

## VARIACIÓN ISOENZIMÁTICA EN POBLACIONES DE TEOCINTLE

## ISOZIMATIC VARIATION OF TEOSINTE POPULATIONS

Gabriel Rincón Enríquez<sup>1\*</sup>, Porfirio Ramírez Vallejo<sup>1</sup>, José de Jesús Sánchez González<sup>2</sup> y  
T. Ángel Kato Yamakake<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa en Genética, Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carr. México-Texcoco. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. C.P. 56230. Tel. 01 (595) 952-0200 Ext. 1590. Correo electrónico: grincone@yahoo.com <sup>2</sup> Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara. Km. 15.5 Carr. Guadalajara-Nogales, Predio Las Agujas, Nextipac. C.P. 45110. Zapopan, Jalisco

\* Autor para correspondencia

## RESUMEN

Para estimar el grado de variación genética del teocintle (*Zea mays* ssp.), se analizaron 27 loci isoenzimáticos codificados por 17 sistemas enzimáticos, en geles de almidón, en 46 a 50 individuos de cada una de seis poblaciones. La variación genética se estimó con base en el número promedio de alelos por locus (NPAL), porcentaje de polimorfismo (P), heterocigocidad observada y esperada ( $H_o$  y  $H_e$ ), índice relativo de heterocigotos (IRH) e índice de Shannon (IS). Los resultados mostraron que para NPAL y P el promedio para las seis poblaciones fue de 2.24 y 62 %, respectivamente. El análisis de  $H_o$  y  $H_e$  reveló que la variación genética en las poblaciones de teocintle fue alta, con valores promedio de 0.13 y 0.19, respectivamente. El IRH reveló una deficiencia de individuos heterocigotos (promedio de -0.33). El IS mostró gran diversidad en las seis poblaciones (0.35). Las poblaciones con mayor variación genética fueron las pertenecientes a *Zea mays* ssp. *mexicana*, seguidas por aquéllas de *Z. m.* ssp. *parviglumis* y *Z. diploperennis*.

**Palabras clave:** *Zea mays* ssp. *mexicana*, *Z. m.* ssp. *parviglumis*, *Z. diploperennis*, isoenzimas, diversidad genética, polimorfismo, frecuencias alélicas

## SUMMARY

The degree of genetic variation in teosinte (*Zea mays* ssp.), was analyzed with starch gels in 27 isozymic loci, codified by 17 enzymatic systems, in 46 to 50 individuals from each of six populations. The genetic variation was estimated based on the average number of alleles per locus (NPAL), polymorphism percentage (P), observed and expected heterozygosity ( $H_o$  and  $H_e$ ), heterozygote relative index (IRH) and Shannon index (IS). For NPAL and P, the average for the six populations was 2.24 and 62 %, respectively. The analysis of  $H_o$  and  $H_e$  revealed that the genetic variation in the teosinte populations was high, with average values of 0.13 and 0.19, respectively. The IRH revealed a deficiency of heterozygote genotypes (average of -0.33). The IS showed great diversity in the six populations (0.35). The populations with greatest genetic variation belonged to *Zea mays* ssp. *mexicana*, followed by those of *Z. m.* ssp. *parviglumis* and *Z. diploperennis*.

**Index words:** *Zea mays* ssp. *mexicana*, *Z. m.* ssp. *parviglumis*, *Z. diploperennis*, isozymes, genetic diversity, polymorphism, allele frequencies

## INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* ssp. *mays*) es uno de los principales cultivos en el mundo, con 139 millones de hectáreas sembradas en 2002 y un rendimiento promedio de 4.34 t ha<sup>-1</sup>. En México se cultivan aproximadamente 7 millones de hectáreas, con un rendimiento promedio de 2.43 t ha<sup>-1</sup> (FAO, 2003). Particularmente en regiones productoras altamente especializadas, se estima que para el año 2025 el rendimiento de maíz deberá incrementarse a 5.8 t ha<sup>-1</sup> en el mundo, para satisfacer el consumo de una población creciente (Borlaug y Dowsell, 1994). El logro de esta meta depende de factores múltiples, de los que el mejoramiento genético es uno de los de mayor importancia.

El maíz aún cuenta con una enorme variación genética poco explotada (Castillo, 1993; Goodman, 1991), además de la contenida en los parientes silvestres, como los teocintles anuales (*Zea mays* ssp. *mexicana* (Schrader) Iltis; ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley; ssp. *huehuetenangensis* (Iltis & Doebley) Doebley y *Zea luxurians* (Durieu & Ascherson) Bird), o los perennes (*Zea perennis* (Hitchc.) Reeves & Mangelsdorf y *Zea diploperennis* Iltis, Doebley & Guzmán), que han mostrado tener potencial como fuente de resistencia a factores adversos, con la cual sería posible la generación de variantes (Nault *et al.*, 1982; Sánchez-Velásquez, 1991).

Es de vital importancia, para definir los enfoques y los métodos de mejoramiento, el ahondar en el entendimiento

de la naturaleza y cantidad de la variación presente en las variedades nativas cultivadas y de sus parientes silvestres, al igual que tomar conciencia de las pérdidas causadas por la erosión de los recursos genéticos y determinar la manera más racional para preservarlos (Muñoz *et al.*, 1999), así como definir métodos y estrategias para su aprovechamiento. De los parientes silvestres del maíz, el teocintle (*Zea mays* ssp. *mexicana*) es uno de los más importantes porque forma híbridos fértiles con maíz, lo que facilita el intercambio genético con el maíz cultivado (Kathen, 1998). La facilidad de la hibridación podría ser una herramienta útil para incrementar la variación existente en el maíz, sobre todo en relación con elementos genéticos asociados con la tolerancia a factores bióticos y abióticos, y con la productividad en general.

