



DIVERSIDAD GENÉTICA EN POBLACIONES DE RAZAS MEXICANAS DE MAÍZ

GENETIC DIVERSITY IN POPULATIONS OF MEXICAN MAIZE RACES

Luis A. Barrera-Guzmán¹, Juan P. Legaria-Solano^{1*} y Rafael Ortega-Paczka²

¹Universidad Autónoma Chapingo (UACH), Departamento de Fitotecnia, Chapingo, Texcoco, Estado de México, México. ²UACH, Dirección de Centros Regionales, Chapingo, Texcoco, Estado de México, México.

*Autor de correspondencia (legarias.juan@yahoo.com)

RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) de México presenta amplia diversidad debido a que este país es considerado como centro de origen, domesticación y diversificación de esta especie, y si bien existen estudios al respecto, la gran abundancia de tipos hace pertinente profundizar en su análisis. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la diversidad genética inter e intra-poblacional de 25 poblaciones de razas de maíz con 10 marcadores SSR. La primera coordenada principal explicó 42.11 % y la segunda 18.18 % de la variación total. Se encontró un promedio de 2.6 alelos por locus y un valor de diversidad génica de 0.44. El estadístico F_{ST} (0.427) indicó una alta diferenciación genética entre las razas de maíz (*Zea mays* L.). Las razas Serrano de Jalisco y Tabloncillo mostraron los índices más altos de diversidad génica (0.53). La variación inter-poblacional fue del 43 %. Las razas destinadas para usos especiales y con distribución geográfica limitada, como Comiteco (0.33) y Chalqueño (0.30), presentaron los niveles más bajos de diversidad y a su vez exhibieron graves procesos de endogamia ($F_{IT} = 0.618$) y deriva genética.

Palabras clave: *Zea mays*, deriva genética, diferenciación genética, diversidad genética, endogamia.

SUMMARY

Maize (*Zea mays* L.) of Mexico has broad diversity as this country is considered the center of origin, domestication and diversification of this species, and despite the studies carried out on this regard, the great abundance of types makes it pertinent to deepen their analysis. The present study aimed to evaluate the inter and intrapopulation genetic diversity of 25 populations of maize races with 10 SSR markers. The first principal coordinate explained 42.11 % and the second one 18.18 % of the total variation. An average of 2.6 alleles per locus and gene diversity value of 0.44 were found. The F_{ST} statistic (0.427) indicated a high genetic differentiation between maize races. Serrano de Jalisco and Tabloncillo races showed the highest indices of gene diversity (0.53). The inter-population variation was 43 %. Races intended for special uses and with limited geographical distribution, such as Comiteco (0.33) and Chalqueño (0.30), presented the lowest levels of diversity and exhibited serious processes of inbreeding ($F_{IT} = 0.618$) and genetic drift.

Index words: *Zea mays*, genetic differentiation, genetic diversity, genetic drift, inbreeding.

INTRODUCCIÓN

México es considerado centro de origen, domesticación y diversificación del maíz (*Zea mays* L.) (Matsuoka *et al.*, 2002), donde se han identificado 68 razas nativas (Caballero-García *et al.*, 2019). La variabilidad morfológica de los frutos de maíz es aprovechada para la elaboración de una amplia gama de alimentos. El patrimonio ecogeográfico y cultural de México ha sido factor clave en la generación de una amplia variabilidad de maíces, los cuales difieren en su morfología, genética y ecología, lo que ha conducido a su diferenciación en grupo y a su reconocimiento como razas (Wellhausen *et al.*, 1951). La diversidad genética está relacionada con factores geográficos, ecológicos y culturales, mismos que permiten obtener genotipos mejorados. Esta diversidad puede ser evaluada con marcadores moleculares basados en secuencias simples repetidas de ADN (SSR).

