



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
DESARROLLO RURAL**

**DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA
DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO
Y SURESTE DE MÉXICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
Y DESARROLLO RURAL**

P R E S E N T A:

M.C. ALVARO FLORES JIMENEZ

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Manuel de Jesús Sainz Aispuro

CODIRECTOR DE TESIS:

Dr. Porfirio Juárez López



Cuernavaca, Morelos

Mayo de 2023

**DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO
Y SURESTE DE MÉXICO**

Tesis realizada por ALVARO FLORES JIMENEZ bajo la dirección del Comité Revisor
indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el
grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
Y DESARROLLO RURAL**

Director: _____
Dr. Manuel de Jesús Sainz Aispuro

Codirector: _____
Dr. Porfirio Juárez López

Revisor: _____
Dr. Nelson Avonce Vergara

Revisor: _____
Dr. Delfino Reyes López

Revisor: _____
Dr. Víctor López Martínez

Revisor: _____
Dr. Edgar Martínez Fernández

Revisor: _____
Dra. Erika Román Montes de Oca

Revisor: _____
Dra. Carmela Hernández Domínguez

Cuernavaca, Morelos, Mayo de 2023

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a DIOS, porque me permitió realizar mis estudios de Doctorado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico para realizar estudios de Postgrado.

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos por las facilidades para realizar la investigación.

Al Dr. Porfirio Juárez López, por todo su gran apoyo en la investigación y por el excelente ser humano que es.

Al Dr. Manuel de Jesús Sainz Aispuro, por compartir sus conocimientos.

Al Dr. Nelson Avonce Vergara, por su apoyo para realizar la caracterización molecular.

A los miembros de mi comité revisor: Dra. Carmela Hernández Domínguez, Dra. Erika Román Montes de Oca, Dr. Víctor López Martínez y Dr. Edgar Martínez Fernández por su dedicación y tiempo en la elaboración de este proyecto.

Al Dr. Delfino Reyes López por estos 15 años de enseñanza académica y de investigación

Al Dr. Valentín Galván, por su apoyo para realizar la caracterización molecular.

Al Mtro. Vladimir Lezama y Vicente Pineda por todo su apoyo administrativo.

A mi amada esposa Lic. Esmirna Zafra Flores y a mis hijos Alvaro y Marisol, por estar siempre a mi lado y ser parte de este equipo.

A mi madre María Félix Flores Jiménez y a mis hermanos Jorge, Eradio y Mirey por su apoyo incondicional.

DEDICATORIAS

A Dios

A mi amada esposa Esmirna Zafra Flores

A mis queridos hijos Alvaro y Marisol

A mí querida Madre María Félix Flores Jiménez

A mis hermanos Jorge, Eradio y Mirey

Por ser el centro de mi vida

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE CUADROS.....	III
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
LITERATURA CITADA GENERAL.....	4
OBJETIVOS.....	8
OBJETIVO GENERAL.....	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
HIPÓTESIS.....	9
HIPÓTESIS GENERAL.....	9
HIPÓTESIS ESPECÍFICAS.....	9
CAPÍTULO II. CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE 41 ACCESIONES DE <i>Vanilla</i> spp. (<i>Orchidales Orchidaceae</i>) EN MÉXICO.....	10
Resumen.....	10
Abstract.....	11
Introducción.....	12
Materiales y métodos.....	14
Resultados y discusión.....	21
Conclusiones.....	27
Literatura citada.....	28

CAPÍTULO III. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE <i>Vanilla</i> spp.	
DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO.....	33
Resumen.....	33
Abstract.....	34
Introducción.....	35
Materiales y métodos.....	38
Resultados.....	44
Discusión.....	49
Conclusiones.....	52
Literatura citada.....	53
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES GENERALES.....	59

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO II. CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE 41

ACCESIONES DE *Vanilla* spp. (*Orchidales Orchidaceae*) EN MÉXICO

Cuadro 1. Caracteres evaluados, abreviación y escala numérica de 41 accesiones de <i>Vanilla</i> spp.....	15
Cuadro 2. Estandarización de la matriz básica de datos de 41 accesiones de <i>Vanilla</i> spp.....	18
Cuadro 3. Variables altamente correlacionadas (≤ 90 %) en especies y clones dentro de las especies de <i>Vanilla</i> spp.....	21
Cuadro 4. Valor propio, porcentaje de varianza y varianza acumulada para los componentes principales en el estudio de caracterización morfológica de vainilla.....	23

CAPÍTULO III. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Vanilla* spp.

DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO

Cuadro 1. Accesiones de <i>Vanilla</i> spp. <i>a priori</i> y su origen utilizadas para la caracterización molecular.....	38
Cuadro 2. 14 pares de iniciadores de loci microsatélites.	40
Cuadro 3. Frecuencias alélicas, contenido polimórfico (PIC) y los valores de heterocigocidad.....	44
Cuadro 4. Número óptimo de agrupamiento.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO II. CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE 41

ACCESIONES DE *Vanilla* spp. (*Orchidales Orchidaceae*) EN MÉXICO

Figura 1. Dendograma de agrupamiento jerárquico de 41 accesiones de vainilla.....	26
---	----

CAPÍTULO III. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO

Figura 1. Dendrograma de accesiones de <i>Vanilla</i> spp. obtenido a partir del mejor valor de índice cofenético (IC).....	46
Figura 2. Análisis de componentes principales de accesiones de <i>Vanilla</i> spp.....	47
Figura 3. Matriz de correlación de accesiones de <i>Vanilla</i> spp.....	48

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

Vanilla es un género perteneciente a la familia *Orchidaceae*; se originó en América tropical hace 70 millones de años aproximadamente, está compuesto por alrededor de 110 especies distribuidas en las zonas tropicales de México y el mundo. Dentro de este género, *Vanilla planifolia* y *Vanilla pompona* son las especies más importantes en el mundo, por ser productoras de vainillina natural (Flores *et al.*, 2017). La vainilla (*Vanilla* spp) es un recurso fitogenético importante para México, puesto que sus frutos son fuente natural de vainillina e internacionalmente son consideradas un producto de alto valor comercial del total de las plantaciones comerciales 95 % pertenece a *Vanilla planifolia*, cuyo centro de origen es México (Ramos e Iglesias, 2022; Soto, 2009; Bory *et al.*, 2008). En las últimas décadas se ha producido un enorme interés por la diversidad, evolución, manejo y recuperación del género *Vanilla* (Cameron, 2011; Havkin *et al.*, 2011).

En América se registran 52 especies del género *Vanilla*, de las cuales 15 se reportan en América Central y 10 en México lo cual evidencia la importancia de este último país como fuente de variación genética del género (Soto y Cribb, 2010; Soto y Dressler, 2010). Sin embargo, diversos trabajos indican que pueden existir más especies (Castillo y Engleman, 1993; Korthou y Verpoorte, 2007; Reyes *et al.*, 2014; Ramos *et al.*, 2016; Flores *et al.*, 2017).

La diversidad genética de la vainilla en México ha disminuido debido a que su hábitat natural se ha destruido de manera considerable (Gigant *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2011). La producción de vainilla se basa en la propagación vegetativa, la polinización manual y el uso excesivo de fungicidas y plaguicidas (Bory *et al.*, 2007 y Soto, 2006).

Estas condiciones han traído consigo gastos de inversión altos y una disminución alarmante en la variación genética de los cultivares como resultado de la casi nula emergencia de individuos provenientes de la recombinación sexual (Cameron, 2011; Bory *et al.*, 2008 y Soto, 2006), llevando a enlistar la especie en la categoría de alto grado de erosión genética (FAO, 1995).

En este sentido, a nivel internacional *V. planifolia* está considerada como una especie de alto grado de erosión genética (FAO, 1995; López *et al.*, 2008) y a nivel nacional se considera como una especie sujeta a protección (Semarnat 2010, Nom -059), y por diversos factores también ha disminuido considerablemente su superficie sembrada y rendimientos por unidad de superficie (Luis *et al.*, 2020).

El cultivo de vainilla presenta afectaciones por diversas enfermedades y factores abióticos, que merman significativamente su productividad (Hernández *et al.*, 2019). Como respuesta, se han desarrollado programas para el mejoramiento genético del cultivo en diversas zonas vainilleras del mundo, principalmente en la Isla Reunión, Madagascar e India (Sasikumar, 2010). Algunos esfuerzos han implicado la realización de trabajos de prospección, la colecta de germoplasma de *V. planifolia* y diversas especies silvestres del género, y caracterizaciones morfológica y molecular. Sin embargo, los resultados de los estudios moleculares han revelado baja variabilidad genética en el germoplasma cultivado de *V. planifolia* (Bory *et al.*, 2008; Verma *et al.*, 2009; Ramos *et al.*, 2017), lo cual está en concordancia con los bajos porcentajes de polinización cruzada referidos por Soto (1999), que, a su vez, implican la existencia de una baja heterocigocidad en este cultivo. Asimismo, esta baja variabilidad explicaría la alta susceptibilidad de la vainilla ha mostrado, a diferentes factores bióticos y abióticos,

así como los problemas de caída prematura de frutos, los cuales afectan directamente la productividad y la rentabilidad del cultivo (Bhai *et al.*, 2006).

En México, sólo *V. planifolia* se cultiva con fines comerciales, debido a que es la más demandada en la industria (Lubinsky *et al.*, 2008; Reyes *et al.*, 2008). En México existen plantaciones de *V. planifolia* en Veracruz, Puebla, Oaxaca y San Luis Potosí, y en el año 2019 se cosecharon 862.4 ha, con producción de 521.9 t, rendimiento de 0.61 t por ha, y valor de la producción de US \$ 2, 284, 611.5 (SIAP, 2023). Dadas las condiciones del cultivo de la vainilla es necesario realizar una caracterización morfológica y molecular que nos permita conocer más a fondo la base genética de este género (Soto, 2009).

La caracterización morfológica es una herramienta que puede discriminar materiales biológicos con características fenotípicas diferentes y el análisis multivariado es usado frecuentemente para evaluar la variabilidad morfométrica de diferentes especies, identificar grupos de accesiones que poseen caracteres deseables en programas de mejoramiento genético, creación de colecciones núcleo y para detectar patrones de variación en colecciones de germoplasma (Dos Santos *et al.*, 2008). En este sentido, el objetivo general del presente trabajo fue caracterizar de manera morfológica la hoja, tallo y flor, de 41 accesiones y la caracterización molecular de 18 accesiones de *vanilla* spp., mediante 14 microsatélites previamente reportados para vainilla.

LITERATURA CITADA GENERAL

Bory S, Grisoni M, Duval MF, Besse P. 2008. Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55, 551–571.

<https://doi.org/10.1007/s10722-00792603>

Bory S., Grisoni, MF. Duval M.F. y Besse P. 2007. Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55:551-571.

Bhai, R., Iahwara, R., & Anandaraj, M. 2006. Yellowing and premature bean dropping in vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews). *Journal of Plantation Crops*, 34(2), 115-117.

Castillo MR, Engleman EM. 1993. Caracterización de dos tipos de *Vanilla planifolia*. *Acta Botánica Mexicana* 25: 49-59. <https://doi.org/10.21829/abm25.1993.682>

Dos Santos TMM, Gananca F, Slaski JJ, Pinheiro, MA. 2008. Morphological characterization of wheat genetic resources from the Island of Madeira, Portugal. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56(3), 363–375. <https://doi.org/10.1007/s10722-008-9371-5>.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1995. Documentos técnicos de referencia 6-11, volumen 2, capítulo 9, La función de la investigación en la seguridad alimentaria y el desarrollo agrícola a nivel mundial. Cumbre Mundial sobre la Alimentación, 13 – 17 de noviembre de 1996. Roma, Italia. P. 24-32.

Flores JA, Reyes LD, Jiménez GD, Romero AO, Rivera TJA, Huerta LM. Pérez SA. 2017. Diversidad de *Vanilla* spp. (Orchidaceae) y sus perfiles bioclimáticos en México. *Revista de Biología tropical* 65 (3). <https://doi.org/10.15517/rbt.v65i3.29438>

Gigant R, Bory S, Grisoni M, Besse P. 2011. Biodiversity and Evolution in the Vanilla Genus. In O. Grillo y G. Venora (Eds.), *The Dynamical Processes of Biodiversity - Case Studies of Evolution and Spatial Distribution*. France: InTech. P. 1-26.

Havkin, F, D. y F. C. Belanger. 2011. *Handbook of Vanilla Science and Technology*, Willey-Blackwell.

Hernández J, Sánchez MS, Curti DE, Larios RM. 2011. La producción de vainilla en México. INIFAP. Centro de Investigación Regional Golfo Centro, Libro Técnico Número 25. P. 15-22.

Hernández, J., Curtí S., & Ríos, A. 2019. Retención de frutos en *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews como reguladores de crecimiento. *Agronomía Mesoamericana*, 30(3). <http://doi.org/10.15517/am.v30i3.33988>

Korthou H, Verpoorte R. 2007. *Vanilla*. In R. Günter-Berger (Ed.), *Flavours and Fragrances Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (I, pp. 203–213). Hannover, DE: Springer.