Los estudios citológicos de McClintock (1959) y de Wellhausen y Prywer (1954) apoyan fuertemente la existencia de un intercambio cromosómico del maíz con el teocintle y con el *Tripsacum*. Los trabajos de Mangelsdorf y Reeves (1931, 1935) demostraron los efectos del intercambio cromosómico entre maíz y teocintle y entre maíz y *Tripsacum*, así como la existencia en maíz de caracteres provenientes de las especies silvestres relacionadas, como causa de variación debida a introgresión (Brauer, 1985) que podría utilizarse en programas de mejoramiento genético del maíz.

Una estimación de la variación genética presente en una población mediante la técnica de isoenzimas, permitiría resumir la información obtenida para todos los *loci* de una manera que exprese el grado de variación de la población y su comparación con otras; tal estimación puede efectuarse con diversas medidas de variación genética, como el polimorfismo y la heterocigocidad observada y esperada (Ayala y Kiger, 1984). En comparación con los caracteres morfológicos, la técnica de isoenzimas ofrece la ventaja de ser menos afectada por las condiciones ambientales, y en comparación con otras técnicas moleculares presenta la ventaja de ser más simple y permitir la expresión genética simple (codominante). Sin embargo, las isoenzimas no abundan en tejidos vegetales y muchas de ellas presentan patrones de expresión genética variables entre tejidos y grados de desarrollo del individuo (Campos, 1995).

Las poblaciones de teocintle han mostrado gran variación, aunque el tamaño de muestra utilizado ha sido limitado. Doebley *et al.* (1984) usaron de 12 a 25 plantas por población para 21 *loci* en 18 poblaciones de *Zea mays* ssp. *parviglumis*; la heterocigocidad esperada por población fue de 0.261 y la heterocigocidad total para el taxón de 0.311, mientras que el polimorfismo por población fue de 0.69 y, en las 18 poblaciones en promedio todos los *loci* fueron

polimórficos; el número de alelos para el taxón fue de 6.6. Doebley *et al.* (1985) también describen las medidas de diversidad para el maíz común (*Z. mays* ssp. *mays*), que fueron de 0.182 y 0.251 para la heterocigocidad esperada por población y total del taxón, en tanto que el polimorfismo por población y para el taxón fueron de 0.50 y 0.91, y el número de alelos para el taxón fue 7.1 en 23 *loci* de 94 poblaciones, con 12 individuos por población.

Para maíz, Sánchez *et al.* (2000) encontraron que los niveles de heterocigocidad esperada por población y taxón fueron de 0.212 y 0.269, resultados que indican mayor variabilidad en teocintle que en maíz. Doebley (1989) encontró una mayor diversidad dentro de poblaciones de *Z. mays* ssp. *parviglumis* ( $H_e=0.26$ ) que entre poblaciones ( $D_{st}=0.16$ ); es decir, la diferencia entre poblaciones se debe a 16 % de genotipos heterocigotos (de un total:  $H_t=0.31$ ), y dentro de cada población se encuentran aproximadamente 84 % de los heterocigotos. Otras técnicas moleculares como los microsatélites, también han indicado gran variabilidad en genes específicos del maíz y del teocintle (Phelps *et al.*, 1996). En México, al trabajar con generaciones del tercer retrocruzamiento a maíz de la cruz maíz-teocintle, Casas *et al.* (2001) encontraron modificaciones significativas en caracteres de importancia económica y en la producción de variabilidad no observada en las líneas originales.

El conocimiento de la variación fenotípica y genotípica existente en las poblaciones silvestres puede ser de utilidad en el diseño de métodos y estrategias en programas de mejoramiento genético de especies cultivadas. En este trabajo se estimó la variación genética de poblaciones mexicanas de teocintle anual (*Zea mays* ssp. *mexicana* y ssp. *parviglumis*) y perenne (*Zea diploperennis*), mediante diferentes parámetros genético-estadísticos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material genético

Se analizaron seis colecciones de teocintle de diferentes localidades de México (Cuadro 1) provenientes de un programa del uso de especies silvestres de *Zea* en el mejoramiento genético del maíz del Campo Experimental Centro de Jalisco del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) México. Se muestrearon aleatoriamente 50 semillas de cada colección de teocintle, a partir de un lote de semillas del Banco de Germoplasma del Campo Experimental Valle de México del INIFAP.

Cuadro 1. Características taxonómicas y origen geográfico de las colecciones de teocintle utilizadas en este estudio.

Colección <sup>†</sup>	Especie <sup>††</sup> y raza	Lugar de recolección			
		Latitud N	Longitud W	Altitud (m)	Localidad
JSGyLOS48	Zmm <sup>†††</sup>				
	Mesa Central	20° 09´	102° 05´	1850	Cerro Churintzio, Churintzio, Michoacán
JSGyLOS93	Zmm Chalco	19° 05´	98° 47´	2450	Amecameca, México
JSGyLOS106	Zmp <sup>†</sup>				
	Guerrero	17° 26´	99° 28´	1350	Mazatlán, Chilpancingo, Guerrero
JSG197	Zmp				
	Oaxaca	16° 20´	97° 02´	1120	San Cristóbal Honduras, Juchatengo, Oaxaca
JSG200	Zmp				
	Jalisco	19° 33´	104° 03´	1460	El Rodeo-La Lima, Tolimán, Jalisco
UDG	Zdiplo <sup>††</sup>	19° 35´	104° 17´	1800	Las Joyas, Cuautitlán, Jalisco

<sup>†</sup> Proporcionado por el Campo Experimental Valle de México del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Pecuarías y Forestales. JSG= JJ Sánchez G; LOS= L Ordaz S; UDG= Unidad Experimental "Las Joyas" de la Universidad de Guadalajara, México.

<sup>††</sup> Según la clasificación que aparece en Doebley (1990).

<sup>†††</sup> Zmm = *Zea mays* ssp. *mexicana*.

<sup>†</sup> Zmp = *Zea mays* ssp. *parviglumis*.

<sup>††</sup> Zdiplo = *Zea diploperennis*.

