



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y
PRODUCTIVIDAD

GENÉTICA

DIVERSIDAD GENÉTICA Y MORFOLÓGICA DE 10 RAZAS
DE MAÍZ NATIVAS DE LA REGIÓN NOROESTE DE
MÉXICO Y SUS RELACIONES FILOGENÉTICAS

ISRRAEL VEGA ÁLVAREZ

TESIS
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

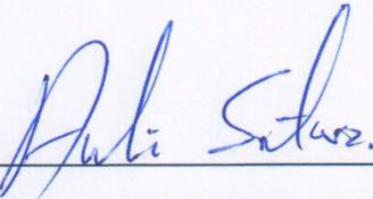
2015

La presente tesis titulada: “**Diversidad genética y morfológica de 10 razas de maíz nativas de la región noroeste de México y sus relaciones filogenéticas**”, realizada por el alumno **Israel Vega Alvarez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



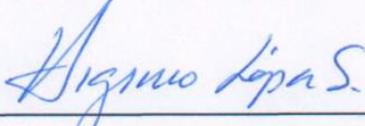
DR. AMALIO SANTACRUZ VARELA

ASESOR:



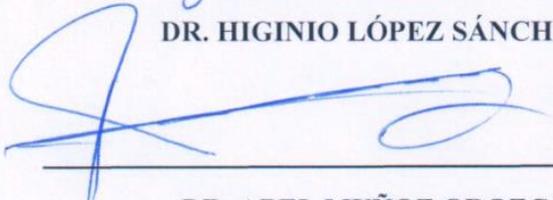
DR. LEOBIGILDO CÓRDOVA TELLÉZ

ASESOR:



DR. HIGINIO LÓPEZ SÁNCHEZ

ASESOR:



DR. ABEL MUÑOZ OROZCO

Montecillo, Texcoco, México, Abril de 2015

DIVERSIDAD GENÉTICA Y MORFOLÓGICA DE 10 RAZAS DE MAÍZ NATIVAS DE LA REGIÓN NOROESTE DE MÉXICO Y SUS RELACIONES FILOGENÉTICAS

Isrrael Vega Alvarez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2015

México es un territorio megadiverso y uno de los principales centros de domesticación de plantas cultivadas. La especie de mayor importancia cultural, social y económica es el maíz (*Zea mays* L.), con 59 razas nativas formadas en condiciones agroecológicas particulares. En la vertiente del Océano Pacífico se cultivan las razas, Blando de Sonora, Chapalote, Dulcillo del Noroeste, Elotero de Sinaloa, Jala, Onaveño, Reventador, Tabloncillo, Tabloncillo Perla y Vandeño. En estudios previos se han realizado caracterizaciones morfológicas de estas razas utilizando en promedio 3.5 accesiones de cada una, por lo que el número de accesiones no representa de forma adecuada la diversidad existente. Se realizó una caracterización morfológica utilizando un promedio de 8 accesiones por raza, y un análisis genotípico para cuantificar la diversidad y determinar relaciones filogenéticas y de similitud de las 10 razas. Se establecieron experimentos en Jala y Xalisco, Nayarit, usando un diseño experimental de látice simple 9×9 con dos repeticiones por localidad, en el que se midieron 19 caracteres fenotípicos; el análisis de varianza mostró amplia diversidad genética, con diferencias significativas entre genotipos para 18 de los 19 caracteres medidos. Para el análisis genotípico fueron utilizadas 110 accesiones y 31 loci de microsatélites; se detectó también una gran diversidad genética, con un total de 669 loci para un promedio de 21.9 alelos por locus y 80.9 % de loci polimórficos. La estructura poblacional se calculó con los estadísticos de F de Wright, resultando un valor de F_{ST} de 0.331. Los análisis multivariados mostraron que las poblaciones de razas procedentes de regiones con elevaciones bajas, tienden a una mayor dispersión debido a su mayor diversidad genética.

Palabras clave: *Zea mays* L., recursos fitogenéticos, diversidad genética, razas nativas, marcadores moleculares.

GENETIC AND MORPHOLOGICAL DIVERSITY OF 10 RACES OF MAIZE NATIVE TO THE NORTHWESTERN REGION OF MEXICO AND THEIR PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS

Isrrael Vega Álvarez, M.S.

Colegio de Postgraduados, 2015

Mexico is a mega-diverse country and one of the main centers of domestication of cultivated plants. The species of greatest cultural, social and economic importance is maize (*Zea mays* L.), with 59 native races originated in particular agro-ecological conditions. On the coastal plains of the Pacific seashore, races Blando de Sonora, Chapalote, Dulcillo del Noroeste, Elotero de Sinaloa, Jala, Onaveño, Reventador, Tabloncillo, Tabloncillo Perla and Vandeño are grown. Previous studies have been performed on morphologic characterizations of these races using 3.5 accessions of each race as an average, thus, the number of accessions does not adequately represents the extant diversity. Morphological characterization using an average of 8 accessions per race, along with genotypic analyses were performed to quantify diversity and determine phylogenetic and similarity relationships of the 10 races. Experiments were established at Jala and Xalisco, Nayarit using a simple 9×9 lattice as experimental design with two replications per location, in which 19 phenotypic characteristics were measured; the analysis of variance showed large genetic diversity, with significant differences among genotypes for 18 out of the 19 measured characters. For the genotypic analyzes 110 accessions and 31 microsatellite loci were used; also large genetic diversity was detected, with a total of 669 loci for an average of 21.9 alleles per locus and 80.9 % polymorphic loci. Population structure was calculated with Wright's F-statistics, resulting an F_{ST} value of 0.331. Multivariate analyzes showed that populations of races from areas with lower elevations tend to display greater dispersion due to their larger genetic diversity.

Key words: *Zea mays* L., plant genetic resources, genetic diversity, native races, molecular markers.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría.

Al Colegio de Postgraduados, que aportó los elementos para mi formación académica durante mi estancia.

A los integrantes del consejo particular: Dr. Amalio Santacruz Varela, Dr. Abel Muñoz Orozco, Dr. Higinio López Sánchez y Dr. Leobigildo Córdova Téllez por su orientación y sugerencias durante la realización de este trabajo, además de su disposición para la revisión del presente trabajo.

Al Dr. Mario Rocandio Rodríguez y a la Dra. Miriam Sánchez Vega por su colaboración en los análisis estadísticos.

CONTENIDO

RESUMEN GENERAL	ii
GENERAL ABSTRACT	iii
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. Planteamiento del problema	1
2. Objetivos.....	2
3. Hipótesis.....	2
4. Revisión de literatura.....	3
5. Bibliografía.....	13
CAPITULO I. ANALISIS DE DIVERSIDAD MORFOLÓGICA DE 10 RAZAS DE MAÍZ NATIVAS DEL NOROESTE DE MÉXICO	20
1.1. Resumen	20
1.2. Summary	21
1.3. Introducción	22
1.4. Materiales y métodos	23
1.5. Resultados y discusión	27
1.6. Conclusiones	35
1.7. Bibliografía.....	35
CAPITULO II. VARIACIÓN GENOTÍPICA ENTRE RAZAS Y POBLACIONES DE MAÍZ NATIVAS DEL PACIFICO NORTE DE MÉXICO	39
2.1. Resumen	39
2.2. Summary	40
2.3. Introducción	41
2.4. Materiales y métodos	43
2.5. Resultados y discusión	47
2.6. Conclusiones	56

2.7. Bibliografía.....	56
CONCLUSIONES GENERALES.....	62

LISTA DE CUADROS

		<u>Página</u>
Cuadro 1	Aporte genético, características distintivas y distribución geográfica de las 10 razas de maíz examinadas.....	7
Cuadro 1.1	Accesiones de maíz usadas en la caracterización morfológica.....	24
Cuadro 1.2	VARIABLES evaluadas y sus unidades de medición.....	25
Cuadro 1.3	Modelo estadístico usado en el análisis de varianza combinado.....	25
Cuadro 1.4	Cuadrados medios del análisis de varianza combinado a través de localidades	27
Cuadro 1.5	Valores de los componentes de la varianza para genotipos (σ^2_g), localidades (σ^2_l), interacción genotipo x localidades (σ^2_{gl}) y repetibilidad (r) de los caracteres medidos.....	29
Cuadro 1.6	Valores y proporción de la varianza explicada por los dos primeros componentes principales.....	30
Cuadro 2.1	Secuencias de iniciadores en loci de microsatélites, usadas para medir la diversidad genética en poblaciones de maíz nativas del noroeste de México.....	45
Cuadro 2.2	Razas de maíz y teocintle analizadas, número de accesiones y parámetros de diversidad genética calculados.....	49
Cuadro 2.3	Estadísticos F de Wright, que muestran la diferenciación entre individuos en una accesión (F_{IS}), entre accesiones en una raza (F_{ST}) y entre individuos en una raza (F_{IT}).....	50

LISTA DE FIGURAS

		<u>Página</u>
Figura 1.1	Distribución de 80 accesiones de maíz nativo procedentes de la región noroeste de México utilizando los dos primeros componentes principales. B: Blando del Noroeste; C: Chapalote; D: Dulcillo del Noroeste; E: Elotero de Sinaloa; J: Jala; O: Onaveño; R: Reventador; T: Tabloncillo; T: Tabloncillo Perla y V: Vandeño. AGR: Ancho de grano; AGRLGR: Ancho de grano/Longitud de grano; DMZ: Diámetro de la mazorca; DMZLMZ: Diámetro de la mazorca/Longitud de la mazorca; EGR: Espesor de grano; FF: Días a floración femenina; HMZ: Hileras de la mazorca; LGR: Longitud de grano; P100G: Peso de 100 granos.	31
Figura 1.2	Dendrograma elaborado con 80 accesiones de maíz nativas del noroeste de México, realizado por el método UPGMA con distancias euclidianas.....	34
Figura 2.1	Agrupamiento de 110 accesiones de maíz con base en los componentes principales uno dos y tres, calculados con las frecuencia de 262 alelos de SSR de las razas Blando de Sonora (Bl), Chapalote (Ch), Dulcillo del Noroeste (D), Elotero de Sinaloa (E), Jala (J), Onaveño (O), Reventador (R), Tabloncillo (T), Tabloncillo Perla (TP) y Vandeño (V); incluyendo las razas de teocintle Balsas (P) y Chalco (CH).....	52
Figura 2.2	Filograma de 110 poblaciones nativas de maíz pertenecientes a 10 razas de la vertiente del Pacífico, elaborado con el método de agrupamiento de Neighbor-Joining, usando distancias genéticas modificadas de Rogers, a partir de 262 alelos de SSR.....	54

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. Planteamiento del problema

El noroeste de México es la principal región productora de maíz; sobresaliendo el estado de Sinaloa, el cual aporta por sí solo un 16 % de la producción nacional (SIAP, 2015); sin embargo, dicha producción se basa principalmente en variedades mejoradas, cuya expansión representa un factor de presión para la subsistencia de los tipos nativos de este cultivo, representados en esta región principalmente por las razas Blando de Sonora, Chapalote, Dulcillo del Noroeste, Elotero de Sinaloa, Jala, Onaveño, Reventador, Tabloncillo, Tabloncillo Perla y Vandeño (Ortega *et al.*, 2013).

Existe necesidad de generar información abundante sobre las características fenotípicas y genotípicas de estas razas, pues si bien éstas han sido examinadas en investigaciones anteriores (Sánchez *et al.*, 2000; Reif *et al.*, 2006; González *et al.*, 2013; Pineda-Hidalgo *et al.*, 2013), las colectas han sido reducidas en número, de una cobertura geográfica limitada, con reducido número de marcadores moleculares, o utilizando marcadores de bajo polimorfismo como son las isoenzimas. La existencia de información robusta sobre las características de este grupo de razas es muy deseable y abre las posibilidades de que puedan ser utilizada en el establecimiento de programas de conservación y mejoramiento de estas importantes fuentes de germoplasma; además, es importante estructurar programas de conservación, ya que las razas Chapalote, Onaveño y Dulcillo de Sonora se consideran en peligro de extinción y Blando de Sonora, Jala y Elotero de Sinaloa en estatus de vulnerables (SAGARPA, 2008).

2. Objetivos

Objetivo general

- Conocer la variación de caracteres morfológicos y agronómicos de 10 razas de maíz nativas del oeste y noroeste de México, así como cuantificar la diversidad genética y determinar sus relaciones filogenéticas y de similitud utilizando marcadores moleculares.

Objetivos particulares

- Determinar el grado de variación de características morfológicas y agronómicas representativas de las razas del noroeste de México, así como identificar aquellas que mejor describan a este grupo de razas.
- Cuantificar la diversidad genética de las poblaciones de maíz mediante microsatélites e identificar las razas con mayor variabilidad.
- Dilucidar relaciones filogenéticas entre las razas de maíz estudiadas, usando el concepto de distancias genéticas estimadas con marcadores moleculares.

3. Hipótesis

- Existe una amplia diversidad morfológica y agronómica entre las accesiones de las razas del noroeste de México.
- A nivel molecular la variación genética existente en las razas de maíz del noroeste de México es amplia tanto entre como dentro de poblaciones y la distribución de la diversidad entre razas es desigual.

- Existe una relación de parentesco genético entre las poblaciones de las razas del noroeste de México, relacionada con la distancia geográfica, el flujo genético que haya tenido con poblaciones de otras razas y el tiempo de divergencia.

4. Revisión de literatura

4.1. Origen del maíz

Mesoamérica es considerado uno de los centros de origen de las plantas cultivadas más importantes, Vavilov (1932) reporta como sorprendente la diversidad varietal de especies domesticadas en este territorio. Las especies vegetales domesticadas en México han sido fundamentales para la vida humana (Perales y Aguirre, 2008), entre las que destacan el maíz (*Zea mays* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris*), chile (*Capsicum annuum*), calabaza (*Cucurbita moschata*), algodón (*Gossypium hirsutum*) y aguacate (*Persea americana*), entre otras (Vavilov, citado por Smith, 1966). Las condiciones que influyeron para generar esta diversidad fueron, la amplia variación geológica y el relieve accidentado, elementos que componen una extensa variedad de nichos ecológicos, además del gran número de etnias en todo el territorio.

En el caso específico del maíz, las teorías sobre el origen y su clasificación iniciaron con estudios formales desde 1748, cuando Linneo lo clasificó en el género *Zea*, sin tener modificaciones relevantes hasta el siglo XX cuando se incluyó al teocintle en el mismo género. Nikolai Vavilov propuso los centros de origen de las plantas cultivadas en 1926, en el que menciona que el teocintle era el pariente silvestre más cercano del maíz (Serratos, 2009). Los estudios para establecer el origen del maíz siguieron durante el siglo XX sin llegar a ser

concluyentes, debido en gran medida a la dificultad de explicar cómo la espiga del teocintle pudo originar a la mazorca del maíz, y a la abundante diversidad morfológica de maíces en todo el continente americano.

