

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

COORDINACIÓN DE POSGRADO



“Diversidad genética y estimación de reducciones en tamaño efectivo de población en teocintle del Occidente de México”

JOSE DE JESUS GODINEZ HERRERA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de

Doctor en Ciencias Agrícolas y Forestales

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL., JULIO DE 2008

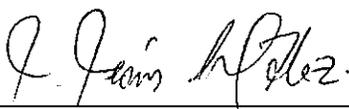
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS
COORDINACIÓN DE POSGRADO



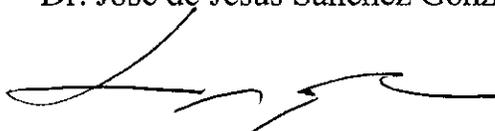
La tesis **“Diversidad genética y estimación de reducciones en tamaño efectivo de población en teocintle del Occidente de México”** del Ing. José de Jesús Godínez Herrera, se realizó bajo la dirección del Consejo Particular que se indica, fue aprobada por el mismo y se aceptó como requisito parcial para la obtención del grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES

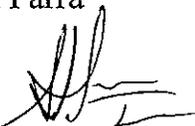
Consejo Particular

Tutor: 

Dr. José de Jesús Sánchez González

Asesor: 

Dr. José René Parra

Asesor: 

Dr. Fernando Santacruz Ruvalcaba

Las Agujas, Zapopan, Jal., Julio de 2008

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guadalajara y al Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias por la formación académica recibida.

A Pioneer Hi – Bred International., por el financiamiento parcial a través del proyecto “Maize and teosinte biodiversity Studies in México” y por las facilidades para los análisis moleculares en Johnston, IA, EUA.

Al Dr. José de Jesús Sánchez González, por el apoyo para entrar al programa de Posgrado, la dirección de la investigación, por todas las facilidades para culminar el trabajo, por su ayuda y conocimientos prestados y por su alta calidad humana GRACIAS.

Al Dr. José Ron Parra, por su asesoría, apoyo, sugerencias y correcciones en la realización de artículos y tesis.

Al Dr. Fernando Santacruz Ruvalcaba, por su asesoría, apoyo, sugerencias y correcciones en la realización de artículos y tesis.

Al Dr. Lino de la Cruz Larios, por el apoyo en las colectas de teocintle.

Al Dr. Roberto Miranda, por el apoyo en las colectas de teocintle.

A los maestros del programa de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Forestales que con su paciencia y conocimientos son parte fundamental en la formación de profesionistas comprometidos con la Universidad de Guadalajara.

Al amigo QPD. Dr. Juan Francisco Casas Salas, por su motivación y apoyo para entrar al programa de Posgrado y que siempre estará presente.

A mis compañeros del Departamento de Producción Forestal por su apoyo.

En forma muy especial a Liliana Moreno y M.C. José María Chávez Anaya por las largas charlas de motivación y muestras de apoyo.

A las Secretarías Ana María, Esther y Carmelita que me brindaron apoyo y facilitaron mi estancia en el Posgrado.

A todos los compañeros que de alguna forma me apoyaron y que involuntariamente estoy omitiendo.

A TODOS MUCHAS GRACIAS

DEDICATORIAS

A mi madre:

Josefina Herrera Fajardo por su amor y cariño.

A mi esposa:

María Dolores Soto Ramos, por el amor, cariño la paciencia y el tiempo sacrificado para mi superación personal y profesional.

A mi hijo:

Eduardo, que es y será parte fundamental de mi vida.

A mis hermanos:

Joel, Irma, Emilio, Soledad, Norma y Edith, por su cariño y apoyo.

A mis suegros:

Guillermo Soto y María de Jesús Ramos por su apoyo incondicional.

