

**ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA
INTERPOBLACIONAL E INTRARRACIAL UTILIZANDO
MARCADORES SSR EN MAÍCES MEXICANOS**

MÓNICA EUGENIA GONZÁLEZ CASTRO

TESIS

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

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA
DIRECCIÓN DE POSGRADO**

DIRECTOR DE TESIS: DR. ARMANDO ESPINOZA BANDA

Torreón, Coahuila, México.

Junio 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA INTERPOBLACIONAL E
INTRARRACIAL UTILIZANDO MARCADORES SSR
EN MAÍCES MEXICANOS

TESIS

POR

MÓNICA EUGENIA GONZÁLEZ CASTRO

Elaborado bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y
aprobado como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

Comité Particular

Asesor principal:


Dr. Armando Espinoza Banda

Asesor:


Dr. Arturo Palomo Gil

Asesor:


Dr. Sergio Alfredo Rodríguez Herrera

Asesor:


Dra. Natalia Palacios Rojas

Asesor:


M.C. Claudia Andrea Bedoya Salazar


Jefe del Departamento de Posgrado

Dr. Pedro Antonio Robles Trillo

Subdirector de Posgrado

Dr. Fernando Ruiz Zárate

DEDICATORIAS

A DIOSITO: Quien me ha brindado el regalo más maravilloso que es la vida y me permite seguir adelante día con día gozando de salud y de actitud positiva. Te agradezco Señor por darme tu mano amiga en cada una de las personas que pusiste en mi camino en el trayecto de esta investigación y por obsequiarme ese rayo de luz en mi caminar para lograr una meta más con humildad.

A MIS PADRES:

María del Socorro Castro y Juan Antonio González.

Por darme la vida y por ser tan grandes de corazón y de apoyo para mí, mi vida es corta de verdad para agradecerles todo su amor, su comprensión, su ánimo, su compañerismo y su amistad. Gracias padres míos por estar conmigo en cada momento y no soltarme, y gracias a Dios por darme la dicha de ser su hija, cada uno de mis logros llevan sus nombres. Los Amo Papitos y vamos para adelante.

A MIS HERMANOS Y SOBRINOS:

Coco, Sergio, Jair, Ángel, Jaque, Felipe, Felipín, Juan, Ana, Juan Gerardito, Dulce y Tony, por todo el apoyo brindado y por estar siempre al pendiente. Los Quiero Mucho y son muy importantes en mí. Gracias a Dios porque somos familia.

A MIS TÍOS, PRIMOS, A MIS AMIGOS, A MIS MAESTROS Y ASESORES:

Porque fueron parte de este caminar y me brindaron lo mejor.

A MI ALMA MATER Y AL CENTRO INTERNACIONAL

DE MEJORAMIENTO DE MAÍZ Y TRIGO:

Por ser la parte importante de mi formación profesional y de este grado que he llegado a concluir.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por permitirme realizar un logro profesional más en mi vida y por el apoyo económico para la obtención de este grado.

Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, al personal de laboratorio, de campo, de oficinas y a AgroBIO, por todo el apoyo brindado para la realización de este trabajo y el aprendizaje que aportaron a mi vida profesional.

A mis Asesores, Dra. Natalia Palacios, Dra. Claudia Bedoya, Dr. Armando Espinoza Banda y al Dr. Sergio Rodríguez, quienes han dejado una gran huella y algo muy positivo en mí, investigadores y personas de buena voluntad, con admiración y respeto infinitas gracias.

Al Dr. Jesús Vielma Sifuentes, al Dr. Robles Trillo y a Esther Peña por todo el apoyo brindado y por las facilidades prestadas para que este proyecto llegara a una buena conclusión.

A mis compañeros y queridos amigos de la Universidad, del CIMMYT, de Texcoco y de mi vida: Vicky Borroel, Gaby Vargas, Brenda Sánchez, Cynthia Ruedas, Laura Montenegro, Pamela Muñoz, Julia Cázares, Marina y Lacho Estrada, Violeta Calvo y a sus apreciables padres, Huguito López, Luz Paola, Mijail Javier, Liliana Santamaria, Laurita Rodríguez, Norma Hernández, Eleuterio Dorantes, Juan Caballero, Sra. Baci, Martha Hernández, Rosalba, Silverio, Beto, Andrés Corona, Jiafa Chen, Luis Galicia, Germán, las Catalinas,

a mi familia de la Casa de Huéspedes, a Jesús Ramírez, Mateo Márquez, Martini Sebastian, Ivette, Herminio, Bogart, Roxana, Pay, Fabián, Yazmin, Ana, Gabriel, Arturo Bustamante, mi chaparrita Chary, a la ayuda y paciencia de José Luis Coyac, Paco Loya y Armando Edgar Hernández Cruz y a todos, todos los que me faltaron pero sé que están en mi corazón y recuerdos, les agradezco demasiado la colaboración con este trabajo de investigación, por su mano amiga, el estar conmigo con palabras de aliento, por compartir cada momento inolvidable y de gran alegría, llanto, desesperación, pero más de felicidad, no sé cómo pagarles tanto pero simplemente de corazón Dios los Bendiga y los Quiero Mucho. Nunca hay que darnos por vencidos, jamás perder la Fe y a seguirle dando para adelante...

COMPENDIO

**ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA INTERPOBLACIONAL E
INTRARRACIAL UTILIZANDO MARCADORES SSR
EN MAÍCES MEXICANOS**

POR

MÓNICA EUGENIA GONZÁLEZ CASTRO

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

Torreón Coahuila de Zaragoza, México, Junio de 2012

Asesor Principal: DR. ARMANDO ESPINOZA BANDA

Palabras clave: Maíz, diversidad genética, maíces nativos mexicanos

México es considerado como el centro de origen y domesticación, y uno de los centros más reconocidos de diversidad del maíz. La evaluación de la diversidad especialmente en maíces nativos es importante en el planteamiento

de estrategias de conservación, caracterización y uso del germoplasma en el mejoramiento genético dado su potencial como fuente de características nuevas, exóticas y favorables. En este estudio, se utilizaron 30 marcadores moleculares tipo microsatélite con el objetivo de caracterizar la diversidad genética interpoblacional e intrarracial presente en 196 poblaciones del trópico de México representativas de 20 razas de maíz y provenientes de 21 estados de la República Mexicana. Dichas accesiones pueden ser agrupadas en 3 áreas ecológicas Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán (A), Maíces de la Zona Noroeste y Occidente (B) y Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas (C). El promedio del número de alelos por locus dentro de las 196 poblaciones fue de 9 alelos por locus. La diversidad genética promedio de las 20 razas de maíz tropical mexicano fue de 0.57. Se encontró mayor variabilidad entre razas (23.18) que dentro de cada raza (0.99 a 8.72). Se evidenció la erosión genética debido a su limitada distribución geográfica en razas como Jala y Zapalotes planteando la necesidad de dedicar esfuerzos a su conservación. Índices de diversidad genética de 0.53 encontrados en este estudio para los Tuxpeños corroboran que pese a que ha sido ampliamente utilizado en los programas de mejoramiento aún hay potencial genético por explorar en esta raza.

ABSTRACT

**GENETIC DIVERSITY ANALYSIS USING INTERPOPULATION E
INTRARACIAL SSR MARKERS
ON MEXICAN MAIZE**

BY

MÓNICA EUGENIA GONZÁLEZ CASTRO

MASTER OF AGRICULTURAL SCIENCES

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

Torreón Coahuila de Zaragoza, México, Junio de 2012

DR. ARMANDO ESPINOZA BANDA-advisor-

Keywords: Corn, genetic diversity, native corn varieties

Mexico is considered the center of origin and domestication, and one of the most recognized centers of maize diversity. Evaluation of native maize diversity is especially important in the formulation of conservation strategies,

characterization and use of germplasm in breeding because of its potential as a source of new features, exotic and favorable. In this study, we used 30 microsatellite molecular markers to characterize genetic diversity between populations and intraracial present in 196 of the Tropic of Mexico populations representing 20 races of corn and from 21 states of Mexico. These accessions can be grouped into 3 ecological areas mails Gulf of Mexico, South Pacific and Yucatan Peninsula (A), corn on the Northwestern and Western (B) and maize and Intermediate Lowland Oaxaca and Chiapas (C). The average number of alleles per locus within populations was 9 196 alleles per locus. The average genetic diversity of 20 races of tropical Mexican corn was 0.57. There was greater variability among races (23.18) that within each race (0.99 to 8.72). There was evidence of genetic erosion due to its limited geographical distribution Zapalotes and Jala races as raising the need for efforts to preserve them. Genetic diversity indices of 0.53 found in this study for Tuxpeños confirm that although it has been widely used in breeding programs there is still genetic potential to explore in this race.

ÍNDICE

COMPENDIO	VI
ABSTRACT	VIII
ÍNDICE	X
ÍNDICE DE CUADROS	XII
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos.....	4
1.2 Hipótesis.....	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 El maíz y su importancia	5
2.2 Las razas de maíz en México	6
2.4 Microsatélites o Secuencias Repetidas Cortas (SSR)	24
2.5 Estudios de diversidad genética en maíz	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1 Cosecha de tejido vegetal en maíz para extracción de ADN.....	31
3.2 Obtención de tejido de cada accesión en campo	31
3.3 Manipulación de muestras en el Laboratorio ABC en CIMMYT	31
3.4 Extracción de ADN	32
3.5 Procedimiento para la Extracción de ADN.....	33
3.6 PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)	35
3.7 Amplificación del ADN	36
3.8 Caracterización genotípica.....	37

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
4.1 Análisis de Diversidad Genética	44
4.2 Análisis de Distancias Genéticas	51
4.3 Análisis de Varianza Molecular (AMOVA).....	54
4.4 Análisis de Componentes Principales (ACP)	58
4.5 Análisis de Agrupamiento	68
4.6 Clasificación de las 20 razas mexicanas de maíz tropical según marcadores SSR.....	73
V. CONCLUSIONES	80
VI. LITERATURA CITADA	82
VIII. ANEXO	104

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de 32 razas y seis sub-razas de maíz de México (Wellhausen <i>et al.</i> , 1951).....	11
Cuadro 2. Selección de razas de maíz tropical mexicano, grupos raciales, ubicación, distribución y descripción según Wellhausen <i>et al.</i> , (1951).....	11
Cuadro 3. Razas de maíz de México (Modificado de Ron <i>et al.</i> , 2006).	17
Cuadro 4. Razas de maíz mexicano catalogadas en México.	18
Cuadro 5. Razas y sub-razas de 196 accesiones tropicales de maíz mexicano.....	29
Cuadro 6. Marcadores SSR para el estudio de diversidad genética en poblaciones de maíz tropical mexicano.....	35
Cuadro 7. Reacciones de Polimerización en Cadena para cada marcador. ...	36
Cuadro 8. Número de alelos detectados utilizando 30 marcadores SSR en 196 poblaciones de maíz tropical mexicano.....	44
Cuadro 9. Número de alelos encontrados por locus y diversidad genética en 20 razas de maíz tropical mexicano.	47
Cuadro 10. Análisis de distancias genéticas basado en la distancia genética de proporción de alelos compartidos para 30 SSRs.....	52
Cuadro 11. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de 30 SSRs en 196 poblaciones mexicanas de maíz tropical según la clasificación racial.....	56
Cuadro 12. Alelos encontrados por locus, alelos únicos e índice de diversidad genética de tres áreas y razas no agrupadas de 196 accesiones de maíces tropicales mexicanos.....	70
Cuadro 13.A. Números de entrada, razas y estados de la República Mexicana de las 196 accesiones de maíces tropicales mexicanos.....	104
Cuadro 14.A. Cálculos para la cuantificación de DNA en el Nanodrop a 500 ng/ μ l.	110
Cuadro 15.A. Cálculos para las PCRs (Reacción en Cadena de la Polimerasa) de los 30 marcadores moleculares tipo SSR.	116

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Origen geográfico dentro de la República Mexicana de 196 accesiones tropicales de maíz mexicano.	30
Figura 2. Sistema automático de electroforesis capilar de un secuenciador ABI PRISM 3100.	37
Figura 3. Ilustración de fragmentos fluorescentes detectados con el secuenciador automático.	38
Figura 4. Patrón de fragmentos del estándar interno GS 350 y 500 ROX bajo condiciones de desnaturalización.	38
Figura 5. Gráfico del Software Genotyper®2.1.	39
Figura 6. Ilustración de una ventana del programa GeneMapper®2.1	40
Figura 7. Componentes Principales de 20 razas de maíz tropical mexicano. Se identifica el grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán” con color rojo, con color azul el grupo B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente” y el grupo C “Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” identificado con color verde.	60
Figura 8. Áreas ecológicas de razas mexicanas de maíces tropicales, con color rojo se identifica el grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán”, con color azul el grupo B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente” y el grupo C “Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” identificado con color verde.	64
Figura 9. Análisis de Agrupamiento por razas de 196 poblaciones de maíz tropical mexicano generado por el Método Neighbor-Joining y basado en la distancia genética de proporción de alelos compartidos para 30 SSRs. Se identifica el grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán” con color rojo, con color azul el grupo B “maíces de la Zona Noroeste y Occidente” y el grupo C “maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” identificado con color verde.	68
Figura 10. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical del área ecológica del grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán” en la Estación Agua Fría.	74

Figura 11. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical del área ecológica del grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán” en la Estación Agua Fría..... 75

Figura 12. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical del área ecológica del grupo B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente” en la Estación Agua Fría. 76

Figura 13. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical del área ecológica del grupo B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente” en la Estación Agua Fría. 77

Figura 14. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical del área ecológica del grupo C “Maíces de las Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” en la Estación Agua Fría..... 78

Figura 15. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical de las “Razas No Agrupadas” en la Estación Agua Fría. 79

I. INTRODUCCIÓN

El maíz es uno de los tres cereales más importantes del mundo, actualmente se produce en casi 100 millones de hectáreas en 125 países en desarrollo. Se estima que la producción mundial alcanza más de 800 millones de toneladas al año (FAOSTAT, 2010).

En México, este cultivo es de mayor importancia debido a su historia, tradición y consecuente impacto social y económico; sembrándose 7.2 millones de hectáreas, con una producción total de 23.3 millones de toneladas y logrando un promedio de 3.2 toneladas por hectárea (FAOSTAT, 2010). En la región tropical húmeda del sureste del país se siembran anualmente 2.5 millones de hectáreas que representan aproximadamente el 40% de la superficie total nacional. El maíz es el alimento básico más importante para la población mexicana proporcionando en promedio 39% de proteína asimilable y 59% de energía (Sierra *et al.*, 2004), y es considerado como “el gran regalo de Mesoamérica para el mundo” (Taba, 1995).

México es el centro de domesticación y uno de los centros de diversidad del maíz (Matsuoka *et al.*, 2002; Doebley, 2004), posee una amplia variabilidad genética expresada en una gran cantidad de poblaciones (Sánchez *et al.*, 2000), de las cuales algunas muestran una alta capacidad de rendimiento *per se* o en combinación con otras (Morales *et al.*, 2007), por lo que son consideradas un valioso recurso fitogenético.

Para describir la diversidad del maíz, el concepto más utilizado ha sido el de raza, término originalmente propuesto como una forma de clasificación “natural” (Bellon, 2009). Anderson y Cutler (1942) especificaron, en adición, que una clasificación natural debe basarse en el estudio de toda constitución genética de la población e integrar el máximo número de datos. De esta manera se logrará, además de clasificar, mostrar las relaciones y orígenes filogenéticos de las entidades. A la fecha se han descrito 59 razas de maíz (Sánchez *et al.*, 2000). Las razas nativas muestran una significativa variación morfológica y polimorfismo genético considerable y esto les permite ser sembradas en alturas que fluctúan desde el nivel del mar hasta 3,800 m sobre éste (Ortiz *et al.*, 2010).

La diversidad genética de maíz a través de un proceso evolutivo continuo, que involucra la selección consciente e inconsciente del hombre, como del ambiente, y el flujo genético, ha permitido la adaptación del maíz a todos los sistemas de producción que se realizan en las diversas condiciones ambientales. Además, esta variabilidad genética constituye una riqueza para las generaciones actuales y futuras del mundo y puede ser la base para lograr la soberanía alimentaria de México (Preciado y Montes, 2011). La diversidad del germoplasma es importante para los programas de mejoramiento genético, por su potencial como fuente de características nuevas, exóticas y favorables (Vigouroux *et al.*, 2008).

El Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), con sede en México, tiene el mandato mundial de conservar los recursos genéticos del maíz y utilizarlos en beneficio del país y del mundo. El Centro cuenta con un

banco de germoplasma que alberga alrededor de 9,000 accesiones de maíz mexicano. La revalorización de los recursos genéticos disponibles en los bancos de germoplasma, como el caso específico del CIMMYT, se ha visto beneficiado por los avances biología molecular y las técnicas biotecnológicas. En este sentido, el uso de marcadores moleculares ha permitido caracterizar la diversidad presente en las colecciones, incluyendo materiales mejorados, complejos genéticos, variedades de polinización abierta y materiales nativos.

Los marcadores moleculares se han convertido en una herramienta poderosa dado su potencial para identificar accesiones, caracterizar la diversidad genética, el desarrollo de marcadores ligados a genes de interés para acelerar los programas de mejoramiento convencional e incrementar su eficacia. Los principales marcadores moleculares más utilizados son: SNP (Polimorfismo de Base Única), VNTR (Minisatélites o Número de Secuencias de Tamaño Variables), RFLP (Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción), RAPD (Polimorfismo Amplificado Aleatoriamente), AFLP (Fragmentos Polimórficos de ADN Amplificados) y los SSR (Microsatélites o Secuencias Repetidas Cortas). Especialmente, el uso de microsatélites se ha generalizado en estudios de diversidad genética y en la descripción de la estructura genética de poblaciones por tener alta confiabilidad, reproducibilidad y automatización.

Teniendo en cuenta la importancia de ampliar el conocimiento sobre la variabilidad genética del maíz mexicano y de hacer uso de los avances en biotecnología, en el presente estudio, se utilizaron 30 marcadores moleculares

tipo microsatélite con el objeto de caracterizar y evaluar la diversidad genética presente en 196 accesiones de materiales nativos del trópico de México representativas de 20 razas de maíz tropical provenientes de 21 estados de la República Mexicana.

1.1 Objetivos

- Evaluar la diversidad genética interpoblacional e intrarracial en 20 razas de maíz tropical mexicano utilizando marcadores moleculares tipo SSR.
- Explorar o recomendar el potencial de la diversidad encontrada para los programas de mejoramiento.
- Crear una base de datos pública con la información de los materiales caracterizados genéticamente.

1.2 Hipótesis

- Existe variabilidad genética entre los individuos de las poblaciones de estudio.
- Existe variabilidad genética dentro de las poblaciones utilizadas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El maíz y su importancia

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen. Pertenece a la familia de las Poáceas (gramíneas), tribu Maydeas y es la única especie cultivada de este género. Ocupa el segundo lugar en el mundo por su producción después del trigo y es el primer cereal en rendimiento de grano por hectárea, asimismo, es de gran importancia económica a nivel mundial ya sea como alimento humano, como alimento para el ganado o como fuente de un gran número de productos industriales (Paliwail *et al.*, 2001).

Es un cultivo de gran relevancia para los pueblos latinoamericanos y en especial para México, considerado como el centro de origen y diversidad del maíz, que ha estado en toda su historia y desarrollo. El análisis de granos de polen y fitolitos indican la presencia de este cultivo hace 8,700 años en la región central de la Cuenca del Río Balsas (Piperno *et al.*, 2009). Fue domesticado de una forma de teosinte tropical, *Zea mays* spp. *parviglumis* (Beadle, 1939; Doebley, 2004).

La diversidad de los ambientes bajo los cuales es cultivado es mucho mayor que la de cualquier otro cultivo. Habiéndose originado y evolucionado en la zona tropical como un planta de excelentes rendimientos (Paliwail *et al.*, 2001). El maíz se siembra desde el nivel del mar hasta los 3,800 m de altitud;

de los casi 14, hasta los 32° latitud norte, de 87 hasta 117° longitud oeste del meridiano de Greenwich; en las zonas de temporal con regímenes de lluvia desde 250 milímetros anuales en las zonas áridas, y hasta casi 3000 milímetros en el sureste; con temperaturas medias de 13 a 15°C durante el ciclo de cultivo en Valles Altos, y a 27° en promedio en el trópico; con poca luminosidad y alta humedad relativa en la sierra Tarasca o altas temperaturas de verano y muy baja humedad relativa en el norte; fuertes vientos en el trópico húmedo, y granizadas en el Valle de México; así mismo, se cultiva en lugares casi sin suelo como en la Península de Yucatán, en suelos de 20 a 50 centímetros de profundidad en las zonas áridas y semiáridas, hasta dos metros o más en Jalisco; suelos desde arenosos o arcillosos, o con 0.5% de materia orgánica hasta suelos ricos en ella, con pendientes de cero hasta más de 45°, pedregosos, ácidos, alcalinos, sódicos, etc. (Luna, 1993).

En ningún otro país de América ha llegado el maíz a convertirse en un elemento tan preponderante en la vida social y económica del pueblo como en México. Se puede decir con cierta seguridad que este país supera a cualquier otro en la riqueza de diversidad de sus razas y variedades de maíz (Hernández, 1987).

2.2 Las razas de maíz en México

Anderson y Cutler (1942) han definido al término “raza” con referencia al maíz como “un grupo de individuos emparentados con suficientes

características en común para permitir su reconocimiento como grupo”, especificaron que una clasificación natural debe basarse en el estudio de toda constitución genética de la población e integrar el máximo número de datos. De esta manera se logrará, además de clasificar, mostrar las relaciones y orígenes filogenéticos de las entidades.

Todos los investigadores que han intervenido en la clasificación moderna de las poblaciones de maíz en América, aceptaron el concepto arriba expuesto; con todo, diversos problemas y experiencias (Hatheway, 1957) han redundado en adiciones y aclaraciones (Brieger *et al.*, 1958), resultando como consecuencia la siguiente definición de raza: la categoría taxonómica de raza es una población con un conjunto sustancial de características en común que la distinguen como grupo y la diferencian de otras poblaciones, con capacidad de transmitir con fidelidad dichas características a las generaciones posteriores y que ocupa un área ecológica específica.

Asimismo una raza puede definirse como un conjunto de poblaciones con cierto grado de semejanza, adaptadas a una región ecológica (Muñoz, 2003).

Los primeros trabajos de clasificación se fundamentaron en la descripción de las razas sobre bases morfológicas, fisiológicas, genéticas, agronómicas y características citogenéticas (nudos cromosómicos), que permitieron establecer patrones de relaciones genealógicas preliminares (Sturtevant, 1899; Chávez, 1913; Kuleshov, 1930; Anderson y Cutler, 1942; Wellhausen *et al.*, 1951; Hernández y Alanís, 1970; Ortega, 1973; Kato, 1961,

1965). Esta información constituye la base del conocimiento de la diversidad del maíz y ha servido hasta ahora, como patrón en la descripción de las razas.

Los estudios y exploraciones que conducen a clasificar la diversidad de razas han considerado el mayor número de características morfológicas para describir cada una de las razas de maíz colectadas en México y América. En este caso los rasgos de la mazorca (espiga femenina) se consideran los más importantes para diferenciar a las plantas en las diferentes categorías raciales (Anderson y Cutler, 1942; Wellhausen *et al.*, 1951).

El traslado de maíz por los antepasados, desde la Región Central de la Cuenca de Balsas, hacia ambientes contrastantes, aunado a los procesos de selección practicada por ellos, y la influencia del ambiente, promovió la diversidad de genotipos, dando lugar a la formación de las razas de maíz y multitud de variantes; las cuales han recibido y continuarán recibiendo aportes genéticos del teocintle (Fukunaga *et al.*, 2005)

Los nombres con los que se han clasificado las razas mexicanas reciben denominaciones en lenguas indígenas y en otros casos en el castellano; algunos son descriptivos y otros son nombres de localidades, se basan en la asociación del carácter fenotípico de la mazorca (forma y habilidad del grano para reventar, forma de la mazorca, textura y color del grano), con el lugar de reconocimiento y el grupo indígena que lo utiliza. Así como, los usos específicos para los que fueron seleccionados (Wellhausen *et al.*, 1951; McClintock *et al.*, 1981).

La gran diversidad de razas y ecotipos de maíz en México es producto del trabajo que heredamos de los agricultores prehispánicos, quienes los formaron mediante el movimiento de semillas, el cruzamiento y la selección de tipos que consideraron útiles a propósitos muy bien definidos (Betanzos, 2004).

2.2.1 Reseña histórica de los estudios de clasificación de las razas mexicanas

A principios del siglo pasado Chávez (1913) definió 56 variantes considerando caracteres de la mazorca, el grano, el olote y el periodo vegetativo. Posteriormente Kuleshov (1929, 1930) apoyándose en la textura del grano, realizó tres agrupaciones de maíz mexicano: 1) México Central, 2) Dentado y 3) Hojas largas y anchas.