Las hipótesis más relevantes sobre el origen del maíz fueron: i) el maíz proviene del teocintle, ii) hipótesis del ancestro común, que sugiere que el maíz cultivado, el teocintle y el *Tripsacum* descienden de un ancestro común ya extinto, iii) hipótesis tripartita, propone que el maíz silvestre había sido una forma de maíz tunicado nativo de América del Sur, que el teocintle provenía del cruzamiento entre el maíz cultivado y el *Tripsacum*, y que las variedades modernas del maíz de Centro y Norte América eran producto del cruzamiento entre el maíz con *Tripsacum* o con teocintle y iv) hipótesis del anfidiplóide, que sugiere que el maíz $2n = 20$ se originó del cruzamiento de dos especies que tenían $2n = 10$, procedentes del sureste de Asia (Miranda, 2003).

La teoría predominante propone que el teocintle es el ancestro directo del maíz. Al respecto Matsuoka *et al.* (2002) demostraron, por medio de genotipo con microsatélites, que la divergencia del maíz se realizó en un solo evento hace aproximadamente 9,000 años en la cuenca del río Balsas, con un linaje monofilético derivado de *Zea mays* spp. *parviglumis*. Con respecto a la dispersión del maíz, Ortega *et al.* (2013) mencionan que ésta se presentó a través de cinco corredores, dos de ellos hacia el sur y tres de ellos hacia el norte. En el caso del norte, uno de los corredores fue a través de la planicie costera del océano Pacífico, el cual tuvo como base germoplásmica al complejo Chapalote y derivó en la generación de las razas del noroeste de México, objeto de estudio de la presente investigación.

4.2. Antecedentes de clasificación del maíz

Anderson y Cutler (1942) propusieron organizar la diversidad de maíces en torno al concepto de raza, definida como un grupo de individuos relacionados con suficientes características en común que permiten su reconocimiento como grupo. El primer estudio relevante para clasificar la diversidad de maíz en el mundo se realizó en México, en el que Wellhausen *et al.* (1951) describen 25 razas de maíz y 10 grupos catalogados como no bien definidos, tomando como base características morfológicas, fisiológicas, influencia del teocintle y nudos cromosómicos.

Durante sucesivas exploraciones se identificaron nuevas razas de maíz en diferentes regiones del territorio nacional, que fueron descritas mediante el uso de caracteres morfológicos y agronómicos. Una de las clasificaciones más completas en la que se incluyen las razas descritas en investigaciones anteriores, es la de Sanchez *et al.*, (2000), quienes mencionan 59 razas de acuerdo con la similitud de variables morfológicas y frecuencias de alelos de isoenzimas. Las 10 razas analizadas en el presente estudio fueron descritas por diferentes investigadores, Chapalote, Reventador, Tabloncillo, Tabloncillo Perla, Jala, Vandeno, Onaveño y Dulcillo del Noroeste por Wellhausen *et al.* (1951), Elotero de Sinaloa por Ortega (1979) y Blando de Sonora por Sanchez y Goodman (1992).

De acuerdo con el análisis filogenético de Matsuoka *et al.* (2002), las razas de maíz del noroeste de México fueron derivadas de poblaciones procedentes de dos regiones, Valles Altos de México, y Guatemala y sur de México. Estas razas fueron agrupadas en dos categorías, i) maíces de ocho hileras distribuidos en regiones de elevaciones bajas en el oeste y noroeste de México, en las que se incluye a Tabloncillo, Tabloncillo Perla, Blando de Sonora, Onaveño y Reventador, además de Jala asociada más distante, y ii) razas procedentes de elevaciones bajas y

medias, divididas a su vez en dos subgrupos, dentados tropicales que incluye a Vandeño, y de madurez precoz de distribución en planicies costeras del Pacífico que incluye a Chapalote, Dulcillo del Noroeste y Elotero de Sinaloa (Sanchez y Goodman, 1992; Sanchez *et al.*, 2000). En el Cuadro 1 se presentan las principales características de estas razas, su distribución y posibles progenitores que aportaron material genético para su formación.

4.3. Caracterización morfológica y molecular de las razas de maíz

La diferenciación de caracteres morfológicos en las plantas cultivadas se origina cuando se exponen a condiciones nuevas durante varias generaciones. Hay dos factores principales que definen la tendencia en las modificaciones, la naturaleza del organismo y la naturaleza de las condiciones ambientales (Darwin, 2004). De acuerdo con Wellhausen *et al.* (1951), y Matsuoka *et al.* (2002). los factores que originaron la formación de las razas de maíz en México fueron: mutaciones, selección de caracteres por agricultores, condiciones ambientales variables, aporte genético del teocintle *Zea mays ssp. parviglumis*, posible aporte genético de otros tipos de teocintle, y la hibridación entre razas.

La variedad de seres vivos dentro del planeta se denomina biodiversidad, mientras que la diversidad genética representa a la variación heredable dentro y entre poblaciones de las especies. La conservación de esta diversidad es primordial para el bienestar de la humanidad, por ello es muy relevante conocer su composición y distribución para saber qué y dónde conservar (Rao y Hodgkin, 2002). La caracterización morfológica se utiliza para examinar la diversidad genética, identificar plantas y conservar los recursos genéticos, y es el primer paso en los programas de mejoramiento y conservación (Hernández, 2013).

Cuadro 1. Aporte genético, características distintivas y distribución geográfica de las 10 razas de maíz examinadas

Raza	Aporte genético de:	Mazorca / Planta	Distribución / Elevación	Usos
Tabloncillo	Harinoso de Ocho y Reventador	Mazorca de longitud media, delgada cilíndrica, endospermo harinoso, suave, por lo regular blanco, también amarillo, anaranjado y ahumado / Precoces, de altura mediana 2.4 m, y abundante ahijamiento	Llanuras de Jalisco, llanuras costeras de Nayarit, costa de Sonora y Baja California / 0 - 1,500 msnm	Tortillas, botanas, pinole, bebida (piznate), pozole y elotes
Tabloncillo Perla	Tabloncillo	Alargada y elíptica, similar a la de Tabloncillo, grano de textura cristalina	Áreas de temporal en Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima y sur de Michoacán, también norte de Sonora y Baja California Sur / Elevaciones bajas, menores a 1,000 msnm	Tortillas, pinole, elotes y botanas
Blando de Sonora	Chapalote y Reventador sobre Harinosos de Ocho	Mazorca semicilíndrica; grano blanco, suave y harinoso	Sonora y Sinaloa también en Durango, Chihuahua y Nayarit, preferentemente en climas áridos y semiáridos / 500 msnm	Tortillas, galletas (coricos), atole, pozole y elotes
Onaveño	Reventador y Blando de Sonora	Grano cristalino, color blanco y amarillo / Plantas ahijadoras	Sonora, Sinaloa, Baja California Sur, Nayarit y Michoacán / En zonas bajas, a 800 msnm	Tortillas, botanas y pinole
Reventador	Chapalote, teocintle	Mazorca larga, delgada, de forma elipsoide con granos pequeños, cortos, redondos y lisos / Plantas cortas de 1.5 m	Tierras bajas de Sonora, Nayarit y a lo largo de la costa hasta Guerrero / 0 a 1,500 msnm, pero mejor adaptación en zonas bajas	Palomitas y pinole

Raza	Aporte genético de:	Mazorca / Planta	Distribución / Elevación	Usos
Chapalote	Descendiente de maíz primitivo reventador tunicado	Mazorca con longitud de corta a mediana, delgada y de forma elipsoide, endospermo color café / Altura media con abundante ahijamiento y precoces	Sonora y Sinaloa / 100 a 600 msnm pero se adapta hasta 2,200	Tortillas, palomitas, botanas, pinole y elote
Dulcillo del Noroeste	Hibridación entre Maíz Dulce y Reventador	Mazorca en forma de puro, con granos dulces (por su contenido de sacarosa), al madurar dan una apariencia rugosa, de coloraciones amarillo y rojo	Sonora, Sinaloa y también en Nayarit, Durango y Chihuahua / tierras bajas y áridas del trópico /400 msnm	Tortillas, pinole, elotes
Elotero de Sinaloa	Probablemente derivado de Chapalote, con alguna influencia de Blando de Sonora o Harinoso de Ocho	Mazorca alargada, semielíptica; grano azul, textura de harinosa a semicristalina	Sinaloa, Jalisco, Nayarit, Colima, Michoacán y Guerrero / Regiones aledañas a la costa del Pacífico	Elotes, tortillas
Jala	Derivado de Comiteco con intervención de Tabloncillo	Mazorcas muy largas, anchas y cilíndricas, endospermo de color blanco / Plantas muy altas de 4 a 5 m, muy tardío	Valle de Jala, Nayarit / 1,000 msnm	Tortillas, botana, pozole, pinole y elote
Vandeño	Tuxpeño y Zapalote Grande	Mazorcas medianamente cortas y medianamente gruesas, cilíndricas, grandes dentado y endospermo color blanco / Altura mediana de 2.5 a 3 m, con periodo vegetativo mediano y escaso ahijamiento	Es la más frecuente en la costa del Pacífico / 0 a 500 msnm	Tortillas, botanas y harinas

Elaboración propia, a partir de: Wellhausen *et al.* (1951), Santacruz-Varela *et al.* (2004) Fernández *et al.* (2013), CONABIO (2015)

La variabilidad detectable visualmente en especies de plantas cultivadas se divide en dos categorías primordiales, la clasificación botánica o taxonómica que mide las variables morfológicas y de arquitectura de la planta, y las agronómicas que están relacionadas con el manejo y producción de la especie (Hidalgo, 2003). Las variables usadas en la clasificación de Wellhausen *et al.*, (1951) fueron morfológicas y agronómicas, 48 y 3, respectivamente, con un número limitado de accesiones por raza, para Chapalote 1, Reventador 2, Tabloncillo 6, Tabloncillo Perla 3, Jala 3 y Vandeño 7, lo que difícilmente representa la diversidad existente.

En el estudio de Sanchez y Goodman (1992) se utilizó taxonomía numérica de 47 caracteres morfológicos, con la finalidad de mejorar la clasificación de razas de México, y como resultado las razas no bien definidas hasta ese momento fueron asignadas a grupos precisos, pero persistió el inconveniente de baja representatividad, con un promedio de 3.2 colecciones de las razas examinadas en el presente estudio. Posteriormente, Sanchez *et al.* (2000), determinaron interrelaciones y diversidad genética entre 59 razas de maíz con 37 loci de isoenzimas y 47 caracteres morfológicos, también con un promedio de 3.5 accesiones por raza.

Referente a la variación en la caracterización molecular, Emile Zuckerkandl y Linus Pauling estimaron que la tasa de cambio evolutivo en las secuencias de ADN es constante a lo largo del tiempo y en diferentes linajes, y se refirieron a este fenómeno como el modelo teórico del reloj molecular (Morgan, 1998). Esta teoría fue retomada por Motoo Kimura, quien observó que los errores espontáneos en la replicación de ADN provocan mutaciones y originan evolución molecular, posteriormente comprobaron que la tasa de cambio no era constante en todos los casos (Kimura, 1968).

Los factores que determinan los cambios en las frecuencias alélicas son la mutación recurrente que puede aumentar la frecuencia de alelos mutantes, la selección por supervivencia y fertilidad, además de caracteres favorables elegidos por los agricultores; el flujo genético o migración que es el movimiento de individuos, ligada a la introducción de genes de una población a otra, la recombinación genética que no da origen a diversidad, sino que genera nuevas combinaciones de entre los alelos existentes, y la deriva genética que son cambios aleatorios que generalmente llevan a la disminución de la diversidad debido a la pérdida de alelos poco frecuentes (Cabrero y Camacho, 2002).

Los marcadores mayormente utilizados a inicios del siglo XXI en el análisis molecular son microsatélites o SSR (Simple sequence repeat), que son secuencias cortas de ADN distribuidas casi de forma aleatoria en todo el genoma, en las que un fragmento se repite de manera consecutiva, con un tamaño de dos hasta seis pares de bases (Schlötterer, 2000), se ubican con frecuencia en zonas no codificantes, son polimórficos y codominantes. Se usan para crear mapas de ligamiento (Ohashi y Tokunaga, 2003), para localizar loci de caracteres cuantitativos (QTL) (Sibov *et al.*, 2003) y en el análisis de diversidad genética (Vigouroux *et al.*, 2005), entre otros.

Vigouroux *et al.* (2002) estimaron la tasa de mutación para 142 loci de microsatélites de maíz y encontraron que ésta fue de 7.7×10^{-4} para microsatélites dinucleótidos en cada generación, y de 5.2×10^{-4} a 1.1×10^{-3} para microsatélites unidades repetitivas de más de dos pares de bases, la estimación para dinucleótidos se encuentra en la mitad de la amplitud de valores reportado para otros organismos. Respecto a la selección de caracteres favorables, Vigouroux *et al.* (2005) reportan diferencias entre el teocintle y el maíz cultivado en número de alelos y diversidad génica, en el teocintle 11.8 alelos y una diversidad de 0.74, mientras que en el maíz 9 alelos y diversidad de 0.64. Le Clerc *et al.* (2005) cuantificaron la diversidad génica en

113 variedades de maíz cultivadas en Francia durante las cinco últimas décadas agrupadas en cuatro periodos, encontraron que el número de alelos por locus presentó una disminución con los siguientes valores, 4.5, 3.6, 3.9 y 3.6 respectivamente, mientras que en diversidad génica observaron valores similares en los tres primeros periodos y la más alta en el último.

El estudio de la diversidad genética de algunas de las razas de maíz examinadas en la presente investigación por medio de microsatélites, ha sido reportado por otros grupos de investigadores, pero con restricciones en número de accesiones, marcadores y una reducida área geográfica de colecta, y por tanto representan de forma limitada la diversidad. Reif *et al.* (2006) examinan con 25 marcadores SSR cuatro de las razas analizadas en el presente estudio con una accesión por raza; Pineda-Hidalgo *et al.* (2013) caracterizaron sólo razas de Sinaloa con 20 marcadores SSR, Chapalote, Dulcillo del Noroeste y Reventador con una accesión, Blando de Sonora 2, Elotero de Sinaloa 3, Tabloncillo Perla una, y Tabloncillo 8; mientras que González *et al.* (2013) reportaron valores bajos de diversidad en siete de las mismas razas examinadas en el presente estudio.

