



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD-GENÉTICA

**DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y VARIACIÓN
ISOENZIMÁTICA DE MAÍCES NATIVOS DEL
ALTIPLANO CENTRO-ORIENTE DEL ESTADO DE
PUEBLA**

RENÉ HORTELANO SANTA ROSA

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO.

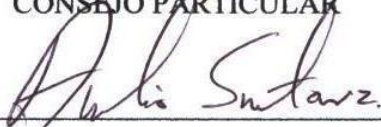
2010

La presente tesis titulada: “**Diversidad morfológica y variación isoenzimática de maíces nativos del altiplano centro-oriente del Estado de Puebla**” realizada por el alumno: **René Hortelano Santa Rosa**; bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



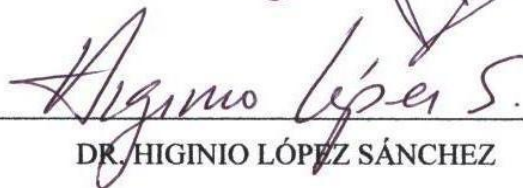
DR. AMALIO SANTACRUZ VARELA

DIRECTOR DE TESIS:



DR. ABEL GIL MUÑOZ

ASESOR:



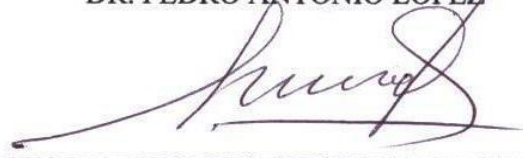
DR. HIGINIO LÓPEZ SÁNCHEZ

ASESOR:



DR. PEDRO ANTONIO LÓPEZ

ASESOR:



DR. SALVADOR MIRANDA COLÍN

Montecillo, Texcoco, Edo. de México, agosto de 2010.

DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y VARIACIÓN ISOENZIMÁTICA DE MAÍCES NATIVOS DEL ALTIPLANO CENTRO-ORIENTE DEL ESTADO DE PUEBLA

René Hortelano Santa Rosa, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2010

La presente investigación tuvo por objetivo cuantificar y analizar la diversidad genética (a nivel morfológico e isoenzimático) presente actualmente entre poblaciones nativas de maíz (*Zea mays* L.), cultivadas en la región Centro-Oriente del Altiplano del estado de Puebla, así como establecer las relaciones de similitud que aquellas presentan con las razas reportadas para el área. El trabajo se desarrolló en dos etapas: la primera consistió en la evaluación, en tres localidades, de 134 poblaciones nativas, seis accesiones ‘tipo’ de las razas Cónico, Cónico Norteño, Palomero Toluqueño, Chalqueño y sus variantes Chalqueño Crema y Chalqueño Palomo y cuatro variedades comerciales recomendadas para la zona. El diseño empleado fue un látice simple 12x12. Durante el ciclo de cultivo se midieron diversas variables fenotípicas, de las cuales se retuvieron 17 para el análisis estadístico multivariado. La segunda etapa correspondió a un análisis isoenzimático, para el cual se trabajó con 51 poblaciones nativas que representaron a los grupos detectados a través del análisis morfológico. Se exploraron diez sistemas enzimáticos codificados por 18 loci con 52 alelos en total, y con base en la frecuencia de alelos se estimaron los parámetros su diversidad genética. Los resultados mostraron la existencia de una amplia diversidad fenotípica entre las poblaciones nativas que, aunque agrupable en cinco conjuntos, se manifestó como un continuo de variación. Los grupos identificados tuvieron diversidad genética comparable a los maíces de otras zonas del país, con 2.83 alelos por locus, 89 % de polimorfismo y 0.27 de heterocigosidad esperada; sin embargo, tuvieron moderada diferenciación genética (0.085). Los materiales de la región de estudio presentaron mayor afinidad morfológica con la raza Chalqueño, particularmente con el testigo Chalqueño Crema. A nivel isoenzimático, la mayor similitud se dio con el testigo racial ‘Chaqueño’; no obstante, en ambos casos se observó que ha ocurrido una divergencia importante respecto a tal raza, lo que sugiere que las poblaciones nativas estudiadas están bajo un proceso de selección continua.

Palabras clave: *Zea mays* L., isoenzimas, poblaciones nativas, diversidad fenotípica, Valles Altos, raza Chalqueño.

**MORPHOLOGICAL DIVERSITY AND ISOZYME VARIATION OF MAIZE NATIVE
TO THE CENTRAL-EASTERN HIGHLAND PLATEAU OF THE STATE OF PUEBLA**

René Hortelano Santa Rosa, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2010.

This study aimed at quantifying and analyzing genetic diversity (at morphological and isozyme level) present today among native populations of maize (*Zea mays* L.) grown in the Central-Eastern highland plateau of the state of Puebla, and establishing relationships of similarity between those populations and the races reported for that area. The work was conducted in two stages: the first one consisted in the evaluation, in three localities, of 134 native populations, six representative accessions of the races Cónico, Cónico Norteño, Palomero Toluqueño, Chalqueño and its variants Chalqueño Palomo and Chalqueño Crema, and four commercial varieties recommended for the area. The design was a 12 × 12 simple lattice. During the growing season diverse phenotypic traits were measured, and 17 of those were retained for multivariate statistical analysis. The second stage corresponded to isoenzyme analysis, working with 51 native populations representing the groups detected through morphological analysis. Ten enzyme systems encoded by 18 loci were explored and a total of 52 alleles were found; in addition, genetic diversity parameters were estimated based on allele frequencies. Results showed the existence of large phenotypic diversity among native populations. Even though such diversity could be clustered into five groups, there was a continuum of variation. The groups identified had genetic diversity comparable to maize from other parts of the country, with 2.83 alleles per locus, 89% of polymorphism and expected heterozygosity of 0.27; however, they had moderate genetic differentiation (0.085). The materials of the studied region showed greater morphological affinity to the Chalqueño race, particularly to the Chalqueño Crema check. At the isoenzyme level, the greatest similarity was with the racial check 'Chaqueño'; however, in both cases it was observed that significant divergence has occurred in relation to this race, suggesting that the studied native populations are under a continuous process of selection.

Index words: *Zea mays* L., isozymes, native populations, phenotypic diversity, Highlands, Chalqueño race.

AGRADECIMIENTOS

Al pueblo mexicano y al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios de Doctorado.

Al **Colegio de Postgraduados**, especialmente al programa Recursos Genéticos y Productividad-Genética.

Al **Dr. Amalio Santacruz Varela** por su valioso e incondicional apoyo, enseñanza y buen consejo durante el desarrollo de mi programa de doctorado.

Al **Dr. Abel Gil Muñoz** por su gran disposición y aporte para la realización del este trabajo en todas las fases de ejecución y análisis.

Al **Dr. Higinio López Sánchez** por sus atinados consejos, orientación y apoyo durante el desarrollo de la investigación y el proceso de mi formación.

Al **Dr. Pedro Antonio López** por su valioso apoyo y aporte en el trabajo y etapas sucesivas de la investigación y revisiones del escrito.

Al **Dr. Salvador Miranda Colín** por valiosa y constante enseñanza en todas las etapas de la realización de este trabajo, asesoría y apoyo.

Al **Dr. J. Jesús García Zavala** por sus sugerencias y la disposición para participar en el jurado.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL:

Se agradece el apoyo financiero recibido del Colegio de Postgraduados a través de la **LÍNEA PRIORITARIA DE INVESTIGACIÓN 6: CONSERVACIÓN Y MEJORAMIENTO DE RECURSOS GENÉTICOS** durante el año 2007 al proyecto de investigación integrador “ESTUDIO DE DIVERSIDAD GENÉTICA EN LA REGIÓN DE LOS VALLES DE LIBRES Y SERDÁN, PUEBLA”, específicamente al subproyecto “**CARACTERIZACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE MAÍZ EN LA REGIÓN DE LIBRES Y LOS LLANOS DE SERDÁN, PUEBLA**”, del cual se derivó la presente investigación.

DEDICATORIA

A mis padres Ma. Piedad Santa Rosa C. y Bruno Eduardo Hortelano G. (QPD), por su valioso apoyo y ejemplo de vida.

A mi MORENA y a nuestros hijos Eduardo E. H. O., Mayra Yadira H. O. y René Guadalupe H. O., que son la inspiración para seguir adelante en la vida.

A mis hermanos y sus respectivas familias: Cutberto, Ma. Del Carmen, Luis Eduardo (QEP), Ma. De los Ángeles, Juana y Teresita.

A la familia Olivares Lugo por el apoyo brindado a mi familia durante mi ausencia, y en especial a mi esposa Alejandra Olivares L. por su paciencia y comprensión.

A los compañeros con quienes tuve la oportunidad convivir durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados, especialmente a Edwin J. B. G, Eliel M. C, Gregorio A. B., Cesar del Ángel H. G., Edison G. S. C. y Juan Herrera, a quienes agradezco su amistad y apoyo brindado.

CONTENIDO	Página
RESUMEN GENERAL	iii
GENERAL SUMMARY	iv
ÍNDICE DE CUADROS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
Planteamiento del problema	4
Objetivo general	7
Objetivos específicos	7
Hipótesis	7
Estructura de la tesis	8
Bibliografía	10
CAPÍTULO I. DIVERSIDAD FENOTÍPICA DE MAÍCES NATIVOS DEL ALTIPLANO CENTRO-ORIENTE DEL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO	14
1.1. Resumen	15
1.2. Summary	16
1.3. Introducción	17
1.4. Materiales y Métodos	18
1.5. Resultados y Discusión	21
1.6. Conclusiones	28
1.7. Bibliografía	29

CAPÍTULO II. VARIACIÓN ISOENZIMÁTICA EN MAÍCES NATIVOS DEL ALTIPLANO CENTRO-ORIENTE DEL ESTADO DE PUEBLA	38
2.1. Resumen	39
2.2. Summary	40
2.3. Introducción	41
2.4. Materiales y Métodos	42
2.5. Resultados y Discusión	45
2.5. Conclusiones	53
2.6. Bibliografía	54
CONCLUSIONES GENERALES	66

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1.1. Localidades de colecta, color de grano y número de accesiones de maíz nativo acopiadas por municipio en la región Centro-Oriente de Puebla.	32
Cuadro 1.2. Variables registradas por unidad experimental.	33
Cuadro 1.3. Análisis de varianza combinado de 22 caracteres evaluados en 134 poblaciones nativas de maíz y 10 testigos.	34
Cuadro 1.4. Medias de grupo en variables con mayor asociación a los tres primeros componentes principales y promedios de testigos raciales.	36
Cuadro 2.1. Medias de grupo en ocho variables morfológicas que presentaron mayor asociación a los tres primeros componentes principales y promedios de testigos raciales.	59
Cuadro 2.2. Procedencia de las poblaciones nativas de maíz evaluadas con isoenzimas y subgrupos formados de acuerdo con caracteres morfológicos.	60
Cuadro 2.3. Parámetros de diversidad genética en grupos de poblaciones nativas y testigos con base en 18 loci de isoenzimas.	61
Cuadro 2.4. Frecuencias génicas en cinco grupos de poblaciones nativas y seis testigos con base en 46 alelos codificados por 14 loci de isoenzimas.	62
Cuadro 2.5. Diferenciación genética (G_{ST}) de grupos de poblaciones con base en 14 loci de isoenzimas, procedentes de 51 poblaciones nativas y seis testigos raciales.	64

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1. Dispersión de 134 poblaciones nativas de maíz y seis poblaciones típicas de diferentes razas en el espacio determinado por los tres primeros componentes principales (CP).	35
Figura 1.2. Filograma generado mediante el método de agrupamiento de vecinos (Neighbor-Joining) utilizando las distancias euclidianas entre cinco grupos de poblaciones nativas de maíz y seis testigos raciales.	37
Figura 2.1. Filograma de grupos de poblaciones nativas y testigos raciales mediante el método de agrupamiento de vecinos (Neighbor-joining) utilizando la distancia modificadas de Rogers con base en la frecuencia de 52 alelos de isoenzimas.	65

INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz (*Zea mays* L. ssp. *mays*) en México constituye no sólo un alimento, sino también una expresión cultural de relaciones, situaciones que han permitido a las comunidades y los pueblos rurales su subsistencia. Son estos pueblos los que, por siglos, han sido los guardianes de la diversidad en los nichos ecológicos, brindando múltiples razas de este cereal (Muñoz, 2005). Esta planta desempeñó un papel central en todas las culturas prehispánicas de nuestro país, destacándose por el uso alimenticio y ceremonial. Actualmente se cultiva en toda la República y constituye el aporte principal en la dieta alimenticia del pueblo de México (Sánchez *et al.*, 2000a), donde el 57 % de la producción nacional se destina al consumo humano, principalmente como tortilla (Sánchez *et al.*, 1998). Datos de FAO (2010) demuestran que el consumo *per capita* diaria de maíz en la República Mexicana es de 329 g.

En el sector campesino mexicano se estima que cerca de tres millones de agricultores están relacionados de forma directa con dicho cultivo (SAGAR, 2000), y que ellos, en una superficie de cerca de ocho millones de hectáreas, producen alrededor de 24.4 millones de toneladas de maíz (SIAP, 2010), situación que coloca a México como el cuarto productor de maíz a nivel mundial. No obstante lo anterior, México también ocupa uno de los primeros lugares como consumidor e importador de dicho cereal, con un volumen de importación de ocho millones de toneladas anuales, lo que representa casi un 30 % de la producción nacional, y con una de este grano (FAO, 2010).

En el territorio mexicano se presentan condiciones orográficas variadas y contrastantes que, al interactuar con los factores del clima, generan una gran diversidad ambiental y de nichos

ecológicos. La interacción continua entre hombre y maíz en tales sitios ha propiciado el surgimiento de una gran diversidad (Miranda, 2005). El nivel de variación alcanzado es tal que en cada nicho ecológico se puede identificar un grupo de variedades (patrón varietal) adaptado a las condiciones agroecológicas particulares de aquél (Gil y Muñoz, 1994).

La diversidad de los maíces mexicanos se trató de ordenar y clasificar desde principios del siglo XX. En el primer intento solo se clasificó con base en caracteres de mazorca, olote, grano y ciclo vegetativo (Chávez, 1913). En esa primera aproximación, a partir de la descripción de 56 variedades provenientes de diferentes partes de México, se formaron seis grupos: *Zea tunicata* (maíz primitivo tunicado), *Zea saccharata* (maíz dulce), *Zea everta* (maíz córneo), *Zea indurata* (maíz cristalino), *Zea indentata* (maíz dentado), y *Zea amylacea* (maíz almidonoso). Posteriormente apareció el estudio de Wellhausen *et al.* (1951), trabajo clave en la clasificación racial del maíz en México y en el cual se describieron 25 razas, tres subrazas y siete tipos pobremente definidos, basándose principalmente en características morfológicas. Posteriormente, Hernández y Alanís (1970) realizaron la descripción morfológica de cinco razas más: Apachito, Azul, Gordo, Bofo y Tablilla de Ocho, de la Sierra Madre Occidental de México; Ortega (1985) describió las razas Ratón, Tuxpeño Norteño, Cristalino de Chihuahua, Onaveño y Palomero de Chihuahua. Un año más tarde, Benz (1986) describió cinco razas más: Chatino Maizón, Mixeño, Choapaneco, Mixteco y Serrano Mixe. Con base en esta información, Ortega *et al.* (1991) consignaron la existencia de 41 razas en las partes altas del centro y norte del país. En el trabajo de Sánchez *et al.* (2000a) se trabajó con poblaciones representativas de 59 razas; aplicando herramientas como los marcadores isoenzimáticos y la taxonomía numérica. Recientemente, en un documento compilatorio, Serratos (2009) consigna que en México existen 65 razas (59

cotejadas y 6 imprecisas), que representan el 15 % de las 484 reportadas para el continente americano.