Después de casi una década, Anderson y Cutler (1942) y Anderson (1945) iniciaron una serie de estudios que han representado una contribución significativa en el estudio de la clasificación del maíz en México. Sugieren el empleo de los caracteres de la espiga, como un carácter fijo, debido a que la inflorescencia femenina (mazorca) y la masculina (espiga) son reflejo fenotípico de las características genéticas del individuo. Así, lograron la clasificación preliminar de los maíces del Bajío y Mesa Central.

Wellhausen *et al.*, (1951) al tomar como base la definición de raza propuesta anteriormente y caracterizando los caracteres vegetativos de la planta, la espiga y la mazorca; además de los fisiológicos, genéticos y

citológicos, lograron clasificar e ilustrar las primeras 25 razas mexicanas, agrupadas en cuatro grupos y seis sub-razas y mencionando siete tipos como no bien definidas. Los grupos definidos son: 1) Las Antiguas Indígenas: Palomero Toluqueño, Arrocillo Amarillo, Chapalote y Nal-Tel consideradas como las descendientes de un maíz primitivo de carácter reventador. Estas razas tienen en común las siguientes características: endospermo tipo reventador y mazorcas pequeñas. 2) Las razas Exóticas Precolombinas procedentes de Centro y Sudamérica: Cacahuacintle, Harinoso de Ocho, Olotón y Maíz Dulce, se caracterizan por tener granos grandes y harinosos, de color blanco, excepto para algunos genotipos de maíz dulce. 3) Las llamadas Mestizas Prehistóricas; que son resultado del cruzamiento de las anteriores y la introgresión de teocintle: Cónico, Reventador, Tabloncillo, Tehua , Tepecintle, Zapalote Chico, Zapalote Grande, Tuxpeño, Pepitilla, Comiteco, Jala, Olotillo y Vandeño). 4) A partir de la Conquista se han desarrollado las razas Modernas Incipientes que son cuatro: Bolita, Chalqueño, Celaya y Cónico Norteño (Cuadro 1 y 2). Las sub-razas son Elotes Occidentales, Tabloncillo Perla y Dzit-Bacal. Los siete tipos de razas como no bien definidas se mencionan a continuación, Conejo, Mushito, Complejo Serrano de Jalisco, Zamorano Amarillo, Maíz Blando de Sonora, Onaveño y Dulcillo del Noroeste.

Cuadro 1. Clasificación de 32 razas y seis sub-razas de maíz de México (Wellhausen *et al.*, 1951).

Razas Indígenas Antiguas	Razas Exóticas Precolombinas	Razas Mestizas Prehistóricas	Razas Modernas Incipientes	Razas No Bien Definidas
1 . Palomero Toluqueño	7 . Cacahuacintle	12 .Cónico	28 .Chalqueño	32 . Conejo
2 . Palomero Jaliscience*	8 . Harinoso de Ocho	13 .Elotes Cónicos*	29 .Celaya	33 . Mushito
3 . Palomero Poblano*	9 . Elotes Occidentales*	14 .Reventador	30 .Cónico Norteño	34 . Complejo Serrano de Jalisco
4 . Arrocillo Amarillo	10 .Olotón	15 .Tabloncillo	31 .Bolita	35 . Zamorano Amarillo
5 . Chapalote	11 .Maíz Dulce	16 .Tabloncillo Perla*		36 . Blando de Sonora
6 . Nal-Tel		17 .Tehua		37 . Onaveño
		18 .Tepecintle		38 . Dulcillo del Noroeste
		19 .Comiteco		
		20 .Jala		
		21 .Zapalote Chico		
		22 .Zapalote Grande		
		23 .Pepitilla		
		24 .Olotillo		
		25 .Dzit-Bacal*		
		26 .Tuxpeño		
		27 .Vandeño		

* Sub-razas

Cuadro 2. Selección de razas de maíz tropical mexicano, grupos raciales, ubicación, distribución y descripción según Wellhausen *et al.*, (1951).

Razas y sub-razas de maíz mexicano	Grupos de razas mexicanas	Ubicación y/o distribución	Descripción de razas
Blando de Sonora	Raza No Bien Definida	Recolectada en pueblos de Sonora en elevaciones hasta 500 m.	Probablemente se ha derivado del Harinoso de Ocho con la intervención de Reventador.
Bofo*	Nueva Raza*	Se encuentra distribuido en la Sierra Madre Occidental, en Nayarit, Durango y Jalisco.*	El nombre se refiere a la textura totalmente harinosa del endospermo, que por lo mismo es muy suave y de aspecto "bofo". El maíz Bofo muestra muchas características entre las razas Harinoso de Ocho y Tabloncillo Perla.
Conejo	Raza No Bien Definida	Se ha encontrado en toda la Cuenca del río Balsas, en los estados de Michoacán y Guerrero a elevaciones de 200 a 350 m.	Es muy precoz. Uno de los progenitores es sin duda el Nal- Tel. El otro progenitor es probable que sea el Tabloncillo, pero esto no se puede determinar hasta que haya más datos.

Dulcillo del Noroeste	Raza No Bien Definida	En todo Sonora se ha encontrado un maíz dulce muy diferente del Maíz Dulce de Jalisco, en las mismas regiones que el Maíz Blando, el Onaveño y el Reventador.	Se adaptan primordialmente a las tierras bajas y áridas del trópico . Es probable que se hayan originado por la hibridación entre el Maíz Dulce y el Reventador.
Dzit-Bacal	Sub-raza Mestiza Prehistórica	Se encuentra distribuido en tierras bajas de Yucatán y Campeche.	El Olotillo o su antecesor fue modificado por medio de la influencia genética del NaI-Tel. La sub-raza Dzit-Bacal difiere del Olotillo de Chiapas en que tiene granos más pequeños y cristalinos, un olote más flexible, ausencia de pelos del pedicelo y es más fuertemente tunicado y menos tripsacoide.
Elotes Occidentales	Sub-raza Exótica Precolombina	Su centro de distribución se encuentra en la Altiplanicie de Jalisco, a elevaciones de 1200 a 1600 m.	Sub-raza del Harinoso de Ocho. Los Elotes Occidentales representan el complejo del maíz harinoso de ocho hileras del oeste de México.
Harinoso de Ocho	Raza Exótica Precolombina	Se ha encontrado en forma más o menos pura, únicamente en tres localidades de la costa del Pacífico a una altitud de 100 m; específicamente, el Valle del Yaqui y Ures en el estado de Sonora y el Ejido de San Vicente en el norte de Nayarit. Encuentra su mejor adaptación en el trópico seco y a pesar de que ya no se encuentra con frecuencia en su forma original existe una representación en las variedades eloterías del oeste de México.	Se considera como una reliquia de un maíz harinoso con granos grandes y pocas hileras que fue originalmente introducido de Sudamérica. Su nombre es debido a los caracteres más sobresalientes de las mazorcas que son sus granos harinosos y sus ocho hileras. Ha dado origen directamente al Tabloncillo, extensamente cultivado, e indirectamente al Jala, Bolita, Celaya y Cónico Norteño. Tiene afinidades con el Olotillo del sureste de México y aún más con el Harinoso Flexible, el supuesto padre del Olotillo.

Jala	Raza Mestiza Prehistórica	Esta raza se encuentra en forma pura únicamente en una pequeña área, el Valle de Jala, Nayarit. Este valle tiene una altitud aproximada de 1000 metros y aparentemente reúne una combinación de factores ambientales tales como suelos fértiles, humedad abundante y temperaturas relativamente elevadas.	Derivado del nombre del valle del estado de Nayarit en donde se cultiva extensamente. Se han hecho numerosos esfuerzos para introducir esta raza a otras regiones de México debido a su vigor general sobresaliente y especialmente al tamaño de su mazorca, pero estos esfuerzos han dado resultados desfavorables. Es probable que el Jala sea un derivado del Comiteco, modificado por una intervención del plasma germinal del Tabloncillo y con algunas características de uno u otro de los padres, acentuadas por el ambiente especial en el cual ha evolucionado el Jala.
Nal-Tel	Raza Indígena Antigua	Se le ha encontrado principalmente en el estado de Yucatán. Se adapta mejor a las altitudes bajas, de más o menos 100 metros, pero produce mazorcas relativamente normales a alturas de 1800 m.	Es una raza de origen maya, primitiva de maíz reventador. Las plantas son pequeñas y precoces. Las mazorcas son muy chicas con un raquis delgado, granos chicos, duros y cristalinos, con estrías marcadas y glumas largas. Es probable que el Nal-Tel no sea muy resistente a la sequía sino que más bien escapa a la sequía. Sus razas derivadas son Zapalote Chico, Bolita, Zapalote Grande y Vandefío.
Olotillo	Raza Mestiza Prehistórica	El centro de distribución del Olotillo se encuentra en la cuenca superior del río Grijalva, en la parte central del estado de Chiapas, a alturas de 300 a 700 mts.	Se puede explicar el origen del Olotillo como el producto del cruzamiento entre un maíz harinoso de ocho hileras con teocintle. El Olotillo ha tenido influencia en varias razas mexicanas de maíz, entre las que figuran el Tuxpeño, el Vandefío, el Chalqueño, el Celaya y el Cónico Norteño. Puede ser también la fuente de las características distintivas de la variedad Hickory King de los Estados Unidos de Norteamérica.
Onaveño	Raza No Bien Definida	Distribuido en la misma región en donde se cultiva el Maíz Blando de Sonora.	Este es el nombre vulgar que se usa para designar un tipo de maíz cristalino que se encuentra en la misma zona que el Maíz Blando de Sonora.

Reventador	Raza Mestiza Prehistórica	Se encuentra distribuido en el oeste de México en las llanuras de Jalisco y las llanuras costeras de Nayarit, asimismo, a lo largo de la costa occidental hacia el norte hasta Sonora. Su extensión en altitud es desde el nivel del mar hasta los 1500 m, pero parece encontrar su mejor adaptación en elevaciones bajas.	La palabra se deriva de reventar y se aplica al maíz que revienta al ser tostado. Se usa para hacer palomitas y pinole. Se ha llegado a la conclusión de que el Reventador es producto de la hibridación entre el Chapalote y el teocintle. Se encuentra evidencia del origen precolombino del Reventador, en el hecho de que aparentemente ha sido el antecesor de varias razas bien establecidas, entre las que figuran Tabloncillo, Jala, Celaya, Cónico Norteño y Bolita.
Tabloncillo	Raza Mestiza Prehistórica	El centro de distribución está en el oeste de México en las llanuras de Jalisco y las llanuras costeras de Nayarit. Se le ha recolectado a lo largo de la costa occidental hacia el norte hasta Ures, Sonora y en Baja California.	Es casi seguro que el Tabloncillo es el resultado de la influencia genética de teocintle en un maíz harinoso de ocho hileras semejante al Harinoso de Ocho.
Tabloncillo Perla	Sub-raza Mestiza Prehistórica	Se encuentra a los alrededores de Ameca Autlán y Sayula en Jalisco hasta una altitud de 1,200 m, prevalece más en altitudes menores, principalmente en el estado de Nayarit.	El tipo "Perla" presenta una textura dura cristalina del grano. En la zona baja de Nayarit se prefiere debido a su mayor resistencia al daño de gorgojo.
Tehua	Mestiza Prehistórica	Únicamente se ha encontrado en el estado de Chiapas a altitudes de 600 a 1,000 m, cerca de los límites de Guatemala.	Se sugiere que esta raza tiene afinidades con el Tepecintle, el Zapalote Grande y el Comiteco. El origen del Tehua es aún oscuro y requiere mayor estudio.

Tepecintle	Raza Mestiza Prehistórica	Ha sido encontrado principalmente en las regiones costeras de Chiapas y Oaxaca a altitudes de 100 a 600 m.	Tiene el número más alto de nudos cromosómicos que cualquier raza de maíz. Posee un número relativamente elevado de hileras, las mazorcas se caracterizan por olores grandes descubiertos en el ápice. El Tepecintle es producto de la hibridación, probablemente en Guatemala, entre el teocintle y una raza de maíz harinoso de olote grande y muchas hileras. Es una de las razas más importantes por su influencia en las razas y variedades modernas de maíz.
Tuxpeño	Raza Mestiza Prehistórica	Se escogió este nombre debido en que Tuxpan, Veracruz se encuentra aproximadamente el centro de distribución de esta raza. Se cultiva extensamente y es definitivamente la raza más importante de la costa del Golfo de México, desde el nivel del mar hasta los 500 m de altura.	Es intermedio entre el Olotillo y el Tepecintle en gran número de caracteres importantes. Es una de las razas más importantes por su influencia en las razas modernas agrícolamente productivas, tanto de México como de los Estados Unidos de Norteamérica. Ha figurado entre los antecesores de las razas más productivas y agronómicamente satisfactorias de México (Celaya, Chalqueño y Cónico Norteño).
Vandeño	Raza Mestiza Prehistórica	Se distribuye a lo largo de la Llanura Costera del Pacífico, que se extiende cuando menos desde la frontera de Guatemala, en el estado de Chiapas, hasta al norte como al estado de Nayarit. Datos indican que está mejor adaptado a la parte sur de su zona de distribución. Ocasionalmente se encuentra también en la región de las Llanuras Costeras del Golfo junto con el Tuxpeño.	El Vandeño difiere del Tuxpeño a causa primordialmente de una fuerte influencia genética del complejo Zapalote. El Vandeño como el Tuxpeño se remontan a un origen que resultó de la hibridación del Olotillo y el Tepecintle. El Tuxpeño, tiende a tener una mayor proporción del Olotillo, mientras que el Vandeño, parece tener mayor proporción del Tepecintle y además muestra una fuerte influencia genética del complejo del Zapalote.

Zapalote Chico	Raza Mestiza Prehistórica	Es relativamente abundante en las tierras bajas de las costas de Oaxaca y Chiapas, a altitudes de 100 m más o menos. En siembras experimentales indican que es probable que se encuentre cultivada en esta misma región hasta en alturas de 1000 m.	Es casi seguro que es el producto híbrido del Nal-Tel, el maíz reventador primitivo del sur de México y otra raza, probablemente el Tepecintle. Las mazorcas representativas de esta raza son cortas, tienen un número bajo de hileras y están provistas de la mayor protección de cubierta (totomoxtle) que cualquier raza se ha encontrado. Los granos se desprenden con facilidad. Las plantas son relativamente cortas y precoces y tienen bastante coloración.
Zapalote Grande	Raza Mestiza Prehistórica	Se encuentra distribuido en las mismas regiones generales que el Zapalote Chico, pero tiende a adaptarse en lugares ligeramente más altos.	Resultó indudablemente de la hibridación entre el Zapalote Chico y un maíz harinoso de olote grueso y alto número de hileras como el Tehua o uno de sus progenitores menos tripsacoides (no se conoce con seguridad al otro padre). Las mazorcas del Zapalote Grande son más grandes y tienen mayor número de hileras, las plantas son más vigorosas y más tardías.

Hernández y Alanís (1970)

Al analizar los materiales que Wellhausen y colaboradores que agruparon como no bien definidas, Sánchez (1989) caracterizó y confirmó cuatro de estas razas no bien definidas: Zamorano Amarillo, Mushito, Dulcillo del Noroeste y Blando de Sonora y tres tipos de los identificados por Ortega en 1979: Coscomatepec, Motozinteco y Elotero de Sinaloa (Cuadro 3).

Cuadro 3. Razas de maíz de México (Modificado de Ron *et al.*, 2006).

Hernández y Alanís (1970)	Ortega (1979)	Benz (1986)	Sánchez <i>et al.</i>, (2000)
39 . Apachito	44 . Ancho	54 . Chatino maizón	59 . Negroito
40 . Azul	45 . Coscomatepec	55 . Choapaneco	
41 . Bofo	46 . Cristalino de Chihuahua	56 . Mixeño	
42 . Gordo	47 . Elotero de Sinaloa	57 . Mixteco	
43 . Tablilla de Ocho	48 . Motozinteco	58 . Serrano mixe	
	49 . Nal-tel de altura		
	50 . Negro de Chimaltenango		
	51 . Palomero de Chihuahua		
	52 . Ratón		
	53 . Tuxpeño Norteño		

En el Cuadro 3 se presenta el descubrimiento de nuevas razas de maíz (Ron *et al.*, 2006); en 1970 Hernández y Alanís describieron cinco razas nuevas; Ortega en 1979 propuso 10 razas adicionales, en 1986 Benz aumentó cinco razas más, y Sánchez *et al.*, (2000) incluyeron una raza más, para un total de 59 razas de maíces nativos en México. Ortega (2003), sólo mencionó 41 razas.

Se mencionan las razas catalogadas de maíz mexicano localizadas en cada uno de los 30 estados de la República Mexicana (Cuadro 4). Los grupos están como se describe en Sánchez y Goodman (1992a).

Se considera que el teocintle tuvo gran influencia en la alta variabilidad genética y desarrollo de las principales razas de maíz de Mesoamérica, como por ejemplo las razas Reventador, Tepecintle, Comiteco y Olotillo, donde se postula que el teocintle ha sido uno de sus progenitores directos (Bedoya y Chávez, 2010).

Cuadro 4. Razas de maíz mexicano catalogadas en México.

Estado*	Razas catalogadas de Maíz (Cárdenas, F. en Taba 1995a)
Aguascalientes (59)	Celaya, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos
Baja California Sur (11)	Tuxpeño, Tabloncillo Perla
Campeche (182)	Dzit-Bacal, Nal-Tel, Clavillo
Chihuahua (348)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Norteño, Chalqueño, Tabloncillo, Reventador, Tabloncillo Perla, Bolita, Maíz Dulce, Harinoso de Ocho, Palomero, San Juan, Dulcillo del Noroeste, Tuxpeño Norteño, Azul, Lady Finger, Blandito, Cristalino de Chihuahua, Gordo, Tehua, Apachito, Maizón
Chiapas (795)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Elotes Occidentales, Olotillo, Tabloncillo Perla, Dzit-Bacal, Vandeño, Nal-Tel, Tepecintle, Olotón, Zapalote Chico, Zapalote Grande, Clavillo, Comiteco
Coahuila (124)	Tuxpeño, Celaya, Cónico Norteño, Elotes Occidentales, Tuxpeño Norteño, Tehua
Colima (29)	Tuxpeño, Tabloncillo, Reventador, Tabloncillo Perla, Vandeño, Jala
Durango (270)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Occidentales, Tabloncillo, Reventador, Tabloncillo Perla, Bolita, Pepitilla, San Juan, Dulcillo del Noroeste, Bofo, Blandito de Sonora, Blandito, Cristalino de Chihuahua, Gordo, Tablilla, Tunicata
Guerrero (383)	Tuxpeño, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Olotillo, Tabloncillo, Reventador, Vandello, Nal-Tel, Pepitilla, Mushito, Tepecintle, Ancho, Conejo
Guanajuato (370)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos, Reventador, Maíz Dulce, Mushito, Fasciado
Hidalgo (236)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Occidentales, Olotillo, Bolita, Dzit-Bacal, Mushito, Cacahuacintle, Arrocillo Amarillo, Olotón, Arrocillo
Jalisco (683)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Tabloncillo, Reventador, Tabloncillo Perla, Bolita, Vandeño, Pepitilla, Maíz Dulce, Harinoso de Ocho, San Juan, Azul, Jala, Zamora, Complejo Serrano de Jalisco
Estado de México (724)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos, Bolita, Pepitilla, Cacahuacintle, Palomero, Arrocillo Amarillo, Ancho, Azul
Michoacán (528)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Olotillo, Reventador, Dzit-Bacal, Vandeño, Pepitilla, Maíz Dulce, Mushito, Cacahuacintle, Palomero, Conejo, Zamora
Morelos (165)	Tuxpeño, Chalqueño, Olotillo, Tabloncillo, Vandeño, Pepitilla, Tuxpeño Norteño, Ancho
Nayarit (336)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Occidentales, Olotillo, Tabloncillo, Reventador, Tabloncillo Perla, Vandeño, Maíz Dulce, Harinoso de Ocho, Bofo, Jala, Tablilla de Ocho

* Entre paréntesis está el número de colectas registradas en el catálogo LAMP (1991)

** Los grupos están como se describe en Sánchez y Goodman (1992a)

Estado*	Razas catalogadas de Maíz (Cárdenas, F. en Taba 1995a)
Nuevo León (118)	Tuxpeño, Cónico Norteño, Tabloncillo, Tablilla de Ocho
Oaxaca (562)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos, Olotillo, Bolita, Vandeño, Nal-Tel, Mushito, Tepecintle, Olotón, Conejo, Zapalote Chico, Zapalote Grande
Puebla (943)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Olotillo, Bolita, Pepitilla, Mushito, Cacahuacintle, Palomero, Arrocillo Amarillo, Arrocillo
Quintana Roo (132)	Tuxpeño Olotillo, Dzit-Bacal, Nal-Tel, Tepecintle
Querétaro (115)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos, Bofo, Onaveño, Fasciado
Sinaloa (187)	Tuxpeño, Tabloncillo, Reventador, Tabloncillo Perla, Maíz Dulce, Harinoso de Ocho, San Juan, Dulcillo del Noroeste, Blandito de Sonora, Lady Finger, Onaveño, Chapalote, Harinoso
San Luis Potosí (206)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Olotillo, Tabloncillo, Dzit-Bacal, Harinoso de Ocho
Sonora (183)	Tuxpeño, Tabloncillo, Reventador, Tabloncillo Perla, Nal-Tel, Harinoso de Ocho, San Juan, Dulcillo del Noroeste, Blandito de Sonora, Lady Finger, Onaveño, Chapalote
Tabasco (35)	Tuxpeño, Olotillo, Vandeño, Nal-Tel, Zapalote Grande
Tamaulipas (148)	Tuxpeño, Dzit-Bacal, Carmen
Tlaxcala (332)	Cónico, Chalqueño, Elotes Cónicos, Cacahuacintle, Palomero, Arrocillo Amarillo, Arrocillo
Veracruz (741)	Tuxpeño, Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Olotillo, Bolita, Dzit-Bacal, Nal-Tel, Pepitilla, Mushito, Cacahuacintle, Palomero, Tepecintle, Arrocillo Amarillo, Olotón, Coscomatepec
Yucatán (249)	Tuxpeño, Olotillo, Dzit-Bacal, Nal-Tel, Tepecintle, Zapalote Chico, Xmenejal
Zacatecas (263)	Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Tabloncillo, Bolita, Maíz Dulce, San Juan, Dulcillo del Noroeste, Boco, Tablilla

* Entre paréntesis está el número de colectas registradas en el catálogo LAMP (1991)

** Los grupos están como se describe en Sánchez y Goodman (1992a)



Distribución de las razas de maíz en México por estado.

Es probable que no exista una raza “pura” de maíz en el sentido de que todos los individuos que componen dicha raza sean homocigotos para todos o la mayoría de sus genes. En las variedades de maíz de polinización libre probablemente cada planta es ligeramente diferente en su genética de todas las otras plantas (Hernández, 1987).

En las razas mexicanas de maíz (*Zea mays* L.), la caracterización morfológica y genética es un proceso inconcluso, pues sólo se han hecho algunos trabajos para estudiar la variabilidad existente entre razas, que incluyeron un alto número de razas con pocas poblaciones representativas de cada una, lo que ha permitido visualizar un panorama general y caracterizar la variación entre ellas (López *et al.*, 2009).

2.3 Marcadores Moleculares

Los marcadores moleculares son fragmentos específicos de ADN que pueden ser identificados en todo el genoma, se usan para marcar la posición de un gen en concreto o la herencia de una característica en particular. Corresponden a un conjunto de técnicas que permiten visualizar o indicar la presencia de variantes alélicas, producto de algún tipo de mutación establecida en las poblaciones a través del tiempo evolutivo. Esta variación genética detectada es conocida como polimorfismo y es lo que nos permite separar grupos, poblaciones, cepas, especies o grupos taxonómicos mayores. El objetivo de la obtención de marcadores moleculares es establecer variantes

polimórficas que nos permitan discriminar entre grupos de estudio el nivel que éste sea necesario. Estas medidas nos permiten obtener una marca que diferencia un grupo de otro (Cornide, 2002).

Los marcadores moleculares son fenotípicamente neutros, presentan mayor segregación o polimorfismo que los morfológicos, pueden ser evaluados desde los primeros estados de desarrollo de las plántulas, son aplicables a cualquier época del año en que se realiza el análisis, permiten la identificación correcta de la variedad sin necesidad de muchos caracteres y están libres de los efectos epistáticos (Tanksley, 1983; Powell, 1992; Phillips *et al.*, 1995; Rallo *et al.*, 2002). Un buen marcador molecular debe reunir una serie de características para maximizar su utilidad, entre ellas, debe tener una buena distribución a lo largo del genoma y alto grado de polimorfismo. La técnica para analizar el marcador debe ser rápida, práctica y debe repetirse con fiabilidad en otros laboratorios (Cheng y Crittenden, 1994).

Sánchez (2002) menciona que los marcadores moleculares son la principal herramienta utilizada hoy en día en microorganismos, plantas y animales para: caracterización de germoplasma, identificación de genotipos, determinación de pureza, análisis de diversidad genética, mejoramiento genético asistido por marcadores, aislamiento y caracterización de genes específicos para usar en transformación genética, construcción de mapas de ligamiento, en la identificación de transformantes individuales o su progenie, entre otros.