ÍNDICE

ÍNDICE	i
LISTA DE CUADROS	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
RESUMEN	v
I INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	4
1.2 Hipótesis	4
II REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 Taxonomía del género <i>Zea</i>	5
2.2 Distribución del teocintle	5
2.3 Situación de las poblaciones de teocintle	6
2.4 Diversidad genética	7
2.5 Diversidad dentro de poblaciones	8
2.6 Diversidad entre poblaciones	8
2.7 Análisis de agrupamiento	9
2.8 Componentes Principales	9
2.9 Marcadores Moleculares	10
2.9.1 RFLPs	11
2.9.2 ADN de Mitocondrias	11
2.9.3 ADN de Cloroplastos (cpADN)	11
2.9.4 RAPDs	11
2.9.5 AFLPs	12
2.9.6 SNP's	12
2.9.7 Microsatélites	12
2.10 Aplicaciones de los Marcadores Moleculares	14
2.10.1 Control de la pureza varietal	14
2.10.2 Uso en bancos de germoplasma	14
2.10.3 Mapeo genético	15
2.10.4 Distribución de la variabilidad genética en poblaciones naturales	16
2.10.5 Estimación del flujo génico	17
2.11 Detección de reducciones recientes en el tamaño efectivo de las poblaciones	18
III MATERIALES Y METODOS	22
3.1 Material genético	22
3.2 Sitios de estudio	23
3.3 Extracción de ADN	23
3.4 Análisis de ADN	23
3.5 Análisis de datos	24
3.6 Diversidad genética dentro de poblaciones	25
3.7 Diversidad genética entre poblaciones	26

IV RESULTADOS	27
4.1 Diversidad genética	27
4.2 Análisis de reducción en tamaño de las poblaciones	33
V DISCUSIÓN	45
VI CONCLUSIONES	49
VII LITERATURA CITADA	50
APÉNDICE	55

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Lista de marcadores moleculares usados en el estudio de teocintle.	24
Cuadro 2. Número de alelos por locus.	27
Cuadro 3. Estadísticos de diversidad genética en 67 poblaciones de teocintle del occidente de México.	29
Cuadro 4. Estadísticos de diversidad para regiones del Occidente de México.	31
Cuadro 5. Medias de estadísticos de diversidad en grupos de poblaciones de teocintle	31
Cuadro 6. Número de alelos (NALLE), alelos con frecuencias menores a 1% (AC1), porcentaje de alelos con frecuencias menores a 1% (AP1), heterocigosidad esperada (H_S) y diferenciación genética (F_{ST}) en poblaciones de teocintle del Occidente de México.	34

LISTA DE CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro 1 A. Lista de accesiones	56
Cuadro 2A. Resultados de la estimación de reducción efectiva en tamaño de las poblaciones por el programa Bottleneck, valores expresados en probabilidades de exceso de heterocigosidad.	58
Cuadro 3A. Situación general de las poblaciones de teocintle en México.	59

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de las poblaciones de teocintle estudiadas, en el Occidente de México.	22
Figura 2. Componentes principales de poblaciones de teocintle con 28 SSRs. Las claves de los grupos se encuentran indicadas en el Cuadro 3 (1, 2 y 3 ssp. <i>parviglumis</i>; 6 y 7 ssp. <i>mexicana</i>; 5 <i>Z. diploperennis</i>).	32
Figura 3. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle del área cercana a Autlán, Jal. y El Sauz, Col.	36
Figura 4. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle de áreas cercanas a Guachinango, Jal. y Amatlán de Cañas, Nay.	37
Figura 5. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle del Este y Sureste de Michoacán.	38
Figura 6. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle del área cercana a Villa Purificación, Jal.	41
Figura 7. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de <i>Zea diploperennis</i>.	42
Figura 8. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle de El Bajío	43
Figura 9. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle de áreas cercanas a la Ciénega de Chapala	44