4.4. Análisis de la información

En genética de poblaciones hay conceptos que separan la variación en diferentes fracciones para estimar la diferenciación y estructura de las poblaciones, que se basan en la comparación de las frecuencias alélicas. Para estimar la proporción de variación que se encuentra dentro y entre las poblaciones, frecuentemente se utilizan los estadísticos F de Wright (1965), que pueden ser definidos como niveles de endogamia estimada a través de la correlación entre genes homólogos elegidos de un nivel de subdivisión en relación con el de otros niveles; así, la correlación entre genes de individuos y los de la población total son calculados por F_{IT} que corresponde a la

endogamia total, la correlación entre los genes de individuos y la subpoblación a la que pertenecen es representada por F_{IS} y mide la endogamia generada por la cruce entre parientes de una población, y la correlación entre genes de la subpoblación y la población total se mide con F_{ST} que es el balance entre deriva génica y flujo, y representa una forma directa de determinar estructura poblacional (Piñero *et al.*, 2008).

El análisis de estructura de poblaciones puede ser calculado de diferentes formas equivalentes a F_{ST} , Wright (1965) la definió para un locus con dos alelos, mientras que Nei (1973) amplió la fórmula para incluir un número ilimitado de alelos por loci, que denominó G_{ST} . Posteriormente fue desarrollado el coeficiente de coancestría, representado normalmente por θ , que es un algoritmo que realiza la partición de la varianza (Cockerham, 1973). Por último, el análisis AMOVA (Analysis of Molecular Variance) sirve para estimaciones de la partición de la varianza a varios niveles, pero es de mayor utilidad para marcadores dominantes (Holsinger y Wallace, 2004).

El análisis de componentes principales es un análisis multivariado que estima la estructura de correlación de las variables, ya que permite seccionar la información contenida en un conjunto de variables de interés y las convierte en nuevas variables independientes que reagrupan la variación de manera descendente en importancia en estas nuevas variables. Es útil para encontrar relaciones entre variables y unidades experimentales, en este caso sirve para representar los datos en un espacio de dimensión pequeña y observar la similaridad entre subgrupos (Peña, 2002); además, indica la importancia de una variable en el modelo, descrita por el tamaño de su varianza residual, y puede ser utilizado para selección de variables (Wold *et al.*, 1987).

Por otro lado, la distancia genética mide el grado de diferenciación entre pares de poblaciones. La más conocida es la distancia genética de Nei (1975), que muestra el número de mutaciones en diferentes alelos de dos poblaciones, a partir del tiempo de divergencia de éstas, y puede ser utilizada para construir genealogías mediante métodos de agrupamiento como el Unweighted Pair-Groups Method with Arithmetic Averages (UPGMA) o Neighbor-joining (Piñero *et al.*, 2008). El método de Neighbor-joining es también llamado el método de agrupamiento de vecinos, y se utiliza para la reconstrucción de árboles filogenéticos a partir de datos de distancia genética, se basa en encontrar pares de unidades taxonómicas con la mínima diferencia, y bajo este supuesto se construye el resto del árbol (Saitou y Nei. 1987).

5. Bibliografía

Anderson, E., and H. C. Cutler (1942) Races of zea mays: I. Their recognition and classification. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 29:69-88.

Cabrero J. y J. P. M. Camacho (2002) Fundamentos de genética de poblaciones. *In: Evolución, la Base de la Biología.* M. Soler (ed). Ed. Proyecto Sur de Ediciones S L. Granada, España. pp: 83-126.

Cockerham C. C. (1973) Analyses of gene frequencies. *Genetics* 74: 679-700.

CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad) (2015) Biodiversidad Mexicana. Razas de maíz en México. Disponible en: <http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/maices/razas2012.html> (Consultado Marzo 2015).

Darwin, C. (2004) El Origen de las Especies. Traducido de la versión en inglés 1959 por Antonio de Zulueta. Amertown International, Libros en red. Disponible en: <http://www.rebelion.org/docs/81666.pdf>. 462 p. (Consultado marzo 2015).

Fernández S., R., L. A. Morales C. y A. Gálvez M. (2013) Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36: 275-283.

Hidalgo R. (2003) Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. In: Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Franco, T. L. y R. Hidalgo R. (eds). Boletín Técnico IPGRI No. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Cali, Colombia. 94 p.

González C., M. E., N. Palacios R., A. Espinoza B. y C. A. Bedoya S. (2013) Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(Supl 3-A): 329-338.

Hernández V., A. E. (2013) Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. *Revista Bio Ciencias* 2: 113-118.

Holsinger K. E. and L. E. Wallace (2004) Bayesian approaches for the analysis of population genetic structure: An example from *Platanthera leucophaea* (Orchidaceae). *Molecular Ecology* 13:887-894.

Kimura M. (1968) Evolutionary rate at the molecular level. *Nature* 217: 624-626.

- Le Clerc V., F. Bazante, C. Baril, J. Guiard y D. Zhang (2005)** Assessing temporal changes in genetic diversity of maize varieties using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 110:294-302.
- Matsuoka Y., Y. Vigouroux, M. M. Goodman, J. Sanchez, E. Buckler and J. Doebley (2002)** A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 6080-6084.
- Miranda C., S. (2003)** El origen genético y geográfico del maíz (*Zea mays* L.). In: Centli maíz. A Muñoz O (ed). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. De México. pp: 147-159.
- Morgan G. J. (1998)** Emile Zuckerkandl, Linus Pauling, and the molecular evolutionary clock, 1959-1965. *Journal of the History of Biology* 31: 155-178.
- Nei, M. (1975)** *Molecular Population Genetics and Evolution*. North-Holland Research Monographs *Frontiers of Biology*. Vol 40. North-Holland Publishing Company. New York. 288 p.
- Ohashi J. and K. Tokunaga (2003)** Power of genome-wide linkage disequilibrium testing by using microsatellite markers. *Journal of Human Genetics* 48:487-491.
- Ortega P., R. (1979)** Reestudio de las razas mexicanas de maíz. Informe Anual. Campo Agrícola Experimental de la Mesa Central. INIA, Chapingo, México.
- Ortega C., A., M. J. Guerrero H., R. E. Preciado O. y O. Cota A (2013)** Razas de maíz: relaciones filogenéticas y geográficas, In: *Diversidad y Distribución del Maíz Nativo y sus Parientes Silvestres*. Ortega C., A., M. J. Guerrero H. y R. E. Preciado Ortiz (eds.). Editorial del Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. pp:21-43.

- Peña D. (2002)** Análisis de Datos Multivariantes. Mac Graw-Hill Interamericana de España. Madrid. pp: 133-158.
- Perales R., H. R. y J. R. Aguirre R. (2008)** Biodiversidad humanizada. *In: Capital Natural de México. Vol. I. Conocimiento Actual de la Biodiversidad.* Soberón, J., G. Halffter y J. Llorente-Bousquets (Comps.). CONABIO. México, D.F. pp: 565-603.
- Pineda-Hidalgo K. V., K. P. Méndez-Marroquín, E. Vega-Alvarez, J. Chávez-Ontiveros, P. Sánchez-Peña, J. A. Garzón-Tiznado, M. O. Vega-García and J. A. López-Valenzuela (2013)** Microsatellite-based genetic diversity among accessions of maize landraces from Sinaloa in Mexico. *Hereditas* 150: 53-59.
- Piñero D., A. Barahona, L. Eguiarte, A. Rocha O. y R. Salas L. (2008)** La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. *In: Capital natural de México, vol. I: Conocimiento Actual de la Biodiversidad.* Soberón, J., G. Halffter y J. Llorente-Bousquets (Comps.). CONABIO. México, D.F. pp: 415-435.
- Rao, R. y T. Hodgkin (2002)** Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 1-19.
- Reif J., M. L. Warburton, X. C. Xia, D. A. Hoisington, J. Crossa, S. Taba, J. Muminovic, M. Bohn, M. Frisch and A. E. Melchinger (2006)** Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 113:177-185.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) (2008)** Integración de la Red Maíz. Agrobiodiversidad en México: el caso

- del maíz. Dirección de Economía Ambiental, INE, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, CONABIO, Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura, SAGARPA. México, D. F. pp: 50-64.
- Saitou M. and M. Nei (1987)** The Neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Sánchez G., J. J. (1991)** Relationships among the Mexican races of maize. Tesis Ph.D., North Carolina State University, Raleigh. N. C. 187p.
- Sanchez G., J. J. and M. M. Goodman (1992)** Relationships among the Mexican races of maize. *Economic Botany* 46: 72-85.
- Sanchez G. J. J., M. M. Goodman and W. Stuber (2000)** Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54: 43-59.
- Santacruz-Varela A., M. P. Widrechner, K. E. Ziegler, R. J. Salvador, M. J. Millard and P. K. Bretting (2004)** Phylogenetic relationships among North American popcorns and their evolutionary links to Mexican and South American popcorns. *Crop science* 44:1456-1467.
- Schlötterer C. (2000)** Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma* 109:365-371.
- Serratos H., J. A. (2009)** El Origen y la Diversidad del Maíz en el Continente Americano. Greenpeace México. México, D.F. 33 p.

SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2015) Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. México, D. F. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/> (Consultado Marzo 2015).

Sibov S. T., C. Lopes S. Jr., A. A. Franco G., A. Rezende S., A. Franco G., C. Aparecida M., L. Lasry B. and A. Pereira S. (2003) Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. *Hereditas* 139: 107-115.

Smith C. E. Jr. (1966) The New World centers of origin of cultivated plants and the archaeological evidence. *Economic Botany* 22:253-266.

Vavilov N. I. (1932) The process of evolution in cultivated plants. *In: Proceedings of the Sixth International Congress of Genetics. Vol. I. Transactions and General Addresses.* D. F. Jones (ed). Ithaca, New York. pp: 331-342.

Vigorous Y., J. S. Jaqueth, Y. Matsuoka, O. S. Smith, W. D. Beavis, J. S. C. Smith and J. Doebley (2002) Rate and pattern of mutation at microsatellite loci in maize. *Molecular Biology and Evolution* 19:1251-1260.

Vigorous Y., S. Mitchell, Y. Matsuoka, M. Hamblin, S. Kresovich, J. S. C. Smith, J. Jaqueth, O. S. Smith and J Doebley (2005) An analysis of genetic diversity across the maize genome using microsatellites. *Genetics* 169: 1617-1630.

Wellhausen E. J., L. M. Roberts, y E. Hernández X. (1951) Razas de maíz en México. Su origen, características y distribución. Folleto Técnico Núm. 5. Oficina de Estudios Especiales. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D.F. 237 p.

Wold S., K. Esbensen and P. Geladi (1987) Principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 2: 37-52.

Wright S. (1965) The interpretation of populations structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.

CAPÍTULO I

ANÁLISIS DE DIVERSIDAD MORFOLÓGICA DE 10 RAZAS DE MAÍZ NATIVAS DEL NOROESTE DE MÉXICO¹

1.1. Resumen

Las razas de maíz nativas de México representan un recurso muy importante que no ha recibido la atención adecuada y en la mayoría de los casos esta subutilizado, como resultado, el número de razas en las que se han realizado estudios de diversidad seguidos de programas sólidos de mejoramiento y conservación es reducido; aunado a ello, en el noroeste de México tres de las razas descritas se reportan como vulnerables y tres más en peligro de extinción. Para contribuir al conocimiento de las razas nativas de maíz, fueron caracterizadas 80 accesiones de las razas Blando de Sonora, Chapalote, Dulcillo del Noroeste, Elotero de Sinaloa, Jala, Onaveño, Reventador, Tabloncillo, Tabloncillo Perla y Vandeyo. El estudio tuvo como objetivos, caracterizar la diversidad morfológica de las principales razas de maíz del noroeste de México, identificar los caracteres que determinan la variación entre razas, y conocer las relaciones de similitud entre poblaciones. Se establecieron experimentos en Jala y Xalisco, Nayarit, con 80 accesiones de las razas mencionadas en diseño de látice simple 9×9 con dos repeticiones. Se midieron 19 caracteres vegetativos y morfológicos. El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre genotipos en la mayoría de los caracteres, lo que denota amplia diversidad fenotípica. Por medio de análisis multivariado las accesiones se agruparon por raza en la mayoría de los casos, influyendo en mayor medida los caracteres de mazorca y grano.

Palabras clave: *Zea mays* L., diversidad genética, razas nativas, recursos fitogenéticos.

¹ Manuscrito preparado en formato de artículo científico para su publicación en revista indexada.

1.2. Summary

Maize races native to Mexico represent a very important resource that has not received adequate attention and in most cases is underutilized, as a result, the number of races in which there have been studies of diversity followed by solid breeding and conservation programs is reduced; in addition, in Northwester Mexico three of the races described are reported as vulnerable and three as endangeres. To contribute to the knowledge of the native races of maize, 80 accessions of races Blando de Sonora, Chapalote, Dulcillo del Noroeste, Elotero de Sinaloa, Jala, Onaveño, Reventador, Tabloncillo, Tabloncillo Perla and Vandeno were characterized. The study aimed to characterize the morphological diversity of the major races of maize in Northwestern Mexico, to identify the characters that determine the variation between races, and understand the relationships of similarity between populations. Experiments were established with 80 accessions of the mentioned races at Jala and Xalisco, Nayarit under a 9×9 simple lattice experimental design with two replications. Twenty-nine vegetative and morphological traits were recorded. The analysis of variance showed highly significant differences between genotypes in most traits. Through multivariate analysis accessions were grouped by race in most cases, mainly influenced by traits related to ear and kernel.

Key words: *Zea mays* L, genetic diversity, native races, plant genetic resources.

1.3. Introducción

En México han sido identificadas más de 59 razas de maíz (*Zea mays* L) nativo, vinculadas en sus orígenes a grupos étnicos específicos y a regiones agroecológicas de condiciones particulares. Estas razas presentan una gran diferenciación de caracteres morfológicos (Muñoz, 2003), además de distintas características físicas y propiedades nutraceuticas en el grano (Vázquez *et al.*, 2003; Salinas *et al.*, 2012). Así mismo, el maíz es el cultivo de mayor importancia social, cultural y económica en México, ya que ocupa el 53% de la superficie sembrada del territorio nacional (SIAP, 2015), y es producido por 2 millones de agricultores que lo usan en su mayoría para autoconsumo (Mera, 2009), en donde destaca la semilla de razas nativas que es sembrada por el 75% de los agricultores de México (Espinosa *et al.*, 2009).

La comprensión de la variación de los caracteres morfológicos está relacionada con factores primigenios, que incluyen el origen de cada raza atribuido a la aportación genética de sus progenitores, al vigor híbrido generado por las cruces, a la introducción de características y variaciones debido al aporte genético del teocintle (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) (Wellhausen *et al.*, 1951), a las condiciones climáticas en donde fueron formadas y se cultivan en la actualidad (Ruiz *et al.*, 2008) y a la selección de caracteres favorables realizada por los agricultores a través de varias generaciones (Ortega, 2003).