En nuestro país, los estudios de Muñoz (2005) han evidenciado la gran diversidad de poblaciones nativas de maíz en los diferentes nichos ecológicos, manifestada –entre otros atributos- en coloración de grano, ciclo vegetativo, productividad y usos. Para el caso particular del estado de Puebla los trabajos reportados por Gil *et al.* (2004) han establecido que entre los maíces nativos cultivados en dicha entidad existe una amplia diversidad fenotípica, perceptible a través de la variación en la coloración de grano, los niveles de precocidad y las características agronómicas, entre otras características. El trabajo de Muñoz *et al.* (1998) confirmó que en Puebla, al igual que en otras regiones del país, en cada nicho ecológico existe un patrón varietal específico, desarrollado y preservado por los agricultores. En el caso específico de la región de Libres (área de estudio de la presente investigación), López *et al.* (1998) concluyeron que el patrón varietal de dicho nicho estaba básicamente integrado por dos componentes de precocidad: precoz e intermedio, con gran variación en el color de grano (blanco, amarillo, azul, rojo y amarillo zanahoria) y que en cada estrato existieron poblaciones nativas que superaron en rendimiento de grano a las variedades mejoradas introducidas.

La existencia de esta amplia diversidad entre los maíces nativos cultivados en los diferentes nichos ecológicos de México justifica sobradamente los estudios detallados de la misma. Tal responsabilidad se hace ineludible si se considera que los sistemas agrícolas tradicionales que por siglos han salvaguardado tal diversidad se han visto minimizados por diferentes factores de índole social y económica, principalmente, poniendo en riesgo de pérdida los preciados recursos

genéticos que en ellos se preservan, y que en varios casos ni siquiera han sido examinados y conocidos más ampliamente. Por ello, la colecta, conservación, estudio y clasificación de las poblaciones nativas de maíz es una tarea urgente, que puede permitir contribuir a preservar y desarrollar este complejo y antiguo tipo de producción agrícola sustentable, apto para condiciones ambientales muy heterogéneas, como las de México.

Planteamiento del problema

El territorio nacional se ha dividido en varias zonas con condiciones ambientales más o menos homogéneas y definidas que las distinguen entre sí. Una de ellas es la de los Valles Altos de la Mesa Central de México, que comprende los estados de Hidalgo, México, Morelos, Puebla, Querétaro y Tlaxcala (Ortega y Sánchez, 1989). Según Eagles y Lothrop (1994), es en esta zona donde se localiza y cultiva (en altitudes arriba de los 2000 m) el complejo de razas cónicas tales como Chalqueño, Cónico, Palomero Toluqueño, Arrocillo Amarillo y Cacahuacintle, razas que son morfológica y agronómicamente diferentes de las razas de medianas y bajas altitudes, así como en sus frecuencias alélicas de isoenzimas.

En el caso específico del estado de Puebla, Wellhausen *et al.*, (1951) consignaron la presencia de las razas Chalqueño y Cónico, Elotes Cónicos y Cacahuacintle. Posteriormente, con base en la evaluación de colectas realizadas en la década de 1970 en el Valle de Puebla, Cervantes y Mejía (1984) reportaron que la variabilidad existente en aquél entonces correspondía a las razas Arrocillo Amarillo, Chalqueño, Cónico y Bolita, con predominancia de Chalqueño y Cónico, y que en la región existía un continuo de poblaciones con infiltración racial de diferente magnitud.

Por su parte, Muñoz (2005) declara la presencia de Chalqueño Cremoso, de la raza Chalqueño, de Cónico y de Cacahuacintle. En el trabajo realizado en el Valle de Puebla (ubicado entre las estribaciones de los volcanes Iztaccíhuatl y Popocatepetl al Oeste y La Malinche al Noreste), Hortelano *et al.* (2008) encontraron variabilidad morfológica que presentó mayor afinidad con el testigo Chalqueño Crema de la raza Chalqueño.

Otros estudios importantes realizados en el Altiplano Poblano fueron los conducidos por Taboada (1996) y Taboada (2000) en la región del Valle de Serdán, Puebla (ubicado en el Centro-Oriente de la entidad). Tales trabajos se orientaron a valorar la diversidad fenotípica presente entre los maíces nativos ahí cultivados y a precisar el patrón varietal de la región. Entre las principales conclusiones estuvieron la detección de tres coloraciones de grano: blanco, azul y amarillo, con predominancia del primero; y la precisión de los estratos de precocidad, que incluyeron a maíces precoces, intermedios y tardíos, con predominancia del segundo grupo.

Los trabajos recientes de colección y evaluación de poblaciones nativas de maíz (Muñoz, 2005; Gil *et al.*, 2004; Ortega y Sánchez, 1989; Cervantes y Mejía, 1984) han evidenciado que la variabilidad presente en el estado de Puebla es muy extensa. Considerando lo anterior así como el hecho de que los trabajos de caracterización racial descritos en párrafos anteriores no han muestreado a detalle la diversidad de los maíces del estado de Puebla, y en particular de la región Centro-Oriente, se puede decir que ésta no ha quedado cabalmente representada o ha quedado excluida en los estudios raciales de los maíces mexicanos (Doebly *et al.*, 1985; Sánchez y Goodman, 1992; Sánchez *et al.*, 2000a; Sánchez *et al.*, 2000b).

El maíz en Puebla se cultiva primordialmente bajo temporal y utilizando semilla criolla (INEGI, 2002); bajo estas condiciones, el volumen de producción en el 2008 fue de aproximadamente un millón veinte mil toneladas, cosechado en 547 mil hectáreas, lo que colocó al estado en el noveno sitio en cuanto a aporte nacional (SIAP, 2010). De los ocho Distritos de Desarrollo Rural en los que está dividida la entidad, el que más contribuye a la producción es el de Libres (DDR 04). Este Distrito, ubicado en la zona Centro-Oriente, concentró en 2008 el 21.5 % de la superficie sembrada con maíz de temporal y aportó el 41 % de la producción estatal (SIAP, 2010). En dicha región, como también a nivel estatal, se conservan las mismas tendencias de utilizar, para las siembras de temporal, predominantemente maíces nativos o criollos (INEGI, 2002).

Retomando los elementos antes expuestos se concluye que, dada la trascendencia agrícola de la región Centro-Oriente del Altiplano Poblano, así como las evidencias de la existencia de una variabilidad genética importante entre los maíces ahí cultivados, es importante conducir una investigación tendiente a cuantificar los niveles de diversidad genética de los maíces nativos, a estudiar las relaciones filogenéticas que entre ellos puedan existir y a determinar las relaciones de similitud que los materiales locales puedan tener con las razas reportadas para la zona. Ello establecerá las bases que permitan diseñar, en un segundo momento estrategias de conservación y aprovechamiento de la diversidad identificada.

Objetivo general

Cuantificar y analizar la diversidad genética (a nivel morfológico e isoenzimático) presente actualmente en las poblaciones nativas de maíz, cultivadas en la región Centro-Oriente del altiplano del estado de Puebla, así como establecer las relaciones de similitud que aquellas presentan con las razas reportadas para el área.

Objetivos específicos

- Evaluar el grado de diversidad de las poblaciones nativas de maíz del Altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla y la similitud que presentan con las razas reportadas para los Valles Altos Centrales de México mediante el uso de caracteres morfológicos
- Analizar la variabilidad alélica de las poblaciones nativas del Altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla, su diferenciación genética, los parámetros de diversidad, la afinidad entre grupos y las relaciones filogenéticas que éstas presentan con las razas típicas reportadas previamente para la zona utilizando marcadores isoenzimáticos

Hipótesis

- Existe una amplia diversidad fenotípica entre y dentro de las diferentes poblaciones nativas de maíz del Altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla, la cual no

está distribuida de manera arbitraria, sino que delinea patrones que permiten la categorización de las poblaciones con base en diversos atributos.

- La variabilidad isoenzimática de las poblaciones nativas del Centro-Oriente del estado de Puebla es amplia y permitirá definir las relaciones de similitud entre y dentro de grupos, así como establecer relaciones filogenéticas de tales poblaciones con las razas típicas de los Valles Altos Centrales de México.

Estructura de la tesis

Con el fin de abordar el tema de investigación y dar cumplimiento a los objetivos planteados previamente y contrastar las hipótesis, la tesis se estructuró, además de las secciones de Introducción General y Conclusiones Generales, en dos capítulos, correspondientes los resultados de la investigación y a la discusión de los mismos y presentados en el formato de artículos científicos, pues fueron preparados para ser enviados a revistas con Comité Editorial.

El primer capítulo se centra en la caracterización fenotípica de las poblaciones nativas de maíz del Altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla, empleando en una primera aproximación el análisis de varianza en general, la que expone la diversidad fenotípica de tales poblaciones y sus resultados permitieron agrupar tal diversidad con base en varios atributos. Posteriormente, con la técnica de componentes principales se logra definir mejor los agrupamientos, excluyendo variables correlacionadas que pudieran acarrear problemas de colinealidad, y se describen los grupos con base en la asociación de las variables a cada componente principal. El capítulo

culmina con un análisis de relaciones filogenéticas de los grupos de poblaciones nativas y los testigos raciales con base en atributos fenotípicos.

El contenido del segundo capítulo está basado en el estudio de la variación de alelos de isoenzimas de las poblaciones nativas de maíz del Altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla, haciendo uso de las frecuencias alélicas por grupos de poblaciones y describiendo a los grupos con base en los parámetros de diversidad genética comúnmente utilizados, como número de alelos por locus, porcentaje de loci polimorficos, la heterocigosidad esperada y la diferenciación genética de los grupos de poblaciones detectados previamente con caracteres morfológicos, para posteriormente examinar la relaciones filogenéticas que éstos presentan con las razas reportadas los Valles Altos centrales de México.

Bibliografía

- Benz B F (1986)** Taxonomy and Evolution of Mexican Maize. PhD. Dissertation. University of Wisconsin. Madison, Wisconsin, USA. 433 p.
- Cervantes S T, H Mejía A (1984)** Maíces nativos del área del Plan Puebla. Recolección de plasma germinal y evaluación del grupo tardío. *Revista Chapingo* 43-44: 64-71.
- Chávez E (1913)** El cultivo del maíz. Boletín 74. Estación Agrícola Central. Dirección General de Agricultura. Secretaría de Fomento. México, D.F. 316 p.
- Doebley J F, M M Goodman, C W Stuber (1985)** Isozyme variation in the races of maize from Mexico. *American Journal of Botany* 72: 629–639.
- Eagles H A, J E Lothrop (1994)** Highland maize from central Mexico-its origin, characteristics, and use in breeding programs. *Crop Science* 34:11-19.
- FAO (2010)** El Maíz en la Nutrición Humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Disponible en línea, página web: http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S0a.htm#CUADRO_24 (fecha de consulta 28/05/2010).
- Gil M A, A Muñoz O (1994)** Variabilidad en la floración en colecciones de maíz de la Sierra Tarasca. *En: Memorias del XV Congreso Nacional de Fitogenética*. Sociedad Mexicana de Fitogenética. Ramírez V., P.; F. Zavala G.; N. E. Treviño H.; E. Cárdenas C.; M. Martínez R. (Comps). 25-30 de septiembre de 1994. Sociedad Mexicana de Fitogenética. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. p. 414.
- Gil M A, P A López, A Muñoz O, H López S (2004)** Variedades criollas de maíz (*Zea mays* L.) en el estado de Puebla, México: diversidad y utilización, *En: Manejo de la Diversidad de*

los Cultivos en los Agrosistemas tradicionales. J. L. Chávez-Servia, J. Tuxil y D. I. Jarvis (Eds.). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali, Colombia. pp. 18-25.

Hernández X E, G Alanís F (1970) Estudios morfológicos de cinco nuevas razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México- implicaciones filogenéticas y fitogeográficas. *Agrociencia* 5: 3-30.

Hortelano S R R, A Gil M, A Santacruz V, S Miranda C, L Córdova T (2008) Diversidad morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. *Agricultura Técnica en México* 34: 189-200.

INEGI (2002) Anuario Estadístico del Estado de Puebla. Tomo II. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Aguascalientes, Ags. México. 508 p.

López P A, H López S, A Muñoz O (1998) Evaluación de maíces criollos en Libres, Puebla. En: *Memorias del XVII Congreso de Fitogenética: Notas Científicas*. P. Ramírez V, F Zavala G, N O Gómez M, F Rincón S, A Mejía (eds).. Sociedad Mexicana de Fitogenética. Chapingo, estado de México. p. 479.

Miranda C S (2005) El origen genético y geográfico del maíz (*Zea mays* L.). En: *Centli-Maíz*. A Muñoz O (ed.). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. pp: 147-159.

Muñoz O A (2005) *Centli-Maíz. Prehistoria e Historia, Diversidad, Potencial, Origen Genético y Geográfico*. 2da. ed. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, edo. de México. 211 p.

Muñoz O A, P A López, H López S (1998) Grupos de variedades de maíz de diferente precocidad em nichos del estado de Puebla. En: *Memorias del XVII Congreso de Fitogenética: Notas científicas*. P. Ramirez V.; F. Zavala G.; N. O. Gómez M.; F. Rincón S. y A. Mejía C. (eds).. Sociedad Mexicana de Fitogenética. Chapingo México. pp. 234.

- Ortega P R (1985)** Variedades y razas mexicanas de maíz y su evaluación en cruzamientos con líneas de clima templado como material de partida para fitomejoramiento. Abbreviated Spanish translation of Ph.D. Thesis. N.I. Vavilov National Institute of Plants. Leningrad, U.S.S.R.
- Ortega P R, J J Sánchez G (1989)** Aportaciones al estudio de la diversidad de maíz de las partes altas de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 12:105-119.
- Ortega P R, J J Sánchez G, F Castillo G, J M Hernández C (1991)** Estado actual de los estudios sobre maíces nativos en México. *In: Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México*. R Ortega P, G. Palomino H, F Castillo G, V A González H, M Livera M. (eds.). Sociedad Mexicana de Fitogenética. Chapingo Edo. de México. pp: 161-186.
- SAGAR (2000)** Situación actual y perspectivas de la producción de maíz en México. SAGAR, México. 50 p.
- Sánchez G J J, C W Stuber, M M Goodman (2000b)** Isozymatic diversity in the races of maize of the Americas. *Maydica* 45: 43-59.
- Sánchez G J J, M M Goodman (1992)** Relationships among the Mexican races of maize. *Economic Botany* 46: 72-85.
- Sánchez G J J, M M Goodman, C W Stuber (2000a)** Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54: 43-59.
- Sánchez R G, F A Martínez M, L A López I (1998)** Oportunidades de desarrollo del maíz mexicano. *Alternativas de competitividad. Boletín Informativo. FIRA. XXX (309): 88 p.*
- Serratos H J A (2009)** El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. Universidad Autónoma de la Ciudad de México. México D.F. 34 p.

SIAP (2010) Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA, México. <http://www.siap.gob.mx> (fecha de consulta: 28/05/2010)

Taboada G O R (1996) Diversidad de los maíces criollos en el Valle de Serdán, Puebla. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 111 p.

Taboada G O R (2000) Patrón varietal de los maíces del Valle de Serdán, Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. 103 p.

Wellhausen E J, L M Roberts, E Hernández X (en colaboración con P C Mangelsdorf)
(1951) Razas de Maíz en México. Su origen, características y distribución. Folleto Técnico No. 5. Oficina de Estudios Especiales. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D.F. 239 p.

I. DIVERSIDAD FENOTÍPICA DE MAÍCES NATIVOS DEL ALTIPLANO CENTRO-ORIENTE DEL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO

PHENOTYPIC DIVERSITY OF MAIZE LANDRACES FROM THE CENTRAL-EASTERN HIGHLAND PLATEAU OF PUEBLA STATE, MEXICO

Artículo enviado para publicación a la Revista Fitotecnia Mexicana

RESUMEN

Uno de los estados con mayor producción de maíz en México es Puebla; un 41 % de su producción proviene del Distrito de Desarrollo Rural de Libres, en el cual se cultivan preponderantemente poblaciones nativas. Por ello, y con el fin de evaluar el grado de diversidad fenotípica de los maíces nativos existentes en dicho Distrito y de estudiar las relaciones filogenéticas que estos presentan con las razas reportadas para los Valles Altos de México, se llevó a cabo la presente investigación. Así, entre los años 2006 y 2007 se colectaron 134 poblaciones nativas provenientes de 22 comunidades de la región. Éstas se evaluaron en 2007 en tres localidades, junto con seis testigos que representaron a las razas Palomero Toluqueño, Cónico Norteño, Cónico y Chalqueño (con sus variantes Crema y Palomo). Se registraron 22 variables (fenológicas, de espiga, mazorca y grano). Los análisis de varianza, de componentes principales y filogenético evidenciaron la presencia de una amplia diversidad fenotípica entre poblaciones de maíz, la cual se manifestó como un continuo de variación. Se detectó cierta similitud de las poblaciones nativas con la raza Chalqueño y su variante Chalqueño Crema, no así con los demás testigos raciales, lo que apunta a un proceso de divergencia de las poblaciones nativas respecto a las razas reportadas para la región. También se observó que la selección que los agricultores están imponiendo sobre características tales como precocidad, porte de planta y componentes del rendimiento del grano está conduciendo al desarrollo de distintos grupos de poblaciones.

