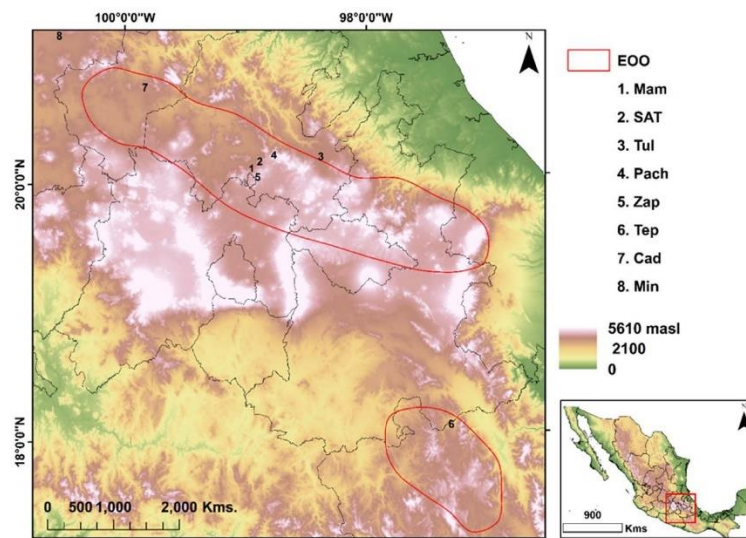
Evaluation of the disturbance. Twelve disturbance indicators according to Martorell & Peters (2009) were evaluated in 50×1 m, three transects per site, corresponding to three categories: human activities (evidence of extraction, use, and deterioration of human manipulation.), livestock activity (evidence of grazing, compaction, or browsing by farm animals), and habitat deterioration (evidence of grazing, compaction, or browsing by farm animals). By adding the attribute "Rosette Corpses" to the indicators, dead, turned, dried and discarded individuals with signs of removal were identified, these were likely caused by the collection of chinicuiles (Table 2). The extraction percentage (Ext) was calculated as:

$$(\text{Number of rosette corpses} / \text{Number of individuals} + \text{Number of rosette corpses}) \times 100 = \text{Ext}$$

The number obtained estimates the percentage of the population that is used to obtain chinicuiles. A total of 15 polygons were evaluated: two in Mambro (Mam), two in San Agustín Tlaxiaca (SAT), two in Tulancingo (Tul), one in Pachuca (Pach), three in Zapotlán (Zap), all in Hidalgo, two in Tepelmeme, Oax (Tep), one in Cadereyta, Qro (Cad), and two in Mineral de Pozos, Gto (Min). The average area of these polygons was $34,509.5 \pm 12,000$ m², they varied depending on population density and aggregation. The area affected by each disturbance indicator was calculated. A Linear Discriminant Analysis (LDA) was carried out in the R program with the MASS package (Venables & Ripley 2002) to determine the variables affecting the populations in greater proportion, and the impact was presented as a percentage of comparative disturbance (di). This classification method uses qualitative variables to assign cases to two or more groups. It estimates the probability that an observation, given a value of the predictors, belongs to each of the classes of the qualitative variable using Bayes' theorem. The observation is assigned to the class for which the predicted probability is highest (Xanthopoulos *et al.* 2013).

Table 1. Geographic location of the *A. applanata* populations analyzed. No: number of population. Pop.: Population name.

No.	Pop	ID	State	Latitude	Longitude
1	Mambru	Mam	Hidalgo	20.0355833	-98.93571667
2	Zapotlan	Zap	Hidalgo	19.9699833	-98.88761667
3	San Agustín Tlaxiaca	SAT	Hidalgo	20.0894667	-98.86791667
4	Pachuca	Pach	Hidalgo	20.137447	-98.749657
5	Tulancingo	Tul	Hidalgo	20.11751	-98.36472
6	Tepelmeme	Tep	Oaxaca	18.0097167	-97.35935
7	Cadereyta	Cad	Querétaro	20.68113	-99.800857
8	Mineral de Pozos	Min	Guanajuato	21.1731167	-100.5036667

**Figure 2.** *Agave applanata* populations considered for this study. The red polygon indicates the estimated extent of occurrence. m asl: meters above sea level. 1) Mambru (Mam). 2) San Agustín Tlaxiaca (SAT). 3) Tulancingo (Tul). 4) Pachuca (Pach). 5) Zapotlan (Zap). 6) Tepelmeme (Tep). 7) Cadereyta (Cad). 8) Mineral de Pozos (Min).

Classification. To create the static life tables, the heights and two diameters measured at ground level, of 397 *A. applanata* rosettes from eight different populations were measured. All observed sizes in the field were considered, measured with a tape measure from the ground to the highest point of the plant (cm). Using this data, a clustering analysis based on Euclidean distances using Ward's method was carried out to obtain a dendrogram and determine the optimal number of categories that best represent the data structure. Ward's minimum variance method calculates the distance between cluster members and the centroid. The centroid of a cluster is defined as the point at which the sum of squared Euclidean distances between the point itself and each other point in the cluster is minimized (Ward 1961).

Subsequently, a k-means clustering was carried out to describe length indicators by group and identify individuals in each population category (Lloyd 1982). The K-means algorithm is a simple iterative clustering algorithm. It uses distance as the metric and calculates the mean distance given the K classes in the dataset. It then assigns each data

point to the nearest centroid, creating new centroids for each class. The algorithm uses Euclidean distance as the similarity index for dataset X containing n multidimensional data points and aims to divide the data into K clusters. The goal of clustering is to minimize the sum of the squared distances; in other words, it seeks to reduce the sum of squared distances (Yuan & Yang 2019). Both analyses used the Factoextra package (Kassambara & Mundt 2020). To visually represent the distribution of length categories in each population, a correspondence analysis (CA) was carried out using the FactoMineR package (Lê *et al.* 2008). All this was done using the R programming language (R Core Team 2022).

Static life tables and survival curves. The average number of seeds per sexually reproductive adult in each population belonging to the Adult 2 category was obtained from field counts to determine fecundity per category (m_x). The number of viable (black) and non-viable (white) seeds per fruit, the number of fruits per panicle, the number of umbels per panicle, and the number of panicles per peduncle were counted (Font Quer 1993). Using these values, total seed production per population was estimated and multiplied by the number of sexually reproductive individuals (Adult 2) (Carabias *et al.* 2009). Other parameters as l_x (survival probability), d_x (mortality), $m_x l_x$ (survival of reproductive individuals) $Xl_x m_x$ (reproductive contribution by class), e_x (life expectancy), λ (population growth rate), and R_0 (net reproductive rate) were calculated according to Jones (2021). Additionally, individuals with vegetative reproduction (Adult 1) were counted in each population. In this case, m_x represents the quantity of clonal offspring. Both Adult 1 and 2 individuals were part of this category, since both can generate this type of propagation. We contrasted the demographic aspects calculated from the vegetative and sexual data using Chi-square tests, excluding null values in SAT, and transforming λ in percentage.

Finally, to create survival curves for each population, data from the l_x of the life table that was constructed using sexual reproduction was utilized, we did not use the vegetative matrix because no individuals smaller than 20 cm were found, creating a gap in the transitions between the two initial categories. The data was then transformed to a logarithmic scale and plotted on the Y-axis, while the size category was plotted on the X-axis, like another long-live plants (Gurevitch *et al.* 2006). This plot was drawn using the ggplot2 package (Wickham 2016), part of the R programming language (R Core Team 2022).

Table 2. Attributes considered for disturbance analysis in eight populations of *A. applanata* considered in this study. Taken and modified from Martorell & Peters, 2009.

Category	Disturbance parameter	Symbol
Human activities	Cutting	w
Human activities	Evidence of fire	f
Human activities	Roads used by humans	tb
Human activities	Distance to the nearest town in m	p
Human activities	Distance to human activity centers in m	a
Human activities	Corpses	Cad
Livestock activity	Herbivory	b
Livestock activity	Cattle manure	dc
Livestock activity	Roads used by livestock	tt
Habitat deterioration	Erosion	e
Habitat deterioration	Islands without vegetation	i
Habitat deterioration	Completely modified surface	m

Correlation of disturbance vs demographics. Paired differences were calculated between the percentages of affected area per site. As this value has replicates within each population (three transect by population), it was weighted in a paired way with 1,000 bootstrap resampling along with the extraction percentage (Ext):

$$[(Ext\ t_1^3 pop_1^n) - (Ext\ t_i^n pop_i^{n-1})]1,000\ iterations = Weighted\ paired\ differences$$

Where $Ext\ t_1^3 pop_1^n$ equals extraction at transects of the population 1 minus the extraction from transects i to n within any population other than one.

The weighted mean of these differences was used as the independent variable in a correlation model with the differences between population growth rates. The λ 's calculated for sexual and asexual reproduction were standardized by applying the square of the natural logarithm of the differences for each comparison ($\ln(\Delta\lambda)^2$). This analysis used the R programming language's vegan package (Oksanen *et al.* 2013).

Results

Disturbance. There are significant differences in the disturbance attributes among the evaluated populations ($F_{(13,6)} = 10.52$, $P = 0.004$), except for the contrast between Zap and SAT, both with extraction, in Hidalgo ($F_{(13,6)} = 3.35$, $P = 0.073$). Two discriminant functions explain the differences between sites (F1 EV (Eigenvalue): 3,548.1, VE (Explained variance): 87.16 %, F2 EV: 434.66, VE 10.32 %). The disturbance factor "islands without vegetation" (open spaces without vegetation, with rocks or bare soil, are usually caused by overgrazing) provided no discriminative information between sites. Therefore, the factor was assumed to be similar across all evaluated populations (Table 3, Figure 3).

The presence of roads frequently used by humans, agave plant carcasses, evidence of fire, and proximity to human activity centers are the attributes that had the most significant effect on the populations of Zap, Tul, and SAT. The Mam population was mainly affected by the distance to human activity centers and roads used by humans, but due to the population size, no impact of extraction was observed. Tep and Cad are located at opposite ends of the quadrant, with Tep having the most significant evidence of erosion. In contrast, Cad had the greatest presence of cattle excrement, roads used by cattle, and proximity to nuclei of human activity. There was no extraction on the sites not in Hidalgo. Pach had the largest completely modified area and the shortest distance to human settlements. However, the population size did not allow the effect of extraction to be perceptible. In Min, the most significant impact was due to proximity to population centers and the number of roads frequently used by humans, but there was no evidence of extraction.

The population with the highest disturbance index (di) was Cad, followed by Min and Pach. Tep and Tul had intermediate levels of disturbance. The sites with the lowest disturbance percentages were Zap and Mam. The Mam population had the most significant number of dry and overturned individuals associated with extraction activities, but is not representative in percentage respect total population, in contrast Pach had the highest percentage (Table 4).

Classification. The optimal number of size groups to explain the data structure is four, represented by $k = 4$ (Table 5). The correspondence analysis (CA) was significant ($\chi^2 = 497.17$, d.f. = 21, $P < 0.001$, Eig. Dimension 1 = 0.15477, E.V. = 76.15 %, Eig. Dimension 2 = 0.045317, E.V. = 20.92 %). The analysis showed that seedlings are the dominant category in Mam, Zap, Pach, and SAT, while Tul, Tep, and Min consist mainly of juvenile individuals. The populations outside Hidalgo have the largest numbers of Adults 1 and 2, as shown in Figure 4.

The populations show an aggregate spatial distribution in patches dominated by many seedlings (approximately 50 individuals per square meter). The frequency of individuals with a height between 10 and 20 centimeters is so low that they hardly appear in the categorization, we can see a "gap" in the size of seedlings to juveniles (3.97 to 27.12 cm) (Table 5, Figure 5).

Chinicuil extraction affect maguey populations

Table 3. Standardized coefficients for the discriminant functions and indicators of explained disturbance. * Disturbance variables highly correlated with the resulting factors.

Indicator	F1	F2
Cutting	2.37	-2.33
Evidence of fire	0.12	-0.18
Roads used by humans	-5.5	4.49*
Distance to nearest town (m)	13.74*	-5.87*
Distance to nuclei of human activity (m)	-0.64	-1.22
Corpses	3.24	0.11
Herbivory	-3.56	-0.13
Cattle manure	4.22	-3.15
Roads used by livestock	10.81*	-7.87*
Erosion	-0.20	-0.35
Islands without vegetation	0.14	-0.83
Completely modified surface	3.08	-0.32
Percentage of coverage affected by site	-18.87*	12.50*

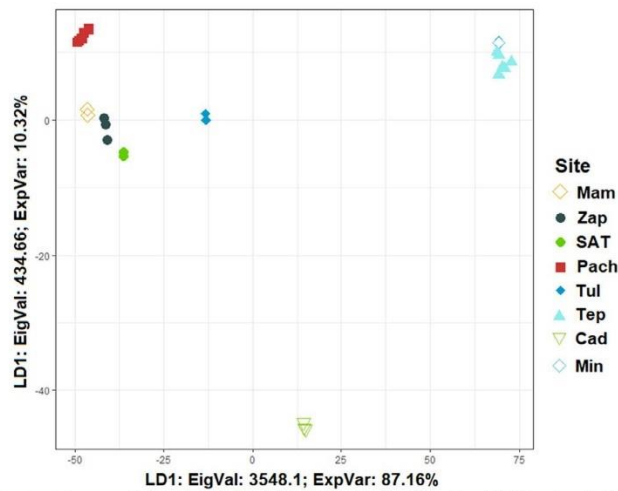


Figure 3. LDA plot at sites where disturbance analysis was carried out. Mam: Mambru. Zap: Zapotlan. SAT: San Agustín Tlaxiaca. Pach: Pachuca. Tul: Tulancingo. Tep: Tepelmeme. Cad: Cadereyta. Min: Mineral de Pozos.

Static life tables and survival curves. The eight populations of maguey have an average number of viable and non-viable seeds per fruit of 221.6 ± 27.46 SD and 201.66 ± 59.61 SD, respectively. On average, the peduncle (“quiotc”) has 16 ± 4 panicles, and the branch has an average of 4.5 ± 2.75 panicle umbels (infructescences). Based on these data, the number of viable seeds per individual is $254,592 \pm 7,630$. The intrinsic rate of population growth calculated based on sexual reproduction shows that all the populations are decreasing, especially the Zap and Pach populations, which have the lowest λ , and both have extraction. The net reproductive

rate (R_0) is low in all populations, indicating that very few sexual offspring can reproduce. The average life expectancy (e_x) is one category, which means only juvenile individuals are likely to become Adult 1. The SAT population does not show Adult 2 (sexual reproduction), so it is not possible to calculate demographic indicators (Table 6).

Table 4. Affected area (di) expressed as a percentage. SD: standard deviation, %Ext: percentage of extraction.

Population	di $\pm$ SD	%Ext
Mambru	10.50 $\pm$ 7.32	10
Zapotlan	20.67 $\pm$ 20.12	1.6
San Agustín Tlaxiaca	29.08 $\pm$ 13.75	13.6
Pachuca	51.94 $\pm$ 0.83	35.3
Tulancingo	32.08 $\pm$ 14.97	9.3
Tepelmeme	45.83 $\pm$ 23.54	0
Cadereyta	81.89 $\pm$ 3.86	0
Mineral de Pozos	57.83 $\pm$ 23.81	0

Table 5. Average size of each of the categories generated from $k = 4$. These measurements are in centimeters. D1: Diameter 1, D2: Diameter 2. We did not find individuals with heights between 10 and 20 cm, so there is a gap between the seedling and juvenile categories.

Category	Height	D1	D2
Seedlings	4.68 $\pm$ 3.97	7.3 $\pm$ 5.41	5.96 $\pm$ 5.52
Juveniles	27.12 $\pm$ 7.36	34.67 $\pm$ 9.06	34.30 $\pm$ 10.08
Adult 1	64.3 $\pm$ 18.22	78.3 $\pm$ 15.45	80.7 $\pm$ 21.09
Adult 2	167.5 $\pm$ 3.53	205.5 $\pm$ 0.7	198 $\pm$ 2.82

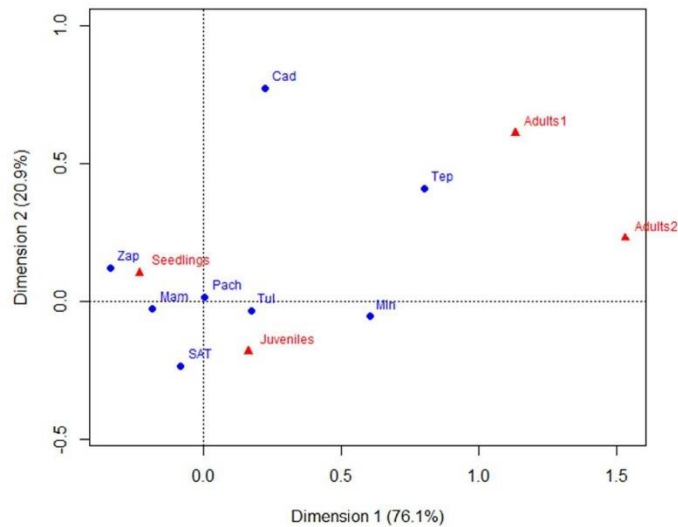


Figure 4. Correspondence analysis (CA) between size categories (letters in red) and populations (letters in blue). The explained variance (EV) is shown in parentheses. Mam: Mambru. Zap: Zapotlan. SAT: San Agustín Tlaxiaca. Pach: Pachuca. Tul: Tulancingo. Tep: Tepelmeme. Cad: Cadereyta. Min: Mineral de Pozos.

When we evaluate the demographics considering vegetative reproduction, we find that the intrinsic population growth rate (λ) exceeds unity in the Mamb (population with extraction) and the three populations outside Hidalgo, Tep, Cad, and Min. Compared to sexual reproduction, there was a significant increase in this parameter in the rest of the populations ($\chi > 250$, $P < 0.0001$), but without exceeding unity, indicating a decrease in these populations. When analyzing the net reproductive rate via asexual reproduction (R_0), we observe a significant increase in the same populations ($\chi = 165.1$, $P < 0.0001$) (Mam, Tep, Cad, and Min), which increases vegetative progeny that will reach the Adult 1 and 2 categories. In all cases, the average life expectancy (e_x) increases, but not significantly among sexual vs vegetative reproduction ($\chi = 1.67$, $P = 0.97$), with the maximum transition seen in Min, where two categories will pass to their next life stage (Table 6). All populations have inverted “J” survival curves, with high mortality in the early stages (seeds and seedlings) and a slight recovery in the juvenile and adult ages (Figure 6).

Correlation of disturbance vs demographics. The results of the Shapiro-Wilks test showed that some of the data being compared were not normal (for Ext, $W = 0.145$, $P = 0.129$, for d_i $W = 0.064$, $P = 0.935$, for λ_{sexual} $W = 51.87$, $P = 0.005$ and for λ_{asexual} $W = 47.77$, $P = 0.004$). There was a positive and significant Spearman correlation between the means of the paired perturbation between populations (d_i) and the difference in standardized growth rates obtained by asexual reproduction ($\ln((\Delta\lambda)^2 \text{ veg})$) ($r = 0.411$, $P = 0.030$, Figure 7). However, the latter does not correlate with extraction. Additionally, the difference between standardized population growth rates obtained sexually ($\ln((\Delta\lambda)^2 \text{ sex})$) does not correlate either with disturbance (d_i) or extraction (Ext).

Table 6. Demographic indicators of population growth for sexual reproduction (by seeds) and asexual reproduction (by offshoots). R_0 : Net reproductive rate. T_G : Generational time. r : Per capita population growth rate. λ : Intrinsic population growth rate. e_x : Average life expectancy for all categories. SAT: San Agustín Tlaxiaca.

Population	Sexual reproduction					Asexual reproduction				
	R_0	T_G	r	λ	e_x	R_0	T_G	r	λ	e_x
Mambro	0.0000157	4	-2.766	0.063	0.960	6.230	3	0.610	1.840	1.422
Zapotlan	0.0000038	4	-3.120	0.044	1.160	0.076	3	-0.855	0.425	1.520
SAT	0	0	0	0	0	0.076	3	-0.855	0.425	1.494
Pachuca	0.0000038	4	-3.120	0.044	1.210	0.076	3	-0.855	0.425	1.598
Tulancingo	0.00003	4	-2.600	0.074	1.290	0.307	3	-0.393	0.675	1.895
Tepelmeme	0.0000228	4	-2.672	0.069	1.410	6.230	3	0.610	1.840	1.983
Cadcreyta	0.0000076	4	-2.947	0.053	1.270	13	3	0.855	2.351	1.602
Mineral de Pozos	0.0001253	4	-2.246	0.106	1.340	135.69	3	1.637	5.139	2.397



Figure 5. Developmental stages of *A. applanata*. A) Seedling. B) Juvenile. C) Adult 1. D) Adult 2.