Existen antecedentes de análisis de la diversidad genética mediante el uso de marcadores moleculares. En América Latina y El Caribe se evaluaron 194 poblaciones correspondientes a 131 razas de maíces locales empleando 28 marcadores SSR; los agrupamientos resultantes corresponden a las regiones de México, tierras bajas de Mesoamérica y Los Andes (Bedoya *et al.*, 2017). Aci *et al.* (2013) caracterizaron 18 marcadores SSR en 15 poblaciones nativas de Argelia, en las cuales encontraron una diversidad génica total (H_e) de 0.57 y 5.8 alelos por locus (APL). En México, en la región noroeste se analizaron 28 poblaciones de maíces nativos con 20 SSR, se encontraron 6.1 APL y una H_e de 0.72 (Pineda-Hidalgo *et al.*, 2013); Vega-Álvarez *et al.* (2017) registraron 20.9 APL con 31 SSR en 107 poblaciones de nueve razas de maíz; Herrera-Saucedo *et al.* (2019) en ocho razas nortteñas reportaron 18.3 APL con 31 SSR; en maíces tropicales se encontraron nueve APL y una H_e de 0.58 (González *et al.*,

2013). Para Valles Altos, Rocandio-Rodríguez *et al.* (2014) analizaron 31 SSR en 107 poblaciones y reportaron 20.5 APL.

Conocer la diversidad genética de las razas de maíz permite identificar alelos favorables para el mejoramiento genético; dicha diversidad debe apoyarse de una descripción fenotípica para identificar genotipos de interés. Los estudios de diversidad genética son de utilidad para conocer patrones de diversidad regional y poder formular estrategias integrales de conservación *in situ*, que permita a los cultivos evolucionar en respuesta a los factores ambientales adversos (Perales y Golicher, 2014). El objetivo del presente estudio fue caracterizar una población representativa de cada una de 25 razas de maíz para conocer su diversidad genética y contribuir al conocimiento sobre la diversidad de los maíces mexicanos para ayudar a plantear estrategias de mejoramiento y conservación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

Se analizaron 25 poblaciones de sendas razas de maíz de México del Banco de Germoplasma del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). La elección de las razas se determinó mediante la clasificación de Wellhausen *et al.* (1951) y en función de la pureza racial de la colección del CIMMYT (Cuadro 1). Los genotipos se sembraron en charolas de germinación con sustrato Peat Moss (Cosmopeat®) para facilitar el crecimiento de plántulas. Se evaluaron 10 individuos por cada población.

Procedimiento de laboratorio

Se usaron hojas de plántulas para la extracción de ADN mediante el método CTAB 2X con 1 % de polivinilpirrolidona (PVP). La calidad del ADN se confirmó con electroforesis en gel de agarosa 0.8 % (p/v), que se corrió en amortiguador Tris-Acetato-EDTA (TAE 0.5 X) (Tris-Base, ácido acético y EDTA 0.5 M, pH 8.0) (Ven Lee y Bahaman, 2012). El gel fue teñido con bromuro de etidio 0.1 % (p/v) y se visualizó en un fotodocumentador KODAK EDAS-290 (Kodak Ltd., Rochester, Nueva York, EUA). Se cuantificó el ADN con un espectrofotómetro GENESYS 10uv (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA). El ADN para la PCR tuvo una concentración de 10 ng μL^{-1} . Se usaron 10 pares de iniciadores SSR de la base de datos genéticos y genómicos para maíz Maize Genetics and Genomic Database (<https://www.maizegdb.org>) mediante el criterio de patrón de geles para diferenciar alelos (Cuadro 2).

La amplificación por PCR se llevó a cabo en un termociclador Techne® TC-512 (Bibby Scientific, Vernon Hills, Illinois, EUA). Las condiciones de reacción fueron: un ciclo de desnaturalización inicial a 94 °C durante 3 min; 30 ciclos con temperaturas de 94 °C por 1 min, 55 °C por 1 min y 72 °C por 2 min; finalmente se dio un ciclo de extensión a 72 °C durante 10 min. Los fragmentos se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa 2 % (p/v) a 100 V durante 1.5 h. En la tinción y visualización de bandas se emplearon las mismas condiciones descritas para verificar la calidad del ADN (Ven Lee y Bahaman, 2012).

Recolección y análisis de datos

La codificación de cada locus se realizó en función del peso molecular de las bandas para formar la matriz de datos. A la banda de más alto peso molecular le correspondió el 1 y así sucesivamente. Un individuo con una sola banda se codifica 1-1; es decir, un homocigoto para el alelo 1. Las codificaciones 1-2, 1-3 y 2-3 serían ejemplos de loci heterocigotos.