Palabras Clave: *Zea mays* L., Poblaciones Nativas, Recursos Fitogenéticos, Raza Chalqueño.

SUMMARY

In Mexico, one of the States with high maize production is Puebla; the District for Rural Development 'Libres' supplies 41 % of the State production; maize landraces are the main varieties sown within the District. Therefore, and with the dual purpose of assessing the level of phenotypic diversity present in the maize landraces cultivated in that District, and of studying the phylogenetic relationships between such materials and the races reported for the Highlands of Mexico, the present study was carried out. Between the years 2006 and 2007, a total of 134 landraces from 22 communities of the District were collected. Those accessions were evaluated in 2007 at three sites, along with six controls representing 'Palomero Toluqueño', 'Conico Norteño', 'Conico' and 'Chalqueño' (with its variants 'Crema' and 'Palomo') races. Twenty-two variables were measured (phenological, from the tassel, ear and grain). The analyses of variance, principal components and phylogeny analyses indicated the presence of a considerable phenotypic diversity among maize populations, which was expressed as a continuous of variation. Certain similarity between the native populations and the 'Chalqueño' race and its variant 'Chalqueño Crema' was detected, but no relationship with other racial control. Our results suggest a divergence process of the native populations from the races reported for the region. It was also observed that farmers' selection on traits such as precocity, plant height and yield components is resulting in the development of distinct groups of populations.

Index words: *Zea mays* L., Landraces, Plant Genetic Resources, Chalqueño Race.

INTRODUCCIÓN

En México, una proporción importante de los estudios en torno al maíz (*Zea mays* L.) se ha enfocado a cuantificar y ordenar la diversidad existente, teniendo como referente el concepto de raza. Para efectuar la clasificación racial se ha recurrido a atributos morfológicos (Wellhausen *et al.*, 1951; Sánchez *et al.*, 1993), polimorfismo en loci de isoenzimas (Sánchez *et al.*, 2000) y efectos de interacción genotipo-ambiente (Cervantes *et al.*, 1978), entre otras variables.

La primera clasificación racial del maíz en México fue hecha por Wellhausen *et al.* (1951), quienes reportaron un total de 25 razas. Posteriormente, Sánchez *et al.* (2000), retomando diversos trabajos previos, informaron de la presencia de 59 razas; estimaciones hechas por Benz (1997) fijan el número de razas en más de 75. La amplia variabilidad del maíz en México también se percibe en las numerosas poblaciones nativas cultivadas en los diferentes nichos del país, las cuales, de acuerdo a los resultados condensados por Muñoz (2005), presentan niveles de variación importantes en atributos morfológicos, agronómicos y utilitarios. Es por ello que en los últimos años, en México, se ha comenzado a estudiar la diversidad de maíz dentro de regiones geográficas, ejemplo de ello son los trabajos conducidos en el Valle de Puebla, Puebla (Hortelano *et al.*, 2008), en la Sierra Tarasca, Michoacán (Mijangos *et al.*, 2007) y en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca (López *et al.*, 2005), que se han enfocado a revisar el parentesco de las poblaciones nativas, a conocer su diversidad y a entender la dinámica de la diversidad genética dentro de un grupo racial o una microrregión.

En el 2008, Puebla ocupó el noveno lugar en la producción nacional de maíz (SIAP, 2010), con alrededor de 1'020,000 t, producidas en cerca de 547,000 ha; el 92 % de ellas de temporal. Al interior del estado, el Distrito de Desarrollo Rural (DDR) que más contribuye a la producción

estatal es el de Libres (DDR 04) el cual, para 2008, concentró el 21.5 % de la superficie sembrada con maíz, y aportó el 41 % de la producción estatal (SIAP, 2010). En esta región, al igual que a nivel estatal, se emplean predominantemente maíces nativos (INEGI, 2002). A pesar de la trascendencia agrícola de esta región, a la fecha no se han conducido estudios para evaluar la diversidad fenotípica de los maíces nativos ahí cultivados, ni para precisar las razas de maíz presentes en dicha zona. Por ello se diseñó la presente investigación, la cual tuvo como objetivo evaluar el grado de diversidad fenotípica de los maíces nativos colectados en la región del Altiplano Centro-Oriente del Estado de Puebla y estudiar las relaciones filogenéticas que presentan éstos con las razas reportadas para los Valles Altos de México

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio fue el DDR 04 Libres, ubicado entre los 18° 38' 44" y 19° 41' 10" LN y los 96° 59' 30" y 98° 01' 34" LO; con un perfil altitudinal que va de los 2,340 a los 2,980 msnm (INEGI, 2010). Para la colecta, se escogieron diez municipios de la porción oriental de dicho DDR (Cuadro 1), debido a que cubren un transecto Norte-Sur variable en términos de altitud y en el cual las condiciones ambientales son contrastantes: según el INAFED (2009), en los municipios ubicados al norte (Tepeyahualco, San Nicolás Buenos Aires, Guadalupe Victoria y La Fragua) predominan los suelos regosol y litosol, hay tres climas: semiseco, templado subhúmedo y semifrío; la precipitación promedio anual va de 402 a 446 mm, y la temperatura promedio es de 14.3 °C; hay alta incidencia de sequías y heladas. En los municipios localizados hacia el sur (Tlachichuca, San Salvador el Seco, Chalchicomula de Sesma, San Juan Atenco y

Aljojuca) predominan los suelos regosoles y el clima templado; la precipitación y la temperatura promedio anual son de 600 a 700 mm y 14 °C, respectivamente.

La colecta de maíces nativos se realizó entre octubre de 2006 y febrero de 2007. Se reunieron 134 accesiones (Cuadro 1), que se evaluaron junto con poblaciones representativas (accesiones ‘tipo’) de razas reportadas para la región (Welhausen *et al.*, 1951): Mex. 5, de Palomero Toluqueño; Criollo del Mezquital, de Cónico; Zac-58, de Cónico Norteño, y Mex-158, de Chalqueño. También se incluyeron los materiales 7CSM y Col-6583, representativos de las variantes Chalqueño Crema y Chalqueño Palomo, reportadas por Herrera *et al.* (2004) para la raza Chalqueño. Se agregaron cuatro materiales mejorados con potencial de adaptación a la región: Sintético Serdán, AS-722, Gavilán y Promesa.

Las 144 poblaciones se sembraron en tres localidades de la región de estudio: Guadalupe Sabinal (18° 55′ 19″ LN, 97° 24′07″ LO, 2540 msnm), Tlachichuca (19° 06′51″ LN, 97° 25′08″ LO, 2600 msnm) y Guadalupe Victoria (19° 17′22″ LN, 97° 20′30″ LO, 2400 msnm). Las fechas de siembra fueron el 26 de marzo, el 3 y el 17 de abril de 2007, respectivamente. La siembra y manejo del cultivo se realizó conforme a las prácticas convencionales de cada agricultor, excepto para la dosis de fertilización que fue de 110-50-00 en Guadalupe Sabinal y Tlachichuca, y de 100-30-00 en Guadalupe Victoria; se aplicó la tercera parte del nitrógeno y todo el fósforo a la siembra y el resto del nitrógeno en la segunda labor.

Se utilizó un diseño experimental látice simple 12×12 (Martínez, 1989). La unidad experimental estuvo constituida por dos surcos de cinco metros de largo, con separación de 0.85

m. En cada surco se sembraron tres semillas cada 0.50 m, para después de seis semanas ajustar a dos plantas por mata y obtener una densidad de población de 47 mil plantas por hectárea. Según lo indicaron López *et al.* (2005), en cada parcela se marcaron cinco plantas con competencia completa en la etapa de 10 hojas liguladas, las cuales se utilizaron para obtener la información de las variables reportadas en el Cuadro 2, con excepción de la floración masculina y femenina, así como la asincronía floral, que se obtuvieron de la unidad experimental completa. Al concluir la antesis se tomaron las cinco espigas de las plantas marcadas para registrar diferentes variables sugeridas por Sánchez *et al.* (1993). A la cosecha, se tomaron las mazorcas de las plantas marcadas para recabar la información de mazorca y grano registrada por Mijangos *et al.* (2007).

Con los datos se realizó un análisis de varianza combinado para las tres localidades. Después, y para eliminar problemas de colinealidad entre las variables en análisis estadísticos posteriores, se efectuó una selección de aquellas, considerando los resultados del procedimiento STEPWISE de SAS (SAS Institute, 1999) y de la matriz de correlaciones de Pearson. Con las variables resultantes, y utilizando los promedios por población a través de localidades, se practicó un análisis de componentes principales con el procedimiento PRINCOMP de SAS (SAS Institute, 1999); también se graficaron los valores de los tres primeros componentes principales de cada población. Para cada grupo identificado gráficamente y para los testigos raciales, se calcularon las medias aritméticas por variable, las cuales se estandarizaron para obtener la matriz de distancias euclidianas y generar un filograma bajo el principio de evolución mínima, aplicando el método de agrupamiento de vecinos (Neighbor-Joining) (Saitou y Nei, 1987). Palomero Toluqueño fue empleado como grupo externo por ser prístino en la evolución del maíz, como lo mencionan Wellhausen *et al.* (1951). Se empleó el paquete NTSYS-pc (Rohlf, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de varianza combinado

Aun cuando las poblaciones de maíz estudiadas provinieron de localidades relativamente cercanas, la fuente de variación ‘Poblaciones’ presentó diferencias altamente significativas para todas las variables, excepto para longitud del pedúnculo de la espiga (Cuadro 3). Ello es un indicador de la existencia de variabilidad genética, expresada como diversidad fenotípica, y apunta a que se trata de variantes genotípicas asociadas a la variación ambiental (Muñoz, 2005) y a los usos del cultivo (Gil *et al.*, 2004), las cuales han sido cultivadas y seleccionadas por los agricultores en forma diferencial. Para la fuente de variación ‘Localidades’ se presentaron diferencias altamente significativas en 20 variables y significativas en dos de ellas - ramificaciones primarias de la espiga y volumen de grano- (Cuadro 3), indicando que las localidades también influyeron en la variación encontrada. Tal efecto puede atribuirse al ambiente prevaleciente en cada localidad: en Guadalupe Victoria el clima se ubica en el grupo de los secos, con precipitaciones promedio anuales de 466 mm y presencia de sequías y heladas, condiciones que aunadas a los suelos arenosos allí presentes resultan en un ambiente restrictivo para la agricultura. En contraste, en Guadalupe Sabinal y Tlachichuca, el ambiente físico es más propicio para la producción de maíz, pues sus climas son templados, la precipitación promedio anual es próxima a los 600 mm, y hay suelos andosoles y fluvisoles (INAFED, 2009). La interacción ‘Loc x Pob’ resultó no significativa en 13 de las 22 variables evaluadas (Cuadro 3). Once de esas 13 variables también fueron reportadas como no significativas para dicha interacción por Mijangos *et al.* (2007), López *et al.* (2005) y Hortelano *et al.* (2008).

Selección de variables

El método STEPWISE detectó colinealidad entre longitud del tramo ramificado de la espiga y su longitud total. Las correlaciones de Pearson que resultaron significativas fueron: días a floración masculina con días a floración femenina (0.87), índice APL/AMZ con altura de mazorca (0.85), longitud del tramo ramificado de la espiga con número de ramificaciones primarias de la espiga (0.70), longitud total de la espiga con longitud del tramo ramificado (0.75) y con altura de planta (0.76), y longitud del pedúnculo de la espiga con altura de planta (0.76). Considerando ambos procedimientos, se excluyeron de los análisis multivariados las variables longitud total, longitud del pedúnculo y longitud del tramo ramificado de la espiga, días a floración masculina y el índice APL/AMZ.

Análisis de componentes principales y caracterización de grupos

Los tres primeros componentes principales explicaron el 70.7 % de la variación total (Figura 1). El primer componente presentó una mayor asociación con altura de planta (vector propio de 0.368), altura de mazorca (0.355), diámetro de mazorca (0.372) y días al 50 % de floración femenina (0.306), es decir, con el porte de planta, precocidad y grosor de mazorca; el segundo componente estuvo asociado a número de hileras en la mazorca (0.417), ancho de grano (-0.395) y el índice LGR/AGR (0.435); el tercer componente se asoció mayormente con longitud de mazorca (0.527), número de granos por hilera (0.453) y el índice LMZ/DMZ (0.558). En estos dos últimos componentes predominaron caracteres de mazorca y grano.

Al analizar la Figura 1 se nota que las poblaciones ubicadas en el lado positivo del Componente Principal 1 tendieron a ser más tardías, a presentar mayor altura de planta y

mazorca y a un mayor diámetro de ésta. Para el Componente Principal 2, las poblaciones con mayor número de hileras e índice LGR/AGR más alto se ubicaron en el lado positivo de dicho componente; las de granos más anchos estuvieron en el lado negativo de dicho eje. En el Componente Principal 3, en el lado positivo se encontraron las poblaciones con mayor longitud de mazorca, número de granos por hilera y mayor índice LMZ/DMZ. Se infiere por tanto que las variables que explican en mayor grado la diversidad presente en las poblaciones nativas de maíz son las que se asocian al rendimiento de grano. La Figura 1 evidenció cuatro aspectos: a) que las poblaciones nativas pueden agruparse en cinco conjuntos (Grupos I al V); b) que estos grupos no guardaron relación con Cónico Norteño y Palomero Toluqueño; c) que las accesiones ‘tipo’ de Chalqueño y Cónico se ubicaron en la periferia de tales grupos, y d) que la población Chalqueño de la raza Chalqueño fue la más próxima al Grupo I, la de Chalqueño Crema al Grupo II, y que Chalqueño Palomo quedó distante de todos los grupos.

Estos resultados apuntan a que las poblaciones de maíz que se cultivan actualmente en el Centro-Oriente del Altiplano Poblano tuvieron, en algún momento, mayor relación con las razas Chalqueño y Cónico, reportadas previamente como existentes en esta región (Wellhausen *et al.*, 1951; Sánchez *et al.*, 2000), pero que tal relación ya es mínima. Ello sugiere que ha estado ocurriendo un proceso de divergencia entre las poblaciones nativas y las razas reportadas para esta región, el cual es atribuible al curso evolutivo normal de las poblaciones nativas y a la selección que practican los productores, la cual enfatiza –entre otros aspectos- variables asociadas al color de grano, ciclo vegetativo y al rendimiento (Gil *et al.*, 2004; Muñoz, 2005). Este fenómeno de divergencia también fue observado por Hortelano *et al.* (2008) en el Valle de Puebla, ubicado a 100 km del área de estudio. Tales autores encontraron cierta afinidad de los

materiales de grano blanco con la raza Chalqueño, en su variante Chalqueño Crema, no así con las accesiones ‘tipo’ de otras razas incluidas en el estudio, como Cónico, Cónico Norteño y Cacahuacintle. Cabe señalar que la disposición de los grupos (Figura 1) delinea la presencia de un continuo entre las poblaciones nativas de maíz. Este patrón de distribución puede atribuirse a los factores reportados por Pressoir y Berthaud (2004) para explicar la diversificación fenotípica de los maíces nativos de los Valles Centrales de Oaxaca, México: la presencia de flujo génico dentro y entre localidades, las decisiones de los agricultores y las estrategias de selección.