Dentro de los marcadores moleculares se menciona la existencia de dos tipos: las proteínas (principalmente las isoenzimas) y los marcadores de ADN (Azofeifa, 2006). El polimorfismo basado en proteínas ha sido de gran utilidad en las investigaciones realizadas en plantas, pero con el desarrollo de las tecnologías basadas en ADN la investigación en esta área se ha visto favorecida con la disponibilidad de una mayor cantidad de marcadores (Becerra y Paredes, 2000).

Los marcadores del ADN se basan fundamentalmente en el análisis de las diferencias en pequeñas secuencias del ADN entre individuos. Las técnicas empleadas para ello son muy diversas y dan el nombre a los distintos tipos de marcadores, los cuales pueden ser de carácter dominante o codominante (Karp y Edwards, 1998). Desde la aparición de la PCR se han desarrollado una serie de técnicas utilizadas para los estudios de variabilidad genética. Entre estas técnicas se cita el uso de los marcadores genéticos, la cual se basa en la clonación y secuenciación de fragmentos de ADN (Dodgson *et al.*, 1997). Algunos ejemplos de ellos son: Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), Amplificación aleatoria del ADN polimórfico (RAPD), Polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP), Microsatélites o Secuencias Simples Repetidas (SSR), Amplificación aleatoria del polimorfismo de microsatélites (RAMPO) etc. (Rallo *et al.*, 2002).

Con el descubrimiento de los marcadores moleculares y la gran utilidad de estos por su eficiencia, distribución a lo largo del genoma y sobre todo por no tener influencia del ambiente, constituyen en la actualidad los mejores

métodos para la caracterización de las poblaciones de maíz existentes en el mundo, así como para la caracterización racial de los maíces conservados *in situ* y *ex situ* (Acosta, 2009).

El desarrollo de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) por Mullis *et al.*, (1986), es una reacción enzimática catalizada por una ADN polimerasa, que permite la amplificación o reproducción *in vitro* de grandes cantidades de una región particular del ADN, a partir de una pequeña cantidad original de ADN molde. Esta enzima requiere, para la síntesis, de un par de oligos denominados iniciadores o primers, cuyas secuencias son complementarias a la de las regiones flaqueantes 5' y 3' del segmento particular de ADN que se aspira amplificar. Su copiado es en forma exponencial a través de repetidos ciclos de diferentes periodos y temperaturas de incubación en presencia de una enzima ADN polimerasa termoestable. Así se obtienen en cuestión de horas millones de copias de la secuencia deseada del ADN (Mullis, 1990 y Templeton, 1992). Con el diseño de los termocicladores o aparatos que consisten en un bloque que puede ser programado para calentarse y enfriarse rápidamente en determinados tiempos, condujo a la automatización total del proceso (Bertrand *et. al.*, 1989).

La técnica del PCR consta de tres etapas: Desnaturalización del ADN a 95°C; acoplamiento del cebador a la cadena complementaria, lo cual se realiza a una temperatura específica para cada cebador con el objeto de lograr la máxima especificidad, y extensión de la nueva cadena mediante la enzima Taq ADN polimerasa (Cornide, 2002).

La reacción consta, por lo regular, de una treintena de ciclos repetitivos conformados cada uno de tres pasos: el primero consiste en la ruptura de los puentes de hidrógeno del ADN para desnaturalizarlo, para lo que se incuba a una temperatura alrededor de 95°C, por un minuto. Este paso expone las bases nitrogenadas del ADN blanco. En el segundo ocurre la hibridación de las cadenas desnaturalizadas del ADN blanco con los denominados cebadores o iniciadores (ADN sintético de hebra sencilla), a una temperatura que facilita el apareamiento de las bases nitrogenadas complementarias de ambas clases de ADN. Esta temperatura depende de la temperatura de fusión, generalmente oscila entre 50 y 60 °C. El tercer paso se efectúa a 72 °C, temperatura a la que la polimerasa extiende la longitud de los cebadores, añadiendo los diferentes nucleótidos libres en el orden que le va dictando la secuencia de nucleótidos de la cadena que actúa como molde (Baumforth *et al.*, 1999).

2.4 Microsatélites o Secuencias Repetidas Cortas (SSR)

Los microsatélites o repeticiones de secuencia simple (SSR), consisten en un número variable de unidades repetidas en tándem (1 a 6 pares de bases cada uno) y representan una clase de repetición de ADN que se encuentra comúnmente en los genomas eucariotas (Tautz y Renz, 1984). Se caracterizan por su presencia en abundancia (Condit y Hubbell, 1991; Roder *et al.*, 1995) y una gran variabilidad (Schug *et al.*, 1998). Este tipo de marcadores presentan un elevado grado de polimorfismo, su herencia es mendeliana simple, son codominantes (pudiéndose diferenciar los individuos homocigotos de los

heterocigotos), son fáciles de mediar y analizar, se encuentran generalmente en regiones no codificantes del genoma y distribuidos uniformemente (Goldstein y Schlotterer, 1999).

Los SSR (Microsatélites o Secuencias Repetidas Cortas) se han utilizado extensamente para caracterización de diversidad genética y en la descripción de estructuras genéticas de poblaciones por tener alta confiabilidad, reproducibilidad y automatización (Bedoya *et al.*, 2010). Asimismo, han sido utilizados para medir la diversidad genética de especies y para analizar la estructura genética de las poblaciones de maíz (Balestre *et al.*, 2008).

Los polimorfismos de los SSRs son el resultado de las diferencias en el número de unidades repetidas que permiten la visualización de diferencias genéticas entre individuos. El alto nivel de polimorfismo que se detecta con este tipo de marcadores permite una discriminación precisa entre individuos altamente emparentados. Estas características hacen de los SSR los marcadores preferidos en el análisis de la diversidad genética en varios cultivos entre ellos, el maíz (Matsuoka *et al.*, 2002; Reif *et al.*, 2005; Warburton *et al.*, 2002) y han sido explotados como herramientas para medir la distancia genética y la diversidad en los estudios evolutivos (Bruford and Wayne, 1993; Goldstein and Pollock, 1997).

2.5 Estudios de diversidad genética en maíz

La diversidad genética es la multiplicidad de frecuencias alélicas presentes en un grupo de individuos, que junto con el ambiente proveen la

naturaleza del fenotipo y es base fundamental en programas de mejoramiento (Cardona, 2010).

La diversidad genética de una especie representa la variación heredable dentro y entre sus poblaciones, y en las especies cultivadas ésta tiene gran trascendencia pues es sobre la cual operan los procesos de selección que aplican los agricultores y fitomejoradores (López *et al.*, 2009).

La diversidad del maíz se puede atribuir a la selección practicada por el hombre desde su domesticación, así como a los numerosos nichos ecológicos y los efectos ambientales que cada condición climática ejerce sobre las poblaciones para determinar la adaptación de estas (Caraballosa *et al.*, 2000).

Diversos estudios de la variabilidad del maíz, tanto morfológica como genética, muestran que existe gran variabilidad en las poblaciones mexicanas, además de la existencia del teocinte, el pariente silvestre del que desciende el maíz cultivado (Sánchez *et al.*, 1998). Se han llevado a cabo estudios sobre la diversidad genética con el uso de isoenzimas (Goodman y Brown 1988; Sánchez G. *et al.* 2000) y, más recientemente, con microsatélites SSR (Matsuoka *et al.*, 2002; Pressoir y Berthaud 2004a, b; Reif *et al.*, 2006). La mayor parte de estos estudios han analizado muestras de bancos de germoplasma representativas de todo el país y han tomado como base para la selección y la clasificación racial de las muestras utilizadas. Los estudios con isoenzimas muestran que las razas no se agrupan en complejos bien definidos, como sería de esperar por los datos morfológicos, sino que forman un continuo (Doebley *et al.*, 1985; Sánchez *et al.*, 2000). Existe una gran variabilidad en

caracteres morfológicos y moleculares, tanto entre razas como dentro de ellas, aunque ciertas poblaciones tienen niveles bajos de diversidad, aparentemente por tratarse de variedades para usos especiales (Sánchez *et al.*, 2000).

La caracterización de las especies de polinización abierta como es el caso del maíz, ha sido muy difícil en el pasado porque la variabilidad encontrada responde más a la variación dentro de la misma población (intrapoblacional) que entre poblaciones (interpoblacional), además que estos niveles de variación pueden ser muy altos (Doebley *et al.*, 1984). Esto significa que al menos 15 individuos deben ser caracterizados para representar suficientemente la diversidad alélica presente en una población del maíz. Lo cual, a su vez hace que los estudios existentes sean escasos y con frecuencia realizados con un número insuficiente de individuos, lo que hace difícil sacar conclusiones fiables de los mismos. Un método de análisis para estimar las frecuencias alélicas dentro de una muestra conjunta de individuos de una población fue desarrollado por INRA (Instituto Nacional de Investigación Agrícola, Francia) y CIMMYT (Dubreuil *et al.*, 2006). Este método es más eficiente que la caracterización de individuo por individuo y por supuesto más preciso que la caracterización genotípica de un sólo individuo por población. Por las ventajas presentadas por este método de análisis en la caracterización de poblaciones heterogéneas de maíz se planeó utilizar esta misma metodología en las poblaciones de maíces tropicales presentes en este trabajo de investigación.

Estudios más recientes con microsatélites confirman una discrepancia entre la estructura poblacional medida con datos morfológicos y la medida con marcadores moleculares de una misma muestra de maíces, lo cual ha sido explicado como el resultado de un gran flujo génico entre poblaciones, aunado a una fuerte selección divergente a partir de características morfológicas determinadas por parte de los agricultores (Pressoir y Berthaud 2004a).

En diversos foros y obras culturales, técnicas y científicas se ha reconocido y destacado la diversidad de los maíces mexicanos y su importancia en los aspectos socioeconómicos y culinarios (Esteva y Marielle, 2003; González, 2006; Muñoz, 2003). Esta riqueza genética ha jugado un papel importante en México ya que se siembran variedades nativas de maíz en regiones, áreas y nichos ecológicos donde las variedades mejoradas no expresan su potencial de rendimiento (Muñoz, 2003) o no cumplen con los niveles de calidad requeridos por los productores en la preparación de alimentos para humanos y animales domésticos (Ron *et al.*, 2006).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Con el objeto de evaluar la diversidad genética y la variabilidad interpoblacional e intrarracial en 20 razas de maíz tropical mexicano, se seleccionaron 196 accesiones (poblaciones) de maíz (Cuadro 5 y 6) originarias de 21 estados de la República (Figura 1). El material fue proporcionado por el banco de germoplasma del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). En este estudio el término “población” hace referencia a las variedades nativas que son mantenidas por los agricultores y cada una de estas poblaciones se registra como una accesión en los bancos de germoplasma.

Cuadro 5. Razas y sub-razas de 196 accesiones tropicales de maíz mexicano.

Razas y sub-razas de maíces tropicales mexicanos	Grupos de razas de maíz en México*	Estados***	Número de accesiones***
1.- Blandito de Sonora	No bien definida	Sin, Son	9
2.- Bofo	Nueva**	Nay, Sin, Dgo	8
3.- Conejo	No bien definida	Gro, Mich	13
4.- Dulcillo del Noroeste	No bien definida	Sin, Chih	9
5.- Dzit-bacal	Sub-raza mestiza prehistórica	Cam, QR	4
6.- Elotes Occidentales	Sub-raza exótica precolombiana	Col, Nay, SLP, Gro	6
7.- Harinoso de Ocho	Éxotica precolombiana	Chih, Nay, Sin, Son	11
8.- Jala	Mestiza prehistórica	Nay	5
9.- Nal-tel	Índigena Antigua	Cam, Gro, Yuc	5
10.- Olotillo	Mestiza prehistórica	Chis, Hgo, Gro, Mich, SLP, Son, Oax, Ver., Yuc	18
11.- Onaveño	No bien definida	Son	8
12.- Reventador	Mestiza prehistórica	Gro, Nay, Sin, Son	10
13.- Tabloncillo	Mestiza prehistórica	Chih, Col, Dgo, Jal	12
14.- Tabloncillo Perla	Mestiza prehistórica	Mich, Nay, Sin, Son Chih, Col, Dgo, Nay Sin y Son	11
15.- Tehua	Mestiza prehistórica	Chis	4
16.- Tepecintle	Mestiza prehistórica	Chis, Gro, Hgo, Oax, SLP Tab, Ver., Yuc	18
17.- Tuxpeño		Coah, Col, Dgo, Hgo, Jal, Nay, NL, Oax, SLP, Sin Tamps, Ver.	21
18.- Vandeño		Chis, Col, Gro, Jal, Mich, Nay, Oax	12
19.- Zapalote Chico		Chis, Oax	8
20.- Zapalote Grande		Chis, Oax	4
		Total	196

*Grupo de razas de maíz en México según Wellhausen et al., 1951. ** Hernández y Alanís (1970), Ortega (1985) y Sánchez-González (1989), entre otros, han descrito y caracterizado nuevas razas
*** Estados de la República Mexicana (abreviados) y no. de accesiones fueron otorgados por el --- Banco de Germoplasma y las alturas (msnm) por el SIG del CIMMYT.

Las accesiones se sembraron en la Estación Experimental Agua Fría del CIMMYT de clima tropical húmedo, ubicada en Venustiano Carranza, Pue., en los paralelos 20°23'12'' y 20°37'36'' de latitud norte, con los meridianos 97°31'54'' y 97°48'42'' de longitud occidental a 110 msnm.

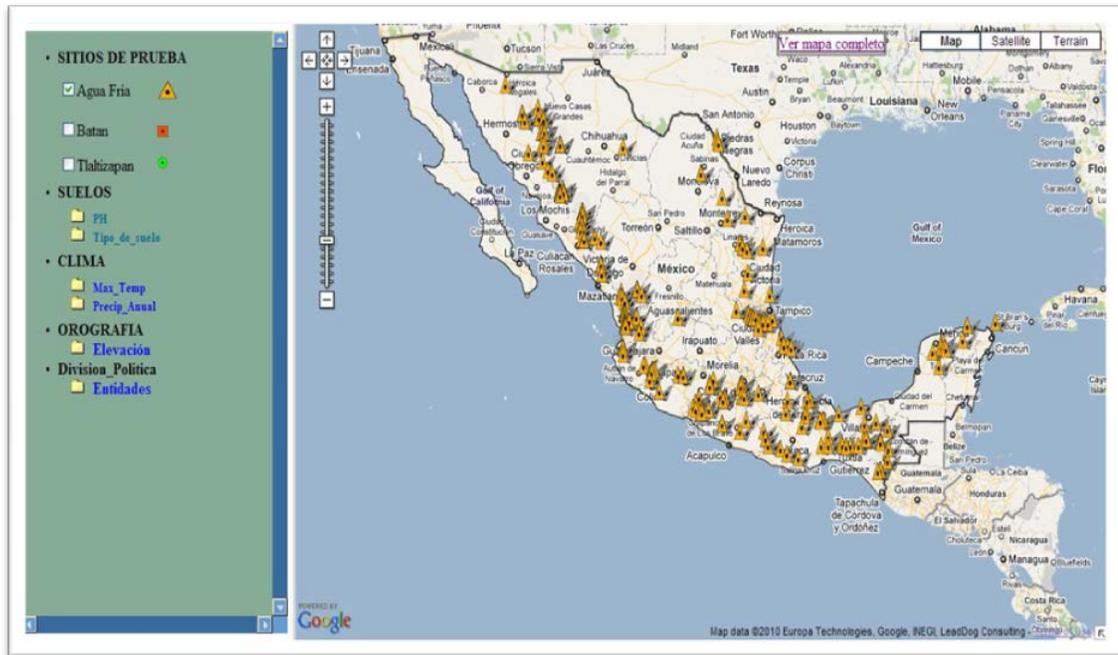


Figura 1. Origen geográfico dentro de la República Mexicana de 196 accesiones tropicales de maíz mexicano.

La caracterización genotípica se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) ubicado en el Km. 45 carretera México-Veracruz, El Batán, Texcoco, Edo. de México.

3.1 Cosecha de tejido vegetal en maíz para extracción de ADN

La cosecha de tejido vegetal de las 196 accesiones de maíz tropical mexicano se llevó a cabo en la estación Agua Fría (CIMMYT) el día 28 de Enero de 2010. Se tomaron 15 plantas individuales aleatorias de cada accesión de maíz por cada entrada correspondiente en un sólo glassine para tener una mayor representatividad de la accesión y que representará una muestra compuesta de ADN (bulk).

3.2 Obtención de tejido de cada accesión en campo

1. De la parte superior de la planta de maíz se cortaron hojas frescas y sanas de la misma longitud (15 cm).
2. Se colocaron en bolsas rotuladas de papel encerado impermeables al agua (glassines).
3. Posteriormente, se guardaron en bolsas de plástico herméticamente cerradas.
4. Se incorporaron a una hielera (para evitar la degradación del tejido).

3.3 Manipulación de muestras en el Laboratorio ABC en CIMMYT

1. Las muestras (en las bolsas herméticamente cerradas) se colocaron en un refrigerador a una temperatura de -80°C (tiempo aproximado: 12 hrs.)
2. Se liofilizaron (tiempo aproximado: 72 hrs).

3. Las muestras deshidratadas se metieron en bolsas de plástico a temperatura ambiente (para mayor almacenamiento se guardaron en el refrigerador a -20°C).
4. Se separaron los bulks.
5. Cada bulk se molió en un molino de café marca Braun (se recomendó un tamaño de partícula pequeña para asegurar un buen rendimiento y calidad de ADN).
6. La molienda se introdujo en tubos “falcón” de 15 ml,.

Nota: Para evitar la contaminación entre muestras se utilizó una brocha y aire comprimido y se limpió el molino después de moler cada una de éstas.

3.4 Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó bajo el protocolo con CTAB (Bromuro de Hexadeciltrimetilamonio) el cual se pega fuertemente al ADN, desplaza las proteínas y previene la degradación; el proceso se llevó a cabo en tubos de 15 ml con dos lavados de Cloroformo/ Etanol. Una vez obtenido el ADN se procedió a la cuantificación en el Nanodrop marca Thermo SCIENTIFIC, modelo 8000 a una longitud de onda de 260 nm, lo cual permite el cálculo de la concentración de los ácidos nucleicos en la muestra y posteriormente se efectuó la dilución de las muestras a 15 ng/μl.

3.5 Procedimiento para la Extracción de ADN

1. Se calentó la solución amortiguadora de extracción (CTAB) a 65°C.
2. Se colocó el tejido liofilizado y molido.
3. Se agregó 1 ml de solución amortiguadora CTAB. Se mezcló por inversión, para homogenizar el tejido con la solución amortiguadora.
4. Se incubó y se movieron los tubos con suavidad en un agitador de balance en un horno de 65°C durante 90 min.
5. Se retiraron los tubos del horno y se dejaron enfriar durante 5 a 10 min.
6. Se agregó 1 ml de cloroformo:octanol (24:1). Se agitaron los tubos por inversión durante 10 min a temperatura ambiente.
7. Se centrifugó a 3500 rpm a temperatura ambiente durante 10 min para formar la fase acuosa (líquido claro de color amarillo) y la fase orgánica (de color verde oscuro).
8. Se recuperó aproximadamente 750 μ l de la fase superior acuosa y se vació en un tubo nuevo de 1.5 ml con 5 μ l de ARNasa.
9. Se mezcló por inversión e incubó durante 30 min en un horno a 37°C.
10. Se agregó $\frac{1}{2}$ volumen de isopropanol (2-propanol) al 100% previamente enfriado en un refrigerador a -20°C. Se mezcló por inversión para favorecer la precipitación de ADN. Se guardó en el refrigerador a -80°C por un corto tiempo).
11. Se centrifugó a 3500 rpm a temperatura ambiente durante 30 min para precipitar y formar la pastilla de ADN en el fondo del tubo. Se desechó el isopropanol por decantación.

12. Se agregó 1 ml de alcohol al 75%. Se lavó suavemente la pastilla de ADN. Se desechó el alcohol por decantación y se repitió el lavado. Se desechó nuevamente el alcohol y se deja secar la pastilla de ADN.
13. Se volvió a suspender la pastilla en 1 ml en agua destilada a 500 μ l, se taparon los tubos y se metieron al refrigerador a 4°C (se pueden dejar días). Después se sacaron las muestras del refrigerador y se agitaron (hasta que viera más líquido y se eliminara la nube formada).
14. Para la cuantificación de las muestras se utilizó un NanoDrop (ND1000) y se efectuó la dilución de las muestras a 10 ng/ μ l.

3.6 PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

Se utilizó esta técnica para multiplicar millonariamente *in vitro* fragmentos específicos de las 196 poblaciones tropicales de maíces mexicanos. Se utilizaron 30 marcadores moleculares tipo SSR previamente optimizados y marcados con fluorescencia. Los fluoróforos usados fueron: FAM (azul), HEX (verde), NED (amarillo) y ROX (rojo), (Cuadro 7).

Cuadro 6. Marcadores SSR para el estudio de diversidad genética en poblaciones de maíz tropical mexicano.

Marcador	Programa	Fluorescencia	Tamaño en Pares de Bases
nc133	SSR56	Hex	99-120
phi008	Q60	Fam	100-104
phi029	SSR56	Ned	150-161
phi034	Q60	Ned	125-143
phi056	SSR56	Hex	241-258
phi063	Q64	Fam	154-180
phi065	Q56	Fam	128-148
phi075	Q54	Fam	203-235
phi076	Q60	Hex	156-177
phi079	SSR62	Ned	177-195
phi084	SSR54	Hex	148-157
phi090	Q60	Hex	125-140
phi114	SSR60	Hex	129-171
phi127	Q62	Ned	110-127
phi102228	SSR54	Hex	122/131
phi108411	Q60	Fam	116/123
phi109188	Q58	Hex	145-181
phi299852	Q60	Ned	102-147
phi374118	SSR56	Ned	214-238
umc1161	SSR56	Ned	128-149
umc1196	SSR54	Fam	137-173
umc1266	Q52	Fam	120-147
umc1304	SSR54	Ned	121-141
umc1332	SSR60	Hex	126-147
umc1367	Q62	Fam	143-158
umc1447	Q60	Fam	115-119
umc1545	Q60	Hex	64-80
umc1917	SSR52	Ned	119-143
umc2047	Q58	Hex	119-133
umc2250	Q58	Fam	130-150

3.7 Amplificación del ADN

Los microsatélites se amplificaron mediante la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en este estudio de diversidad genética. Se preparó una mezcla de reacción por primer que incluyeron todos los componentes anotados en el Cuadro 7. Los reactivos, volúmenes y cálculos para cada *primer* utilizado en este trabajo se presentan en Cuadro 9 (Anexo).

Cuadro 7. Reacciones de Polimerización en Cadena para cada marcador.

Reactivo	10ml de 1RXN
Amortig. <i>Taq</i> (10X)	1.0
dNTP (25mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
Iniciadores (2mM)	X
H ₂ O	Y
Enzima <i>Taq</i>	0.15
ADN (5ng/ml)	1.5

X= La cantidad varía según el iniciador
Y= Se ajusta para llevar a un volumen total de 10 ml

En los termocicladores se amplificaron cada una de las placas con sus reactivos y programas de amplificación de acuerdo a cada uno de los microsatélites.

Nota: Si se necesita preparar una mezcla de reacción con anterioridad, sugiere que se incluyan todos los componentes salvo la polimerasa *Taq* y que se mantenga la mezcla a 4°C o a -20 °C hasta que se vaya a utilizar. La enzima *Taq* se agrega justo antes de hacer partes alícuotas de la mezcla de reacción.

3.8 Caracterización genotípica

La caracterización genotípica se llevó cabo en el Laboratorio de Diversidad Genética del CIMMYT. Se utilizó un secuenciador ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer, que posee un sistema automático de electroforesis capilar que separa, detecta y analiza varios fragmentos de ADN marcados con fluorescencia (Figura 2). La gran ventaja que ofrece la electroforesis capilar y el equipo utilizado es la sensibilidad para separar fragmentos de 50 a 500 bp (pares de bases) y en detectar fragmentos con una baja intensidad de amplificación.