López SA, Odoux E, Gunata Z, Brat P, Ribeyre F, Rodriguez JG, Robles OV, García AA, Günata Z. 2008. GC–MS and GC–olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson) beans. *Food Chemistry*, 99, 728-735. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.050>

Luis-Rojas S, Ramírez-Valverde B, Díaz-Bautista M, Pizano-Calderón J, Rodríguez-López C. 2020. La producción de vainilla (*Vanilla planifolia*) en México: análisis y pronóstico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 11, 1 (feb. 2020), 175–187. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i1.2065>.

Reyes LD, Flores JA, Huerta LM, Kelso HA, Avendaño CH, Ortiz R, López JF. 2014. Variación morfométrica de fruto y semilla en cuatro especies del género *Vanilla*. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 1, 205-218. <https://doi.org/10.19136/era.a1n3.649>

Ramos, C, A. L., y L. G. Iglesias, A. «Avances Y Tendencias En Mejoramiento genético De Vainilla». *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, vol. 23, n. ° 2, junio de 2022, doi:10.21930/rcta.vol23_num2_art:2339.

Ramos, C, A. L., Iglesias, A, L. G., Martínez, C, J., Ortíz, G, M., Andueza, N, R. H., Octavio, A, P., & Luna, R, M. 2017. Evaluation of molecular variability in germplasm of Vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson in Andrews) in southeast Mexico: Implications for genetic improvement and conservation. *Plant Genetic Resource*, 15(4), 310-320. <https://doi.org/10.1017/S1479262115000660>

Ramos CA, Iglesias AL, Martínez CJ, Ortiz GM, Andueza NR, Octavio AP, Luna RM. 2016. Evaluation of molecular variability in germplasm of vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson in Andrews) in Southeast Mexico: Implications for genetic improvement and conservation. *Plant Genetic Resources*, 15(4), 310-320. <https://doi.org/10.1017/S1479262115000660>

Reyes, L, D., Rodríguez, B., K, H. A., Huerta, M., y Ibáñez, A. (2008). Beneficiado Tradicional de vainilla. Puebla, México: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Sasikumar. B. 2010. Vanilla Breeding- a review. *Agricultural Research Communication Center*, 31(2), 139-144.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Disponible en <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> Fecha de consulta: 05 de abril de 2023.

Soto A, A. M. (1999). Filogeografía y recursos genéticos de las vainillas de México
[Proyecto N.º J101].

<http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfJ101.pdf>

Soto M, Cribb P. 2010. A new infrageneric classification and synopsis of the genus
Vanilla Plum. ex Mill. (Orchidaceae: Vanillinae). *Lankesteriana*, 9(3), 355–398.

<https://doi.org/10.15517/lank.v0i0.12071>

Soto M, Dressler R. 2010. A revision of the Mexican and Central American species of
Vanilla Plumier ex Miller with a characterization of their its region of the nuclear
ribosomal DNA. *Lankesteriana*, 9(3), 285–354.

<https://doi.org/10.15517/lank.v0i0.12065>

Soto, M. A. (2009). Recopilación y análisis de la información existente sobre las
especies mexicanas del género *Vanilla*. Reporte. México, D. F.: Herbario de la
Asociación Mexicana de Orquideología, A. C., Instituto Chinoín, A. C.

Soto-Arenas MA. 2006. La Vainilla retos y perspectivas de su cultivo. *Biodiversitas*
(66): 1-9.

Verma, P. C., Chakrabarty, D., Jena, S. N., Mishra, D. K., Singh, P. K., Sawant, S. V.,
& Tuli, R. 2009. The extent of genetic diversity among *Vanilla* species: Comparative
results for RAPD and ISSR. *Industrial Crops and Products*, 29(2-3), 581-589.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.11.006>

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la diversidad genética de *Vanilla* spp. mediante el uso de técnicas de caracterización morfométrica y molecular.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar de manera morfológica 41 accesiones del banco de germoplasma de vainilla de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Evaluar la diversidad genética de 18 accesiones de *Vanilla* spp. mediante 14 loci microsatélites, previamente reportados para vainilla.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS GENERAL

- Mediante la caracterización morfométrica y molecular de accesiones en *Vanilla* spp, se conocerá la diversidad genética de vainilla en el centro y sureste de México.

HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

- Mediante la caracterización morfológica de 41 accesiones de vainilla de diferente origen se conocerá las especies y diversidad clonal que se desarrollan en el centro y sureste de México
- La caracterización molecular de 18 accesiones de *Vanilla* spp, permitirá complementar la información obtenida en la caracterización morfológica

CAPÍTULO II

CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE 41 ACCESIONES DE *Vanilla* spp. (Orchidales Orchidaceae) EN MÉXICO

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la diversidad genética de 41 accesiones de vainillas mexicanas mediante caracterización morfométrica de tallos, hojas y flores. Se tomaron muestras de tres hojas, tres tallos y tres flores por accesión, las cuales fueron escaneadas en un escáner digital CANON MX310 y medidas con el analizador de imágenes UTHSCSA ImageTool™ (IT) versión 3.0. Los caracteres morfométricos altamente correlacionados ($\leq 90\%$) correspondieron a caracteres de la flor los cuales fueron APE, LPE, ANPE, ASE, LSE, AL, LL y LG. La varianza acumulada de los seis primeros componentes principales incluye el 73.8% de la variación total del conjunto de datos analizados. El análisis de conglomerados jerárquicos, permitió la formación de 15 grupos donde se separaron cinco especies del género *Vanilla*, seis clones dentro de la especie *planifolia* y la posibilidad de que tres accesiones, sean consideradas como nuevas especies para México.

Palabras clave: Análisis multivariado, diversidad, orquídeas.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the genetic diversity of 41 accessions of Mexican vanilla by means of morphometric characterization of stems, leaves, and flowers. Samples were taken from three leaves, three stems and three flowers per accession, which were scanned in a CANON MX310 digital scanner and measured with the UTHSCSA ImageTool™ (IT) version 3.0 image analyzer. The highly correlated morphometric characters ($\geq 90\%$) corresponded mostly to flower characters, which were APE, LPE, ANPE, ASE, LSE, AL, LL and LG. The cumulative variance of the first six principal components includes 73.8 % of the total variance of the analyzed data set. The analysis of hierarchical clusters allowed the formation of 15 groups where five species of the *Vanilla* genus were separated, six clones within the *planifolia* species and the possibility that three accessions are considered as new species for Mexico.

Keywords: Multivariate analysis, diversity, orchids.

INTRODUCCIÓN

La base de la agricultura y la seguridad alimentaria mundial son el agua, suelo y recursos genéticos, de estos los recursos fitogenéticos son los menos conocidos, valorados y amenazados por lo que dependen del cuidado de la humanidad. Son de gran importancia, ya que comprenden variedades tradicionales, cultivares modernos y plantas silvestres afines a las cultivadas de los cuales se obtienen diversos satisfactores para la humanidad (FAO, 2009). Sin embargo, su diversidad genética ha disminuido considerablemente por diversos factores tanto climáticos como de actividades antropocéntricas (Bautista *et al.*, 2020).

México, por su ubicación geográfica y diversidad biológica, ha contribuido de manera sobresaliente a la alimentación y desarrollo de la humanidad con especies como el maíz, frijol, calabaza, chile, papaya, algodón y vainilla, entre otros cultivos (SNICS, 2020). Considerando la importancia de los recursos fitogenéticos de México, se ha implementado una estrategia nacional para su rescate, conservación y uso potencial, considerando el segundo plan de acción mundial para los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura (FAO, 2018).

La vainilla es un cultivo que puede considerarse un recurso fitogenético importante para México, ya que de sus frutos se obtiene ingredientes que se utilizan para la alimentación y la medicina. Además, tiene raíces lingüísticas y culturales (Bory *et al.*, 2008; Flores *et al.*, 2017; Herrera, 2018).

La diversidad genética de la vainilla en México ha disminuido debido a que su hábitat natural se ha destruido de manera considerable (Gigant *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2011). En este sentido, a nivel internacional *V. planifolia* está considerada como una

especie de alto grado de erosión genética (FAO, 1995; López *et al.*, 2008) y a nivel nacional se considera como una especie sujeta a protección (Semarnat 2010, Nom - 059), y por diversos factores también ha disminuido considerablemente su superficie sembrada y rendimientos por unidad de superficie (Luis *et al.*, 2020).

En América se registran 52 especies del género *Vanilla*, de las cuales 15 se reportan en América Central y 10 en México lo cual evidencia la importancia de este último país como fuente de variación genética del género (Soto y Cribb, 2010; Soto y Dressler, 2010). Sin embargo, diversos trabajos indican que pueden existir más especies (Castillo y Engleman, 1993; Korthou y Verpoorte, 2007; Reyes *et al.*, 2014; Ramos *et al.*, 2016; Flores *et al.*, 2017).

La caracterización morfológica es una herramienta que puede discriminar materiales biológicos con características fenotípicas diferentes y el análisis multivariado es usado frecuentemente para evaluar la variabilidad morfométrica de diferentes especies, identificar grupos de accesiones que poseen caracteres deseables en programas de mejoramiento genético, creación de colecciones núcleo y para detectar patrones de variación en colecciones de germoplasma (Dos Santos *et al.*, 2008). En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar de manera morfológica la hoja, tallo y flor, de 41 accesiones del banco de germoplasma de vainilla de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y condiciones ambientales

La investigación se llevó a cabo en el banco de germoplasma de vainilla de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México, el cual está ubicado en el municipio de Tenampulco, localizado en la parte nororiental del estado de Puebla. Sus coordenadas geográficas son los paralelos 10° 08' 30" y 20° 14' 54" de Latitud Norte y los meridianos 97° 20' 00" y 97° 30' 00" de Longitud Oeste, y a 210 m.s.n.m., presenta un clima cálido-húmedo con abundantes lluvias en verano (INEGI, 2019). Las accesiones de vainilla del banco de germoplasma se encuentran bajo el mismo manejo agronómico y protegidas por una malla con 70 % de sombra, usando tutores vivos de *Erythrina coralloides* y *Gliricidia sepium* que sirven de sostén y brindan sombra de lo cual se infiere que las expresiones fenotípicas de las plantas se deben a su genotipo descartando las diferencias que se puedan expresar debido al ambiente.

Material vegetal

Se evaluaron 41 accesiones de *Vanilla* spp. con siete años de edad, del banco de germoplasma de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, provenientes de los estados de Chiapas, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo y Veracruz, México. Se consideró tallos, hojas y flores.

Caracterización morfométrica

En las 41 accesiones de *Vanilla* spp., se seleccionaron de la parte media de la planta tres hojas, tres tallos y tres flores totalmente desarrolladas, con tres repeticiones. Se cortaron las hojas y flores, y se escanearon cada una de sus partes con un escáner

digital CANON MX310 con la finalidad de obtener imágenes en formato JPEG, las cuales se introdujeron al procesador y analizador de imágenes UTHSCSA ImageTool™ (IT) versión 3.0 (<http://compdent.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>). Con relación a los tallos se midieron las variables de manera directa. Se registraron 14 variables para hoja, 5 para tallo y 32 para flor (Cuadro 1).

Cuadro 1. Caracteres evaluados, abreviación y escala numérica de 41 accesiones de *Vanilla* spp.

Carácter	Abreviación	Escala de medición
-----Hoja-----		
Longitud de hoja	L	cm
Ancho de hoja	A	cm
Área foliar	AF	m ²
Angulo inferior	AI	Grados (°)
Angulo superior	AS	Grados (°)
Longitud del peciolo	LP	cm
Color de hoja	C	
Grosor de hoja	G	cm
Longitud de hoja/Ancho de hoja	L/A	cm
Longitud de hoja/ Área foliar	L/AF	cm
Angulo superior/Angulo inferior	AS/AI	Grados (°)
Longitud de hoja/Grosor de hoja	L/G	cm
Ancho de hoja/Grosor de hoja	A/G	cm

Longitud de hoja/Longitud del peciolo	L/LP	cm
-----Tallo-----		
Grosor de tallo	GT	cm
Color de tallo	CT	
Distancia de entrenudos	DN	cm
Rugosidad	R	
Grosor de tallos/distancia de entrenudos	GT/DN	cm
-----Flor-----		
Área de pétalos	APE	cm ²
Perímetro de pétalos	PPE	cm
Largo de pétalos	LPE	cm
Ancho de pétalos	ANPE	cm
Ancho inferior de pétalos	ANIPE	cm
Área de sépalos	ASE	cm ²
Perímetro de sépalos	PSE	cm
Largo de sépalos	LSE	cm
Ancho de sépalos	ANSE	cm
Ancho inferior de sépalos	ANISE	cm
Área del labelo	AL	cm ²
Perímetro del labelo	PL	cm
Largo del labelo	LL	cm
Ancho del labelo	ANL	cm
Área de las vellosidades	AREV	cm ²
Área del callo	AREC	cm ²
Área del ginostema	AG	cm ²
Perímetro del ginostema	PG	cm
Largo del ginostema	LG	cm
Ancho del ginostema	ANG	cm
Área del polinario	APO	cm ²

Perímetro del polinario	PPO	cm
Largo del polinario	LPO	cm
Ancho del polinario	ANPO	cm
Área del róstelo	AR	cm ²
Perímetro del róstelo	PR	cm
Largo del róstelo	LR	cm
Ancho del róstelo	ANR	cm
Área del ovario	AO	cm ²
Perímetro del ovario	PO	cm
Largo del ovario	LO	cm
Ancho del ovario	ANOV	cm

Análisis estadístico

Los datos morfométricos se analizaron mediante pruebas descriptivas iniciando con la estandarización de la matriz básica de datos (Media, desviación estándar, valores mínimos y máximos) (Cuadro 2). Con el objetivo de estimar la variación total de cada carácter se calculó el coeficiente de variación como la desviación estándar x promedio x 100. Con base en los promedios de las evaluaciones anteriores se construyó la matriz básica de datos (MBD), con la cual se obtuvo un análisis de correlación de Pearson entre caracteres.