La caracterización morfológica de recursos fitogenéticos es la primer etapa en los programas de mejoramiento y conservación de plantas cultivadas (Hernández, 2013), y de gran relevancia para este estudio, ya que tres de las razas examinadas se encuentran en peligro de extinción y tres en estatus de vulnerables (SAGARPA, 2008). Wellhausen *et al.* (1951) midieron caracteres morfológicos y agronómicos en seis de las razas caracterizadas en la presente investigación, representadas por 3.8 colecciones en promedio, Sanchez y Goodman (1992) en 9 de las razas con

un promedio de 3.2 colecciones, y Sanchez *et al.* (2000) en las diez razas con un promedio de 3.5 accesiones. Es evidente que el número de muestras analizadas en los estudios mencionados no representan la diversidad existente de forma adecuada, por ello se realizó la caracterización morfológica de estas razas, representadas por un mayor número de accesiones para obtener caracteres distintivos de estos genotipos nativos.

De las razas estudiadas, la raza Jala es muy singular debido a la gran longitud de mazorca registrada en décadas anteriores, y parece que es por esta razón que se han elaborado el mayor número de estudios especiales de determinación de diversidad fenotípica (Aguilar-Castillo *et al.*, 2006) y selección de germoplasma para mejoramiento genético (Wellhausen, 1966). Los objetivos de la presente investigación fueron analizar la diversidad morfológica de las razas nativas de maíz más comúnmente sembradas en la región noroeste de México, determinar los caracteres que definen la variación de la diversidad fenotípica de las razas examinadas, además de conocer las relaciones de similitud entre poblaciones.

1.4. Materiales y métodos

1.4.1. Material genético

Se utilizaron 80 accesiones de maíz representativas de 10 razas nativas del noroeste de México (Cuadro 1.1). Las semillas fueron proporcionadas por los bancos de germoplasma del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo y del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

Cuadro 1.1. Accesiones de maíz usadas en la caracterización morfológica

Raza	Accesiones
Blando de Sonora	Naya 46, Sin 61, Sina 7, 17, Sono 117
Chapalote	Dura 112, Naya 15, Sina 2, 6, 19, 35, 62, 65, 113, 139, Sin 2, 6, 139
Dulcillo del Noroeste	Chih 235, Naya 9, 47, Sin 33, 34, Sina 25, 26, 33, 34, 40, 53, 79, 117, 125, Sono 140
Elotero de Sinaloa	Naya 32, Sono 125
Jala	Naya 206, x, x
Onaveño	Quer 12, Sin 25, Sono, 24, 40, 42, 114, 130, 155, 156, 184
Reventador	Dura 113, Naya 24, 39, 41, Sina 55, 56, 60, 98, 107, 108, 119, Sono 37, 87, 143
Tabloncillo	Bacs 4, Chih 228, 236, Dur 102, 130, 144, 147, Jali 227, 506, Naya 188, Snlp 41, 44, Sono 104
Tabloncillo Perla	Dura 136, 171, Naya 12, 16
Vandeño	Chih 291

1.4.2. Sitios experimentales

Se establecieron experimentos durante el ciclo primavera-verano de 2010 en las localidades Jala y Xalisco en el estado de Nayarit. Jala está ubicado a 21° 06' 27.43" latitud norte y a 104° 26' 9.52" longitud oeste, a una elevación de 1,070 msnm, tiene un clima (A)C(wo) que corresponde a semicálido subhúmedo, con temperatura y precipitación media de 23° C y 886 mm. Por su parte, Xalisco se ubica a 21° 27' 58.12" de latitud norte y 104° 53' 9" de longitud oeste, a una elevación de 959 msnm, con clima Aw2 que corresponde a cálido subhúmedo con temperatura y precipitación media de 21.1°C y 1,451 mm (SMN, 2009).

1.4.3. Diseño experimental y caracteres evaluados

El diseño experimental fue látice simple 9 × 9 con dos repeticiones. La unidad experimental estuvo compuesta por dos surcos de 5 m de longitud y 0.85 m de ancho. La distancia entre plantas fue de 0.5 m con 2 plantas por mata, que corresponde a una densidad de población de 47,200 plantas ha⁻¹. Los caracteres cuantificados se enlistan en el Cuadro 1.2. Para las

mediciones que requirieron solo una muestra de cada unidad experimental, se eligieron 6 plantas al azar con competencia completa, para el resto se usaron 20 plantas.

Cuadro 1.2. Variables evaluadas y sus unidades de medición

Caracteres vegetativos y fenológicos: Altura de planta (cm), altura de mazorca (cm), altura de mazorca/altura de planta, hojas totales, días a floración femenina

Caracteres de la espiga: Longitud de la espiga (cm), longitud del tramo ramificado de la espiga (cm), ramas primarias de la espiga, longitud del tramo ramificado de la espiga/longitud de la espiga

Caracteres de la mazorca: Longitud de la mazorca (cm), hileras de la mazorca, diámetro de mazorca (cm), longitud de la mazorca/diámetro de la mazorca, diámetro de olote (cm)

Caracteres de grano: Ancho de grano (mm), longitud de grano (mm), espesor de grano (mm), ancho de grano/longitud de grano, peso de 100 granos (g)

1.4.4. Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza combinado a través de localidades (Cuadro 1.3) utilizando el modelo de bloques completos al azar, debido a que el látice simple no mostró eficiencia, fue utilizado el paquete SAS Versión 9.0 (SAS Institute, 2002); además, y se obtuvieron los factores de variación para cada uno de los caracteres evaluados.

Cuadro 1.3. Modelo estadístico usado en el análisis de varianza combinado

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios	Esperanza de cuadrados medios
Localidades (Loc)	l - 1	CML	$\sigma^2_e + g \sigma^2_{r(l)} + r g \sigma^2_l$
Rep / Loc	l (r-1)	CMRL	$\sigma^2_e + g \sigma^2_{r(l)}$
Genotipos (Gen)	g-1	CMG	$\sigma^2_e + r \sigma^2_{g \times l} + l r \sigma^2_g$
Gen × Loc	(g-1) (l-1)	CMG×L	$\sigma^2_e + r \sigma^2_{g \times l}$
Error	l (r-1) (g-1)	CME	σ^2_e
Total	rgl-1		

l: número de localidades; r: número de repeticiones en cada localidad; g: número de genotipos; σ^2_e : varianza del error; $\sigma^2_{r(l)}$: varianza de la repetición anidada a la localidad; σ^2_g : varianza genética; σ^2_l : varianza de localidades; $\sigma^2_{g \times l}$: varianza de la interacción genotipo por localidad.

Después se realizó una selección de variables por medio del método descrito por Goodman y Paterniani (1969), en donde se eligieron las variables con coeficiente de repetibilidad $r > 1$, estimadas por medio $r = [\sigma^2_g / (\sigma^2_l + \sigma^2_{gl})]$ en donde σ^2_g y σ^2_l son los componentes de varianza de genotipos y localidades y σ^2_{gl} es el estimador de componentes de varianza de la interacción entre genotipos y localidades. Los componentes de varianza se obtuvieron de los cuadrados medios del análisis de varianza, con el siguiente modelo:

$$\sigma^2_g = [\text{CMG} - \text{CMG} \times \text{L}] / r_l$$

$$\sigma^2_l = [\text{CML} - \text{CMRL}] / r_g$$

$$\sigma^2_{gl} = (\text{CMG} \times \text{L} - \text{CME}) / r$$

Los caracteres con coeficientes de repetibilidad mayores a 1.0 se consideraron como útiles para los análisis multivariados, ya que en estos las diferencias entre accesiones se deben mayormente al componente genético, mientras que los caracteres con valores menores a uno son más influenciados por efectos ambientales y de interacciones. Los promedios generales de las variables elegidas, fueron utilizados para realizar un análisis de componentes principales, por medio de una matriz de correlaciones. También se realizó un análisis de conglomerados con datos estandarizados de la distribución normal (0,1), por medio de las distancias euclidianas y el método de ligamiento promedio UPGMA. Ambos análisis se efectuaron con el programa NTSYS Spc V.2.21 (Rohlf, 2009).

1.5. Resultados y discusión

1.5.1. Análisis de varianza

El análisis de varianza mostró la existencia de diferencias significativas entre genotipos para los caracteres medidos, con excepción de diámetro de olote, en el que no hubo diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los factores de variación (Cuadro 1.4).

Cuadro 1.4. Cuadrados medios del análisis de varianza combinado a través de localidades

Variable	Genotipo	Localidades	Gen x Loc	Error
Altura de planta	7565.67**	1985980**	3371.32**	740.497
Altura de mazorca	3802.04**	87027.5**	1884.36**	390.461
Altura de mazorca/Altura de planta	0.02555**	1.8156**	0.0181**	0.0062
Hojas totales	18.833**	1726.85**	8.64**	1.8085
Días a floración femenina	307.315**	554.89**	106.47**	8.299
Longitud de espiga	128.716**	2393.96**	71.31**	27.694
Ramas primarias de la espiga	42.1753**	5082.103**	22.059**	9.525
Longitud del tramo ramificado de la espiga	36.1291**	-	-	12.686
Longitud del tramo ramificado de la espiga/Longitud de espiga	0.01791**	-	-	0.0083
Longitud de mazorca	59.184**	1323.18**	19.26**	6.499
Diámetro de mazorca	3.204**	5.468**	0.3011**	0.1221
Longitud/Diámetro de mazorca	12.6997**	57.318**	1.1592**	0.6273
Hileras de la mazorca	75.7149**	82.025**	4.489**	2.802
Diámetro de olote	25.9026ns	18.93ns	25.0704ns	26.72
Ancho de grano	36.4744**	40.185**	1.348**	0.8961
Longitud de grano	25.239**	69.592**	2.2515**	1.323
Espesor de Grano	3.2698**	8.323*	1.3296ns	1.313
Ancho de grano/Longitud de grano	0.2578**	0.0050ns	0.0188ns	0.0170
Peso de 100 granos	133.99**	661.44**	33.68**	19.14

*: Significativo ($\alpha \leq 0.05$); **: Altamente significativo ($\alpha \leq 0.01$), ns: No significativo

En el factor de variación localidades 15 de las 19 variables presentaron diferencias significativas y en el de interacción genotipo \times ambiente 14, lo que demuestra que las condiciones ambientales de cada localidad influyeron de forma diferencial en la expresión

fenotípica de las accesiones evaluadas. Las variables diámetro de olote, espesor de grano y la relación ancho de grano/longitud de grano fueron las menos afectadas en su expresión por los ambientes.

La elección de variables por medio de los componentes de varianza, con el uso del coeficiente de repetibilidad utilizado por Goodman y Paterniani (1969) permitió elegir las de mayor estabilidad a través de las localidades. El Cuadro 1.5 muestra los valores de los componentes de varianza y las 9 variables seleccionadas con $r > 1$. Estas en su mayoría se relacionan con las características de mazorca y grano, y han sido también reportadas en otras investigaciones sobre diversidad genética del maíz (Sanchez *et al.*, 1993; Herrera *et al.*, 2000; Sanchez *et al.*, 2000, entre otros), lo que confirma su utilidad para medir diversidad entre poblaciones y razas.

La relación ancho de grano/longitud de grano tuvo el valor más alto en el coeficiente de repetibilidad, mientras que el valor más bajo fue el de altura de planta. Los valores negativos no tienen significado biológico ya que se espera que los componentes de varianza sean mayores o iguales a cero (Martinez, 1983).

Cuadro 1.5. Valores de los componentes de la varianza para genotipos (σ^2_g), localidades (σ^2_l), interacción genotipo x localidades (σ^2_{gl}) y repetibilidad (r) de los caracteres medidos

Variable	σ^2_g	σ^2_l	σ^2_{gl}	r
Altura de planta	1047.672	12225.230	1315.413	0.077
Altura de mazorca	479.346	497.942	746.950	0.385
Altura de mazorca/Altura de planta	0.002	0.011	0.006	0.114
Hojas totales	2.555	10.576	3.418	0.183
Días a floración femenina	52.559	2.950	49.085	1.010**
Longitud de espiga	14.123	13.350	21.808	0.402
Ramas primarias de la espiga	5.018	30.983	6.266	0.135
Longitud de mazorca	9.954	7.255	6.382	0.730
Diámetro de mazorca	0.735	0.031	0.090	6.125**
Longitud/Diámetro de mazorca	2.877	0.252	0.266	5.550**
Hileras de la mazorca	17.808	0.454	0.844	13.720**
Diámetro de olote	0.765	-0.018	-0.826	-0.906
Ancho de grano	8.776	0.242	0.226	18.758**
Longitud de grano	5.799	0.379	0.464	6.877**
Espesor de Grano	0.494	0.011	0.008	26.130**
Ancho de grano / Longitud de grano	0.060	-0.001	0.001	166.850**
Peso de 100 granos	25.389	3.404	7.270	2.378**

** Variables elegidas con $r > 1$

1.5.2. Análisis de componentes principales

Los promedios de las 9 variables seleccionadas fueron utilizados para realizar el análisis de componentes principales (CP). En el que se encontró que los tres primeros representaron el 84.3% de la variación total, el primero aportó 41.3%, el segundo 28.2% y el tercero 14.8%. En el Cuadro 1.6 se muestran los vectores propios, que indican la contribución de cada una de las variables originales en los componentes principales. En el componente 1 las variables con mayor aporte son ancho de grano, peso de 100 granos y la relación ancho de grano/longitud de grano; en el componente 2, diámetro de mazorca, longitud de grano y la relación diámetro/longitud de

mazorca, son las de mayor aporte a la varianza. En conjunto, las variables descriptivas de la mazorca y grano son las que están mayormente relacionadas con la varianza en los componentes principales.

Cuadro 1.6. Valores y proporción de la varianza explicada por los dos primeros componentes principales

Variable	Vectores propios	
	CP1	CP2
Diámetro de mazorca	0.3508	0.8805
Diámetro/Longitud de mazorca	-0.1261	0.604
Longitud de grano	0.5793	0.7576
Ancho de grano	0.9799	0.0743
Ancho de grano/Longitud de grano	0.6946	-0.6435
Espesor de grano	0.6159	-0.121
Peso de 100 granos	0.9272	0.1544
Días a floración femenina	0.0774	0.3073
Hileras de la mazorca	-0.743	0.5247

La distribución de las accesiones en la Figura 1.1 permite identificar cinco grupos mayores, definidos por caracteres de mazorca, grano, y días a floración femenina. El Grupo I se ubica entre los cuadrantes I y II, y está formado por 12 accesiones de la raza Chapalote, 11 de ellas provenientes de Sinaloa, y la más distante al grupo de Nayarit, éstas se caracterizan por presentar las mazorcas y los granos más pequeños entre las diez razas, con un diámetro de mazorca de 26 a 34 mm y con longitud de grano de 6.9 a 8.5 mm, similares a los valores reportados por Wellhausen *et al.* (1951) que fueron de 28-30 mm y de 6-8 mm respectivamente.