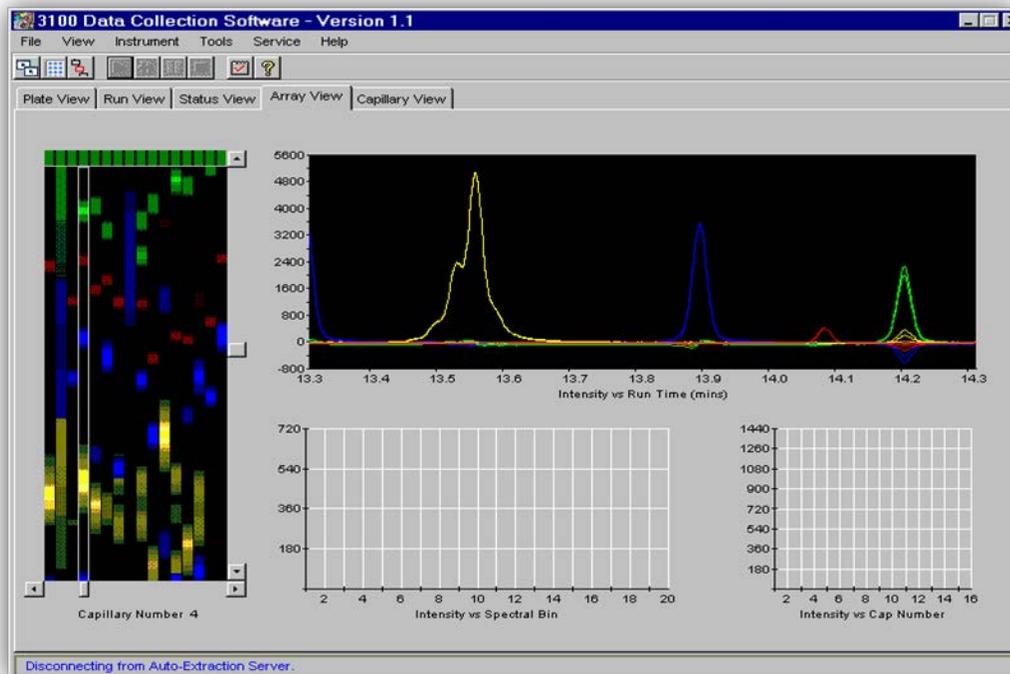


Figura 2. Sistema automático de electroforesis capilar de un secuenciador ABI PRISM 3100.

El análisis de los fragmentos y la tipificación alélica se llevó a cabo mediante GeneMapper®2.1. El primer paso en el análisis de fragmentos es la

asignación de tamaños en pares de bases a los fragmentos fluorescentes detectados con el láser del secuenciador automático realizados de manera automática (Figura 3) y se basa en la comparación de los fragmentos detectados con los estándares internos de tamaño GeneScan-350 y GeneScan-500 ROX (Figura 4).

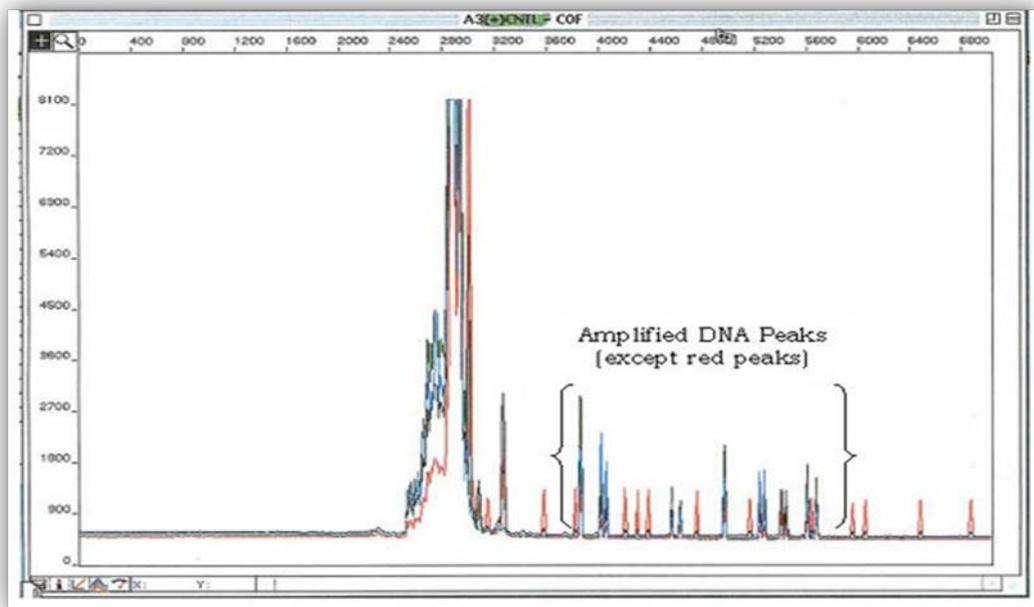


Figura 3. Ilustración de fragmentos fluorescentes detectados con el secuenciador automático.

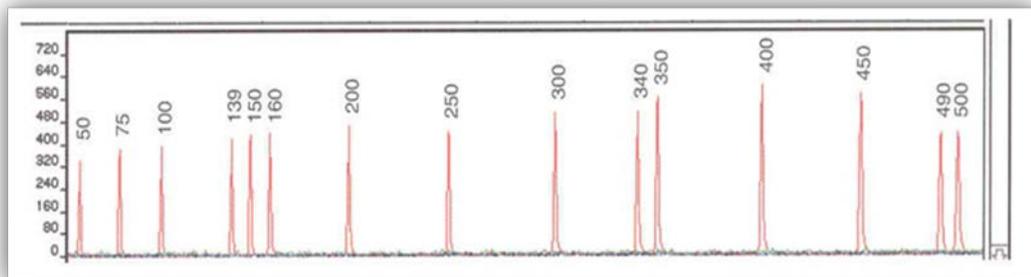


Figura 4. Patrón de fragmentos del estándar interno GS 350 y 500 ROX bajo condiciones de desnaturalización.

Adicionalmente, con el programa de análisis Genotyper®2.1, para cada fragmento encontrado se obtienen datos como altura de pico, un valor asignado a la calidad de pico y nombre de la categoría (rango de tamaño en el que oscila un los alelo especifico a través de todas muestras en que el alelo fue detectado) como se muestra en la Figura 5. Los datos generados con GeneMapper®2.1 (Figura 6) son extraídos en formato Excel para el siguiente paso en el análisis que corresponde al cálculo de las frecuencias alélicas.

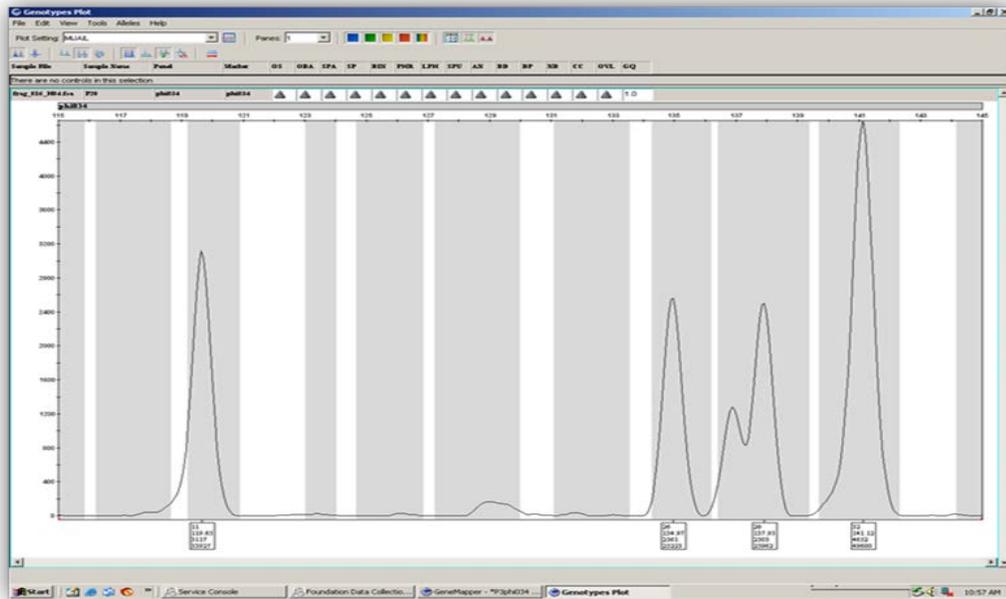


Figura 5. Gráfico del Software Genotyper®2.1

Las frecuencias alélicas de cada fragmento presente en cada muestra conjunta de ADN fueron calculadas con el programa Freqs-R (Franco *et al.*, 2007), de tal forma que el conjunto de los 15 individuos satisficieron las frecuencias alélicas y la heterocigosidad esperada bajo las condiciones de

equilibrio “Hardy-Weinberg”. Esta transformación es necesaria ya que diferentes programas para el análisis de diversidad no aceptan frecuencias alélicas de muestras conjuntas de ADN que pueden presentar múltiples alelos por locus.

The screenshot shows the GeneMapper software interface with a table of genotypes. The table has columns for Sample Name, Panel, Marker, Allele 1, Allele 2, Peak Area, Peak Area, Mutation, Mutation, and AEH Co. The data is as follows:

Sample Name	Panel	Marker	Allele 1	Allele 2	Peak Area	Peak Area	Mutation	Mutation	AEH Co
E019	Tutorial P:	D6S264	2		13874.0				GeneMa
E019	Tutorial P:	D6S1574	3		12432.0				GeneMa
E019	Tutorial P:	D6S276	2		9290.0				GeneMa
E019	Tutorial P:	D5S408	3		8366.0				GeneMa
E019	Tutorial P:	D6S308	2		6587.0				GeneMa
E019	Tutorial P:	D6S287	1	2	8136.0	5727.0			GeneMa
E019	Tutorial P:	D6S292	2	3	2413.0	1420.0			GeneMa
E019	Tutorial P:	D6S434	1	4	8593.0	5302.0			GeneMa
E019	Tutorial P:	D5S426	1	3	2114.0	1211.0			GeneMa
E019	Tutorial P:	D5S1981	1	3	4236.0	2537.0			GeneMa
E019	Tutorial P:	D6S257	1	2	3023.0	2218.0			GeneMa

Figura 6. Ilustración de una ventana del programa GeneMapper®2.1

Los datos de genotipos se procesaron mediante el paquete estadístico PowerMarker Versión3.25 (<http://statgen.ncsu.edu/powermarker/downloads.htm>) con el cual se estimaron los parámetros genéticos (Liu y Muse, 2005). La diversidad genética se evaluó a partir del número de alelos encontrados, los índices de diversidad genética que determinan el polimorfismo con base en la frecuencia de fragmentos amplificados, los análisis de varianza molecular interpoblacional e intrarracial (AMOVA), además del cálculo de las distancias genéticas usando la proporción de alelos compartidos entre cada par de poblaciones.

El programa DARwin 5.0 (<http://darwin.cirad.fr/darwin>) se utilizó para generar el análisis de componentes principales, asimismo, se realizó el dendrograma por el método Neighbor-Joining basado en la matriz de distancias genéticas obtenido con PowerMarker Versión 3.25, con el fin de obtener una estructura de las relaciones entre las 20 razas de maíces tropicales mexicanos.

3.9 Base de Datos

Con la colaboración del Banco de Germoplasma, del SIG (Sistemas de Información Geográfica) y del CRIL (Laboratorio de Informática de Investigación de Cultivos) del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), se creó la base de datos en el que se incluyen las variedades de maíces mexicanos de la región tropical de este estudio.

Datos agronómicos fueron tomados y complementados con los existentes del Banco de Germoplasma. Se hizo un record fotográfico de las mazorcas cosechadas (Figura 11). Toda la información fenotípica ha sido depositada en esta base de datos y cuyo link es el siguiente:

<http://apps.cimmyt.org/gis/agrobio/agrobio.html>

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El conocimiento de la diversidad genética dentro y entre razas de maíz es importante para las estrategias de conservación, caracterización y uso de las mismas en mejoramiento genético (Wen *et al.*, 2012).

Diferentes estudios con razas de maíces se han realizado mediante técnicas aplicadas a caracteres morfológicos (Goodman y Bird 1977; Cervantes *et al.*, 1978; Sánchez y Goodman 1992). Para determinar las interrelaciones y los grados de diversidad entre razas de maíz se han utilizado: isoenzimas (Doebley *et al.*, 1984; Bretting *et al.*, 1990; Pflügger *et al.*, 1996, Sánchez *et al.*, 2000), nudos cromosómicos (Kato, 1984) y marcadores de ADN (Matsuoka *et al.*, 2002; Labate *et al.*, 2003; Reif *et al.*, 2006; Vigoroux *et al.*, 2008, Sharma *et al.*, 2010 y Wen *et al.*, 2012, entre otros).

Doebley *et al.*, (1984) analizó el patrón de 13 isoenzimas en 94 accesiones que representaban 34 razas de maíz mexicano reportando una gran variación dentro (72%) y entre (27%) razas con una frecuencia de 7.09 alelos por locus. Sánchez *et al.*, (2000) estudió morfológicamente y por isoenzimas únicamente razas mexicanas de maíz, utilizando 209 accesiones de 59 razas encontró que más del 65% de los alelos encontrados en las colectas estudiadas eran raros en frecuencias menores a 0.01. Adicionalmente reportan que varias poblaciones tienen niveles bajos de diversidad y valores de diferenciación genética parecidos a especies autógamas. La mayoría de las accesiones con

niveles bajos de diversidad genética son variedades para usos especiales como palomitas de maíz, maíz dulce, el pozole, atole, pinole o tamales. Reif *et al.*, (2006) utilizó 25 marcadores SSR para caracterizar 25 accesiones de 24 razas mexicanas, confirmando la amplia base genética de las razas de maíz en México.

La importancia de este estudio radica en que al enfocarnos en razas mexicanas tropicales hemos utilizado un número mayor de accesiones por raza (Cuadro 6), comparado con los estudios anteriormente mencionados con razas y accesiones mexicanas. Así, los resultados en el presente estudio tienen una validez estadística más robusta ya que se utilizaron 15 individuos por accesión y desde 4 hasta 21 accesiones por raza de diferentes estados de la República.

Adicionalmente y ya que el potencial de los maíces nativos en programas de mejoramiento está condicionado a una gran diversidad genética dentro de los materiales y la presencia de características favorables específicas, cabe destacar que dentro de las razas que más se han utilizado en los programas de mejoramiento tropical y subtropical se encuentra la raza tropical Tuxpeño (Wen *et al.*, 2012), la cual fue incluida en este estudio con el fin de determinar su variabilidad genética y su relación con otras razas.

4.1 Análisis de Diversidad Genética

Utilizando 30 marcadores SSR se analizaron 196 poblaciones de maíz tropical mexicano, pertenecientes a 20 razas. Se detectó un total de 270 alelos en un rango de 3 a 21 alelos por locus, y con una media de 9 alelos por locus (Cuadro 8). Del total de alelos detectados, alrededor del 50% de ellos presentaron frecuencias menores del 5% y por lo tanto se les cataloga como alelos raros o de baja frecuencia.

Cuadro 8. Número de alelos detectados utilizando 30 marcadores SSR en 196 poblaciones de maíz tropical mexicano.

Marcador	No. de alelos	PIC*
nc133	5	0.61
phi008	4	0.36
phi029	7	0.56
phi034	10	0.71
phi056	10	0.74
phi063	21	0.76
phi065	9	0.68
phi075	21	0.69
phi076	7	0.54
phi079	8	0.74
phi084	7	0.55
phi090	7	0.27
phi102228	3	0.07
phi108411	6	0.41
phi109188	9	0.74
phi114	7	0.70
phi127	7	0.51
phi299852	15	0.71
phi374118	13	0.66
umc1161	11	0.71
umc1196	16	0.70
umc1266	8	0.41
umc1304	7	0.31
umc1332	13	0.71
umc1367	6	0.53
umc1447	5	0.57
umc1545	8	0.66
umc1917	7	0.49
umc2047	4	0.54
umc2250	9	0.35
Media	9	0.57
Total	270	

*PIC: Contenido de Información Polimórfica

Los alelos raros son productos evolutivos heredados que pueden conferir capacidades de supervivencia a la población después de una contingencia ambiental (Bengtsson *et al.*, 1995; Schonewald-Cox *et al.*, 1983). Alelos de baja frecuencia han sido reportados en varios estudios, por ejemplo por Smith (1996) reportó 8 alelos raros de 56 alelos (14%) en 49 poblaciones de polinización libre del complejo racial dentado de la faja maicera; Revilla y Tracy (1995) reportaron 13 alelos raros de 60 alelos (22%) en poblaciones de maíz dulce. Santacruz-Varela *et al.* (2004) observaron cinco de 58 alelos (8%) en maíces palomeros. Sánchez *et al.* (2000) para 59 razas con 209 accesiones de México reportó que de 303 alelos, 194 fueron alelos raros (64%). Los resultados indican que la diferencia en el número de alelos raros encontrados depende de la naturaleza misma y número de las accesiones estudiadas, así como del número de marcadores utilizados.

El Contenido de Información Polimórfica (PIC) calculado para un marcador puede variar entre 0 y 1, indicando mayor nivel de polimorfismo o variación cuando el valor es más cercano a 1 (Mathias *et al.*, 2006).

El valor del PIC de las muestras analizadas (Cuadro 8), osciló en un rango de 0.07 y 0.76, con un promedio de 0.57, similar al reportado por Senior *et al.* (1998) que encontró un valor promedio de 0.59 en estudios de SSR con 94 variedades de maíz templado Estadounidense. Sharma *et al.*, (2010), reportan valores de PIC de 0.60 en el estudio realizado con 42 marcadores SSR en 48 accesiones de la región noreste del Himalaya en India. Los valores de

PIC encontrados en el presente estudio sugieren el carácter heterocigoto y heterogéneo en las poblaciones analizadas.

Los marcadores en estudios de diversidad son utilizados para la identificación de alelos por locus, la obtención de datos poblacionales y el cálculo de las frecuencias alélicas. De esta manera podemos estimar las distancias genéticas entre poblaciones o entre individuos (Bowcock *et al.*, 1994, Ponsuksili *et al.*, 1999).

Mediante el paquete estadístico PowerMarker Versión 3.25 se estimó el promedio del número de alelos por locus dentro de las 196 accesiones de maíz tropical mexicano el cual fue de 9 alelos por locus utilizando 30 marcadores tipo SSR (Cuadro 8). Igualmente al determinar los alelos por locus dentro de las 20 razas se encontraron 9 alelos por locus (Cuadro 9). Reif *et al.*, (2006) reportó 7.84 alelos por locus dentro de 25 accesiones de maíces de México de diferentes adaptaciones (valles altos, trópico y sub-trópico) y utilizando 25 SSRs. Labate *et al.*, (2003) encontró 6.5 alelos por locus utilizando 20 SSRs en 57 accesiones que representan los dentados del cinturón de maíz estadounidense (Corn-Belt Dents), cristalinos del norte (Northern Flints) y dentados del sur (Southern Dents). Sharma *et al.*, (2010) es quien ha reportado, hasta donde se tiene conocimiento, los valores más altos de alelos por locus, 13, al estudiar accesiones de la región de la India del estado de Sikkim. Estudios realizados de germoplasma en la ex-Yugoslavia reportaron sólo 2.55 alelos por locus al utilizar 25 marcadores SSR en tan sólo 21 poblaciones (Ignjatović-Micić *et al.*, 2008).

El número de alelos reportados depende tanto del tipo de marcador molecular que se usa para el estudio como del tamaño de muestra, las accesiones seleccionadas y los individuos seleccionados para representar cada accesión (Reif *et al.*, 2006). Las diferencias entre estudios incrementan especialmente si se usan marcadores de carácter dinucleótido como los SSR, que tienen una alta tasa de mutación (Vigouroux *et al.*, 2002; Xia *et al.*, 2004).

Cuadro 9. Número de alelos encontrados por locus y diversidad genética en 20 razas de maíz tropical mexicano.

Raza	Tamaño de muestra (en individuos)	Alelos encontrados por locus	Diversidad genética Desviación Estándar ±
Blando de Sonora	135	5.40	0.56 ± 0.04
Bofo	120	5.50	0.56 ± 0.05
Conejo	195	5.87	0.54 ± 0.04
Dulcillo del Noroeste	135	5.33	0.56 ± 0.05
Dzit-Bacal	60	4.13	0.50 ± 0.04
Elotes Occidentales	90	4.87	0.54 ± 0.05
Harinoso de Ocho	165	5.63	0.57 ± 0.04
Jala	75	4.50	0.48 ± 0.05
Nal-Tel	75	4.17	0.47 ± 0.04
Olotillo	270	6.70	0.54 ± 0.05
Onaveño	120	5.60	0.58 ± 0.03
Reventador	150	5.57	0.57 ± 0.05
Tabloncillo	180	5.77	0.57 ± 0.04
Tabloncillo Perla	165	5.53	0.56 ± 0.06
Tehua	60	3.77	0.46 ± 0.05
Tepecintle	270	6.27	0.53 ± 0.05
Tuxpeño	315	6.67	0.53 ± 0.04
Vandeño	180	5.87	0.50 ± 0.05
Zapalote Chico	120	5.07	0.51 ± 0.04
Zapalote Grande	60	4.43	0.51 ± 0.04
<i>Promedio</i>		9.00	0.57±0.17

La diversidad genética o heterocigosidad esperada es la estimación de la variabilidad genética en la población en estudio, y se define como la

probabilidad de que, en un locus único, cualquier par de alelos, escogidos al azar de la población, sean diferentes entre sí, y se calcula usando las frecuencias alélicas.

La diversidad genética promedio de las 20 razas de maíz tropical mexicano en este trabajo fue de 0.57 a través de todas las accesiones (Cuadro 9). Los mayores índices encontrados fueron en las razas Onaveño (0.58 ± 0.03), Harinoso de Ocho (0.57 ± 0.04), Reventador (0.57 ± 0.05), Tabloncillo (0.57 ± 0.04), Blando de Sonora (0.56 ± 0.04), Bofo (0.56 ± 0.05) y Dulcillo del Noroeste (0.56 ± 0.05), y el menor índice para la raza Tehua (0.46 ± 0.05) (Cuadro 9). Labate *et al.*, (2003) encontró un promedio de diversidad genética de 0.53 en 57 accesiones de Estados Unidos de América. Fukunaga *et al.*, (2005) reportó una diversidad genética en un rango de 0.65 a 0.89 utilizando 93 marcadores moleculares con 237 individuos, para todos los taxones de teocintle. Reif *et al.* (2006) reporta 0.61 de diversidad genética con 24 razas mexicanas de maíz, con lo que confirma la amplia base genética de las razas de maíz de las diferentes adaptaciones geográficas que analizaron en ese estudio. Camus-Kulandaivelu *et al.*, (2006) utilizando 55 SSR con 375 líneas obtuvo una diversidad genética de 0.61. Warburton *et al.*, (2008) utilizó 25 SSR para caracterizar 497 individuos de 23 variedades de maíz criollo de México y 672 individuos de 23 OPVs adaptadas a zonas tropicales, subtropicales y templadas con una diversidad genética de 0.61, asimismo trabajó con 261 CML con materiales tropicales, subtropicales y de altitud media con 0.65.

Los índices de diversidad dentro de cada raza en el estudio de Reif *et al.*, (2006) y el presente estudio difieren notoriamente. Jala (0.52), Olotón (0.53) y Zapalote Chico (0.53) fueron las razas con mayor índice de diversidad en el estudio de Reif, mientras que en este estudio Jala presenta un índice de diversidad con valores relativamente bajos con respecto a otras razas (0.48) y Zapalote Chico tiene un índice un poco mayor con un valor de 0.51. La raza Olotón no estuvo representada en las accesiones estudiadas aquí. Los valores bajos en los índices de diversidad para Jala y Zapalote Chico en el presente estudio, a pesar de que se analizaron un mayor número de accesiones por raza y 15 individuos por accesión, comparado con Reif *et al.*, (2006) podría ser por las características o diseño de cada estudio o por el total de accesiones estudiadas. Es decir, en el estudio de Reif *et al.*, (2006) la comparación de diversidad genética se realiza entre razas provenientes de un rango mayor de adaptabilidad (valles altos, alturas intermedias y trópico), favoreciendo así la diferenciación genética entre ellas lo cual se refleja en mayores índices de diversidad dentro de cada raza; mientras que en este estudio las comparaciones realizadas corresponden a razas de maíz de adaptación restringida (trópico y de alturas bajas-intermedias). Se han usado los patrones de distribución espacial para definir a las especies “raras” como aquellas que presentan una distribución espacial restringida y en éstas enfocar los esfuerzos de conservación (Rabinowitz, 1981; Kunin y Gaston, 1993), cabe mencionar que la raza Jala es la que está presentado una menor diversidad genética en este estudio y puede deberse según la anterior referencia a que sólo se adapta

a su zona de distribución que como su nombre lo indica es el Valle del Jala en Nayarit, asimismo, esta raza está en peligro de extinción (Ortega, 2003).

La diversidad genética es la materia prima para la evolución, ya que de ella depende tanto la adaptación como la especiación. Los niveles altos de diversidad pueden dar la habilidad para responder a enfermedades, parásitos, depredadores y cambios ambientales (Hedrick, 2001). La diversidad genética del germoplasma del maíz y en especial la diversidad encontrada en este trabajo sólo usando maíces de adaptación tropical, justifica emprender estudios más amplios, asociados a características de rusticidad de las plantas, tolerancia a enfermedades, alto rendimiento y calidades industriales y nutricionales. Iniciativas como el Proyecto Latinoamericano de Maiz (LAMP, por sus siglas en inglés) en los noventas y la iniciativa de Descubriendo la diversidad genética de la semilla (SeeD, por sus siglas en inglés) recientemente iniciada por MasAgro (Castillo y Goodman, 1989; Pollak, 1993; LAMP, 1991; www.masagro-cimmyt) están explorando y caracterizando la diversidad en maíz. La variabilidad genética es esencial para los programas de mejoramiento continuo de muchas especies cultivadas y una fuente potencial es el uso de germoplasma exótico o inadaptado (Oyervides *et al.*, 1985). Las regiones tropicales son únicas en diversidad de formas complejas en áreas relativamente pequeñas y contiguas, esto hace que exista mayor segregación, expresión genética, adaptaciones específicas, alta variabilidad y rapidez en el hallazgo de formas nuevas (Cardona, 2010).