Cuadro 2. Estandarización de la matriz básica de datos de 41 accesiones de *Vanilla* spp.

Variable	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
L	17.05	3.95	9.50	25.86
A	4.69	1.16	2.30	7.40
AF	62.77	26.29	18.03	112.32
AI	38.79	9.46	19.29	56.97
AS	26.10	6.44	14.60	40.89
LP	1.01	0.22	0.46	1.56
C	3.80	2.65	1.00	9.00
G	0.17	0.04	0.04	0.26
L/A	3.71	0.69	2.51	5.47
L/AF	0.30	0.09	0.18	0.57
AS/AI	0.68	0.09	0.53	0.97
L/G	101.60	43.30	62.37	354.16
A/G	28.99	17.70	12.20	132.50
L/LP	17.14	3.64	11.50	26.56
GT	0.85	0.24	0.43	1.30
CT	3.36	2.69	1.00	10.00
DN	11.80	2.82	4.26	16.33
R	1.29	0.64	1.00	3.00
GT/DN	0.07	0.01	0.04	0.12
APE	4.7688	2.54	1.75	15.28
PPE	19.49	2.94	13.08	28.08
LPE	6.67	1.34	3.97	11.71
ANPE	1.08	0.20	0.77	1.89
ANIPE	0.62	0.11	0.47	0.99
ASE	6.45	2.71	3.88	17.79
PSE	16.74	3.69	11.82	27.43
LSE	6.72	1.40	4.14	12.44
ANSE	1.40	0.21	0.93	2.12
ANISE	0.61	0.11	0.37	1.00

AL	9.31	4.28	6.38	29.50
PL	27.34	15.21	16.39	81.95
LL	6.11	1.85	4.14	11.78
ANL	3.18	0.68	2.49	5.61
AREV	2.76	0.47	1.79	4.22
AREC	0.45	0.19	0.00	1.12
AG	1.85	0.43	0.99	2.87
PG	15.31	16.10	6.52	111.00
LG	4.70	1.25	2.36	8.15
ANG	0.68	0.09	0.53	0.98
APO	0.19	0.28	0.09	1.95
PPO	1.83	0.37	1.45	2.85
LPO	0.57	0.14	0.44	0.97
ANPO	0.35	0.05	0.30	0.54
AR	0.16	0.21	0.06	0.90
PR	1.36	0.22	1.12	2.07
LR	0.41	0.05	0.36	0.57
ANR	0.36	0.05	0.24	0.52
AO	2.19	1.54	1.04	7.80
PO	15.84	2.09	12.45	22.00
LO	5.54	0.93	4.13	8.73
ANOV	0.64	0.18	0.33	1.22

Posteriormente, se realizó el análisis de componentes principales de la siguiente manera: (1) estandarización de los datos para reducir los efectos de las diferentes escalas de medición, restando a cada valor el promedio de cada carácter y dividiendo el resultado por la desviación estándar del mismo, (2) cálculo de la matriz de distancia entre accesiones basada en el coeficiente de distancia taxonómica promedio, la cual se utilizó tanto para el análisis de componentes principales como para el análisis de agrupamientos, (3) proyección bidimensional de las accesiones obtenida mediante el

cálculo de los valores propios y vectores propios de la matriz de distancia y, (4) agrupación de las accesiones mediante el algoritmo de agrupamiento jerárquico UPGMA (Unweighed pair-group method using arithmetic averages or unweighted arithmetic averages), con el cual se generó un dendograma que agrupó las accesiones en grupos discretos y se determinaron las distancias morfométricas entre grupos. Los análisis de componentes principales y de agrupamiento se llevaron a cabo con el programa NTSYSpc Ver. 2.21c. (Rohlf, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de correlación

Para el análisis de correlación se utilizaron 51 variables. Los resultados indican que estuvieron altamente correlacionados ($\leq 90\%$) los caracteres APE, LPE, ANPE, ASE, LSE, AL, LL y LG, (Cuadro 3) que corresponden a caracteres de flor, los cuales podrían considerarse para la descripción y caracterización de especies y clones dentro de las especies.

Cuadro 3. Variables altamente correlacionadas ($\leq 90\%$) en especies y clones dentro de las especies de *Vanilla* spp.

	APE	LPE	ASE	PPO
LPE	0.965			
ANPE	0.93			
ASE	0.965	0.933		
LSE	0.97	0.991	0.939	
AL	0.9		0.935	
LL	0.913			
LG	0.943	0.964	0.903	
LPO				0.979

En trabajos similares de caracterización morfológica en vainilla, Reyes *et al.* (2014) reportan en fruto y semilla de cuatro especies del género *Vanilla*, los caracteres de longitud/ancho de fruto (L/A), peso/ancho de fruto (PC/A), eje radial de semilla (ER),

peso de capsula (PC), área de semilla (AS), índice de compactación de semilla (IC), área/perímetro de semilla (AS/PS), longitud del hilo de la semilla (LF), y diámetro feret de semilla (DF) altamente correlacionados ($\leq 90\%$). Asimismo, Flores *et al.* (2016), en la caracterización de hoja y tallo en 186 accesiones del género *Vanilla* reportan los caracteres P, A, DF, L, AF, altamente correlacionados ($\leq 90\%$). Por otro lado, Hernández *et al.* (2016), encontraron variaciones florales infraespecíficas en *Vanilla pompona*. Andriamihaja *et al.* (2020), en un estudio de diferenciación de vainillas sin hojas de Madagascar, identificaron siete grupos genéticos por rasgos florales específicos.

Los resultados encontrados en el estudio complementan los conocimientos de caracterización morfométrica del género *Vanilla* en México, debido a que en trabajos anteriores no se había considerado la flor en diferentes especies de vainilla.

Análisis de componentes principales

Los valores de componentes principales (Cuadro 4), indican que el primer componente principal aportó el 38.1 % de la varianza total, seguido por los componentes principales 2, 3, 4, 5 y 6 con el 12.9, 8.0, 5.5, 5.2 y 4.1% respectivamente, lo que resulta que la varianza acumulada de los 6 primeros componentes principales incluye el 73.8 % de la variación total del conjunto de datos analizados y los caracteres tomados en consideración.

Cuadro 4. Valor propio, porcentaje de varianza y varianza acumulada para los componentes principales en el estudio de caracterización morfológica de vainilla.

Componente principal	Valor propio (Eigen valores)	Porcentaje de varianza (%)	Varianza acumulada (%)
1	19.4	38.1	38.1
2	6.5	12.9	51.0
3	4.1	8.0	59
4	2.8	5.5	64.5
5	2.6	5.2	69.7
6	2.0	4.1	73.8

En trabajos de caracterización de fruto y semilla en cuatro especies del género *Vanilla*, Reyes *et al.* (2014) reportan que sus componentes principales abarcaron el 87.99 %, así mismo los componentes principales para la caracterización de hoja y tallo en 186 accesiones del género *Vanilla* realizado por Flores *et al.* (2016) se reporta que sus componentes abarcan el 91.82 %, resultados similares a los encontrados en la presente investigación.

De acuerdo con los valores propios de los seis primeros componentes las variables que mayor aporte tuvieron en el primer componente principal fueron ancho del polinario (ANPO), perímetro de los pétalos (PPE), largo del róstelo (LR), largo de los pétalos (LPE). En el segundo componente principal fue ancho del ovario (ANOV). Para el tercer cuadrante fue el área de pétalos (APE). Para el cuarto componente principal fue el perímetro del róstelo (PR).

Reyes *et al.* (2014) en la caracterización de fruto y semilla en cuatro especies del género *Vanilla* reportan que las variables con mayor aporte son eje radial, longitud del

hilio, peso de cápsula, en el primer componente principal, índice de compactación en el segundo componente principal, grosor en el tercer componente principal y área de zona placentaria en el cuarto componente principal, mientras que en el análisis de tallos y hojas realizado por Flores *et al.* (2016) las variables que mayor aporte tuvieron en el primer componente principal fueron área foliar, perímetro, longitud, ancho, las relaciones longitud entre área foliar y ancho entre área foliar. En el segundo componente principal fue longitud de entrenudos. Para el tercer cuadrante fue índice de compactación. Para el cuarto componente principal fue índice de compactación y diámetro de tallo.

Análisis de agrupamiento

El análisis de conglomerados jerárquicos permitió la formación de 15 grupos (Figura 1) donde se separaron las especies de *V. planifolia* (las accesiones 1, 2, 115, 27, 39, 36, y 41, formaron el grupo 15, la accesión 14 formó el grupo 14, las accesiones 20, 47, 45, 99, 28, 44, 100, 30, 37, 43, 49, 79, 98, 97, 84, formaron el grupo 13, las accesiones 32 y 75 formaron el grupo 12, la accesión 194 formó el grupo 11, las accesiones 41 y 124 formaron el grupo 10, la accesión 18 formó el grupo 9 y las accesiones 73 y 86 formaron el grupo 6). Las accesiones 51 y 53 que formaron el grupo 7, son un tipo de vainilla comúnmente llamada "espada", las accesiones 76 y 31 que corresponden a la especie *inodora* formaron de manera independiente los grupos 4 y 5, las accesiones 4 y 95 que corresponden a la especie *odorata* formaron el grupo 3, la accesión 139 y 105 formaron el grupo 2 y 1 que corresponden a la especie *insignis* y *odorata*, respectivamente.

En *V. planifolia* se separaron las accesiones 14, 32, 75, 41, 124, y 18 las cuales son clones dentro de la especie *V. planifolia*. Estos resultados indican que dentro de la especie *V. planifolia* considerada la de mayor importancia comercial, existe variación genética que podría ser utilizada para el mejoramiento genético de la especie. La discriminación de seis clones de la especie *planifolia* contribuye al conocimiento de la diversidad genética que se puede encontrar dentro de esta especie, ya que según Soto (2006) no se conoce con exactitud la variación clonal que puede haber dentro de las especies reportadas para México.

Por otro lado, la accesión 18, llamada comúnmente por productores de vainilla de Veracruz y Puebla como "oreja de burro", es considerada como un clon dentro de *V. planifolia*. Sin embargo, Castillo y Engleman (1993), en un estudio de caracterización morfológica compararon "oreja de burro" con la vainilla llamada "mansa" y consideraron la posibilidad de que "oreja de burro" podría ser una especie diferente a *V. planifolia*. En el presente estudio la accesión 18 formó un grupo independiente a las demás accesiones de *V. planifolia* por lo que dicha accesión podría ser considerada como una especie nueva. Sin embargo, aún se requiere un estudio a nivel molecular para fortalecer la hipótesis de considerar la accesión 18 como una especie diferente a *V. planifolia*, que por sus características morfológicas y agronómicas aportaría genes favorables para el mejoramiento genético.

Las accesiones 51 y 53 comúnmente llamada "espada" son accesiones que, por su forma de hoja, tamaño de flor y grosor de tallo, el análisis de conglomerados los separó de las demás accesiones. Sus características morfológicas de tallo, flor y hoja no corresponden a las especies *V. insignis* ni *V. odorata* que serían las más parecidas, por lo que faltaría un análisis a nivel molecular para situarlas dentro de una especie ya

conocida o considerarlas como una especie nueva. Soto (2003), menciona que en México existen 10 especies de vainilla, diversidad que representa el 6 % de la diversidad mundial del género *Vanilla* (Soto y Cribb 2010; Soto y Dressler 2010), Sin embargo, los estudios de Castillo y Engleman (1993), Reyes *et al.* (2014), Hernández *et al.* (2016), Ramos *et al.* (2016) y Flores *et al.* (2017) sugieren que la diversidad del género vainilla en México podría ser mayor, hipótesis que es fortalecida con los resultados encontrados en el presente estudio.