### Análisis isoenzimático

Las semillas de teocintle fueron escarificadas manualmente y germinadas en toallas de papel sobre charolas a 30 °C durante 8 a 9 d, hasta obtener coleóptilos de al menos 4 a 5 cm de longitud en cada individuo. Este tejido se maceró en un tubo eppendorf, se agregó solución amortiguadora de extracción (16.7 % de sacarosa y 8.3 % de ácido ascórbico, y pH de 7.38) y se centrifugó a 17 968 g durante 10 min a -10 °C para separar las enzimas (sobrenadante). Las muestras se almacenaron a -60 °C hasta el corrimiento electroforético. La preparación de los geles de almidón y de soluciones como la de tinción, amortiguadores para gel y para electrodos, así como las instrucciones y condiciones para el corrimiento electroforético, tinción y revelado, empaquetado, e interpretación genética de los fenotipos electroforéticos en cada sistema enzimático, se hizo con el protocolo descrito por Stuber *et al.* (1988). Los sistemas enzimáticos analizados se enlistan en el Cuadro 2.

### Medición de variación genética

El cálculo de las frecuencias génicas se realizó según Hedrick (1985) y Molina (1992), a partir de las lecturas del patrón observado de los zimogramas para cada sistema revelado, con el paquete estadístico SAS version 6.11 (Statistical Analysis System) (1988). En los casos donde se presentó un *locus* con dominancia y codominancia (*Mdh5*, *Pgd1*, *Idh1*), se hicieron algunos ajustes con base en derivaciones propuestas por el Dr. M. M. Goodman de la Universidad de Carolina del Norte, Raleigh, EE.UU. y usados por Rincón (Com. Personal<sup>1</sup>).

Para estimar la magnitud de variación genética en cada población de teocintle, se calcularon los índices siguientes (Ayala y Kiger, 1984):

a) Número total de alelos por población (*NAT*), mediante la suma del número de alelos observados en todos los *loci* analizados:

$$NAT = \sum_{i=1}^n L(a)_i \quad (\text{Ec. 1})$$

donde:  $L(a)_i$  = Número de alelos del *i*-ésimo *locus* y *n* = Número de *loci* totales.

b) Número promedio de alelos por locus (*NPAL*), mediante la relación entre el número total de alelos de cada locus (Ec. 1) y el número total de *loci*:

$$NPAL = NAT/L_n \quad (\text{Ec. 2})$$

donde:  $L_n$  = *Loci* totales.

c) *Loci* polimórficos o polimorfismo (*P*), al considerar un *locus* polimórfico cuando el alelo más común presentó una frecuencia menor o igual a 0.99 (Hedrick, 1985):

$$P = x / m$$

$$V(P) = [P - (1 - P)]/m \quad (\text{Ec. 3})$$

donde: *P* = Polimorfismo; *V(P)* = Varianza de *P*; *x* = Número de *loci* polimórficos; *m* = Total de *loci* examinados.

<sup>1</sup> Gabriel Rincón Enríquez. 2001. Análisis molecular del flujo genético teocintle-maíz en México. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados.

Cuadro 2. Sistemas enzimáticos analizados, número de loci involucrados, localización cromosómica en el genoma de Zea y tipo de acción génica de cada sistema<sup>†</sup>.

Sistema enzimático	Clave	Loci	Cromosoma de Zea	Tipo de acción génica <sup>††</sup>	
				C	D
Fosfatasa ácida	Acp	2	1, 9	<i>Acp1, Acp2</i>	
Arginina aminopeptidasa	Amp	2	1, 5	<i>Amp1, Amp2</i>	
Catalasa	Cat	1	4	<i>Cat3</i>	
Diaforasa	Dia	2	1, 2	<i>Dia1, dia 2</i>	
Endopeptidasa	Enp	1	6	<i>Enp1</i>	
Esterasa	E8	1	3	<i>E8</i>	
Glutamato deshidrogenasa	Gdh	1	1	<i>Gdh1</i>	
β-Glucosidasa	Glu	1	10	<i>Glu1</i>	
Glutamato oxolacetato transaminasa	Got	3	3, 5	<i>Got1, Got2, Got3</i>	
Hexoquinasa	Hex	2	3, 6	<i>Hex1, Hex2</i>	
Isocitrato deshidrogenasa	Idh	2	6, 8	<i>Idh2</i>	<i>Idh1</i>
Malato deshidrogenasa	Mdh	5	1, 3, 5, 6, 8	<i>Mdh1, 2, 3 y 4</i>	<i>Mdh5</i>
Enzima málica	Me	1	3	<i>Me1</i>	
6-Fosfogluconato deshidrogenasa	Pgd	2	3, 6	<i>Pgd2</i>	<i>Pgd1</i>
Fosfoglucomutasa	Pgm	2	1, 5	<i>Pgm1, Pgm2</i>	
Fosfato isomerasa	Phi	1	1	<i>Phi1</i>	
Ácido shikímico deshidrogenasa	Sad	1	10	<i>Sad1</i>	
<b>Total</b>	<b>17</b>	<b>30</b>	<b>---</b>	<b>27</b>	<b>3</b>

<sup>†</sup> Según Stuber *et al.* (1988).<sup>††</sup> Acción génica: C = codominancia; D = dominancia.

d) *Heterocigocidad esperada (H<sub>E</sub>)*, con los datos de las frecuencias génicas se calculó la frecuencia teórica o esperada promedio de individuos heterocigóticos en un *locus* de acuerdo con la Ley de Hardy-Weinberg, utilizando la fórmula siguiente (Hedrick, 1985):

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \quad (\text{Ec. 4})$$

donde: H<sub>e</sub>=Heterocigocidad esperada; p<sub>i</sub>=Frecuencia génica del i-ésimo alelo por *locus*, n=Número de alelos en un *locus*.

Al considerar r número de *loci* y corregir el sesgo por el tamaño de muestra (n) según Nei (1978) la H<sub>e</sub> en (Ec. 4) se convierte en la relación siguiente:

$$H_E = \left[ \frac{2n}{(2n-1)} \right] \left[ \frac{\sum_{i=1}^r H_{e_i}}{r} \right] \quad (\text{Ec. 5})$$

donde: n=Número de individuos en la población analizada; H<sub>E</sub>=Heterocigocidad esperada para un *locus*.