Una vez conformada la matriz, se empleó el programa GeneAlix versión 6.5 (Peakall y Smouse, 2012) para obtener las distancias genéticas con el coeficiente Dice y el índice de diversidad génica esperada (H_e) de Nei (1987). Con la misma matriz se efectuó un análisis de coordenadas principales (ACoP) con el método de covarianza estandarizada y análisis de varianza molecular con los estadísticos R, se asumieron modelos de mutación paso a paso. Ambos análisis se realizaron con 1000 permutas (Peakall y Smouse, 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el ACoP, las dos primeras coordenadas explicaron 60.29 % de la variación total (Figura 1). La primera coordenada explicó el 42.11 % de la variación y la segunda el 18.18 %. Con respecto a la coordenada principal 1, en los cuadrantes A y B se ubicaron las poblaciones de maíz que por lo general se distribuyen en el sur y occidente de México, clasificadas como Mestizas Prehistóricas y generalmente son de ciclo corto, con excepción de Jala y Comiteco (Wellhausen *et al.*, 1951); en los cuadrantes C y D se aglomeraron las poblaciones de maíz de las razas indígenas antiguas descritas por Wellhausen *et al.* (1951). En relación con la coordenada principal 2, en los cuadrantes B y C se ubicaron principalmente poblaciones de maíz de las razas con distribución en el sur y occidente de México, mientras que en los cuadrantes A y D se localizaron las poblaciones propias del centro y norte de México, de acuerdo con descripciones de Sánchez *et al.* (2000) y Wellhausen *et al.* (1951).

Cuadro 1. Datos geográficos de las 25 razas de maíz bajo estudio con marcadores moleculares SSR.

Raza	Accesión	Altitud (msnm)	Latitud N	Longitud O
Indígenas Antiguas				
Arrocillo	Pueb-778	1978	19° 48' 46.5"	97° 22' 52.4"
Chapalote	Sina-2	46	24° 49' 27.8"	107° 27' 36.8"
Nal-Tel	Camp-103	14	19° 46' 59"	90° 37' 00"
Palomero Toluqueño	Mexi-5	2597	19° 17' 10.2"	99° 34' 15.1"
Exóticas precolombinas				
Cacahuacintle	Pueb-552	2568	19° 01' 43"	97° 27' 37"
Harinoso de Ocho	Chis-151	1566	16° 06' 59"	91° 55' 59.9"
Olotón	Chis-238	1961	16° 42' 52.23"	92° 27' 28.76"
Mestizas prehistóricas				
Comiteco	Chis-24	736	15° 41' 59"	92° 13' 00"
Cónico	Mexi-3	2676	19° 16' 59"	99° 39' 00"
Jala	Naya-6	1099	21° 06' 39.1"	104° 26' 59.8"
Olotillo	Chis-599	1060	17° 03' 36"	92° 43' 11.99"
Pepitilla	More-22	1338	18° 40' 59"	98° 47' 59"
Reventador	Naya-39	10	21° 56' 59.9"	105° 16' 59.9"
Tabloncillo	Jali-43	1402	19° 58' 00"	104° 16' 00"
Tehua	Chis-228	1087	15° 23' 17.44"	92° 11' 25.8"
Tepecintle	Chis-58	33	15° 25' 14.27"	92° 53' 58.25"
Tuxpeño	Vera-39	17	20° 28' 48"	97° 5' 51.52"
Vandeño	Chis-30	42	15° 26' 10.54"	92° 56' 17.16"
Zapalote Chico	Oaxa-448	48	16° 25' 59"	95° 1' 00"
Zapalote Grande	Chis-236	21	16° 16' 59"	94° 10' 59.9"
Modernas incipientes				
Bolita	Oaxa-180	1165		
Celaya	Guan-69	1786	20° 30' 00"	100° 58' 59.9"
Chalqueño	Mexi-718	2400	19° 50' 6.9"	99° 13' 3"
No bien definidas				
Dulcillo del Noroeste	Sina-79	140	26° 18' 00"	108° 34' 00"
Serrano de Jalisco	Jali-173	2301	20° 08' 34.87"	103° 43' 23.1"

Se encontró un promedio de 2.62 APL; el número efectivo de alelos fue de 1.93 y el valor de H_e fue de 0.44. Rocandio-Rodríguez *et al.* (2014) encontraron 20.52 APL; Vega-Álvarez *et al.* (2017) registraron 20.9 APL, Herrera-Saucedo *et al.* (2019) 18.3 APL. mientras que González *et al.* (2013) encontraron 9 APL y Pineda-Hidalgo *et al.* (2013) 6.1 APL en ocho razas de maíz; A diferencia del presente estudio, los trabajos antes citados emplearon secuenciadores automáticos, los cuales pueden detectar un mayor número de APL al poder discriminarlos hasta por un nucleótido individual.