Relacionando los Grupos definidos en la Figura 1 y los datos del Cuadro 4, se notó que las plantas del Grupo II presentaron los valores más altos para altura de planta y de mazorca, longitud de mazorca y granos por hilera, así como en otros componentes de rendimiento, sugiriendo que se trata de materiales más vigorosos y productivos, hecho atribuible a que prácticamente el 90 % de ellos se colectaron en la zona de mayor potencial ambiental en el DDR 04. Al grupo lo formaron 19 poblaciones, 84 % de ellas de grano cremoso. Es posible que los materiales de este conjunto se hayan derivado de Chalqueño Crema, pues fue el material con el que tuvieron mayor similitud, aunque al parecer, en ellas se ha efectuado selección hacia plantas de menor porte y mayor precocidad.

Al Grupo I lo integraron 47 poblaciones; 87 % de ellas de grano cremoso: sus plantas resultaron tener menor porte, mazorcas significativamente más cortas y con menos granos por hilera que las del Grupo II (Cuadro 4); no obstante, mantuvieron el mismo diámetro, número de hileras, longitud y ancho de grano. De todos los Grupos, el I fue el que mayor parecido tuvo hacia Chalqueño (y quizá Cónico), aunque las mazorcas de las poblaciones del grupo fueron

más cortas y gruesas, con menos hileras y granos por hilera, pero con granos más largos y anchos que las de Chalqueño. Las diferencias con respecto a Cónico fueron mayores en todas las variables (Cuadro 4).

Los Grupos III y IV tuvieron plantas menos vigorosas que las de los Grupos anteriores, lo cual puede atribuirse en parte a que incluyeron más poblaciones de grano pigmentado (Grupo III: 34 poblaciones, 50 % pigmentadas; Grupo IV: 28 poblaciones 64 % pigmentadas), las cuales, cuando se comparan con las de grano blanco, usualmente resultan ser de menores dimensiones (Hortelano *et al.*, 2008). Las características distintivas de los Grupos III y IV fueron que el primero presentó el valor más bajo de longitud de mazorca entre todas las poblaciones nativas, en tanto que el segundo lo tuvo en la variable longitud de grano (Cuadro 4). El Grupo V reviste particular importancia ya que se encontró relativamente alejado de los conjuntos que formaron las poblaciones nativas; lo que es más, se mantuvo diametralmente opuesto a todos los testigos raciales (Figura 1). Este Grupo sólo incluyó a seis poblaciones, todas de grano cremoso; se caracterizó por presentar los valores más bajos en las variables días a floración femenina, altura de planta y mazorca, diámetro de mazorca y número de granos por hilera entre las poblaciones nativas; sin embargo, presentó el valor más alto en la variable ancho de grano (Cuadro 4).

Los datos antes expuestos evidencian que los agricultores han estado practicando selección hacia cuando menos tres tipos de planta: las más productivas, aptas para localidades de alto potencial ambiental (Grupos II y I), las de mayor precocidad (y por tanto, de menor crecimiento) para ambientes con restricciones a la producción (Grupo V), y las de características intermedias (Grupos III y IV), adecuadas para las condiciones de producción intermedias. Estos resultados

concuerdan con los expuestos por Romero y Muñoz (1996) y Gil *et al.* (1995) en el sentido de que los productores que cultivan maíces nativos en las diferentes microrregiones de México han desarrollado auténticos sistemas de variedades para enfrentar los diferentes potenciales ambientales donde desarrollan sus actividades productivas.

Análisis filogenético

Los grupos de poblaciones nativas se separaron de los testigos Cónico, Chalqueño Palomo, Cónico Norteño y Palomero Toluqueño, los cuales se ubicaron en la parte basal del filograma (Figura 2) evidenciando, por tanto, poca similitud con tales referentes. A una altura de corte de 4.2 unidades se formó un grupo que en su rama inferior tuvo a los testigos Chalqueño Crema y Chalqueño y en la superior a los grupos de poblaciones nativas (Figura 2); de ello puede inferirse que ambos conjuntos se derivaron -en algún punto del proceso evolutivo- de un ancestro común. Ello puede explicar la relativa cercanía observada en la Figura 1 entre los materiales nativos y los dos testigos ya mencionados. El grupo de poblaciones nativas se separó de los Chalqueños a una altura de corte de 4.83, evidenciando con ello que constituyen un conglomerado que se ha diferenciado de manera importante de tal raza.

Analizando las relaciones entre grupos de poblaciones se observó que las del Grupo II fueron basales, sugiriendo que a partir de ellas se derivaron las demás; así, se habrían formado las del Grupo I y el conjunto que abarcó las de los Grupos III, IV y V. Estos últimos grupos fueron los más relacionados entre sí, pues se derivaron de una misma rama a una distancia de 5.87; de ellos, los de mayor similitud fueron el III y el V siendo este último, evolutivamente, un subconjunto o una derivación del Grupo III. La longitud de las ramas apunta a que las poblaciones del Grupo V

son más evolucionadas que el resto de poblaciones nativas y que los testigos. Dos rasgos importantes del Grupo V son el que se formó exclusivamente por materiales de grano blanco cremoso, y que estos provinieron de localidades y municipios próximos: cuatro se obtuvieron en el municipio de Tlachichuca (una en Tlachichuca, otra en San Miguel Zoapan y dos en Paso Nacional) y las otras dos en el de San Nicolás Buenos Aires (comunidad de Miguel Hidalgo). Estas localidades se ubican en un radio no mayor de 23 km en las faldas del volcán Pico de Orizaba, a altitudes entre 2,600 y 2,380 msnm. Los pobladores de las comunidades de Tlachichuca señalan que allí las heladas son un problema importante para el maíz, mientras que en Miguel Hidalgo lo son las sequías. Una forma de hacer frente a estos problemas es a través del empleo de variedades precoces (Barrales *et al.*, 2002; Cattivelli *et al.*, 2008), a las que se puede recurrir cuando la estación de crecimiento es limitada o cuando se ha retrasado la fecha de siembra. Los datos del Cuadro 4 indican que las poblaciones del Grupo V cubren tales características, pues fueron precoces, de porte bajo y con mazorcas de menor diámetro y menor número de granos por hilera, por lo que se trata de materiales que han sido seleccionados más intensamente por el agricultor (hacia precocidad) para enfrentar este tipo de condiciones.

CONCLUSIONES

Se detectó una amplia diversidad fenotípica entre las poblaciones nativas de maíz cultivadas en el Altiplano Centro-Oriente del Estado de Puebla. Tal variación se manifiesta como un continuo en los valores de los diferentes atributos medidos.

Las poblaciones nativas de maíz del Altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla presentaron cierta relación solamente con los testigos raciales Chalqueño y Chalqueño Crema. Tal relación fue más evidente en una fracción de las poblaciones de grano blanco y crema, no así en las pigmentadas, las cuales se apartaron de dichos materiales. Ello evidencia que las poblaciones nativas se encuentran en un proceso de selección continua y de divergencia de las razas previamente reportadas para la región.

La selección que están ejerciendo los agricultores se está orientando a desarrollar poblaciones nativas de maíz aptas para producir en las diferentes condiciones ambientales prevalecientes en la región. Algunas de las características sujetas a selección son precocidad, porte de planta y componentes del rendimiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Barrales D J S, M Livera M, V A González H, C Peña V, J Kohashi-Shibata, F Castillo G (2002)** Relaciones térmicas en el sistema suelo-planta-atmósfera durante la influencia del fenómeno de enfriamiento o helada. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(3):289-297.
- Benz B F (1997)** Diversidad y distribución prehispánica del maíz mexicano. *Arqueología Mexicana* 5 (25): 16-23.
- Cattivelli L, F Rizza, F W Badeck, E Mazzucotelli, A M Mastrangelo, E Francia, C Marè, A Tondelli, A M Stanca (2008)** Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Research* 105:1-14.
- Cervantes S T, M M Goodman E Casas D (1978)** Efectos genéticos y de interacción genotipo-ambiente en la clasificación de las razas mexicanas de maíz. *Agrociencia* 30: 25-30.
- Gil M A, A Muñoz O, A Carballo C, A Trinidad S (1995)** El patrón varietal de maíz en la región sureste de la Sierra Purépecha. I. Variables importantes empleadas en su definición. *Revista Fitotecnia Mexicana* 18:163-173.
- Gil M A, P A López, A Muñoz O, H López S (2004)** Variedades criollas de maíz (*Zea mays* L.) en el estado de Puebla, México: diversidad y utilización. *In: Chávez-Servia, J.L., Tuxill J. y*

- Jarvis D.I. (eds.). Manejo de la Diversidad de los Cultivos en los Agrosistemas Tradicionales. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali, Colombia. pp. 18-25.
- Herrera C B E, F Castillo G, J J Sánchez G, J M Hernández C, R Ortega P, M M Goodman (2004)** Diversidad del maíz Chalqueño. *Agrociencia* 38: 191-206.
- Hortelano S R, A Gil M, A Santacruz V, S Miranda C, L Córdova T (2008)** Diversidad morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. *Agricultura Técnica en México* 34(2): 189-200.
- INAFED (2009)** Enciclopedia de los municipios de México. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de Puebla. (http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/EMM_Puebla) (12/02/2010).
- INEGI (2002)** Anuario Estadístico del Estado de Puebla. Tomo II. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Aguascalientes, Ags. México. 508 p.
- INEGI (2010)** Registro de nombres geográficos. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, México. (<http://mapserver.inegi.org.mx/rnng/index.cfm?s=geo&c=1312>) (10/02/2010).
- López R G, A Santacruz V, A Muñoz O, F Castillo G, L Córdova T, H Vaquera H (2005)** Caracterización morfológica de poblaciones nativas de maíz del Istmo de Tehuantepec, México. *Interciencia* 30 (5): 284-290.
- Martínez G A (1989)** Manual de diseño y análisis de los látices. Centro de Estadística y Cálculo. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México. 71 p.
- Mijangos C J O, T Corona T, D Espinosa V, A Muñoz O, J Romero P, A Santacruz V (2007)** Differentiation among maize (*Zea mays* L.) landraces from the Tarasca Mountain Chain, Michoacan, Mexico and the *Chalqueño* complex. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54 (2): 309-325.

- Muñoz O A (2005)** Centli Maíz. 2ª ed. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 211 p.
- Pressoir G, J Berthaud (2004)** Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity* 92: 95-101.
- Rohlf F J (1993)** NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 1.8. Department of Ecology and Evolution. State University of New York. N.Y.
- Romero P J, A Muñoz O (1996)** Patrón varietal y selección de variedades de maíz para los sistemas agrícolas en la región de Tierra Caliente. *Agrociencia* 30 (1): 63-73.
- Saitou N, M Nei 1987)** El método de agrupamiento de vecinos: un nuevo método para reconstruir árboles filogenéticos. *Molecular Biology and Evolution* 4 (4): 406-425.
- Sánchez G J J, M M Goodman, J O Rawlings (1993)** Appropriate characters for racial classification in maize. *Economic Botany* 47 (1): 44-59.
- Sánchez G J J, M M Goodman, C W Stuber (2000)** Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54 (1): 43-59.
- SAS Institute (1999)** SAS Procedures Guide. Ver. 8. SAS Institute Inc. Cary, NC, U.S.A. 1643 p.
- SIAP (2010)** Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA, México. <http://www.siap.gob.mx> (12/02/2010)
- Wellhausen E J, L M Roberts, E Hernández X, P C Mangelsdorf (1951)** Razas de Maíz en México: Su Origen, Características y Distribución. Folleto Técnico No. 5. Oficina de Estudios Especiales. S. A. G. México, D.F. 239 p.

Cuadro 1.1. Localidades de colecta, color de grano y número de accesiones de maíz nativo acopiadas por municipio en la región Centro-Oriente de Puebla.

Municipio	Localidad	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud msnm	Color de grano [†]		
					Cr	Az	Am
Aljojuca	Aljojuca	19° 05´	97° 31´	2480	6	2	2
	San Antonio Jalapasco	19° 05´	97° 28´	2520			
Chalchicomula de Sesma	Ciudad Serdán	18° 59´	97° 26´	2530	11	5	-
	Guadalupe Sabinal	18° 55´	97° 24´	2540			
	San Miguel Ocotenco	19° 03´	97° 27´	2600			
Esperanza	Santa Catarina los Reyes	18° 52´	97° 26´	2410	1	-	-
Guadalupe Victoria	Santa Cruz Quechulac	19° 22´	97° 20´	2360	7	2	3
	San Luis Atexcac	19° 20´	97° 27´	2415			
La Fragua	Saltillo	19° 13´	97° 20´	2700	9	2	-
	Cuauhtémoc	19° 17´	97° 17´	2860			
San Juan Atenco	San Juan Atenco	19° 05´	97° 32´	2440	7	2	2
	Santa Cruz Coyotepec	19° 01´	97° 33´	2420			
Sn N. Buenos Aires	Miguel Hidalgo	19° 12´	97° 31´	2380	4	-	-
San Salvador El Seco	Paso Puente Santa Ana	19° 04´	97° 36´	2420	4	1	-
Tepeyahualco	San Miguel Itzoteno	19° 25´	97° 26´	2340	8	2	3
	Techachalco	19° 22´	97° 26´	2340			
Tlachichuca	Santa Cecilia Tepetitlán	19° 11´	97° 26´	2420	32	9	10
	José María Morelos	19° 08´	97° 28´	2480			
	Tlachichuca	19° 06´	97° 25´	2600			
	San Francisco						
	Independencia	19° 04´	97° 25´	2660			
	Paso Nacional	19° 08´	97° 21´	2760			
	San Miguel Zoapan	19° 05´	97° 21´	2980			
TOTAL					89	25	20

Fuente: elaboración propia a partir de datos de INEGI (2010). [†]Cr; crema, Az; azul, Am; amarillo, números de poblaciones por municipio.

Cuadro 1.2. Variables registradas por unidad experimental.

Tipo de variable	Variable	Abreviatura	Unidad de medida	Tamaño de muestra
Vegetativas	Días a floración masculina [†]	DFM	días	Unidad experimental
	Días a floración femenina ^{††}	DFF	días	Unidad experimental
	Asincronía floral [¶]	ASF	días	Unidad experimental
	Altura de planta	APL	cm	Cinco plantas
	Altura de mazorca	AMZ	cm	Cinco plantas
	Índice APL/AMZ	APL/AMZ	adimensional	Cinco plantas
Espiga	Hojas arriba de la mazorca	HMZ	número	Cinco plantas
	Ramificaciones primarias	RPE	número	Cinco espigas
	Longitud del pedúnculo	LPE	cm	Cinco espigas
	Long. del tramo ramificado	LTR	cm	Cinco espigas
	Long. de la rama central	LRC	cm	Cinco espigas
Mazorca	Longitud total de la espiga	LTE	cm	Cinco espigas
	Longitud de mazorca	LMZ	cm	Cinco mazorcas
	Diámetro de mazorca	DMZ	cm	Cinco mazorcas
	Índice LMZ/DMZ	LMZ/DMZ	adimensional	Cinco mazorcas
	Número de hileras	NHIL	número	Cinco mazorcas
Grano	Núm. de granos por hilera	GHIL	número	Cinco mazorcas
	Grosor de grano	GGR	mm	50 granos ^{¶¶}
	Longitud de grano	LGR	mm	50 granos
	Ancho de grano	AGR	mm	50 granos
	Índice LGR/AGR	LGR/AGR	adimensional	50 granos
	Volumen de grano ^ξ	VGR	mm ³	50 granos

[†] Días transcurridos desde la siembra hasta que el 50 % de las plantas presentó anteras dehiscentes. ^{††} Días transcurridos desde la siembra hasta que el 50 % de las plantas presentó estigmas expuestos. [¶] Diferencia DFM-DFF; ^{¶¶} Para diez granos de cada mazorca evaluada; ^ξ VGR = GGRxLGRxAGR

Cuadro 1.3. Análisis de varianza combinado de 22 caracteres evaluados en 134 poblaciones nativas de maíz y 10 testigos.