A la heterocigocidad esperada también se le conoce como diversidad genética (Pasteur *et al.*, 1988).

e) *Heterocigocidad observada (H<sub>O</sub>)*, es la frecuencia promedio de individuos heterocigóticos en cada *locus* o para varios *loci* (Ayala y Kiger, 1984), y su estimación para un *locus* es:

$$H_i = \frac{h_i}{n} \quad (\text{Ec. 6})$$

donde: H<sub>i</sub>=Heterocigocidad observada en el *locus* i-ésimo; h<sub>i</sub>=Número de individuos heterocigóticos para el *locus* i; n=Individuos totales analizados en la población.

Para varios *loci* y corrigiendo el sesgo por el tamaño de muestra (n) según Nei (1978), la H<sub>O</sub> se estima con la ecuación siguiente:

$$H_O = \left[ \frac{2n}{(2n-1)} \right] \frac{\sum_{i=1}^r H_i}{r} \quad (\text{Ec. 7})$$

donde: H<sub>i</sub>=Heterocigocidad observada en el *locus* i-ésimo; r=Número de *loci* analizados en la población; n=Número de individuos en la población analizada.

f) *Índice Relativo de Heterocigotes (IRH)*, que permite identificar el exceso o deficiencia de heterocigotes, en función del equilibrio de Hardy-Weinberg. Se calcula de la forma siguiente (Rincón, *Op. cit.*):

$$IRH = \frac{H_O}{H_E} - 1 \quad (\text{Ec. 8})$$

donde: H<sub>O</sub>=Heterocigocidad observada; H<sub>E</sub>=Heterocigocidad esperada.

g) *Índice de Shannon*, que indica la diversidad genética de una población (Yeh, 1999); sus valores van de cero (nula variación) hasta la unidad (100 % de variación).

Estas medidas de variación se calcularon con el programa genético POPGENE para los *loci* que presentaron exclusivamente el tipo de acción genética codominante (Cuadro 2) (Yeh, 1999). Para determinar diferencias entre  $H_e$  y  $H_o$  se aplicó una prueba estadística de  $\chi^2$  (Ayala y Kiger, 1984).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Frecuencias génicas

La mayor parte de los *loci* analizados en las seis poblaciones de teocintle tiene más de un alelo por *locus* (excepto para *Got2*, *Sad1* y *Me*) (Cuadro 3), lo que representa una amplia variación en teocintle con más de 117 alelos. En la Figura 1 se muestra el zimograma con los diferentes alelos para el *locus Glu1* de distintos individuos de la población de *Z. mays* ssp. *mexicana* Mesa Central. Algunos alelos son exclusivos de una población de teocintle. Por ejemplo, la población de *Zea mays* ssp. *mexicana* Chalco tiene cuatro alelos exclusivos, *Acp1*-0.5 y *Acp1*-1, *Cat*-5.5, *Got1*-

5.8, distribuidos en *loci* diferentes. Una situación similar se observa en otras poblaciones de teocintle. Por tanto, al evitar la pérdida de individuos dentro de cada población se evitará una erosión genética en estos parientes silvestres del maíz y permitiría hacer un uso eficiente de los recursos genéticos. La relevancia de este punto es tal que dentro de la misma subespecie (*Zea mays* ssp. *parviglumis*), cada una de las tres poblaciones de los diferentes lugares poseen alelos exclusivos, lo que sugiere la necesidad de conservar dichas poblaciones (Cuadro 3).

### Variación genética

1. Presencia de alelos. El número promedio de alelos por *locus* (NPAL) varió entre las poblaciones de teocintle (Figura 2) con el siguiente gradiente de variación: *Zea mays* ssp. *mexicana* (3.08 alelos) > *Z. mays* ssp. *parviglumis* (2.41 alelos) > *Z. diploperennis* (2.23 alelos). Estos resultados contrastan con los reportados por Doebley *et al.* (1984) quienes encontraron mayor variación en la subespecie *parviglumis* que en la *mexicana*, lo cual es debido a

Cuadro 3. Número de alelos observados en 30 *loci* isoenzimáticos para *Zea mays* ssp. *mexicana* (Zmm) Mesa Central (MC) y Chalco; *Zea mays* ssp. *parviglumis* (Zmp) Guerrero (Gro), Jalisco (Jal) y Oaxaca (Oax) y *Zea diploperennis* (Zdiplo). En negritas alelos exclusivos dentro del *locus*.

Locus	Poblaciones de teocintle					
	Zmm MC	Zmm Chalco	Zmp Gro	Zmp Jal	Zmp Oax	Zdiplo
<i>Acp1</i>	3	<b>5</b>	2	3	2	<b>5</b>
<i>Acp4</i>	6	7	4	<b>7</b>	6	6
<i>Amp1</i>	3	4		2	2	
<i>Amp3</i>	3	4		4	2	1
<i>Cat</i>	2	<b>5</b>	2	2	4	1
<i>Dia1</i>	<b>4</b>	1	1	1	2	1
<i>Dia2</i>	<b>3</b>	2	1	2	1	1
<i>End1</i>	<b>3</b>	3	2	2	2	2
<i>E8</i>	4	4		3	2	3
<i>Gdh1</i>	3	2				
<i>Glu1</i>	7	4		3	5	1
<i>Got3</i>	1	1		2	1	1
<i>Got1</i>	2	<b>3</b>	2	<b>3</b>	2	2
<i>Got2</i>	1	1	1	1	1	1
<i>Hex1</i>	1	1	1		2	
<i>Hex2</i>	4	3	2		1	
<i>Idh1</i>	3	5	3	3	3	<b>5</b>
<i>Idh2</i>	2	3	2	3	<b>4</b>	<b>3</b>
<i>Mdh1</i>	2	3	3	<b>3</b>	2	1
<i>Mdh2</i>	3	3	3	<b>4</b>	3	1
<i>Mdh3</i>	2	2	1	1	<b>2</b>	1
<i>Mdh4</i>	1	1	1	1	1	1
<i>Mdh5</i>	2	2	2	2	2	3
<i>Me1</i>		1	1	1	1	1
<i>Pgd1</i>	3	3		3	2	3
<i>Pgd2</i>	2	1		2	2	1
<i>Pgm1</i>	3	3	3	1	1	
<i>Pgm2</i>	2	1	2	1	1	
<i>Phi1</i>	2	3	2		1	1
<i>Sad1</i>		1			1	1
A. E. <sup>†</sup>	4	4	0	5	2	4
m <sup>††</sup>	96.85	82.46	80.68	89.79	79.32	89.34
CV(m)	11.87	27.33	32.46	22.12	32.74	20.97

<sup>†</sup> A. E. = Número de alelos exclusivos por población.