Discussion

In *Agave applanata* populations, disturbance significantly impacts the population growth rate, but only when growth is obtained by asexual reproduction. Since juveniles have the highest production of offshoots, they are the most important category for the persistence of the species. Non-harvested populations have the highest population growth rates, with harvesting leading to a 57 % decrease in population size. However, data on disturbance show that moderate human disturbance can favor this species. It has been observed that moderate human disturbance can benefit this species if chinicuil is not collected.

It has been observed that disturbance is present in all the analyzed populations, but the extent of disturbance varies. It is important to note that no evidence of extraction exists in any population except for those in Hidalgo. However, it was precisely in those localities where livestock farming, and habitat deterioration showed the highest values. This indicates that human disturbance hurts multiple levels of organization (Cole & Landres 1996) with varying impacts depending on the age of the plants, as classified in this study by size categories. Cattle can reduce population density and hinder regeneration by biting and trampling plants in early stages, which results in poor regeneration and seedling establishment (Martin *et al.* 2011), as seen in Cadereyta.

Extraction of chinicuiles has had the most significant impact on the evaluated populations within Hidalgo. This is evident from the reduced number of adult plants and the absence of individuals between 10 and 20 cm in height (Table 5, Figure 4). According to Martínez-Ramos *et al.* (2016), anthropogenic disturbance can cause a homogeneous size structure, leading to a lower proportion of large plants. However, the results indicate that there is also a lack of plants that initiate the juvenile stage, suggesting that these are the ones being used to obtain the chinicuiles.

Population-level studies have shown that disturbance can have positive, negative, or neutral effects on density. In some cases, moderate disturbance levels can benefit certain species (Cervera *et al.* 2007, Portilla-Alonso & Martorell 2011, Martorell *et al.* 2012, Arias-Medellín *et al.* 2014). Agaves are known for their resilience to drought conditions, hot climates, and sun exposure (Davis *et al.* 2021). This explains why *Agave applanata* populations outside of Hidalgo have a higher density and better size structure, even with high levels of disturbance. Essentially, these populations are resilient and can thrive with moderate disturbance if chinicuil extraction does not occur.

Extraction. In 2017, it was discovered that chinicuiles inhabit not only *A. salmiana* but also *A. applanata* (Llanderal-Cázar *et al.* 2017). However, producing chinicuiles from *A. salmiana* requires many maguey plants. To obtain one kilo of larvae, 54 magueys are needed. Up to 5.35 tons are produced, translating into approximately 20,000 plants per season (Briones-Santoyo *et al.* 2022, Montoya 2023). To calculate the amount of chinicuiles produced

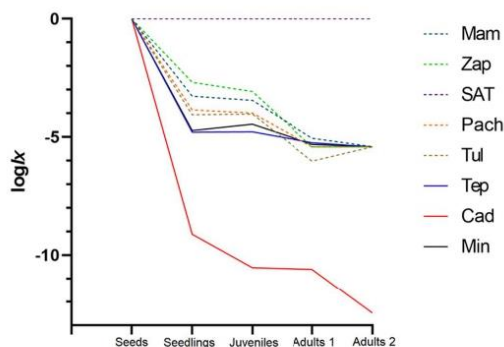


Figure 6. Type III survival curves (inverted J). Indicates a strong pattern of mortality in the first stages of life and slight recovery in subsequent stages. Mam: Mambri. Zap: Zapotlan. SAT: San Agustin Tlaxiaca. Pach: Pachuca. Tul: Tulancingo. Tep: Tepelmeme. Cad: Cadereyta. Min: Mineral de Pozos.

from *A. applanata*, we need to know the average weight of a larva and the number of worms present in each maguey. This information will allow us to estimate the number of plants needed to obtain one kilo of chinicuiles and so help us determine how many magueys are used in the region each season. We can also infer the approximate number of plants used by counting the number of corpses of maguey plants observed.

While many maguey plant carcasses exist in Hidalgo, the extraction percentage is not as high because it depends on the area analyzed. For example, in Mam and Zap, the extraction percentage is only around 10 % of the population due to the difficulty of harvesting chinicuiles on the slope, but the number is highest in the entirely analyzed sites (100 corpses). In contrast, the smaller area in Pach, with fewer plant carcasses, represents a high extraction percentage.

It is worth noting that chinicuile extraction is not occurring in areas outside Hidalgo, indicating that this activity is limited to specific regions. In Oaxaca, chinicuile is only harvested from mezcal agaves, which does not significantly impact the population of *A. applanata* (Martínez-Jiménez *et al.* 2019).

It has been suggested that the decline of the moth in the country during the last 15 years may be due to factors such as overexploitation of the larvae, changes in land use, deforestation, erosion, and changes in average annual rainfall levels. This decline is thought to be why the chinicuile attacks any available wild agave, even seeking alternative hosts other than Agave, such as *Wigandia*, *Croton*, *Solanum*, *Mentzelia*, *Brickellia*, *Lippia*, and *Cordia* (Chagoya-Lizama 2008). This behavior could lead to potential phytosanitary problems that should be considered in future studies.

Hidalgo's government agencies have proposed a law to care for maguey and its derivatives. Sharing the information generated in studies such as this one is crucial, as there are no regulations for using and marketing this product. Understanding the actors' social and economic situation is necessary for understanding the reasons behind their good or bad practices (Pijoan 2001, Ramos-Elorduy 2006, Ramos-Elorduy *et al.* 2006).

Static life tables and survival curves. The study found that there has been a decrease in the population of *A. applanata* in all regions when only fecundity based on sexual reproduction is considered. However, this is common in species with low recruitment rates and type III survival curves, where there is almost no movement to juvenile stages. These characteristics are typical of long-lived plants (Picó *et al.* 2008). Therefore, this approach indicates that all popula-

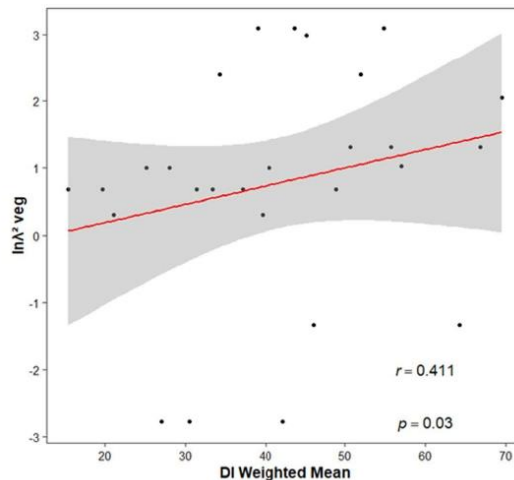


Figure 7. Spearman correlation with two of the weighted variables. The trend line and the 95% confidence interval are shown. The X axis represents the paired average between populations of the disturbed area (di) and the Y axis shows the natural logarithm of the finite population growth rate obtained through the vegetative data (λ_{veg}) squared.

tions behave similarly with respect to generation time, life expectancy, and population growth rate, regardless of their status. In other words, static life tables that focus on sexual reproduction describe the species, without identifying specific environmental factors or monitoring the impact of chinicuil extraction on *A. applanata* over time.

In contrast, clonal growth results in the emergence of new individuals that can become independent if they survive separation. These offspring undergo almost all life cycle transitions except for the initial stages (Harper 1977, Klimeš *et al.* 1997). This means that recruitment increases without requiring seed mediation and can derive from both juveniles and adults. Moreover, there is no need to record a population drop during the seedling-to-seedling stasis or seedling-to-juvenile transition because the connection with the mother ensures longer survival. As a result, in the life tables obtained from asexual reproduction, an increase in λ was observed in all populations. However, it reached values greater than unity only in sites outside Hidalgo and Mam, implying a population reduction between 32.5 and 57.5 % in Zap, SAT, Pach, and Tul. Although it is less drastic than the population reduction calculated by the tables based on sexual reproduction, it is still significant. The most plausible explanation for such a reduction is only extraction, proportional to population size.

While clonal reproduction has its demographic benefits, the lack of sexual recombination can lead to inbreeding depression. However, in the case of agaves, it does not necessarily result in extinction. Both sexual and asexual processes offer distinct evolutionary pathways. Sexual reproduction accumulates new genetic diversity, while asexual reproduction perpetuates successful clonal variants with minimal somatic mutation load and lower energy expenditure (Ellstrand & Roose 1987, Gross *et al.* 2012, Jarni *et al.* 2015, Cruzan *et al.* 2022). *A. fourcroydes*, for instance, generates and transmits new somatic genetic variation mainly through asexual reproduction, resulting in stable and growing populations (Infante *et al.* 2003).

The survival curves for the Hidalgo sites have steeper slopes during the transition from juvenile to Adult 1, the most menaced transition for population persistence. We did not consider the seed-to-seedling drop since it is customary in long-lived plants (Octavio-Aguilar *et al.* 2008). However, eliminating the juvenile category threatens local extinction without any recovery time, as the annual collection exceeds the transition and recruitment period of this species.

Finally, it is recommended to use matrix projection models (MMP) or integral projection models (IPM) to project population dynamics accurately. These models allow for both prospective and retrospective analyses to determine which demographic categories and parameters are more vulnerable and which contribute more to the growth rate of the population (λ) (Doak *et al.* 2021).

Correlation of variables. The results imply that the greater the average disturbed area, the greater the difference between the population growth rate calculated from vegetative reproduction and from sexual reproduction. In other words, disturbance promotes clonality. This is observed in several species of agricultural importance whose management (clearing, pruning, partial harvesting, among others) favors the recovery of plants from vegetative growth, which is beneficial for the recovery of degraded areas (de la Fuente & Suárez 2008, Cornejo-Badillo 2018). On the other hand, disturbance can increase spatial aggregation in early categories and favor population growth and fecundity (Ayerde-Lozada & López-Mata 2006), but only when certain environmental aspects eliminate competition such as the opening of clearings in species with tolerance to direct sun exposure.

Maguays are known for their ability to tolerate drought and solar radiation, and their resilience in stressful conditions (Davis *et al.* 2021). Therefore, disturbance effects are not always adverse, and it is essential to distinguish the type of modification being evaluated, mainly because the impact of extraction is lessened when other anthropic factors come into play, such as distance from human activity and livestock. Similarly, population size is a limiting factor affecting the impact of extraction. It is often overestimated in small areas and underestimated in larger areas, specifically in the Mambru.

The population growth rate obtained from asexual reproduction is promoted by the disturbance associated with cattle ranching, environmental modification, and proximity to human activity centers. However, the collection of chinicuiles in Hidalgo reduces this rate, mainly affecting juveniles smaller than 20 cm. Therefore, it is recommended to focus on management by cultivation in nurseries and reintroducing organisms of this size.

Acknowledgments

Thanks to the anonymous reviewers and editors of Botanical Sciences for their feedback and comments.

Literature cited

- Arias-Medellín LA, Flores-Palacios A, Martínez-Garza C. 2014. Cacti community structure in a tropical Mexican dry forest under chronic disturbance. *Botanical Sciences* **92**: 405-415. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.92>
- Ayerde-Lozada D, López-Mata L. 2006. Estructura poblacional y parámetros demográficos de *Juniperus flaccida* Schltdl. *Madera y Bosques* **12**: 65-76. DOI: <https://doi.org/10.21829/myb.2006.1221243>
- Briones-Santoyo JA, Tarango-Arámbula LA, Velázquez-Martínez A, Reyes-Hernández VJ, Salazar-Borunda MA. 2022. Edible insect harvest in Pinos, Zacatecas, Mexico. *Agro Productividad* **15**: 37-49. DOI: <https://doi.org/10.32854/agrop.v14i6.2275>
- Camacho AD, Sánchez HA, Jiménez JE, Nolasco MA. 2003. Observaciones en condiciones de laboratorio de la biología del gusano rojo de maguey *Comadia redtenbacheri* Hamm. (Lepidoptera: Cossidae). *Entomología Mexicana* **3**: 281-287.
- Carabias J, Meave JA, Valverde T, Canón-Santana Z. 2009. *Ecología y medio ambiente en el siglo XXI*. DF, México: Pearson Educación. ISBN: 978-607-442-005-0
- Casas A, García-Mendoza AJ, Sandoval-Gutiérrez D, Torres-García I. 2019. Maguey de Ixtle *Agave applanata*. The IUCN Red List of Threatened Species. c.T114936914A114963351. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T114936914A114963351.en>
- Cervera JC, Andrade JL, Graham EA, Durán R, Jackson PC, Simá JL. 2007. Photosynthesis and optimal light microhabitats for a rare cactus, *Mammillaria gaumeri*, in two tropical ecosystems. *Biotropica* **39**: 620-627.
- Chagoya-Lizama V. 2008. *Desempeño del gusano rojo de maguey Comadia redtenbacheri* Hamm. (Lepidoptera: Cossidae) en diferentes hospederos. MSc Thesis, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cole DN, Landres PB. 1996. Threats to wilderness ecosystems: impacts and research needs. *Ecological Applications* **6**: 168-184.
- Cornejo-Badillo VR. 2018. Propagación vegetativa de tres especies forestales potenciales para la recuperación de áreas degradadas en la región Ucayali. BSc Thesis, Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Cruzan MB, Streisfeld MA, Schwoch JA. 2022 Fitness effects of somatic mutations accumulating during vegetative growth. *Evolutionary Ecology* **36**: 767-785. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10682-022-10188-3>
- Davis SC, Abatzoglou JT, LeBauer DS. 2021. Expanded potential growing region and yield increase for *Agave americana* with future climate. *Agronomy* **11**: 2109. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy11112109>
- de la Fuente EB, Suárez SA. 2008. Problemas ambientales asociados a la actividad humana: la agricultura. *Ecología Austral* **18**: 239-252.
- Doak DF, Waddle E, Langendorf RE, Louthan AM, Chardon NI, Dibner RR, Keinath DA, Lombardi E, Steenbock C, Shriver RK, Linares C, García MB, Funk WC, Fitzpatrick SA, Morris W, DeMarche ML. 2021. A critical comparison of integral projection and matrix projection models for demographic analysis. *Ecological Monographs* **91**: e01447. DOI: <https://doi.org/10.1002/ecm.1447>
- Eguiarte LE, Jiménez BOA, Aguirre-Planter E, Scheinvar E, Gámez N, Gasca-Pineda J, Castellanos-Morales G, Moreno-Letelier A, Souza V. 2021. Evolutionary ecology of *Agave*: distribution patterns, phylogeny, and coevolution (an homage to Howard S. Gentry). *American Journal of Botany* **108**: 216-235. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajb2.1609>
- Ellstrand NC, Roose ML. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany* **74**: 123-131. DOI: <https://doi.org/10.2307/2444338>
- Esparza-Frausto G, Macías-Rodríguez FJ, Martínez-Salvador M, Jiménez-Guevara MA, Méndez-Gallegos DJ. 2008. Edible insects associated to wild agave communities in the Ejido Tolosa, pinos, Zacatecas, Mexico. *Agrociencia* **42**: 243-252.
- Espinoza-García N, Llanderal-Cázares C, Miranda-Perkins K, Vargas-Hernández M, Gonzáles-Hernández H, Romero-Nápoles J. 2018 Infestación inducida de gusano rojo *Comadia redtenbacheri* en *Agave salmiana*. *Southwestern Entomologist* **43**: 1009-1019.

- Flores-Abreu IN, Trejo-Salazar RE, Sánchez-Reyes LL, Good SV, Magallón S, García-Mendoza A, Eguiarte LE. 2019. Tempo and mode in coevolution of *Agave sensu lato* (Agavoideae, Asparagaceae) and its bat pollinators, Glossophaginae (Phyllostomidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **133**: 176-188. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.01.004>
- Font Quer P. 1993. *Diccionario de botánica*. Barcelona, España: Editorial Labor, SA.
- García-Marín P, Torres-García I, Casas A, Figueredo-Urbina CJ, Rangel-Landa S, Delgado-Lemus A, Carrillo-Galván G. 2017. Los agaves y las prácticas mesoamericanas de aprovechamiento, manejo y domesticación. In: Casas A, Parra-Rondinel F, Aguirre-Dugua X, Rangel-Landa S, Blancas J, Vallejo M, eds. *Domesticación en el Continente Americano* volumen 2. México: Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 273-308. ISBN: 978-607-02-9334-4
- García-Mendoza A. 2007. Los agaves de México. *Ciencias* **87**: 14-23.
- García-Mendoza AJ, Franco-Martínez IS, Sandoval Gutiérrez D. 2019. Cuatro especies nuevas de *Agave* (Asparagaceae, Agavoideae) del sur de México. *Acta Botanica Mexicana* **126**: 1-18. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1461>
- Gentry HS. 1982. *Agaves of Continental North America*. USA: University of Arizona Press. ISBN: 978-081-65-2395-5
- GBIF [Global Biodiversity Information Facility]. 2021. landing page. <https://www.gbif.org> (Accessed March 13, 2021).
- González-Medrano F. 2012. *Las Zonas Áridas y Semiáridas de México y su Vegetación*. DF, México: Instituto Nacional de Ecología - Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. ISBN: 978-607-7908-69-2
- Good-Avila SV, Souza V, Gaut BS, Eguiarte LE. 2006. Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**: 9124-9129. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0603312103>
- Gross CL, Nelson PA, Haddadchi A, Fatemi M. 2012. Somatic mutations contribute to genotypic diversity in sterile and fertile populations of the threatened shrub, *Grevillea rhizomatosa* (Proteaceae). *Annals of Botany* **109**: 331-342. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcr283>
- Gurevitch J, Scheiner, SM, Fox GA. 2006. *La ecología de las plantas*. Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc. ISBN: 978-087-8932-94-8
- Hall P, Bawa K. 1993. Methods to assess the impact of extraction of non-timber tropical forest products on plant populations. *Economic Botany* **47**: 234-247. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02862289>
- Harper JL. 1977. *Population biology of plants*. London, England: Academic Press. ISBN: 978-012-3258-50-2
- Hernández-Livera RA, Llanderal-Cázares C, Castillo-Márquez LE, Valdez-Carrasco J, Nieto-Hernández R. 2005. Identificación de instares larvales de *Comadia redtenbacheri* Hamm. (Lepidoptera: Cossidae). *Agrociencia* **39**: 539-544.
- Infante D, González G, Peraza-Echeverría L, Keb-Llanes M. 2003. Asexual genetic variability in *Agave fourcroydes*. *Plant Science* **164**: 223-230. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00404-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00404-1)
- Jarni K, Jakše J, Brus R. 2015. Vegetative propagation: linear barriers and somatic mutation affect the genetic structure of a *Prunus avium* L. stand. *Forestry: An International Journal of Forest Research* **88**: 612-621. DOI: <https://doi.org/10.1093/forestry/cpv029>
- Jiménez-Barrón O, García-Sandoval R, Magallón S, García-Mendoza A, Nieto-Sotelo J, Aguirre-Planter E, Eguiarte LE. 2020. Phylogeny, diversification rate, and divergence time of *Agave sensu lato* (Asparagaceae), a group of recent origin in the process of diversification. *Frontiers in Plant Science* **11**: 536135. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.536135>
- Jones OR. 2021. Life tables: construction and interpretation. In: Salguero-Gomez R, Gamelon M, eds. *Demographic Methods Across the Tree of Life*. USA: Oxford University Press, pp. 151-161. ISBN: 978-019-8838-60-9
- Kassambara A, Mundt F. 2020 *Factoextra*: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R Package Version 1.0.7.
- Klimeš L, Klimesová J, Hendriks R, Van Groenendaal J. 1997. Clonal plant architecture: a comparative analysis of form and function. In: de Kroon H, van Groenendaal J, eds. *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*. Leiden: Backhuys Publishers, pp. 1-29. ISBN: 978-907-3348-73-8
- Lê S, Josse J, Husson F. 2008. *FactoMineR*: A Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* **25**: 1-18. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Llanderal-Cázares C, Castro-Torres R, Miranda-Perkins K. 2017. Bionomics of *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt, 1847) (Lepidoptera: Cossidae). *SHILAP Revista de Lepidopterología* **45**: 373-383. DOI: <https://doi.org/10.57065/shilap.928>
- Lloyd S. 1982. Least squares quantization in PCM. *IEEE Transactions on Information Theory* **28**: 129-137. DOI: <https://doi.org/10.1109/TIT.1982.1056489>