Variables	Cuadrados Medios [†]				Media	CV (%)
	Poblaciones	Localidades	Pob x Loc	Error		
DFM	190.41**	4922.00**	32.11ns	27.32	113.73	4.50
DFF	215.05**	15128.93**	37.65*	29.89	124.90	4.30
ASF	22.88**	3043.26**	14.23ns	12.39	11.16	31.50
APL	894.16**	180770.70**	195.70*	146.01	165.65	7.29
AMZ	617.31**	21423.82**	99.29ns	92.50	92.56	10.39
APL/AMZ	0.106**	7.11**	0.02*	0.016	1.80	6.98
HMZ	0.348**	8.45**	0.09ns	0.094	4.51	6.81
RPE	8.92**	15.85*	4.50ns	4.57	7.21	29.64
LPE	5.90ns	4910.76**	6.40*	5.33	22.95	10.06
LTR	2.60*	33.55**	1.56ns	1.68	6.16	21.08
LRC	29.44**	547.43**	11.91*	8.98	33.34	8.99
LTE	45.20**	8236.96**	22.93*	17.02	62.44	6.60
LMZ	3.81**	239.02**	1.95ns	1.65	12.01	10.71
DMZ	45.51**	2193.70**	7.67*	5.96	46.59	5.24
LMZ/DMZ	0.002**	0.006**	0.0007ns	0.00067	0.25	10.08
NHIL	7.16**	24.04**	1.31*	1.035	13.74	7.40
GHIL	20.75**	1206.22**	9.04ns	8.87	21.68	13.73
GGR	42.02**	883.92**	12.88ns	14.17	45.42	8.28
LGR	541.88**	3417.68**	91.60*	75.96	149.45	5.83
AGR	211.68**	632.86**	20.50ns	22.83	82.92	5.76
LGR/AGR	0.094**	0.45**	0.016ns	0.016	1.81	6.95
VGR	34484.70**	26864.36*	5177.40ns	5154.74	566.03	12.68

[†]Grados de libertad respectivos: Poblaciones=143, Localidades=2, Loc x Pob=286, Error=429.

*Significancia al 5 %, **Significancia al 1 %, ns=no significativo; C.V.=coeficiente de variación.

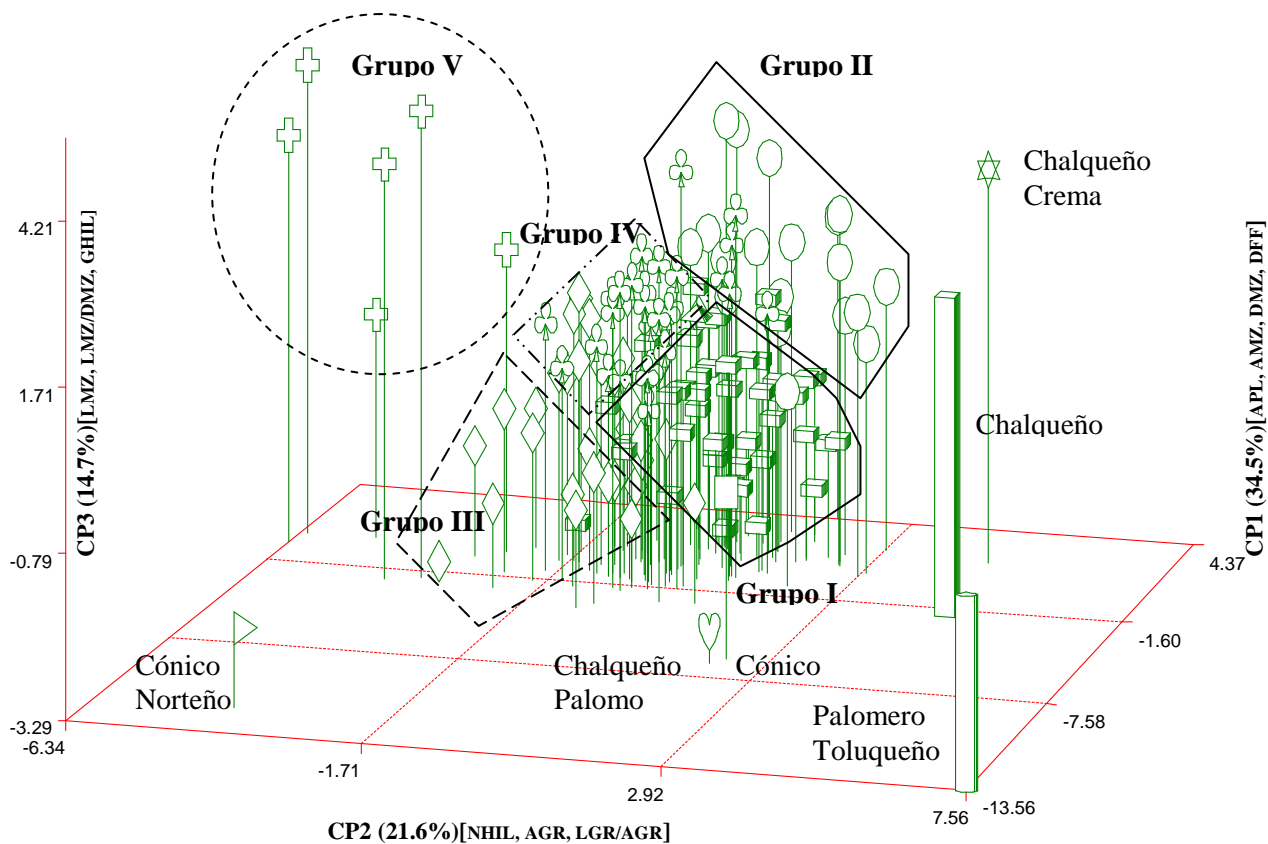


Figura 1.1. Dispersión de 134 poblaciones nativas de maíz y seis poblaciones típicas de diferentes razas en el espacio determinado por los tres primeros componentes principales (CP).

Cuadro 1.4. Medias de grupo en variables con mayor asociación a los tres primeros componentes principales y promedios de testigos raciales.

Grupo	DFE	ASF	APL	AMZ	LRC	LMZ	DMZ	NHIL	GHIL	LGR	AGR
	(días)	(días)	(cm)	(cm)	(cm)	(cm)	(mm)	(núm)	(núm)	(mm)	(mm)
Poblaciones Nativas [†]											
I	128a	11ab	171b	96ab	34ab	11.6c	48.2a	14.1a	21c	15.53a	8.26b
II	129a	10b	178a	100a	35a	13.0a	48.9a	14.0a	23a	15.43a	8.33b
III	123b	12a	161cd	92bc	32c	11.5c	46.0b	13.6ab	20c	14.85b	8.35b
IV	123b	11ab	164c	92bc	33bc	12.4b	45.1b	13.3b	23ab	14.56b	8.22b
V	121b	12ab	157d	88c	32c	12.2b	43.5c	10.2c	22bc	14.84b	10.05a
Tukey	4.29	1.63	6.74	5.41	1.54	0.5	1.47	0.6	1.16	4.86	3.86
(0.05)											
Testigos Raciales ^{††}											
Cónico	122	12.0	145.0	75.8	33.5	11.2	39.2	15	23	11.97	6.64
C. Norteño	98	5.8	94.1	38.0	23.3	9.5	35.1	12	18	11.06	7.37
Chalqueño	131	9.5	169.8	95.1	38.6	12.8	45.4	16	27	13.59	7.32
Ch. Crema	131	9.7	196.1	111.9	38.3	13.9	47.2	15	26	15.41	7.70
Ch.	132	8.5	123.5	54.0	29.4	10.4	41.2	15	21	12.56	6.79
Palomo											
Palomero	103	5.8	122.4	59.4	27.3	10.8	32.7	17	30	11.24	4.95
T.											

[†]Medias con la misma letra en las columnas no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

^{††}C.; Cónico, Ch; Chalqueño, T.; Toluqueño.

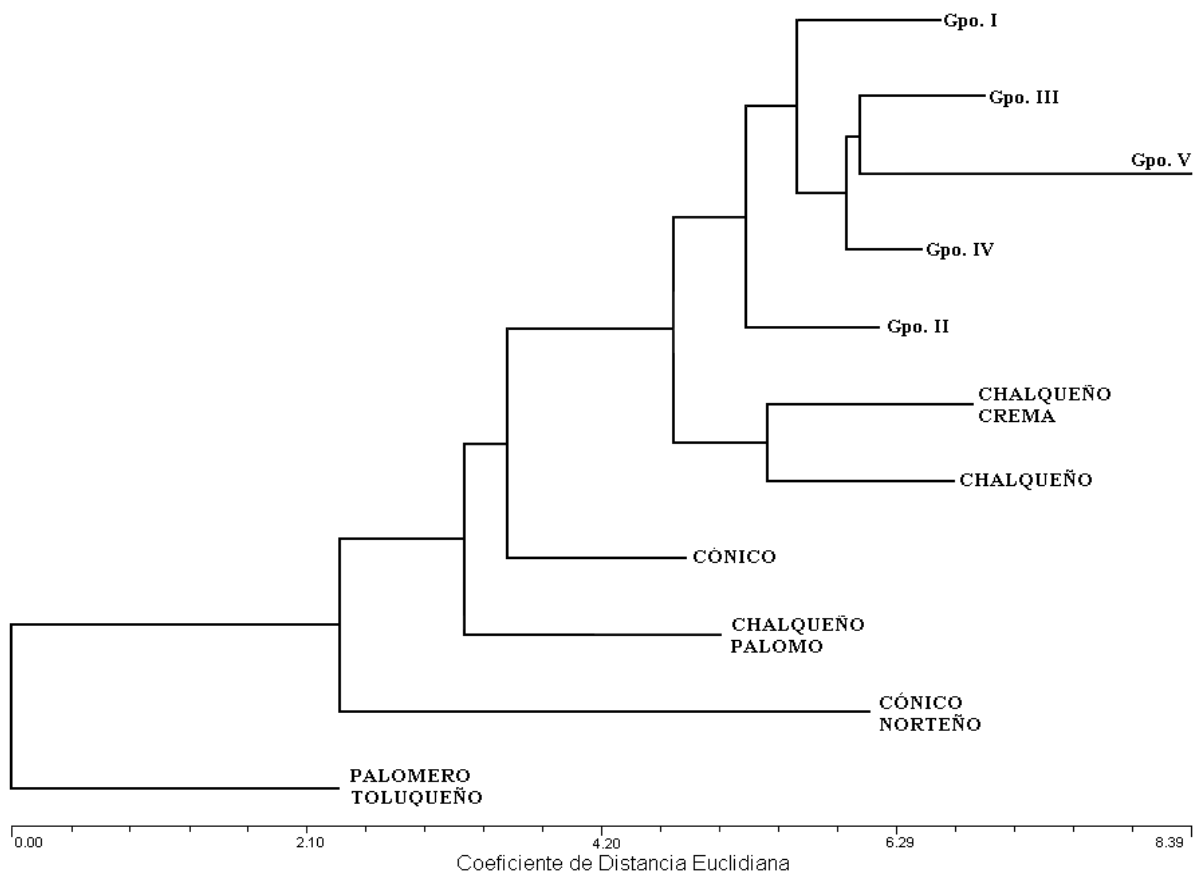


Figura 1.2. Filograma generado mediante el método de agrupamiento de vecinos (Neighbor-Joining) utilizando las distancias euclidianas entre cinco grupos de poblaciones nativas de maíz y seis testigos raciales.

**II. VARIACIÓN ISOENZIMÁTICA EN MAÍCES NATIVOS DEL ALTIPLANO
CENTRO-ORIENTE DEL ESTADO DE PUEBLA**

**ISOZYMATIC VARIATION OF MAIZE LANDRACES FROM THE CENTRAL-
EASTERN HIGHLAND PLATEAU OF THE STATE OF PUEBLA**

Artículo preparado para su envío a la Revista Fitotecnia Mexicana.

RESUMEN

Con la finalidad de explorar la variación isoenzimática, el grado de diferenciación genética y las relaciones filogenéticas de poblaciones nativas de maíz (*Zea mays* L. ssp. *mays*) del altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla, se estudiaron 51 colectas provenientes de 10 municipios del Distrito de Desarrollo Rural de Libres y seis testigos representantes de las razas Cónico, Cónico Norteño, Palomero Toluqueño y Chalqueño. Se examinaron diez sistemas enzimáticos que codifican para 18 loci, en los que se detectaron 52 alelos. Con base en las frecuencias alélicas se estimaron parámetros de diversidad genética, encontrándose que el conjunto de poblaciones nativas presentó 98 % del total de alelos, con nueve exclusivos, con promedio de 2.83 alelos por locus, polimorfismo del 88.9 % y una heterocigosidad esperada de 0.270. Se encontró moderada diferenciación genética (0.085), indicando que sólo el 8.5 % de la variación se presentó entre grupos y 91.5 % dentro de los grupos. Las poblaciones nativas presentaron mayor similitud genética con la raza Chalqueño, aunque están divergiendo de la misma, posiblemente por efectos de la selección practicada por los agricultores de la zona.

Palabras clave: *Zea mays* L., marcadores bioquímicos, germoplasma, recursos fitogenéticos.

SUMMARY

In order to explore the isozymatic variation, the degree of genetic differentiation, and phylogenetic relationships of native populations of maize (*Zea mays* L. ssp. *mays*) in the Central-Eastern region of the state of Puebla, 51 accessions from ten municipalities of the District for Rural Development of Libres were evaluated, along with six checks representative of the Cónico, Cónico Norteño, Palomero Toluqueño, and Chalqueño races. Ten isozymatic systems coding for 18 enzyme loci were explored, 52 alleles were found. Parameters of genetic diversity were estimated, on the basis of allele frequencies, and it was found that native populations presented 98 % of all the alleles, with nine exclusive alleles, and an average of 2.83 alleles per locus, polymorphism of 88.9 % and an expected heterozygosity of 0.270. Moderate genetic differentiation (0.085) was found, indicating that only 8.5 % of the variation was found between groups and 91.5 % within the groups. The native populations showed high genetic similarity with the Chalqueño race, although they are diverging from it, probably because of the effects of the local farmers selection.

Index words: *Zea mays* L., biochemical markers, germplasm, plant genetic resources.

INTRODUCCIÓN

Diversos trabajos como los de Kato (1984) y Kato *et al.* (2010) han concluido que México es un centro de origen, domesticación y diversidad del maíz (*Zea mays* L. ssp. *mays*) debido, entre otras razones, a que aquí se encuentran alrededor de 59 razas, las cuales representan el 30 % de las reportadas para el continente americano (Sánchez *et al.*, 2000a). Es precisamente esta diversidad la que ha motivado la conducción de diferentes estudios tendientes a cuantificarla, ya sea a nivel nacional (Doebley *et al.*, 1985; Sánchez *et al.*, 2000a) o regional (Mijangos *et al.*, 2007; Hortelano *et al.*, 2008; López *et al.*, 2009). En tales estudios se ha recurrido a caracterizaciones morfológicas y/o isoenzimáticas. Los marcadores bioquímicos, como las isoenzimas, han sido ampliamente usados debido a su polimorfismo, codominancia, herencia simple, su localización en tejidos y órganos y a que los estudios correspondientes son rápidos y relativamente baratos (Bretting y Widrlechner, 1995). Con estos marcadores se determinan las frecuencias alélicas, usando éstas para evaluar la diversidad y para calcular las distancias genéticas e inferir relaciones filogenéticas o sistemáticas entre las poblaciones o razas estudiadas (Doebley, 1988).