<sup>††</sup> Tamaño de muestra m, donde m = 2n.

Los espacios en blanco indican que no se determinaron los análisis para ese *locus*.

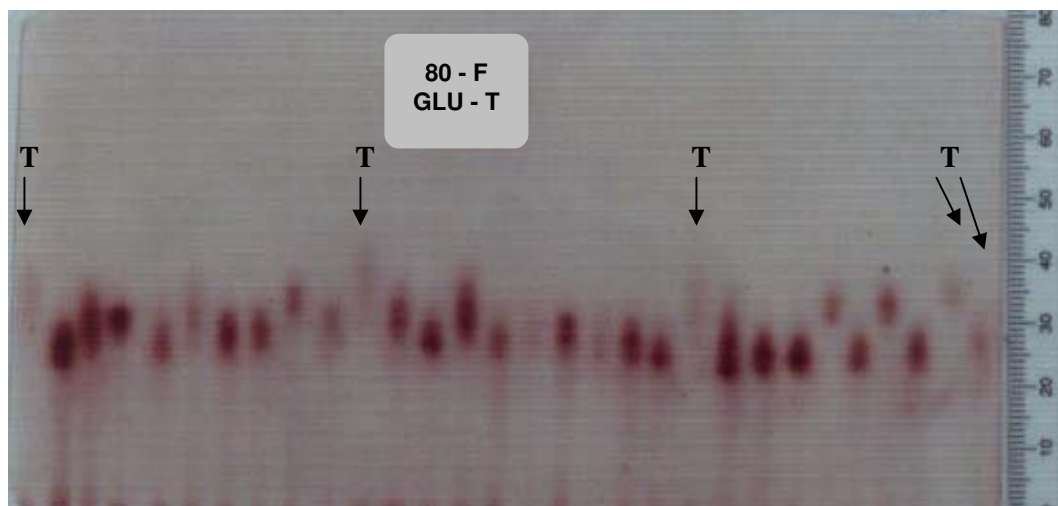


Figura 1. Diversidad alélica en el locus *Glu1* dentro de la población *Zea mays* ssp. *mexicana* Mesa Central (T = Individuos testigo).

que sólo analizaron 12 sistemas enzimáticos (21 *loci*) con un promedio de 14 plantas por población; pero para *Zea diploperennis* hay una total concordancia con respecto a esta medida de variación. Estos resultados indican que el tamaño de muestra juega un papel importante en la cuantificación de la magnitud de la variación, puesto que con tan sólo 14 individuos por población Doebley *et al.* (1984) encontraron menor variación que la registrada en este estudio con un tamaño de muestra conformado entre 37 y 47 individuos por población.

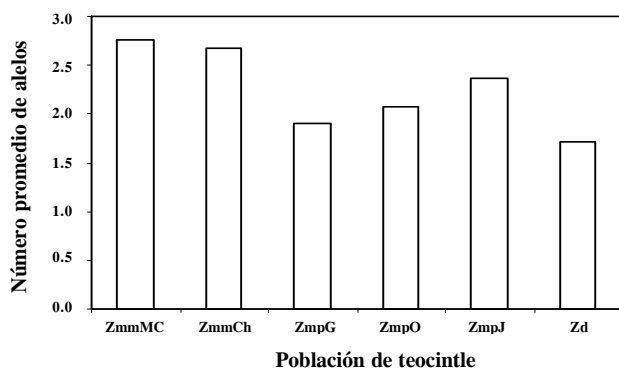


Figura 2. Variación alélica en seis poblaciones de teocintle (Zmm = *Zea mays* ssp. *mexicana* Mesa Central (MC) y Chalco (Ch); Zmp = *Zea mays* ssp. *parviglumis* Guerrero (G), Oaxaca (O) y Jalisco (J) y Zd = *Zea diploperennis*).

2. Diversidad genética: polimorfismo y heterocigocidad. El porcentaje de *loci* polimórficos en promedio para las poblaciones de teocintle fue de 62 % (Cuadro 4); es

decir, más de la mitad de los 27 *loci* analizados fueron polimórficos, lo que denota la existencia de una enorme variación. Aún más, dentro de cada población de teocintle existe una amplia diversidad puesto que se observan intervalos de polimorfismo desde 28 hasta 84 %, con coeficientes de variación relativamente bajos (3 a 6 %).

Los valores obtenidos de  $H_E$  y  $H_O$  para las diferentes poblaciones también muestran una amplia variabilidad genética (Cuadro 4). Las heterocigocidades esperadas ( $H_E$ ) encontradas por Doebley *et al.* (1984) fueron de 0.255 para *Z. diploperennis*, de 0.257 para *Z. mays* ssp. *mexicana* Mesa Central, de 0.233 para Chalco, de 0.313 para ssp. *parviglumis* Guerrero, de 0.129 para Oaxaca y de 0.194 para Jalisco, que contrastan con los valores estimados en este estudio de 0.104, 0.291, 0.276, 0.164, 0.172 y 0.182, respectivamente. Tales diferencias podrían atribuirse, al mayor número de *loci* y plantas por población analizadas en este estudio. Por otro lado, al comparar entre sí a los valores de  $H_E$  y  $H_O$ , no se detectaron diferencias significativas al realizar la prueba de  $\chi^2$ , excepto en *Z. mays* ssp. *mexicana* Chalco, lo que indica que en esta población hay una deficiencia de heterocigotos. El índice relativo de heterocigotos (IRH) indica que en todas las poblaciones hay una deficiencia de genotipos heterocigotos (Figura 3), lo cual sugiere que las poblaciones no están en equilibrio de Hardy-Weinberg, según la prueba de  $\chi^2$ . Esta característica de las poblaciones de teocintle serviría para planificar una mejor estrategia de conservación *in situ* o en bancos de germoplasma; de manera particular previo a la conservación, es necesario hacer que dichas poblaciones entren al equilibrio de Hardy-Weinberg mediante apareamiento aleatorio.