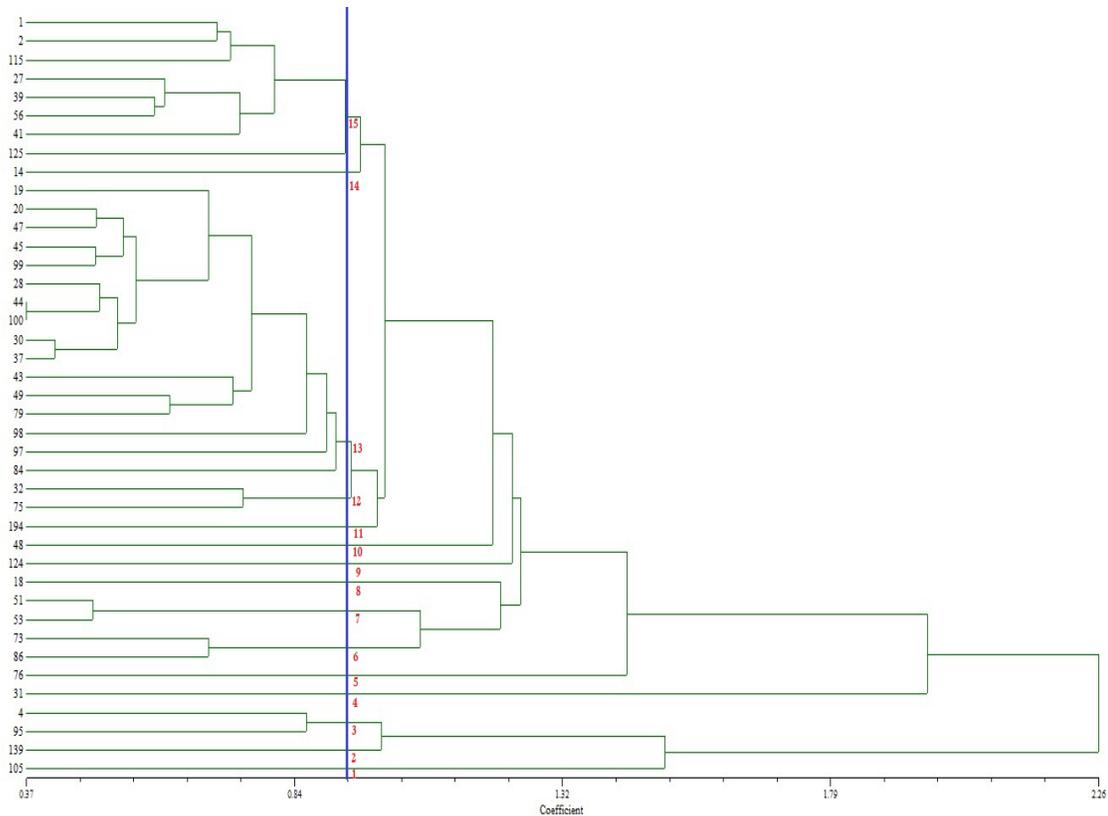


Figura 1. Dendrograma de agrupamiento jerárquico de 41 accesiones de vainilla.

CONCLUSIONES

El estudio de caracterización morfológica en 41 accesiones de vainilla permitió la formación de 15 grupos donde se separaron cinco especies del género *Vanilla*, seis clones dentro de *V. planifolia* y la posibilidad de que las accesiones 18, 51 y 53 llamadas comúnmente como oreja de burro y espada, respectivamente, sean consideradas como nuevas especies.

LITERATURA CITADA

Andriamihaja CF, Ramarosandratana AV, Grisoni M, Jeannoda V, Besse P. 2020. The Leafless Vanilla Species-Complex from the South-West Indian Ocean Region: A Taxonomic Puzzle and a Model for Orchid Evolution and Conservation Research. *Diversity*, 12(12), 443. <https://doi.org/10.3390/d12120443>

Bautista-Ramirez A., Aguillón-Gutiérrez DR, Magno-Benítez I, Hernández-Austria R. 2020. Principales amenazas para la biodiversidad y perspectivas para su manejo y conservación en el estado de Hidalgo: El caso de los anfibios y reptiles. En: Ramírez-Bautista, A., Sánchez-González, A., Sánchez-Rojas, G. y Cuevas-Cardona, C. (eds.). *Biodiversidad del estado de Hidalgo. Tomo II. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo/Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Pachuca de Soto, Hidalgo, México*, pp. 577-590.

Bory S, Grisoni M, Duval MF, Besse P. 2008. Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55, 551–571. <https://doi.org/10.1007/s10722-00792603>

Castillo MR, Engleman EM. 1993. Caracterización de dos tipos de *Vanilla planifolia*. *Acta Botánica Mexicana* 25: 49-59. <https://doi.org/10.21829/abm25.1993.682>

Dos Santos TMM, Gananca F, Slaski JJ, Pinheiro, MA. 2008. Morphological characterization of wheat genetic resources from the Island of Madeira, Portugal. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56(3), 363–375. <https://doi.org/10.1007/s10722-008-9371-5>.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018. El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo. Fomentando la resiliencia climática en aras de la seguridad alimentaria y la nutrición. FAO, Roma, Italia. P. 52-64.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2009. How to feed the world in 2050. Roma, Italia.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1995. Documentos técnicos de referencia 6-11, volumen 2, capítulo 9, La función de la investigación en la seguridad alimentaria y el desarrollo agrícola a nivel mundial. Cumbre Mundial sobre la Alimentación, 13 – 17 de noviembre de 1996. Roma, Italia. P. 24-32.

[SNICS] Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. [internet]. 2020. Generalidades de la red vainilla. [cited 2018 agosto 01]. Disponible en: <https://www.gob.mx/snics/acciones-y-programas/vainilla-vanilla-spp>.

Flores JA, Reyes LD, Jiménez GD, Romero AO, Rivera TJA, Huerta LM, Pérez SA. 2017. Diversidad de *Vanilla* spp. (Orchidaceae) y sus perfiles bioclimáticos en México. Revista de Biología tropical 65 (3). <https://doi.org/10.15517/rbt.v65i3.29438>

Flores JA, Reyes LD, Jiménez GD, Romero AO, Rivera TJA, Huerta LM, Pérez SA. 2016. Caracterización de clones de cinco especies de vainilla y su distribución en México. Tesis de Maestría en Ciencias. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. P. 25-28.

Gigant R, Bory S, Grisoni M, Besse P. 2011. Biodiversity and Evolution in the Vanilla Genus. In O. Grillo y G. Venora (Eds.), The Dynamical Processes of Biodiversity - Case Studies of Evolution and Spatial Distribution. France: InTech. P. 1-26.

Hernández RJ, Herrera CBE, Delgado AA, Salazar RVM, Bustamante GA, Campos CJE. 2016. Potential distribution and geographic characteristics of wild populations of *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) Oaxaca, Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 64, 235–246. <https://doi.org/10.15517/rbt.v64i1.17854>

Hernández J, Sánchez MS, Curti DE, Larios RM. 2011. La producción de vainilla en México. INIFAP. Centro de Investigación Regional Golfo Centro, Libro Técnico Número 25. P. 15-22.

Herrera CB. 2018. Caracterización de agroecosistemas con *Vanilla spp.*, [orchidaceae] en el Totonacapan, México. *Agro productividad*, 11(3). Recuperado a partir de <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/21>

[INEGI] Instituto Nacional de Estadística y Geografía. [internet]. 2019. Áreas geográficas. [cited 2019 octubre 22]. Disponible en: www.inegi.org.mx/app/mapa/espacioydatos

Korthou H, Verpoorte R. 2007. *Vanilla*. In R. Günter-Berger (Ed.), *Flavours and Fragrances Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (I, pp. 203–213). Hannover, DE: Springer.

López SA, Odoux E, Gunata Z, Brat P, Ribeyre F, Rodriguez JG, Robles OV, García AA, Günata Z. 2008. GC–MS and GC–olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson) beans. *Food Chemistry*, 99, 728-735. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.050>

Luis-Rojas S, Ramírez-Valverde B, Díaz-Bautista M, Pizano-Calderón J, Rodríguez-López C. 2020. La producción de vainilla (*Vanilla planifolia*) en México: análisis y

pronóstico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 11, 1 (feb. 2020), 175–187.
<https://doi.org/10.29312/remexca.v11i1.2065>.

Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001: actualización 2010. Sociedad Ictiológica Mexicana, Publicaciones Ocasionales, 6, 16-28. Mittermeier, R. A., Goettsch-Mittermeier, C. <https://www.gob.mx/profepa/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-059-semarnat-2010>.

Reyes LD, Flores JA, Huerta LM, Kelso HA, Avendaño CH, Ortiz R, López JF. 2014. Variación morfométrica de fruto y semilla en cuatro especies del género *Vanilla*. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 1, 205-218.
<https://doi.org/10.19136/era.a1n3.649>

Ramos CA, Iglesias AL, Martínez CJ, Ortiz GM, Andueza NR, Octavio AP, Luna RM. 2016. Evaluation of molecular variability in germplasm of vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson in Andrews) in Southeast Mexico: Implications for genetic improvement and conservation. *Plant Genetic Resources*, 15(4), 310-320.
<https://doi.org/10.1017/S1479262115000660>

Rohlf FJ. 2009. Statistical power comparisons among alternative morphometric methods. *American Journal of Physical Anthropology* 111: 463-478.
<https://doi.org/10.1002/SICI10968644>

Soto M, Cribb P. 2010. A new infrageneric classification and synopsis of the genus *Vanilla* Plum. ex Mill. (Orchidaceae: Vanillinae). *Lankesteriana*, 9(3), 355–398.
<https://doi.org/10.15517/lank.v0i0.12071>

Soto M, Dressler R. 2010. A revision of the Mexican and Central American species of *Vanilla Plumier ex Miller* with a characterization of their its region of the nuclear ribosomal DNA. *Lankesteriana*, 9(3), 285–354.

<https://doi.org/10.15517/lank.v0i0.12065>

Soto AMA. 2003. *Vanilla*. In: Pridgeon, A.M., P.J. Cribb, M.W. Chase y F.N. Rasmussen. (eds.). *Orchids of México, parts 2 and 3. Icones Orchidacearum fasc.5-6*, Herbario AMO. México D.F. pp: 321-334

Soto-Arenas MA. 2006. *La Vainilla retos y perspectivas de su cultivo*. *Biodiversitas* (66): 1-9.

CAPÍTULO III

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO

RESUMEN

La vainilla (*Vanilla* spp.) es una orquídea cuyo fruto es apreciado a nivel mundial por sus propiedades aromáticas y saborizantes. El 95 % de las plantaciones comerciales pertenece a *Vanilla planifolia*, cuyo centro de origen es México. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la diversidad genética de 18 accesiones de *Vanilla* spp. mediante 14 loci microsatélites, previamente reportados para vainilla. Se calcularon las frecuencias alélicas, los valores de índice de contenido polimórfico y de heterocigocidad, También se realizó análisis de agrupamientos jerárquicos, matriz de correlación y análisis de componentes principales. Los resultados indican que el análisis molecular de las 18 accesiones de vainilla contribuye al conocimiento de la variabilidad genética del género *Vanilla* en México, ya que se separaron cinco especies de vainilla: *V. planifolia*, *V. pompona*, *V. insignis*, *V. odorata* y *V. inodora*, mientras que las accesiones 1 y 2 las cuales podrían considerarse clones dentro de la especie *planifolia*; además, con la posibilidad de que las accesiones 18 y 51 podrían ser materiales novedosos para México, lo cual ampliaría la diversidad genética reportada en la actualidad.

Palabras clave: Diversidad, caracterización, conservación.

ABSTRACT

Vanilla (*Vanilla* spp.) is an orchid whose fruit is appreciated worldwide for its aromatic and flavoring properties. 95% of the commercial plantations belong to *Vanilla planifolia*, whose center of origin is Mexico. The objective of the present investigation was to evaluate the genetic diversity of 18 accessions of *Vanilla* spp. using 14 microsatellite loci, previously reported for vanilla. Allelic frequencies, polymorphic content index and heterozygosity values were calculated. Hierarchical cluster analysis, correlation matrix and principal component analysis were also performed. The results indicate that the molecular analysis of the 18 *Vanilla* accessions contributes to the knowledge of the genetic variability of the *Vanilla* genus in Mexico, since five *Vanilla* species were separated: *V. planifolia*, *V. pompona*, *V. insignis*, *V. odorata* and *V. inodora*, while accessions 1 and 2 which could be considered clones within the *planifolia* species; in addition, with the possibility that accessions 18 and 51 could be novel materials for Mexico, which would expand the genetic diversity currently reported.

Keywords: Diversity, characterization, conservation.