López *et al.* (2009) señalaron que en México aún falta por explorar con mayor detalle la variación genética dentro de razas de maíz; una situación similar aplica para el estudio de la diversidad a nivel regional. Precisamente por ello, y considerando que el Distrito de Desarrollo Rural de Libres (DDR 04) contribuye con el 41 % de la producción de maíz del estado de Puebla (SIAP, 2010) y que en él se emplean predominantemente maíces nativos, cultivados en un 90 % bajo condiciones de temporal (INEGI, 2002), y que a pesar de su importancia, al momento no se cuenta con estudios a nivel de marcadores bioquímicos que permitan conocer la variabilidad de

las poblaciones nativas allí cultivadas, fue que se planteó la presente investigación. Así, los objetivos del estudio fueron evaluar el grado de variabilidad isoenzimática de los maíces nativos del altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla, determinar el grado de diferenciación genética de las poblaciones y estudiar las relaciones que presentan éstas con las razas reportadas para la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

La región que abarcó esta investigación incluyó 10 municipios de la porción Centro-Oriente del Distrito de Desarrollo Rural de Libres, Puebla (DDR-04), quedando delimitada por los paralelos 18° 38' 44" y 19° 41' 10" LN y los meridianos 96° 59' 30" y 98° 01' 34" LO. Las altitudes en la región van de los 2,340 a los 2,980 msnm. En la parte norte de la misma (Tepeyahualco, San Nicolás Buenos Aires, Guadalupe Victoria y La Fragua) se tienen las condiciones más limitantes para la producción, debido al tipo de suelo (litosoles y regosoles) y climas presentes (semiseco, templado subhúmedo y semifrío); la precipitación anual es de 446 mm y hay una alta incidencia de sequías y heladas. Los municipios de la parte sur (Tlachichuca, San Salvador el Seco, Chalchicomula de Sesma, San Juan Atenco y Aljojuca) son más aptos para la producción; predominan los suelos regosoles y el clima templado. La precipitación anual promedio oscila entre los 600 y 700 mm (INAFED, 2009).

Material genético

El análisis morfológico de 134 poblaciones nativas colectadas en la región Centro-Oriente del estado de Puebla evidenció que aquellas se concentraban en cinco grupos, diferenciados principalmente por atributos relacionados con precocidad, porte de planta y componentes de

rendimiento (Cuadro 1). Tomando como referente a tales grupos, se seleccionaron poblaciones nativas que los representaran, procurando incluir la gama de coloraciones de grano y procedencias presentes en cada grupo. De esta forma, se incluyeron 51 poblaciones, de las cuales 16, 8, 10, 14 y 3 pertenecieron a los Grupos I a V, respectivamente. Este conjunto de poblaciones incluyó 30 de grano blanco, 12 de azul, 7 de amarillo, un rojo y uno de color salmón. Los municipios de procedencia de las poblaciones seleccionadas se presentan en el Cuadro 2. Para el análisis isoenzimático adicionalmente se incluyeron poblaciones representativas de las razas Cónico (Criollo del Mezquital), Cónico Norteño (Zac-58), Chalqueño, en sus variantes Chalqueño (Mex-158), Chalqueño Crema (7CSM) y Chalqueño Palomo (Col. 6538) y Palomero Toluqueño (Mex-5).

Análisis isoenzimático

Siguiendo los protocolos de Stuber *et al.* (1988), se obtuvo el extracto enzimático de 10 individuos de cada población, de los seis testigos raciales y de las líneas B73 y Mo24W; estas últimas se emplearon como testigos dado que se conocen sus alelos y sus patrones de bandeo. Las enzimas fueron separadas mediante electroforesis en geles de almidón y su desplazamiento fue revelado con la tinción especificada para cada enzima en los protocolos ya citados. Los zimogramas se fotografiaron para realizar la lectura de las bandas. En total, se analizaron 10 sistemas enzimáticos que codifican para 18 loci; así, se incluyeron las enzimas β -glucosidasa (*Glu1*), malato deshidrogenasa (*Mdh1*, 2, 3, 4 y 5), fosfatasa ácida (*Acp1*), alcohol deshidrogenasa (*Adh1*), catalasa (*Cat3*), glutamato oxaloacetato transaminasa (*Got1*, 2 y 3), esterasa (*Est8*), isocitrato deshidrogenasa (*Idh1*, *Idh2*), fosfato isomerasa (*Phi1*) y

fosfoglucomutasa (*Pgm1* y *Pgm2*), todas ellas localizadas en ocho de los diez cromosomas del maíz.

Análisis estadístico

A partir de la lectura de los zimogramas por población e individuo, y utilizando el programa POPGENE versión 1.31 (Yeh *et al.*, 1999), para cada uno de los cinco grupos de poblaciones así como para los testigos raciales, se calculó el número de alelos por locus y el promedio de alelos por locus, y se estimaron parámetros de diversidad genética tales como las frecuencias alélicas, el porcentaje de loci polimórficos –considerando como polimórficos aquellos donde la frecuencia del alelo más frecuente no fuera superior a 95 % (Brown y Weir, 1983) –, y la heterocigosidad esperada o diversidad genética de las poblaciones, calculada como

$He = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$, donde x , es la frecuencia en la población del i ésimo alelo en un locus y m es el

número de alelos (Nei, 1973). Adicionalmente, para cada locus se estimó la diferenciación

genética relativa de las poblaciones (G_{ST}), calculada como $G_{ST} = 1 - \frac{H_S}{H_T}$, donde H_S es la

heterocigosidad esperada de los individuos con respecto al subgrupo del que forman parte y H_T

es el valor de la heterocigosidad esperada con respecto al total de poblaciones estudiadas (Nei,

1973).

Usando el paquete NTSYS-pc (Rohlf, 1993) y recurriendo a las frecuencias alélicas por grupos de poblaciones nativas y testigos raciales, se generó una matriz de distancias genéticas, utilizando la distancia modificada de Rogers, ya que ésta cumple con la propiedad de metricidad, ésto es, que las similitudes y disimilitudes observadas de los puntos corresponden a distancias métricas entre ellos (Rogers, 1986). Con la matriz de distancias se obtuvo un filograma,

mediante el método de agrupamiento de vecinos (Neighbor-Joining) (Saitou y Nei, 1987), utilizando a la población Palomero Toluqueño como grupo externo, por ser una raza Indígena Antigua y basal en el proceso evolutivo del maíz (Wellhausen *et al.*, 1951).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características morfológicas generales de los grupos

El Grupo I quedó formado por 47 poblaciones; 87.2 % de ellas fueron de grano color crema, fueron tardías respecto a los otros grupos y tuvieron mayor diámetro de mazorca y longitud de grano. Al Grupo II lo integraron 19 poblaciones, 84.2 % fueron de grano cremoso; también fue tardío, pero a diferencia del anterior, éste tuvo mayor altura de planta y mazorca, mayor longitud de mazorca y más granos por hilera. En el Grupo III quedaron 34 materiales, 17 fueron de grano cremoso y 17 de grano pigmentado (azul, negro y amarillo), fue más precoz que los anteriores. Al Grupo IV pertenecieron 28 poblaciones; predominaron las de grano pigmentado (68 %), particularmente las de grano amarillo, tuvo la misma precocidad que el Grupo III, pero sus mazorcas fueron de menor diámetro. El Grupo V incluyó a seis poblaciones, todas de color cremoso, fue el grupo más precoz, tuvo menor altura de planta y mazorca, menor diámetro de mazorca, pero presentó los granos más anchos (Cuadro 1).

Número promedio de alelos

Las poblaciones nativas presentaron un promedio de 2.83 alelos, mientras que el grupo de testigos raciales tuvo 2.0 alelos por locus. El número promedio de alelos por grupo varió desde 2.05 hasta 2.61; en el caso de los testigos, el intervalo fue de 1.2 en Palomero Toluqueño a 1.53 en Cónico Norteño y Chalqueño Crema (Cuadro 3). Se puede afirmar que los Grupos con un

menor número de alelos tienen una menor diversidad genética (Liu, 1998); en el caso del Grupo V, ello puede atribuirse al menor número de poblaciones que lo integraron (tres) y al hecho de que todas ellas provienen de localidades relativamente cercanas, ubicadas en un radio no mayor a 23 km. El número de alelos encontrado entre los maíces nativos del Altiplano Centro-Oriente de Puebla es similar al reportado para Zapalote Chico (2.42) y Maíz Grande (2.47) en el Istmo de Tehuantepec, Oax., por López *et al.* (2009); así como para maíces dulces (2.78) (Revilla y Tracy, 1995) y para el complejo racial dentado de la Faja Maicera (2.67) (Smith, 1986), por lo que puede decirse que el nivel de variación detectado en este trabajo es comparable al de otros estudios regionales o los realizados con poblaciones de una misma raza, en los cuales se ha concluido la existencia de diversidad genética.

Polimorfismo en los loci

Utilizando el criterio propuesto por Nei (1973) de considerar un locus como polimórfico cuando la ocurrencia del alelo más frecuente no supera el 95 %, se tiene que los Grupos II a V presentaron un 72.2 % de loci polimórficos, y que el Grupo I tuvo el valor más alto: 83.3 % (Cuadro 3), lo cual se atribuye a que tuvo el mayor número de alelos promedio por locus y a que las poblaciones que formaron este agrupamiento fueron de procedencia muy diversa. Crossa *et al.* (1993) han argumentado que el polimorfismo es un factor primordial para explicar la evolución, ya que la presencia de variantes alternativas permite que las especies puedan responder mejor a los retos del medio en el que viven; en consecuencia, poblaciones (o conjuntos de estas) con mayor polimorfismo tendrán mayor diversidad genética, mejor capacidad de adaptación al ambiente y, por tanto, de evolución.

En conjunto, las poblaciones nativas presentaron un promedio de 88.9 % de loci polimórficos, mientras que los testigos raciales alcanzaron un promedio de 66.6 %. Estos resultados son semejantes a los encontrados en poblaciones nativas de maíz del Valle de Puebla (Hortelano, 2006; Com. Pers)¹, donde el promedio de polimorfismo fue de 76.5 %, o a los encontrados en el Istmo de Tehuantepec, Oax., por López *et al.* (2009), que fueron de 58 y 74 % para Maíz Chico y Maíz Grande, respectivamente. Incluso, son comparables con los reportados a nivel de razas: Sánchez *et al.* (2000b) encontraron un 74 % de loci polimórficos en 300 razas de las Américas, y Bretting *et al.* (1990) un valor de 72 % en razas de Guatemala. En este contexto, se infiere que las poblaciones nativas de maíz estudiadas tienen grados de polimorfismo isoenzimático comparable con la de maíces de otras zonas de nuestro país o de otras regiones de Centro y Sudamérica.

Heterocigosidad esperada

La heterocigosidad esperada (H_S) se refiere a la fracción estimada de individuos que serían heterocigotos para un locus elegido al azar, y es una predicción basada en la frecuencia de alelos conocidos de una muestra de individuos de una determinada población, de grupos de poblaciones o del total de poblaciones en general, después de una supuesta generación de apareamiento aleatorio (Nei, 1987), de tal forma que un mayor nivel de heterocigosidad implicará –en especies alógamas- mayor diversidad genética. Los datos del Cuadro 3 evidencian que las poblaciones nativas tuvieron un valor promedio de H_S de 0.239, y que dentro de éstas, fue el Grupo V el que presentó el valor más bajo (0.220) y el Grupo III el más alto (0.240), los demás grupo presentaron valores intermedios entre los ya mencionados. Los testigos raciales invariablemente presentaron valores más bajos de H_S que las poblaciones nativas: desde 0.078 en Palomero

Toluqueño hasta 0.176 en Chalqueño Crema (Cuadro 3), con un promedio grupal de 0.204. Comparando los resultados con otros trabajos donde se analizó el mismo grupo de loci de isoenzimas, se observa que los valores de heterocigosidad esperada aquí encontrados son semejantes a los obtenidos para las poblaciones del Valle de Puebla (Hortelano, 2006; Comp. Pers.)¹, con $H_S = 0.216$ de H_S , o las encontradas en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, con $H_S = 0.224$ (López *et al.*, 2009) o en maíces de Guatemala, $H_S = 0.266$ (Bretting *et al.*, 1990). Los valores también se aproximan a los reportados en estudios con diferentes razas, como el de Sánchez *et al.* (2000a), quienes encontraron valores de H_S de 0.269, y el de Sánchez *et al.* (2000b) quienes hallaron valores de 0.189 en las 300 razas de las Américas, o el de Goodman y Stuber (1983), quienes reportaron $H_S = 0.234$ en las razas de Bolivia. Estos resultados demuestran entonces que las poblaciones nativas de maíz del Centro-Oriente del estado de Puebla presentan diversidad genética comparable, o aun mayor que la de los maíces de otras regiones de México y Latinoamérica.

Frecuencias génicas

En total se encontraron 52 alelos; de éstos, 51 estuvieron presentes en las poblaciones nativas y 32 en los testigos raciales; 13 alelos fueron exclusivos a las poblaciones nativas. Las poblaciones nativas en su conjunto presentaron 29.4 % de alelos en común con Chalqueño y Palomero Toluqueño, 33.3 % con Chalqueño Palomo, 37 % con Cónico y 39.2 % con Cónico Norteño y Chalqueño Crema (Cuadro 4). Los loci *Adh1*, *Pgm1*, *Mdh4* y *Got2* resultaron ser monomórficos, mientras que aquellos con mayor cantidad de alelos fueron *Glu1* (7 alelos), *Est8* (5 alelos), *Acp1*, *Phi1* y *Pgm2* (4 alelos cada uno).

La comparación de las frecuencias génicas entre los cinco grupos de poblaciones nativas evidenció que en cinco loci (*Glu1*, *Acp1*, *Got3*, *Est8* e *Idh2*) se tuvieron los mayores contrastes (Cuadro 4); así, el Grupo I presentó en forma exclusiva los alelos *Glu1-1*, *Acp1-6* y *Got3-2*, y tuvo una mayor frecuencia de *Idh2-4* respecto a los demás grupos, donde la mayor frecuencia correspondió al alelo *Idh2-6*. El Grupo II se distinguió por presentar el alelo *Glu1-2.5*, mientras que los Grupos II, III y V fueron los únicos con el alelo *Cat3-7*. Isoenzimáticamente, los Grupos III y IV fueron muy semejantes entre sí, excepto porque el Grupo III presentó los alelos *Cat3-7*, *Est8-8* e *Idh1-2* (no contenidos en el Grupo IV) y el Grupo IV tuvo el alelo *Idh2-4.2* (ausente en el Grupo III). El Grupo V presentó frecuencias relativamente bajas en los alelos *Glu1-2*, *Mdh5-18* y *Acp1-2*, pero tuvo frecuencias relativamente altas en los alelos *Idh2-6*, *Mdh5-15* y *Acp1-3*. Doebley *et al.* (1986) han mencionado que la riqueza alélica es un indicativo del potencial adaptativo y productivo de una población, aunque también consignaron que se conoce muy poco respecto al efecto que tienen las frecuencias altas de ciertos alelos de un loci en el fenotipo de los individuos. Argumentaron también que las diferencias genéticas entre poblaciones están influenciadas por fenómenos tales como la deriva genética, la presión de selección asociada a cambios de ambiente de producción y el aislamiento reproductivo.

A nivel de grupos de poblaciones nativas se encontraron ocho alelos con frecuencia menor a 0.01 %, lo que representa un 15.4 % del total de alelos (Cuadro 4). Estos valores son semejantes a los encontrados por López *et al.* (2009) en materiales de Zapalote Chico y Maíz Grande (12 y 17 %, respectivamente); por Revilla y Tracy (1995) en poblaciones de maíz dulce (22 %), y por Santacruz *et al.* (2004) en maíces palomeros (5 %). Cabe señalar que Brown y Weir (1983) señalaron que el nivel de variabilidad o diversidad en las poblaciones que tienen un solo alelo

predominante por locus o uno o más raros es menor que en aquellas que presentan un mayor número de alelos por locus.

Algunas de las frecuencias génicas encontradas para los grupos de poblaciones nativas coinciden con lo observado en otros estudios; por ejemplo, las frecuencias del alelo *Mdh2-6* y *Phil-4* fueron muy parecidas a las reportadas por Llauradó *et al.* (1993), Doebley *et al.* (1985, 1988) y Santacruz *et al.* (2004); lo mismo ocurrió para los alelos *Got3-4*, *Idh2-6*, al comparar con lo reportado por Doebley *et al.* (1985) y Doebley *et al.* (1988). No obstante, también hubo diferencias, así, López *et al.* (2009) encontraron frecuencias más altas del alelo *Mdh2-3* que en este trabajo; lo mismo ocurrió para el alelo *Mdh5-15* al ser comparado con los resultados de Llauradó *et al.* (1993), Doebley *et al.* (1985, 1988) y Santacruz *et al.* (2004). En el caso del alelo *Got3-4*, López *et al.* (2009), Llauradó *et al.* (1993), Doebley *et al.* (1988) y Santacruz *et al.* (2004) encontraron fijación del mismo, situación que no ocurrió en este trabajo. Esta información ilustra la diferenciación que en frecuencias alélicas se esperaría encontrar entre poblaciones de maíz de diferentes países, regiones o microrregiones, situación que en lo general se atribuye a procesos como el manejo y selección del cultivo, migración, mutación y deriva genética (Pressoir y Berthaud, 2004). En el caso de la región de estudio, y debido a lo compacto de la misma, es difícil atribuir las diferencias en frecuencias génicas de isoenzimas entre grupos a factores tales como la adaptación o a la selección, ya que se esperaría que aquellos no tuvieran efecto en la distribución alélica debido a que las isoenzimas se consideran como marcadores selectivamente neutros (Nevo *et al.*, 1988); no obstante, se ha detectado asociación entre el cambio en las frecuencias génicas en loci de isoenzimas y la selección para mejorar el rendimiento y el manejo por parte de los agricultores (Stuber *et al.*, 1980), ya que puede resultar

en deriva genética, fenómeno que provoca cambios importantes en la estructura genética de las poblaciones (Pressoir y Berthaud, 2004).