RESUMEN

Los objetivos del presente estudio fueron: evaluar la diversidad y estructura genética de las especies de teocintle del Occidente de México, así como estimar las reducciones recientes en el tamaño de las poblaciones por medio de técnicas moleculares de tal manera que se puedan evaluar los riesgos de desaparición y erosión genética. Si en una región, la diversidad genética es alta en todas las poblaciones, un programa de conservación podría basarse en consideraciones exclusivamente prácticas ya que las poblaciones son genéticamente equivalentes. Por lo contrario una especie compuesta con poblaciones con niveles bajos de variabilidad en cada unidad pero con alto grado de diferenciación entre poblaciones requerirá que los esfuerzos de protección sean dirigidos hacia tantas poblaciones como sea posible. En este trabajo, la identificación de poblaciones que han sufrido reducciones severas en tamaño efectivo (cuello de botella) se llevó a cabo con base en varios criterios: los valores de heterocigosidad esperada, frecuencia de alelos raros, gráficas para evaluar la distorsión de frecuencias alélicas y el empleo del programa Bottleneck para evaluar cambios en diversidad genética respecto a lo esperado bajo diferentes modelos de evolución. En el presente estudio, se utilizaron un total de 67 poblaciones de teocintle (*Zea mays* ssp *mexicana* razas Mesa Central; *Zea mays* ssp *parviglumis*, raza Balsas y *Zea diploperennis*), que representan a los grupos raciales más importantes de México, provenientes de Michoacán, Jalisco, Guanajuato, Colima y Nayarit. En el invierno de 2004-2005 fueron sembradas las 67 accesiones de teocintle en Tapachula, Nayarit; se sembraron dos surcos con 20 plantas para cada población. Todas las plantas fueron establecidas empleando las prácticas culturales estándares para la producción de maíz; a fin de reducir al máximo efectos de competencia entre parcelas, las razas de teocintle se sembraron en orden en el campo con base en sus similitud de ciclo vegetativo, altura de planta y origen racial. Se tomaron muestras frescas de hojas de cada uno de los materiales indicados y se envió a los laboratorios de Pioneer, en Johnston, Iowa para la extracción de ADN y análisis de SSRs. Los resultados basados en el análisis de los patrones de polimorfismo de 28 SSRs demuestran que las especies silvestres del género *Zea* poseen altos niveles de diversidad, aunque con gran variación entre y dentro de regiones. Así mismo, se pudo demostrar, que la diversidad genética no se encuentra distribuida al azar, sino que hay patrones bien definidos, relacionados en gran medida a la distribución geográfica de las poblaciones; el análisis de

componentes principales confirmó la gran variación entre accesiones y regiones. Son notorios los niveles altos de diversidad en las poblaciones de la raza Balsas del estado de Michoacán, y los de la raza Mesa Central, con valores relativamente más bajos en las poblaciones de la raza Balsas de Jalisco y en *Zea diploperennis*. Es notable el caso de las poblaciones cercanas a Villa Purificación, en el sur de Jalisco en donde los niveles de diversidad son alarmantes y se consideran en peligro de desaparecer en poco tiempo. Una de las contribuciones más importantes de este trabajo es que el uso de marcadores moleculares polimórficos y métodos de análisis apropiados permitieron estimar los niveles de diversidad genética e identificar con claridad las poblaciones con reducciones recientes en tamaño efectivo, aún cuando algunas de ellas no mostraron dichas reducciones el año de recolección de semilla.

I INTRODUCCION

En lo que se refiere a nuestro país, México junto con Brasil, Colombia, Indonesia, Zaire y Australia, poseen alrededor del 70% de la flora del mundo y ocupa el cuarto lugar en biodiversidad. México posee entre 25,000 y 30,000 especies de plantas vasculares; tan solo en Chiapas, Oaxaca, Veracruz y Occidente de México, se han logrado inventariar más de 8,000 plantas vasculares en cada área. La diversidad conjunta de especies de México representa aproximadamente 12% del total mundial (CONABIO, 2006); una de las características más importantes de la diversidad florística de México es que 12% de los géneros y de 50 a 60% de todas sus especies son endémicas, es decir, su distribución está restringida al territorio nacional (Rzedowski, 1998). Este es el caso de algunas especies de teocintle (*Zea* spp.); en conjunto, las diferentes especies de teocintle y el maíz componen el género *Zea*.