4.2 Análisis de Distancias Genéticas

La distancia genética puede definirse como la diferencia entre dos entidades que puede ser descrita por la variación alélica (Nei, 1973), o más ampliamente como la medida cuantitativa de diferenciación genética ya sea a nivel de secuencia o de frecuencias alélicas que se calcula entre individuos, poblaciones o especies (Beaumont *et al.*, 1998).

Matsuoka *et al.*, (2002) menciona que la distribución de la diversidad genética presenta un patrón de aislamiento por distancia; esto es, poblaciones más cercanas se parecen más entre sí que poblaciones más lejanas. En este trabajo, el análisis de distancias genéticas entre razas se basó en la distancia genética de proporción de alelos compartidos en donde se encontraron las mayores distancias genéticas de 0.38, que fueron para las razas Dulcillo del Noroeste y Tehua (Cuadro 10). Estas distancias podrían ser el reflejo tanto de procesos y tiempos evolutivos diferentes así como de factores geográficos. La raza Tehua está clasificada dentro de las razas mestizas prehistóricas y la Dulcillo del Noreste está en el grupo de las razas no bien definidas, es decir, Dulcillo es una raza más moderna (Ortega *et al.*, 2011), además de que pertenecen a diferentes áreas de distribución geográfica dentro de la República Mexicana.

Las menores distancias genéticas obtenidas fueron para las razas Olotillo y Tepecintle con 0.10. En este caso, los factores evolutivos y geográficos están también presentes ya que estas razas pertenecen al grupo de las Razas Mestizas Prehistóricas y cada una de éstas son producto de la hibridación de un

maíz Harinoso y del Teocintle (Wellhausen *et al.*, 1951). La raza Olotillo se encuentra distribuida principalmente en la depresión central de Chiapas y parte baja del Valle del Balsas; y la raza Tepecintle ocupa un lugar en las partes tropicales de Oaxaca y Chiapas (Ortega *et al.*, 1991).

Cuadro 10. Análisis de distancias genéticas basado en la distancia genética de proporción de alelos compartidos para 30 SSRs.

		Razas de maíz en México*																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
Razas de maíz en México*	2	0.17																			
	3	0.20	0.20																		
	4	0.21	0.20	0.25																	
	5	0.27	0.24	0.18	0.30																
	6	0.24	0.18	0.16	0.25	0.19															
	7	0.16	0.15	0.18	0.18	0.25	0.19														
	8	0.23	0.23	0.17	0.30	0.19	0.19	0.24													
	9	0.26	0.25	0.19	0.32	0.17	0.21	0.26	0.18												
	10	0.23	0.20	0.13	0.29	0.16	0.18	0.21	0.16	0.16											
	11	0.15	0.16	0.19	0.20	0.24	0.20	0.15	0.23	0.25	0.21										
	12	0.18	0.17	0.19	0.19	0.26	0.19	0.15	0.25	0.29	0.23	0.16									
	13	0.17	0.14	0.17	0.18	0.21	0.17	0.13	0.22	0.23	0.19	0.13	0.15								
	14	0.18	0.14	0.18	0.18	0.23	0.16	0.13	0.22	0.24	0.19	0.15	0.14	0.11							
	15	0.32	0.31	0.24	0.38	0.21	0.26	0.32	0.21	0.19	0.22	0.31	0.34	0.28	0.31						
	16	0.22	0.20	0.13	0.28	0.14	0.17	0.20	0.15	0.15	0.10	0.20	0.23	0.18	0.20	0.21					
	17	0.22	0.21	0.15	0.28	0.15	0.18	0.21	0.14	0.17	0.11	0.20	0.23	0.19	0.21	0.20	0.11				
	18	0.21	0.21	0.15	0.29	0.18	0.19	0.22	0.13	0.16	0.13	0.22	0.24	0.20	0.21	0.20	0.12	0.11			
	19	0.26	0.24	0.18	0.31	0.21	0.21	0.24	0.22	0.21	0.17	0.25	0.27	0.22	0.24	0.25	0.16	0.18	0.19		
	20	0.27	0.25	0.20	0.29	0.18	0.18	0.24	0.21	0.20	0.18	0.25	0.25	0.21	0.23	0.24	0.17	0.18	0.19	0.16	

* Blando de Sonora	1	Mayor distancia genética	0.38	Razas: Dulcillo del Noroeste y Tehua
* Bofo	2	Menor distancia genética	0.10	Razas: Olotillo y Tepecintle
* Conejo	3			
* Dulcillo del Noroeste	4			
* Dzit-Bacal	5			
* Elotes Occidentales	6			
* Harinoso de Ocho	7			
* Jala	8			
* Nal-Tel	9			
* Olotillo	10			
* Onaveño	11			
* Reventador	12			
* Tabloncillo	13			
* Tabloncillo Perla	14			
* Tehua	15			
* Tepecintle	16			
* Tuxpeño	17			
* Vandeño	18			
* Zapalote Chico	19			
* Zapalote Grande	20			

Wellhausen *et al.*, (1951) menciona que la raza Tuxpeño es básicamente producto de la hibridación del Olotillo y el Tepecintle, lo cual podemos observar con el apoyo de las distancias genéticas (0.11). Cabe mencionar que Tuxpeño y Vandeño son dos razas agronómicamente importantes y se cultivan en regiones de altitud media y baja (Sánchez *et al.*, 1992).

La raza Tuxpeño se caracteriza por su grano dentado (blanco o amarillo) y mazorcas de tipo cilíndrico (Figura 10), además destaca por ser el maíz nativo mexicano de más amplia adaptabilidad, encontrándose en 19 tipos climáticos diferentes (Ruiz *et al.*, 2008). Su productividad *per se*, tipo de planta y resistencia a sequía y enfermedades también han sido destacados como atributos positivos en programas de mejoramiento (Wei *et al.*, 2012). Pese a que se ha utilizado ampliamente, estudios genéticos recientes (Wei *et al.*, 2012) han demostrado que al menos en uno de los programas de mejoramiento de maíz de mayor impacto mundial, como lo es el de CIMMYT, existe gran diversidad genética de esta raza que aún no se ha explotado. Este estudio comprueba la diversidad genética de Tuxpeño (0.53, Cuadro 9; AMOVA Cuadro 16) y ratifica lo reportado por Wei *et al.*, (2012), que no sólo dentro de los Tuxpeños mexicanos sino también en introducciones latinoamericanas (Brasil, Ecuador, Guatemala y Venezuela), existe un gran potencial para el uso de este maíz nativo en los programas de mejoramiento.

4.3 Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)

El análisis de las relaciones entre poblaciones de una especie de interés , como en nuestro caso es el maíz, es un componente importante en los programas de mejoramiento ya que proporciona información acerca de la diversidad genética de las poblaciones (Mohammadi y Prasanna, 2003), aunque las distancias genéticas y los índices de diversidad analizadas en la secciones anteriores, pueden dar una idea de la variabilidad presente en un conjunto de germoplasma, también es interesante conocer como está distribuida y/o estructurada esta diversidad genética, lo anterior es posible mediante el análisis de varianza molecular que evalúa la distribución de la diversidad genética dentro y entre grupos de razas o poblaciones, aplicándose a diferentes niveles jerárquicos (Excoffier *et al.*, 1992).

En el presente estudio para evaluar la distribución de la diversidad genética entre y dentro de razas se realizó el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), en donde se encontró mayor variabilidad entre razas (23.18) que dentro de cada raza (máximo 8.72 y mínimo 0.99; Cuadro 11). Así, de acuerdo con los resultados obtenidos, se puede afirmar que en las razas tropicales analizadas se está perdiendo variabilidad genética intrarracial en razas como Jala, Zapalote Grande y Nal-Tel, con porcentajes de variación de 0.99, 1.06 y 1.17 respectivamente. Según Brush (1995) las poblaciones locales de los cultivos adaptadas a condiciones óptimas son particularmente vulnerables a desaparecer. Esto es lo que está sucediendo en el caso de México, en los últimos 50 años se registran importantes pérdidas de la diversidad en razas de

ciclo corto como Nal-Tel, en razas extremadamente tardías como Tehua y Jala, y maíces de usos especiales (Ortega, 2003). En las estadísticas de la CONABIO (2010), existen tan sólo 7 registros de la raza Jala en las colecciones del 2006 al 2010 y una de las posibles causas de su baja presencia es que junto con la raza Tehua, son de ciclo tardío, el cual no es favorable para los agricultores. Nal-Tel por su parte es una raza de ciclo muy corto, lo cual también es una característica desfavorable para los agricultores. De esta raza se reportan en la CONABIO (2006-2010) 35 registros para Nal-Tel.

Las razas Jala y Nal-Tel también forman parte de los maíces de usos especiales por ejemplo, Jala se utiliza para elotes, pozole, gorditas de horno y la raza Nal-Tel para elotes y la elaboración de atole (Hernández, 1972 y Ortega 2003). Los maíces para usos especiales tienen problemas para su conservación, por una parte, los agricultores los siembran para autoconsumo en muy pequeñas superficies, aledañas a las de sus maíces principales, y cuesta mucho trabajo mantenerlos porque se cruzan mucho con las poblaciones principales.

La “erosión genética” es la pérdida de genes en un acervo genético a causa de la eliminación de poblaciones por factores como la adopción de variedades modernas y el desmonte de tierras con vegetación (Plucknett *et al.*, 1992). Un caso que destaca es la raza Jala. Como se observa en el Cuadro 11, el porcentaje de variación intrarracial es el más bajo (0.99).

La mazorca de la raza Jala ha sido reconocida mundialmente como la de mayor tamaño, hasta 60 cm de longitud; sin embargo, su planta es de gran altura, con más de 5 m (Rice *et al.*, 2006). En los últimos años ha sufrido “erosión genética” que le ha provocado reducción en su longitud de mazorca y cambio en tipo de grano y mazorca; en consecuencia, su aprovechamiento se ha reducido a tal grado que actualmente se cultivan alrededor de 30 ha anuales, ya que estos maíces son muy específicos para ciertas regiones como es el caso del Valle del Jala, Nayarit (Aguilar *et al.*, 2006).

Cuadro 11. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de 30 SSRs en 196 poblaciones mexicanas de maíz tropical según la clasificación racial.

Fuentes de Variación	% de Variación
Entre Razas	23.18
Blando de Sonora	4.14
Bofo	3.25
Conejo	5.60
Dulcillo del Noroeste	4.57
Dzit-Bacal	1.27
Elotes Occidentales	1.96
Harinoso de Ocho	4.71
Jala	0.99
Nal-Tel	1.17
Olotillo	7.22
Onaveño	3.03
Reventador	5.09
Tabloncillo	4.45
Tabloncillo Perla	3.46
Tehua	1.95
Tepecintle	8.72
Tuxpeño	7.25
Vandeño	4.57
Zapalote Chico	2.36
Zapalote Grande	1.06
Total	100

En el Cuadro 11 destacan las razas Tuxpeño, Tepecintle y Olotillo por su mayor diversidad intrarracial, siendo el porcentaje de variación de 7.25, 8.72 y 7.22, respectivamente. Adicionalmente estas razas están dentro de las razas con mayor número de registros en la CONABIO (2006-2010), reflejando una amplia distribución de las mismas y que en principio no están en vías de desaparición. En términos de conservación es importante resaltar que no sólo se debe conservar la raza en sí, sino la variabilidad y distribución amplia de la misma (Lazos y Chauvet, 2012).

Dado el número de individuos por accesión (15), el número de accesiones por raza (promedio y el número de razas utilizadas en este estudio, el análisis de AMOVA es bastante robusto para representar la variabilidad genética dentro y entre razas. Cabe destacar que este estudio se hizo con marcadores SSR que al ser marcadores genéticos y no enzimáticos tienen un poder de resolución y estabilidad mucho mayor. Este estudio demuestra mayor variabilidad entre las razas que dentro de razas (Cuadro 11). Adicionalmente cabe destacar que este estudio se hizo con marcadores SSR que al ser marcadores genéticos y no enzimáticos tienen un poder de resolución y estabilidad mucho mayor. De hecho la correlación entre estudios con isoenzimas y SSR es muy baja ($r= 0.17-0.4$) (Reif *et al.*, 2006). Lo anterior explica la discrepancia con los estudios de Sánchez *et al.*, (2000) en cuanto a la variabilidad entre y dentro de razas.

4.4 Análisis de Componentes Principales (ACP)

Las asociaciones entre los maíces tropicales mexicanos aquí estudiados fueron analizadas mediante el Análisis de Componentes Principales (Figura 7). Los componentes deben ser interpretados independientemente unos de otros, ya que contienen una parte de la varianza que no está expresada en otro componente principal (Pla, 1986; López e Hidalgo, 1994a). El Análisis de Componentes Principales es una herramienta útil para analizar los datos que se generan de la caracterización y evaluación preliminar de germoplasma, para saber cómo se distribuyen las accesiones, cuáles se parecen y cuáles no (Franco e Hidalgo, 2003).

Ortega *et al.*, (2003) menciona que tanto las razas como sus agrupamientos tienden a ocupar un área ecológica específica; y Brush *et al.*, (2007) ratifica que las diferencias ambientales parecen dirigir los patrones generales de la diversidad de maíz. De ahí la importancia de la información ecogeográfica donde se hacen las colectas para sugerir otros sitios en los cuales dicho germoplasma o germoplasma derivado de razas nativas se pueda adaptar cuando se piensa usar en programas de mejoramiento genético. Una de las necesidades de la investigación es la determinación confiable de la distribución geográfica de los recursos fitogenéticos, así como la cuantificación o la estimación de la diversidad de especies y la abundancia de cada especie por región geográfica o agroecológica (Sánchez y Ruiz 1995).

McClintock (1978) y Kato (1984) proponen tres posibles rutas de diversificación del maíz: 1) El occidente de México y el territorio sur de

Mesoamérica (Oaxaca, Chiapas, Guatemala hasta Sonora); 2) El Centro de México hasta el Norte y 3) La Costa Oriental del Golfo de México, de acuerdo a la distribución del Tuxpeño. De esta manera, estableciéndose zonas geográficas específicas para el cultivo de las razas de maíz. Goodman y Brown (1988), mencionan la distribución de las razas de maíz en una escala regional en tres grupos: 1) Razas que tienen mazorcas largas y angostas, y se encuentra en el Noroeste de México y Estados Unidos; 2) Agrupamiento de las razas de mazorca cónica, encontradas en México en elevaciones altas y 3) Mazorcas largas y pequeñas que se encuentran en tierras bajas, ya sea a lo largo de la costa Atlántica o la del Pacífico. Recientemente, Ortega (2003) menciona tres grupos: el grupo 1, tiene como principal área de adaptación las partes altas del centro y norte del país, con excepción de Maíz Dulce; el grupo 2, alturas intermedias de temporal y costas semiáridas de riego; el grupo 3, los maíces nativos de las partes intermedias y altas del sur de México así como los cilíndricos tropicales. Los estudios mencionados aunque guardan algunas discrepancias con algunas razas como por ejemplo Jala, Harinoso de Ocho y Maíz Dulce siguen conservando la premisa que las diferencias ambientales rigen los patrones generales de la diversidad de las razas de maíz.

Las áreas geográficas que denotan áreas ecológicas específicas y/o singulares para las razas de maíz también es evidente en el presente estudio, como se observa en la Figura 8, la diversidad genética y las relaciones de los maíces tropicales están relacionadas con 3 áreas ecológicas según su ubicación geográfica dentro de la República Mexicana como: Maíces del Golfo

de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán (A), Maíces de la Zona Noroeste y Occidente (B) y Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas (C).

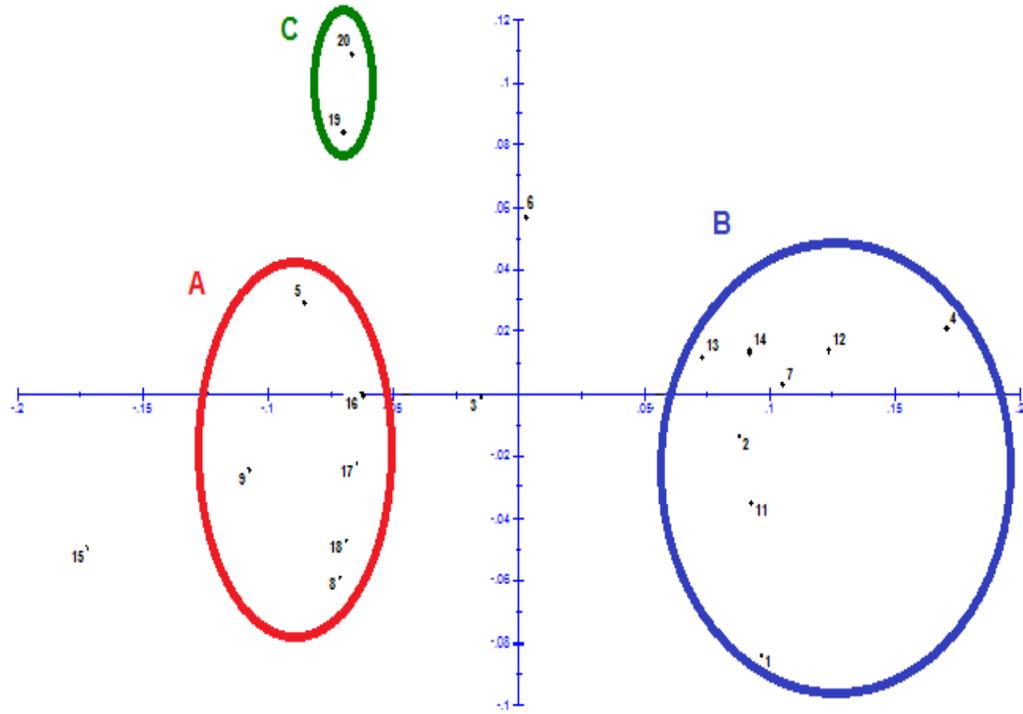


Figura 7. Componentes Principales de 20 razas de maíz tropical mexicano. Se identifica el grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán” con color rojo, con color azul el grupo B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente” y el grupo C “Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” identificado con color verde.

En el área ecológica del grupo A denominada como “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán”, se identifican las razas Jala (8), Nal-Tel (9), Olotillo (10), Tepecintle (16), Tuxpeño (17), Vandeño (18) y la sub-raza Dzit-Bacal (5) como se observa en la Figura 7. La raza Jala (8) en su forma pura, rara vez se encuentra fuera del pequeño valle que está en la parte sur de Nayarit, a una altitud de 1000 m y aparentemente reúne una combinación de

factores ambientales tales como suelos fértiles, humedad abundante y temperaturas relativamente elevadas, especialmente favorables para las demandas precisas de este maíz alto y muy tardío. Ocasionalmente se puede encontrar en el Lago de Chapala cerca de Guadalajara, Jal., donde la altitud es aproximadamente de 1500 m y las condiciones ambientales son similares a la del Valle del Jala (Wellhausen *et al.*, 1951). Por su parte, la raza Nal-Tel (9) se encuentra distribuida en la Península de Yucatán, asimismo, la sub-raza Dzit-Bacal (5) (Ortega *et al.*, 1991). Nal-Tel (9) ha sido identificada a una altura de 100 msnm, según la accesión Yucatán 7 (Reif *et al.*, 2006). Dentro de este componente identificamos también algunas razas distribuidas en la parte del Pacífico Sur: Olotillo (10), Tepecintle (16), Tuxpeño (17) y Vandeño (18). La raza Olotillo (10) se ubica en la depresión central de Chiapas y parte baja del Valle del Balsas a una altura de 300 a 700 msnm. La raza Tepecintle (16) se encuentra ubicada en las partes tropicales de Oaxaca y Chiapas a una altura aproximadamente de 0 a 600 msnm (Reif *et al.*, 2006). Vandeño (18) es una raza en peligro de extinción (Ortega, 2003), se encuentra distribuida en las costas del Pacífico de Michoacán a Chiapas (Ortega *et al.*, 1991). Wellhausen *et al.*, (1951) reportaron que el maíz tropical de la raza Tuxpeño (17) cultivado extensamente es la raza más importante de la costa del Golfo de México, desde el nivel del mar hasta los 500 m de altura, a lo largo de las regiones costeras desde Yucatán hasta el nordeste de México. Muchas de las variedades del norte de Sonora, Chihuahua y Coahuila, a elevaciones de 500 a 100 m muestran una fuerte influencia genética del Tuxpeño. Adicionalmente, Ortega *et al.*, (1991) hace referencia a que esta raza se encuentra distribuida en partes

tropicales de Tamaulipas y Nayarit hasta Chiapas y la Península de Yucatán, generalmente en suelos bajo roturación.

El grupo B, comprende las razas Blandito de Sonora (1), Bofo (2), Dulcillo del Noroeste (4), Harinoso de Ocho (7), Onaveño (11), Reventador (12), Tabloncillo (13) y Tabloncillo Perla (14), y se le da el nombre de “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente”. La raza Blandito de Sonora (1) se encuentra distribuida en los estados de Sonora, Sinaloa y Nayarit. El maíz Reventador está distribuido de Nayarit a Sonora y Baja California (Ortega *et al.*, 1991) adaptada a altitudes medianas de 0 a 1500 m y se menciona que se ha encontrado en la misma área general del Tabloncillo (Wellhausen *et al.*, 1951). La raza Onaveño (11) se distribuye en los estados de Sinaloa, Sonora y Baja California y el Tabloncillo (13) se encuentra a alturas intermedias en Jalisco (Ortega *et al.*, 1991) a altitudes de 0 a 1500 msnm (Wellhausen *et al.*, 1951). Bofo (2), perteneciente a las razas nuevas, se distribuye en la Sierra Madre Occidental, en la escarpa oriental, a alturas entre 1000 a 1500 m en Nayarit y Durango ((Hernández y Alanís, 1970). El Harinoso de Ocho (7), raza que se ha encontrado en forma más o menos pura únicamente en tres localidades de la costa del Pacífico a una altitud de 100 m; específicamente, el Valle del Yaqui y Ures en el estado de Sonora y el Ejido de San Vicente en el norte de Nayarit. Encuentra su mejor adaptación en el trópico seco y a pesar de que ya no se encuentra con frecuencia en su forma original existe una representación en las variedades eloteras del oeste de México (Wellhausen *et al.*, 1951). Colectas realizadas por Ortega *et al.*, (2011) han confirmado la prevalencia en el

norroeste de México de las razas: Harinoso de Ocho, los Tabloncillos, Dulcillo del Noroeste, Blando de Sonora y Onaveño.

La tercer área ecológica es la que comprende el grupo C “Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” que está conformado por las razas Zapalote Chico (19) y Zapalote Grande (20), las cuales pertenecen a las razas mestizas prehistóricas. El Zapalote Chico es relativamente abundante en las tierras bajas de las costas de Oaxaca y Chiapas, a altitudes más o menos de 100 metros, asimismo, el Zapalote Grande se encuentra distribuido en las mismas regiones generales que el Zapalote Chico, pero tiende a adaptarse en lugares ligeramente más altos (Wellhausen *et al.*, 1951). Zapalote Chico y Zapalote Grande son dos razas muy parecidas (distancia genética 0.16, ver Cuadro 10) que difieren en el tamaño de la mazorca y de la planta y son muy comunes en Oaxaca y Chiapas. Se han encontrado ejemplares en las regiones Centro y de la región de Frailesca, además de colectas en las zonas costeras del Istmo de Tehuantepec y el Soconusco, y otros pocos en la región Fronteriza (Perales *et al.*, 2003b). Escasea en la costa del Pacífico, donde aparece en algunas poblaciones de otras razas (Kato, 2005). El uso de los Zapalotes se ha reportado desde hace mas de 50 años tanto para grano como para forraje (Lazos and Chauvet, 2012). Aragón *et al.* (2006) y la base de datos de la CONABIO confirman la presencia de Zapalote Chico y Grande en Oaxaca en las colectas realizadas en la última década. En Tabasco y Veracruz también se encontraron Zapalotes Grandes en las últimas colectas. El Zapalote Grande es preferido por los agricultores dado su rendimiento y características del ciclo y el

grano lo utilizan tanto para tortilla como para nixtamal (Lazos and Chauvet, 2012).

Para López *et al.* (2005) el centro de distribución del Zapalote Chico se encuentra en el Istmo de Tehuantepec (tierras bajas costeras de Oaxaca y Chiapas, México. En este ACP se puede confirmar que las razas del área ecológica C se encuentran formando un sólo grupo por su zona de adaptación ya que están dentro de una microrregión del trópico húmedo.