Cuadro 4. Diversidad genética en 27 loci isoenzimáticos de seis poblaciones de teocintle.

Población	Polimorfismo		Heterocigocidad		$\lambda^2$ (Ho: Ho = He)
	%	CV	Observada (H <sub>o</sub> )	Esperada (H <sub>e</sub> )	
<i>Z. mays mexicana</i> Mesa Central	84.00	3.08	0.1988 (0.184) <sup>†</sup>	0.2911 (0.257) <sup>†</sup>	ns
<i>Z. mays mexicana</i> Chalco	66.67	3.32	0.1553 (0.194)	0.2764 (0.223)	*
<i>Z. mays parviglumis</i> Guerrero	63.16	4.07	0.0953 (0.258)	0.1644 (0.313)	ns
<i>Z. mays parviglumis</i> Oaxaca	61.54	3.52	0.1004 (0.092)	0.1726 (0.129)	ns
<i>Z. mays parviglumis</i> Jalisco	68.18	3.64	0.1471 (0.179)	0.1821 (0.194)	ns
<i>Zea diploperennis</i>	28.57	5.72	0.0836 (0.143)	0.1048 (0.255)	ns
<b>Promedio</b>	<b>62.02</b>	<b>3.70</b>	<b>0.1301</b>	<b>0.1986</b>	

<sup>†</sup> Entre paréntesis datos proporcionados por el Dr. Sánchez (Comunicación personal<sup>2</sup>).

\* = Significativo a un nivel  $P \leq 0.10$ ; ns = No significativo.

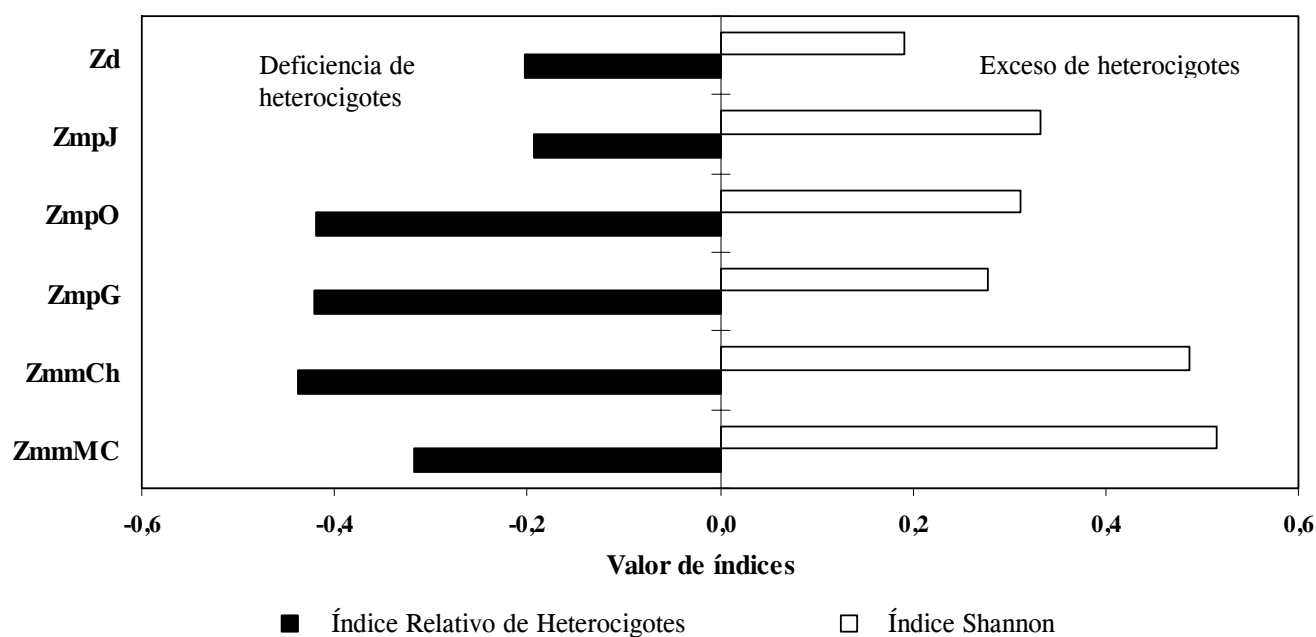


Figura 3. Diversidad genética y equilibrio de Hardy-Weinberg en seis poblaciones de teocintle (Zmm= *Zea mays* ssp. *mexicana* Mesa Central (MC) y Chalco (Ch); Zmp = *Zea mays* ssp. *parviglumis* Guerrero (G), Oaxaca (O) y Jalisco (J) y Zd = *Zea diploperennis*).

<sup>2</sup> Datos proporcionados por el Dr. Jesús Sánchez González a partir de trabajos no publicados de los Drs. Majoor Goodman y Carles Stuber de la Universidad de Carolina del Norte, Raleigh, EE. UU.

Según el Índice de Shannon, el orden de diversidad en las poblaciones es: *Zea mays* ssp. *mexicana* > *Zea mays* ssp. *parviglumis* > *Zea diploperennis* (Figura 3).