En la actualidad se acepta ampliamente entre la comunidad científica que la agricultura y la domesticación de varias plantas se originó en forma independiente en seis a ocho regiones del mundo; en México, el origen de varios cultivos de importancia mundial ocurrió hace aproximadamente 10,000 años (Smith, 1995). Muchos científicos están de acuerdo en que el maíz se originó en México dado que los registros arqueológicos así lo demuestran (Piperno y Flannery, 2001; Benz, 2001; Smith, 2001; Pope *et al.*, 2001; Staller *et al.*, 2006). Después de casi un siglo de estudios en las áreas de Genética, Citología, Botánica, Arqueología, Ecogeografía e Historia y análisis detallados de Genética Molecular, la hipótesis de que el teocintle es el ancestro silvestre del maíz (*Zea mays* L.) se ha aceptado ampliamente en la última década. La domesticación del maíz ocurrió en México hace aproximadamente 10,000 años a partir de una especie tropical de teocintle anual, *Zea mays* ssp. *parviglumis* (Matsuoka, *et al.*, 2002a; Doebley, 2004). Aún cuando existen diferencias morfológicas muy marcadas entre el maíz y el teocintle, especialmente en caracteres de mazorca y la existencia de ramas laterales en teocintle, las diferentes especies, son muy cercanas genéticamente; la hibridación es posible entre todas ellas y los híbridos son completamente fértiles. La herencia entre los caracteres que distinguen al maíz y al teocintle se ha estudiado con gran detalle por Doebley y colaboradores por casi dos

décadas; varios de los caracteres morfológicos estudiados están bajo el control de muchos genes que exhiben herencia cuantitativa y se han identificado cinco o seis regiones en el genoma, las cuales tienen una gran influencia en las diferencias observadas (Doebley, 2004). Aún cuando la herencia de los caracteres que distinguen al maíz del teocintle es un poco compleja, el evento de mayor importancia en la domesticación del maíz fue la liberación del grano de la gluma endurecida del teocintle, que está controlada por un solo gene (Wang *et al.*, 2005).

Las investigaciones de la diversidad de las razas de maíz y del teocintle son numerosas e incluyen el uso de marcadores morfológicos, aspectos bioquímicos y marcadores derivados de secuencias del ADN (Doebley, *et al.*, 1984; Sánchez, *et al.* 1998; Sánchez, *et al.*, 2000; Matsuoka, *et al.*, 2002; Fukunaga *et al.*, 2005). Estos estudios han ayudado a definir las relaciones raciales y varios aspectos de la diversidad genética dentro del género *Zea* contribuyendo a complementar las conclusiones de los estudios raciales clásicos del maíz mexicano reportados por Wellhausen, *et al.* (1951). Algunos trabajos sobre la diversidad genética del teocintle incluyen isoenzimas (Doebley *et al.*, 1984; Rincón, 2001; Blancas *et al.*, 2002) y ADN (Matsuoka *et al.*, 2002a; Fukunaga *et al.*, 2005). La mayoría de la información obtenida se ha basado en pocas poblaciones, en pocas plantas y en varios casos, las muestras fueron obtenidas en las décadas de 1960 y 1980. Hasta el momento no se ha llevado a cabo un proyecto amplio que involucre muestras de la mayor parte de las poblaciones actuales de teocintle de México; por otra parte, la información para estimar las reducciones drásticas en el tamaño de las poblaciones es aún más escasa y no hay publicaciones que permitan evaluar la situación de las poblaciones desde el punto de vista molecular. La identificación de poblaciones que han sufrido reducciones severas en tamaño efectivo (cuellos de botella) es de gran importancia debido a que pueden incrementarse las tasas de endogamia, la pérdida de variación genética, la fijación de alelos desfavorables y las variaciones demográficas aleatorias; en su conjunto estos factores reducen el potencial evolutivo e incrementan las probabilidades de extinción de las poblaciones. Desde el punto de vista de conservación y utilización de los recursos fitogenéticos, es de gran importancia identificar aquellas poblaciones que han sufrido reducciones recientes en el número efectivo de individuos, especialmente aquellos casos que han ocurrido en las pasadas

décadas debido a que dichas poblaciones pueden no haberse adaptado todavía a los cambios ambientales (Allendorf y Luikart, 2007). Por estas razones, existe un gran interés en entender como está estructurada la variación genética dentro y entre poblaciones de teocintle ya que de otra manera no es posible planear esfuerzos de conservación y manejo de las poblaciones tanto *ex situ* como *in situ*.