- Martin MP, Peters CM, Palmer MI, Illsley C. 2011. Effect of habitat and grazing on the regeneration of wild *Agave cupreata* in Guerrero, Mexico. *Forest Ecology and Management* **262**: 1443-1451. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.06.045>
- Martínez-Jiménez R, Ruiz-Vega J, Caballero-Caballero M, Silva-Rivera ME, Montes-Bernabé JL. 2019. Agaves silvestres y cultivados empleados en la elaboración de mezcal en Sola de Vega, Oaxaca, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* **22**: 477-485.
- Martínez-Ramos M, Ortiz-Rodríguez IA, Piñero D, Dirzo R, Sarukhán J. 2016. Anthropogenic disturbances jeopardize biodiversity conservation within tropical rainforest reserves. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 5323-5328. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1602893113>
- Martorell C, Garcillán PP, Casillas F. 2012. Ruderality in extreme-desert cacti? Population effects of chronic anthropogenic disturbance on *Echinocereus lindsayi*. *Population Ecology* **54**: 335-346. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10144-012-0307-8>
- Martorell C, Peters EM. 2009. Disturbance-response analysis: a method for rapid assessment of the threat to species in disturbed areas. *Conservation Biology* **23**: 377-387. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.01134.x>
- Montiel E. 2008. *The traditional flavors of Hidalgo*. *Voices of Mexico* **82**: 87-91.
- Montoya R. 2023. En busca de chinicuiles, devastan 20 mil magueyes en Zempoala, Hidalgo. *La Jornada*. <https://www.jornada.com.mx/2023/10/22/estados/030n2est> (accessed October 22, 2023).
- Octavio-Aguilar P, González-Astorga J, Vovides AP. 2008. Population dynamics of the Mexican cycad *Dioon edule* Lindl. (Zamiaceae): Life history stages and management impact. *Botanical Journal of the Linnean Society* **157**: 381-391. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2008.00814.x>
- Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, Minchin PR, O'Hara, RB, Oksanen MJ. 2013. Package 'vegan'. *Community Ecology Package* **2**: 1-295.
- Picó FX, Rodrigo A, Retana J. 2008. Plant Demography. In: Jorgensen SE, Fath B, eds. *Encyclopedia of Ecology: Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences* Amsterdam, Netherlands: Elsevier, pp. 2811-2817. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-008045405-4.00653-4>
- Pinkava DJ, Baker MA. 1985. Chromosome and hybridization studies of *Agave*. *Desert Plants* **7**: 93-100.
- Pijoan M. 2001. El consumo de insectos, entre la necesidad y el placer gastronómico. *Offarm: Farmacia y Sociedad* **20**: 150-161.
- Portilla-Alonso RM, Martorell C. 2011. Demographic consequences of chronic anthropogenic disturbance on three populations of the endangered globose cactus *Coryphantha werdermannii*. *Journal of Arid Environments* **75**: 509-515. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2011.01.015>
- R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Ramos-Elorduy J. 2006. Threatened edible insects in Hidalgo, Mexico, and some measures to preserve them. *Journal of Ethnobiology* **2**: 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-4269-2-51>
- Ramos-Elorduy J, Pino JM, Conconi M. 2006. Ausencia de una reglamentación y normalización de la explotación y comercialización de insectos comestibles en México. *Folia Entomológica Mexicana* **45**: 291-318.
- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestres - Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. *Diario Oficial de la Federación* 30 diciembre, 2010.
- Serrano PY. 2023. La gestión del conocimiento como potenciador en la innovación: Estudio de caso en BIOMATVI laboratorios. BSc Thesis, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Simcha LY. 2017. How monocarpic is *Agave*? *Flora* **230**: 12-13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.03.002>
- Valverde PL, Vite F, Zavala-Hurtado JA. 1996. A morphometric analysis of a putative hybrid between *Agave marmorata* Roezl and *Agave kerchovei* Lem.: *Agave peacockii* Croucher. *Botanical Journal of the Linnean Society* **122**: 155-161. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1996.tb02070.x>
- Vázquez-García JA, Cházaro-Basáñez M, Hernández-Vera G, Vargas-Rodríguez YL, Zamora-Tabares MP. 2007. Taxonomía del género *Agave* en el occidente de México: una panorámica preliminar. In: Vázquez-García JA, Cházaro-Basáñez M, Hernández-Vera G, Flores-Berrios E, Vargas-Rodríguez YL, eds. *Agaves del Occidente de México*. Serie

- Fronteras de Biodiversidad 3*. Guadalajara: Universidad de Guadalajara-Consejo Regulador del Tequila AC.-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.-Comisión Nacional Forestal, pp. 38-82. ISBN: 978-970-27-1293-0
- Venables WN, Ripley BD. 2002. *Modern Applied Statistics with S*, Fourth edition. New York: Springer. ISBN 0-387-95457-0, <https://www.stats.ox.ac.uk/pub/MASS4/>.
- Ward Jr J. 1961. *Hierarchical grouping to maximize payoff*. United States: Air Force Wright Air Development Division.
- Wickham H. 2016. *Getting Started with ggplot2. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. New York, USA: Springer Link. ISBN: 978-3-319-24275-0
- Xanthopoulos P, Pardalos PM, Trafalis TB. 2013. Linear discriminant analysis. In: Xanthopoulos P, Pardalos PM, Trafalis TB, eds. *Robust Data Mining*. pp. 27-33. New York: Springer. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9878-1_4
- Yuan C, Yang H. 2019. Research on k-value selection method of k-means clustering algorithm. *Multidisciplinary Scientific Journal* 2: 226-235. DOI: <https://doi.org/10.3390/j2020016>

Associate editor: Alejandro Zavala Hurtado

Author contributions: MAGM, analysis, field work, writing, POA, theoretical propose, analysis, writing, correction, ASG, analysis, writing, correction.

Supporting Agencies: CONAHCYT grant number 892149 within the SNP of the PhD in Biodiversity and Conservation Sciences.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest, financial or personal, in the information, presentation of data and results of this article.

CAPÍTULO IV:

ANÁLISIS GENÉTICO POBLACIONAL DE *Agave applanata* HORT. EX K. KOCH. EN MÉXICO

INTRODUCCIÓN

La acumulación de diferencias alélicas entre individuos, poblaciones y especies constituyen la diversidad genética, la cual surge de la variabilidad en las versiones (alelos) de los genes que conforman el material hereditario de los seres vivos. Esta fuente de variación es necesaria para la adaptación de especies a ambientes nuevos y actúa como amortiguador contra efectos catastróficos de cualquier índole (Loo y Canadian, 2011).

Se ha observado que, en algunos casos, la perturbación humana afecta de manera directa a la diversidad genética (Amos y Harwood, 1998; Vranckx et al., 2012; Octavio-Aguilar et al., 2018; García-Montes et al., 2020), por lo cual, las evaluaciones de este tipo ayudan a complementar los planes de manejo y conservación. En contraste, en algunas especies vegetales, se ha encontrado un aumento de diversidad genética en sitios perturbados (García-Verdugo et al., 2015; Millete et al., 2020).

En general, es difícil comprender la dinámica poblacional de especies clonales como los agaves, ya que la teoría ecológica y evolutiva se formularon para organismos individuales que no comparten composición genética. Existe mucha variación en la terminología pues algunos consideran que la clonalidad es una forma de crecimiento, mientras que otros plantean que es una forma de producir progenie (Jackson et al., 1985; Tiffney y Niklas, 1985). Por lo que, los estudios genéticos en este tipo de plantas adoptan un enfoque de muestreo excluyente, con el propósito de minimizar la colecta del mismo genotipo (ramets de un genet) (Silva y Eguiarte, 2003; Clark-Tapia et al., 2005).

Los patrones de distribución espacial predominantes en las plantas clonales, son agregados, es decir, los individuos tienden a distribuirse en parches o grupos con genets y ramets entremezclados, lo cual favorece la entrecruza y resulta en niveles más altos de diversidad genética (Mandujano, 2007; Carrillo-Ángeles y Mandujano, 2011). La reducción del

reclutamiento sexual y la dispersión restringida de polen, semillas y propágulos vegetativos pueden generar diferenciación genética local de las poblaciones, afectando la reproducción y la dinámica poblacional (Carrillo-Ángeles et al., 2011).

En estudios de agaves donde utilizan microsatélites y secuencias, se han logrado registrar rangos mayores de diversidad genética, tanto en poblaciones silvestres como cultivadas o bajo algún tipo de manejo ($H_o = 0.30-0.87$), también se han encontrado valores altos de diferenciación poblacional ($F_{ST} = 0.013-0.49$) y coeficientes de endogamia de bajos a moderados ($F_{IS} = 0.05-0.42$). Algunos de estos trabajos analizan especies emparentadas con la especie de estudio, tal es el caso de *A. parryi* y *A. durangensis* (Eguiarte et al., 2013; Figueredo et al., 2015; Delgado-Alvarado et al., 2019; Eguiarte et al., 2021).

Agave applanata es diploide ($2n=2x=60$, Rodríguez-Garay, 2016), se ha analizado su diversidad genética a nivel poblacional en Guanajuato con marcadores ISTR y mostró un promedio de diversidad genética de Nei similar a la encontrada en otros estudios de agaves con marcadores moleculares dominantes ($H' = 0.219$, Torres et al., 2006, 2008, 2012; Torres, 2009, Mandujano Bueno et al., 2018). En el estado de Hidalgo se desconoce la información genética de sus poblaciones, tampoco se sabe sobre el efecto que tiene la colecta de chinicuiles sobre parámetros genéticos y se tiene poco conocimiento sobre su genética poblacional fuera del estado.

Es así que, desde el punto de vista genético-poblacional, se formulan las siguientes preguntas de investigación: 1) ¿Cómo está repartida la variación genética dentro y entre las poblaciones evaluadas de *A. applanata*; 2) ¿Cómo estarán estructuradas genéticamente estas poblaciones?; 3) ¿Cuáles son los factores ecológicos y fuerzas evolutivas que producen dicha estructura?; 4) ¿Existe conectividad genética entre las poblaciones evaluadas? y 5) ¿La perturbación de los sitios afectará de manera directa a la diversidad y estructura genética?

HIPÓTESIS

Se espera que la diversidad genética sea similar a sus congéneres evaluados con microsatélites, pero podría variar por la perturbación y fuerzas evolutivas como el flujo genético, deriva génica y selección natural. Así, las poblaciones más perturbadas mostrarían una variación genética con respecto a las menos afectadas

OBJETIVOS PARTICULARES

- Conocer el estado actual de la diversidad y estructura genética de las poblaciones de *A. applanata* mediante el uso de marcadores codominantes microsatélites.
- Evaluar las fuerzas evolutivas que actúan en estas poblaciones mediante el análisis de diversidad genética para conocer el potencial de riesgo para la especie.
- Comprobar si existe correlación entre la perturbación y los parámetros genéticos analizados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Agave applanata se distribuye actualmente en los estados de Querétaro e Hidalgo, así como en áreas semiáridas de Tlaxcala, Puebla, Guanajuato y Oaxaca. Se tienen registros de su introducción por el humano en los estados mexicanos de Durango, Chihuahua y Zacatecas, así como en Arizona, Nuevo México y Texas, en los Estados Unidos de América (Gentry, 1982; Vázquez-García et al., 2007; Casas et al., 2019). Los sitios de colecta fueron ubicados tratando de abarcar la mayor parte de la distribución natural de esta especie (**Figura 1**). Así, se eligieron ocho poblaciones de *A. applanata* en cuatro estados de la república mexicana considerando a 200 individuos para el análisis genético-poblacional de la especie (**Cuadro 1**).

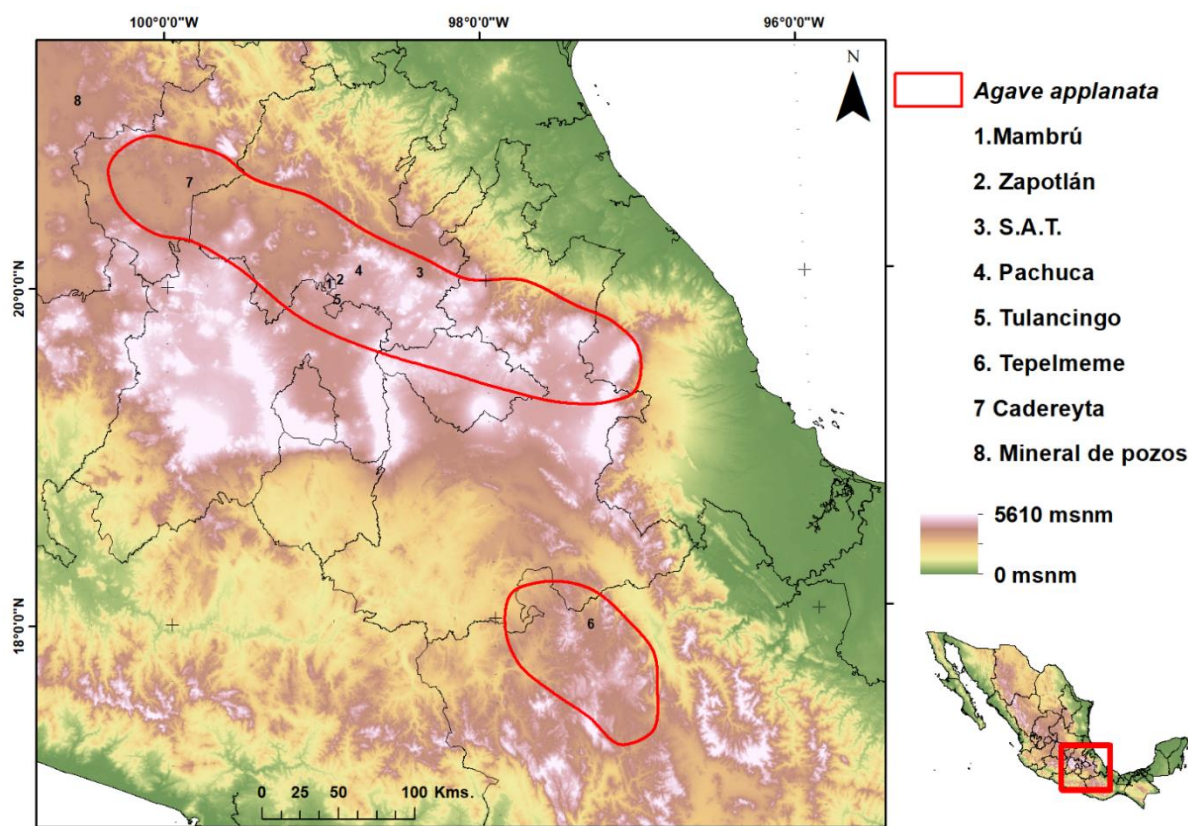


Figura 1. Localización de las poblaciones de *A. applanata* consideradas para el análisis genético-poblacional. S.A.T.: San Agustín Tlaxiaca.

Cuadro 1. Nombre y ubicación geográfica de ocho poblaciones de *A. applanata* consideradas para este estudio. ID Población: Abreviatura de la población.

Sitio de muestreo	ID Población	Latitud	Longitud	No. Inds.	Estado
Mambrú	Mam	20.0355833	-98.93571667	30	Hidalgo
Zapotlán	Zap	19.9699833	-98.88761667	20	Hidalgo
San Agustín Tlaxiaca	S.A.T.	20.0894667	-98.86791667	20	Hidalgo
Pachuca	Pach	20.137447	-98.749657	16	Hidalgo
Tulancingo	Tul	20.11751	-98.36472	39	Hidalgo
Tepelmeme	Oax	18.0097167	-97.35935	21	Oaxaca
Cadereyta	Qro	20.68113	-99.800857	24	Querétaro
Mineral de pozos	Gto	21.1731167	-100.5036667	30	Guanajuato
Total				200	

Colecta y procesamiento de material vegetal

De cada individuo, se tomaron aproximadamente 10 centímetros de tejido fresco cercano al margen de hojas sanas. Cada individuo estaba separado por al menos 10 metros para garantizar la independencia genética de las muestras. El número de individuos colectados estuvo en función a la disponibilidad de plantas en cada población. Las muestras se transportaron en bolsas de plástico y se almacenaron a 4°C hasta ser procesadas (**Anexo 1**). Antes de la extracción se retiraron los dientes laterales y el tejido foliar fue cortado en tiras delgadas para posteriormente envolverlos en papel filtro debidamente etiquetado y asegurado con ligas. Para agilizar el proceso de secado, cada papel filtro fue puesto en bolsas de plástico y cubierto con gel de sílice con indicador de humedad. Una vez seco el tejido, se colocó en bolsas de plástico herméticas de 7 cm x 6 cm y se etiquetaron para no perder la identidad de los individuos. Este tejido fue almacenado a temperatura ambiente (25°C) hasta la extracción de DNA (**Figura 2**).

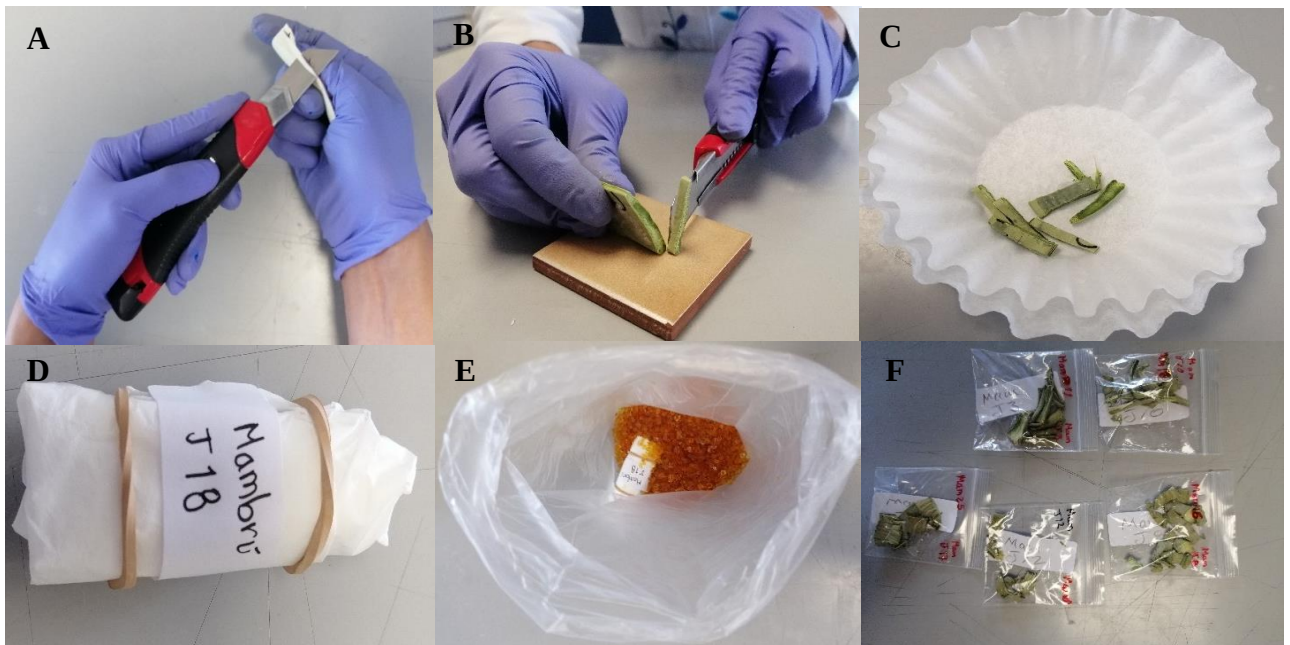


Figura 2. Proceso de secado de tejido foliar previo a la extracción de DNA. A: Corte de dientes laterales. B: Corte de tejido foliar. C: Tejido cortado y puesto en papel filtro. D: Etiquetado y asegurado con ligas. E: Secado en gel de sílice. F: Almacenamiento en bolsas Ziploc.

Extracción de DNA

La extracción se realizó mediante un protocolo modificado de Doyle y Doyle (1987) para agaves con solventes orgánicos como lo es el CTAB-PVPP, buffer STE, Cloroformo: Octanol (24:1) e Isoprpanol (Keb-Llanes et al., 2002, **Anexo 2**). El DNA se rehidrató con buffer TE (1x, pH 8). La cuantificación fue determinada por espectrofotometría calculada a través de la absorbancia a 260 nm (A260) y la pureza se obtuvo mediante la relación A260/A280 y A260/A230, esto se llevó a cabo en un NanoGenious spectrophotometer (MAPADA Instruments Co., Ltd., 2017). Una vez cuantificadas las muestras, se hicieron diluciones a 50 ng/μl. Para evaluar la integridad del DNA obtenido, el material genético fue analizado en geles de agarosa al 1%, ideal para visualizar DNA genómico y teñidas con bromuro de etidio; la electroforesis se llevó a cabo a 120V por espacio de 30 min. Las muestras cuantificadas y las diluciones se almacenaron en un congelador a -20°C.