INTRODUCCIÓN

La vainilla (*Vanilla* spp.) es una orquídea cuyo fruto es apreciado a nivel mundial por sus cualidades organolépticas utilizadas ampliamente en la industria alimentaria y farmacéutica (Viveros, 2007; Archila *et al.*, 2019). El 95 % de las plantaciones comerciales pertenece a *Vanilla planifolia*, cuyo centro de origen es México (Ramos e Iglesias, 2022; Soto, 2009; Bory *et al.*, 2008). En los últimos años se incrementó la demanda de la vainilla a nivel mundial, sin embargo, la oferta del cultivo ha sido escasa (Gelski, 2019). La oferta de vainilla de Madagascar, Indonesia y México, principales productores del cultivo en el mundo, disminuyó desde 2017, debido principalmente a factores climáticos (Granados, 2018).

En México y Centroamérica, la vainilla representa un recurso fitogenético de suma importancia, ya que ahí existe el clima y suelo favorable para su cultivo, así como la cantidad y distribución adecuada de la precipitación a lo largo del año (Archila *et al.*, 2019; ASERCA, 2002). En México, sólo *V. planifolia* se cultiva con fines comerciales, debido a que es la más demandada en la industria (Lubinsky *et al.*, 2008; Reyes *et al.*, 2008). En México existen plantaciones de *V. planifolia* en Veracruz, Puebla, Oaxaca y San Luis Potosí, y en el año 2019 se cosecharon 862.4 ha, con producción de 521.9 t, rendimiento de 0.61 t por ha, y valor de la producción de US \$ 2, 284, 611.5 (SIAP, 2023).

En las últimas décadas se ha producido un enorme interés por la diversidad, evolución, manejo y recuperación del género *Vanilla* (Cameron, 2011; Havkin *et al.*, 2011). La producción de vainilla se basa en la propagación vegetativa, la polinización manual y el uso excesivo de fungicidas y plaguicidas (Bory *et al.*, 2007 y Soto, 2006). Estas condiciones han traído consigo gastos de inversión altos y una disminución alarmante

en la variación genética de los cultivares como resultado de la casi nula emergencia de individuos provenientes de la recombinación sexual (Cameron, 2011; Bory *et al.*, 2008 y Soto, 2006), llevando a enlistar la especie en la categoría de alto grado de erosión genética (FAO, 1995).

Dadas las condiciones del cultivo de la vainilla es necesario realizar una caracterización molecular que nos permita conocer más a fondo la base genética del género (Soto, 2009). Para lo cual existen técnicas que nos permiten caracterizar mediante marcadores moleculares basados en PCR como lo son RAPD, SSR o microsatélites y AFLP. Los microsatélites son específicos y altamente polimorfos, pero requieren conocimiento de la secuencia genómica para diseñar cebadores específicos (Sandoval *et al.*, 2021; Bornet y Branchard, 2001; Rentería, 2007).

Los marcadores moleculares permiten observar y medir diferencias genéticas entre genotipos, se trata de secuencias de ADN simples y cortas, cuyo motivo (secuencia aleatoria de bases nitrogenadas) se encuentra repetido en tándem y disperso de manera aleatoria en el genoma de los organismos (Sandoval *et al.*, 2021; Glaubitz y Moran, 2000). Son marcadores codominantes, altamente polimórficos, con alto poder de discriminación, el número de fragmentos o loci obtenidos es alto con respecto a otros marcadores, la reproductividad es muy alta y es fácil trabajar con ellos (Glaubitz y Morán, 2000), lo que los vuelve una excelente opción como marcadores moleculares para caracterizar molecularmente diferentes genotipos de vainilla.

El cultivo de vainilla presenta afectaciones por diversas enfermedades y factores abióticos, que merman significativamente su productividad (Hernández *et al.*, 2019). Como respuesta, se han desarrollado programas para el mejoramiento genético del cultivo en diversas zonas vainilleras del mundo, principalmente en la Isla Reunión,

Madagascar e India (Sasikumar, 2010). Algunos esfuerzos han implicado la realización de trabajos de prospección, la colecta de germoplasma de *V. planifolia* y diversas especies silvestres del género, y caracterizaciones morfológica y molecular. Sin embargo, los resultados de los estudios moleculares han revelado baja variabilidad genética en el germoplasma cultivado de *V. planifolia* (Bory *et al.*, 2008; Verma *et al.*, 2009; Ramos *et al.*, 2017), lo cual está en concordancia con los bajos porcentajes de polinización cruzada referidos por Soto (1999), que, a su vez, implican la existencia de una baja heterocigocidad en este cultivo. Asimismo, esta baja variabilidad explicaría la alta susceptibilidad de la vainilla ha mostrado, a diferentes factores bióticos y abióticos, así como los problemas de caída prematura de frutos, los cuales afectan directamente la productividad y la rentabilidad del cultivo (Bhai *et al.*, 2006).

En la conservación y el uso sustentable de los recursos fitogenéticos, un aspecto importante es evaluar los niveles de diversidad genética y conocer cómo esta diversidad está organizada en el área de distribución natural de la especie. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la diversidad genética de 18 accesiones de *Vanilla spp.* mediante 14 loci microsatélites, previamente reportados para vainilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 18 accesiones de *Vanilla spp.*, que corresponden a las especies *planifolia*, *insignis*, *odorata*, *inodora*. La accesión 15, es una variedad nativa y que crece de manera silvestre en diferentes partes de México y comúnmente llamada espada, en la actualidad no se le ha ubicado entre las especies conocidas. Asimismo, oreja de burro (accesión 18) es un clon de la especie *planifolia* (Castillo y Engleman, 1993), en este sentido, la accesión 10 es una cruce entre *V. planifolia* (♂) y oreja de burro (♀), debido a que oreja de burro aborta los frutos de manera prematura cuando se autopoliniza. Sin embargo, cuando recibe polen de *V. planifolia* retiene los frutos hasta la madurez comercial y fisiológica. La accesión 12 es derivada de una cruce simple entre dos plantas de la especie *planifolia* (Cuadro 1), dicho material se tiene resguardado en el banco de germoplasma de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, recolectadas en cinco estados del centro y sureste de México.

Cuadro 1. Accesiones de *Vanilla spp. a priori* y su origen utilizadas para la caracterización molecular.

Accesión	Especies	Latitud N	Longitud O	Estado
1	<i>V. planifolia</i>	19.33	96.76	Veracruz
2	<i>V. planifolia</i>	20.48	97.55	Puebla
18	Var. Oreja de burro	17.52	92.92	Tabasco
41	<i>V. planifolia</i>	16.76	91.02	Chiapas
51	Var. espada	21.19	87.38	Quintana Roo
128	<i>V. planifolia</i>	20.74	97.44	Veracruz
124	<i>V. planifolia</i>	14.97	92.26	Chiapas
73	<i>V. planifolia</i>	20.20	97.36	Puebla

48	<i>V. planifolia</i>	16.98	91.60	Chiapas
88	<i>V. insignis</i>	20.19	97.38	Puebla
139	<i>V. odorata</i>	21.17	87.38	Quintana Roo
119	<i>V. pompona</i>	20.95	97.52	Veracruz
105	<i>V. odorata</i>	18.88	88.86	Quintana Roo
31	<i>V. insignis</i>	16.76	91.01	Chiapas
19	<i>V. planifolia</i>	17.52	92.92	Tabasco
10	<i>V. planifolia</i> x var. Oreja de burro	20.48	97.55	Puebla
11	<i>V. planifolia</i> x <i>V.</i> <i>planifolia</i>	20.48	97.55	Puebla
12	<i>V. planifolia</i> x <i>V.</i> <i>planifolia</i>	20.48	97.55	Puebla

Aislamiento del ADN

El ADN se extrajo de las hojas más jóvenes de la planta siguiendo la metodología del manual de laboratorio de *Arabidopsis* (Weigel y Glazebrook, 2002), con algunas modificaciones. Posteriormente, se evaluó la concentración y pureza del ADN por electroforesis en gel de agarosa y por espectrofotometría usando el espectrofotómetro DS11FX, Denovix.

Marcadores moleculares tipo microsatélites

Se aplicaron 14 iniciadores de loci microsatélites (Cuadro 2), que demostraron su utilidad en un estudio previo para *Vanilla* (Bory *et al.*, 2008).

Cuadro 2. 14 pares de iniciadores de loci microsatélites.

No	Secuencia	Tm °C	Tm Par oligo °C
LOC1	TGGATGTGCATTTGTG	58	58
	CGCATTCACTTGT	58	
LOC2	TATAGATGCACACGAGC	60	60
	TCACATCCCTACATGC	60	
LOC3	TTTGCTTGAACGTATGTC	59	59
	GCAAACATAGAAATGCAC	59	
LOC4	GCACATAAATACCTTACACC	61	61
	GTTCACGTCAGTGTGCT	62	
LOC5	AGTGTCTTTGTGTGCCT	60	61
	TAGATAGTAAACCCATACTCAC	62	
LOC6	TATGTGTGAGAGGGTGC	62	61
	CAATTAGTCACATCCATAAAC	60	
LOC7	AAGTGCCCAATCTATC	58	58
	TGGATTCACCATGAC	57	
LOC8	CAAAACACAAGGAAATGC	59	59
	TGCAAGCCCACAAGT	59	
LOC9	GTGTAGCGGTTCATACAA	61	61
	CATTCATGGAAGTGGAG	60	
LOC10	GCACATACATGCTTATTG	59	59
	CATGTTCTTATTTGAGTGG	59	
LOC11	AACATGCACAAGAAAG	56	56
	TTTATGCACCTTGTTAG	56	
LOC12	ATTCCTCCCTCACTGTA	61	61
	AATCTCAGGTGCTAATGG	61	
LOC13	CATGCTTACATCTTTGTGTT	60	61
	TAATGGACATGCACACTC	61	
LOC14	CTATGTGCGCTTTGG	59	60
	CACTCAAGAACATGCAAC	61	

Cálculo de las frecuencias alélicas, valores de índice de contenido polimórfico y de heterocigocidad

Se registraron las bandas polimórficas en una matriz binaria, donde uno representa presencia y cero, ausencia de bandas. A partir de esta matriz se estimaron las frecuencias alélicas, los valores de información de contenido polimórfico (PIC, por sus siglas en inglés) (Botstein *et al.*, 1980) y los valores de heterocigocidad (H) (Hedrick, 1985; Nei, 1987) (ecuaciones 1 y 2). Para la interpretación de los valores de PIC se tomaron criterios previamente establecidos (Mateescu *et al.*, 2005). El valor de H se calculó manualmente a partir de las frecuencias alélicas para los diferentes marcadores, mientras que el PIC se obtuvo con R versión 4.2.2 (R Core Team, 2022) desde RStudio versión 2022.12.0.353 (Posit team, 2022) con el paquete para análisis de microsatélites, polystat versión 1.7.7 (Clark y Schreier, 2017) (Cuadro 3).

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=1-i}^n 2p_i^2 p_j^2$$

Ecuación 1. Fórmula para calcular el contenido de información polimórfico (Botstein *et al.*, 1980.)

$$H = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

Ecuación 2. Fórmula para calcular la Heterocigocidad (Hedrick, 1985; Nei, 1987)

Análisis de agrupamientos jerárquicos

El análisis por agrupamiento jerárquico se realizó usando R versión 4.2.2 desde RStudio versión 2022.12.0.353 con el paquete stats versión 4.2.2 (Posit team, 2022; R Core Team, 2022), y se visualizó con factoextra versión 1.0.7 (Kassambara y Mundt, 2020)

Validación de agrupamientos

Índice cofenético

Se calcularon 10 diferentes matrices de distancia con el paquete para el cómputo de matrices de distancia para datos binarios, ade4 versión 1.7.22 (Bougeard y Dray, 2018; Chessel *et al.*, 2004; Dray *et al.*, 2007; Dray y Dufour, 2007; Gower y Legendre, 1986; Thioulouse *et al.*, 2018). Posteriormente se obtuvieron los valores de índice cofenético (IC) para 80 combinaciones de métodos de obtención de matrices de distancia y métodos de agrupamiento con la librería nativa, stats versión 4.2.2 (R Core Team, 2022) para obtener los valores de IC (Figura 1).

Número óptimo de agrupamientos

El cálculo del número óptimo de agrupamientos (k), se realizó por medio de la regla de la mayoría, utilizando la librería NbClust versión 3.0.1 (Charrad *et al.*, 2014), donde se prueban 30 índices diferentes, y se toma como valor de k , aquel en el que coinciden el mayor número de índices (Cuadro 4).

Matriz de correlación

Se utilizó la matriz binaria para medir y visualizar la relación (Figura 3) entre los diferentes materiales con el paquete corrplot versión 0.92 (Wei *et al.*, 2021). La matriz de correlación se obtuvo por el método de Pearson y se representa en forma de elipses, las cuales muestran el grado y signo de la correlación y se ordenaron los valores jerárquicamente, de acuerdo con el método UPGMA.

Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) (Figura 2), se realizó usando R versión 4.2.2 desde RStudio versión 2022.12.0.353 (Posit team, 2022; R Core Team, 2022). Con los paquetes para el análisis de datos multivariados, factoextra versión 1.0.7 y FactoMineR versión 2.7 (Kassambara y Mundt, 2020; Lê *et al.*, 2008).