1.1 OBJETIVOS:

El objetivo general de esta propuesta es estudiar la diversidad y estructura genética de las especies de teocintle del Occidente de México con base en marcadores moleculares y evaluar los riesgos de desaparición y erosión genética.

Objetivos específicos:

1. Estimar la diversidad genética entre y dentro de las principales poblaciones de teocintle del Occidente de México
2. Estimar las reducciones recientes en tamaño de las poblaciones de teocintle y su riesgo de extinción
3. Identificar poblaciones en riesgo y definir estrategias de conservación.

1.2 HIPÓTESIS:

Existe una gran diversidad genética dentro y entre las especies de *Zea* en el Occidente de México, así como posibles reducciones en el tamaño efectivo en las poblaciones.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Taxonomía del género *Zea*

La clasificación de especies del género *Zea* se basó inicialmente en la morfología de la inflorescencia masculina y aspectos ecogeográficos; Wilkes (1967) describió cuatro razas de teocintle para México (Nobogame, Mesa Central, Chalco y Balsas) y dos para Guatemala (Guatemala y Huehuetenango). Con base en los trabajos de Iltis y Doebley (1980), Doebley e Iltis (1980), Doebley (1990), Iltis y Benz (2000), Fukunaga *et al.* (2005), el género *Zea* se divide en dos secciones: (i) la sección *Luxuriantes* incluye *Zea perennis* (Hitch.) Reeves & Mangelsdorf, *Zea diploperennis* Iltis, Doebley & Guzmán, *Zea luxurians* (Durieu & Ascherson) Bird y *Zea nicaraguensis* Iltis & Benz (ii) la sección *Zea* incluye *Zea mays* L. dividida en: *Zea mays* ssp. *mexicana* (Schrader) Iltis para las razas Chalco, Mesa Central y Nobogame; *Zea mays* ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley que incluye a la raza de teocintle Balsas, *Zea mays* ssp. *huehuetenangensis* (Iltis & Doebley) Doebley para la raza de teocintle Huehuetenango y *Zea mays* L. ssp. *mays* para el maíz cultivado.

2.2 Distribución del teocintle

La distribución natural de las diferentes especies de teocintle se encuentra dentro de algunas de las mejores tierras agrícolas de áreas tropicales y subtropicales de México, Guatemala, Honduras y Nicaragua; mayormente como poblaciones aisladas de tamaños variables ocupando superficies de una hectárea hasta varios kilómetros cuadrados. La distribución del teocintle en México se extiende desde la porción sur de la región cultural conocida como Aridoamérica, la Sierra Madre Occidental del estado de Chihuahua y el Valle de Guadiana en Durango, hasta la frontera con Guatemala incluyendo prácticamente toda la porción occidental de Mesoamérica (Sánchez *et al.*, 1998; Ruíz *et al.*, 2001; Wilkes, 2004). Un aspecto que cabe resaltar en relación con la distribución geográfica de teocintle, es que las poblaciones no tienen una distribución uniforme, sino que hay condiciones específicas de clima, suelo e influencia humana, donde es posible localizarlas. Entre los informes más antiguos sobre la existencia de teocintle, se encuentra el de Lumholtz (1902), López y Parra (1908), Collins (1921), Bukasov (1926), mientras que los mapas más

actualizados sobre la distribución del teocintle en México son los publicados por Kato (1976), Sánchez y Ordaz (1987) y Sánchez *et al.* (1998).