Para combinar ambas medidas de variación genética ( $P$  y  $H_E$ ), se graficaron los valores de heterocigocidad esperada y de porcentaje de *loci* polimórficos por población (Figura 4). Las poblaciones pertenecientes a *Zea mays* ssp. *mexicana* (Mesa Central y Chalco "ZMM") mostraron los valores más altos de variación, seguidas de las tres poblaciones de *Zea mays* ssp. *parviglumis* (Jalisco, Oaxaca y Guerrero "ZMP"); la que menor variación mostró fue la especie *Zea diploperennis* ("ZD"). Este gradiente de variación coincide con el observado mediante el índice de Shannon (IS) en la Figura 3. Es importante hacer notar que *Z. mays* ssp. *parviglumis* muestra una escasa variación entre sus tres poblaciones analizadas, lo cual coincide con lo señalado por Doebley (1989) y que contrasta con lo observado para *Z. mays* ssp. *mexicana*. Es decir, los resultados muestran una mayor variación entre las poblaciones de la subespecie *mexicana* que en las de *parviglumis*.

Estudios comparativos de otras especies cultivadas con sus parientes silvestres, han detectado la existencia de mayor variabilidad genética en las segundas que en las primeras (Labdi *et al.*, 1996; Aldrich *et al.*, 1992; Gepts, 1994;

Doebley, 1989). Esto no se presenta en el caso de maíz con sus parientes silvestres (teocintles), puesto que en el estudio de Doebley *et al.* (1984) se detectaron niveles altos de variación en el maíz ( $H_E=0.215$ ), similares a los aquí observados (Cuadro 4). Esto indica que el género *Zea* presenta altos niveles de variación, posiblemente por el continuo flujo de genes entre maíz y teocintle, como lo menciona Rincón (*Op. cit.*).

## CONCLUSIONES

De los 27 *loci* estudiados en el teocintle, 62 % fueron polimórficos con un promedio de 2.25 alelos por *locus*, con 0.13 de heterocigocidad observada y 0.20 de heterocigocidad esperada. Estos valores indican una gran variación observada en esta subespecie de *Zea mays*, que puede utilizarse como fuente de germoplasma en programas de mejoramiento genético de maíz. La presencia de alelos exclusivos en teocintle plantea la importancia de la conservación de estos parientes silvestres del maíz, con el fin de evitar la erosión genética.

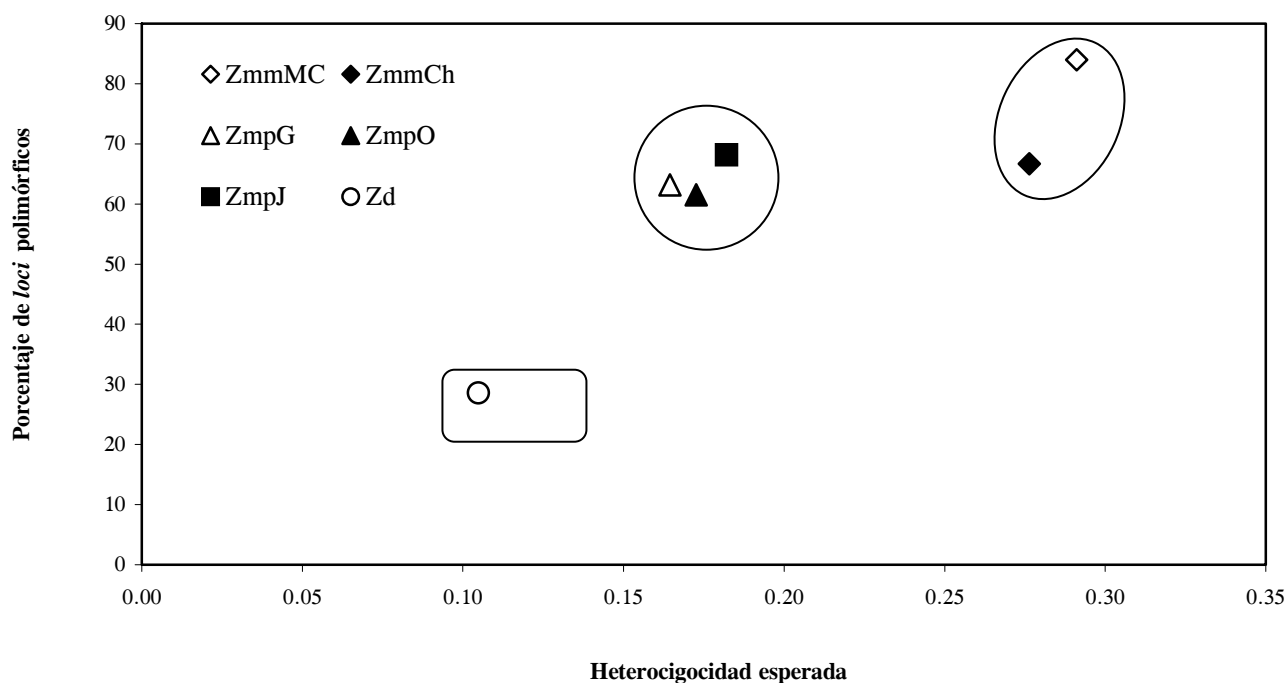


Figura 4. Variación genética entre poblaciones de teocintle (Zmm = *Zea mays* ssp. *mexicana* Mesa Central (MC) y Chalco (Ch); Zmp = *Zea mays* ssp. *parviglumis* Guerrero (G), Oaxaca (O) y Jalisco (J) y Zd = *Zea diploperennis*).



## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo formó parte del Proyecto "MILPA" financiado por The McKnight Foundation. El primer autor agradece al CONACyT la beca otorgada para la realización de estudios de postgrado.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aldrich P R, J Doebley, K F Schertz, A Stec (1992) Patterns of allozyme variation in cultivated and wild *Sorghum bicolor*. Theor. Appl. Genet. 85:451-460.
- Ayala J F, J A Kiger Jr (1984) Genética Moderna. E Bautista, E Pachón, en colaboración con A Prevosti, R Villalobos P. (trads). Ediciones Omega. Barcelona, España. pp:597-627.
- Borlaug E N, C R Dowsell (1994) Feeding a human population that increasingly crowds a fragile planet. Suppl. Transactions, 15th World Congress of Soil Sci.. Acapulco, México. 15 p.
- Brauer H O (1985) Fitogenética Aplicada. Editorial Limusa. México. 518 p.
- Campos A H (1995) Marcadores moleculares: conceptos. Agro Sur 23:68-75.
- Casas S J F, J J Sánchez G, L Ramírez D, J Ron P, S Montes H (2001) Rendimiento y sus componentes en retrocruzas maíz-teocintle. Rev. Fitotec. Mex. 24:17-26.
- Castillo G F (1993) La variabilidad genética y el mejoramiento de los cultivos. Ciencia (número especial) 44:69-79.
- Cohen J I, W C Galinat (1984) Potential use of alien germplasm for maize improvement. Crop Sci. 24:1011-1015.
- Doebley J (1989) Isozymic evidence and the evolution of crop plants. In: Isozymes in Plant Biology. E D Soltis, P S Soltis (eds). Advances in Plant Sciences Series Vol. 4. Dioscorides Press. Portland, Oregon. pp:165-191.
- Doebley J (1990) Molecular systematic of *Zea* (Gramineae). Maydica 35:143-150.
- Doebley J, M M Goodman, C W Stuber (1984) Isoenzymatic variation in *Zea* (Gramineae). Syst. Bot. 9:203-218.
- Doebley J, M M Goodman, C W Stuber (1985) Isozyme variation in the races of maize from México. Amer. J. Bot. 72:629-639.
- FAO (2003) FAOSTAT: Statistics Database. <http://apps.fao.org/>.
- Gepts P (1994) Análisis moleculares del proceso de domesticación en plantas: el ejemplo del frijol común (*Phaseolus vulgaris*). In: Memorias XI Congreso Latinoamericano de Genética y XV Congreso de Fitogenética. Sep. 25-30, Monterrey, Nuevo León. pp:3-28.
- Goodman M M (1991) Retos y perspectivas para el fitomejoramiento futuro: uso del germoplasma y de la genética molecular. Rev. Fitotec. Mex. 14:11-22.
- Hedrick W P (1985) Genetics of Populations. Jones and Bartlett Pub. Boston, USA. 627 p.
- Kathen A (1998) El impacto de la introducción de cultivos transgénicos en la diversidad biológica de los países en desarrollo. Monitor de Biotecnología y Desarrollo (compendio 1995-1997). University of Amsterdam. Amsterdam, The Netherlands. pp:24-29.
- Labdi M, L D Robertson, K B Singh, A Charrier (1996) Genetic diversity and phylogenetic relationships among the annual *Cicer* species as revealed by isozymes polymorphism. Euphytica 88:181-188.
- Magoja J L, G Pischedda (1986) Introgression of teosinte germplasm in maize: a method to improve heterosis and variability. Maize Genet. Coop. Newslett. 60:82-83.
- Mangelsdorf P C, R G Reeves (1931) Hybridization of *Zea*, *Tripsacum* and *Euchlaena*. J. Hered. 22:329-343.
- Mangelsdorf P C, R G Reeves (1935) A trigeric hybrid of *Zea*, *Tripsacum* and *Euchlaena*. J. Hered. 26:129-140.
- McClintock B (1959) Genetic and Cytological Studies of Maize. Carnegie Institution of Washington Yearbook 58:452-456.
- Molina G J D (1992) Introducción a la Genética de Poblaciones y Cuantitativa (algunas implicaciones en genotecnia). AGT Editor. México. 349 p.
- Muñoz O A, A Santacruz, J I Olvera, O Taboada, J A Cuevas (1999) Diversidad del maíz en los nichos ecológicos de México. In: Simposium de Recursos Genéticos para el Mejoramiento de los Cultivos. F Zavala G, F Rincón S, P Ramírez V, F Castillo G, J Sahagún C, J A Cuevas S (eds). Oct. 6-11, SOMEFI. Montecillo, México. pp:15-29.
- Nault L R, D T Gordon, V D Damsteegt, H H Iltis (1982) Response of annual and perennial teosintes (*Zea*) to six maize virus. Plant Dis. 66:61-62.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89:583-590.
- Pasteur N, G Pasteur, F Bonhome, J Catalan, J Britton-Davidian, M Cobb (1988) Practical Isozyme Genetics. John Wiley & Sons. Great Britain. 215 p.
- Pischedda G, J L Magoja (1987a) Potential use of diploperennial teosinte germplasm for maize improvement. Maize Genet. Coop. Newslett. 61:65.
- Pischedda G, J L Magoja (1987b) Potential use of perennial teosinte germplasm for maize improvement. Maize Genet. Coop. Newslett. 61:66.
- Pischedda G, J L Magoja (1988a) Perennial teosinte introgressed population of maize: variation within S<sub>1</sub> derived lines. Maize Genet. Coop. Newslett. 62:83-84.
- Pischedda G, J L Magoja (1988b) Diploperennial teosinte introgressed population of maize: variation within S<sub>1</sub> derived lines. Maize Genet. Coop. Newslett. 62:84.
- Phelps T L, A E Hall, B Buckner (1996) Microsatellite repeat variation within the y1 gene of maize and teosinte. J. Hered. 87:396-399.
- Sanchez G J J, M M Goodman, C W Stuber (2000) Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. Econ. Bot. 54:43-59.
- Sánchez-Velásquez L R (1991) *Zea diploperennis*: mejoramiento genético del maíz, ecología y la conservación de los recursos naturales. Tiempos de Ciencia 24:1-8.
- SAS (1988) SAS/SRAT User's Guide: statistics, ver. 6. 4th edition. SAS Institute Inc. Cary, NC. Vol. 1 and 2.
- Stuber C W, J F Wendel, M M Goodman, J S C Smith (1988) Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.). Technical Bulletin No. 286. North Carolina State University. Raleigh, North Carolina. 87 p.
- Wellhausen E J, C Prywer (1954) Relationship between chromosome knob number and yield in corn. Agron. J. 46:507-511.
- Wilkes G H (1977) Hybridization of maize and teosinte, in Mexico and Guatemala and the improvement of maize. Econ. Bot. 3: 254-293.
- Yeh C F (1999) Population Genetic Analysis (POPGENE ver. 1.31): Quick user guide. University of Alberta. Edmonton, Canada. 29 p.