El Grupo II se localiza entre los cuadrantes III y IV y se forma por accesiones de la raza Reventador, 6 procedentes de Sinaloa, 2 de Nayarit y la más distante del grupo de Sonora; cabe señalar que el resto de accesiones de esta raza procedentes de Sonora y Durango no se encuentran muy alejadas del grupo, sólo que están en el área de grupos contiguos. Los valores

más distintivos de estas accesiones fueron el de hileras de la mazorca de 8.5 a 11.3 y el de diámetro de la mazorca de 29.4 a 33.7 mm, los cuales tienen semejanza con los de Wellhausen *et al.*(1951), que fueron de 11.9 hileras en promedio y diámetro de mazorca de 26 a 32 mm. En el mismo grupo se ubicaron dos accesiones de la raza Dulcillo del Noroeste, Sina-125 y Sono-140, y dos de Onaveño Sono-184 y Son-40, además de la población de Chapalote que quedó fuera de su grupo, proveniente de Durango.

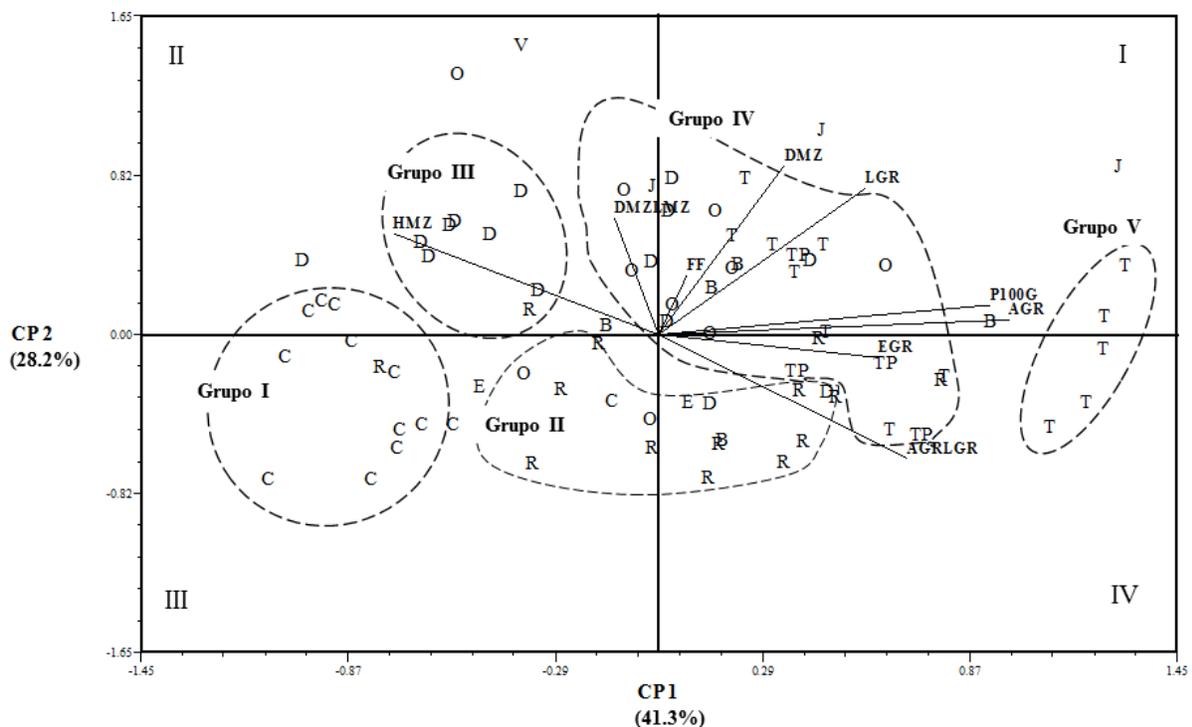


Figura 1.1 Distribución de 80 accesiones de maíz nativo procedentes de la región noroeste de México utilizando los dos primeros componentes principales. B: Blando del Noroeste; C: Chapalote; D: Dulcillo del Noroeste; E: Elotero de Sinaloa; J: Jala; O: Onaveño; R: Reventador; T: Tabloncillo; T: Tabloncillo Perla y V: Vandeño. AGR: Ancho de grano; AGRLGR: Ancho de grano/Longitud de grano; DMZ: Diámetro de la mazorca; DMZLMZ: Diámetro de la mazorca/Longitud de la mazorca; EGR: Espesor de grano; FF: Días a floración femenina; HMZ: Hileras de la mazorca; LGR: Longitud de grano; P100G: Peso de 100 granos.

El Grupo III estuvo conformado por siete accesiones de la raza Dulcillo del Noroeste procedentes del estado de Sinaloa, y una accesión de Reventador proveniente de Sonora. Este grupo se ubica en el cuadrante II y se caracteriza porque en promedio son el grupo con el mayor número de hileras de la mazorca con 13.1, y sólo dos accesiones de otras razas las superan Chih-191 (14.7) de Vandeño y Sin-25 (15) de Onaveño, que se ubican en el mismo cuadrante en la parte superior del gráfico, fuera de las agrupaciones marcadas. Por otro lado, las accesiones de Dulcillo del Noroeste Sina-26, Sina-117 y Naya-47 están cercanas a este grupo, sólo que las dos primeras quedaron dentro de otro grupo y la tercera quedó muy cercana al Grupo I.

El grupo IV es el más grande, debido a que dentro del él hay accesiones de varias razas que pueden ser tomados como subgrupos, el más grande es el de Tabloncillo con 8 accesiones provenientes de los estados de San Luis Potosí, Jalisco, Durango y Sonora, y además se incluyen las tres accesiones de Tabloncillo Perla, inicialmente considerada por Wellhausen *et al.* (1951) como una subraza de Tabloncillo. El otro subgrupo importante es el de Onaveño con seis poblaciones procedentes de Sonora y una de Queretaro. Los caracteres más distintivos de estos subgrupos son la longitud de grano y diámetro de mazorca, para el primero los valores mínimo y máximo de las 80 accesiones fueron de 6.9 a 11.4 mm, para las poblaciones de Tabloncillo del grupo de 10.6 a 11.2 mm, para las de Onaveño de 9.4 a 10 mm, mientras que para diámetro de mazorca, la amplitud fue de 26.9 a 45.4 mm, mientras que para las accesiones de Tabloncillo fue de 37.3 a 39.2 mm y para Onaveño de 38.7 a 41.1 mm. Las accesiones con la mayor longitud de mazorca fueron las de raza Jala con valores de 40.2, 45.4 y 45 mm, donde las mayores se encuentran fuera de los grupos definidos.

1.5.3. Análisis de agrupamiento

Para realizar el dendrograma se utilizaron los mismos datos que en el análisis de componentes principales, para esto se generó una matriz de distancias euclidianas que sirvió para elaborar el agrupamiento, por medio del método UPGMA usando el programa NTSYS Spc V.2.21 (Rohlf, 2009). En el dendrograma (Figura 1.2) se distinguen cuatro grupos con accesiones de mayor proporción de alguna de las razas, y una agrupación cerca del origen con accesiones disimiles, partiendo de una distancia euclidiana de 3.2.

Los grupos formados tienen algunas similitudes con los que se definieron en el análisis de componentes principales. En la parte superior del dendrograma las accesiones de Tabloncillo y Tabloncillo Perla se agrupan, junto con dos accesiones de Nayarit y una de Sinaloa de la raza Reventador, además de una de Blando de Sonora y otra de Onaveño proveniente de Querétaro. En el grupo contiguo se agruparon siete accesiones de Reventador, más dos provenientes de Sonora de Onaveño, una de Elotero de Sinaloa, una de Blando de Sonora y una de Chapalote proveniente de Durango.

La variación morfológica de las razas nativas de maíz está ligada a dos factores principales, primero al genotipo que en conjunto con los caracteres que no son afectados por el ambiente permiten la clasificación morfológica, y en segundo plano a las condiciones ambientales en donde se han desarrollado. Los caracteres relacionados con descriptores de la mazorca y el grano, fueron los más estables a través de los ambientes, y los mejores para realizar los análisis de agrupación, caracterizándose las poblaciones del noroeste de México por ser de grano grande y mazorca delgada.

1.6. Conclusiones

Existe una amplia variación morfológica entre las poblaciones de las razas de maíz del noroeste de México, denotada por la existencia de diferencias significativas entre genotipos para 18 de los 19 caracteres estudiados. Las razas Chapalote y Reventador son las más antiguas de esta agrupación, y se diferencian claramente del resto, ya que son las de menor diámetro de mazorca (26.9 y 29.4 mm) y las de grano más pequeño. En el análisis de conglomerados las accesiones de Chapalote, Reventador y Dulcillo del Noroeste tienden a formar grupos más definidos, mientras que en el resto de las razas se observa una mayor dispersión debido a que presentan una variación morfológica más pronunciada; la distribución y agrupamiento de accesiones en los gráficos se debe a la similitud de características morfológicas, y está relacionada con el aporte genético que dio origen a las razas y a la procedencia geográfica de las accesiones.

1.7. Bibliografía

Aguilar-Castillo J. A., A. Carballo-Carballo, F. Castillo-González, A. Santacruz-Varela, J.

A. Mejia-Contreras, J. Crossa-Hiriartte y G. Baca-Castillo (2006) Diversidad fenotípica y variantes distintivas de la raza Jala de maíz. Agricultura Técnica en México 32: 57-66.

Espinosa A., M. Tadeo, A. Turrent, N. Gómez, M. Sierra, A. Palafox, F. Caballero, R.

Valdivia y F. A. Rodríguez (2009) El potencial de las variedades nativas y mejoradas de maíz. Ciencias 92-93: 118-125.

- Goodman M. M. and E. Paterniani (1969)** The races of maize. III. Choices of appropriate characters for racial classification. *Economic Botany* 23:265-273.
- Hernández V., A. E. (2013)** Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. *Revista Bio Ciencias* 2: 113-118.
- Herrera C., B. E., F. Castillo G., J. J. Sánchez G., R Ortega P. y M. M. Goodman (2000)** Caracteres morfológicos para valorar la diversidad entre poblaciones de maíz en una región: caso la raza Chalqueño . *Revista Fitotecnica Mexicana* 23:335-354.
- Martínez W., O. J. (1983)** Evaluación de treinta y cuatro variedades de maní mediante técnicas multivariadas. *Revista ICA (Colombia)* 18:67-76.
- Muñoz O., A (2003)** Centli Maíz. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. 211 p.
- Mera O., L. M. (2009)** Aspectos socioeconómicos y culturales. *In: Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica.* T A Kato, C Mapes, L M Mera, J A Serratos, R A Bye (eds). Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad. México. D. F. pp:33-42.
- Ortega P., R. (2003)** La diversidad del maíz en México. *In: Sin Maíz no Hay País. Culturas Populares de México.* México, D. F. pp: 123-154.
- Rohlf F. J. (2009)** NTSYSpc: numeral taxonomy system. Ver. 2.21c. Exeter Software: Setauket: New York.

- Ruiz C., J. A., N. Durán P., J. J. Sánchez G., J. Ron P., D. R. González E. J. B. Holland and G. Medina G. (2008)** Climatic adaptation and ecological descriptors of 42 Mexican maize races. *Crop Science* 48: 1502-1512.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) (2008)** Integración de la Red Maíz. *In: Documento de Trabajo Para el Taller Agrobiodiversidad en Mexico: el Caso del Maíz.* INE, CONABIO, SAGARPA. México, D. F. pp: 50-64.
- Salinas M. Y., F. J. Cruz C., S. A. Díaz O. y F. Castillo G. (2012)** Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35: 33-41.
- Sanchez G., J. J. and M. M. Goodman (1992)** Relationships among the Mexican races of maize. *Economic Botany* 46: 72-85.
- Sanchez G. J. J., M. M. Goodman and J. O. Rawlings (1993)** Appropriate characters for racial classification in maize. *Economic Botany* 47:44-59.
- Sanchez G. J. J., M. M. Goodman and C. W. Stuber (2000)** Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54: 43-59.
- SAS Institute (2002)** SAS/STAT User's Guide, Software Version 9.0. Cary, N.C. USA. 4424 p.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2015)** Anuario estadístico de la producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. México, D. F. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/> (Consultado Marzo 2015).

SMN (Servicio Meteorológico Nacional (2009) ERIC III. Extractor Rápido de Información Climatológica Base CLICOM. V. 2.0. Servicio Meteorológico Nacional. CD Rom. México.

Vázquez C., M. G., L. Guzmán B., J. L. Andrés G., F. Márquez S. y J. Castillo M. (2003) Calidad de grano y tortillas de maíces criollos y sus retrocruzas. Revista Fitotecnia Mexicana 26: 231-238.

Wellhausen E. J. (1966) Germoplasma exótico para el mejoramiento del maíz en los Estados Unidos. Folleto de Investigación No. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. México, D. F. 4. 19 p.

Wellhausen E. J., L. M. Roberts, y E. Hernández X. (1951) Razas de maíz en México. Su origen, características y distribución. Folleto Técnico Núm. 5. Oficina de Estudios Especiales. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D.F. 237 p.

CAPÍTULO II

VARIACIÓN GENOTÍPICA ENTRE RAZAS Y POBLACIONES DE MAÍZ NATIVAS DEL PACÍFICO NORTE DE MÉXICO²

2.1. Resumen

México es el centro de origen y domesticación del maíz (*Zea mays* L.), y uno de los países con mayor diversidad de razas nativas de esta especie. El análisis de la diversidad genética de las razas es de gran relevancia en programas de conservación, especialmente para México, pues algunas de las razas descritas se reportan como vulnerables o en peligro de extinción, por lo que se plantearon como objetivos estimar la diversidad genética, revelar la estructura genética y las relaciones de similitud entre las razas de maíz más comúnmente cultivadas en el noroeste de México. Se examinaron 110 accesiones de las razas Blando de Sonora, Chapalote, Dulcillo del Noroeste, Elotero de Sinaloa, Jala, Onaveño, Reventador, Tabloncillo, Tabloncillo Perla y Vandefío, realizando caracterización molecular de 25 individuos por accesión mediante 31 loci de SSR. Los resultados indicaron una amplia diversidad genética, ya que se identificó un total de 669 alelos de SSR, con un promedio de 21.6 alelos por locus y 80.9 % de loci polimórficos. La diferenciación entre poblaciones dentro de razas fue calculada con el estadístico F_{ST} y tuvo un valor promedio de 0.331, mostrando una diferenciación muy grande. Las relaciones de similitud se visualizaron con un análisis de componentes principales, observándose un conglomerado de todas las poblaciones sin agrupamiento por raza definido, que corresponde a una variación alélica abundante y a una limitada diferenciación de los alelos de SSR caracterizados. No hubo correspondencia plena entre el agrupamiento de las accesiones estudiadas y los conglomerados

² Manuscrito enviado para su publicación como artículo científico en la Revista Fitotecnia Mexicana

correspondientes a las razas de maíz en la forma en que hasta ahora están descritas, pues a nivel molecular la variación intra-racial resultó más elevada de lo que comúnmente se conceptualiza.