Las áreas de mayor importancia para el teocintle son: el Valle de Nabogame, en la Sierra Madre Occidental al sur del estado de Chihuahua para la raza Nobogame; el Valle de Guadiana, al este y noroeste distante entre 8 y 20 km de la ciudad de Durango, y El Bajío, que comprende porciones importantes de los estados de Guanajuato y Michoacán en altitudes de 1700 a 2300 m, sobre todo en los alrededores de los lagos de Cuitzeo y Pátzcuaro, para la raza Mesa Central; El Valle de México incluyendo el Distrito Federal, Chalco-Amecameca y Toluca en el estado de México, cercanías de Ciudad Serdán y Puebla, en el estado de Puebla, para la raza Chalco; la raza Balsas ocupa la superficie más importante e incluye el Occidente de México, sobre todo las áreas tropicales y subtropicales de los estados de Jalisco, Colima, Nayarit y Michoacán y la Cuenca del Balsas incluyendo porciones importantes de la Sierra Madre del Sur, desde Jalisco hasta Oaxaca; recientemente se descubrió la única población conocida en México para *Zea luxurians* en San Felipe Usila, Oaxaca (Aragón, 2006).

2.3 Situación de las poblaciones de teocintle.

Durante las últimas décadas han estado ocurriendo diversos acontecimientos en México que tienen relación con la diversidad y erosión genética del maíz y especies silvestres emparentadas. Entre los aspectos más importantes se encuentran la apertura de caminos y explotaciones forestales; la menor disponibilidad de agua para riego y cambios de cultivos; el crecimiento poblacional y urbanización de áreas agrícolas; el establecimiento creciente de praderas para explotaciones ganaderas, el uso de variedades mejoradas en áreas de riego o buen temporal y desplazamiento de variedades nativas (Sánchez y Ruíz, 1996). Todos estos factores se han señalado como las amenazas de mayor importancia para el teocintle, sin embargo, Wilkes (2007) indica que la causa de desaparición del teocintle es el abandono de las variedades nativas de maíz en las áreas de distribución del teocintle. Los factores listados anteriormente están afectando o podrían afectar la permanencia de las variedades nativas de maíz y estabilidad de varias especies silvestres emparentadas; se estima que las poblaciones de teocintle raras o indeterminadas, aún las estables, pueden

pasar a las categorías de vulnerables o en peligro de extinción muy rápidamente y no se esperaría que pudieran persistir por mucho tiempo como poblaciones naturales. Si bien es difícil estimar con precisión el peligro de extinción de las poblaciones de teocintle en México, de acuerdo a lo observado en los últimos 30 años (Wilkes, 1996; Sánchez y Ruiz, 1996; Sánchez, *et al.*, 2004) con excepción de la Cuenca del Balsas incluyendo la mayor parte de las poblaciones de los estados de Guerrero, Michoacán y México, el resto de poblaciones pueden considerarse amenazadas.

Desde 1995 se han llevado a cabo reuniones con el fin de analizar aspectos relacionados a la situación de las poblaciones de teocintle y variedades nativas de maíz en México (CIMMYT, 1995; NAPPO, 1997; CIBIOGEM, 2001; SMBB, 2002; CEC, 2004; CIMMYT, 2006). Con respecto al teocintle, se reconoce que se han logrado avances importantes en la conservación *ex situ*, sin embargo, se admite que México está cambiando rápidamente por lo que el teocintle entrará en las listas de especies en peligro de extinción si no se avanza en la planificación para su conservación tanto *ex situ* como *in situ*. A pesar de las recomendaciones surgidas en todas las reuniones mencionadas, no se ha iniciado en años recientes, ningún trabajo sistemático de recolección, conservación y monitoreo de las poblaciones de teocintle en México.