RESULTADOS

Cálculo de las frecuencias alélicas, valores de índice de contenido polimórfico y de heterocigocidad

Los resultados del análisis de los 14 loci microsatélites en relación con las 18 accesiones de vainilla utilizados en este estudio (Cuadro 3) indican que en su mayoría 11 fueron muy informativos, 2 moderadamente informativos y solamente 1 de los 14 fue no informativo.

Cuadro 3. Frecuencias alélicas, contenido polimórfico (PIC) y los valores de heterocigocidad.

Marcador	Heterocigocidad	PIC	Interpretación
LOC1	0.85	0.833	Muy Informativo
LOC2	0.625	0.551	Moderadamente Informativo
LOC3	0.722	0.679	Muy Informativo
LOC4	0.763	0.729	Muy Informativo
LOC5	0.681	0.638	Muy Informativo
LOC6	0.777	0.741	Muy Informativo
LOC7	0.789	0.767	Muy Informativo
LOC8	0.868	0.854	Muy Informativo
LOC9	0.18	0.164	No Informativo
LOC10	0.498	0.374	Moderadamente Informativo
LOC11	0.852	0.836	Muy Informativo
LOC12	0.749	0.705	Muy Informativo
LOC13	0.685	0.64	Muy Informativo
LOC14	0.786	0.752	Muy Informativo

Número óptimo de agrupamientos

Con el set de datos se obtuvo que 8 de un total de 24 índices indicaron que el número óptimo de agrupamientos fue de 7.

Cuadro 4. Número óptimo de agrupamiento.

Índices	Número de clusters
8	7
7	2
4	17
1	4
1	3
1	15
1	14
1	13

Índice cofenético

Se probaron 80 combinaciones diferentes de métodos de cómputo de matrices de distancia para datos binarios y métodos de agrupamiento. Siendo Sokal & Sneath junto con el con el método de agrupamiento de promedio aritmético de los grupos de pares no ponderados (UPGMA), con un valor de IC de 0.975, resultó ser la mejor combinación. El número óptimo de agrupamientos (k) fue de 7 según la regla de la mayoría, donde se probaron 30 índices diferentes, 8 de 24 índices sugirieron este valor de k. Además, se verificó que los 4 mejores dendrogramas según su IC (Sokal &

Sneath S5 / UPGMA con IC = 0.975, Sokal & Sneath S5 / Mcquitty, con IC = 0.973, Jaccard S3 / UPGMA, con IC = 0.972 y Jaccard S3 / Mcquitty, con IC = 0.970), resultaron ser idénticos.

Vainilla / SOKAL & SNEATH S5 UPGMA

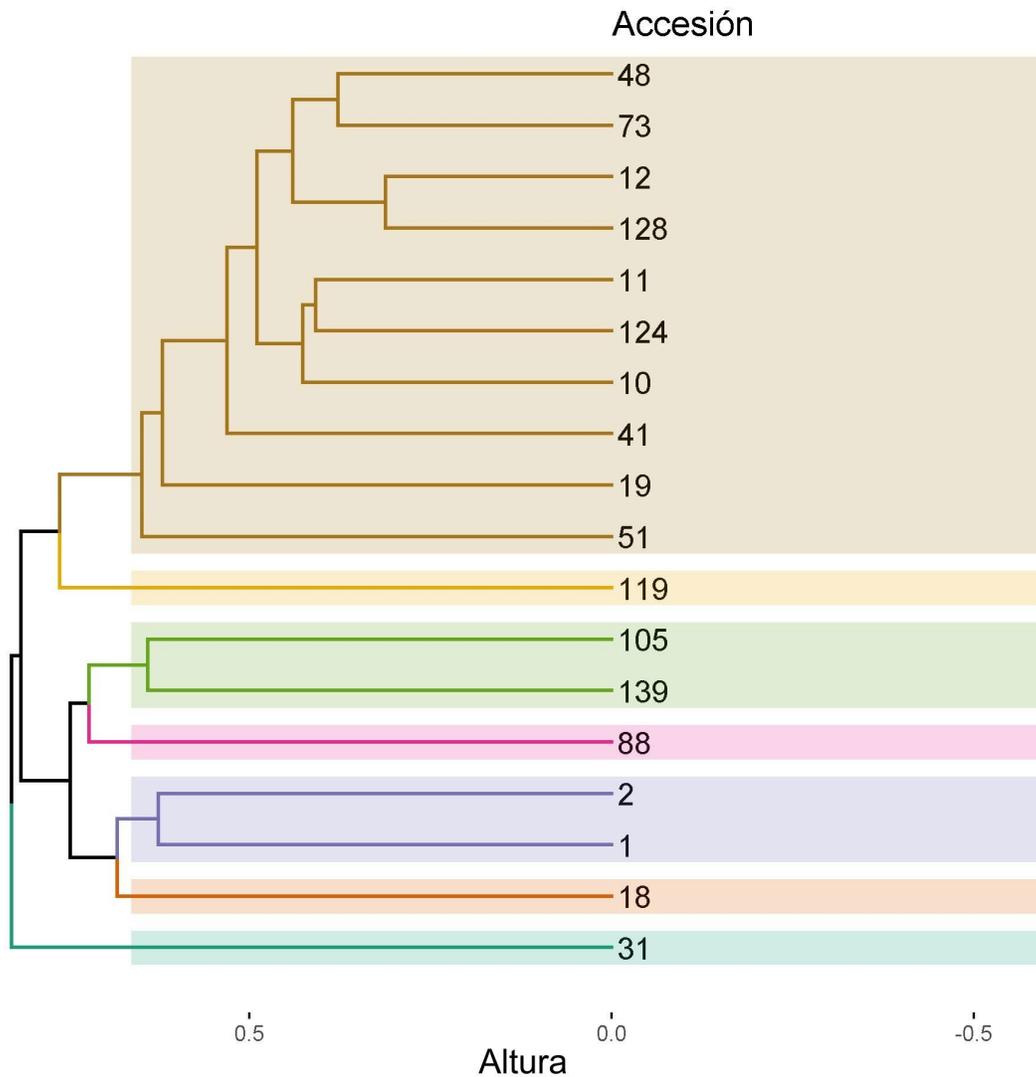


Figura 1. Dendrograma de accesiones de *Vanilla* spp. obtenido a partir del mejor valor de índice cofenético (IC).

Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales de *Vanilla spp*, \cos^2 representa la calidad de representación de los individuos en el mapa de factores (Figura 2).

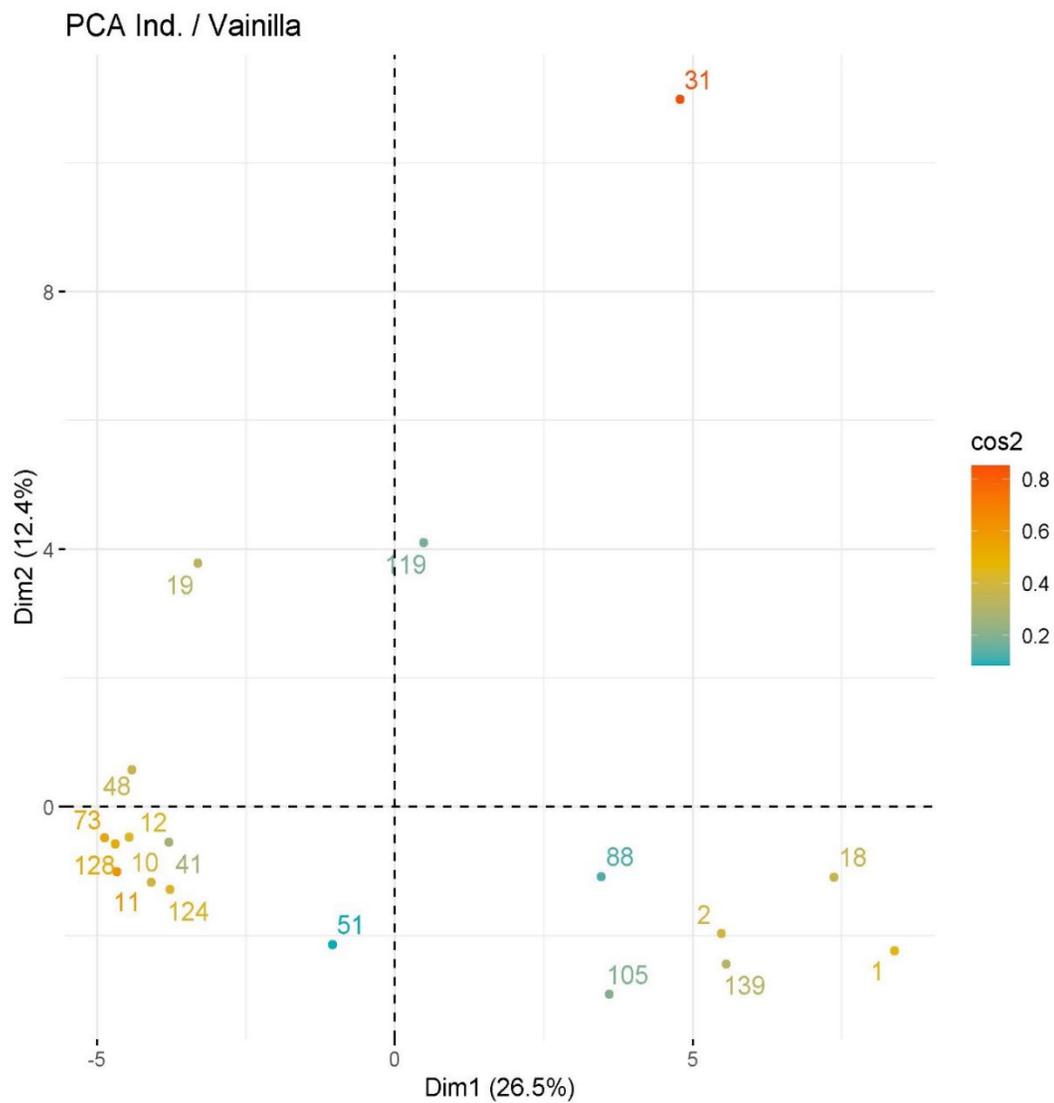


Figura 2. Análisis de componentes principales de accesiones de *Vanilla spp*.

Matriz de correlación

Los valores del índice de correlación (r) varían entre +1 a -1, una para correlación perfecta (líneas diagonales de 45°), positiva y negativa respectivamente. Un valor de $r = 0$ indica que no existe relación lineal entre las dos variables (círculos), $r < |0.1|$, indica correlación despreciable; $|0.1| < r \leq |0.3|$, indica una correlación baja; $|0.3| < r \leq |0.5|$, indica correlación media; $r > |0.5|$, indica una correlación fuerte. La forma y el color de las elipses indican el grado y el sentido de la correlación, respectivamente.