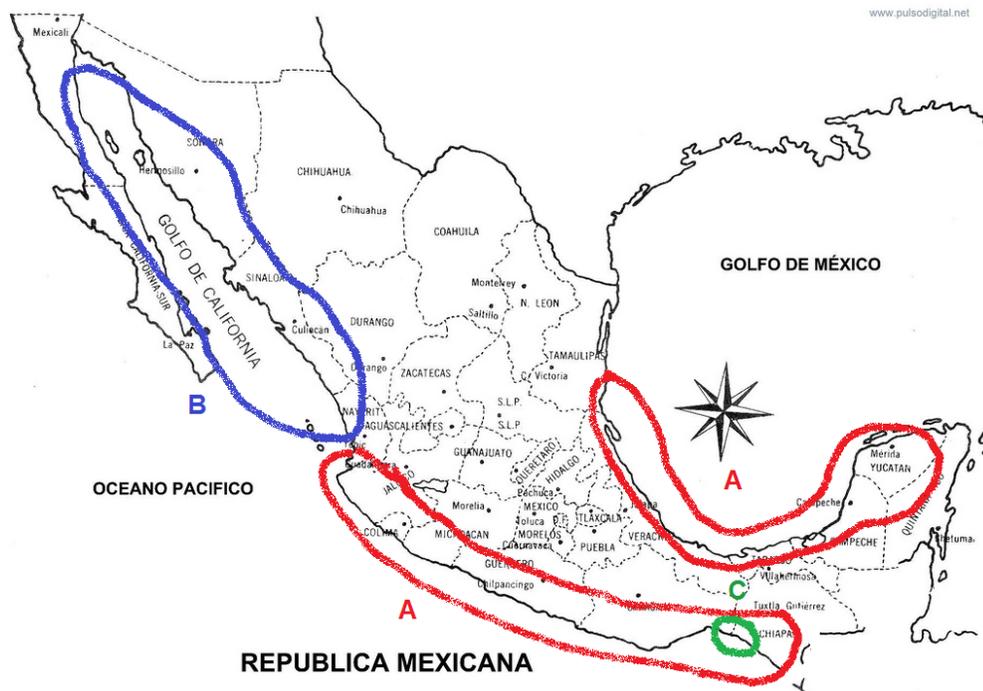


Figura 8. Áreas ecológicas de razas mexicanas de maíces tropicales, con color rojo se identifica el grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán”, con color azul el grupo B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente” y el grupo C “Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” identificado con color verde.

En el presente ACP (Figura 7) se observa que las razas Conejo (3), Tehua (15) y Elotes Occidentales (6) no se agruparon en ninguna de las tres áreas ecológicas anteriormente descritas.

Conejo (3), es una de las razas clasificadas por Wellhausen *et al.*, 1951 como raza bien definida, su distribución es en las costas y tierra caliente de Michoacán a Oaxaca en tierras poco fértiles (Ortega *et al.*, 1991). La raza Conejo es una raza de ciclo corto y se encuentra a elevaciones aproximadas de 200 a 350 m. Uno de sus progenitores es - Nal-Tel, y es probable que el otro progenitor sea el Tabloncillo pero aún no está bien determinado (Wellhausen *et al.*, 1951). Jiménez (2011) observó en el municipio de Cualac, Guerrero, poblaciones con menor frecuencia entre los productores de la raza Conejo. En el estado de Oaxaca su área de distribución se localiza en la región de la Costa, en las comunidades de San Pedro Jicayán, Pinotepa de Don Luis y Tataltepec de Valdéz en donde sólo se tienen cinco colectas de esta raza, de las cuales dos se consideran como raza pura. Su precocidad representa una alternativa para los agricultores que desean cosechas rápidas para el autoconsumo. Algunos productores le dan el reconocimiento como “maíz de pobres” (Aragón *et al.*, 2005). La poca frecuencia de esta raza y su especificidad debido a su distribución restringida podría ser una razón para que no agrupe en las zonas ecológicas definidas, sin embargo, este hecho podría ser indicativo de una fuente de alelos únicos y/o raros que no están presentes en los complejos mencionados. Sin embargo la sugerencia de pertenencia a alguno de ellos no es directa pues aún no se determina con seguridad uno de sus progenitores.

La raza Tehua (15) únicamente se ha encontrado en el estado de Chiapas, en los alrededores de Zapotal, Potrerillo, Comalapa, Avispero y Finca Prusia, a altitudes de 600 a 100 m, cerca de los límites con Guatemala (Wellhausen *et al.*, 1951). Ortega *et al.*, (1991) menciona que el Tehua se encuentra en la depresión central de Chiapas. Perales *et al.*, (2003b) hace referencia que esta raza es de clima cálido y desde el punto de vista biogeográfico existe la posibilidad de que sea nativa de Chiapas y de las únicas razas endémicas de ese estado. En Chiapas, existe un importante desplazamiento de variedades nativas por la presencia de híbridos en sitios con alta productividad; es posible que la raza Tehua este casi extinta (CONABIO, 2008). Esta raza tiene afinidades con el Tepecintle, Zapalote Grande y el Comiteco, pero aún su origen es obscuro y requiere mayor estudio para determinar su progenie (Wellhausen *et al.*, 1951).

Análogamente a lo mencionado para la raza Conejo, el valor de las razas que no agrupan en los complejos raciales-geográficos sugeridos radica en la particularidad debido a su pequeña distribución geográfica y a su diversificación tal vez independiente y/o aislada de razas que componen los complejos geográficos mencionados. En el caso de Tehua, es una raza antigua que está casi extinta (Ortega *et al.*, 1991), y definitivamente es poseedora de características especiales reflejadas en este caso en su composición alélica y que ha sido mantenida por los pequeños agricultores (CONABIO, 2008). La sub-raza de Harinoso de Ocho, Elotes Occidentales (6), tiene su centro de distribución en la Altiplanicie de Jalisco a elevaciones de 1200 a 1600 m

Wellhausen *et al.* (1951), estudios posteriores indican que es el complejo de maíz harinoso de ocho hileras del oeste de México, modificado ligeramente en la altiplanicie de Jalisco y la zona costera de Nayarit. Se trata de un grupo racial muy relacionado con Harinoso de Ocho, Tabloncillo y Bofo. Ortega *et al.*, (1991) hace referencia a que esta raza es frecuente en el Bajío y llanos de Jalisco. En este estudio se encuentra una distribución más amplia de la raza Elotes Occidentales puesto que hay accesiones del estado de Guerrero con alturas de colecta entre 29 y 267 m. El aumento del área de distribución y altura de cultivo para esta raza (puesto que su centro de distribución primaria es en el Noroeste de México) podría haber originado una mayor diversificación que podría explicar que en este caso la raza no agrupe dentro de los componentes de maíces del Noroeste de México.

4.5 Análisis de Agrupamiento

El análisis de agrupamiento se aplica para clasificar las accesiones de un germoplasma (o variables) en grupos relativamente homogéneos con base en alguna similitud existente entre ellas (Franco e Hidalgo, 2003).

En este estudio se realizó el Análisis de Agrupamiento (Figura 9) para corroborar las asociaciones de las 20 razas mexicanas tropicales que se identificaron en el Análisis de Componentes Principales (Figura 7).

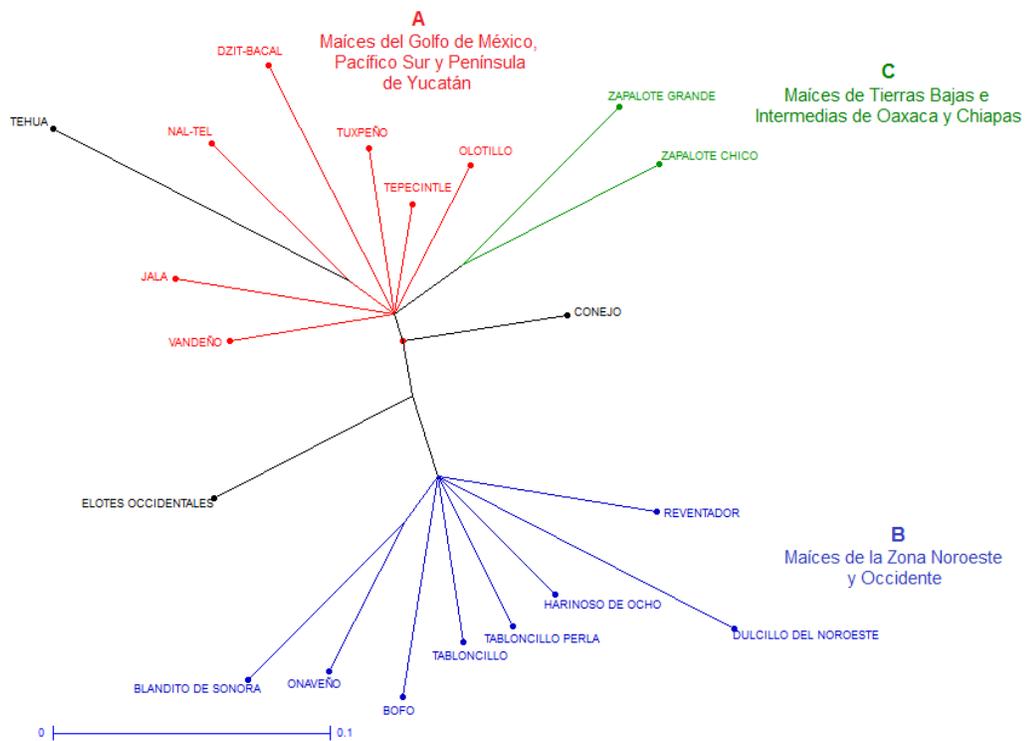


Figura 9. Análisis de Agrupamiento por razas de 196 poblaciones de maíz tropical mexicano generado por el Método Neighbor-Joining y basado en la distancia genética de proporción de alelos compartidos para 30 SSRs. Se identifica el grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán” con color rojo, con color azul el grupo B “maíces de la Zona Noroeste y Occidente” y el grupo C “maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” identificado con color verde.

Estas asociaciones se basaron en su distribución geográfica dentro del territorio mexicano y se agruparon en tres áreas ecológicas Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán (A), Maíces de la Zona Noroeste y Occidente (B) y Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas (C).

Con el objetivo de conocer la diversidad genética de las poblaciones de maíz presentes en los tres grupos de áreas ecológicas anteriormente descritos y de las razas sin agrupar se realizó el Análisis de Diversidad Genética (Cuadro 12).

El grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán” presenta mayor número de alelos encontrados por locus (8.20), lo que indica que hay mayor variabilidad alélica en esta agrupación debido a la amplia distribución de las razas de maíz tropical dentro del territorio mexicano en este estudio. Sin embargo, el grupo C “Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” muestra el menor número de alelos encontrados por locus, esto puede deberse a que estas razas pertenecen a una microrregión ya que las razas Zapalote Chico y Zapalote Grande se encuentran distribuidas en las mismas regiones sólo difieren la altitud sobre el nivel del mar, y se cuenta con una menor variabilidad genética. Se espera que a mayor rango de dispersión geográfica de una especie vegetal, ocurra una mayor variabilidad (Franco e Hidalgo, 2003).

En el grupo A de los “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán”, se observa el mayor número de alelos únicos (20) de 32 alelos con un 62.5% para 20 razas mexicanas y un total de 196 poblaciones de maíces tropicales. Los alelos únicos son considerados alelos raros en este estudio debido a que presentaron alelos con frecuencias menores al 5%.

Cuadro 12. Alelos encontrados por locus, alelos únicos e índice de diversidad genética de tres áreas y razas no agrupadas de 196 accesiones de maíces tropicales mexicanos.

Áreas Ecológicas	Alelos encontrados por locus	Alelos únicos**	Diversidad genética ± Desviación estándar
A	8.20	20	0.53 ± 0.03
B	7.73	7	0.58 ± 0.01
C	5.63	4	0.52 ± 0.002
SN	6.53	1	0.54 ± 0.05

* SN Razas no agrupadas

** Número de alelos únicos encontrados en zonas geográficas y razas relacionadas

El Cuadro 12 muestra que el grupo “B” del área ecológica de “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente” presenta la mayor diversidad genética (0.58 ± 0.01). Este agrupamiento presenta el mayor número de razas. Sin embargo, el grupo “C” presenta la más baja diversidad genética en este estudio (0.52 ± 0.02), esta área ecológica está conformada por las razas de Zapalote Chico y Zapalote Grande que pertenecen a una micro zona como se ha descrito en los resultados anteriores y se puede deducir que es una de las causas por las que presenta menor variabilidad genética. La reducción de la diversidad genética de una especie produce pérdida de la variación para el mejoramiento,

por consiguiente, con el mantenimiento del germoplasma se persigue evitar las alteraciones de la estructura genética de las accesiones (Ligarreto, 2003).

Se realizó el AMOVA (Análisis de Varianza Molecular) para las agrupaciones de las áreas ecológicas y se evaluó la distribución genética dentro y entre grupos A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán”, B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente”, C “Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” y SN “Razas No Agrupadas” como se presenta a continuación en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Análisis de Varianza Molecular de razas agrupadas en tres áreas ecológicas según su distribución geográfica y de razas no agrupadas.

Fuentes de Variación	% de Variación
Entre Áreas Ecológicas	12.10
Dentro de Área Ecológica (A)*	34.52
Dentro de Área Ecológica (B)*	38.23
Dentro de Área Ecológica(C)*	3.88
Dentro de Razas No Agrupadas (SN)**	11.27
<i>Total</i>	<i>100</i>

(A)* Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán.

(B)* Maíces de la Zona Noroeste y Occidente.

(C)* Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas.

(SN)** Razas no Agrupadas

En base a los resultados del AMOVA (Cuadro 16) se presenta mayor variación (38.23%) dentro del área ecológica B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente” y el menor porcentaje dentro del área ecológica C “Maíces de Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” con 3.88%, esto confirma los resultados anteriores en este estudio, que a mayor número de razas y

distribución geográfica mayor es la variación dentro del grupo y a menor distribución geográfica, en este caso los Zapalotes que corresponden a una microrregión, la variación es menor y es de importancia para el mejorador para no perder estas razas. En términos de conservación es importante resaltar que no sólo se debe conservar la raza en sí, sino la variabilidad y distribución amplia de la misma (Lazos y Chauvet, 2012). Las razas no agrupadas indican una diversidad genética que no está presente en los tres grupos definidos previamente según zonas ecológicas. Estas diferencias en la distribución de la diversidad genética entre los maíces tropicales podría también argumentarse por sus diferentes orígenes (López *et al.*, 2009).

4.6 Clasificación de las 20 razas mexicanas de maíz tropical según marcadores SSR

Al realizar la investigación en campo en la estación Agua Fría del CIMMYT, el día de cosecha se tomaron fotografías representativas de mazorcas de cada accesión y raza correspondiente. A continuación se presentan las accesiones utilizadas clasificadas de acuerdo a la agrupación del área ecológica determinada en este estudio con marcadores SSR (Figura 10-15), asimismo se identifican las razas no agrupadas y descritas por Wellhausen *et al.*, (1951).

Estas accesiones fueron otorgadas por el Banco de Germoplasma del CIMMYT y claramente algunas tienen otras razas secundarias. Las accesiones pertenecientes a las siguientes razas son las que presentaron mazorcas más representativas: Blandito de Sonora, Dulcillo del Noroeste, Harinoso de Ocho, Tabloncillo Perla, Elotes Occidentales, Dzit-Bacal, Nal-Tel, Olotillo, Tehua, Tepecintle, Tuxpeño, Vandeño. Las demás difieren en su aspecto quizá por baja adaptación al ambiente o por la presencia de razas secundarias incluidas en las accesiones utilizadas. La raza Jala, por ejemplo, es muy característica de una microrregión y esta puede ser la razón por la cual al cultivarla en un ambiente trópico húmedo como es el de la estación experimental de Agua Fría, la mazorca no logró el desarrollo característico de esta raza (Figura 10). A pesar de no utilizar razas puras se logró comprobar el poder de los marcadores moleculares en esta investigación.

Grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán”

	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones
	Jala	Naya 305	Muy largas, anchas y cilíndricas, con 12 a 14 hileras. Los granos son muy grandes anchos y largos, dentados, de endosperma blanco, aleurona y pericarpio sin color.	La accesión Naya 305 no cumple totalmente con las características anteriormente planteadas y esto se debe a que es una raza de difícil adaptación. Su área principal está circunscrita al Valle del Jala, Nayarit, que se encuentra a 1000 msnm, con un microclima muy específico.
Grupo Racial				
Mestiza Prehistórica				
	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones
	Nal-Tel	Camp 48	Extremadamente cortas y pequeñas con ligero adelgazamiento tanto en la base como en el ápice; promedio de hileras, 11.4. Granos muy pequeños, redondeados, endospermo cristalino, amarillo, aleurona sin color; pericarpio sin color o con poco color.	Las plantas son pequeñas, aproximadamente de 1.5 a 2 metros de altura en su habitat natural y muy precoces. Se adapta mejor a altitudes bajas de la Península de Yucatán.
Grupo Racial				
Indígena Antigua				
	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones
	Olotillo	Chis 81	Largas, delgadas, cilíndricas; olote flexible; ocho a diez hileras, pedúnculo pequeño; granos muy anchos, de espesor mediano. Endospermo generalmente suave y blanco; aleurona y pericarpio sin color.	Las plantas son extremadamente altas aproximadamente de metros y con periodo vegetativo largo. El nombre vulgar de este maíz que se cultiva extensamente en la cuenca superior del río Grijalva, Chiapas es, maíz con olote muy delgado o chico.
Grupo Racial				
Mestiza Prehistórica				

Figura 10. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical del área ecológica del grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán” en la Estación Agua Fría.

Grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán”

	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones
	Tepecintle	Chis 76	Cortas, gruesas, cilíndricas con ligero adelgazamiento cerca del ápica; parte del apice del olote generalmente de 2 a 3 cm, rara vez cubierto con granos.	Plantas de altura mediana; periodo vegetativo mediano; ligera pubescencia. Adaptado a altitudes bajas, 0 a 600 metros.
	Grupo Racial			
	Mestizas Prehistóricas		Granos de tamaño mediano, fuertemente dentados; endospermo medianamente duro, blanco; aleurona y pericarpio sin color.	
	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones
	Tuxpeño	Dura 107	De longitud mediana y larga, medianamente delgada, cilíndrica; número de hileras 12 a 14; pedúnculo grueso. Granos anchos, medianamente gruesos, de longitud mediana; endospermo blanco, con dureza mediana; aleurona y pericarpio generalmente sin color.	Plantas altas, 3 a 4 metros de su habitat nativo; muy tardío; numerosas hojas, anchas, especialmente en relación con su longitud; pubescencia muy ligera. Adaptado a bajas altitudes.
	Grupo Racial			
	Mestizas Prehistóricas		Medianamente cortas, medianamente gruesas, cilíndricas con ligero adelgazamiento hacia el ápice, número de hileras 13.2; pedúnculo medianamente grande. Granos de tamaño mediano, fuertemente dentados; endospermo blanco, de dureza mediana; aleurona y pericarpio sin color	Plantas de altura mediana, aproximadamente de 2.5 a 3 metros; periodo vegetativo mediano. Adaptado a altitudes bajas de 0 a 500 metros.
	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones
	Sub-raza Dzit-Bacal	Vera 97	Mazorcas largas, de hileras de 12 a 14 hileras. Difiere del Olotillo de Chiapas en que tiene granos más pequeños y cristalinos, un olote más flexible, ausencia de pelos del pedicelo.	Plantas tardías y se encuentra distribuido en tierras bajas de Campeche y Yucatán.
	Grupo Racial			
	Mestiza Prehistórica			

Figura 11. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical del área ecológica del grupo A “Maíces del Golfo de México, Pacífico Sur y Península de Yucatán” en la Estación Agua Fría.

Grupo B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente”

	Raza	Accesión	Tipo de Mazorcas	Observaciones
	Blandito de Sonora	Sina 75	Mazorcas de 8 a 12 hileras, granos 10-12 mm de ancho, mazorcas largas de 18-22 cm	Son plantas de hasta 2.5 m, de 70 a 80 días de floración.
Grupo Racial				
No bien definida				
	Raza	Accesión	Tipo de Mazorca	Observaciones
	Bofo	Naya 222	Diámetro mediano de 3.8 a 4.1 cm; de largo de 15 a 22 cm de longitud total, de forma elipsoidal; 10 a 14 hileras rectas; un promedio de 12 a 14 brácteas cubriendo las mazorcas. Grano ancho y aplanado de forma; endospermo totalmente harinoso de textura "bofa", sumamente agrietado, blanco.	Plantas aproximadamente de 2.5 a 3 metro. Es cultivado con mayor abundancia por el grupo huichol, considera por éstos como su "maíz sagrado". Lo han conservado puro en milpas aisladas. Las mazorcas parecidas a esta raza son las dos del centro de la fotografía.
Grupo Racial				
Nueva Raza*				
	Raza	Accesión	Tipo de Mazorca	Observaciones
	Dulcillo del Noroeste	Sina 125	Mazorcas largas y delgadas, generalmente adelgazadas en ambos extremos y granos de menor tamaño y color amarillo pálido. Las mazorcas muestran una gran semejanza con el Reventador en muchos aspectos.	Es un maíz muy dulce muy común en Sonora.
Grupo Racial				
No bien definida				
	Raza	Accesión	Tipo de Mazorca	Observaciones
	Harinoso de Ocho	Sono 117	Mazorcas largas, de diámetro mediano, cilíndricas, con ocho hileras, con ligero adelgazamiento en ambos extremos; diámetro del pedúnculo grande. Granos grandes, planos, anchos, redondeados y lisos; endospermo suave y harinoso.	Plantas con tallos y hojas lisos, sin color, con hojas de anchura mediana. Adaptado a altitudes bajas, alrededor de los 100 metros.
Grupo Racial				
Exótica Precolombina				

* Hernández y Alanís, 1970

Figura 12. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical del área ecológica del grupo B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente” en la Estación Agua Fría.

Grupo B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente”

	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones
	Onaveño	Sono 88	Mazorcas largas y gruesas, clote grande y granos largos y suaves, ligeramente dentados.	El nombre de Onaveño es el nombre vulgar que se usa para designar un tipo de maíz cristalino que se encuentra distribuido en la misma zona que el Maíz Blando de Sonora. Esta colecta no posee las características descritas de mazorca.
Grupo Racial				
No bien definida				
	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones
	Tabloncillo	Jali 685	De longitud media, delgadas, cilíndricas con excepción de un ligero adelgazamiento en ambos extremos; promedio de hileras 9, característica en la que esta raza es dominante en cruzamientos. Granos muy anchos, de espesor mediano, cortos; textura del endospermo de harina suave, por lo regular de color blanco; aleurona sin color; pericarpio sin color o ahumado.	Plantas de mediana altura, 2.4 metros; precoz; aspecto general de las plantas como zacate común; muy poca pubescencia. Adaptado a altitudes bajas 0 a 1500 metros. Su nombre común se refiere a los granos anchos, cortos y gruesos como una tablita.
Grupo Racial				
Mestiza Prehistórica				
	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones
	Tabloncillo Perla	Dura 130	La textura del grano es dura cristalina.	Ocasionalmente da origen a mazorcas harinosas de ocho hileras.
Grupo Racial				
Sub-raza Mestiza Prehistórica				
	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones
	Reventador	Sina 60	Largas, esbeltas, de forma elipsoide, con adelgazamiento en ambos extremos; promedio de hileras 11.9. Granos pequeños, cortos, redondeados y lisos; aleurona sin color; pericarpio sin color o rojo.	Plantas cortas, 1.5 m; tallos esbeltos; número de hojas largas y angostas con el índice de venación entre los más altos de todas las razas; aspecto general de la planta como zacate común. Adaptado a altitudes medianas 0 a 1500 msnm.
Grupo Racial				
Mestiza Prehistórica				

Figura 13. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical del área ecológica del grupo B “Maíces de la Zona Noroeste y Occidente” en la Estación Agua Fría.

Grupo C “Maíces de las Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas”

	<p>Raza Zapalote Chico</p> <p>Accesión Oaxa 51</p> <p>Tipo de Marzorca Son cortas, tienen un número bajo de hileras y están provistas de la mayor protección de cubierta (totomoxtle) que cualquier raza que se ha encontrado. Los granos se desprenden con facilidad.</p> <p>Observaciones Plantas muy cortas, por lo regular de 1 a 2 metros de altura; muy precoces pubescencia ligera o ausente. Adaptado a altitudes bajas alrededor de 100 metros.</p>
<p>Grupo Racial Mestiza Prehistórica</p>	
	<p>Raza Zapalote Grande</p> <p>Accesión Chis 594</p> <p>Tipo de Marzorca Cortas, gruesas, cilíndricas con excepción de un ligero adelgazamiento cerca del ápice; promedio de hileras 16. . Granos cortos, anchos y delgados; endospermo blanco, de textura medianamente suave, aleurona y pericarpio sin color.</p> <p>Observaciones Plantas cortas, de 1.5 a 2.5 metros en su habitat nativo; de periodo vegetativo mediano; ligera pubescencia. Adaptado a altitudes bajas, más o menos de 100 a 600 metros.</p>
<p>Grupo Racial Mestiza Prehistórica</p>	

Figura 14. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical del área ecológica del grupo C “Maíces de las Tierras Bajas e Intermedias de Oaxaca y Chiapas” en la Estación Agua Fría.