Las poblaciones de maíz de las razas con los niveles más altos de diversidad genética fueron Tabloncillo (0.53), Serrano de Jalisco (0.53), Tuxpeño (0.52), Zapalote Grande (0.51), Vandeño (0.5), Tehua (0.49), Bolita (0.49), Olotillo (0.49), Zapalote Chico (0.48), Tepecintle (0.48), Pepitilla (0.46) y Olotón (0.46); las poblaciones de maíces de las razas con niveles intermedios de diversidad fueron Harinoso de Ocho (0.43), Palomero Toluqueño (0.42), Cónico (0.42), Jala (0.41), Nal-Tel (0.42) y Arrocillo Amarillo (0.41), mientras que las poblaciones de maíces de las razas con los niveles más bajos de diversidad genética fueron Reventador (0.39), Chapalote (0.39),

Cuadro 2. Características de los 10 pares de iniciadores SSR y posición del marcador en el cromosoma (Bin).

Locus	Repetición	Iniciador hacia adelante/iniciador en reversa	Núm. de Bin
umc-1886	(CG) ₈	GTTTGACAGCACAAAGTGAAGAAA/GAGGTGGACATTGGACAACACC	3.02
umc-1113	(CACAG) ₅	ATCATGCGTCATCACTCTCAGAAC/GCTGGAGCTAGCTGTAGTGTAGCA	10.02
umc-1377	(TAATA) ₄	GACTTAGTGCCAGCTCAGATCCAG/GATATTGCTGTCTTTTGCTACGGC	8.03
umc-1656	(CGGT) ₇	AGTTTTGACCGCGCAAAAGTTA/GTACGAGCAGGCCATTAACCC	6.02
umc-2180	(GGCC) ₄	ATCAGCATCGATAGCGAAGAAAGA/ATTGCTACTAGGGTTGTTGTTGCC	10.03
umc-1071	(TACGA) ₅	AGGAAGACACGAGAGACACCGTAG/GTGGTTGTCGAGTTCGTCGTATT	1.01
umc-1143	AAAAT	CGTGGTGGGATGCTATCCTTT/GACACTAGCAATGTTCAAACCCC	6.00
umc-1369	(AAAAAC) ₄	TTCCAGCACTAECTTACAGCAACG/AGATATGCGTATGGCTCTTGTGG	---
umc-1698	(AAC) ₅	GTGTCGTGTTGGGAGAACATGAG/TAECTACTACACCACTCGCGCAAA	3.04
umc-1638	(CTCCGG) ₅	AGGTGACCTCGACGTCCTACG/GAGGGGAACAAAGACTTGACGTT	8.09