Amplificación de microsatélites

Se amplificaron 18 microsatélites nucleares de *A. applanata*; diseñados para *Agaves Americanos* (Cuadro 2). Cada par de oligonucleótidos se concentró a 1 μM y para conocer la temperatura ideal de alineamiento para la especie, se realizó un gradiente térmico (54-62°C) para cada locus (Selkoe y Toonen, 2006; Lindsay et al., 2012; Byers et al., 2014). La mezcla de reacción para la PCR fue de 50 ng/μl de DNA genómico (1 μl); adicionando 1.6 μl de MgCl₂ (25 mM), 0.6 μl de primer forward y reverse (1 μM), 0.3 μl de dNTP's (10 mM), 2.4 μl de buffer (5x), 1.5 μl de dH₂O y 0.3 μl (1.5 U) de *Taq* DNA polimerasa Promega® para un total de 8.3 μl por reacción. La amplificación de cada locus se realizó mediante la técnica de PCR en un termociclador punto final Artik de Thermo Scientific ajustando la temperatura de alineamiento y el número de ciclos como se indica: 5 minutos a 95°C, 32 ciclos de (45 s a 95°C, 45 s a 54-62°C, 45 s a 72°C) 10 min a 72°C de extensión final. Los productos de PCR se visualizaron en geles de acrilamida al 15 %,

corridos a 90 V por espacio de 70 min y teñidos con bromuro de etidio (10 mg/ml). Para conocer el tamaño de los fragmentos amplificados, se colocaron 1.5µl de marcador de peso molecular de 100 pb Promega®.

Análisis de los datos

Los geles obtenidos para la visualización de los amplificados fueron analizados utilizando el programa Gel Analyzer (Lazar y Lazar, 2017), capturando el tamaño en pares de bases e intensidad de la o las bandas de cada individuo; con esta información se elaboró una base de datos para los análisis estadísticos correspondientes.

Calidad de los datos

Para identificar la presencia de alelos nulos, se utilizó el programa MICRO-CHECKER 2.2.3 (Van-Oosterhout et al., 2004). Este análisis se realizó con 1000 simulaciones por bootstrap y un intervalo de confianza (IC) con corrección de Bonferroni y estimador de Chakraborty (Chakraborty et al., 1992). Para conocer la relación entre loci, se estableció el desequilibrio de ligamiento (DL), el cual arroja un índice de asociación (i_a) y una medida de correlación promedio (r_d) y entre marcadores (r'_d), así como sus significancias. Este análisis se ejecutó en Arlequin ver. 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010). Las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) se probaron utilizando el paquete *pegas* (Paradis, 2010), del lenguaje de programación R v. 3.6.3 (R Core Team, 2020).

Diversidad genética

Con los datos obtenidos, se calcularon las frecuencias génicas: promedio de muestras amplificadas por locus/población, número de alelos por locus/población, número efectivo de alelos por locus/población, índice informativo de Shannon para cada iniciador (I), heterocigosis observada y esperada (H_o y H_e respectivamente) de cada población; además, se estableció la

cantidad de alelos exclusivos, medida indirecta de la fijación por deriva génica, todo esto se analizó utilizando los paquetes *adegenet* (Jombart, 2008) y *Poppr* (Kamvar, 2014) del lenguaje de programación R v. 3.6.3 (R Core Team, 2020).

Estructura genética

Para evaluar la distribución de la variabilidad genética dentro y entre poblaciones analizadas, se calcularon los índices de diferenciación/endogamia (F_{IT} , F_{IS} , F_{ST}) y el número de migrantes por generación (N_m) de forma pareada. Se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) asumiendo un modelo de alelos infinitos en 9999 permutaciones (Excoffier et al., 1992) con ayuda del programa GenAlEx v.6.5 (Pekall y Smouse, 2012). Por otro lado, se obtuvieron las distancias de Nei adecuadas para microsatélites y con estas se construyó un árbol de divergencia genética mediante el algoritmo Neighbour-Joining utilizando el programa POPTREE2 (Takezaki et al., 2009).

Para conocer el número de grupos genéticos que existen entre poblaciones, se aplicó un análisis de asignación basado en el modelo de Monte Carlo, considerando 50,000 permutaciones y 50,000 pasos de asignación por Bootstrap, bajo el modelo ancestral *admixture*. El modelo de frecuencias alélicas que se utilizó fue *independiente*. Estos ajustes al modelo consideran *a priori* la identidad de procedencia de los individuos y los asigna a grupos hipotéticos, en este caso se utilizó de 2 a 10 grupos (k) con 10 iteraciones cada uno (Falush et al., 2007). Para este análisis se utilizó el programa STRUCTURE v. 5.4 (Pritchard et al., 2000). La cantidad de grupos genéticos adecuados se visualizó de acuerdo con el método gráfico propuesto por Evanno et al., (2005) generado a partir del programa STRUCTURE SELECTOR (Li y Liu, 2018).

De igual forma, se realizó un Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC), un método multivariado que se utiliza para identificar y describir grupos de individuos

genéticamente relacionados (Jombart et al., 2010). Este análisis no se basa en un modelo particular de genética de poblaciones, por lo tanto, está libre de suposiciones sobre el equilibrio de HW o LD. El paquete *adegenet* (Jombart, 2008) ayuda a visualizar gráficamente este método.

Para determinar si han existido reducciones recientes en el tamaño efectivo poblacional, se hizo un análisis de cuello de botella. Para esta prueba se utilizó el modelo de mutación de dos fases (TPM); que es intermedio entre el modelo de islas infinitas (IIM) y el de mutación por pasos (SMM) mediante una prueba de Wilcoxon. El programa que se utilizó es Bottleneck v.1.2.02 (Cornuet y Luikart, 1996, Piry et al., 1999).

Por último, para conocer el efecto de la no neutralidad, se realizó un análisis de *loci* bajo selección natural. Para ello, se utilizó el programa BayeScan ver. 2.01 (Foll y Gaggiotti, 2008), el cual identifica alelos con frecuencias alejadas de lo esperado por un modelo aleatorio de Poisson. Para ello se utiliza un modelo Markoviano multinomial desarrollado por Dirichlet (Huelsenberck y Andolfato, 2007). Este modelo se realizó utilizando un número total de iteraciones de 150,000 con un tamaño de muestra de 5,000 considerando un intervalo de confianza mínimo de 20 iteraciones. El programa genera 10 análisis simultáneos para probar la neutralidad, cada uno con 5,000 pasos. El modelo final calibrado se genera a partir de 50,000 pasos y muestra qué *loci* se alejan de la neutralidad; estos datos se graficaron con ayuda del lenguaje de programación R (R Core Team, 2024).

RESULTADOS

Amplificación de microsatélites

Del total de los loci evaluados, 14 de ellos lograron generar bandas constantes del tamaño esperado en todas las poblaciones (**Cuadro 2**). Solo cuatro (APARLC21, BYU3674, BUY4988 y BYU8677), fallaron al obtener productos de PCR, por lo que fueron descartados de los análisis.

Cuadro 2. Loci seleccionados para la evaluación genética poblacional de *A. applanata* en México. Ta (°C) R: Temperatura de alineamiento en grados Celsius reportada. Ta (°C) A: Temperatura de alineamiento en grados Celsius en este trabajo. Pb: Rango del tamaño en pares de bases de los alelos reportados en las referencias. En rojo: *Loci* que fallaron en la obtención de productos de PCR para todas las poblaciones de *A. applanata* aquí evaluadas.

LOCUS	Ta (°C) R	Ta (°C) A	Pb	Secuencia 5'-3'	Arreglo	Referencia
APAR2-12	59	59.8	151-205	F: CGTCACCGCCAGTTAAGAG R: GTGCCCATGATCTGTGGTTG	(CT) ₇	Lindsay et al., 2012
APAR3-11	59	59.8	158-194	F: TGTGGCGGCTAAAAGAAGG R: CCGATCCGGCGTAATTCTC	(AAC) ₄	Lindsay et al., 2012
APARLC20	60	60.9	204-240	F: AGTTGCTGAAATCGAAGATCCG R: TCTCGGTTGGATTCTGGTTCG	(AG) ₇	Lindsay et al., 2012
APARLC21	60	-	142-206	F: TCCTCTCCACGTTCAACCC R: GGAGAGCTTGGGTACGAGG	(CT) ₉	Lindsay et al., 2012
APARLC28	58	58.6	138-195	F: CCTCCTGCGTAGAGGAACC R: TCTCCGTTTGAACCTCCGTG	(AAG) ₄	Lindsay et al., 2012
APARLC34	57	57.2	152-206	F: ACAGGAGTCCATAACAGGAGTG R: TCAGTTCTCCATCTACTTCCG	(ATT) ₅	Lindsay et al., 2012
APARLC35	59	59.8	157-175	F: TGTGTGTTTAGCAGTGCCG R: AGCGGATCTGAGCAAAATGAG	(ATT) ₄	Lindsay et al., 2012
BYU3268	57	57.2	138-147	F: CCTCCAATCAAATTCCTCA R: TGAAAGACCCCTCATCATCC	(GCT) ₅	Byers et al., 2014
BYU3674	57	-	147-156	F: CATCAATTAATAACATGAAGAATGG R: TGGTTCATGTAGCCTACCCC	(ACA) ₆	Byers et al., 2014
BYU4012	57	56.2	131-140	F: TTTTGGGAGTAAGCTGGGA R: CCCGGGGAGTAAAGAGAGAG	(CAC) ₅	Byers et al., 2014
BYU4463	57	57.2	178-199	F: CGTTGAGCTTGTTGAAGTCG R: AACCACACCAAAGTCAAGCAG	(GAG) ₆	Byers et al., 2014
BYU4988	57	-	172-190	F: GACGCTGGTATATTTCTCCTG R: CTCGGATCTTCAATCTGGG	(TAT) ₅	Byers et al., 2014
BYU5164	57	57.2	155-176	F: ATCGCTCCTCCAGAGTTTCA R: GTGTGTGCTTTGTTGGTTGG	(CCA) ₇	Byers et al., 2014
BYU5866	57	60.6	164-170	F: ACACAGGCCCAACACAAAAT R: GGGACAATCCTTCCATTAAACA	(AAT) ₅	Byers et al., 2014
BYU7269	57	57.2	155-167	F: GATCCATAGCCGACTCCAAA R: GAGGATGACAAACAATCCGC	(GTT) ₆	Byers et al., 2014
BYU8490	57	54.2	173-191	F: CCAAATACTTGGGACAAATGG R: CAGAAATAGAAGGCCTTAATAAGTG	(GTT) ₆	Byers et al., 2014
BYU8677	57	-	171-198	F: AAACCAAAAACAGGCCACTG R: TGAGTCGAGGGAATTAGGGA	(AAT) ₁₀	Byers et al., 2014
BYU9897	57	59.8	177-189	F: TAGTTAATTGCGCCCCCTTT R: CCGGAGTTGGGAGGAGTC	(TTC) ₆	Byers et al., 2014

Control de calidad de los datos

Los resultados sugieren que existen alelos nulos, ya que se obtuvieron frecuencias de genotipos homocigotos mayores al 10% en todos los *loci* evaluados (**Cuadro 3**). Por otro lado, el análisis

de DL mostró asociación estadísticamente significativa entre los marcadores ($i_a = 1.17$, $p = 0.005$; $r_d = 0.09$, $p = 0.005$), especialmente entre APARLC-20 y APARLC-34 ($r'_d = 0.19$). Esto significa que el 9% de la variación en un marcador se comparte con otro, lo cual no debería representar motivo de sesgo para análisis subsecuentes (**Figura 3**). Por estos motivos se decidió proseguir con los alelos nulos y los *loci* ligados, ya que el descartarlos, la cantidad de marcadores informativos sería baja.

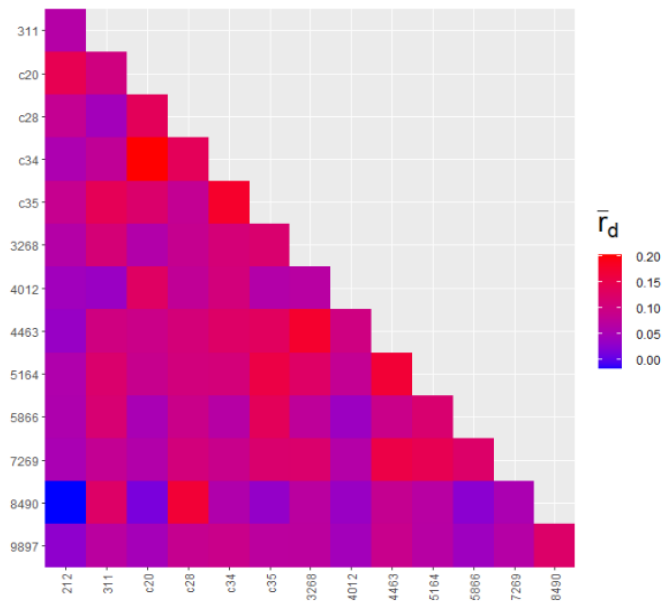


Figura 3. Análisis DL entre loci. Azul: nula asociación; rojo intenso: mayor asociación.

Diversidad genética

Se registraron un total de 106 alelos con 14 microsatélites, siendo APAR2-12, APARLC20 y BYU8490 los *loci* más diversos; por el contrario, el locus con el menor número fue BYU5866. En su mayoría, los marcadores utilizados mostraron gran cantidad de individuos homocigotos, pero en casi todos se obtuvo un índice de Shannon superior a la unidad, lo cual indica una riqueza alélica importante (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Variación genética de 14 *loci* utilizados para la comparación de ocho poblaciones de *A. applanata* en México. Pb: Intervalo de tamaño de los amplificadores en pares de bases, N: Tamaño de muestra, NA: Número de alelos por locus, A: Promedio de alelos, Ta: Temperatura de alineamiento, Ne: Número efectivo de alelos, I: Índice de Shannon, H_O: Heterocigosis observada, H_E: Heterocigosis esperada, ECh: Estimador Chakraborty.

Locus	Arreglo	Pb	N	N _A	A	Ne	I	H _O	H _E	ECh
APAR2-12	(CT) ₇	149-189	200	11	7.5	5.15	1.77	0.214	0.801	0.52
APAR3-11	(AAC) ₄	160-196	200	8	6.6	4.69	1.66	0.210	0.773	0.30
APARLC20	(AG) ₇	214-238	200	15	7.2	5.03	1.73	0.109	0.787	0.73
APARLC28	(AAG) ₄	179-194	200	8	5.2	3.74	1.38	0.126	0.701	0.92
APARLC34	(ATT) ₅	154-175	200	6	3.2	2.47	0.84	0.032	0.464	0.91
APARLC35	(ATT) ₄	159-183	200	7	3.1	2.45	0.91	0	0.521	1
BYU3268	(GCT) ₅	134-149	200	7	4	3.02	1.12	0.069	0.593	0.55
BYU4012	(CAC) ₅	135-146	200	6	4.2	3.48	1.31	0.042	0.709	0.76
BYU4463	(GAG) ₆	167-196	200	7	3.9	2.64	1.03	0.129	0.568	1
BYU5164	(CCA) ₇	157-178	200	9	6.2	4.67	1.62	0.130	0.766	0.29
BYU5866	(AAT) ₅	163-172	200	4	3.2	2.64	1.05	0.014	0.619	0.88
BYU7269	(GTT) ₆	159-183	200	7	4.4	3.36	1.28	0.189	0.687	0.40
BYU8490	(GTT) ₆	170-191	200	11	4.9	3.82	1.41	0.058	0.723	0.77
BYU9897	(TTC) ₆	174-189	200	7	5.7	4.46	1.57	0.545	0.769	0.11

Por otro lado, las poblaciones con mayor diversidad genética, considerando el índice de Shannon (I), promedio de alelos por locus (A), número de alelos efectivos (Ne) y heterocigosis observada y esperada (H_O y H_E respectivamente) es Mambrú, Tulancingo y Cadereyta; las que presentaron valores bajos en estos parámetros fueron Zapotlán y Pachuca, de igual manera, se obtuvieron valores intermedios en SAT, Tepelmeme y Mineral de Pozos. Contrariamente, todas las poblaciones muestran un coeficiente de fijación positivo (endogamia) con la mayor fijación también en Zapotlán y Pachuca, seguidos de Tepelmeme y Mineral de Pozos. Mambrú y Tepelmeme tienen valores ligeramente menores al resto, pero se siguen considerando elevados para este índice. Todas las poblaciones mostraron un alto porcentaje de polimorfismo y ninguna presenta evidencia de estar bajo HWE (**Cuadro 4**).

Se encontró un total de 23 alelos exclusivos en las ocho poblaciones, con mayor frecuencia en Mambrú, Tulancingo y Cadereyta. El locus que presentó mayor número de alelos exclusivos fue C-20 seguido de BYU8490. Tepelmeme y Mineral de Pozos tienen solo un alelo exclusivo con el locus APAR2-12 (**Cuadro 5**).

Cuadro 4. Descripción genética de cuatro poblaciones analizadas de *Agave applanata* en México. N: Tamaño de muestra, A: Promedio de alelos por locus, Ne: Número efectivo de alelos por locus, I: Índice de Shannon, H_O: Heterocigosis observada, H_E: Heterocigosis esperada, f: Coeficiente de fijación, %P: Porcentaje de polimorfismo, HW: Equilibrio de Hardy-Weimberg; χ^2/gl , ***: $p < 0.0001$, ES: Error estándar.

Población	A	Ne	I	H _O	H _E	F	% P	HW
Mambrú	5.79	4.34	1.49	0.19	0.73	0.74	100	92.4 / 16 ***
Zapotlán	3.79	3.05	1.12	0.07	0.60	0.88	92.8	51.3 / 7 ***
S.A.T.	4.78	3.57	1.33	0.11	0.69	0.84	100	63.4 / 10 ***
Pachuca	4	2.93	1	0.08	0.51	0.84	78.5	48.5 / 11 ***
Tulancingo	5.41	3.86	1.41	0.17	0.70	0.77	100	97.5 / 12 ***
Tepelmeme	5.35	3.95	1.44	0.11	0.73	0.86	100	69.7 / 14 ***
Cadereyta	5.43	3.98	1.46	0.21	0.73	0.71	100	64.3 / 13 ***
Mineral de Pozos	5.36	3.87	1.44	0.10	0.72	0.86	100	99.9 / 13 ***
Promedio	4.96	3.69	1.21	0.13	0.67	0.834	96.43	
(ES)	(0.18)	(0.13)	(0.06)	(0.02)	(0.2)	(0.04)	(3.57)	

Cuadro 5. Alelos exclusivos en las ocho poblaciones de *A. applanata* analizadas. pb: pares de bases del alelo exclusivo, Freq: Frecuencia.

Población	Locus	Alelo (pb)	Freq	Población	Locus	Alelo (pb)	Freq
Mambrú	C-20	243	0.033	Tulancingo	C20	167	0.056
Mambrú	BYU5164	152	0.083	Tulancingo	C20	175	0.222
Mambrú	BYU8490	220	0.133	Tepelmeme	APAR212	198	0.024
Mambrú	BYU8490	226	0.633	Cadereyta	APAR212	197	0.021
Mambrú	BYU8490	230	0.233	Cadereyta	C-28	200	0.063
Pachuca	C-28	87	0.031	Cadereyta	C-34	203	0.208
Pachuca	BYU4463	167	0.938	Cadereyta	C-35	189	0.333
Pachuca	BYU7269	182	0.333	Cadereyta	C-35	193	0.167
Tulancingo	APAR212	149	0.162	Cadereyta	BUY3268	152	0.125
Tulancingo	C-20	153	0.167	Cadereyta	BYU5164	185	0.042
Tulancingo	C-20	156	0.194	Mineral de Pozos	APARL212	203	0.067
Tulancingo	C-20	161	0.361		Total	23	

Estructura genética

La diferenciación de las poblaciones fue significativa (F_{ST} : 0.130, $p = 0.000$), con altos niveles de endogamia (F_{IS} : 0.815, $p = 0.000$), mientras que la variación total se aleja de lo que se esperaría en

el HWE (F_{IT} : 0.837, $p = 0.000$). De manera pareada se observa una menor distancia entre las poblaciones de Mambrú, SAT, Tepelmeme y Mineral de Pozos, lo que se traduce en una mayor cantidad de individuos migrantes por generación. Por el contrario, la mayor diferenciación se presenta entre las poblaciones de Pachuca, Cadereyta, Tepelmeme y Tulancingo; esto quiere decir que hay bajo flujo genético entre estas poblaciones (**Cuadro 6**).