Diferenciación genética

La diferenciación genética es un parámetro que denota la variabilidad entre poblaciones, siendo su complemento la variabilidad dentro de las mismas (Nei, 1973). En el Cuadro 5 se presentan los valores de G_{ST} en los cinco grupos de poblaciones nativas, testigos raciales y otros estudios. Los menores valores de diferenciación genética, considerando todos los loci, se presentaron en los cinco grupos de poblaciones nativas; a nivel de grupo el valor de G_{ST} fue de 0.085, indicando que el 8.5 % de la variación residió entre grupos y el 91.5 % dentro de éstos, por lo que se concluye que existe moderada diferenciación genética (Snyder *et al.*, 1985).

Al interior de los grupos se aprecian diferencias que apoyarían la separación de grupos detectada con caracteres morfológicos (Cuadro 1). El Grupo I tuvo valores de G_{ST} que variaron de 0.019 en el locus *Mdh3* hasta 0.168 en *Mdh2*, indicando que este último locus presentó mayor diversidad alélica; los demás loci presentaron valores de G_{ST} intermedios (Cuadro 5). El Grupo II presentó la mayor diferenciación genética en el locus *Mdh5* (0.227), y la menor en el locus *Mdh2*, contrariamente a lo encontrado para este locus en el grupo anterior. El Grupo III presentó la menor diferenciación genética en todos los loci respecto a los otros Grupos, mostrándose como el Grupo con las poblaciones más homogéneas. El Grupo IV se caracterizó por presentar la menor diferenciación en el locus *Got1*, y la mayor en *Mdh5* y *Phi1*. El valor promedio de G_{ST} fue bajo y semejante al del Grupo III (Cuadro 5). El Grupo V, a pesar de presentar los menores

valores de G_{ST} respecto a los demás Grupos en los loci *Mdh1*, *Mdh3* y *Phi1* (0.001), fue el que tuvo una mayor riqueza o distribución alélica en el locus *Glu1* (0.169).

Comparando los valores de diferenciación genética (G_{ST}) del conjunto de poblaciones nativas del Altiplano Centro-Oriente de Puebla con otros trabajos, se tiene que los primeros fueron menores a los obtenidos por López *et al.* (2009) en maíces del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca (0.126), por Llauradó *et al.* (1993) en maíces de España (0.149) y por Doebley *et al.* (1985) en 34 razas mexicanas estudiadas (0.277). Los testigos raciales en conjunto presentaron un G_{ST} de 0.363. Una explicación puede ser las diferencias en cuanto al área explorada, pues en el presente estudio ésta abarcó 2,479 km² (INAFED, 2009), mientras que en Tehuantepec aquella alcanzó los 13 mil km² (López *et al.*, 2009), y en España los 110 mil km² (Revilla *et al.*, 1998). Otra razón puede ser la expuesta por Pressoir y Berthaud (2004) en cuanto a que el flujo genético derivado del intercambio de germoplasma entre agricultores influye en los niveles de diferenciación genética.

Relaciones filogenéticas

En la Figura 1 se observa que los cinco grupos de poblaciones nativas se alejaron como una rama separada de los testigos raciales utilizados, excepto de Chalqueño, testigo al cual quedaron unidas de manera cercana, implicando que el conjunto de poblaciones nativas se derivó de tal raza (Wellhausen *et al.*, 1951), pero que en la actualidad ya se ha presentado una divergencia importante respecto a la misma, particularmente en lo que a frecuencias alélicas de isoenzimas se refiere, debido posiblemente a cambios en la presión de selección que afectan la estructura de las poblaciones (Stuber *et al.*, 1980) o al flujo génico (Pressoir y Berthaud, 2004).

La ubicación del resto de los testigos en la parte basal del filograma puede explicarse por la mayor antigüedad de algunas razas: Palomero Toluqueño se considera como una raza Indígena Antigua, Cónico como una raza Mestiza Precolombina y Cónico Norteño como una raza Moderna Incipiente (Wellhausen *et al.*, 1951), lo que da como resultado el que tengan combinaciones alélicas diferentes a las que presentan las poblaciones nativas de la región Centro-Oriente del estado de Puebla.

CONCLUSIONES

Los grupos de poblaciones nativas de maíz del Centro-Oriente de estado de Puebla presentaron diferencias en frecuencias alélicas de isoenzimas, principalmente en los loci *Acp1*, *Est8*, *Got3*, *Glu1*, *Idh2* y *Mdh5*, que fueron los que contribuyeron en mayor medida a la separación de los grupos, y se caracterizaron por presentar un bajo número de alelos por locus (2.8), un bajo porcentaje de alelos raros (13 %), polimorfismo de 89 % y heterocigosidad esperada de 0.27, que es comparable a la de otras regiones de nuestro país.

Los parámetros de diversidad genética permitieron establecer que los grupos de poblaciones nativas presentaron una diferenciación genética moderada, con variación isoenzimática contenida en un 91.5 % dentro de grupos y en un 8.5 % entre agrupamientos.

Las relaciones filogenéticas evidenciaron divergencia de las poblaciones nativas con respecto a los testigos raciales utilizados, excepto con Chalqueño, con el cual presentaron mayor similitud en frecuencias alélicas, indicando que las poblaciones nativas de maíz del Centro-Oriente del estado de Puebla tienen mayor afinidad genética con la raza de maíz Chalqueño.

BIBLIOGRAFÍA

- Bretting P K, M M Goodman, C W Stuber (1990)** Isozymatic variation in Guatemalan races of maize. *American Journal of Botany* 77: 211-225.
- Bretting P K, M P Widrlechner (1995)** Genetic markers and plant genetic resources management. *In: Janick, J. (ed.). Plant Breeding Reviews. Vol. 13. John Wiley & Sons. New York. USA. pp. 11-86.*
- Brown A H D, B S Weir (1983)** Measuring genetic variability in plant populations. *In: S. D. Tanksley and T. J Orton (eds.). Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Part A. Elsevier. New York. USA. pp: 219-239.*
- Crossa J, C M Hernández, P Bretting, S A Eberhart, S Taba (1993)** Statistical genetic considerations for maintaining germplasm collections. *Theoretical and Applied Genetics* 86: 673-678.
- Doebley J F, J D Wendel, S C Smith, C W Stuber, M M Goodman (1988)** The origin of Corn Belt maize: the isozyme evidence. *Economic Botany* 42: 120-131.
- Doebley J F, M M Goodman, C W Stuber (1985)** Isozyme variation in races of maize from Mexico. *American Journal of Botany* 72: 629-639.
- Doebley J F, M M Goodman, C W Stuber (1986)** Exceptional genetic divergence of Northern flint corn. *American Journal of Botany* 73: 64-69.
- Goodman M M, C W Stuber (1983)** Races of maize. VI. Isozyme variation among races of maize in Bolivia. *Maydica* 28: 169-187.

- Hortelano S R R, A Gil M, A Santacruz V, S Miranda C, L Córdova T (2008)** Diversidad morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. *Agricultura Técnica en México* 34 (2): 189-200.
- Hortelano S R R (2006)** Diversidad morfológica y genética de maíces nativos del Valle de Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 177 p.
- INAFED (2009)** Enciclopedia de los municipios de México. Estado de Puebla. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. Gobierno del Estado de Puebla. Disponible en: http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/EMM_Puebla (Verificado el 12 de febrero de 2010).
- INEGI (2002)** Anuario Estadístico del Estado de Puebla. Tomo II. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Aguascalientes, Ags. México. 508 p.
- Kato Y T A (1984)** Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evolutionary Biology* 17:219-253.
- Kato Y T A, C Mapes S, L M Mera O, J A Serratos H, R A Bye B (2010)** Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica. UNAM, CONABIO. México, D. F. 116 p.
- Liu B H (1998)** Statistical Genomics: Linkage, Mapping, and QTL analysis. CCR Press LLC. Boca Raton Florida, U. S. A. 611 p.
- Llauradó M, J Moreno G, P Arús (1993)** Classification of northern Spanish populations of maize by methods of numerical taxonomy. II. Isozyme variation. *Maydica* 38: 249-258.

- López R G, A Santacruz V, A Muñoz O, F Castillo G, L Córdova T, H Vaquera H (2009)**
Perfil isoenzimático de maíces nativos del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. II. Variación dentro de grupos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 177-188.
- Mijangos C J O, T Corona T, D Espinosa V, A Muñoz O, J Romero P, A Santacruz V (2007)** Differentiation among maize (*Zea mays* L.) landraces from the Tarasca Mountain Chain, Michoacan, México and the *Chalqueño* complex. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 309-325.
- Nei M (1973)** Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 70: 3321-3323.
- Nei M (1987)** *Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York. 512 p.
- Nevo E, A Beiles, T Krugman (1988)** Natural selection of allozyme polymorphism: a microgeographical differentiation by edaphic, topographical and temporal factors in wild emmer wheat (*Triticum diccoides*). *Theoretical and Applied Genetetics* 76: 737-752.
- Pressoir G, J Berthaud (2004)** Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity* 92: 95-101.
- Revilla P, W F Tracy (1995)** Isozyme variation and phylogenetic relationships among open-pollinated sweet corn cultivars. *Crop Science* 35: 219-227.
- Revilla P, P Soengas, R A Malvar, M E Cartea, A Ordás (1998)** Isozyme variation and historical relationships among the maize races of Spain. *Maydica* 43:175-182.
- Rogers J S (1986)** Deriving phylogenetics trees from allele frequencies: a comparison of nine genetic distances. *Systematic Zoology* 35: 297-310.
- Rohlf F (1993)** NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 1.8. Exeter Software. Setauket, NY, U.S.A.

- Saitou N, 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, M M Goodman, C W Stuber (2000a)** Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54: 43-59.
- Sánchez G J J, C W Stuber, M M Goodman (2000b)** Isozymatic diversity in the races of maize of the Americas. *Maydica* 45: 43-59.
- Santacruz-Varela A, M P Widrechner, K E Ziegler, R J Salvador, M J Millard, 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.
- SIAP (2010)** Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA, México. <http://www.siap.gob.mx> (consultado 12 de febrero de 2010).
- Smith J S C (1986)** Genetic diversity within the corn belt dent racial complex of maize (*Zea mays* L.). *Maydica* 31: 349-367.
- Snyder L A, D Freifelder, D L Hartl (1985)** *General Genetics*. Jones and Bartlett. Boston, MA. 666 p.
- Stuber C W, J F Wendel, M M Goodman, J S C Smith (1988)** Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.). North Carolina Agricultural Research Service. Technical Bulletin No. 286. Raleigh, North Carolina, USA. 87 p.
- Stuber C W, R H Moll, M M Goodman, H E Schaffer B S Weir (1980)** Allozyme frequency changes associated with selection for increased grain yield in maize (*Zea mays* L.). *Genetics* 95: 225-235.

Wellhausen E J, L M Roberts, E Hernández X, P C Mangelsdorf (1951) Razas de Maíz en México: Su Origen, Características y Distribución. Folleto Técnico No. 5. Oficina de Estudios Especiales. S. A. G. México, D.F. 239 p.

Yeh C F, R Yang, 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, AB. Canadá. 29 p.

Cuadro 2.1. Medias de grupo en ocho variables morfológicas que presentaron mayor asociación a los tres primeros componentes principales y promedios de testigos raciales.

Grupo	Número de Poblaciones	DFE (días)	APL (cm)	AMZ (cm)	LMZ (cm)	DMZ (mm)	GHIL (núm)	LGR (mm)	AGR (mm)
Poblaciones nativas									
I	47	128a	171d	96c	12d	48a	21h	155.3a	82.6e
II	19	129a	178c	100c	13c	49a	23g	154.3a	83.3e
III	34	123b	161f	92d	12d	46b	20i	148.5b	83.5e
IV	28	123b	164e	92d	12d	45c	23g	145.6b	82.2e
V	6	121c	157f	88e	12d	44d	22g	148.4b	100.5a
Testigos raciales [†]									
Cónico	1	122c	145h	76g	11f	39h	23g	119.7h	66.4i
C. Norteño	1	98h	94p	38n	10h	35k	18k	110.6j	73.7g
Chalqueño	1	131a	170d	95d	13c	45c	27c	135.9d	73.2g
Ch. Crema	1	131a	196a	112a	14a	47b	26d	154.1a	77.0f
Ch. Palomo	1	132a	124 k	54k	10h	41g	21h	125.6g	67.9i
Palomero T.	1	103f	122k	59j	11f	33l	30a	112.4i	49.5m
Tukey (0.05)		4.29	6.74	5.41	0.5	1.47	1.16	4.86	3.86

[†]Medias con la misma letra en el sentido de las columnas no son significativamente diferentes.

^{††}C = Cónico, Ch = Chalqueño, T = Toluqueño.

Cuadro 2.2. Procedencia de las poblaciones nativas de maíz evaluadas con isoenzimas y subgrupos formados de acuerdo con caracteres morfológicos.

Municipio	L. Norte	L. Oeste	msnm	Grupo y número de accesión [†]
Aljojuca	19° 05´	97° 31´	2480	I (4), II (7, 45), IV (25)
Chalchicomula de S.	18° 55´	97° 24´	2540	I (5, 9, 11), II (21, 39)
Esperanza	18° 52´	97° 26´	2410	IV (40)
Guadalupe Victoria	19° 20´	97° 27´	2415	I (10), IV (33)
La Fragua	19° 13´	97° 20´	2700	I (3, 14, 16), III (31, 36)
San Juan Atenco	19° 05´	97° 32´	2440	I (43), II (18), III (30), IV (29, 30, 32)
S. N. Buenos Aires	19° 12´	97° 31´	2380	I (19), V (51)
S. Salvador El Seco	19° 04´	97° 36´	2420	IV (34, 24)
Tepeyahualco	19° 25´	97° 26´	2340	III (22, 41, 42), IV (23, 28)
Tlachichuca	19° 06´	97° 25´	2600	I (1, 2, 13, 15, 17), II (8, 20, 44, 47, 48) III (12, 46), IV (6, 26, 27, 37, 38), V (49, 50)

Fuente; elaboración propia a partir de datos de INEGI (2002).

[†]El número arábigo es el número de colecta y el número romano es el grupo al que pertenecen.

Cuadro 2.3. Parámetros de diversidad genética en grupos de poblaciones nativas y testigos con base en 18 loci de isoenzimas.

Grupo/raza	NAL [†]	Het. Obs. ^{††}	Het. Esp. [‡]	%LP ^{§§}
I	2.61 ± 1.334	0.128 ± 0.172	0.234 ± 0.235	83.3
II	2.38 ± 1.195	0.126 ± 0.166	0.234 ± 0.235	77.7
III	2.44 ± 1.338	0.134 ± 0.198	0.240 ± 0.251	72.2
IV	2.38 ± 1.243	0.125 ± 0.176	0.239 ± 0.238	72.2
V	2.05 ± 0.998	0.125 ± 0.171	0.220 ± 0.249	72.2
Media ± Desviación Estándar	2.83 ± 1.504	0.128 ± 0.172	0.239 ± 0.240	88.9
Cónico	1.46 ± 0.639	0.133 ± 0.222	0.126 ± 0.189	33.3
C. Norteño	1.53 ± 0.639	0.146 ± 0.224	0.160 ± 0.194	38.9
Chalqueño	1.28 ± 0.468	0.021 ± 0.042	0.081 ± 0.151	22.2
Ch. Crema	1.53 ± 0.516	0.140 ± 0.247	0.176 ± 0.196	44.4
Ch. Palomo	1.33 ± 0.488	0.106 ± 0.228	0.130 ± 0.210	27.7
Palomero T.	1.20 ± 0.414	0.046 ± 0.135	0.078 ± 0.176	16.6
Media ± Desviación Estándar	2.00 ± 0.730	0.103 ± 0.166	0.204 ± 0.178	66.6

[†]Número de alelos por locus; ^{††}Heterocigosidad observada; [‡]Heterocigosidad esperada;

^{§§}Porcentaje de loci polimorficos (criterio del 95 %).