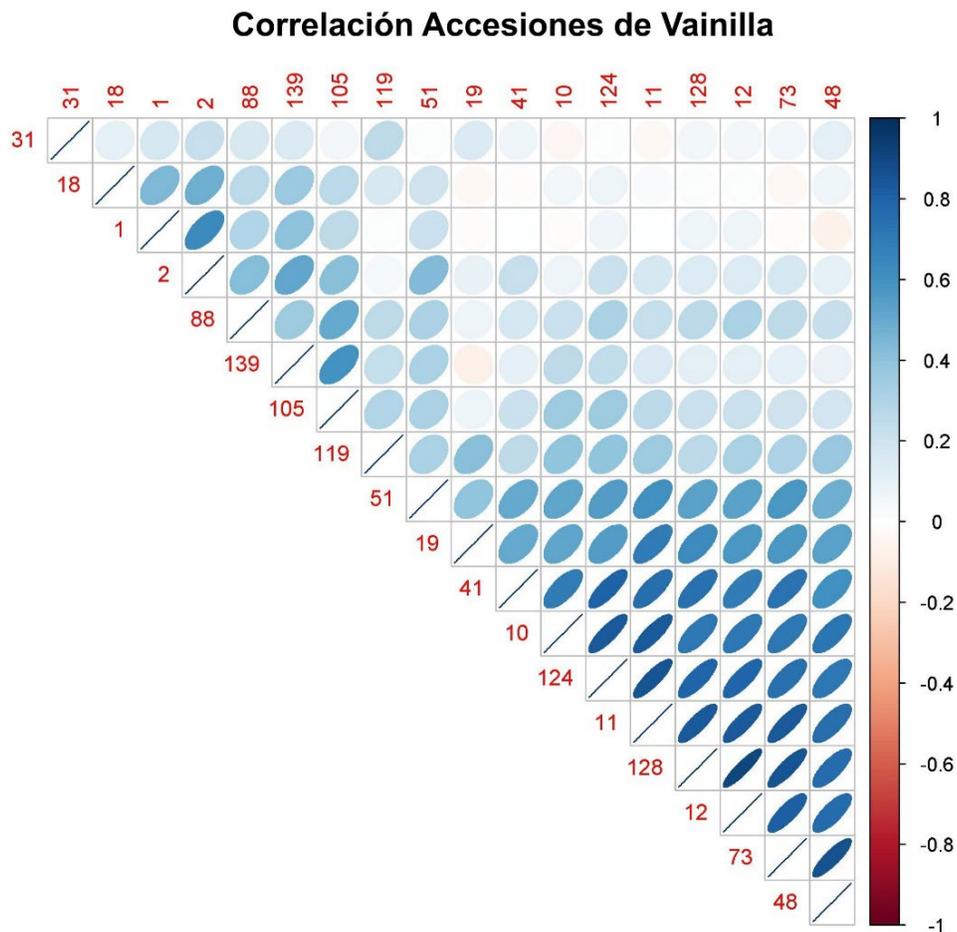


Figura 3. Matriz de correlación de accesiones de *Vanilla spp.*

DISCUSIÓN

Los oligonucleótidos utilizados en este estudio dieron información suficiente para la evaluación del germoplasma de vainilla en cuestión por lo que se recomienda su uso para futuros análisis de este género dado que de los 14 pares de loci microsatélites solo uno resultó ser no informativo. Estos resultados son similares a los reportados por Bory *et al.* (2008) y Villanueva *et al.* (2017), quienes utilizaron los mismos pares de loci microsatélites para su estudio en una población de *V. planifolia*. En el presente trabajo se observó que la mayoría de las accesiones pertenecientes a *V. planifolia* estuvieron altamente correlacionadas, resultado que indica poca variabilidad genética entre estas accesiones, lo que coincide con lo mencionado por Jayakumar *et al.* (2008), Verma *et al.* (2009) y Ramos *et al.* (2017), esto debido a que su reproducción comercial es asexual por medio de esquejes dada su poca o nula germinación de semillas (Divakaran *et al.*, 2006; Soto, 1999; Augstburger *et al.*, 2000).

En cuanto a *V. inodora* fue la especie que menos correlación tuvo con las demás accesiones estudiadas, esto se refleja en sus características fenotípicas ya que sus hojas, tallos, frutos y flores son distintas a las demás especies. *V. insignis* presentó correlación con *V. odorata*, dichas especies comparten ciertas características comunes como forma de tallo, forma de hojas, aunque son diferentes en tamaño y color de pétalos.

Por su parte, *V. pompona*, presentó correlación media con la mayoría de accesiones de *V. planifolia*, sus características que podrían ser comunes es la forma de tallo, forma de hojas, aunque no en tamaño ni grosor. Con relación a los componentes principales, las accesiones de *V. planifolia* en su mayoría integran un primer componente principal teniendo cerca de ellas a la accesión *V. espada*, y en una mejor calidad de

representación *V. inodora* es la que mayor aportación tiene a los componentes principales.

El dendograma formado de especies de vainilla, dio como resultado la separación de grupos, donde la primera agrupación está compuesta por 10 accesiones pertenecientes en su totalidad a *V. planifolia* (accesiones 48, 73, 12, 128, 11, 124, 10, 41, 19, y 51), estas accesiones también fueron analizadas en un trabajo de caracterización morfológica por Reyes *et al.* (2014) y se encontraron similitudes de agrupación. La accesión 119 que formó un segundo grupo independiente y pertenece a *V. pompona*, esta especie se caracteriza por tener hojas grandes y gruesas, tallo vigoroso, y frutos cortos y triangulares, con poco contenido de vainillina en comparación con *V. planifolia* Soto (2009).

Las accesiones 139 y 105 pertenecen a *V. odorata*, y formaron el tercer grupo, estas plantas se caracterizan por tener hojas angostas y pequeñas, tallo áspero y con acanaladuras, sus frutos son curvados, pesados y cortos. La accesión 88 formó el cuarto grupo y pertenece a *V. insignis*, son plantas que su forma de hoja y tallo son semejantes a *V. odorata* solo que más grandes. Las accesiones 1, 2 y 18 formaron el quinto grupo y pertenecen a *V. planifolia*, la accesión 18 es llamada comúnmente como oreja de burro la cual fue caracterizada morfológicamente por Castillo y Engleman (1993), sugirió que según sus características morfológicas y fenológicas la variedad oreja de burro presenta características que la separan claramente de *V. planifolia*.

Las accesiones 1 y 2, por formar un grupo diferente podrían considerarse como clones dentro de la especie *planifolia*, lo que contribuye al conocimiento de la variación clonal dentro de la especie *planifolia*, ya que son pocos los trabajos reportados con relación a la variación clonal (Soto 2006). La accesión 31 formó el sexto grupo que pertenece

a *V. inodora*, resultado que coincide morfológicamente, debido a que presenta una floración diferente que es de tipo axilar, solitaria y no en racimo como las demás especies, sus hojas son reticuladas y delgadas, sus frutos son delgados, alargados y sin olor en comparación con *V. planifolia* y *V. pompona*.

La información obtenida en el presente estudio contribuye al conocimiento de la variabilidad genética a nivel molecular del género *Vanilla* para México, ya que se ha separado en grupos diferentes a cinco especies y con la posibilidad de que la accesión 18 sea considerada como una nueva especie y la accesión 51 aun cuando está dentro de un grupo de *V. planifolia*, podrían considerarse como una especie diferente, ambas especies nuevas para México, aunque hace falta realizar estudios de tipo aromático y metabólicos que fortalezcan esta hipótesis.

CONCLUSIONES

El análisis molecular de las 18 accesiones de vainilla contribuye al conocimiento de la variabilidad genética del género *Vanilla* en México, ya que se separaron en cinco especies de vainilla, estas son: *V. planifolia*, *V. pompona*, *V. insignis*, *V. odorata* y *V. inodora*, y las accesiones 1 y 2 las cuales podrían considerarse clones dentro de la especie *planifolia*; además, con la posibilidad de que las accesiones 18 y 51 podrían ser materiales novedosos para México, lo cual ampliaría la diversidad genética reportada en la actualidad.

LITERATURA CITADA

- Augstburger, F., J. Berger, U. Censkowsky, P. Heid, J. Milz, y C. Streit. 2000. *Vanilla*. Agricultura oreganica en el tropico y subtropico. Guias de 18 cultivos. Asociacion Naturland, Grafelfing, Alemania.
- Archila, F., Menchaca, R., y Chiron, G. 2019. Notes on Mesoamerican *orchids*. I: *Vanilla*, with a new species. *Richardiana*, 3, 71-79.
- ASERCA. 2002. La vainilla una tradición con alto potencial. *Revista Claridades*, 101.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32(3), 314.
- Bougeard, S., & Dray, S. (2018). Supervised multiblock analysis in R with the ade4 package. *Journal of Statistical Software*, 86. <https://doi.org/10.18637/jss.v086.i01>
- Bornet, B., and Branchard, M. 2001. Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers: Reproducible and Specific Tools for Genome Fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19(3), 209–215. <https://doi.org/10.1007/BF02772892>
- Bory S., Grisoni, MF. Duval M.F. y Besse P. 2007. Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55:551-571.
- Cameron, K. M. (2011). *Vanilla Orchids: Natural History and Cultivation*. Timber Press, Portland, OR. 212 p.
- Bhai, R., Iahwara, R., & Anandaraj, M. 2006. Yellowing and premature bean dropping in vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews). *Journal of Plantation Crops*, 34(2), 115-117.
- Castillo MR, Engleman EM. 1993. Caracterización de dos tipos de *Vanilla planifolia*. *Acta Botánica Mexicana* 25: 49-59. <https://doi.org/10.21829/abm25.1993.682>

Charrad, M., Ghazzali, N., Boiteau, V., & Niknafs, A. (2014). Nbclust: An R package for determining the relevant number of clusters in a data set. *Journal of Statistical Software*, 61(6). <https://doi.org/10.18637/jss.v061.i06>

Chessel, D., Dufour, A. B., & Thioulouse, J. (2004). The ade4 Package --- {I}: One-table Methods. *R News*, 4(1).

Clark, L. V., & Schreier, A. D. (2017). Resolving microsatellite genotype ambiguity in populations of allopolyploid and diploidized autopolyploid organisms using negative correlations between allelic variables. *Molecular Ecology Resources*, 17(5). <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12639>

Divakaran, M., Nirmal, B., Ravindran, P. N., & Peter, K. V. 2006. Interspecific hybridization in vanilla and molecular characterization of hybrids and selfed progenies using RAPD and AFLP markers. *Scientia Horticulturae*, 108(4), 414-422. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.018>

Dray, S., & Dufour, A. B. (2007). The ade4 package: Implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4). <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>

Dray, S., Dufour, A.-B., & Chessel, D. (2007). The ade4 package - II: Two-table and K-table methods. *R News*, 7(2).

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1995. International Technical Conference on Plant Genetic Resources. Report of the Sub-Regional: Preparatory Meeting for Central America, Mexico, and the Caribbean. San Jose, Costa Rica.

Gelski, J. 2019. Vanilla prices slowly drop as crop quality improves. FoodBussinesNews, USA, Solsland Publishing. sp.

Glaubitz, J.C. y G.F. Moran. 2000. Genetic tools: the use of biochemical and molecular markers. (Chapter 4), en: Young A., D. Boshier y T. Boyle (eds) Forest Conservation Genetics: Principles and Practice. CABI Publising, New York. pp. 39-59.

Gower, J. C., & Legendre, P. (1986). Metric and Euclidean properties of dissimilarity coefficients. *Journal of Classification*, 3, 5–48.

Granados, O. 2018. Vainilla a precio de oro. El País, Madrid, España. Consultado 20 junio. 2018. Disponible en https://elpais.com/economia/2018/06/13/actualidad/1528910475_550952.html

Hernández, J., Curtí S., & Ríos, A. 2019. Retención de frutos en *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews como reguladores de crecimiento. *Agronomía Mesoamericana*, 30(3). <http://doi.org/10.15517/am.v30i3.33988>

Hernández, J., Sánchez, M. S., Curti, D. E., & Larios, R. M. 2010. La producción de vainilla en México (Libro técnico Núm. 25). INIFAP. Centro de Investigación Regional Golfo Centro.

Havkin, F. D. y F. C. Belanger. 2011. *Handbook of Vanilla Science and Technology*, Willey-Blackwell.

Hedrick, P. W. (1985). Inbreeding and selection in natural populations. *Population Genetics in Forestry: Proceedings of the Meeting of the IUFRO Working Party "Ecological and Population Genetics"* Held in Göttingen, August 21–24, 1984, 71–91.

Kassambara, A., & Mundt, F. (2020). *factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses*. Package Version 1.0.7. R Package Version, 1(3).

Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1). <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>

Lubinsky, P., Bory, S., Hernández, J. H., Kim, S. Ch., y Gómez, P, A. 2008. Origins and dispersal of cultivated *Vanilla* (*Vanilla planifolia* Jacks. [Orchidaceae]). *Economic Botany*, 62, 127-138.

Mateescu, R. G., Zhang, Z., Tsai, K., Phavaphutanon, J., Burton-Wurster, N. I., Lust, G., Quaas, R., Murphy, K., Acland, G. M., & Todhunter, R. J. (2005). Analysis of allele fidelity, polymorphic information content, and density of microsatellites in a genome-wide screening for hip dysplasia in a crossbreed pedigree. *Journal of Heredity*, 96(7). <https://doi.org/10.1093/jhered/esi109>

Nei, M. (1987). Genetic variation within species. In *Molecular evolutionary genetics* (pp. 176–207). Columbia University Press.

Posit team. (2022). RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA. <http://www.posit.co/>.

Ramos, C, A. L., Iglesias, A, L. G., Martínez, C, J., Ortíz, G, M., Andueza, N, R. H., Octavio, A, P., & Luna, R, M. 2017. Evaluation of molecular variability in germplasm of *Vanilla* (*Vanilla planifolia* G. Jackson in Andrews) in southeast Mexico: Implications for genetic improvement and conservation. *Plant Genetic Resource*, 15(4), 310-320. <https://doi.org/10.1017/S1479262115000660>

Ramos, C, A. L., y L. G. Iglesias, A. «Avances Y Tendencias En Mejoramiento genético De Vainilla». *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, vol. 23, n. ° 2, junio de 2022, doi:10.21930/rcta.vol23_num2_art:2339.

R Core Team. (2022). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing.

Rentería, M. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares, en: Ecología molecular. Eguiarte, L. E., V. Sousa y X. Aguirre (eds). Semarnat INE-UNAM-Conabio. México. pp. 541-566.

Reyes, D.; Flórez, A., Huerta, M., Kelso, H., Avendaño, C., Lobato, R., Aragón, A., & López, J. 2014. Variación morfométrica de fruto y semillas en cuatro especies del género *Vanilla*. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 1(3), 205-218.
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282014000300002)

[90282014000300002](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282014000300002)

Reyes, L. D., Rodríguez, B., K. H. A., Huerta, M., y Ibáñez, A. (2008). Beneficiado Tradicional de vainilla. Puebla, México: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Sasikumar. B. 2010. Vanilla Breeding- a review. *Agricultural Research Communication Center*, 31(2), 139-144.