Cuadro 6. Número de individuos migrantes por generación (diagonal superior) e índices de diferenciación pareados (diagonal inferior) entre las poblaciones de *A. applanata* analizadas. Nm: Migrantes por generación, F_{ST} : Índice de diferenciación pareados. Las letras en negritas indican la mayor similitud poblacional.

	Mambrú	Zapotlán	SAT	Pachuca	Tulancingo	Tepelmeme	Cadereyta	Mineral de Pozos
Mambrú	0	2.225	4.288	1.272	3.694	4.197	2.845	4.843
Zapotlán	0.159	0	2.349	1.488	1.476	1.557	1.844	1.782
SAT	0.08	0.139	0	1.263	4.181	3.097	2.941	4.318
Pachuca	0.244	0.214	0.24	0	0.972	1.007	1.058	1.178
Tulancingo	0.106	0.221	0.089	0.293	0	3.452	2.826	4.461
Tepelmeme	0.08	0.214	0.117	0.29	0.109	0	2.752	4.081
Cadereyta	0.134	0.186	0.126	0.285	0.137	0.134	0	3.548
Mineral de Pozos	0.08	0.187	0.086	0.257	0.09	0.089	0.108	0

El análisis de varianza molecular (AMOVA) muestra la mayor diferencia entre individuos, independientemente de la población (F_{IS} 71%, $F_{(192, 1775)} = 9.24$, $p < 0.01$), seguido de la variación dentro de las poblaciones (F_{IT} 16%, $F_{(200, 190)} = 0.95$, $p < 0.01$) y la menor variación se da entre poblaciones (F_{ST} 13%, $F_{(7, 327)} = 46.8$, $p < 0.01$), en todos los casos los valores fueron significativos (**Figura 4, Cuadro 7**).

Cuadro 7. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de *A. applanata* usando microsatélites.

Fuente de variación	D.F.	S.S.	M.S.	Est. Var.	%	Estadístico-F	Valor	P value
Entre poblaciones	7	327.56	46.	0.77	13	F_{ST}	0.13	0.00
Entre Individuos	192	1775.15	9.2	4.1	71	F_{IS}	0.81	0.00
Dentro poblaciones	200	190.5	0.95	0.95	16	F_{IT}	0.83	0.00
Total	399	2293.21		5.86	100			

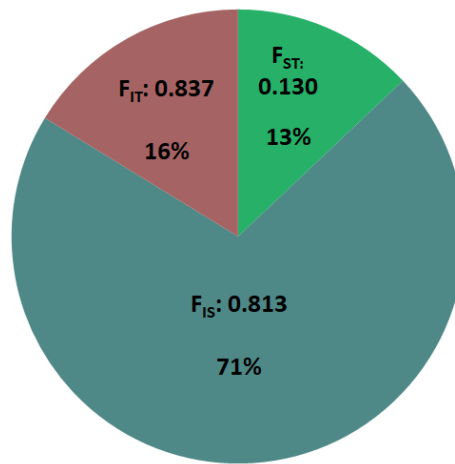


Figura 4. Gráfico del Análisis de Varianza Molecular para *A. applanata* usando microsatélites.

El análisis de agrupamiento Neighbour Joining muestra que Pachuca y Zapotlán son diferentes genéticamente con respecto al resto de las poblaciones; además en este árbol se forma un grupo genético bien definido y poco diferenciado con el resto de las poblaciones (**Figura 5**).

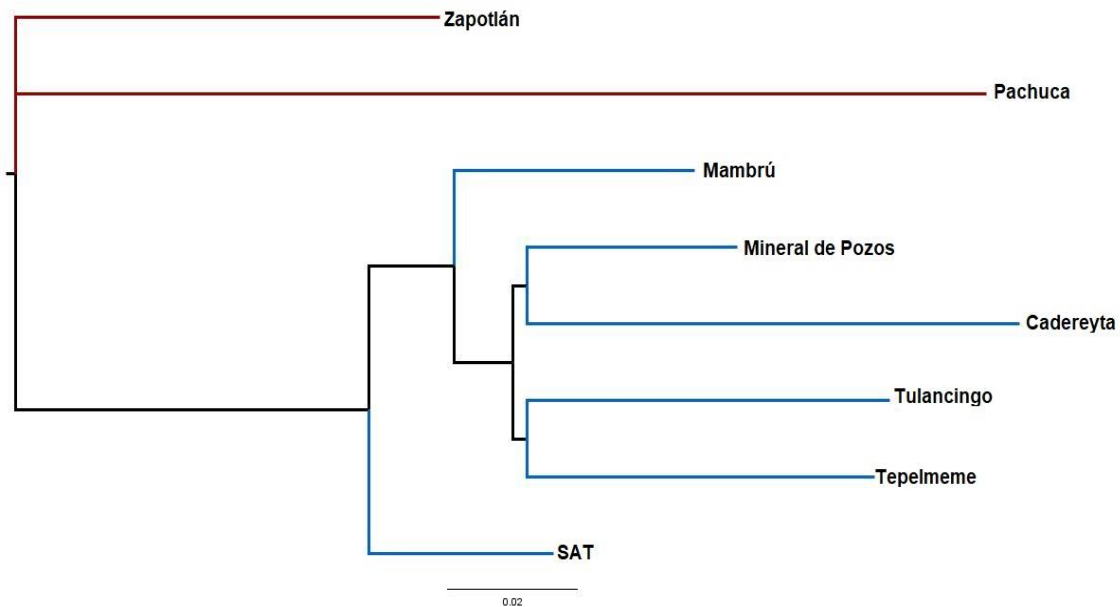


Figura 5. Árbol de agrupamiento basado en las distancias de diferenciación poblacional (F_{ST}) mediante el algoritmo Neighbour Joining. SAT: San Agustín Tlaxiaca.

De manera similar, el análisis de asignación bayesiana (STRUCTURE) mostró la menor varianza acumulada en $K = 2$ (**Figura 6a**). El primer agrupamiento está dado entre las poblaciones de Pachuca y Zapotlán, el segundo entre el resto de las poblaciones (**Figuras 6b y 6c**), que es sustentado por el análisis basado en distancias genéticas entre las poblaciones (Neighbour Joining).

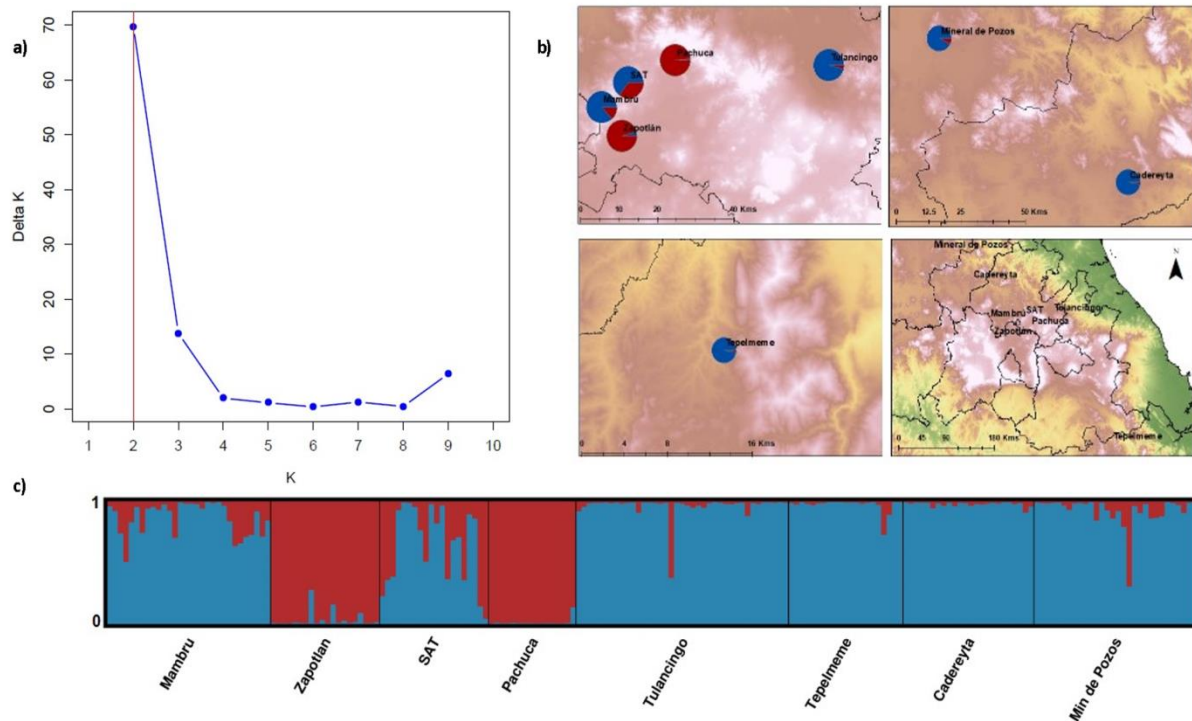


Figura 6. Análisis de asignación genética. **a)** Método Gráfico del logaritmo natural de la probabilidad de asignación de los individuos a un grupo genético dado $\text{LnP}(D)$ propuesto por Evanno (2005). **b)** Distribución geográfica de los grupos obtenidos por el análisis de asignación. **c)** Asignación de los individuos considerando su procedencia, $K = 2$ grupos genéticos.

El análisis DAPC logró explicar con dos funciones el 83% de la variación ($F1$: AV: 372.5; V.E.: 62%; $F2$: AV: 119.9; V.E.: 21%), además muestra un patrón similar comparado con los otros análisis de agrupamiento (Neighbour-Joining y STRUCTURE). En este se puede observar que nuevamente Zapotlán y Pachuca se separan del resto de las poblaciones (**Figura 7**).

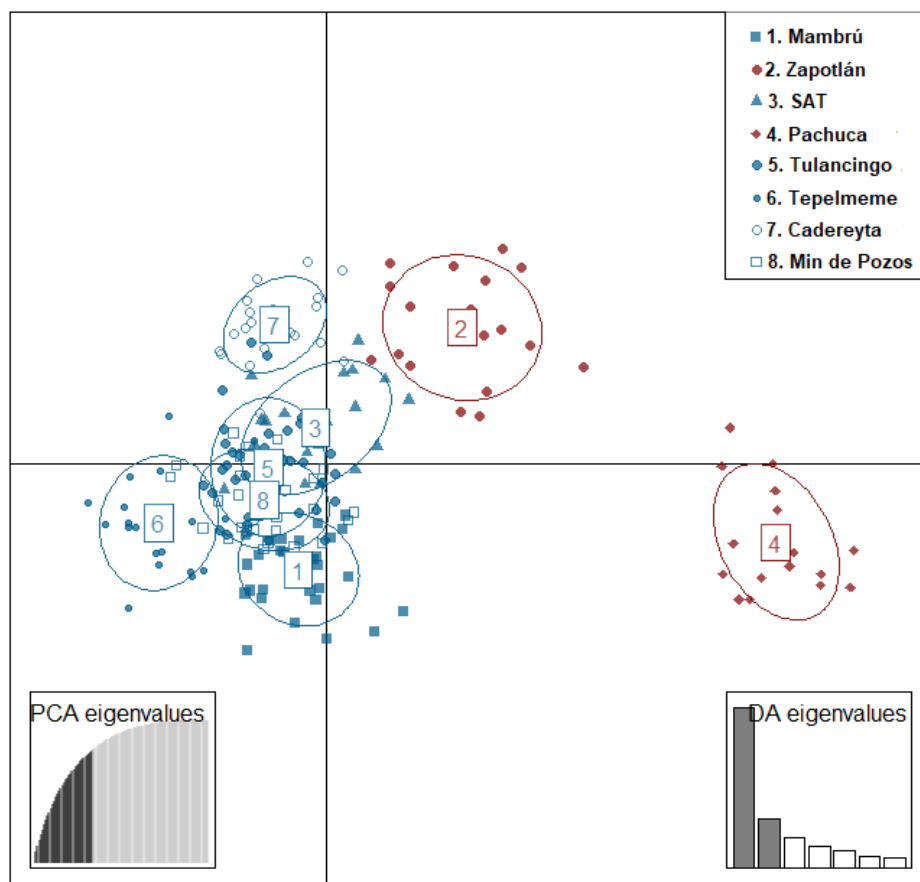


Figura 7. Análisis discriminante de componentes principales (DAPC). En color marrón se observan Zapotlán y Pachuca, de azul, el resto de las poblaciones.

Cuellos de botella

El análisis de reducción poblacional señala cuellos de botella antiguos en todas las poblaciones ($p < 0.05$) a excepción de Pachuca ($p > 0.05$), de acuerdo con la prueba de Wilcoxon de dos colas bajo el modelo TPM ($HE - HEQ = DH / DE$), ideal para microsatélites.

Análisis de neutralidad

Los resultados indican que cinco *loci* se alejan de lo esperado para la neutralidad. Con esto, se puede inferir por la ubicación de los puntos en el gráfico, que los tipos de selección que podrían estar actuando sobre ellos son la disruptiva (APARLC-35), al favorecer en forma simultánea a alelos en ambos extremos genotípicos de la población y la selección estabilizadora (APAR 2-12,

APARL 3-11, APARLC-28, y BYU8490) al favorecer a un genotipo (**Cuadro 8**). También se puede observar que APARLC-34 está en el límite para considerarse dentro de la neutralidad, por lo que no se asoció a ningún tipo de selección (**Figura 8**).

Cuadro 8. Frecuencias alélicas para los *loci* alejados de la neutralidad en ocho poblaciones de *Agave appplanata*. Pb: Tamaño en pares de bases del alelo, Mam: Mambrú, Zap: Zapotlán, SAT: San Agustín Tlaxiaca, Pach: Pachuca, Tul: Tulancingo, Tep: Tepelmeme, Cad: Cadereyta, Min: Mineral de Pozos.

Locus	Pb	Mam	Zap	SAT	Pach	Tul	Tep	Cad	Min
APAR2-12	149	0	0	0	0	0.16	0	0	0
	154	0.13	0	0	0.25	0.23	0.17	0	0
	159	0.28	0.25	0.10	0.31	0.20	0.36	0	0.27
	164	0.35	0.15	0.10	0.13	0.07	0.21	0	0.20
	169	0.18	0.25	0.33	0.13	0.05	0.10	0.19	0.07
	174	0	0	0.15	0	0.05	0.05	0.17	0.15
	179	0.02	0.15	0.05	0.06	0.11	0.02	0.27	0.05
	184	0.02	0.20	0.23	0.06	0.09	0.05	0.13	0.03
	189	0	0	0.05	0.06	0.03	0.02	0.06	0.03
	195	0.02	0	0	0	0	0	0.17	0.13
	197	0	0	0	0	0	0	0.02	0
	198	0	0	0	0	0	0.02	0	0
	203	0	0	0	0	0	0	0	0.07
H_e		0.745	0.790	0.796	0.797	0.848	0.783	0.816	0.835
APAR3-11	160	0.22	0.32	0.11	0.06	0.16	0	0	0.07
	166	0.27	0.42	0.05	0.19	0.15	0	0.10	0
	172	0.13	0.21	0.26	0.06	0.22	0.05	0.27	0.17
	177	0.20	0.05	0.08	0.09	0.10	0.19	0.42	0.48
	182	0.03	0	0.13	0.22	0.16	0	0.06	0.10
	187	0.03	0	0.24	0.31	0.10	0.19	0	0.10
	189	0	0	0	0.06	0	0.10	0	0
	192	0.07	0	0.11	0	0.07	0.14	0.08	0.07
	195	0.05	0.00	0.03	0.00	0.03	0.33	0.06	0.00
H_e		0.82	0.68	0.82	0.79	0.85	0.78	0.73	0.71
APARLC28	87	0	0	0	0.03	0	0	0	0
	156	0.07	0	0	0	0	0.07		0
	168	0.00	0	0	0	0	0.26	0.06	0
	177	0.10	0	0	0	0.18	0.05	0.08	0.04
	181	0.03	0.15	0.05	0.03	0.15	0.19	0.13	0.08
	186	0.17	0.30	0.30	0.38	0.32	0.14	0.19	0.48
	191	0.32	0.40	0.60	0.56	0.32	0.19	0.21	0.21
	196	0.32	0.15	0.05	0.00	0.03	0.10	0.27	0.19

	200	0	0	0	0	0	0	0.06	0
H_e		0.76	0.71	0.55	0.54	0.74	0.82	0.82	0.68
APARLC35	159	0.10	0	0	0	0.18	0	0	0.45
	165	0.27	0	0.05	0	0.53	0.43	0	0.21
	171	0.27	0	0.60	0	0.21	0.24	0	0.14
	177	0.37	0.80	0.30	1	0.09	0.33	0	0.21
	183	0	0.20	0.05	0	0	0	0.50	0
	189	0	0	0	0	0	0	0.33	0
	193	0	0	0	0	0	0	0.17	0
H_e		0.71	0.32	0.55	0.00	0.64	0.65	0.61	0.69
BYU9897	174	0.13	0	0.03	0	0.18	0.05	0.08	0
	177	0.17	0.15	0.30	0.03	0.29	0.38	0.21	0.20
	180	0.17	0.25	0.13	0.27	0.24	0.10	0.02	0.10
	183	0.17	0.20	0.03	0.17	0.11	0.17	0.19	0.10
	186	0.15	0.40	0.25	0.33	0.08	0.05	0.19	0.20
	189	0.17	0	0.28	0.20	0.10	0.26	0.31	0.37
	192	0.05	0	0	0	0	0	0	0.03
H_e		0.85	0.72	0.76	0.75	0.80	0.74	0.78	0.76

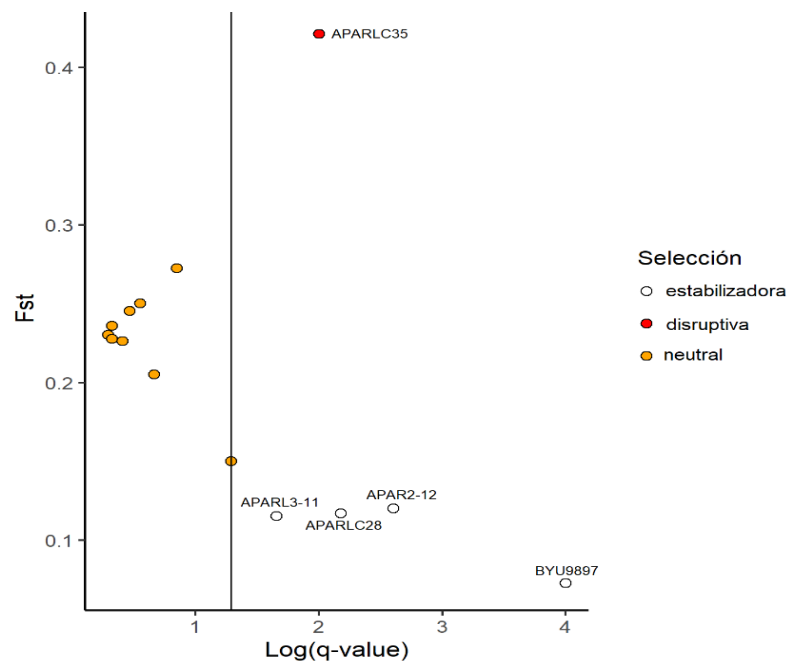


Figura 8. Análisis de neutralidad. Se muestran los *loci* que se alejan de lo esperado para la neutralidad. Amarillo: *loci* neutrales, Blanco: *loci* influenciados por selección estabilizadora Rojo: *loci* influenciados por selección disruptiva.

DISCUSIÓN

Control de calidad de los datos

Los alelos nulos son aquellos que no se amplifican por PCR debido a una mutación en el punto de hibridación del iniciador. Esto significa que uno de los alelos no se amplifica y el individuo se considera homocigoto para el otro alelo (Dawson et al., 1997). Por lo tanto, la presencia de alelos nulos puede afectar la interpretación de los resultados de los análisis. Por ejemplo, si un individuo tiene un alelo nulo, puede ser erróneamente clasificado como homocigoto para el otro alelo (Grijalva-Chon et al., 2013). Este estudio sugirió la presencia de alelos nulos en todas las poblaciones evaluadas, lo cual podría estar subestimando la heterocigosis, pero la presencia de estos alelos también se puede explicar debido a la reproducción vegetativa de la especie, a pesar de haber analizado individuos separados por al menos diez metros. Este tipo de reproducción parece tener mayor aporte demográfico que la sexual (Capítulo III).