Razas No Agrupadas

	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones	
	Conejo	Guer GP8	Mazorcas de 12 a 18 cm de largo, con 8 a 10 hileras de granos de tamaño mediano. Las mazorcas se encuentran dispuestas a poca altura del tallo. Color de grano blanco.	Plantas relativamente cortas. Muy precoz.	
Grupo Racial					
No bien definida					
	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones	
	Sub-raza Elotes Occidentales	SNLP 86	Mazorcas largas de 18 a 22 cm; de 8 a 12 hileras de granos; granos de 10 a 12 mm de ancho.	Plantas de hasta 2.5 m de altura, de 70 a 80 días de floración.	
	Grupo Racial				
	Sub-raza Exótica				
Precolombina					
	Raza	Accesión	Tipo de Marzorca	Observaciones	
	Tehua	Chis 161	Largas, muy gruesas, ligeramente cónicas con adelgazamiento gradual y uniforme de la base al ápice. Promedio de hileras 17. Granos de tamaño mediano, medianamente dentados; endospermo blanco, de dureza mediana. De todas las razas de México tiene los diámetros más grandes del olote y de la	Plantas muy altas, a veces hasta 6 metros en su habitat natural; extremadamente tardío; hojas numerosas, de a 21 por planta. Adaptado a altitudes medianas de 600 a 1000 metros.	
Grupo Racial					
Mestiza Prehistórica					

Figura 15. Fotografías y descripción según Wellhausen et al., (1951) de mazorcas de razas mexicanas de maíz tropical de las "Razas No Agrupadas" en la Estación Agua Fría.

V. CONCLUSIONES

Utilizando 30 marcadores moleculares SSR en 196 accesiones de maíz tropical se determinó que existe mayor diversidad genética interracial que intrarracial.

Las razas tropicales analizadas agruparon en 3 grupos que coinciden con la distribución geográfica dentro de la República Mexicana y comprueba que las diferencias medio-ambientales contribuyen en gran proporción al patrón general de la diversidad del maíz.

Es evidente la erosión genética en razas como Jala y la necesidad de dedicar esfuerzos a su conservación. Así mismo es importante considerar entre las diferentes estrategias de conservación y uso, el complejo genético de los Zapalotes, que similar a la raza Jala, pueden llegar a estar en peligro por su limitada distribución geográfica.

Una de las razas que está presente en el germoplasma mejorado utilizado en trópico y sub-trópico es la raza Tuxpeño, y los resultados obtenidos en este trabajo corroboran que existe en esta raza gran diversidad genética aún sin explorar y que debe incorporarse en los programas de mejoramiento del maíz (Wen *et al.*, 2012).

La diversidad genética del germoplasma de maíz y en especial la diversidad encontrada en este trabajo sólo usando maíces de adaptación tropical, justifican el emprender estudios más amplios, asociados a características de rusticidad de las plantas, tolerancia a enfermedades, alto rendimiento y calidades industriales y nutricionales.

En este tipo de estudios es de importancia dar uso a la diversidad alélica y asociarla con estudios fenotípicos para lograr identificar fuentes de variabilidad genética con diferentes características útiles en programas de mejoramiento.

Se creó una base de datos pública con la información de los materiales caracterizados genéticamente y el link es el siguiente:

<http://apps.cimmyt.org/gis/agrobio/agrobio.html>

VI. LITERATURA CITADA

- Acosta R. (2009)** El cultivo del maíz, su origen y clasificación. El Maíz en Cuba. Cultivos Tropicales. 30:113-120.
- Aguilar-Castillo J. A., A. Carballo-Carballo, F. Castillo-González, A. Santacruz-Varela, J. A. Mejía-Contreras, J. Crossa-Hiriarte, G. Baca-Castillo (2006)** Diversidad fenotípica y variantes distintivas de la raza Jala de maíz. Agricultura Técnica en México 32:57-66.
- Anderson E. (1945)** What is *Zea mays*? A report of progress. Chronica Botanica 9:88-92.
- Anderson E., H. C. Cutler (1942)** Races of *Zea mays*: I. Their recognition and classification. Annals of the Missouri Botanical Garden 29:69-89.
- Aragón C. F., S. Taba, J. M. Hernández, J. D. Figueroa, V. Serrano (2006)** Actualización de la información sobre los maíces criollos de Oaxaca. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. CS002 México D. F. 119 p.
- Azofeifa D. A. 2006.** Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. Agronomía Mesoamericana 17:221-242.
- Balestre M., R. G. Von Pinho, J. C. Souza, J. C. Machado (2008)** Potential of maize single-cross hybrids for extraction of inbred lines using the mean

components and mixed models with microsatellite marker information.
Genetics and Molecular Research 7:1106-1118.

Baumforth K. R., P. N. Nelson, J. E. Digby, J. D. O'Neil, P. G. Murray (1999)

Demystified... the polymerase chain reaction. 1999. Mol. Pathol. 52:1-10.

Beadle G. W. (1939) Teosinte and the origin of maize. Journal of Heredity

30: 245-247.

Beaumont M. A., K. M. Ibrahim, P. Boursot, M. W. Bruford (1998). Measuring

genetic distance. In: Karp A, Ingram D S, Isaac P G (eds.). Molecular tools for screening biodiversity. Chapman and Hall, London. Pp. 315-325.

Becerra V. V., C. Paredes (2000) Uso de marcadores bioquímicos y

moleculares en estudios de diversidad genética. Agric. Téc. v.60 n.3.

Bedoya S. C., V. H. Chávez (2010). Teocintle: El Ancestro del Maíz. Claridades

Agropecuarias. No. 201. Pp. 32-42

Bedoya S. C., C. Mir, A. Charcosset, M. Warburton (2010) Migración del Maíz

a partir de su Centro de Origen, Evidencias Históricas, Genéticas y Paleobotánicas. El Cultivo del Maíz, Temas Selectos, Volumen 2. Editorial Mundi Prensa. 227 p.

Bellon M. R., A. F. Barrientos, P. Colunga, H. Perales, J. A. Reyes, R.

Rosales, D. Zizumbo (2009) Diversidad y conservación de recursos genéticos en plantas cultivadas, en Capital natural de México, vol. II:

Estados de Conservación y Tendencias de Cambio. CONABIO, México.
Pp. 355-382.

Bengtsson B. O., P. Weibull, L. Ghatnekar (1995) The loss of alleles by sampling: a study of the common outbreeding grass *Festuca ovina* over three geographical scales. *Hereditas* 122:221-238.

Benz B. F. (1986). Taxonomy and evolution of Mexican maize. Unpublished Ph. D. Dissertation. University of Wisconsin. 433 p.

Bertrand O., M. H. Delfau, M. Garbarz, C. Picat, I. Devaux, D. Dhermy, P. Boivin, B. Grandchamp (1989) An efficient laboratory made apparatus for DNA amplification. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 18:227-235.

Betanzos M. E. (2004) Contribuciones de la genotecnia en el cultivo de maíz en México. En P. E. Preciado y S. A. Ríos (eds.). Memoria del simposium aportaciones de la genotecnia a la agricultura. Sociedad Mexicana de Fitogenética A. C. Chapingo, México. Pp. 87-102.

Bowcock A. M., A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde, E. Minc, J. R. Kidd, L. L. Cavalli-Sforza (1994) High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 368:455-457.

Bretting P. K., M. M. Goodman, C. W. Stuber (1990) Isozymatic variation in Guatemalan races of maize. *American Journal of Botany* 77:211-225.

Brieger F.G., J. T. A. Gurgel, E. Paterniani, A. Blumenschein, M. R. Alleoni (1958). Races of maize in Brazil and other Eastern South American Countries. Washington, D.C. National Academy of Sciences — National Research Council 593:1-283.

Bruford M. W., R. K. Wyne (1993) Microsatellites and their application to population genetic studies. *Current Opinion in Genetics & Development.* 3:939-943.

Camus-Kulandaivelu L., J.-B. Veyrieras, D. Madur, V. Combes, M. Fourmann, S. Barraud, P. Dubreuil (2006). Maize adaptation to temperate climate: relationship between population structure and polymorphism in the Dwarf8 gene. *Genetics* 172:2449-63.

Carballoso V., A. Mejía, S. Valderrama, A. Carballo, F. V. González (2000) Divergencia en poblaciones de maíz nativas de Valles Altos de México. *Agrociencia*, vol. 34, no. 2. Pp. 167-174.

Cardona J. O. (2010) Análisis de diversidad genética de las razas colombianas de maíz a partir de datos Roberts et al., (1957) usando la estrategia Ward- MLM. *CienciAgro* Vol.2 Nr.1 (2010) 199-207.

Castillo G. F., M. M. Goodman (1989) Agronomic evaluation of Latin American maize accessions. *Crop Science* 29:853-861.

- Cervantes S., T., M. M. Goodman y E. Casas (1978)** Efectos genéticos y de interacción genotipo-ambiente en la clasificación de las razas mexicanas de maíz. *Agrociencia* 30:25-30.
- Chávez E. 1913.** El cultivo del maíz. Secretaría de Fomento. Dirección General de Agricultura. Boletín No. 74. Estación Agrícola Central. México. 815 p.
- Cheng H. O., L. B. Crittenden (1994)** Microsatellite markers for genetic mapping in the chicken. *Poultry Sci.* 73:539-546.
- CIMMYT (2006)** Protocolos de laboratorio. Laboratorio de Genética Molecular Aplicada del CIMMYT. Tercera edición. El Batán, Texcoco, México. 92 p.
- CONABIO (2006)** Elementos para la determinación de centros de origen y centros de diversidad genética en general y el caso específico de la liberación experimental de maíz transgénico al medio ambiente en México. Disponible en:
http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/Doc_CdeOCdeDG.pdf
- CONABIO (2008)** Proyecto FZ002 “Conocimiento de la Diversidad y distribución del maíz nativo y sus parientes silvestres en México”. Responsable: Dr. A. Ortega Corona (INIFAP). Comisión Nacional para la Conservación y el Uso de la Biodiversidad. México, D. F. 81 p.
- CONABIO (2010)** Base de datos integrada del proyecto global de maíces (corte al 14 de octubre de 2010).

- Condit R., S. Hubbell (1991)** Abundance and DNA sequence of two based repeat regions in tropical tree genomes. *Genome* 34:66-71.
- Cornide H. M. (2002)** Marcadores Moleculares Nuevos Horizontes en la Genética y la Selección de Plantas. Ed. Félix Varela. La Habana. Pp.13-66.
- Dodgson J. B., H. Hans, R. Okimoto (1997)** DNA marker technology: a revolution in animal genetics. *Poultry Science* 76:1108-1114.
- Doebley J. F., M. M. Goodman, C. W. Stuber (1984)** Isoenzymatic variation in *Zea* (Gramineae). *Systematic Botany* 9:203-218.
- Doebley J. F. (2004)** The genetics of maize evolution. *Annual Review of Genetics* 38:37-59.
- Doebley J. F., M. M. Goodman, C. W. Stuber (1984)** Isoenzymatic variation in *Zea* (Gramineae). *Systematic Botany* 9:203-218.
- Doebley J. F., M. M. Goodman y C.W. Stuber (1985)** Isozyme variation in the races of maize from Mexico. *American Journal of Botany* 72:629-639.
- Dubreuil, P., M. Warburton, M. Chastanet, D. Hoisington, A. Charcosset (2006)** More on the introduction of temperate maize into Europe: large-scale bulk SSR genotyping and new historical elements. *Maydica* 51: 281-291.
- Esteva, M., C. Marielle (2003)** Sin Maíz no hay país. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes (CONACULTA). México, D.F. 346 p.

Excoffier L., P. E. Smouse, J. M. Quattro (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics Society of America* 131:479–491.

FAOSTAT (2010) Los datos finales correspondientes al año 2010. Disponible en: <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=567&lang=es#ancor>

Franco T. L., R. Hidalgo (2003). Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico no.8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali, Colombia. 89 p.

Franco, J., M. Warburton, S. Dreisigacker (2007) User's manual for the FtoL-R Program for generating a “dummy” data set consisting of allele lengths for hypothetical individuals. CIMMYT, Mexico, D.F.

Fukunaga K., J. Hill, Y. Vigouroux, Y. Matsuoka, J. J. Sanchez, K. Liu, E. S. Buckler, J. Doebley (2005) Genetic diversity and population structure of teosinte. *Genetics* 169:2241-54.

Goldstein B. D., C. Schlotterer (1999) Microsatellites evolution and applications. Oxford University Press, NewYork. 352 p.

Goldstein, D. B., D. D. Pollock (1997) Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *The Journal of Heredity* 88:335-342.

- González A. S. (2006)** Mitos del Maíz. Artes de México. Número 79. 80 p.
- Goodman M M, R M Bird (1977)** The races of maize iv: tentative grouping of 219 Latin American races. *Economic Botany* 31:204-22.
- Goodman, M. M., W. L. Brown (1988)** Races of corn, en G.F. Sprague y J.W. Dudley (eds.). *Corn and corn improvement*. Agron. Monogr. 18. ASA-CSSA y SSSA, Madison, WI. Pp. 39-74.
- Hatheway W. H. (1957)** Races of maize in Cuba. National Academy of Sciences National Research Council Washington, D. C. USA. Publication 453:1-75.
- Hedrick P. W. (2001)** Conservation genetics: where are we now? *Trends. Ecol. Evol.* 16:629-636.
- Hernández X. E. (1987)** Las razas de maíz en México. Su Origen, Características y Distribución. *Revista Geografía Agrícola* 2:609-732.
- Hernández X. E., G. Alanís (1970)** Estudio morfológico de cinco nuevas razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México: Implicaciones citogenéticas y filogenéticas. *Agrociencia* 5:3-30.
- Ignjatović-Micić D., S. Mladenović, A. Nikolić, V. Lazić-Jančić (2008)** SSR analysis for Genetic structure and diversity determination of maize local populations from former Yugoslavia territories. *Russian Journal of Genetics*. 11:1317-1324.

- Jiménez T. S. (2010)** Caracterización agronómica y denominación de poblaciones locales de maíz (*Zea mays* L.) de la comunidad de Cualcac, Guerrero. Colegio de Posgraduados, Texcoco, México. 61 p.
- Kai Wei, Hao Zhang, Xianfeng Xu, Hewei Du, Yiqin Huang and Zuxin Zhang (2009)** Evaluation of phenotype and genetic diversity of maize landraces from Hubei Province, Southwest China. *Biomedical and life sciences* 3:374-382.
- Karp A., K. Edwards (1998)** DNA makers: a global overview. In: G. Caetano-Anollés, P.M. (eds.). *DNA markers: protocols, applications and overviews*. Gresshoff New York. Pp. 1-13.
- Kato T A (1984)** Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evolutionary Biology* 17:219-253
- Kato Y. T. A. (1961)** Morfología cromosómica de algunas razas nativas primitivas de maíz de México, Centro y Sudamérica. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura, Chapingo, México. (Inédito).
- Kato Y. T. A. (1965)** Estudio de nudos cromosómicos en varias razas nativas mexicanas de maíz. Memoria del Primer Congreso de Fitogenética, Soc. Mex. Fitogenética, A. C. Chapingo, México. Pp. 165-200.
- Kato Y. T. A. (2005)** Cómo y dónde se originó el maíz. *Investigación y Ciencia* 347:68- 72.

Kuleshov N. N. (1930) Maíces de México, Guatemala, Cuba, Panamá y Colombia (Según las colecciones de N.S. Bukasov). In: Las Plantas Cultivadas de México, Guatemala y Colombia. Traducción al Español por Jorge León. CATIE, Turrialba, Costa Rica, 1981. 173 p.

Kunin W. E., K. J. Gaston (1993) The biology of rarity: patterns causes and consequences. Trends Ecol Vol. 8:298-302.

Labate J A, K R Lamkey, S E Mitchell, S Kresovich, H Sullivan (2003) Molecular and historical aspects of corn belt dent diversity. Crop Science 43:80-91.

LAMP (1991) Catálogo de Germoplasma de Maíz. Proyecto Latinoamericano de Maíz. Tomo II. Pp. 394-634.

Lazos E., M. Chauvet (2011) Análisis del contexto social y biocultural de las colectas de maíces nativos en México. Proyecto Global de Maíces, Informe de gestión, CONABIO. disponible en:

<http://www.bergfiles.com/i/bf4a076dfbh32i0>.

Ligarreto, G. (2003) Análisis de la variabilidad genética en frijol. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico no.8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPCGRI), Cali, Colombia. 78 p.

Liu K, S Muse (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics 21: 2128-2129.

López J. A., M. D. Hidalgo (1994) Análisis de Componentes Principales y Análisis Factorial. En: Ato M. y López J.J. (eds.). Fundamentos de Estadística con Systat. Addison Wesley Iberoamericana. Pp. 457-503.

López R. G., A. Santacruz-Varela, A. Muñoz, F. Castillo, L. Córdova, H. Vaquera (2005) Caracterización morfológica de poblaciones nativas de maíz del istmo de Tehuantepec, México. Interciencia 30:284-290.

López R. G., A. Santacruz, A. Muñoz, F. Castillo, L. Córdova, H. Vaquera (2009). Perfil Isoenzimático de maíces nativos del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. II. Variación dentro de grupos. Revista Fitotecnia Mexicana. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. México. 32:177-188.

Luna F. M. (1993) Mejoramiento genético de maíz para condiciones adversas. En: Maíz en la década de los 90" E Uribe, J H Martínez (eds.). Memorias Primer Simposium de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Delegación Jalisco, Zapopan, Jal. Pp. 161-170.

MasAgro. Modernización Sustentable de la Agricultura Tradicional. Disponible en: <http://masagro.cimmyt.org/>

Mathias R. M., B. Sagredo, J. Kalazich (2007) Uso de marcadores SSR para identificación de germoplasma de papa en el programa de mejoramiento de INIA de Chile. Agricultura Técnica (Chile) 67:3-15.

Matsuoka Y., S. E. Mitchell, S. Kresovich, M. Goodman, J. Doebley (2002)

Microsatellites in Zea: variability, patterns of mutations and use for evolutionary studies. *Theoretical Applied Genetics* 104: 436-450.

Matsuoka Y., Y. Vigouroux, M. M. Goodman, J. Sánchez, E. Buckler, J.

Doebley (2002) A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99:6080-6084.

McClintock B. T. A., A. Kato, A. Blumenschein (1981) Chromosome

Constitution of Races of Maize. Its Significance in the Interpretation of Relationships between Races on Varieties in the Americas. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 521 p.

McClintock, B (1978) Significance of chromosome constitutions in tracing the

origin and migration of races of maize in the Americas. In: D. B. Walden (ed.) *Maize Breeding and Genetics*. John Wiley and Sons, New York. Pp. 159-84.

Mohammadi S. A., B. M. Prasanna (2003) Analysis of genetic diversity in crop

plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science* 43:1235-1248.

Morales R. M. M., J. Ron, J. J. Sánchez, L. Ramírez, M. Mena, S. Hurtado

(2007) Relaciones fenotípicas y heterosis entre híbridos comerciales y germoplasma exótico de maíz en Jalisco, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30:285-294.

Mullis K. B. (1990) The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am* 262:56-61, 64-5.

Mullis K. B., Faloona F. A., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. and Erlich, H. (1986) Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 51:263-273.

Muñoz O. A. (2003) Centli-maíz. Prehistoria e Historia, Diversidad, Potencial, Origen Genético y Geográfico. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México. Pp. 210.

Nei, M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 70:3321-3323.

Ortega C. A., M. J. Guerrero, O. Cota, R. E. Preciado O. (2011) Situación actual de los maíces nativos y sus parientes silvestres en México. En: Amplitud, Mejoramiento, Usos y Riesgos de la Diversidad Genética de Maíz en México. R E Preciado O, S Montes H (eds.). Sociedad Mexicana de Fitogenética A. C. Pp. 1-10.

Ortega P. R. (2003) Diversidad de Maíz en México: Causas, Estado Actual y Perspectivas. *In: Sin Maíz no hay País. Culturas Populares*, CONACULTA, México, D. F. Pp. 123-154.

Ortega P. R., J. J. Sánchez, F. Castillo, J. M. Hernández (1991) Estado actual de los estudios sobre maíces nativos de México. *In Ortega P R, G*

Palomino, F Castillo, V A González, M. Livera (eds.). Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. Chapingo, México. Pp. 161-185.

Ortega P. R. (1973) Variación en maíz y cambios socioeconómicos en Chiapas, México, 1946-1971. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.

Ortega P. R. (1979) Re estudio de las razas Mexicanas de maíz. Informe Anual. Campo agrícola experimental de la Mesa Central. INIA, Chapingo, México.

Ortiz R., S. Taba, V. H. Chavez, M. Mezzalama, Y. Xu, J. Yan, J. H. Crouch (2010) Conserving and enhancing maize genetic resources as global public goods. A perspective from CIMMYT. *Crop Science* 50:13–28.

Oyervides G M, A R Hallauer, H Cortez M (1985) Evaluation of improved maize populations in Mexico and the U.S. Corn Belt. *Crop Science*. 25:115-120.

Paliwail R. L., G. Granados, H. Renné, A. D. Violic (2001) El Maíz en los Trópicos. Mejoramiento y Producción. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, 2011. Pp. 1-60.

Perales, R. H., S. B. Brush, C. O. Qualset (2003b) Dynamic management of maize landraces in Central Mexico. *Econ. Bot.* 57:21-34.

Pflüger L A, A R Schlatter (1996) Isozyme variation in some races of maize from Argentina. *Genetic Resources and Crop Evolution* 43:357-362.

Philips W., H. Rodríguez, P. Fritz (1995) Marcadores de ADN: Teoría, aplicaciones y protocolos de trabajo como ejemplos de investigaciones en cacao (*Theobroma cacao*). Serie técnica. Informe técnico #252. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 183 p.

Piperno D., A. Ranere, I. Holst, J. Iriarte, R. Dickau (2009) Starch grain and phytolith evidence for early ninth millennium B.P. maize from the Central Balsas River Valley, Mexico. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106:5019-5024.

Pla L. (1986) Análisis Multivariado: Método de Componentes Principales. Instituto Interamericano de Estadística. Sec. General de la OEA Washington, D. C. 89 p.

Plucknett D. L., J. T. Williams, N. J. H. Smith, N. M. Anishetty (1992) Bancos genéticos: un recurso mundial. In: Los Bancos Genéticos y la Alimentación Mundial. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura y Centro Internacional de Agricultura Tropical. Costa Rica. Pp. 19-34.

Pollak L M (1993) Evaluation of Caribbean maize accessions in Puerto Rico. *Tropical Agriculture* 70:8-12.

Ponsuksili, S., K. Wimmers, F. Schmoll, P. Horst, K. Schellander (1999) Comparison of multilocus DNA fingerprints and microsatellites in an

estimate of genetic distance in Chicken. *The Journal of Heredity*. 90:656-659.

Powell W. (1992) Plant genomes, gene markers, and linkage maps. *In: J P Moss, (ed.) Biotechnology and crop improvement in Asia*. Patancheru, India. International Crop Research Institute for the Semi-Arid Tropics. Pp. 297-322.

Preciado O. R. E., S. Montes (2011) Reseña de “Amplitud, Mejoramiento, Usos y Riesgos de la Diversidad Genética de Maíz en México”. *Revista Fitotecnia Mexicana*. Vol. 34, núm. 4. 272 p.

Pressoir G., J. Berthaud (2004a) Patterns of population structure in maize landraces from the Central Valleys of Oaxaca in Mexico. *Heredity* 92:88-94.

Pressoir G., J. Berthaud (2004b) Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity* 92: 95-101.

Rabinowitz D. (1981) Seven forms of rarity. *In: Syngé II (ed.) The biological aspects of rare plant conservation*. John Wiley & Sons, Chichester, United Kingdom. Pp. 205-217.

Rallo P., A. Belaj, R. de la Rosa, I. Trujillo (2002) Marcadores moleculares (en línea). Córdoba, España. Disponible en:

http://www.extremadura21.com/caudal/hemeroteca/mayojunio_2000/alma_zara/almazara1.htm

- Reif J. C., M. L. Warburton, X. C. Xia, D. A. Hoisington, J. Crossa, S. Taba, J. Muminović, M. Bohn, M. Frisch, A. E. Melchinger (2006)** Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 113:177-185.
- Reif J. C., S. Hamrit, M. Heckenberger, W. Schipprack, H. P. Maurer, M. Bohn, A. E. Melchinger (2005)** Genetic structure and diversity of European flint maize populations determined with SSR analyses of individuals and bulks. *Theoretical Applied Genetics* 111:906-913.
- Revilla P., W. F. Tracy (1995)** Isozyme variation and phylogetic relationships among open-pollinated sweet corn cultivars. *Crop Science* 35:219-227.
- Rice E B, M E Smith, S E Mitchell, S Kresovich (2006)** Conservation and change: a comparison of in situ and ex situ conservation of Jala maize germplasm. *Crop Science* 46:428-436.
- Röder M. S., J. Plasche, S. U. König, A. Börner, M. E. Sorrells, S. D. Tanksley, and M. W. Ganai (1995)** Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol. Gen. Genet.* 246:327-333.
- Ron, P. J., J. J. Sánchez, A. A. Jiménez, J. A. Carrera, J. G. Martín, M.M. Morales , L. De la Cruz, S. A. Hurtado, S. Mena, J. G. Rodríguez (2006)** Maíces Nativos del Occidente de México. I Colectas 2004. *Scientia-CUCBA* 8:1-139.