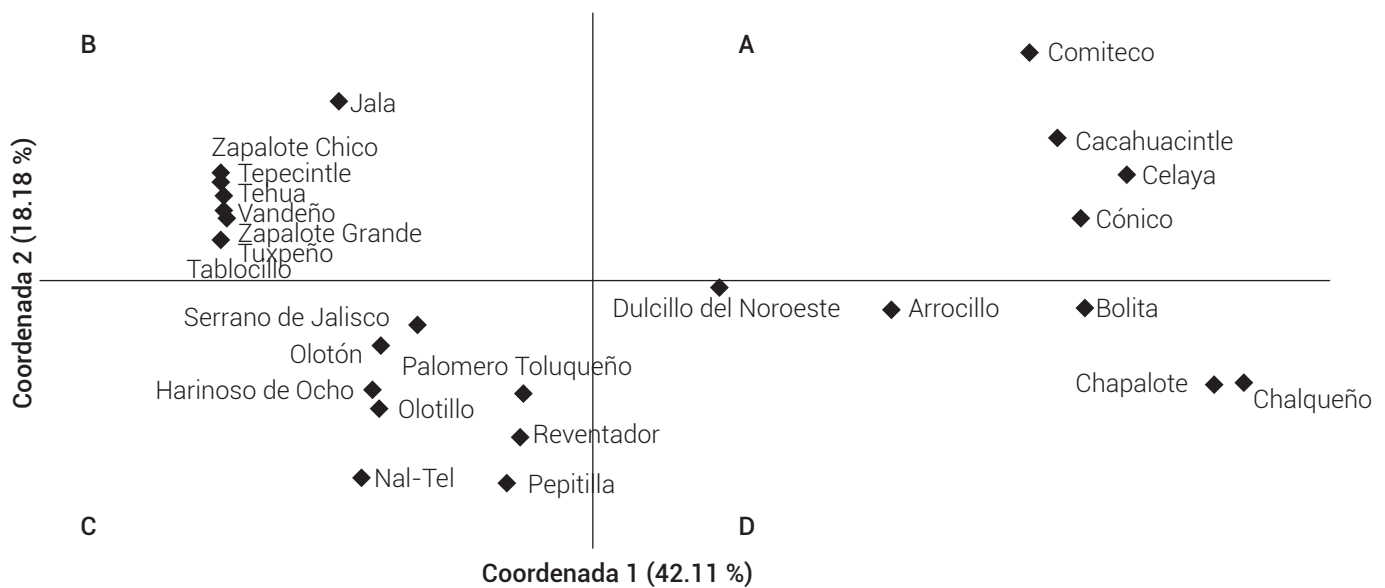


Figura 1. Representación gráfica de las dos primera coordenadas principales para 25 razas mexicanas de maíz con marcadores moleculares SSR; las letras A, B, C y D indican los cuadrantes.

Cacahuacintle (0.37), Celaya (0.31), Dulcillo del Noroeste (0.36), Comiteco (0.33) y Chalqueño (0.30).

La población de la raza Chalqueño (Mexi-718) utilizada en el presente estudio es una población de grano color amarillo, la cual aparece como población representativa en la colección del CIMMYT, pero algunas de estas poblaciones se reportan en bajas frecuencias, lo que puede explicar su baja diversidad genética (Herrera-Cabrera *et al.*, 2013). La mayor parte de razas con baja diversidad son destinadas para usos especiales, que requieren alta calidad de grano, los agricultores les practican una rigurosa selección

de semilla y su distribución geográfica es restringida (González *et al.*, 2013). Perales y Golicher (2014) mapearon la diversidad de las razas de maíz mexicanas en los últimos 60 años en función de la composición racial y no encontraron cambios significativos indicativos de una disminución en la diversidad de los maíces nativos.

Respecto al análisis de varianza molecular, el índice F_{ST} tuvo un valor de 0.427 ($P \leq 0.001$), lo que indica alta diferenciación genética inter-poblacional, con una variación del 43 % entre las poblaciones. Se encontró un 19 % de variación intra-poblacional y 38 % entre individuos.

Rocandio-Rodríguez *et al.* (2014) reportaron una variación intra-poblacional de 76.3 %, indicativo de que usaron una gran cantidad de poblaciones pertenecientes a la misma raza, se evaluaron más individuos y por ende obtuvieron altos niveles de variación intra-poblacional. González *et al.* (2013) encontraron 23.18 % de variación intra-poblacional, pero con menor número de APL (9). El número de poblaciones, la cantidad de marcadores moleculares y el número de individuos analizados influyen en la cantidad de APL, He y en la partición de la diversidad entre y dentro de poblaciones. El coeficiente de endogamia F_{is} de 0.333 ($P \leq 0.001$) denota la presencia de una considerable deficiencia de individuos heterocigotos, a pesar de la naturaleza alógama del maíz.

Las razas de maíz con adaptación restringida y cultivadas en pequeñas extensiones de terreno pueden experimentar procesos de endogamia y deriva genética, tal y como lo indica el valor R_{IT} de 0.618 ($P \leq 0.001$). El flujo génico (N_m) fue de 0.336 individuos por generación, lo que sugiere que las razas están separadas geográficamente. Si el flujo génico es alto no se presenta diferenciación genética entre las poblaciones; y de ser bajo, como en este caso, se promueve que las poblaciones se diferencien genéticamente. Los niveles de diversidad genética más altos fueron para la población de maíz correspondiente a Tabloncillo (Jali-43) y a la población de Serrano de Jalisco (Jali-173), con un valor de 0.53 para ambas. Los niveles más bajos de diversidad correspondieron a las poblaciones de Comiteco (0.33) y Chalqueño (0.30). El número de individuos migrantes por generación entre las poblaciones fue menor de uno, lo que explicó el alto grado de diferenciación entre las poblaciones. La mayor parte de la variación genética fue inter-poblacional con 43 %.