En cuanto al desequilibrio de ligamiento, se ha observado que la frecuencia de ciertos alelos, cuyos loci se encuentran en un mismo cromosoma, difiere de lo esperado si estuvieran en equilibrio. Esto significa que se heredan juntos rompiendo la independencia (Hill, 1975; Slatkin, 2008). Este desequilibrio puede ser causado por varios factores, incluyendo la selección natural, la deriva génica y la mutación. La selección natural puede favorecer ciertos alelos que están ligados entre sí, por proximidad cromosómica o por funciones moleculares como la formación de heteropolímeros; mientras que la deriva génica puede causar que ciertos alelos se pierdan o se fijen en una población (Coop y Griffiths, 2004). De acuerdo con los resultados obtenidos, se observó una segregación no aleatoria entre todos los pares de *loci*, pero con frecuencias relativamente bajas, por lo que esto no debería tener gran impacto sobre los estimadores de diversidad genética utilizados.

Diversidad genética

La evaluación de la variabilidad genética es un aspecto crítico para determinar la permanencia de las poblaciones o especies a mediano y largo plazo (Antonovics, 1984 Lowe et al., 2009), pues la información genética permite identificar poblaciones susceptibles de manejo, debido a su alta diversidad de donde es posible seleccionar individuos adecuados para la implementación de estrategias de conservación (Withlock et al., 2016). La diversidad es necesaria para la adaptación de las especies a nuevos ambientes y se considera un amortiguador contra eventos catastróficos (Frankham et al., 2002).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se obtuvo un buen número de alelos (106) con los 14 *loci* que lograron amplificar para la especie, a pesar de tener baja heterocigosis observada. Dicho parámetro podría estar sesgado por la presencia de alelos nulos lo que aumentaría la endogamia, lo cual se observa en *A. applanata*. Pero nuevamente esto se explica debido a la importancia de la reproducción vegetativa en la especie. Es por ello que se ha sugerido que la maximización de la diversidad alélica, tanto en homo como en heterocigosis; puede ser más eficiente para mantener la diversidad genética de poblaciones clonales que la maximización de la heterocigosis, porque la primera mantiene un mayor número de alelos y al mismo tiempo realiza un mejor control de la endogamia. Así, la maximización de la riqueza alélica debería ser una estrategia recomendada en programas de conservación de poblaciones con clonalidad alta, como es el caso de *A. applanata* (Caballero et al., 2010). Aunque no todos los alelos brindan ventajas a sus portadores, ya que existen variantes neutras, es decir, el portador no manifiesta proteína alguna por lo que podría no ser competitivo o el producto de expresión es invisible para la selección natural, por lo que la variación en su frecuencia es aleatoria o neutral (Ewens, 1972; Kimura, 1983). Con todo esto, la diversidad genética es una variable multiescalar, pues incluye

heterocigosidad a escala individual, diversidad genotípica y alélica a escala poblacional y adaptación local a escala regional (Engelhardt et al., 2014).

Al hacer comparaciones directas de la variación evaluada mediante diferentes microsatélites, puede resultar en una problemática al generar diferentes niveles de diversidad. Sin embargo, la mayoría de los estudios genéticos en *Agave* han involucrado el uso de los mismos oligonucleótidos (Lindsay et al., 2012; Byers et al., 2014). El rango de tamaño en pares de bases de los alelos encontrados aquí, son similares a los reportados. Sin embargo, la H_O para cada *locus* es menor a pesar de tener un mayor número de individuos analizados, esto es común en especies cultivadas o manejadas.

Como ya se ha mencionado, para las más de 150 especies de magueyes en México, solo 22 han sido estudiadas a nivel genético poblacional; entre estas se incluyen taxones silvestres y bajo distintos niveles de manejo. Con respecto a los microsatélites, siete especies mexicanas (Estados Unidos Mexicanos) y dos en Estados Unidos de América han sido evaluadas con este tipo de marcador molecular encontrando niveles de diversidad genética de moderados a altos ($H_O = 0.30-0.87$), los cuales son mayores a los de este estudio ($H_O = 0.13$) (Lindsay et al., 2012; Byers et al., 2014; Eguiarte et al., 2013, 2021). El bajo nivel de heterocigosidad podría ser el resultado de selección direccional o del efecto fundador generado al llevar individuos con variación reducida y no representativa de una población a otra. Otra posibilidad es un entorno estable y homogéneo, donde no hay presiones ambientales significativas o cambios rápidos en las condiciones; así que una baja diversidad genética puede ser suficiente para mantener la adaptación de la población a su entorno, además, aumenta la eficacia de la selección natural al eliminar alelos perjudiciales (Frankham et al., 2002; Ryland et al., 2015).

Por otro lado, la perturbación antrópica está asociada con cambios débiles en la diversidad genética dentro y entre poblaciones naturales. Sin embargo, la magnitud de las diferencias dependerá del tipo de perturbación experimentada. Con esto, se esperaría que las poblaciones en sitios muy afectados por el hombre presenten baja diversidad genética y flujo genético reducido, alta endogamia y pérdida de alelos debido a la deriva genética, tal como sucede en Zapotlán y Pachuca, zonas con elevados niveles de extracción para chinicuil. Sin embargo, la evidencia empírica muestra efectos contrastantes de la perturbación antropogénica sobre la diversidad genética de las especies, pues depende de la magnitud de la perturbación y si esta es dirigida a la especie o sobre el entorno (Almeida-Rocha et al., 2020). Relacionando los niveles de diversidad genética de *A. applanata* y los niveles de perturbación de cada población, se observa que el patrón general mencionado explica por qué Cadereyta, que es la población más afectada por la perturbación, presentó la mayor variabilidad genética. Por el contrario, Mambrú, que es la población menos impactada por actividades humanas, presenta niveles similares de diversidad que Cadereyta. Pachuca, que es la segunda población más perturbada, presentó una baja diversidad genética, pero esto puede estar en función del tamaño de muestra, ya que solo se analizaron 16 individuos al no encontrarse más, debido a la extracción de chinicuil en esta zona. Entonces, Pachuca y Zapotlán, aún con niveles intermedios de perturbación general tienen baja diversidad genética ya que existe extracción dirigida directamente sobre las poblaciones, así que no importa si son pocos (Pachuca) o muchos (Zapotlán) individuos lo que conforman a la población, todos son relictos de un aprovechamiento que reduce el tamaño poblacional y por ende la diversidad genética.

Estructura genética

La estructura genética se genera por la dispersión, supervivencia y reproducción diferencial de los individuos dentro y entre las poblaciones, es decir, dependerá del flujo genético y de la selección natural. Sin embargo, una apreciación de la genética evolutiva debe tomar en cuenta procesos ecológicos intrínsecos a las especies, como tipo de fecundación, sistema de apareamiento e historia de vida, así como procesos histórico-evolutivos como el tiempo de divergencia entre las poblaciones o la capacidad de radiación intergeneracional de los individuos, así como el efecto de las actividades humanas (Rousset, 1997; Loveless et al., 1998; Meirmans y Hedrick, 2011).

Gentry (1982), hipotetizó que *A. applanata* fue dispersado antes y durante la colonia, del centro hacia el norte y sur del país por comunidades humanas que lo utilizaban para la elaboración de fibras. Los resultados a los que aquí se llegan lo confirman, ya que se observó una fuerte estructura poblacional con una diferenciación poblacional moderada (F_{ST} : 0.130), lo cual muestra una conectividad entre las poblaciones a pesar de estar separadas por cientos de kilómetros. Esto se puede observar en los análisis basados en distancias genéticas, de asignación bayesiana y multivariados, pues se obtuvieron dos grupos genéticos, los cuales solo se diferencian probablemente por la baja diversidad genética y un bajo número de individuos, principalmente en las poblaciones de Pachuca y Zapotlán, las cuales conforman un grupo. De igual forma, el análisis de exceso o deficiencia de heterocigotos muestran una tendencia similar, ya que se obtuvieron cuellos de botella antiguos estadísticamente significativos en casi todas las poblaciones, lo cual puede ser el resultado de esta movilidad de la especie por grupos humanos.

De igual forma, las especies de *Agave* analizadas con microsatélites muestran distintos niveles de diferenciación poblacional (F_{ST} = 0.013- 0.49), estos valores deben tomarse con cautela

porque proceden de marcadores diferentes incluyendo secuencias polimórficas y secuencias repetidas, también se mezclan especies cultivadas, que por manejo tienen menor diversidad; así como especies silvestres, susceptibles de hibridación. Con estas consideraciones en cuenta al planear estrategias de conservación, podemos afirmar que no existen recomendaciones generales válidas para las especies de *Agave*, pues dada la distribución microendémica de algunas de éstas y la destrucción y modificación del hábitat en México, debe haber preocupación y esfuerzos integrales tanto para su conservación *in situ* como *ex situ* (Eguiarte et al., 2000).

Análisis de neutralidad

La selección natural puede producir cambios en las frecuencias alélicas, pues los alelos que confieren una mayor adecuación; medida del éxito reproductivo, se hacen más comunes dentro de una población. Los *loci* de microsatélites son neutrales, por lo que no deberían ser seleccionados (Nielsen, 2005, Selkoe y Toonen, 2006). Sin embargo, también se han observado microsatélites que se encuentran asociados por ligamiento con genes codificantes, los cuales pueden ser susceptibles a la selección natural (Lazrek et al., 2009; Kirk y Freeland, 2011). En *A. applanatta* se encontraron cinco *loci* que se alejan de lo esperado para la neutralidad además de ligamiento, siendo APARLC-35 el locus que podría estar influenciado por la selección disruptiva, debido a que los genotipos más frecuentes son más aptos, reflejándose en la elevada heterocigosis en las poblaciones de Mambrú y Mineral de Pozos, compartiendo frecuencias altas de alelos fijados (Cuadro 8). Por otro lado, los *loci* APAR2-12, 3-11, C28 y BYU9897 muestran una elevada frecuencia de algunos alelos compartidos entre algunas poblaciones. Esto puede deducirse debido a la elevada *He* en las poblaciones, lo que sugiere una selección balanceadora. Para corroborar esta aseveración y observar que la estructura genética se mantiene, se podrían eliminar los *loci* alejados de la neutralidad y volver a generar los modelos de estructura y diversidad. En algunas

especies vegetales esta aproximación corrobora la existencia de procesos selectivos (Octavio-Aguilar et al., 2024).

Con respecto a poblaciones con un bajo número de individuos, esta deficiencia numérica puede incrementar la divergencia intrapoblacional por efectos del microhábitat (Huang et al., 2004), como sucede en Pachuca y Zapotlán. El bajo número de adultos presentes en las poblaciones, podría asociarse a la pérdida de individuos menos adaptados o la destrucción de la población, que en este caso sería por la extracción del chinicuil; lo que resulta en un acervo genético homogéneo en juveniles y plántulas, etapas más frecuentes en los sitios muestreados. Para analizar mejor estos datos, se sugiere un estudio de escala fina y mapeo genético para corroborar asociación con regiones codificantes (Brohede y Ellegren, 1999).

Los alelos observados que se alejan de la neutralidad, se consideran con frecuencia como indicativo de selección. Estudios recientes sobre la variabilidad de microsatélites, han utilizado un exceso de alelos como método estadístico para inferir una selección positiva. Para ello, se han utilizado modelos coalescentes neutros, demostrando que el promedio de alelos esperados según el modelo de mutación por pasos y el modelo de alelos infinitos se desvían del número de alelos observados. Esto es importante, ya que esta medida puede ser más adecuada para la identificación de *loci* de microsatélites sujetos a selección, donde la magnitud de esta diferencia depende del tamaño de la muestra, las tasas de mutación y la diversidad genética observada (Schlötterer et al., 2004). Al respecto, la mayor divergencia en cuanto a la riqueza alélica, se presenta en las poblaciones Hidalguenses, donde la mayoría de individuos comparten los mismos alelos por lo que, de presentarse selección, la intensidad de esta sería mayor, esto coincide con la extracción de chinicuil registrada en algunos sitios. Es probable entonces que el aprovechamiento del recurso a partir de las poblaciones naturales, constituya una presión selectiva artificial. Para corroborar esta

posibilidad, es necesario asociar la información genética evaluada con características fenotípicas requeridas para la producción de chinicuiles, por lo que la secuenciación de regiones adyacentes a los marcadores microsatélites con desviación de la neutralidad resulta una propuesta atractiva.

CONCLUSIONES

La diversidad genética de *Agave applanata* resultó ser baja y con un índice de endogamia elevado comparado con sus congéneres evaluados con el mismo tipo de marcador molecular, lo que se asocia con la clonalidad de la especie.

No se observó un patrón claro entre la perturbación y los niveles bajos de diversidad genética, por lo que existen otros factores, como las estrategias reproductivas, que son de mayor importancia para el mantenimiento de las poblaciones de esta especie.

La estructura genética de la especie es relativamente elevada a pesar de los movimientos de individuos del centro hacia el norte y sur del país realizados por humanos en la antigüedad.

Esto se corrobora debido a que en la mayoría de las poblaciones se encontró evidencia de cuellos de botella antiguos, al tener una deficiencia de individuos heterocigotos. En la población que no se encontró evidencia, probablemente se debe al tamaño de muestra.

Cinco *loci* se alejaron de lo esperado para la neutralidad y existe evidencia de desequilibrio de ligamiento, por lo que se sugiere realizar mapeo genético para conocer si estos *loci* están asociados a alguna región codificante.

LITERATURA CITADA

- Almeida- Rocha JM, Soares LA, Andrade ER, Gaiotto FA. y Cazetta E. 2020. The impact of anthropogenic disturbances on the genetic diversity of terrestrial species: A global meta-analysis. *Molecular Ecology*, 29: 4812-4822.
- Amos W. y Harwood J. 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 353: 177-186.
- Antonovics, J. 1984. Genetic Variation within Populations. En: Dirzo, R., y J. Sarukan (eds.). *Perspectives on Plant Population Biology*. (p.p. 229-241). Sinauer, Sunderland.
- Beerli P, Mashayekhi S, Sadeghi M, Khodaei M. y Shaw K. 2019. Population genetic inference with MIGRATE. *Current protocols in bioinformatics*, 68: 1-28.
- Beerli P, Ashki H, Mashayekhi S. y Palczewski M. 2022. Population divergence time estimation using individual lineage label switching. *G3*, 12: 1-9.
- Brohede J. y Ellegren H. 1999. Microsatellite evolution: Polarity of substitutions within repeats and neutrality of flanking sequences. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 266: 825–833
- Byers C, Maughan PJ, Clouse J. y Stewart JR. 2014. Microsatellite primers in *Agave utahensis* (Asparagaceae), a keystone species in the Mojave Desert and Colorado Plateau. *Applications in plant sciences*, 2: 140- 147.
- Caballero A, Rodríguez-Ramilo ST, Ávila V. y Fernández, J. 2010. Management of genetic diversity of subdivided populations in conservation programmes. *Conservation Genetics*, 11: 409-419.
- Carrillo-Angeles IG. y Mandujano MC. 2011. Patrones de distribución espacial en plantas clonales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 89: 1-18.

- Carrillo-Angeles IG, Golubov J, Milligan BG. y Mandujano MC. 2011. Spatial distribution pattern of a clonal species: effects of differential production of clonal and sexual offspring. *Evolutionary ecology*, 25: 1357-1383
- Casas A, García-Mendoza AJ, Sandoval-Gutiérrez D. y Torres-García I. 2019. *Agave applanata*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019.
- Chakraborty R, Andrade MD, Daiger SP. y Budowle B. 1992. Apparent heterozygote deficiencies observed in DNA typing data and their implications in forensic applications. *Annals of Human Genetics*, 56: 45-57.
- Clark-Tapia R, Mandujano MC, Valverde T, Mendoza A. y Molina-Freaner F. 2005. How important is clonal recruitment for population maintenance in rare plant species?: the case of the narrow endemic cactus, *Stenocereus eruca*, in Baja California Sur, México. *Biological Conservation*, 124: 123-13.
- Coop G. y Griffiths RC. 2004. Ancestral inference on gene trees under selection. *Theoretical population biology*, 66: 219-232.
- Cornuet JM. y Luikart G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144: 2001-2014.
- Dawson RJ, Lisle Gibbs H, Hobson KA. y Yezerinac SM. 1997. Isolation of microsatellite DNA markers from a passerine bird, *Dendroica petechia* (the yellow warbler), and their use in population studies. *Heredity*, 79: 506-514.
- Delgado-Alvarado EA, Ávila-Reyes JA, Almaraz-Abarca N, González-Valdez LS, Uribe-Soto JN, Monreal-García HM. y Torres-Ricario R. 2019. Genetic studies on morphological variability and carbohydrate content of *Agave durangensis* as potential tools for conservation and propagation programs. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 29: 1308-1317.

- Eguiarte LE, Souza V. y Silva-Montellano A. 2000. Evolución de la familia Agavaceae: filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. *Botanical Sciences*, 66: 131-150.
- Doyle JJ. y Doyle JL. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 11: 39-40.
- Eguiarte LE, Aguirre-Planter E, Aguirre X, Colín R, González A, Rocha M. y Souza V. 2013. From isozymes to genomics: population genetics and conservation of *Agave* in Mexico. *The Botanical Review*, 79: 483-506.
- Eguiarte LE, Jiménez Barrón OA, Aguirre- Planter E, Scheinvar E, Gámez N, Gasca- Pineda J. y Souza V. 2021. Evolutionary ecology of *Agave*: distribution patterns, phylogeny, and coevolution (an homage to Howard S. Gentry). *American Journal of Botany*. 108: 216-235.
- Engelhardt KA, Lloyd MW. y Neel MC. 2014. Effects of genetic diversity on conservation and restoration potential at individual, population, and regional scales. *Biological Conservation*, 179: 6-16.
- Evanno G, Regnaut S. y Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulatory study. *Molecular Ecology*, 14: 2611-2620.
- Ewens WJ. 1972. The sampling theory of selectively neutral alleles. *Theoretical Population Biology*, 3: 87-112.
- Excoffier L, Smouse PE. y Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.
- Excoffier L. y Lischer HE. 2010. Arlequin Suite Ver 3.5: A New Series of Programs to Perform Population Genetics Analyses Under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564–567.

- Falush D, Stephens M. y Pritchard JK. 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*, 7: 574-578.
- Figueredo CJ, Casas A, González-Rodríguez A, Nassar JM, Colunga-GarcíaMarín P. y Rocha-Ramírez V. 2015. Genetic structure of coexisting wild and managed agave populations: implications for the evolution of plants under domestication. *Annals of Botany Plants*, 7.
- Foll M. y Gaggiotti O. 2008. A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics*, 180: 977-993.
- Frankham R, Ballou J. y Briscoe D. 2002. *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press. New York.
- García-Montes MA, Rubio-Tobón CA, Islas-Barrios Y, Serrato-Díaz A, Figueredo-Urbina CJ, Galván-Hernández DM. y Octavio-Aguilar P. 2020. The influence of anthropogenic disturbance on the genetic diversity of *Ceratozamia fuscoviridis* (Zamiaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 181: 497-508.
- García- Verdugo C, Sajeva M, La Mantia T, Harrouni C, Msanda F. y Caujapé- Castells J. 2015. Do island plant populations really have lower genetic variation than mainland populations? Effects of selection and distribution range on genetic diversity estimates. *Molecular Ecology*, 24: 726-741.
- Gentry HS. 1982. *Agaves of Continental North America*. Tucson: The University of Arizona Press.
- Grijalva-Chon JM, Izaguirre-Castro O, Castro-Longoria R, López-Torres MA. y Hoyos-Chairez F. 2013. Variabilidad genética en ADN microsatélite de un nuevo linaje de ostión (*Crassostrea gigas*) en Sonora. *Biotecnia*, 15: 12-18.
- Huang S, Hsieh HT, Fang K. y Chiang YC. 2004. Patterns of genetic variation and demography of *Cycas taitungensis* in Taiwan. *The Botanical Review*, 70: 86–99.