- Ruiz C. J. A., N. Durán, J. Sánchez, J. Ron, D. González, J. Holland, G. Medina (2008)** Climatic Adaptation and Ecological Descriptors of 42 Mexican Maize Races. *Crop Science* 48: 1502–1512.
- Sánchez G. J. J., J. A. Ruiz (1995)** Teosinte distribution in Mexico. In: Gene Flow among Maize Landraces, Improved Maize Varieties, and Teosinte; Implications for Transgenic Maize. J. A. Serratos, M. C. Willcox, F. Castillo (eds.). México, D. F. CIMMYT. Pp. 18-39.
- Sánchez G. J. J., M. M. Goodman (1992a)** Relationships among the Mexican races of maize. *Economic Botany* 46: 72-85.
- Sánchez G. J. J., M. M. Goodman (1992b)** Relationships among Mexican and some North American and South American races of maize. *Maydica* 37:41-51.
- Sánchez G. J. J., M. M. Goodman, C. W. Stuber (2000)** Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54:43-59.
- Sánchez G. J. J., M. M. Goodman, C. W. Stuber (2000)** Isozymatic diversity in the races of maize of the Americas (*Zea mays* L.) *Maydica* 45:185-203.
- Sánchez G. J. J., T.A. Kato, M. Aguilar, J. M. Hernández, A. López, J. A. Ruiz (1998)** Distribución y caracterización del teocintle. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro, Instituto Nacional de

Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Libro Técnico Núm. 2. Guadalajara, Jalisco, México. Pp. 1-29.

Sánchez J. J. (1989) Relationships among the Mexican races of maize. Unpublished Ph.D. Dissertation, North Carolina State Univ., Raleigh. 187 p.

Sánchez I. (2002) Búsqueda y aislamiento de marcadores moleculares en *Pleurotus ostreatus*. Navarra, España.

Santacruz-Varela A., M. P. Widrlechner, R. J. Salvador, K. E. Ziegler, 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.

Schonewald-Cox, C. M.; S. M. Chambers, B. MacBryde, W. L. Thomas (1983) Genetics and Conservation. Menlo Park, Calif.: Benjamin-Cummings Publishing.

Senior, M. L., M. N. Murphy, M. M. Goodman, C. W. Stuber (1998) Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Science* 38:1088-1098.

Sharma L., B. M. Prasanna, B. Ramesh (2010) Analysis of phenotypic and microsatellite-based diversity of maize landraces in India, especially from the North East Himalaya region. *Genetica* 138:619-331.

- Shug M. D., C. M. Hutter, K. A. Wetterstrand, M. S. Gaudette, T. F. Mackay, C. F. Aquadro (1998)** The mutation rates of di-, tri- and tetranucleotide repeats in *Drosophila melanogaster*. *Mol Biol Evol.* 15:1751-1760.
- Sierra M., A. Palafox, O. Cano, F. Rodríguez, A. Espinosa, A. Turrent, N. Gómez, H. Córdova, N. Vergara, R. Aveldaño, J. Sandoval, S. Barrón, J. Romero, F. Caballero, M. González, E. Betanzos (2004)** H-553, híbrido de maíz de calidad proteínica para el trópico húmedo de Maíz. *Fitotecnia Mexicana* 27:117-119.
- Smith J. S. C. (1986)** Genetic diversity within the corn belt dent racial complex of maize (*Zea mays* L.). *Maydica* 31:349-367.
- Sturtevant, E. L. (1899)** Varieties of corn. US. Dept. Agr. Off. Exp. Sta. Bull. 57:1-108.
- Taba S. (1995^a)** Maize germplasm: its spread, use and strategies for conservation. *In:* S Taba (ed) Maize genetic resources. Mexico, DF, CIMMYT. Pp. 7-58.
- Tanksley S. (1983)** Molecular markers in plant breeding. *Plant Molecular Biology Reporter* 1:3-8.
- Tautz D., M. Renz (1984)** Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res.* 12:4127-4138.
- Templeton N. S. (1992)** The polymerase chain reaction history methods, and applications. *Diagnostic Molecular Pathology* 1:58-72.

Vigouroux Y., J. C. Glaubitz, Y. Matsuoka, M. M. Goodman, J. Sánchez, J.

Doebley (2008) Population structure and genetic diversity of new world maize races assessed by DNA microsatellites. *American Journal of Botany* 95:1240-1253.

Vigouroux, Y., M. McMullen, C.T. Hittinger, K. Houchis, L. Shulz, S.

Kresovich, Y. Matsuoka, J. Doebley (2002) Identifying genes of agronomic importance in maize by screening microsatellites for evidence of selection during domestication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:9650-9655.

Warburton M. L., X. Xianchun, J. Crossa, J. Franco, A. E. Melchinger, M.

Frisch, M. Bohn, D. Hoisington (2002) Genetic Characterization of CIMMYT Inbred Maize Lines and Open Pollinated Populations Using Large Scale Fingerprinting Methods. *Crop Science* 42:1832-1840.

Warburton M. L., J. C. Reif, M. Frisch, M Bohn, C. Bedoya, X. C. Xia, J.

Crossa, J. Franco, D. Hoisington, K. Pixley, S. Taba, A. E. Melchinger (2008) Genetic diversity in CIMMYT non-temperate maize germplasm: landraces, open pollinated varieties, and inbred lines. *Crop Science* 48:617-624.

Wellhausen E. J., L. M. Roberts, E. Hernández, en colaboración con P. C.

Mangelsdorf (1951) Razas de Maíz en México. Su Origen, Características y Distribución. Folleto Técnico No.5. Secretaría de

Agricultura y Ganadería, Oficina de Estudios Especiales. México, D. F.
237 p.

Wen W., J. Franco, V. H. Chavez-Tovar, J. Yan, S. Taba (2012) Genetic Characterization of a Core Set of a Tropical Maize Race Tuxpeño for Further Use in Maize Improvement. PLoS ONE 7(3):e32626. doi:10.1371/journal.pone.0032626.

Wei K., H. Zhang, X. Xu, D. Hewei, Y. Huang, Z. Zhang (2009) Evaluation of phenotype and genetic diversity of maize landraces from Hubei Province, Southwest China. Frontiers of Agriculture in China 3:374-382.

Xia X. C., J. C. Reif, D. A. Hoisington, A. E. Melchinger, M. Frisch, M. L. Warburton (2004) Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR markers: I. Lowland tropical maize. Crop Science 44:2230-2237.

VIII. ANEXO

Cuadro 13.A. Números de entrada, razas y estados de la República Mexicana de las 196 accesiones de maíces tropicales mexicanos.

No. Entrada	Accesión	Raza	Estado
2	GUER GP1	VANDEN	Guerrero
3	GUER GP8	CONEJO	Guerrero
4	GUER GP11	CONEJO	Guerrero
5	GUER GP11	CONEJO	Guerrero
6	GUER GP18	CONEJO	Guerrero
7	GUER 113	CONEJO	Guerrero
8	GUER GP22	OLOTIL	Guerrero
10	OAXA GP1	OLOTIL	Oaxaca
11	OAXA GP5	VANDEN	Oaxaca
13	MICH 166	CONEJO	Michoacán
14	MICH 176	VANDEN	Michoacán
15	MICH 137	VANDEN	Michoacán
16	MICH 146	OLOTIL	Michoacán
17	MICH 181	TABLON	Michoacán
18	GUER 200	VANDEN	Guerrero
19	GUER 96	VANDEN	Guerrero
20	GUER 202	OLOTIL	Guerrero
21	GUER 212	CONEJO	Guerrero
22	GUER 157	CONEJO	Guerrero
23	GUER 82	CONEJO	Guerrero
24	GUER 80	CONEJO	Guerrero
25	GUER 106	REVENT	Guerrero
26	GUER 168	NALTEL	Guerrero
27	OAXA 134	TEPECI	Oaxaca
28	GUER 176	CONEJO	Guerrero
29	OAXA 50	ZAPCHI	Oaxaca
30	COLI 24	ELOTOC	Colima
31	NAYA 29	ELOTOC	Nayarit
32	SONO 21	BLASON	Sonora
33	SONO GP3	HARIN8	Sonora
36	TAMA GP5	TUXPEN	Tamaulipas
37	SNLP 108	OLOTIL	San Luis Potosí
38	COAH 53	TUXPEN	Coahuila

41	COAH GP7	TUXPEN	Coahuila
42	VERA 39	TUXPEN	Veracruz
43	CHIS GP8	VANDEN	Chiapas
44	YUCA GP2	NALTEL	Yucatán
45	YUCA GP4	NALTEL	Yucatán
46	NVOL 5	TUXPEN	Nuevo León
48	COLI 6	ELOTOC	Colima
49	NAYA 16	TABPER	Nayarit
50	SONO 29	BLASON	Sonora
51	SONO 32	BLANSO	Sonora
53	VERA GP7	TEPECI	Veracruz
54	CAMP 48	NALTEL	
55	CAMP 16	NALTEL	Campeche
56	CHIS 25	VANDEN	Chiapas
57	CHIS 26	TEPECI	Chiapas
58	CHIS 76	TEPECI	Chiapas
59	CHIS 167	TEPECI	Chiapas
60	CHIS 1	TEPECI	Chiapas
61	CHIS GP18	ZAPCHI	Chiapas
62	CHIS GP23	ZAPGRA	Chiapas
64	YUCA 144	OLOTIL	Yucatán
65	SINA 1	HARIN8	Sinaloa
67	TABA GP1	TEPECI	Tabasco
68	COLI GP1	TUXPEN	Colima
69	NAYA 39	REVENT	Nayarit
70	NAYA 48	TABLON	Nayarit
71	SNLP 86	ELOTOC	San Luis Potosí
72	CAMP GP6	DZITBA	Campeche
73	CHIS 161	TEHUA	Chiapas
78	MICH 411	CONEJO	Michoacán
79	COLI 8	TABLON	Colima
80	COLI 14	VANDEN	Colima
81	COLI 15	TABPER	Colima
82	CHIS 48	OLOTIL	Chiapas
83	CHIS 63	TEPECI	Chiapas
84	CHIS 81	OLOTIL	Chiapas
85	CHIS 159	TEHUA	
86	CHIS 160	TEHUA	Chiapas
87	NAYA 7	HARIN8	Nayarit

88	NAYA 12	TABPER	Nayarit
89	NAYA 24	HARIN8	Nayarit
90	NAYA 34	REVENT	Nayarit
91	NAYA 37	REVENT	Nayarit
92	OAXA 51	ZAPCHI	Oaxaca
93	SONO 20	BLANSO	Sonora
94	SONO 31	ONAVEN	Sonora
96	YUCA 155	TEPECI	Yucatán
97	OAXA 9	TUXPEN	Oaxaca
100	VERA 184	TEPECI	Veracruz
101	VERA 207	TEPECI	Veracruz
102	MICH 106	OLOTIL	Michoacán
103	GUER 44	TEPECI	Guerrero
104	SNLP 110	OLOTIL	San Luis Potosí
106	COLI 7	TABPER	Colima
107	OAXA 238	TEPECI	Oaxaca
108	OAXA 244	OLOTIL	Oaxaca
109	OAXA 243	OLOTIL	Oaxaca
110	OAXA 312	TUXPEN	Oaxaca
111	OAXA 335	TEPECI	Oaxaca
114	CHIH 234	TABPER	Chihuahua
115	CHIH 236	TABLON	Chihuahua
116	JALI 187	TUXPEN	Jalisco
117	JALI 284	VANDEN	Jalisco
118	JALI 279	TUXPEN	Jalisco
119	NAYA 155	TUXPEN	Nayarit
120	NAYA 158	VANDEN	Nayarit
121	NAYA 160	TUXPEN	Nayarit
122	NAYA 171	TABLON	Nayarit
123	NAYA 222	BOFO	Nayarit
124	SINA 14	TABPER	Sinaloa
125	SINA 16	TABPER	Sinaloa
127	SINA 85	TUXPEN	Sinaloa
128	SINA 22	REVENT	Sinaloa
129	SINA 24	TABLON	Sinaloa
130	SINA 25	DULNOR	Sinaloa
131	SINA 8	TABLON	Sinaloa
132	SINA 34	DULNOR	Sinaloa
134	SINA 40	DULNOR	Sinaloa

135	SINA 49	BOFO	Sinaloa
136	SINA 52	BOFO	Sinaloa
137	SINA 55	REVENT	Sinaloa
138	SINA 58	BOFO	Sinaloa
139	SINA 60	REVENT	Sinaloa
140	SINA 61	BLASON	Sinaloa
142	SINA 75	BLANSO	Sinaloa
143	SINA 79	DULNOR	Sinaloa
144	SINA 80	BLANSO	Sinaloa
145	SINA 81	TUXPEN	Sinaloa
146	SINA 102	REVENT	Sinaloa
147	SINA 105	ONAVEN	Sinaloa
148	DURA 107	TUXPEN	Durango
149	DURA 110	BOFO	Durango
150	DURA 130	TABPER	Durango
151	TAMA 20	TUXPEN	Tamaulipas
152	SONO 76	TABLON	Sonora
153	SONO 77	TABLON	Sonora
154	SONO 86	ONAVEN	Sonora
155	SONO 102	HARIN8	Sonora
156	SONO 103	HARIN8	Sonora
157	SONO 112	TABPER	Sonora
158	SONO 114	ONAVEN	Sonora
159	SONO 117	HARIN8	Sonora
160	SONO 125	BLANSO	Sonora
161	SONO 126	TABPER	Sonora
162	SONO 136	ONAVEN	Sonora
163	SONO 137	HARIN8	Sonora
164	SONO 139	ONAVEN	Sonora
165	SONO 155	ONAVEN	Sonora
166	SONO 168	REVENT	Sonora
167	CHIH 230	DULNOR	Chihuahua
168	CHIH 238	HARIN8	Chihuahua
170	SINA 33	DULNOR	Sinaloa
171	SINA 87	DULNOR	Sinaloa
172	SINA 88	DULNOR	Sinaloa
173	SINA 125	DULNOR	Sinaloa
174	CHIS 114	VANDEN	Chiapas
175	CHIS 440	OLOTIL	Chiapas

176	CHIS 562	OLOTIL	Chiapas
177	CHIS 662	ZAPCHI	Chiapas
181	NAYA 41	TABPER	Nayarit
182	QROO 20	DZITBA	Quintana Roo
184	SINA 7	HARIN8	Sinaloa
185	TAMA 125	TUXPEN	Tamaulipas
186	VERA 96	DZITBA	Veracruz
187	CHIS 447	OLOTIL	Chiapas
188	JALI 685	TABLON	Jalisco
189	DURA 86	TABLON	Durango
190	SINA 47	HARIN8	Sinaloa
191	SONO 44	BLASON	Sonora
193	NAYA 70	TABLON	Nayarit
194	SONO 88	ONAVEN	Sonora
195	VERA 97	DZITBA	Veracruz
196	GUER 129	CONEJO	Guerrero
197	DURA 91	BOFO	Durango
198	GUER 195	REVENT	Guerrero
199	GUER 378	TEPECI	Guerrero
200	GUER 203	ELOTOC	Guerrero
201	GUER 214	ELOTOC	Guerrero
202	OAXA 545	ZAPCHI	Oaxaca
203	DURA 94	BOFO	Durango
204	DURA 97	TUXPEN	Durango
205	NAYA 303	JALA	Nayarit
206	NAYA 305	JALA	Nayarit
207	NAYA 306	JALA	Nayarit
208	NAYA 309	JALA	Nayarit
209	NAYA 312	JALA	Nayarit
210	CHIS 594	ZAPGRA	Chiapas
211	CHIS 603	TEHUA	Chiapas
214	DURA 100	BOFO	Durango
215	HIDA 272	TEPECI	Hidalgo
216	HIDA 295	TUXPEN	Hidalgo
217	HIDA 315	OLOTIL	Hidalgo
218	SNLP 340	OLOTIL	San Luis Potosí
219	SNLP 348	TEPECI	San Luis Potosí
220	SNLP 363	TUXPEN	San Luis Potosí
221	VERA 750	TUXPEN	Veracruz

222	VERA 773	TEPECI	Veracruz
223	VERA 788	OLOTIL	Veracruz
224	OAXA 849	ZAPCHI	Oaxaca
225	OAXA 853	ZAPGRA	Oaxaca
226	OAXA 856	ZAPGRA	Oaxaca
227	OAXA 864	ZAPCHI	Oaxaca
228	OAXA 884	ZAPCHI	Oaxaca

Cuadro 14.A. Cálculos para la cuantificación de DNA en el Nanodrop a 500 ng/μl.

User:				
Sample ID	ng/μl	DNA	H2O	ng/μl
water sigma/moni.	0			
2	1119.28	134	366	500
3	832.72	180	320	500
4	680.52	220	280	500
5	924.15	162	338	500
6	552.28	272	228	500
7	564.52	266	234	500
m8	1159.89	129	371	500
10	1637.21	92	408	500
11	384.48	390	110	500
13	1010.49	148	352	500
14	929.56	161	339	500
15	1459.68	103	397	500
16	985.65	152	348	500
17	1753.79	86	414	500
18	846.08	177	323	500
19	495.9	302	198	500
20	343.01	437	63	500
21	657.67	228	272	500
22	929.26	161	339	500
23	1306.35	115	385	500
24	989.83	152	348	500
25	1902.54	79	421	500
26	1606.68	93	407	500
27	2063.32	73	427	500
28	1362.64	110	390	500
29	1444.93	104	396	500
30	939.57	160	340	500
31	586.19	256	244	500
32	860.76	174	326	500
33	422.39	355	145	500
36	1826.32	82	418	500
37	979.95	153	347	500
38	1309.87	115	385	500
41	372.41	403	97	500
42	593.17	253	247	500
43	1156	130	370	500
44	1066.84	141	359	500

User:				
Sample ID	ng/ μ l	DNA	H2O	ng/ μ l
water sigma/moni.	0			
45	1067.93	140	360	500
46	987.67	152	348	500
48	661.81	227	273	500
49	1211.6	124	376	500
50	578.85	259	241	500
51	976.17	154	346	500
53	1190.26	126	374	500
54	1326.96	113	387	500
55	1683.69	89	411	500
56	614.68	244	256	500
57	1160.92	129	371	500
58	674.11	223	277	500
59	1027.73	146	354	500
60	922.92	163	337	500
61	635.3	236	264	500
62	499.69	300	200	500
64	1147.67	131	369	500
65	443.32	338	162	500
67	648.99	231	269	500
68	590.58	254	246	500
69	484.49	310	190	500
70	648.22	231	269	500
71	605.16	248	252	500
72	643.85	233	267	500
73	486.73	308	192	500
78	1163.7	129	371	500
79	1175.78	128	372	500
80	1540.68	97	403	500
81	1017.71	147	353	500
82	596.67	251	249	500
83	532.63	282	218	500
84	187.54	800	-300	500
85	980.74	153	347	500
86	655.3	229	271	500
87	694.58	216	284	500
88	564.01	266	234	500
89	540.55	277	223	500

User:				
Sample ID	ng/ μ l	DNA	H2O	ng/ μ l
water sigma/moni.	0			
90	491.53	305	195	500
91	335.81	447	53	500
92	1027.61	146	354	500
93	1031.25	145	355	500
94	433.8	346	154	500
96	631.42	238	262	500
97	853.88	176	324	500
100	1325.5	113	387	500
101	619.34	242	258	500
102	899.14	167	333	500
103	670.76	224	276	500
104	1256.02	119	381	500
106	1683.44	89	411	500
107	1243.9	121	379	500
108	847.12	177	323	500
109	147.27	1019	-519	500
110	1187.18	126	374	500
111	1153.69	130	370	500
114	891.91	168	332	500
115	998.64	150	350	500
116	639.91	234	266	500
117	1180.88	127	373	500
118	505.85	297	203	500
119	947.05	158	342	500
120	968.42	155	345	500
121	222.63	674	-174	500
122	1092.15	137	363	500
123	957.65	157	343	500
124	485.95	309	191	500
125	1080.99	139	361	500
127	1333.47	112	388	500
128	405.58	370	130	500
129	572.14	262	238	500
130	1104.34	136	364	500
131	693.07	216	284	500
132	1226.56	122	378	500
134	958.48	156	344	500

User:				
Sample ID	ng/ μ l	DNA	H2O	ng/ μ l
water sigma/moni.	0			
135	1215.18	123	377	500
136	997.91	150	350	500
137	1222.59	123	377	500
138	596.03	252	248	500
139	700.1	214	286	500
140	662.2	227	273	500
142	887.02	169	331	500
143	1145.28	131	369	500
144	878.2	171	329	500
145	1209.82	124	376	500
146	1736.56	86	414	500
147	1743.15	86	414	500
148	1576.79	95	405	500
149	1655.94	91	409	500
150	972.39	154	346	500
m151	982.02	153	347	500
152	1194.64	126	374	500
153	1309.21	115	385	500
154	825.46	182	318	500
155	817.61	183	317	500
156	929.38	161	339	500
157	822.85	182	318	500
158	991.88	151	349	500
159	1281.88	117	383	500
160	1868.97	80	420	500
161	1252.83	120	380	500
162	1421.67	106	394	500
163	959.85	156	344	500
164	963.6	156	344	500
165	933.96	161	339	500
166	686.24	219	281	500
167	631.74	237	263	500
168	1105.32	136	364	500
170	969.73	155	345	500
171	616.94	243	257	500
172	674.8	222	278	500
173	1506.66	100	400	500

User:				
Sample ID	ng/ μ l	DNA	H2O	ng/ μ l
water sigma/moni.	0			
174	875.72	171	329	500
175	884.71	170	330	500
176	795.76	188	312	500
177	925.18	162	338	500
181	953.07	157	343	500
182	1442.52	104	396	500
184	1131.85	133	367	500
185	1001.01	150	350	500
186	1120.1	134	366	500
187	1558.89	96	404	500
188	862.02	174	326	500
189	672.89	223	277	500
190	1505.35	100	400	500
191	562.35	267	233	500
193	496.53	302	198	500
194	467.26	321	179	500
195	490.6	306	194	500
196	450.57	333	167	500
197	482.73	311	189	500
198	625.31	240	260	500
199	610.36	246	254	500
200	966.16	155	345	500
201	1271.53	118	382	500
202	1894.2	79	421	500
203	879.69	171	329	500
204	2033.69	74	426	500
205	1634.95	92	408	500
206	1837.82	82	418	500
207	2156.18	70	430	500
208	1861.66	81	419	500
209	2681.28	56	444	500
210	1945.1	77	423	500
211	2072.22	72	428	500
214	1548.98	97	403	500
215	1372.53	109	391	500
216	1686.74	89	411	500
217	1823	82	418	500

User:				
Sample ID	ng/ μ l	DNA	H2O	ng/ μ l
water sigma/moni.	0			
218	1680.83	89	411	500
219	1969.99	76	424	500
220	1252.34	120	380	500
221	1152.52	130	370	500
222	1685.82	89	411	500
223	1467.65	102	398	500
224	1328.66	113	387	500
225	1620.06	93	407	500
226	1464.15	102	398	500
227	1570.58	96	404	500
228	1091.2	137	363	500

Cuadro 15.A. Cálculos para las PCRs (Reacción en Cadena de la Polimerasa) de los 30 marcadores moleculares tipo SSR.

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi109275	1.5
ADN	1.5
H ₂ Odd	4.25
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi056	1
ADN	1.5
H ₂ Odd	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc1917	1
ADN	1.5
H ₂ Odd	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc2047	0.7
ADN	1.5
H ₂ Odd	5.05
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc2250	1
ADN	1.5
H ₂ Odd	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
nc133	1.5
ADN	1.5
H ₂ Odd	4.25
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi090	1
ADN	1.5
H ₂ Odd	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi127	1
ADN	1.5
H₂Odd	4.75
Enzima Taq.	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi374118	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc1266	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi079	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi076	2
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	3.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi109188	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi008	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc1447	0.8
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.95
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc1332	0.7
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	5.05
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi075	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi299852	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi034	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc1545	0.8
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.95
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi114	2
ADN	1.5
H₂O_{dd}	3.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc1304	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc1161	1.5
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.25
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi065	2
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	3.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi108411	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi063	1.5
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.25
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc1367	0.8
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.95
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi084	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
umc1196	0.6
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	5.15
Enzima Taq	0.15
Total	10

Reactivo	10 µl de 1RXN
Amortig. Taq (10x)	1
dNTP (2.5 mM)	1.2
MgCl ₂ (50mM)	0.4
phi102228	1
ADN	1.5
H ₂ O _{dd}	4.75
Enzima Taq	0.15
Total	10