Cuadro 2.4. Frecuencias génicas en cinco grupos de poblaciones nativas y seis testigos con base en 46 alelos codificados por 14 loci de isoenzimas.

Locus/alelo	Grupos de Poblaciones Nativas					Media nativas	Media testigos [†]	Global
	I	II	III	IV	V			
<i>Glu1-1</i>	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.001
<i>Glu1-2</i>	0.383	0.397	0.378	0.417	0.191	0.383	0.750	0.392
<i>Glu1-2.5</i>	0.000	0.016	0.000	0.000	0.191	0.013	0.000	0.013
<i>Glu1-6</i>	0.121	0.064	0.147	0.132	0.191	0.124	0.000	0.121
<i>Glu1-7</i>	0.278	0.373	0.212	0.260	0.333	0.278	0.000	0.271
<i>Glu1-9</i>	0.190	0.151	0.218	0.177	0.095	0.180	0.250	0.182
<i>Glu1-10</i>	0.024	0.000	0.045	0.015	0.000	0.021	0.000	0.020
<i>Mdh1-1</i>	0.072	0.069	0.045	0.086	0.050	0.069	0.033	0.065
<i>Mdh1-6</i>	0.928	0.931	0.955	0.914	0.950	0.931	0.967	0.935
<i>Mdh2-3</i>	0.022	0.050	0.015	0.014	0.017	0.023	0.692	0.093
<i>Mdh2-3.5</i>	0.578	0.613	0.550	0.557	0.600	0.574	0.167	0.531
<i>Mdh2-6</i>	0.400	0.338	0.435	0.429	0.383	0.404	0.142	0.376
<i>Mdh3-16</i>	0.981	0.975	0.995	0.957	0.983	0.977	1.000	0.979
<i>Mdh3-18</i>	0.019	0.025	0.005	0.043	0.017	0.024	0.000	0.021
<i>Mdh5-12</i>	0.369	0.463	0.450	0.421	0.133	0.400	0.908	0.454
<i>Mdh5-15</i>	0.631	0.538	0.550	0.579	0.867	0.600	0.092	0.547
<i>Acp1-2</i>	0.750	0.694	0.695	0.700	0.467	0.700	0.592	0.689
<i>Acp1-3</i>	0.094	0.075	0.075	0.068	0.300	0.092	0.017	0.084
<i>Acp1-4</i>	0.147	0.231	0.230	0.232	0.233	0.205	0.392	0.225
<i>Acp1-6</i>	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.000	0.003
<i>Cat3-7</i>	0.000	0.014	0.022	0.000	0.037	0.009	0.033	0.012
<i>Cat3-9</i>	1.000	0.986	0.978	1.000	0.963	0.991	0.883	0.979
<i>Cat3-12</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.010

Cuadro 2.4. Continuación...

Locus/alelo	Grupos de Poblaciones Nativas					Media nativas	Media testigos	Global
	I	II	III	IV	V			
<i>Got1-4</i>	0.931	0.913	0.835	0.850	0.900	0.885	0.942	0.891
<i>Got1-6</i>	0.069	0.088	0.165	0.150	0.100	0.115	0.058	0.109
<i>Got3-2</i>	0.006	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.833	0.090
<i>Got3-4</i>	0.994	1.000	1.000	1.000	1.000	0.998	0.167	0.911
<i>Est8-4</i>	0.568	0.631	0.575	0.602	0.783	0.602	0.825	0.626
<i>Est8-4.5</i>	0.263	0.206	0.215	0.183	0.217	0.220	0.175	0.215
<i>Est8-5</i>	0.136	0.113	0.175	0.201	0.000	0.150	0.000	0.134
<i>Est8-6</i>	0.033	0.038	0.020	0.015	0.000	0.024	0.000	0.021
<i>Est8-8</i>	0.000	0.013	0.015	0.000	0.000	0.005	0.000	0.005
<i>Idh1-2</i>	0.003	0.019	0.010	0.000	0.000	0.006	0.970	0.092
<i>Idh1-4</i>	0.894	0.919	0.910	0.936	0.933	0.915	0.030	0.836
<i>Idh1-6</i>	0.103	0.063	0.080	0.064	0.067	0.079	0.000	0.072
<i>Idh2-4</i>	0.616	0.488	0.505	0.518	0.400	0.534	0.740	0.553
<i>Idh2-4.2</i>	0.000	0.000	0.000	0.007	0.000	0.002	0.260	0.025
<i>Idh2-6</i>	0.384	0.513	0.495	0.475	0.600	0.464	0.000	0.422
<i>Phil-2</i>	0.025	0.038	0.010	0.004	0.017	0.018	0.017	0.018
<i>Phil-3</i>	0.022	0.000	0.030	0.071	0.000	0.032	0.767	0.110
<i>Phil-4</i>	0.941	0.950	0.950	0.904	0.983	0.936	0.217	0.861
<i>Phil-5</i>	0.013	0.013	0.010	0.021	0.000	0.014	0.000	0.012
<i>Pgm2-3</i>	0.047	0.094	0.040	0.014	0.100	0.047	vi	0.047
<i>Pgm2-4</i>	0.822	0.794	0.780	0.829	0.683	0.803	vi	0.803
<i>Pgm2-8</i>	0.122	0.113	0.170	0.150	0.217	0.143	vi	0.143
<i>Pgm2-12</i>	0.009	0.000	0.010	0.007	0.000	0.007	vi	0.007

† Incluye las razas Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Chalqueño Crema, Chaqueño Palomo y Palomero Toluqueño.

Cuadro 2.5. Diferenciación genética (G_{ST}) de grupos de poblaciones con base en 14 loci de isoenzimas, procedentes de 51 poblaciones nativas y seis testigos raciales[†].

Locus	Grupos de poblaciones nativas					Nativas (n=51)	Testigos (n=6)	Global (n=57)	Oax. [¶]	México ^{¶¶}	España [§]
	I (n=16)	II (n=8)	III (n=10)	IV (n=14)	V (n=3)						
<i>Glu1</i>	0.081	0.032	0.056	0.021	0.169	0.064	0.833	0.149	0.163	0.278	0.110
<i>Mdh1</i>	0.034	0.005	0.019	0.063	0.001	0.036	0.136	0.042	0.107	0.342	0.323
<i>Mdh2</i>	0.168	0.002	0.065	0.046	0.065	0.082	0.539	0.225	0.093	0.256	0.118
<i>Mdh3</i>	0.019	0.035	vi ^{††}	0.013	0.001	0.022	vi	0.025	vi	0.362	0.243
<i>Mdh5</i>	0.203	0.227	0.090	0.118	0.104	0.174	0.128	0.253	0.122	0.361	0.102
<i>Acp1</i>	0.035	0.040	0.023	0.076	0.037	0.058	0.031	0.064	0.078	0.269	0.163
<i>Cat3</i>	vi	0.057	0.077	vi	0.070	0.025	0.326	0.276	0.083	0.338	vi
<i>Got1</i>	0.093	0.140	0.006	0.001	0.016	0.049	0.042	0.051	0.092	0.250	0.118
<i>Got3</i>	0.053	vi	vi	vi	vi	0.047	1.000	0.980	vi	0.200	vi
<i>Est8</i>	0.089	0.048	0.072	0.094	0.032	0.083	0.033	0.090	0.139	0.203	0.127
<i>Idh1</i>	0.049	0.086	0.044	0.078	0.026	0.056	0.179	0.522	0.375	0.233	0.102
<i>Idh2</i>	0.111	0.215	0.084	0.056	0.116	0.117	0.228	0.173	0.136	0.283	0.116
<i>Phi1</i>	0.065	0.073	0.066	0.110	0.001	0.091	0.695	0.551	0.105	0.215	0.259
<i>Pgm2</i>	0.118	0.025	0.011	0.026	0.040	0.055	vi	0.154	vi	0.299	0.166
G_{ST}	0.108	0.080	0.054	0.060	0.066	0.085	0.363	0.213	0.126	0.270	0.149

[†]No se incluyeron los loci monomorficos *Adh1*, *Got2*, *Mdh4* y *Pgm1*; ^{††}vi= valor indeterminado en locus y grupos específicos; [¶]López *et al.* (2009); ^{¶¶}Doebly *et al.* (1985); [§]Llauradó *et al.* (1993).

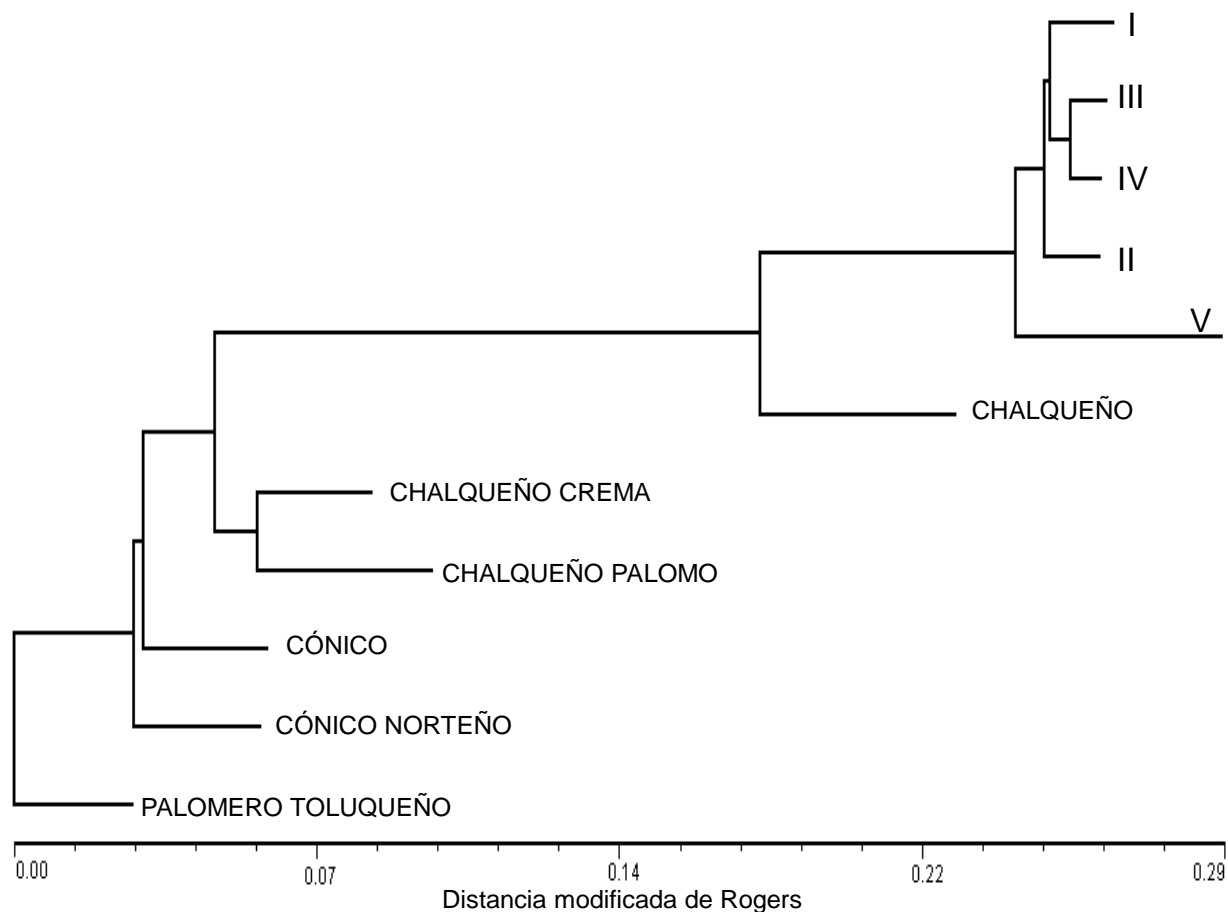


Figura 2.1. Filograma de grupos de poblaciones nativas y testigos raciales mediante el método de agrupamiento de vecinos (Neighbor-joining) utilizando la distancia modificadas de Rogers con base en la frecuencia de 52 alelos de isoenzimas.

CONCLUSIONES GENERALES

Se detectaron diferencias fenotípicas e isoenzimáticas en los agrupamientos formados por las poblaciones nativas de maíz del Altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla, y con base en los dos tipos de caracteres fue posible establecer la relación dentro de los agrupamientos y la similitud que éstos guardan con las razas típicas reportadas con distribución en dicha zona, y presentan diversidad fenotípica y variación genética, comparable a la de los maíces de otras zonas del país.

De acuerdo con los resultados obtenidos con caracteres fenotípicos, se verifica la hipótesis planteada sobre la existencia de una amplia diversidad en las poblaciones nativas, y de su distribución sistemática categorizada en agrupamientos bien definidos.

Con base en la variación isoenzimática analizada, se acepta parcialmente la hipótesis planteada de amplia variación alélicas mostrada con base en los parámetros utilizados, sin embargo, los grupos de poblaciones nativas presentaron una moderada diferenciación genética, aunque con base en dichos parámetros se logró establecer la afinidad de tales grupos con las razas reportadas con distribución en la región de estudio.

Con base en los atributos fenotípicos se detectó que los grupos de poblaciones nativas de maíz del Altiplano Centro-Oriente del estado de Puebla presentaron un continuo en la expresión de las variables evaluadas, y que a nivel de alelos de isoenzimas la diferenciación de los grupos fue moderada.

Los grupos de poblaciones nativas presentaron mayor relación o similitud con la raza Chalqueño, particularmente con la variante Chalqueño Crema, con base en caracteres fenotípico, y con el testigo Chalqueño, con base en la frecuencias génicas, aunque en general, las poblaciones nativas fueron más precoces, de menor altura de palta y mazorca.

A nivel isoenzimático, la mayor afinidad de las poblaciones nativas con Chaqueño estuvo mayormente determinada por la semejanza en frecuencia de los alelos *Mdh2-6*, *Got3-4* y *Phi1-4*.

La moderada diferenciación genética (G_{ST}) de las poblaciones nativas se atribuye, entre otras causas, a que se trata de una área relativamente compacta donde se da el intercambio de semilla entre agricultores de localidades contiguas y dentro de una misma localidad, propiciando flujo génico; sin embargo, los grupos de poblaciones nativas tuvieron mayor riqueza alélica que los testigos, y presentaron variadas y diferentes combinaciones de alelos de isoenzimas, conteniendo en forma exclusiva los alelos *Acp1-4*, *Adh1-6*, *Est8-5*, *Est8-6*, *Est8-8*, *Idh1-6*, *Mdh3-18*, *Phi1-5*.

Los resultados indican que es posible asociar a los grupos de poblaciones nativas con las condiciones ambientales donde son cultivadas, ya que la selección que realizan los agricultores es efectiva en ese aspecto, y que tal selección se ha encaminado a obtener poblaciones productivas, adaptadas a su entorno ecológico de producción y con divergencia de los materiales de tipo Cónico, guardando cierta similitud con la raza Chalqueño.

Es apremiante inventariar, conocer y salvaguardar los recursos genéticos de maíz en la región de estudio mediante programas encaminados a hacer usos de la diversidad en los mismos terrenos de los productores, ya que éstos han sido históricamente los generadores y guardianes de tales recursos, sobre todo en estos tiempos cambiantes e inciertos por los fenómenos naturales y por las constantes y fuertes presiones sistemáticas de la biotecnología, ya que es probable que estén perdiendo variedades nativas sin haber difundido las características por las que han permanecido hasta la fecha.