- Huelsenbeck JP. y Andolfatto P. 2007. Inference of population structure under a Dirichlet process model. *Genetics*, 175: 1787-1802.
- Hill WG. 1975. Linkage disequilibrium among multiple neutral alleles produced by mutation in finite population. *Theoretical population biology*, 8: 117-126.
- Jackson JB, Buss LW y Cook RE. 1985. *Population biology and evolution of clonal organisms*. New Haven, Connecticut: Yale University Press
- Jombart T. 2008. Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*. 24: 1403–1405.
- Jombart T, Devillard S. y Balloux F. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC genetics*, 11: 1-15.
- Kamvar ZN, Tabima JF. y NJ Grünwald. 2014. Poppr: An R Package for Genetic Analysis of Populations with Clonal, Partially Clonal, and/or Sexual Reproduction. *PeerJ*, 2: 281–14.
- Keb-Llanes M, González G, Chi-Manzanero B. e Infante D. 2002. A rapid and simple method for small-scale DNA extraction in Agavaceae and other tropical plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 20: 299-300.
- Kimura M. 1983. Rare variant alleles in the light of the neutral theory. *Molecular Biology and Evolution*, 1: 84-93.
- Kingman FC. 1982. On the genealogy of large populations. *Journal of Applied Probability*, 19: 27- 43.
- Kirk H y Freeland JR. 2011. Applications and implications of neutral versus non-neutral markers in molecular ecology. *International Journal of Molecular Sciences*, 12: 3966-3988.
- Lazar I. y Lazar I. 2017. Gel Analyzer 2010a: Freeware 1D gel electrophoresis image analysis software. 2010.

- Lazrek F, Roussel V, Ronfort J, Cardinet G, Chardon F, Aouani ME. y Huguet T. 2009. The use of neutral and non-neutral SSRs to analyse the genetic structure of a Tunisian collection of *Medicago truncatula* lines and to reveal associations with eco-environmental variables. *Genetica*, 135: 391-402.
- Li Y. y Liu J. 2018. STRUCTURE SELECTOR: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources*, 18: 176–177.
- Lindsay DL, Edwards CE, Jung MG, Bailey, P. y Lance RF. 2012. Novel microsatellite loci for *Agave parryi* and cross- amplification in *Agave palmeri* (Agavaceae). *American Journal of Botany*, 99: 295-297.
- Loo JA. y Canadian FS. 2011. *Manual de genética de la conservación: Principios aplicados de genética para la conservación de la diversidad biológica*. Zapopan, Jalisco: Comisión Nacional Forestal de México.
- Loveless, MD, Hamrick JL. y Foster RB. 1998. Population structure and mating system in *Tachigali versicolor*, a monocarpic neotropical tree. *Heredity*, 81: 321-335.
- Lowe A, Harris S. y Ashton P. 2009. *Ecological genetics: design, analysis, and application*. John Wiley & Sons.
- Mandujano M.C. 2007. La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones. En LE. Eguiarte, V. Souza y X. Aguirre. (Eds.), *Ecología Molecular*, (pp. 215-250). México, D.F.: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales-Instituto Nacional de Ecología- Universidad Nacional Autónoma de México-Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

- Mandujano-Bueno A, Pons Hernández JL, Paredes Melesio R. y García Meza P. 2018. Diversidad genética de maguey (*Agave* spp.) en las sierras y llanuras del norte de Guanajuato. *Revista mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9: 511-523.
- Meirmans, PG. y Hedrick W. 2011. Assessing population structure: FST and related measures. *Molecular Ecology Resources*, 11: 5-18.
- Millette KL, Gonzalez A. y Cristescu ME. 2020. Breaking ecological barriers: Anthropogenic disturbance leads to habitat transitions, hybridization, and high genetic diversity. *Science of the Total Environment*, 740: 140-146.
- Nielsen R. 2005. Molecular signatures of natural selection. *Annual Review of Genetics*, 39: 197-218.
- Octavio-Aguilar P, García-Montes MA, Galván-Hernández DM, Macedo-Villarreal MA. y Sánchez-González A. 2018. Conservación de los recursos fitogenéticos: uso inteligente de la biodiversidad. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 6: 16-25.
- Octavio- Aguilar P, Rubio- Tobón CA, Montelongo- Ruiz G. y Galván- Hernández DM. 2024. Evaluation of the diversity and genetic structure of *Ceratozamia kuesteriana* Regel. (Zamiaceae) in Tamaulipas, Mexico. *Plant Species Biology*.
- Paradis E. 2010. Pegas: An R Package for Population Genetics with an Integrated-Modular Approach. *Bioinformatics*. 26: 419–420.
- Pekall R. y Smouse PE. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in excel. Population Genetics Software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.
- Piry S, Luikart G. y Cornuet JM. 1999. BOTTLENECK: a program for detecting recent effective population size reductions from allele data frequencies. *Journal of Heredity*. 90: 502-503.
- Pritchard JK, Stephens M. y Donnelly P. 2000. Inference of population structure from multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959.

- R Core Team 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- R Core Team 2024. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rodríguez-Garay B. 2016. Determination of chromosome number in two species of *Agave* collected in the state of Hidalgo, Mexico. *Sustainable and Integrated use of Agave*, 19-22.
- Rousset F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145: 1219-1228.
- Ryland GL, Doyle MA, Goode D, Boyle SE, Choong DY, Rowley SM. y Gorringer KL. 2015. Loss of heterozygosity: what is it good for?. *BMC medical genomics*, 8: 1-12.
- Schlötterer C. 2004. The evolution of molecular markers—just a matter of fashion?. *Nature reviews genetics*, 5: 63-69.
- Selkoe KA. y Toonen RJ. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology letters*, 9: 615-629.
- Silva A. y Eguiarte LE. 2003. Geographic patterns in the reproductive ecology of *Agave lechuguilla* (Agavaceae) in the Chihuahuan Desert: Genetic variation, differentiation, and inbreeding estimates. *American Journal of Botany*, 90: 700-706.
- Slatkin M. 2008. Linkage disequilibrium—understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nature Reviews Genetics*, 9: 477-485.
- Takezaki N, Nei M. y Tamura K. 2010. POPTREE2: Software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with Windows interface. *Molecular biology and evolution*, 27: 747-752.

- Tiffney BH y Niklas K J. 1985. Clonal growth in land plants: a paleobotanical perspective. En: JB. Jackson, L. Buss y RE. Cook (Eds.), *Population biology and evolution of clonal organisms*. New Haven, Connecticut: Yale University Press.
- Torres MI, Morales RM, Cruz LL. y Villalobos AA. 2006. Identificación de polimorfismo entre hijuelos y plantas micropagadas de *Agave tequilana* y *Agave cocui* usando ISTR. *Scientia Centro Universitario de Ciencias Biológicas Agropecuarias*. Universidad de Guadalajara. México, 8: 203-206.
- Torres MI, Almaraz AN, Velazco RP, Hernández VV, Orea LG, Cifuentes DA. y Oliver SC. 2008. Taxonomic significance of ISTR to discriminate species in Agavaceae. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 3: 661-665.
- Torres MI. 2009. Caracterización molecular del complejo *Agave durangensis* por medio de marcadores ISTR. (Tesis doctoral, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional (IPN)).
- Torres MI, Almaraz AN. y Escoto DM. 2012. Review article: ISTR, a retrotransposons-based marker to assess plant genome variability with special emphasis in the genera *Zea* and *Agave*. *American Journal of Plant Sciences*, 3:1820-1826.
- Van-Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DP. y Shipley P. 2004. MICRO- CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4: 535–538.
- Vázquez-García JA, Cházaro-Bazáñez MJ, Hernández-Vera G, Vargas-Rodríguez, YL y Zamora-Tabares MP. 2007. Taxonomía del género *Agave* en el occidente de México: una panorámica preliminar. Pp. 38–82. En: JA Vázquez-García, MP Cházaro-Bazáñez, G Hernández-Vera, E. Flores-Berrios y YL. Vargas-Rodríguez (eds.). *Agaves del Occidente*

de México, Serie Fronteras de Biodiversidad 3, Guadalajara: Universidad de Guadalajara-CUCBA-CUSH-CIATEJCRT-LSU-CONAFOR.

Vranckx GU, Jacquemyn H, Muys B. y Honnay O. 2012. Meta- analysis of susceptibility of woody plants to loss of genetic diversity through habitat fragmentation. *Conservation biology*, 26: 228-237.

Whitlock R, Hipperson H, Thompson BA, Butlin RK y Burke T. 2016. Consequences of in-situ strategies for the conservation of plant genetic diversity. *Biological conservation*, 203: 134-142.

CAPÍTULO V:

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES

INTRODUCCIÓN

Este trabajo se circunscribe en la importancia del agave, en particular la especie *A. applanata*, como un estudio de caso, donde el aprovechamiento constituye una amenaza en el corto, mediano y largo plazo. Los efectos adversos de la extracción del chinicuil quedan plenamente demostrados, sin embargo, esta actividad constituye una fuente irremplazable de recursos para un amplio gremio de productores en el estado de Hidalgo, por lo que generar acciones punitivas contra el comercio de esta larva perjudicaría el desarrollo económico de este sector, por tanto, este trabajo propone soluciones documentadas biológicamente, que permiten un uso sostenible de *Agave applanata*.

Amenazas generales sobre los agaves

Desde el primer capítulo, queda demostrada la importancia biocultural de estas plantas; las cuales han persistido a pesar del manejo sostenido. En otras palabras, los magueyes persisten a pesar del uso, la domesticación, la depredación, el cambio en el uso del suelo y cualquier cantidad de modificaciones al ambiente en sus poblaciones. Por ello, es importante puntualizar que el aprovechamiento no es la única amenaza significativa que pone en riesgo su supervivencia.

En particular, la sobreexplotación de magueyes silvestres, impulsada por la creciente demanda de mezcal, ha llevado a la disminución de sus poblaciones y a la erosión genética de las especies. Estudios recientes han documentado la reducción de la diversidad genética en poblaciones de *Agave potatorum*, especie endémica, debido a la explotación intensiva (González-Rodríguez et al., 2015). En el presente trabajo, se observa un patrón similar.

Además, la expansión de monocultivos de agave para la producción industrial resulta en la degradación del suelo y la pérdida de biodiversidad. La homogeneización de las comunidades por los cultivos incrementa la susceptibilidad a plagas y enfermedades, lo que a la larga puede

comprometer la sostenibilidad de las plantaciones (Colunga-GarcíaMarín y Zizumbo-Villarreal, 2007). Esto es particularmente importante en la producción de tequila y mezcal; por lo que como propuesta de manejo para *A. applanata*, requiere garantizar una amplia representatividad genética en los cultivos y preservar ejemplares para reproducción sexual.

Otros problemas generales que enfrenta el género son, la disminución de polinizadores naturales, como murciélagos y abejas, debido a la destrucción de sus hábitats y al uso de pesticidas, lo que afecta la reproducción sexual de los magueyes. La falta de polinización cruzada disminuye la variabilidad genética y la capacidad de adaptación de estas plantas a cambios ambientales (Arizaga et al., 2000).

Adicionalmente, en cuanto a problemáticas ambientales, se tiene el cambio climático que altera los patrones de precipitación y temperatura, lo que afecta el crecimiento y la distribución de las especies de agave. Modelos predictivos sugieren que el hábitat adecuado para diversos magueyes podría reducirse significativamente en las próximas décadas, incrementando el riesgo de extinción (Sánchez et al., 2010).

Estas problemáticas son comunes a toda la biodiversidad, por lo que conocerla nos permite identificar amenazas puntuales para cada especie. Por ello, en el Capítulo 2 se demuestra; mediante una revisión crítica de literatura científica, que el número de especies de magueyes presentes en Hidalgo es superior al que se tenía registrado. Esto es importante, ya que para cualquier país y/o entidad, conocer el número de especies presentes en su territorio da paso a proponer mejoras en los planes de uso y conservación, así como un mayor entendimiento de la biodiversidad presente. Estos registros deben ser tomados con cautela debido a los sesgos taxonómicos y temporales a los que los datos podrían estar sujetos debido a su naturaleza.

Finalmente, la abundancia aparente de poblaciones de *A. applanata* en Hidalgo, su uso intensivo para la producción de chinicuil, la existencia de poblaciones con amplia distribución, algunas sin extracción o manejo; el desconocimiento sobre la diversidad genética de la especie, la falta de información sobre su persistencia poblacional y su consideración de amenaza por la IUCN, fueron los criterios tomados para priorizar el esfuerzo de muestreo en este trabajo y delimitar el objeto de estudio a una sola especie. No descartamos que la información generada pueda servir para futuros proyectos con otras especies que tengan amenazas similares en el Estado.

Amenazas puntuales sobre *Agave applanata*

El Capítulo 3 aborda cómo la perturbación y otras presiones antrópicas pueden actuar o no sobre las poblaciones de *Agave applanata*. Esto quiere decir que, a pesar de haber encontrado niveles de perturbación altos en las poblaciones, estas responden de maneras diferentes dependiendo el tipo de perturbación experimentada.

Con respecto a la colecta de chinicuiles en este maguey, resultó que esta actividad sólo afecta a los individuos juveniles y que la reproducción asexual es el componente más importante para el mantenimiento de las poblaciones.

En el Capítulo 4 se resaltan algunos puntos importantes, uno de ellos es que la planta presenta baja diversidad genética comparada con sus congéneres analizados con los mismos microsatélites. Esto confirma que el componente vegetativo resulta ser de mayor importancia para la especie, independientemente de la perturbación y la extracción de chinicuiles. Además, la estructura genética parece ser elevada pero no por algún patrón de flujo genético, sino por la movilidad de individuos durante el intercambio precolonial para producción de fibras, lo cual se confirma con los tres análisis de estructura.

Cabe mencionar que el crecimiento clonal podría retardar la pérdida de diversidad genética dentro de las poblaciones mediante varios mecanismos, principalmente por la mayor tasa de crecimiento identificada. Además, la diversificación de la selección en un ambiente heterogéneo debería permitir la coexistencia de genets con rangos ecológicos estrechos y las conexiones físicas entre ramets pueden mantener la diversidad genética al amortiguar las fuerzas selectivas locales específicas del parche. Los ramets independientes podrían distribuir el riesgo de mortalidad entre ellos. Esto se observó en los *loci* que están bajo algún tipo de selección, ya que algunas poblaciones comparten alelos con frecuencias altas y algunos otros son exclusivos y fijados en las poblaciones.

Si bien *Agave applanata* es una especie con reproducción sexual y asexual, su distribución espacial es agregada, pero con entremezcla de genets, más no por eso se aumenta la heterocigosis, pues a este maguey le funciona la estrategia de tener una alta riqueza alélica, pero en condición homóciga (clones), la cual se confirma con la cantidad de alelos registrados en las poblaciones y algunos ya fijados o compartidos entre poblaciones. La información obtenida muestra que se puede utilizar de manera sustentable a este maguey, se esperaría un mayor entendimiento del efecto de la perturbación y la reproducción asexual dentro de las estrategias de manejo que se planteen a futuro.

Perspectivas sobre el aprovechamiento de *Agave applanata*

El presente trabajo nos permite delimitar futuros estudios para la especie. Para evaluar de manera precisa la interacción planta-animal, se debería estimar la tasa de crecimiento de la planta con y sin la colonización por chinicuil, así como la capacidad de la larva de persistir en otras especies, lo que facilitaría establecer el tipo de relación (simbiosis, depredación, comensalismo, entre otros) y su efecto sobre cada organismo. Es posible también establecer si la colonización genera

en la planta compuestos químicos defensivos, que pueden afectar la preferencia de otros herbívoros.

También se puede evaluar la frecuencia de infestación por chinicuiles; esto se lograría obteniendo los patrones de alimentación de las larvas de chinicuile en las hojas y raíces de *A. applanata*. Se podrían replicar algunos de los experimentos que se han llevado a cabo en otras especies de *Agave* para conocer más sobre esta interacción. Entre ellos destacan la infestación con diferentes cantidades de larvas para medir la capacidad de carga del maguey, el seguimiento del ciclo de vida en la planta y análisis moleculares de expresión de genes implicados en esta asociación. Por último, se propone analizar más a fondo la conexión entre los compuestos urticantes del maguey y la resistencia a estos por parte de los chinicuiles (Nolasco et al., 2002; Almanza-Valenzuela, 2007; Nolasco, 2009; Miranda-Perkins et al., 2013; Llanderal-Cázares et al 2017; Cárdenas-Aquino et al., 2018).

Otra perspectiva a estudiar, enfocada en la elaboración de un plan de manejo para la especie, es analizar los patrones de aprovechamiento con la ayuda del cálculo de una tasa de extracción de chinicuiles, así se podría conocer el número de agaves a utilizar sin afectar a la población. También se pueden hacer experimentos de nodricismo, para conocer la interacción entre la especie y otras plantas presentes en los sitios, con ello se lograría estimar la tasa de germinación de semillas y de establecimiento de plántulas (Briones-Santoyo et al., 2022).

Algunas acciones para el buen manejo de estas poblaciones, incluyen dar charlas de educación ambiental en las comunidades aledañas a los sitios de muestreo, realizar acciones participativas con los recolectores, un censo para conocer el número de personas dedicadas a esta actividad, así como sus motivaciones y necesidades que los llevan a realizar esta práctica. Además, con los datos demográficos generados, se puede resaltar la importancia de las plántulas,

ya que, sin ellas, no se tendrían individuos juveniles, que son los que utilizan para la recolecta. De igual forma, enfatizar en el reacomode del maguey con la intención de dar a entender que estos individuos al crecer nos dan flores y con ello semillas para que siga existiendo este maguey y, por lo tanto, los chinicuiles.

También se ha planteado un modelo de negocios para el uso de *A. applanata* bajo condiciones de invernadero, lo cual podría fomentar el cuidado de las poblaciones silvestres del maguey al evitar la extracción. Hasta ahora, la forma de conseguir las semillas para este propósito es mediante la obtención de frutos de individuos adultos directamente de las poblaciones. Con lo obtenido del promedio de semillas por individuo se puede estimar la cantidad de frutos que se pueden extraer sin afectar a la población; además, se han propuesto técnicas de cultivo *in vitro* para incrementar el número de ejemplares (BIOMATVI, 2023). Por último, promover las prácticas de manejo como el trasplante de individuos entre poblaciones, reubicación, propagación y micropropagación, bancos de germoplasma, reintroducción de un porcentaje de plantas criadas en viveros, conectividad entre poblaciones, así como la mantención de individuos reproductivos podría ser una buena forma de asegurar la permanencia de la especie bajo un manejo sustentable (Martin et al., 2011; Delgado-Lemus et al., 2014; Torres et al., 2015a, 2015b; Torres, 2016; Torres-García et al., 2020).

CONCLUSIONES

Con base en nuestros resultados, se concluye que la extracción de chinicuiles tiene implicaciones importantes para la estructura genética, la diversidad y la dinámica poblacional de la especie. La extracción dirigida afecta directamente a poblaciones como Pachuca y Zapotlán, reduciendo su tamaño y promoviendo la pérdida de alelos debido a la deriva genética. Estas poblaciones muestran una baja diversidad genética y un alto índice de endogamia, resultado del uso intensivo

del recurso. Por otro lado, perturbaciones generales no relacionadas con la extracción, como las observadas en Cadereyta y Tulancingo, parecen tener un impacto menos predecible, ya que algunas de estas poblaciones mantienen niveles de diversidad genética relativamente altos.

La estructura genética de las poblaciones muestra una diferenciación moderada ($F_{ST}=0.130$) y evidencia de cuellos de botella históricos en casi todas ellas. Esto sugiere una conectividad histórica entre las poblaciones mediada por actividades humanas como la dispersión de la especie para la producción de fibras. Sin embargo, el flujo genético actual es limitado, especialmente en poblaciones más pequeñas y aisladas.

El análisis genético también revela la existencia de loci bajo selección, posiblemente influenciados por presiones ambientales o por la extracción de chinicuiles. Esto indica que la colecta podría constituir una presión selectiva artificial, destacando la necesidad de estudiar las características fenotípicas asociadas.

En cuanto a la supervivencia y el crecimiento poblacional, la reproducción clonal parece ser clave para mantener a las poblaciones, aunque limita la heterocigosidad y aumenta la endogamia. Se recomienda priorizar estrategias de conservación enfocadas en maximizar la diversidad alélica y reducir la presión extractiva. A nivel general, los hallazgos subrayan la importancia de manejar de forma sostenible este recurso para preservar la viabilidad genética y ecológica de *Agave applanata* en su rango de distribución natural.