Tanto la población de la raza Tabloncillo como la de Serrano de Jalisco mostraron la más alta diversidad génica; por otra parte, la mayor parte de la variación genética fue entre las poblaciones correspondientes a las razas de maíz debido a la metodología empleada en este estudio. En relación con el ACoP, las distancias genéticas entre las poblaciones de las razas de maíz permiten visualizarlas y agruparlas parcialmente en concordancia con el estudio de Wellhausen *et al.* (1951).

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) por proporcionar las poblaciones de maíz de su banco de germoplasma.

BIBLIOGRAFÍA

- Aci M. M., P. Revilla, A. Morsli, A. Djemel, N. Belalia, Y. Kadri, M. Khelifi-Saloui, B. Ordás and L. Khelifi (2013) Genetic diversity in Algerian maize (*Zea mays* L) landraces using SSR markers. *Maydica* 58:304-310.
- Bedoya C. A., S. Dreisigacker, S. Hearne, J. Franco, C. Mir, B. M. Prasanna, S. Taba, A. Charcosset and M. L. Warburton (2017) Genetic diversity and population structure of native maize populations in Latin America and the Caribbean. *PLoS ONE* 12(4):e0173488, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173488>
- Caballero-García M. A., L. Córdova-Téllez y A. J. López-Herrera (2019) Validación empírica de la teoría multicéntrica del origen y diversidad del maíz en México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 42:357-366, <https://doi.org/10.35196/rfm.2019.4.357-366>
- González C. M. E., N. Palacios R., A. Espinoza B. y C. A. Bedoya S. (2013) Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36:329-338.
- Herrera-Cabrera B. E., F. Castillo-González, R. A. Ortega-Paczka y A. Delgado-Alvarado (2013) Poblaciones superiores de la diversidad de maíz en la región oriental del Estado de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36:33-43.
- Herrera-Saucedo V., A. Santacruz-Varela, M. Rocandio-Rodríguez, L. Córdova-Téllez, Y. R. Moreno-Ramírez y C. A. Hernández-Galeno (2019) Diversidad genética de maíces nativos del norte de México analizada mediante microsatélites. *Agrociencia* 53:535-548.
- Matsuoka Y., Y. Vigouroux, M. M. Goodman, J. Sanchez G., E. Buckler and J. Doebley (2002) A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:6080-6084, <https://doi.org/10.1073/pnas.052125199>
- Nei M. (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York, USA. 512 p.
- Peakall R. and P. E. Smouse (2012) GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28:2537-2539, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Perales H. and D. Golicher (2014) Mapping the diversity of maize races in Mexico. *PLoS ONE* 9(12):e114657, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114657>
- Pineda-Hidalgo K. V., K. P. Méndez-Marroquín, E. Vega A., J. Chávez-Ontiveros, P. Sánchez-Peña, J. A. Garzón-Tiznado, M. O. Vega-García and J. A. López-Valenzuela (2013) Microsatellite-based genetic diversity among accessions of maize landraces from Sinaloa in Mexico. *Hereditas* 150:53-59, <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.2013.00019.x>
- Rocandio-Rodríguez M., A. Santacruz-Varela, L. Córdova-Téllez, H. López-Sánchez, F. Castillo-González, R. Lobato-Ortiz and J. J. García-Zavala (2014) Detection of genetic diversity of seven maize races from the high central valleys of Mexico using microsatellites. *Maydica* 59:144-151.
- Sánchez G. J. J., M. M. Goodman and C. W. Stuber (2000) Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54:43-59, <https://doi.org/10.1007/BF02866599>
- Vega-Álvarez I., A. Santacruz-Varela, M. Rocandio-Rodríguez, L. Córdova-Téllez, H. López-Sánchez, A. Muñoz-Orozco and A. Hernández-Bautista (2017) Genetic diversity and structure of native maize races from Northwestern México. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 52:1023-1032, <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2017001100008>
- Ven Lee S. and A. R. Bahaman (2012) Discriminatory power of agarose gel electrophoresis in DNA fragments analysis. In: *Gel Electrophoresis. Principles and Basics*. S. Magdeldin (ed.). InTech Open. Rijeka, Croatia. pp:41-56, <https://doi.org/10.5772/36891>
- Wellhausen E. J., L. M. Roberts y E. Hernández X. (1951) Razas de Maíz en México, su Origen, Características y Distribución. Programa de Agricultura Cooperativo de la Secretaría de Agricultura y Ganadería de México y Fundación Rockefeller. México, D. F. 237 p.