Palabras clave: *Zea mays* L., recursos fitogenéticos, diversidad genética, marcadores moleculares, microsatélites.

2.2. Summary

Mexico is the center of origin and domestication of maize (*Zea mays* L.), and one of the countries with the largest diversity of native races of this species. Analysis of genetic diversity of the races is of great importance in conservation programs, especially for Mexico, since some of the races described are reported as vulnerable or endangered; thus, the objectives of this study were to estimate genetic diversity, to reveal the genetic structure and similarity relations between the races of maize most commonly grown in Northwestern Mexico. One hundred ten accessions of Blando de Sonora, Chapalote, Dulcillo del Noroeste, Elotero de Sinaloa, Jala, Onaveño, Reventador, Tabloncillo, Tabloncillo Perla and Vandeño races were examined by performing molecular characterization of 25 individuals per accession for 31 SSR loci. Results indicated large genetic diversity, since a total of 669 SSR alleles were identified, with an average of 21.6 alleles per locus and 80.9 % of polymorphic loci. Differentiation between populations within races was calculated using F_{ST} statistic and had an average value of 0.331, showing very large differentiation. Similarity relations were visualized with principal component analysis, showing a conglomerate of all populations without grouping defined by race, which corresponds to an abundant allelic variation and limited differentiation of SSR alleles characterized. There were no full correspondences between the grouping of accessions studied and that related to the races as

they are so far are described, since at the molecular level intra-racial variation was higher than is commonly conceptualized.

Keywords: *Zea mays* L., plant genetic resources, genetic diversity, molecular markers, microsatellites.

2.3. Introducción

El maíz (*Zea mays* ssp. *mays* L.) se considera una de las plantas cultivadas más importantes del mundo, y fue domesticado en la cuenca del río Balsas, México hace más de 9,000 años, derivado del teocintle (*Zea mays* ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley) (Matsuoka *et al.*, 2002). El concepto de raza propuesto por Anderson y Cutler (1942) marcó la pauta de los estudios para describir la diversidad de maíces en México (Wellhausen *et al.*, 1951; Hernández y Alanis, 1970; entre otros), utilizando características morfológicas y fenológicas. La última colecta de cobertura nacional, reveló que en México aún prevalecen al menos 59 razas nativas; sin embargo, también fueron señalados diversos factores que ponen en riesgo su existencia y distribución (Ortega *et al.*, 2011).

En la actualidad las razas nativas de maíz en México juegan un papel fundamental en la producción de este cultivo, pues de una superficie sembrada de más de ocho millones de hectáreas al año (SIAP, 2014), la semilla usada por los agricultores en su mayoría es de razas nativas, estimándose una proporción de 75 % respecto del total (Espinosa *et al.*, 2009). A pesar de ello se ha reportado una reducción en el número de poblaciones de ciertas razas; por ejemplo, en la región noroeste del país las razas Chapalote, Onaveño y Dulcillo de Sonora se reportan en peligro de extinción; además, Blando de Sonora, Jala y Elotero de Sinaloa están catalogadas en estatus de vulnerables (SAGARPA, 2008).

Las razas de maíz del noroeste de México han sido descritas y caracterizadas por diferentes investigadores, basándose principalmente en descriptores morfológicos (Sánchez, 1989, Com. pers.³; Wellhausen *et al.*, 1951), en marcadores bioquímicos (Doebley *et al.*, 1985; Sánchez *et al.*, 2000) o incluso utilizando marcadores de ADN (Reif *et al.*, 2006; Sánchez, 2011, Com. pers.⁴); sin embargo, en los estudios donde se han utilizado marcadores moleculares el número de accesiones de cada raza y el número de individuos por población ha sido reducido y no permite explorar a plenitud la variación existente dentro de razas y poblaciones, por lo que la información generada hasta el momento no ha sido suficiente para estructurar programas para su conservación.

Debido a esto se consideró importante realizar un estudio con marcadores moleculares para evitar influencia ambiental, y con amplios tamaños de muestra para generar información confiable sobre diversidad entre poblaciones y razas. Los microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR) resultan ser marcadores moleculares muy apropiados para estudios de diversidad genética, pues poseen una serie de atributos muy ventajosos como ser altamente polimórficos, codominantes, y heredarse de forma mendeliana (Schlötterer, 2000).

Bajo este contexto, los objetivos de la presente investigación fueron, estimar la diversidad genética de las 10 razas nativas de maíz más comúnmente cultivadas en el noroeste de México mediante genotipo por medio de microsatélites; e identificar la distribución de la diversidad dentro y entre poblaciones y determinar sus relaciones de similitud.

³ Sánchez G., J. J. (1989) Relationships among the Mexican races of maize. Tesis Ph.D. North Carolina State University. Raleigh, N. C. 187 p.

⁴ Sánchez G., J. J. (2011) Diversidad del maíz y el teocintle. Informe preparado para el proyecto: “Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México”. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 98 p.

2.4. Materiales y métodos

2.4.1. Material genético

Se analizaron 110 accesiones de maíz correspondientes a 10 razas nativas del noroeste de México, con el número de accesiones de cada una indicado entre paréntesis: Blando de Sonora (14), Chapalote (14), Dulcillo del Noroeste (13), Elotero de Sinaloa (4), Jala (6), Onaveño (11), Reventador (10), Tabloncillo (22), Tabloncillo Perla (1) y Vandeño (15), que corresponden a colectas efectuadas en Sonora, Sinaloa, Nayarit, Durango, Chihuahua, Querétaro, Jalisco, San Luis Potosí y Baja California Sur.; además, se incluyeron en el análisis dos poblaciones de teocintle, una de ellas de la raza Balsas (*Zea mays* spp. *parviglumis* Iltis & Doebley) colectada en Huetamo, Michoacán y otra de la raza Chalco (*Zea mays* ssp. *mexicana*) colectada en Texcoco, Estado de México. Las semillas fueron provistas por los bancos de germoplasma del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo y del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

2.4.2. Análisis genotípico

De cada accesión fueron colocadas 25 semillas en una cámara de ambiente controlado a 25° C, por un periodo de 5 días para su germinación. Después, se tomaron de cada planta 100 mg de tejido del mesocotilo, coleoptilo y hojas en inicio de su desarrollo para la extracción de ADN genómico, para lo cual se utilizó un kit comercial (ChargeSwitch[®] gDNA Plant, Invitrogen), con el procedimiento indicado por el fabricante. La purificación de los extractos se hizo con un robot KingFisher Flex[®] (Thermo Scientific, Waltham MA). La medición de calidad y cuantificación de

ADN se hicieron con un espectrofotómetro de ultra-bajo volumen NanoDrop[®] 2000 (Thermo Scientific, Waltham MA), a través de lecturas de absorbancia de 260 y 280 nm.

Los marcadores utilizados fueron 31 loci de microsatélites distribuidos en los 10 cromosomas del genoma del maíz (Cuadro 2.1), etiquetados con fluorescencia en el extremo 5' para su posterior detección. La amplificación de fragmentos se realizó por PCR en un termociclador (GeneAmp[®] PCR System 9700). El volumen de cada reacción fue de 25 µL, conformado por los siguientes reactivos y concentraciones: buffer 5X, 25 mM de MgCl₂, 10 mM de nucleótidos, 4 pmol de cada iniciador, una unidad de Taq polimerasa y 25 ng de ADN molde y agua de grado HPLC. La programación usada en el termociclador para amplificación de fragmentos consistió en una desnaturalización inicial por 4 min a 95 °C, seguido de 25 ciclos de 1 min a 95 °C, 2 min a 55 °C, 2 min a 72 °C, y una extensión final por 60 min a 72 °C.

La separación de fragmentos amplificados se hizo por medio de electroforesis capilar en un secuenciador de ADN (Genetic Analyzer ABI 3130[®], Applied Biosystems). El volumen de inyección fue de 10 µL, y consistió en una mezcla de 8.75 µL de Hi-Di[™] Formamida y 0.25 µL de 500 LIZ[®] como marcador estándar interno, y 1 µL de producto de PCR. La identificación de alelos de SSR fue efectuada con el programa GeneMapper[®] V. 4.0 (Applied Biosystems, 2005) con el que se determinó el tamaño de los fragmentos amplificados de las muestras.

Cuadro 2.1. Secuencias de iniciadores en loci de microsatélites, usadas para medir la diversidad genética en poblaciones de maíz nativas del noroeste de México

Locus	Número de Bin	Etiqueta fluorescente - Iniciador delante// Iniciador en reversa
phi127	2.07	ROX- ATATGCATTGCCTGGAAGGAA//AATTCAAACACGCCTCCCGAGTGT
phi051	7.06	6-FAM-GCGAAAGCGAACGACAACAATCTT//ACATCGTCAGATTATATTGCAGACCA
phi115	8.03	HEX-GCTCCGTGTTTCGCCTGAA//ACCATCACCTGAATCCATCACA
phi015	8.08	HEX-GCAACGTACCGTACCTTTCCGA//ACGCTGCATTCAATTACCGGGAAG
phi033	9.02	6-FAM-ATCGAAATGCAGGCGATGGTTCTC//ATCGAGATGTTCTACGCCCTGAAGT
phi053	3.05	ROX-CTGCCTCTCAGATTAGAGATTGAC//AACCCAACGTA CTCCGGCAG
phi072	4.01	6-FAM-GTGCATGATTAATTTCTCCAGCCTT//GACAGCGCGCAAATGGATTGAACT
phi093	4.08	ROX-GTGCCTCAGCTTCATCGCCTACAAG//CCATGCATGCTTGCAACAATGGATACA
phi024	5.01	HEX-CTCCGCTTCCACTGTTCCA//TGTCCGCTGCTTCTACCCA
phi085	5.06	6-FAM-AGCAGAACGGCAAGGGCTACT//TTTGGCACACCACGACGA
phi034	7.02	HEX-TAGCGACAGGATGGCCTCTTCT//GGGGAGCACGCCCTTCGTTCT
phi121	8.04	6-FAM-AGGAAAATGGAGCCGGTGAACCA//TTGGTCTGGACCAAGCACATACAC
phi056	1.01	ROX-ACTTGCTTGCCCTGCCGTTAC//CGCACACCACTTCCCAGAA
phi064	1.11	HEX-CGAATTGAAATAGCTGCGAGAACCT//ACAATGAACGGTGGTTATCAACACGC
phi050	10.03	ROX-AACATGCCAGACACATACGGACAG//ATGGCTCTAGCGAAGCGTAGAG
phi96100	2.01	6-FAM-AGGAGGACCCCAACTCCTG//TTGCACGAGCCATCGTAT
phi101249	?	6-FAM-TTCCTCCTCCACTGCCTC//AAGAACAGCGAAGCAGAGAAGG
phi109188	5.03	HEX-AAGCTCAGAAGCCGGAGC//GGTCATCAAGCTCTCTGATCG
phi029	3.04	ROX-TCTTTCTTCTCCACAAGCAGCGAA//TTTCCAGTTGCCACCGACGAAGAACTT
phi073	3.05	HEX-GTGCAGAGAGGCTTGACCAA//AAGGGTTGAGGGCGAGGAA
phi96342	10.02	6-FAM-GTAATCCCACGTCTATCAGCC//TCCAACCTGAAACGAACTCCTC
phi109275	1.03	6-FAM-CGGTTCATGCTAGCTCTGC//GTTGTGGCTGTGGTGGTG
phi427913	1.01	ROX-CAAAGCTAGTCGGGGTCA//ATTGTTTCGATGACACACTACGC
phi265454	1.11	6-FAM-CAAGCACCTCAACCTCTTCG//TCCACGCTGCTCACCTTC
phi402893	2.XX	HEX-GCCAAGCTCAGGGTCAAG//CACGAGCGTTATTTCGCTGT
phi346482	1.XX	HEX-GCATCACACTTCACACAACAA//GTGGAATAGGAGGCGAGAGAGG
phi308090	4.04-4.05	6-FAM-CAGTCTGCCACGAAGCAA//CTGTCCGGTTTCGGTCTTCTT
phi330507	5.02-5.06	ROX-GTAAAGTACGATGCGCCTCCC//CGGGGTAGAGGAGAGTTGTG
phi213398	4.01-4.04	6-FAM-GTGACCTAAACTTGGCAGACCC//CAAGAGGTACCTGCATGGC
phi339017	1.03	HEX-ACTGCTGTTGGGGTAGGG//GCAGCTTGAGCAGGAAGC
phi159819	6.00-6.08	6-FAM-GATGGGCCCTAGACCAGCTT//GCCTCTCCCATCTCTCGGT

2.4.3. Análisis estadístico

La diversidad genética fue estimada para cada raza por medio de los parámetros de número de alelos por locus, proporción de loci polimórficos y heterocigosidad esperada también conocida como índice de diversidad génica (Nei, 1978). Para determinar índices de diferenciación entre poblaciones, se calcularon los estadísticos de F de Wright (1965), que miden la endogamia a distintos niveles jerárquicos. Los estadísticos mencionados fueron calculados con el programa POPGENE V.1.32 (Yeh *et al.*, 1999).

Dado que cada alelo tiene un aporte diferente según su tamaño y frecuencia en la varianza de la raza a la que pertenece, fue necesario hacer una selección para obtener resultados más nítidos en los análisis subsecuentes. Los alelos representativos fueron seleccionados por medio de dos métodos, el primero fue un análisis de varianza simple para identificar aquellos con diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre poblaciones, utilizando el programa SAS V.9.0 (SAS Institute, 2002) y las frecuencias de todos los alelos; y en el segundo se partió del conjunto de alelos elegidos en el análisis de varianza, y consistió en la selección de aquellos con frecuencia mayor de 10.5 %.

Para conocer las relaciones de similitud entre poblaciones se realizó un análisis de componentes principales, utilizando la matriz de correlaciones entre frecuencias de los alelos representativos, por medio del programa SAS V.9.0 (SAS Institute, 2002). Así también, se elaboró un filograma empleando las frecuencias de los alelos representativos, con las accesiones de teocintle como grupos externos, con las distancias genéticas de Rogers modificadas por Wright (1978), con el método de agrupamiento de Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987), mediante el programa NTSYSpc V. 2.21c (Rohlf, 2009).

2.5. Resultados y discusión

2.5.1. Análisis de diversidad entre razas

Se identificaron 669 alelos de SSR en todas las accesiones analizadas, con un promedio de 21.6 alelos por locus y una variación de 7 alelos (en el marcador phi115) a 39 alelos (en los marcadores phi064 y phi402893). Rocandio-Rodríguez *et al.* (2014) estimaron diversidad genética en 7 razas de maíz de Valles Altos de México representadas con 107 accesiones usando los mismos marcadores utilizados en este estudio, y obtuvieron resultados similares, un total de 636 alelos y un promedio de 20.5 alelos por locus. En contraste Reif *et al.*, (2006), detectaron 196 alelos de SSR y un promedio de 7.8 alelos por locus, por medio de 25 marcadores, en 24 razas nativas de México.