REFERENCIAS

- Almanza-Valenzuela EI. 2007. Establecimiento de larvas de *Comadia redtenbacheri* Hamm. en plantas de maguey en invernadero (Tesis de Maestría). Colegio de Postgraduados. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. Texcoco.
- Arizaga, S., Ezcurra, E., Peters, E. y Díaz, M. P. 2000. Pollination ecology of *Agave macroacantha* (Agavaceae) in a Mexican tropical desert. *American Journal of Botany*, 87(7): 1004-1010.
- BIOMATVI, Laboratorio. 2023. Las bondades del maguey. [Presentación oral]. Primer foro del día mundial del agua: “Humedales, los filtros naturales del agua”. Tlapanaloya, Estado de México. México.
- Briones-Santoyo JA, Tarango-Arámbula LA, Velázquez-Martínez A, Reyes-Hernández VJ. y Salazar-Borunda MA. 2022. Edible insect harvest in Pinos, Zacatecas, Mexico. *Agro Productividad*, 15: 37-49.
- Cárdenas-Aquino MD, Alarcón-Rodríguez NM, Rivas-Medrano M, González-Hernández H, Vargas-Hernández M, Sánchez-Arroyo H. y Llanderal-Cazares C. 2018. Molecular delineation of the agave red worm *Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae). *Zootaxa*, 4375: 358-370.
- Colunga-GarcíaMarín, P. y Zizumbo-Villarreal, D. 2007. Tequila and other Agave spirits from west-central Mexico: Current germplasm diversity, conservation and origin. *Biodiversity and Conservation*, 16(6): 1653-1667.

- Delgado-Lemus A. Casas A. y Téllez O. 2014. Distribution, abundance and traditional management of *Agave potatorum* in the Tehuacán Valley, Mexico: bases for sustainable use of non-timber forest products. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 10: 1-12.
- González-Rodríguez, A., Torres-Morán, M. I. y Oyama, K. 2015. Genetic erosion in *Agave potatorum* (Asparagaceae) under traditional management in Oaxaca, Mexico. *Journal of Arid Environments*, 113: 29-35.
- Llanderal-Cázares C, Castro-Torres R. y Miranda-Perkins K. 2017. Bionomics of *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt, 1847) (Lepidoptera: Cossidae). *SHILAP Revista de lepidopterología*, 45: 373-383.
- Martin MP, Peters CM, Palmer MI. y Illsley C. 2011. Effect of habitat and grazing on the regeneration of wild *Agave cupreata* in Guerrero, Mexico. *Forest Ecology and Management*, 262: 1443-1451.
- Miranda-Perkins K, Llanderal-Cázares C, De Los Santos-Posadas HM, Portillo-Martínez L. y Viguera-Guzmán AL. 2013. *Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae) pupal development in the laboratory. *Florida Entomologist*, 1424-1433.
- Nolasco MA, Jiménez-Luna JE. y Camacho AD. 2002. Inducción a la pupación y colonización del gusano rojo del maguey *Comadia redtenbacheri* H. (Lepidoptera: Cossidae). *Entomología Mexicana*, 1: 125-130.
- Nolasco MA. 2009. *Contribuciones al estudio del gusano rojo del maguey Comadia redtenbacheri Hamm (Lepidoptera: Cossidae)*. (Tesis de Licenciatura). FES Cuautitlán, UNAM.

- Sánchez, E., Ruiz-Corral, J. A. y López-Cruz, M. A. 2010. Potential distribution of *Agave* species as affected by climate change in Mexico. *The Professional Geographer*, 62(4): 517-531.
- Torres I, Blancas J, León A. y Casas A. 2015a. TEK, local perceptions of risk, and diversity of management practices of *Agave inaequidens* in Michoacán, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 11: 1-20.
- Torres I, Casas A, Delgado-Lemus A. y Rangel-Landa S. 2016. Aprovechamiento, demografía y establecimiento de *Agave potatorum* en el Valle de Tehuacán, México: Aportes ecológicos y etnobiológicos para su manejo sustentable. *Zonas Áridas*, 15: 92-109.
- Torres I, Casas A, Vega E, Martínez-Ramos M. y Delgado-Lemus A. 2015b. Population dynamics and sustainable management of mescal agaves in central Mexico: *Agave potatorum* in the Tehuacán-Cuicatlán Valley. *Economic Botany*, 69: 26-41.
- Torres-Garcia I, Leon-Jacinto A, Moreno-Calles AI. y Casas A. 2020. Integral projection models and sustainable forest management of *Agave inaequidens* in Western Mexico. *Frontiers in Plant Science*, 11: 539823.

ANEXOS

Anexo 1: Permiso de colecta

 **MEDIO AMBIENTE**
SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES

Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental
Dirección General de Vida Silvestre
Oficio N° SGPA/DGVS/ 02866 /22
Ciudad de México, a 07 de abril de 2022

DR. ARTURO SÁNCHEZ GONZÁLEZ
Instituto de Ciencias Básicas de Biología
Universidad Autónoma del Estado de México
Ciudad Universitaria km. 4.5
Carretera Pachuca- Tulancingo
Colonia Carboneras
Mineral de la Reforma, Hidalgo
C.P. 42184 - México
Tel: (771) 7172000, Ext. 6676
E-mail: artsag@hotmail.com
PRESENTE

En atención a la solicitud de licencia de colecta científica con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre, recibida en esta Dirección General el 07 de abril de 2022, a la cual se le asignó la bitácora 13/K4-0359/03/22 y considerando que ha dado cumplimiento a los requisitos establecidos para efectuar investigación y colecta científica de flora y fauna silvestres en territorio mexicano y con fundamento en el Artículo 32 Bis fracciones I, III, XXII, XXXIX de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; Artículo 19 fracción XXV y 32 fracción VI, XVIII, XXI, XXIV del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 26 de noviembre de 2012; 79, 80 fracción I, 82, 83 y 87 párrafo cuarto de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; Artículos 9º. Fracción XII, 97 y 98 de la Ley General de Vida Silvestre; 12, 123 Fracción IV y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre; la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 y su Modificación del Anexo Normativo III, protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo, la Dirección General de Vida Silvestre **autoriza** la licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre por proyecto sobre especies o poblaciones en riesgo o sobre hábitat crítico, para desarrollar las siguientes actividades inherentes al proyecto de investigación denominado **"Conservación de especies y ecosistemas"** con el objetivo de analizar la variación morfológica y anatómica de las especies con respecto a los factores ambientales en su área de distribución, para lo cual se requiere la recolección de hojas de las plantas y en ocasiones de algunas flores, para mediar las estructuras o partes de este órgano.

- Colecta de hasta diez (10) hojas por especie de las siguientes especies: ***Taxus Globosa*, *Abies spp.*, *Agave spp.*, *Cicadas*, *Echinocastus grusonii* y *Magnolia spp.* (hasta diez 10 flores)**, que se encuentren en riesgo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 y su Modificación del Anexo Normativo III.

Página 1 de 4

Av. Ejército Nacional No. 223, Col. Anáhuac I Sección, CP. 11320, Alcaldía Miguel Hidalgo, Ciudad de México
Tel: (55) 54900 900 www.gob.mx/semarnat

  **2022 Flores**
Ricardo
Año de
Magón
PRECURSOR DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA



MEDIO AMBIENTE

SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES

Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental
Dirección General de Vida Silvestre
Oficio N° SGPA/DCVS/ 02866 /22
Ciudad de México, a 07 de abril de 2022

3.- Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre, el responsable del proyecto deberá someter a la consideración de la Dirección General de Vida Silvestre, en un plazo no mayor de 30 (TREINTA) días de concluida la vigencia de la presente, un informe que describa detalladamente las actividades realizadas, los resultados obtenidos, la problemática del área trabajada, las potenciales alternativas de solución y en su oportunidad, la(s) publicación(es) y sobre tiros producto de la investigación.

4.- La totalidad del material colectado deberá destinarse exclusivamente a los fines específicos del proyecto, objeto de la presente autorización. Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre, el material botánico colectado será depositado en el Instituto de Ciencias Básicas de Biología de la UAEM, la titular de la autorización, asume la responsabilidad de remitir a esta Dirección General, copia de la(s) constancia(s) del(os) depósito(s) debidamente firmado(s), especificando la cantidad del material depositado.

5.- Con fundamento en el Artículo 123, Fracción IV del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre su solicitud se evaluó y dictaminó de acuerdo a la Modalidad B: Por proyecto sobre especies o poblaciones en riesgo o sobre hábitat crítico.

6.- Queda estrictamente **prohibido** efectuar cualquier aprovechamiento de las especies de flora y fauna silvestres, cualquiera que sea su estatus, excepto lo aquí autorizado, así como realizar actividades en áreas naturales protegidas de México, sean Estatales o Federales, sin previa autorización.

7.- Se recomienda que, durante sus actividades de campo, en el caso de observar ejemplares de especies listadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, se notifique de ello (la especie, ubicación geográfica y la fecha) a esta Dirección General, en el informe de actividades antes mencionado.

8.- De acuerdo al Artículo 87 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y al Capítulo IV, Artículo 97 de la Ley General de Vida Silvestre, esta autorización no ampara el aprovechamiento de los especímenes colectados para fines comerciales, ni de utilización en biotecnología.

La presente autorización es personal e intransferible y habrá de mostrarse a las Autoridades Federales, Estatales y Municipales cuantas veces lo soliciten. Así mismo y tomando en consideración lo establecido en el Artículo 87 de la Ley General de Vida Silvestre el titular de la presente deberá contar con el consentimiento previo, expreso e informado de los legítimos propietarios de la(s) tierra(s) donde pretende desarrollar el proyecto.

Página 3 de 4

Av. Ejército Nacional No. 223, Col. Anáhuac I Sección, C.P. 11320, Alcaldía Miguel Hidalgo, Ciudad de México
Tel: (55) 54900 900 www.gob.mx/semarnat



2022 Ricardo Flores Magón
Año de
PRECURSOR DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA



MEDIO AMBIENTE

SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES

Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental
Dirección General de Vida Silvestre
Oficio N° SGPA/DCVS/ 02866 /22
Ciudad de México, a 07 de abril de 2022

- Colecta de hasta diez (10) ejemplares por especie de **"Helechos y briofitas"** que se encuentren en riesgo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 y su Modificación del Anexo Normativo III.

Referente a la colecta de muestras de "plantas" que no se encuentran en riesgo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 y su Modificación del Anexo Normativo III, quedan fuera del ámbito de competencia de esta Dirección General de Vida Silvestre, la autoridad competente para otorgar dicha autorización es la Dirección General de Gestión Forestal y Suelos (Av. Progreso No. 3, Edif. 3, Planta Alta, Col. Del Carmen, Coyoacán, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04100, Ciudad de México).

Las actividades se llevarán a cabo en los siguientes estados: **Hidalgo, Guanajuato, Querétaro, Estado de México, San Luis Potosí, Nayarit, Nuevo León, Puebla, Tamaulipas, Veracruz, fuera de Áreas Naturales Protegidas.** La presente autorización tendrá una vigencia de **un (01) año** a partir de la emisión de la misma.

Las actividades se realizarán con el Aval de la Instituto de Ciencias Básicas de Biología de la UAEM, con la colaboración del C.C., Pablo Octavio Aguilar, Mario Adolfo García Montes, Elena Rosales Islas, Dulce María Galván Hernández, Cruz de Jesús Bartolo Hernández, Luis Lazcano Cruz, Adriana Gisela Hernández Álvarez y Liliana, quedando el titular y colaboradores sujetos a las siguientes condiciones:

1.- Cumplir con las disposiciones Administrativas, Fiscales y de Sanidad exigibles por las autoridades competentes en la materia, sean Federales, Estatales o Municipales, así como con las disposiciones establecidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y su Reglamento en Materia de Áreas Naturales Protegidas y demás disposiciones legales aplicables.

2.- Previo al inicio de las actividades de campo, deberá enviar obligatoriamente por escrito y utilizando cualquier medio su programa de trabajo a las Delegaciones Federales de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales en los **estados de Guanajuato 01 (477) 788 3713, Hidalgo 01 (771) 717 9416, Estado de México 01 (722) 276 7835, Nayarit 01 (311) 215 4902, Nuevo León 01 (81) 8369 8913, Puebla 01 (222) 229 9506, Querétaro 01 (442) 238 3410, San Luis Potosí 01 (444) 834 0635, Tamaulipas 01 (834) 318 5254, Veracruz 01 (228) 841 6521,** enviando copia del mismo a la Dirección General de Vida Silvestre. De igual manera, al término de dichas actividades lo notificará a esa Delegación Federal, enviando un reporte detallado por escrito.

Página 2 de 4

Av. Ejército Nacional No. 223, Col. Anáhuac I Sección, CP. 11320, Alcaldía Miguel Hidalgo, Ciudad de México
Tel: (55) 54900 900 www.gob.mx/semarnat



2022 Flores
Año de
Magón
PRECURSOR DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA



MEDIO AMBIENTE

SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES

Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental
Dirección General de Vida Silvestre
Oficio N° SGPA/DGVS/ 02866 /22
Ciudad de México, a 07 de abril de 2022

El incumplimiento de las condiciones aquí establecidas, dará origen a la instauración de un procedimiento administrativo ante la autoridad competente, para proceder a la cancelación de la autorización y a la aplicación de la legislación correspondiente, según sea el caso.

Finalmente se notifica que el informe presentado ha sido registrado e integrado a su expediente.

**ATENTAMENTE
EL DIRECTOR GENERAL**

BIOL. ROBERTO AVIÑA CARLÍN

C.c.e.p. Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental. - copias.sgpa@semarnat.gob.mx
Dirección General de Inspección y Vigilancia de Vida Silvestre, Recursos Marinos y Ecosistemas Costeros de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA).- vida.silvestre@profepa.gob.mx
José Ernesto Marín Mercado.- Encargado del Despacho de la Delegación Federal de la SEMARNAT en el Estado de México.- restauracion@em.semarnat.gob.mx
Federico Ortiz Flores.- Encargado de Despacho de Delegación de la PROFEPA en el Estado de México.- federico.ortiz@profepa.gob.mx
Master Eduardo Vázquez Ávila.- Encargado del Despacho de la Delegación Federal de la SEMARNAT en el estado de Guanajuato.- eduardo.vazquez@guanajuato.semarnat.gob.mx
Armando Ramírez García.- Encargado de Despacho de Delegación de la PROFEPA en el Estado de Guanajuato.- armando.ramirez@profepa.gob.mx
Olivia Rosa Padilla Hernández.- Encargada del Despacho de la Delegación Federal de la SEMARNAT en el estado de Hidalgo.- olivia.padilla@hidalgo.semarnat.gob.mx
Lucero Estrada López.- Encargada de Despacho de Delegación de la PROFEPA en el Estado de Hidalgo.- lucero.estrada@profepa.gob.mx
Miguel Ángel Zamudio Villagómez.- Encargado del Despacho de la Delegación Federal de la SEMARNAT en el estado de Nayarit.- miguel.zamudio@nayarit.semarnat.gob.mx
Adrián Sánchez Estrada.- Encargado de Despacho de Delegación de la PROFEPA en el Estado de Nayarit.- adrian.sanchez@profepa.gob.mx
Pablo Chávez Martínez.- Encargado del Despacho de la Delegación Federal de la SEMARNAT en el estado de Nuevo León.- pablo.chavez@nl.semarnat.gob.mx
José Aarón Mendoza Ramírez.- Encargado de Despacho de Delegación de la PROFEPA en el Estado de Nuevo León.- jose.mendoza@profepa.gob.mx
María Del Carmen Cervantes Pérez.- Encargada del Despacho de la Delegación Federal de la SEMARNAT en el estado de Puebla.- carmen.cervantes@puebla.semarnat.gob.mx
María Elizabeth Pérez Castillo.- Encargada de Despacho de Delegación de PROFEPA en el Estado de Puebla.- maria.perez@profepa.gob.mx
Lucitania Servín Vázquez.- Encargada del Despacho de la Delegación Federal de la SEMARNAT en el estado de Querétaro.- lucitania.servin@semarnat.gob.mx
María Antonieta Eguarte Fruns.- Encargada de Despacho de Delegación de la PROFEPA en el Estado de Querétaro.- maria.eguiarte@profepa.gob.mx
Guadalupe García Jiménez.- Encargada del Despacho de la Delegación Federal de la SEMARNAT en el estado de San Luis Potosí.- laura.herrera@slp.semarnat.gob.mx
Marcela Hernández Arista.- Encargada de Despacho de Delegación de la PROFEPA en el Estado de San Luis Potosí.- marcela.hernandez@profepa.gob.mx
Enrique Fanjon González.- Encargado del Despacho de la Delegación Federal de la SEMARNAT en el estado de Tamaulipas.- enrique.fanjon@tamaulipas.semarnat.gob.mx
Águiles Chávez Caudillo.- Encargado de Despacho de Delegación de la PROFEPA en el Estado de Tamaulipas.- aguiles.chavez@profepa.gob.mx
Jorge Andrés Santander Espinoza.- Encargado del Despacho de la Delegación Federal de la SEMARNAT en el estado de Veracruz.- jorge.santander@veracruz.semarnat.gob.mx
Juan Antonio Huerta Calio.- Encargado de Despacho de Delegación de la PROFEPA en el Estado de Veracruz.- juan.huerta@profepa.gob.mx
Nancy Michel Monzón De La Cruz.- Encargada de Despacho de Delegación de la PROFEPA en Zona Metropolitana y Valle de México.- nancy.monzon@profepa.gob.mx
Subdirección de Comercio Nacional, Internacional y Otros Aprovechamientos
Archivo 13/K4-0359/03/22, 13/O1-0360/03/22
Colecta: Arturo Sánchez González (Plantas-FANP) 07-04-22

Página 4 de 4

Av. Ejército Nacional No. 223, Col. Anáhuac I Sección, CP. 11320, Alcaldía Miguel Hidalgo, Ciudad de México
Tel: (55) 54900 900 www.gob.mx/semarnat



2022 Ricardo Flores Magón
Año de
PRECURSOS DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA

Anexo 2. Protocolo de extracción

Protocolo de extracción de DNA con CTAB de acuerdo con Doyle y Doyle (1987) modificado con STE para *Agave* sp.

1. Moler en un mortero el tejido previamente seco con nitrógeno líquido.
2. Agregar 250 μ l de buffer **CTAB** 2X, 750 μ l de **STE** y 1 μ l de β -mercaptoetanol, seguir moliendo. Recuperar el todo en un microtubo de 2 ml.
3. Centrifugar a 8, 000 **rpm** durante 8 minutos.
4. Eliminar el sobrenadante y resuspender con 600 μ l de buffer **CTAB** 2X.
5. Centrifugar a 10 000 **rpm** 8 minutos
6. Eliminar el sobrenadante y resuspender en 600 μ l de **CTAB** 2X. Agregar 10 μ l de **RNAsa** (10 **mg/ml**) e incubar a 37°C por 1 hora
7. Cambiar la incubación a 60°C con 10 μ l de proteinasa K (10 **mg/ml**) durante 1 hora
8. Poner en hielo 5-10 minutos. Agregar a cada tubo 600 μ l l de cloroformo-octanol 24:1, agitar hasta homogenizar, la mezcla debería aparentar un aspecto lechoso.
9. Centrifugar a 9 000 **rpm** durante 10 minutos. Opcional: si el sobrenadante no queda bien transparente, repetir la extracción con el cloroformo:octanol o cloroformo:alcohol isoamílico, en ambos casos se usa la misma proporción (24:1).
10. Trasladar el sobrenadante a un tubo nuevo 600 μ l del sobrenadante ya transparente. Precipitar el DNA con 2/3 del volumen final (400 μ l aprox.) de isopropanol frío. Dejar reposar toda la noche a -20°C.
11. Al otro día, centrifugar a 12 000 **rpm** durante 10 minutos.
12. Eliminar el sobrenadante sin perder la pastilla, limpiar el pellet con 1 ml de etanol 70% frío y centrifugar a 14 000 rpm durante 10 minutos.
13. Eliminar el sobrenadante, secar totalmente y rehidratar el pellet con 50 μ l de agua ultra pura o buffer **TE** (1x, **pH**: 8).
14. La concentración de material genético se realiza por espectrofotometría calculada a través de la absorbancia a 260 **nm** (A260) y la pureza se obtiene mediante la relación A260/A280 y A260/A230.
15. Para evaluar y visualizar la integridad del DNA resultante, se realiza un gel de agarosa al 1%, la electroforesis se llevó a cabo a 120V por espacio de 30 minutos.