Sandoval, P, I., Contreras, T, A, R., Guzmán, L, F., Amaro G, B A, y Cortés, C, M. 2021. Transferibilidad de marcadores de microsatélites en nueve especies de pinos. *Madera y bosques*, 27(3), e2732103. Epub 28 de marzo de 2022. <https://doi.org/10.21829/myb.2021.2732103>

Soto A, M. A., 2006. La vainilla: retos y perspectivas de su cultivo. CONABIO. *Biodiversitas* 66: 1-9.

Soto A, A. M. (1999). Filogeografía y recursos genéticos de las vainillas de México [Proyecto N.º J101].

<http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfJ101.pdf>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Disponible en <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> Fecha de consulta: 05 de abril de 2023.

Soto, M. A. (2009). Recopilación y análisis de la información existente sobre las especies mexicanas del género *Vanilla*. Reporte. México, D. F.: Herbario de la Asociación Mexicana de Orquideología, A. C., Instituto Chinoín, A. C.

Thioulouse, J., Dufour, A. B., Jombart, T., Dray, S., Siberchicot, A., & Pavoine, S. (2018). Multivariate analysis of ecological data with ade4. In *Multivariate Analysis of Ecological Data with ade4*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8850-1>

Villanueva V, S., Hernández A, M., Carnevali F C., Dorantes, A., Dzib G R., & Martínez C J. 2017. Wild *Vanilla planifolia* and its relatives in the Mexican Yucatan Peninsula: Systematic analyses with ISSR and ITS. *Botanical Sciences*, 95(2), 169-187. <https://doi.org/10.17129/botsci.668>

Verma, P. C., Chakrabarty, D., Jena, S. N., Mishra, D. K., Singh, P. K., Sawant, S. V., & Tuli, R. 2009. The extent of genetic diversity among *Vanilla* species: Comparative results for RAPD and ISSR. *Industrial Crops and Products*, 29(2-3), 581-589. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.11.006>

Viveros G B., 2007. Evaluación de la extracción de vainilla, mediante la adaptación de un dispositivo Soxhlet. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de licenciatura en ingeniería de alimentos. Universidad de las Américas Puebla. San Andrés Cholula, Puebla.

Wei, T., Simko, V. R., Levy, M., Xie, Y., Jin, Y., & Zemla, J. R. (2021). package “corrplot”: Visualization of a Correlation Matrix. Version 0.92.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES GENERALES

El estudio de caracterización morfológica en 41 accesiones de vainilla permitió la formación de 15 grupos donde se separaron cinco especies del género *Vanilla*, seis clones dentro de *V. planifolia* y la posibilidad de que las accesiones 18, 51 y 53 llamadas comúnmente como oreja de burro y espada, respectivamente, sean consideradas como nuevas especies. El análisis molecular de 18 accesiones permitió complementar la información obtenida en la caracterización morfológica, debido a que en ambas caracterizaciones coincidieron en la separación de cinco especies (*V. planifolia*, *V. pompona*, *V. insignis*, *V. odorata* y *V. inodora*) y clones dentro de la especie *planifolia*, así mismo, dichos resultados sugieren que las accesiones 18 y 51, sean considerados como materiales novedosos para México. Los resultados obtenidos amplía el conocimiento de la diversidad genética del género *Vanilla* en el centro y sureste de México.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 25 de abril de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO** que presenta el: **M. C. ALVARO FLORES JIMENEZ**, mismo que fue desarrollado bajo mi dirección y la codirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. MANUEL DE JESÚS SAINZ AISPURO
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209 Edificio 10-A
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MANUEL DE JESUS SAINZ AISPURO | Fecha:2023-04-27 07:05:26 | Firmante

tUx2JYuKj4fgrWIIIZ7HuCe1VobujcUIhX30QkltqvYazRhJpl8ihkd0av4nv5vtN9W5OOhSeO0E6Hvzn+wrwpPYz6QFifBHVwx86viU4FsEY8AbcukzxdbBtyYr06yTYdLPP3SQVp2z7ayHTJcbAJEU3t4ANTS1aCmGSxF9b/HGK7ldZCYQtZvtvpSdC9I5XiivtdPc9N+AzR5zsrnTROsY3DzBVT35v9BpILcmdem0lveX0twEBhSXA03ThKI6LEc3vOFbZH0IWwoVrjtz6EnP315ZgelQf5MECTrUS+bKdfs/6BSKk5D1w2o/O8c5hNfH4V9jtAHGrNdhckLw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[IXJDvhrUS](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/6ENZDqF1QycEP14RqZXgD1g112W9XfWP>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 25 de abril de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO** que presenta el: **M. C. ALVARO FLORES JIMENEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. MANUEL DE JESÚS SAINZ AISPURO** y la codirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. NELSON AVONCE VERGARA
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209 Edificio 10-A
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

NELSON AVONCE VERGARA | Fecha:2023-04-27 01:07:54 | Firmante

OoQ+4SZRiTlrxkKvnSkdKyBAYf8nKinUjPjGwhVd32JmlX0T0aBsKhuYGVr3tAkP3bFdyjAhDJ9/Kc3oWceUAd3ibGbv3qVPmoKZDWndc5WR+ilM5BhmyZ3WOUIY1YuAL0nob
ANxVcXLVSlrVWmf+6f9FKK6KfjPVZ4+0yR0ciKcQ2NwMj6quCM+8vHr2Cgui44KNstdIB1RpOAItdjJFVc1BPYRHjzjFq7leCnZg5EyuvdCxEVmPvoG6Bc+9AsFx9sQGU/FV4EfO3
UHAsWcCoZipjLqEUw3GmwvNgePGtR3lat1LgsWaCvjVWysjmnUYSmqTHBoaE2hiqRLq7KNQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[nqMkLQivr](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/izWlp6exIkTvis7Augiy8flzCQMILhkv>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 25 de abril de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO** que presenta el: **M. C. ALVARO FLORES JIMENEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. MANUEL DE JESÚS SAINZ AISPURO** y la codirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. DELFINO REYES LÓPEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209 Edificio 10-A
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

DELFINO REYES LÓPEZ | Fecha:2023-04-27 08:13:02 | Firmante

e5u55n2/wFbE3fwJQwIGx3xEp10+gwYrROLPGzZaW4SRgXdvQkAohlml+vL4ivyTjQYtMq3vrkOIMCQ6kpLA0GQQ2CS+P4nTKkuQY0ER9B6Xcf9tc9+M3ltnSQUwq/znlkbB+fFo
WXhrwhi2P+f4WUxR2x6sfwRUt5Gopp64/Ok3d+CYpYp86fTqD+QyAt4QjgG3Tf8K+h0o3b9f/IO027ZRUThi7IkOCvS/7CNSVIBVbnKXCbm0cRwkrM3upWAvlo3QXHXtBmi04Ve4
Q4mjQAYdrJEIN+v2K2JL4Q+3JcHZVoYtJDmpSnJ3iV9ccUZN121p8WVfHkk5J/6bYN/JLg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[6z8yfZMFx](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/hEXhTwGGy60IG0ApzfAY5t5H2GzrkP4R>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 25 de abril de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO** que presenta el: **M. C. ALVARO FLORES JIMENEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. MANUEL DE JESÚS SAINZ AISPURO** y la codirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. VÍCTOR LÓPEZ MARTÍNEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209 Edificio 10-A
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

VICTOR LOPEZ MARTINEZ | Fecha:2023-04-27 07:40:34 | Firmante

WO/N54b20Dy2/IB0SgVUwxkU5r+4XUF8zai9zS0b46GksvesIMamoJOFUAoE7yxX1XJwOJSmxRZn8hPmJLld9rhK5TIfFLBFFrTGerjc8xWVoo8JXhqCpCkEa1SwdVG7CSLMS
YmH8uzYd8t7p7PloePCkfcrnO18LVmwA5czHxYAAxhHzl66mtaBjgQBvKe+sMrZ0pvexyrrrL5nQmfBE+wRgM2s9jm0VrgqDO07yNla/w8Gr5ur9565Hth9rRKKasu4NxxDoBbMyG
HNFgshJUkcoMPe9fZX0oui4aJRKmHoZgtVqVt4FMcrqaGdZOP4sylsllXLsbFUA0FQ/USw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



Ti93k6jmC

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/3FloKtAQGwXcaLwLmYnm5t8alYgqnDBX>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 25 de abril de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO** que presenta el: **M. C. ALVARO FLORES JIMENEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. MANUEL DE JESÚS SAINZ AISPURO** y la codirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. EDGAR MARTÍNEZ FERNÁNDEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209 Edificio 10-A
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

EDGAR MARTINEZ FERNANDEZ | Fecha:2023-04-27 09:07:11 | Firmante

BuacV2FplgYtyINACludN+r7Sn/Q3OxXQ6LoACvn0ifUZTX9fgrgav9QwTcllWSwOog3/GrLw43fhtkn+0cBn+EwbAiKBSeugXQTDam3F9PMtwMJ57eQoxEDJTfEni8m8M5oBzsNJQ/XHakx5BVndBu8YICQ4sO5s5+SWGUzswHEQEgFLu5Yiq+fB+2fQh08x5lXgabeg/3u4QHF2kr0S50s8vjaFK52ZILSaWSINGCJH2TlzX+wTsi7uQf40oMEjva0MZZ0ThyZf5OpefvHILXTTfoowFBA9g3W9S5S9xRPUbYQA69n27lqngkvXatLqgmzh8c4T5eB0gPp8lZ0g==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



3N8GgSIRH

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/z906hHEtObpkjr9F64a0qyo71jBw79EZ>





Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 25 de abril de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO** que presenta el: **M. C. ALVARO FLORES JIMENEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. MANUEL DE JESÚS SAINZ AISPURO** y la codirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DRA. ERIKA ROMÁN MONTES DE OCA
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209 Edificio 10-A
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ERIKA ROMAN MONTES DE OCA | Fecha:2023-04-26 19:11:44 | Firmante

LPRNTUUCDDdOM1V08PXt0lSiZQjXgg58lw/QgL2fGbcEQCY0WQ7pymcdN2ZmRDSPyQU4R2RplKt+kq7gWyJOv6uaV3fsYl/zen5MPbIG18PSNkZfkub2fviUrc3K3Q/P2cFeRDKVdU5lcHSg1ekmy3aFnyWmgNHkhiAqIYai0Qm97v7K/fo21fB2V+K43ZIQgMSf323bEp4Ewd/DYzNS09VJcylWcA6GS6wPU2+BUcmoc4HW/9T18xlatZYBABJZZQV2Jz1S284o34Fbg2FgeauZDN9Dr5KOHARoCZCZQ62z7FhTRbFH0tP46gWD68AXNMI65ZSgjn1aNojdd9Ly+A==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[SHRpnG7iA](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/xOnz3ZknzE0CGQuTyQW0I9wWqfyyP5hx>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dirección

Jefatura de Programas de Estudios de Posgrado

Cuernavaca, Morelos, 25 de abril de 2023

Asunto: Voto Aprobación de Tesis.

MTRO. JESÚS EDUARDO LICEA RESENDIZ
TITULAR DE LA DIRECCIÓN DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado: **DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Vanilla* spp. DEL CENTRO Y SURESTE DE MÉXICO** que presenta el: **M. C. ALVARO FLORES JIMENEZ**, mismo que fue desarrollado bajo la dirección del **DR. MANUEL DE JESÚS SAINZ AISPURO** y la codirección del **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DRA. CARMELA HERNÁNDEZ DOMÍNGUEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av, universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México 62209 Edificio 10-A
Tel (777)3297046, 3297000 Ext. 7046. fagropecuarias@uaem.mx



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

CARMELA HERNÁNDEZ DOMÍNGUEZ | Fecha:2023-04-26 18:59:22 | Firmante

bKf3ytvveLpAr4fqfRi9SrS6CioDdj1aBctjHJVpOIJtHwgRkN2OpXCKw6GyYuOKu2rRtJ6GARlBm23Np8uXfZrFJcDA3bJfCDiFaL7upAFtiGurXXkd3SRw0EztMifoYnIN4JSFhNZ2BQ9yJO1dhG/8K9bs6r/BU+6UbC7vhsWMddcC7W3o1KAqOkBV1NnlCd4qy/Y7htVEGqv3xT5IR1UGBmOhZrr/rflUyRXcwfPN3AuUPO0Px6arbmQAQKAVsFUOG95w07a4rwV/LUh9d9x/UQdluacsEQWY0KLD0G4tTQzosEEyABtYdb/h9h7U7sud9aa+VNfzcyj9i0WfPA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[sdgS7aKGj](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/jmNZ2aexaLUlemLvXU3YvQGD0kw1aWKh>