Las poblaciones nativas de maíz conservan una diversidad más amplia que los materiales mejorados por selección. Li *et al.* (2002) reportaron 6.5 alelos por locus en 58 líneas endogámicas de maíz de China analizadas con 40 marcadores SSR, mientras que en este estudio se encontraron valores más altos; por ejemplo, en 22 poblaciones de la raza Tabloncillo se encontraron 14.5 alelos por locus (Cuadro 2.2), es decir 2.2 veces más diversidad con menor número de poblaciones y marcadores; además, la diversidad genética encontrada en razas de otras partes del mundo también difiere en forma considerable. Por ejemplo, Vigouroux *et al.* (2008) identificaron 12.4 alelos por locus en 235 individuos de la región Andina por medio de 96 marcadores, mientras que en tierras altas de Etiopía se identificaron 4.9 alelos por locus con 20 marcadores en 62 accesiones (Beyene *et al.*, 2005), de igual forma en una región montañosa de China se encontraron 6.4 alelos por locus en 124 razas usando 45 marcadores (Qi-Lun *et al.*, 2008).

La comparación de datos se hizo con estudios de amplia similitud en número de plantas y marcadores, aun así hay diferencias notables. Entre los factores más probables que contribuyen a la obtención de valores más altos se encuentran el grupo específico de marcadores utilizado, la rica historia evolutiva del maíz mexicano y el método automatizado de detección alélica usado en el presente estudio, el cual es capaz de detectar diferencias alélicas a nivel de nucleótido. Por otro lado, la proporción de loci polimórficos de las 10 razas analizadas fue de 80.9 %; la raza con el mayor porcentaje fue Vandéño (97.2 %), mientras que en las razas Dulcillo del Noroeste y Tabloncillo Perla se encontraron los menores valores. El porcentaje de loci polimórficos para ambas especies de teocintle fue de 100 %, lo que demuestra la existencia de al menos un cuello de botella durante el proceso de domesticación del maíz, reduciendo la diversidad genética en 19.1 % en promedio en el caso de este parámetro.

El promedio de heterocigosidad esperada de las 10 razas fue de 0.74, lo que difiere con el de otros estudios, como el de González *et al.* (2013) donde reportaron un índice de 0.57 en 20 razas tropicales nativas de México, o el de Lia *et al.* (2009), que fue también de 0.57 en 6 razas nativas del noroeste de Argentina. Los valores de los parámetros calculados en las 10 razas del presente estudio, muestran una diversidad genética considerable, lo que justifica el establecimiento de programas de conservación de estas razas.

Cuadro 2.2 Razas de maíz y teocintle analizadas, número de accesiones y parámetros de diversidad genética calculados

Raza	Número de accesiones	Número de alelos	Alelos por locus	Proporción de loci polimórficos	He
Blando de Sonora	14	416	13.4	85.5	0.714
Chapalote	14	390	12.5	91.2	0.713
Dulcillo del Noroeste	13	342	11	63.5	0.699
Elotero de Sinaloa	4	278	8.9	80.6	0.683
Jala	6	248	9.5	77.4	0.707
Onaveño	11	369	11.9	82.7	0.737
Reventador	10	352	11.3	82.6	0.714
Tabloncillo	22	451	14.5	80.2	0.708
Tabloncillo Perla	1	96	4.5	67.74	0.563
Vandeño	15	434	14	97.2	0.714
Teocintle Parviglumis	1	164	5.2	100	0.634
Teocintle Chalco	1	217	7	100	0.708
Total	112	669	-	-	-
Media	-	-	21.6	80.9	0.735

He: Heterocigosidad esperada

2.5.2. Relaciones entre poblaciones

La diferenciación entre poblaciones de una misma raza fue estimada con el estadístico F_{ST} , que tuvo un valor promedio para las 10 razas estudiadas de 0.333 (Cuadro 2.3), evidencia de que la diferenciación entre poblaciones es muy grande, por influencia de la distancia geográfica y el tiempo de divergencia entre las diferentes razas. En contraste, Pressoir y Berthaud (2004) reportaron una F_{ST} de 0.011 en 31 poblaciones de maíz, procedentes de 6 localidades de los Valles Centrales de Oaxaca, valor muy similar al que presentó la raza Vandeño ($F_{ST}=0.166$) en el presente estudio, mientras que la raza Dulcillo del Noroeste mostró la mayor diferenciación entre poblaciones ($F_{ST}=0.562$). Es importante tomar en cuenta el grado de diferenciación entre poblaciones al inicio de los programas de conservación y mejoramiento, ya que si ésta es muy pequeña implica que la mayor proporción de la variación se encuentra dentro de las poblaciones

y por ende se recomienda explotar la variación a través de esquemas de selección recurrente, lo que también favorece la conservación de las poblaciones bajo las condiciones locales.

La raza Jala tuvo el segundo valor más bajo de diferenciación entre poblaciones $F_{ST}=0.227$, lo cual puede ser debido a su adaptación tan específica, delimitada a la región Valle de Jala, donde se le cultiva en un área no mayor de 30 ha (Montes-Hernández *et al.*, 2014); en contraste, esta misma raza tiene el mayor índice de endogamia de individuos dentro de accesiones ($F_{IS}=0.251$), indicador que puede denotar erosión genética, evidenciada por que la otrora gran longitud de mazorca de dicha raza, ya no aparece frecuentemente (Aguilar-Castillo *et al.*, 2006). El estadístico F_{IS} mide la endogamia dentro de las accesiones, que tuvo un valor promedio de 0.196, que indica exceso de homocigotos en todas las razas, inclusive con valores altos en las accesiones de teocintle. Por último el valor general de $F_{IT}= 0.403$ indica una gran deficiencia de heterocigotos en el conjunto poblacional de cada raza.

Cuadro 2.3. Estadísticos F de Wright, que muestran la diferenciación entre individuos en una accesión (F_{IS}), entre accesiones en una raza (F_{ST}) y entre individuos en una raza (F_{IT})

Raza	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
Blando de Sonora	0.153	0.291	0.399
Chapalote	0.182	0.305	0.431
Dulcillo del Noroeste	0.198	0.562	0.649
Elotero de Sinaloa	0.169	0.382	0.486
Jala	0.251	0.227	0.421
Onaveño	0.130	0.338	0.424
Reventador	0.107	0.348	0.418
Tabloncillo	0.157	0.362	0.463
Tabloncillo Perla	0.115	-	0.115
Vandefío	0.195	0.166	0.328
Teocintle Parviglumis	0.319	-	0.319
Teocintle Chalco	0.384	-	0.384
Media	0.196	0.331	0.403

2.5.3. Relaciones de similitud entre poblaciones

Las relaciones de las razas de maíz y sus poblaciones fueron visualizadas con un análisis de componentes principales, elaborado con las frecuencias de 262 alelos seleccionados por su aporte en la varianza. En la Figura 2.1 se graficaron los componentes uno dos y tres, que muestran como las poblaciones de maíz se aglomeran en un grupo compacto sobre el eje vertical, mientras que las razas de teocintle se ubican separadas a lo largo del eje horizontal. La población de teocintle raza Balsas es la más cercana a las de maíz, tendencia encontrada en investigaciones previas por medio de isoenzimas y microsatélites (Doebley *et al.*, 1984; Matsuoka *et al.*, 2002) que indica que *Zea mays* spp *parviglumis* es el progenitor del maíz.

En el conglomerado de poblaciones hay agrupamiento de algunas razas, sin embargo la tendencia de la mayoría es de dispersión. Se infiere que los alelos empleados para el análisis están poco diferenciados, debido a que la divergencia entre razas tiene un lapso corto de tiempo, lo que origina la distribución presente en la gráfica. El origen geográfico influye en la diferenciación genética, como en Tabloncillo, en el que fueron analizadas 22 poblaciones de diferentes estados de la república, mismas que se encuentran distribuidas por gran parte del conglomerado. En la parte superior del gráfico se agrupan doce poblaciones de Vandeyo, en el centro siete de Chapalote, siete de Onaveño, trece de Blando de Sonora, cinco de Jala y en la parte inferior seis poblaciones de Dulcillo del Noroeste.

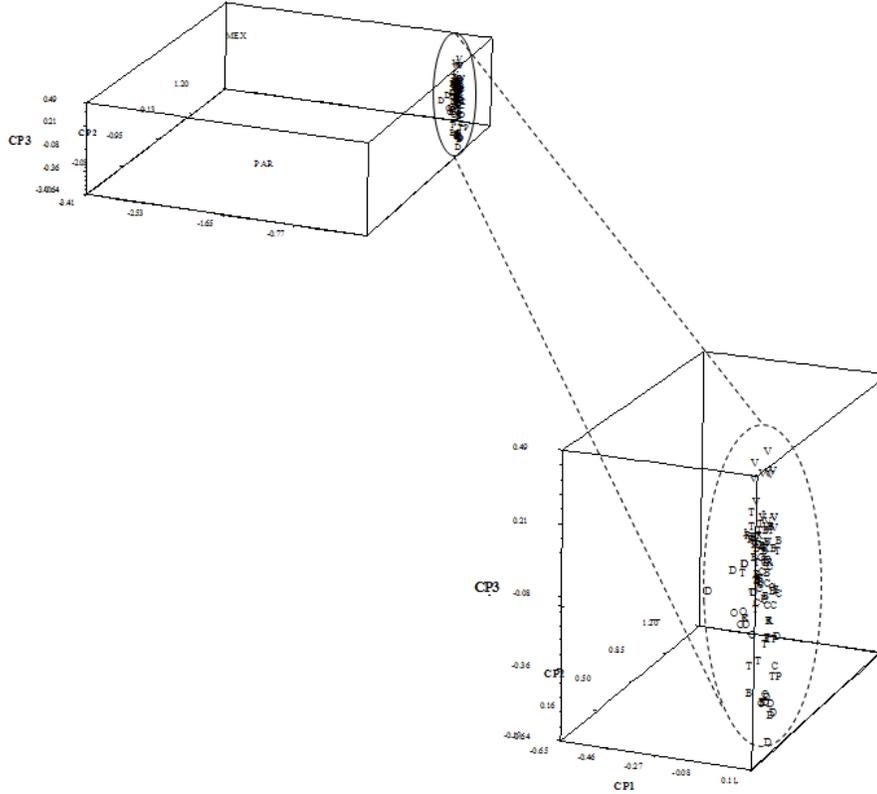


Figura 2.1. Agrupamiento de 110 accesiones de maíz con base en los componentes principales uno dos y tres, calculados con las frecuencia de 262 alelos de SSR de las razas Blando de Sonora (BI), Chapalote (Ch), Dulcillo del Noroeste (D), Elotero de Sinaloa (E), Jala (J), Onaveño (O), Reventador (R), Tabloncillo (T), Tabloncillo Perla (TP) y Vandeño (V); incluyendo las razas de teocintle Balsas (P) y Chalco (CH).

El siguiente análisis fue el de agrupamiento con el método de Neighbor-Joining, para el que se utilizó una matriz de distancias genéticas basada en 262 alelos de SSR. En el filograma el origen es monofilético (Figura 2.2), con la población teocintle *Zea mays ssp. parviglumis* como ancestro común. En el diagrama las poblaciones de una misma raza no se agrupan de manera consistente, lo que denota que las poblaciones de una misma raza están experimentando la divergencia por aislamiento en diferentes localidades. Se identificaron 4 grupos principales, cuya

tendencia muestra cierta asociación con la historia evolutiva de las razas y con el lugar de procedencia de las colectas (Wellhausen *et al.*, 1951; Sanchez y Goodman 1992).

El Grupo 1 fue formado por 45 poblaciones y tiene 3 subdivisiones, en la primera la mayoría son accesiones de las razas Blando de Sonora, Tabloncillo y Reventador, procedentes en mayor frecuencia de Sonora y Sinaloa; Blando de Sonora y Tabloncillo tienen como ancestro común a Reventador en combinación con Chapalote y Harinoso de Ocho; esta agrupación también fue reportada por Sanchez y Goodman (1992). El segundo subgrupo está formado por 17 accesiones, entre las que hay un conglomerado de nueve poblaciones de Vandeño, otra con dos de Tabloncillo, y poblaciones dispersas de Blando de Sonora, Reventador, Chapalote y Onaveño; un rasgo destacado de este subgrupo es que tiene en promedio el mayor porcentaje de loci polimórficos de las razas estudiadas. El tercer subgrupo es un conjunto de unidades procedentes del mismo nodo, y está formado por dos poblaciones emparentadas de Dulcillo del Noroeste, un conglomerado de siete accesiones de Tabloncillo y una accesión de Chapalote; poblaciones cuya distribución predominante es en regiones de elevaciones bajas.

El Grupo 2 está formado por 27 poblaciones de siete razas diferentes, reportadas por otros autores en diferentes clados, aunque hay algunas tendencias de agrupación, como la procedencia, ya que 12 provienen de Nayarit, entre las que se encuentran las seis poblaciones de la raza Jala. El grupo incluye conjuntos de dos a tres accesiones de la misma raza emparentadas por nodos internos de Blando de Sonora, Jala, Tabloncillo y Reventador, y también accesiones en nodos no emparentados de las mismas razas, incluyendo algunas de Vandeño, Elotero de Sinaloa y Dulcillo del Noroeste.

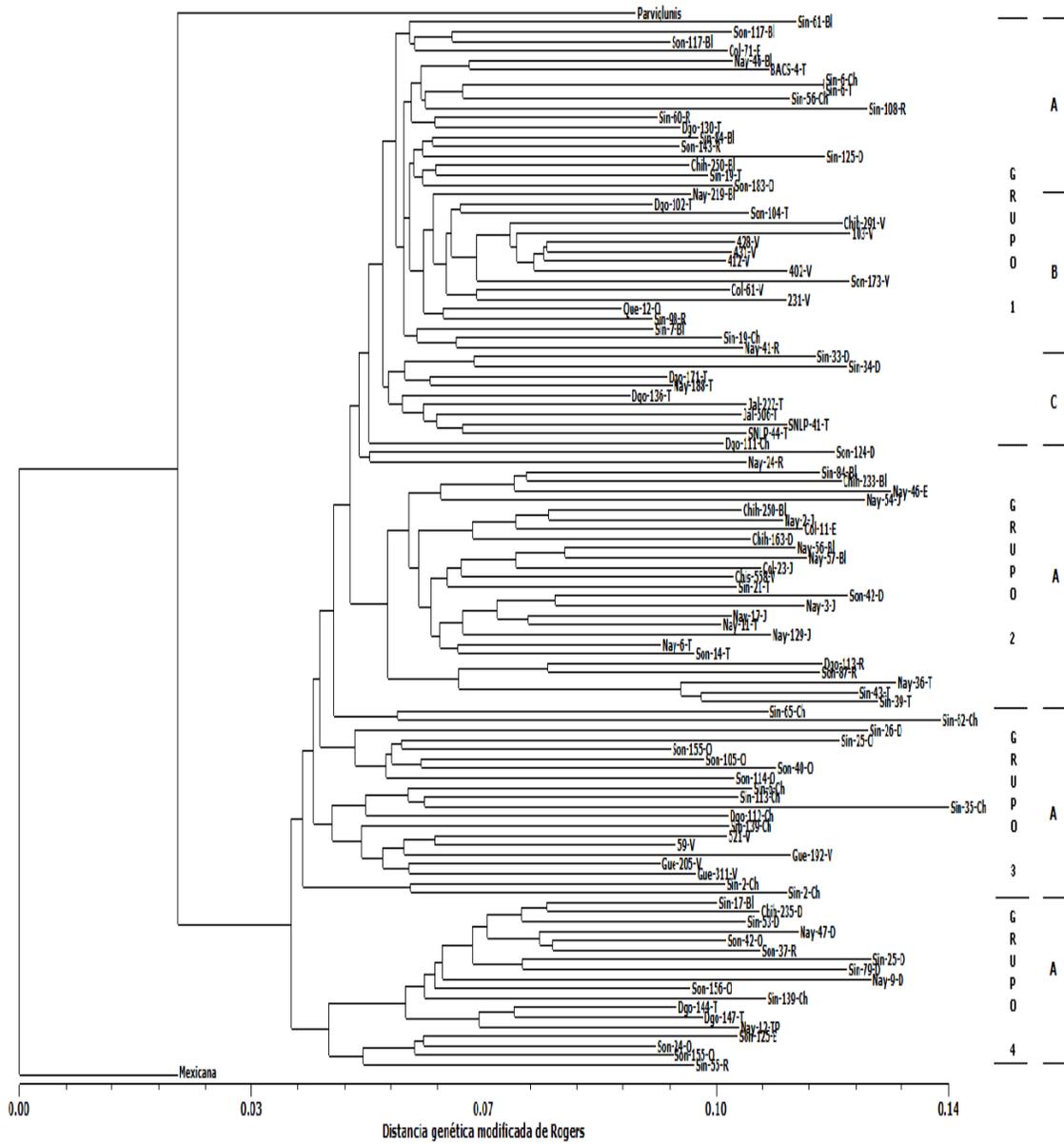


Figura 2.2. Filograma de 110 poblaciones nativas de maíz pertenecientes a 10 razas de la vertiente del Pacífico, elaborado con el método de agrupamiento de Neighbor-Joining, usando distancias genéticas modificadas de Rogers, a partir de 262 alelos de SSR.

Los Grupos 3 y 4 son los más cercanos al teocintle *Zea mays ssp. parviglumis*; es decir, son las poblaciones con mayor similitud genética con el ancestro común, denotando un menor número de cambios en el genoma en relación con él teocintle. El Grupo 3 está formado en su mayoría por accesiones de la raza Chapalote, reportada por Wellhausen *et al.* (1951) como una de las más antiguas, así también el grupo incluye accesiones de Vandeño y Onaveño, caracterizadas por tener mazorcas cilíndricas, grano predominantemente blanco y por estar adaptadas a condiciones de baja humedad. El Grupo 4 incluye poblaciones agrupadas de Dulcillo del Noroeste, Tabloncillo que comparte nodo con Tabloncillo Perla y también de Onaveño, así como poblaciones separadas de Reventador, Elotero de Sinaloa, Chapalote y Blando de Sonora, que pertenecen a diferentes agrupaciones reportadas en otros estudios, pero proceden en su mayoría de Sonora, Sinaloa y Nayarit.

La domesticación del maíz a partir del teocintle *Zea mays ssp. parviglumis* se efectuó hace más de 9.000 años (Matsuoka *et al.*, 2002). Durante este lapso han sucedido cambios morfológicos y genotípicos en diferentes direcciones, hasta llegar a la formación de las razas que se conocen en la actualidad. El tiempo de divergencia y los progenitores de las razas analizadas en el presente estudio no están definidos por completo, pero los resultados en el presente estudio sugieren que el tiempo en el que comenzaron a diferenciarse los genomas de estas razas ha sido corto, ya que el análisis de componentes principales y el filograma muestran que varias de las poblaciones tienen información genética similar, dando como resultado una falta de agrupamiento consistente con la diferenciación fenotípica. Los resultados sugieren que a nivel molecular existe un entramado genético difuso que no ha logrado diferenciarse claramente de manera paralela con la diferenciación fenotípica de las razas, sobre todo cuando los análisis se realizan utilizando marcadores moleculares selectivamente neutros, como los microsatélites.

2.6. Conclusiones

Las razas de maíz examinadas resguardan una amplia diversidad genética entre y dentro de sus poblaciones. La presión de selección ha disminuido la variación genética, en este caso en 19.1% respecto al ancestro común. Los valores de los parámetros de diversidad fueron mayores comparados con los de otros estudios de maíz nativo, debido al número de muestras analizadas, al grupo de marcadores y a la técnica de detección de alelos. Respecto a la distribución de la variación genética total, se identificó en promedio dentro de poblaciones el 66.9 %, y entre ellas el 33.3 %. La procedencia geográfica influye en la diferenciación de las poblaciones y en la dispersión en el análisis de componentes principales. Los alelos de microsatélites utilizados en el estudio son recomendables para medir la diversidad genética en razas nativas de maíz, ya que con estos se encuentran diferencias significativas, en el caso de los análisis de similitud no se lograron agrupar las poblaciones por raza como era de esperarse en la diferenciación fenotípica.

2.7. Bibliografía

Aguilar-Castillo J. A., A. Carballo-Carballo, F. Castillo-González, A. Santacruz-Varela, J.

A. Mejía-Contreras, J. Crossa-Hiriartte y G. Baca-Castillo (2006) Diversidad fenotípica y variantes distintivas de la raza Jala de maíz. *Agricultura Técnica en México* 32:57-66.

Anderson E. y H. C. Cutler (1942) Races of *Zea mays*. I. Their recognition and classification.

Annals of the Missouri Botanical Garden 29: 69-88.

Applied Biosystems (2005) GeneMapper[®] Software Version 4.0. Reference and Troubleshooting Guide. Applied Biosystems Inc. Foster City, CA. 82 p.

- Beyene Y., A.-M. Botha y A. A. Myburg (2005)** A comparative study of molecular and morphological methods of describing genetic relationships in traditional Ethiopian highland maize. *African Journal of Biotechnology* 4: 586-595.
- Doebley J. F., M. M. Goodman y C. W. Stuber (1984)** Isoenzymatic variation in *Zea* (Gramineae). *Systematic Botany* 9: 203-218.
- Doebley J. F., M. M. Goodman y C. W. Stuber (1985)** Isozyme variation in races of maize from Mexico. *American Journal of Botany* 72:629-639.
- Espinosa A., A. Turrent, N. Gómez, M. Sierra, F. Caballero, A. Palafox, A. Rodríguez, M. Tadeo y R. Valdivia (2009)** El potencial de las variedades nativas y mejoradas de maíz. *Ciencias* 92-93: 118-125.
- González C., M., N. Palacios R., A. Espinoza B. y C. A. Bedoya S. (2013)** Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36 (Supl. 3-A):329-338.
- Hernández X., E. y G. Alanís F. (1970)** Estudio morfológico de cinco nuevas razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México: Implicaciones filogenéticas y fitogeográficas. *Agrociencia* 5:3-30.
- Li Y., J. Du, T. Wang, Y. Shi, Y. Song y J. Jia (2002)** Genetic diversity and relationships among Chinese maize inbred lines revealed by SSR markers. *Maydica* 47: 93-101.
- Lia V. V., L. Poggio y V. A. Confalonieri (2009)** Microsatellite variation in maize landraces from Northwestern Argentina: genetic diversity, population structure and racial affiliations. *Theoretical and Applied Genetics* 119:1053-1067.

- Matsuoka Y., Y. Vigouroux, M. M. Goodman, J. Sanchez G., E. Buckler y J. Doebley (2002)** A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 6080-6084.
- Montes-Hernández, L. A., J. A. Hernández-Guzmán, H. López-Sánchez, A. Santacruz-Varela, H. Vaquera-Huerta y R. Valdivia-Bernal (2014)** Expresión fenotípica *in situ* de características agronómicas y morfológicas en poblaciones del maíz raza Jala. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37:363-372.
- Nei M. (1978)** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Ortega C., A., M. de J. Guerrero H., O. Cota A. y R. E. Preciado O. (2011)** Situación actual de los maíces nativos y sus parientes silvestres en México. *In: Amplitud, Mejoramiento, Usos y Riesgos de la Diversidad Genética de Maíz en México.* R. E. Preciado O. y S. Montes H. (eds.). Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. Chapingo, Estado de México pp: 15-42.
- Pressoir G. y J. Berthaud (2004)** Patterns of population structure in maize landraces from the Central Valleys of Oaxaca in Mexico. *Heredity* 92: 88-94.
- Qi-Lun Y., F. Ping, K. Ke-Cheng y P. Guang-Tang (2008)** Genetic diversity based on SSR markers in maize (*Zea mays* L.) landraces from Wuling mountain region in China. *Journal of Genetics* 87: 287-291.

- Reif J. C., A. E. Melchinger, X. C. Xia, M. L. Warburton, D. A. Hoisington, S. K. Vasal, G. Srinivasan, M. Bohn y M. Frisch (2003)** Genetic distance based on simple sequence repeats and heterosis in tropical maize populations. *Crop science* 43:1275-1282.
- Reif J. C., M. L. Warburton, X. C. Xia, D. A. Hoisington, J. Crossa, S. Taba, J. Muminović, M. Bohn, M. Frisch y A. E. Melchinger (2006)** Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 113: 177-185.
- Rocandio-Rodríguez M., A. Santacruz-Varela, L. Córdova-Téllez, H. López-Sánchez, F. Castillo-González, R. Lobato-Ortiz y J. J. García-Zavala (2014)** Detection of genetic diversity of seven maize races from the high central valleys of Mexico using microsatellites. *Maydica* 59: 144-151.
- Rohlf F. J. (2009)** NTSYSpc: numerical taxonomy system. Ver. 2.21c. Exeter software. Setauket. New York.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) (2008)** Integración de la Red Maíz. Agrobiodiversidad en México: el caso del maíz. Dirección de Economía Ambiental, INE, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, CONABIO, Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura, SAGARPA. México, D. F. pp: 50-64.
- Saitou M. y M. Nei (1987)** The Neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetics trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.

- Sanchez G., J. J. y M. M. Goodman (1992)** Relationships among the Mexican races of maize. *Economic Botany* 46:72-85.
- Sánchez G. J. J., M. M. Goodman y C. W. Stuber (2000)** Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54:43-59.
- SAS Institute (2002)** SAS/STAT User's Guide, Software Version 9.0. Cary, N.C. USA. 4424 p.
- Schlötterer C. (2000)** Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma* 109:365-371.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2014)** Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. México, D.F. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp. (Consultado: Marzo de 2014).
- Vigorous Y., J. C. Glaubitz, Y. Matsuoka, M. M. Goodman, J. Sanchez G. y J. Doebley (2008)** Population structure and genetic diversity of New World maize races assessed by DNA microsatellites. *American Journal of Botany* 95:1240-1253.
- Wellhausen E. J., L. M. Roberts y E. Hernández X. (1951)** Razas de Maíz en México. Su Origen, Características y Distribución. Folleto Técnico Núm. 5. Oficina de Estudios Especiales. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México D. F. 237 p.
- Wright S. (1965)** The interpretation of populations structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19:395-420.
- Wright S. (1978)** *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 4. Variability within and among Natural Populations. University of Chicago Press. Chicago, IL. 590 p.

Yeh F. C., R. Yang y T. Boyle (1999) POPGENE Version 1.31. Microsoft Windows-based Freeware for population genetic analysis. Quick user guide. University of Alberta and Centre for international Forestry Research. Edmonton, Canadá. 28 p.

CONCLUSIONES GENERALES

Los métodos utilizados en la presente investigación: medición de caracteres morfológicos y genotipo con marcadores moleculares SSR, fueron útiles para cuantificar la diversidad morfológica y genética de las poblaciones de maíz analizadas, y en conjunto con los análisis estadísticos se determinaron las relaciones de similitud entre poblaciones. Los resultados obtenidos en ambos análisis y la comparación con otros estudios muestran que la diversidad dentro y entre poblaciones de las diez razas de maíz es muy alta.

Las accesiones se agrupan de forma más regular con los caracteres morfológicos que con las frecuencias de los alelos, debido a que estos fueron elegidos por su mayor aporte a la varianza en los genotipos. También puede ser debido a que las variables medidas en la caracterización morfológica tienen un mayor grado de especificidad para clasificación que los alelos de SSR, si los SSR estuvieran ligados a los caracteres morfológicos los resultados serían diferentes. Otra de las causas es que los datos en el análisis molecular presentan mayor dispersión, debido a que hay una alta diversidad de alelos dentro de cada raza. Además las secuencias de ADN evolucionan de una manera más constante, que los caracteres morfológicos que es explicado en teoría por la ley del reloj de tasa continua de mutación.

La teoría del reloj que dice que los cambios en los genomas son constantes, justifica que la variación en el genoma sea mayor que la variación de caracteres morfológicos, ya que las características de plantas y mazorcas tienden a ser conservadas por los agricultores, por ello los análisis filogenéticos morfológicos tienen una distribución normal. También se debe a que el número de microsatélites es limitado, además de que son altamente polimórficos y su principal función es la medición de la diversidad.

En el análisis morfológico se reveló una alta diversidad fenotípica, ya que 18 de los 19 caracteres medidos para el factor de variación “genotipo”, mostraron diferencias significativas. Los caracteres que presentaron mayor repetibilidad fueron los relacionados con características del grano y la mazorca. En el análisis de componentes principales las variables con mayor aporte a la varianza fueron, para el componente 1 ancho de grano, peso de 100 granos y la relación ancho de grano/longitud de grano; en el componente 2, diámetro de mazorca, longitud de grano y la relación diámetro/longitud de mazorca.

En la caracterización molecular se encontró una gran diversidad de alelos de SSR, ya que fueron identificados un total de 669, con un promedio de 21.6 alelos por locus y 80.9 % de loci polimórficos. Así también, la diferenciación entre accesiones fue calculada con el estadístico F_{ST} y se encontró que fue muy grande, con un valor promedio de 0.331. Los resultados en los análisis de conglomerados sugieren que a nivel molecular existe un entramado genético difuso que no ha logrado diferenciarse claramente de manera paralela con la diferenciación fenotípica de las razas, sobre todo cuando los análisis se realizan utilizando marcadores moleculares selectivamente neutros, como los microsatélites.