2.4 Diversidad genética

La variación genética que no puede observarse directamente en los individuos (fenotipo) es más amplia de lo que pudiera pensarse y resulta prácticamente imposible que se pueda medir. Esta variación genética puede detectarse mediante tecnologías moleculares que muestran polimorfismo, es decir, las diferentes formas de un genotipo; dichas tecnologías son entonces muy útiles como marcadores genéticos. A pesar de sus grandes ventajas, las herramientas moleculares tienen sus limitaciones y pueden estudiar hasta cierto número de genes o *loci*; sería casi imposible estudiar toda la secuencia de ADN de la mayoría de las poblaciones de una especie; esta es una razón de peso para planear cuidadosamente los experimentos y prestar especial atención al muestreo tanto de los individuos como de los *loci* que van a ser evaluados. (De Vicente y Fulton, 2003).

2.5 Diversidad dentro de poblaciones.

La cantidad y distribución de la diversidad genética dentro de especies y poblaciones depende en gran medida de aspectos taxonómicos, biogeográficos y de su historia evolutiva. Sewall Wright (1965) demostró que la variación genética (heterocigosis) puede descomponerse de tal manera que sus componentes reflejen la estructura de las poblaciones. El modelo básico incluye tres componentes: Diversidad genética dentro de individuos (H_I); diversidad genética entre individuos de la misma subpoblación (H_S) y diversidad genética total (H_T). Con la idea de cuantificar el efecto de la estructura de poblaciones en endogamia, Wright (1965) definió el índice de fijación, el cual es igual a la reducción en diversidad genética con apareamiento aleatorio, relativo a cualquier nivel de subdivisión. El método de Wright para describir la variación genética es de gran utilidad para entender la endogamia y la diferenciación entre subpoblaciones.

2.6 Diversidad entre poblaciones.

Las estimaciones de la diversidad entre poblaciones por lo general involucran análisis multivariado y taxonomía numérica, temas que han sido desarrollados por varios investigadores (Sneath y Sokal, 1973; Goodman, 1973, entre otros). Inicialmente, las estimaciones de similitud entre poblaciones se llevaron a cabo con base en caracteres morfológicos, y más recientemente, las frecuencias alélicas provenientes de datos de isoenzimas, de ADN (RFLPs, SSRs) y secuencias de ADN se han usado con dicho propósito. Por lo general, las distancias genéticas se han relacionado con el tiempo desde que la población bajo estudio se diferenció de una población ancestral (Weir, 1996).

La taxonomía numérica es una estrategia apropiada cuando se analizan poblaciones que se han diferenciado en épocas recientes. En la actualidad se dispone de una gran variedad de medidas de proximidad, sin embargo, sólo una pequeña fracción de dichas medidas se aplica de manera amplia. Por lo general, los patrones de similitud entre poblaciones pueden visualizarse de mejor manera por medio de la combinación de análisis de agrupamiento y métodos de ordenación como componentes principales. Adicionalmente, se recomienda llevar a cabo un análisis discriminante con el fin de tener una idea de la asignación correcta o incorrecta de las unidades taxonómicas a los grupos en función de probabilidades.

2.7 Análisis de agrupamiento.

Este análisis fue diseñado para formar grupos o clases de individuos; con base en una muestra de n objetos, cada uno de los cuales ha sido descrito en base a p variables. El análisis de agrupamiento intenta agrupar los objetos en clases, de tal manera que los individuos dentro de un grupo son más similares en alguna forma, que los individuos de grupos diferentes. Las técnicas de análisis de agrupamiento inician con una matriz de similitudes y los resultados por lo general se presentan en forma de *dendrogramas*, un diagrama que ilustra las uniones que se llevan a cabo en cada etapa del procedimiento. Al inicio, los objetos representan, cada uno, un grupo; gradualmente, se van formando grupos, hasta que se llega a un grupo que incluye todos los objetos. Las estrategias más comunes de análisis de agrupamiento fueron descritas por Lance y Williams (1967) con base en un algoritmo, dichas estrategias se presentan en varios textos (Everitt, 1978; Clifford y Stephenson, 1975).

2.8 Componentes Principales. El ACP consiste en transformar la serie de variables originales en un nuevo conjunto de variables no correlacionadas entre sí, llamadas componentes principales. Esas nuevas variables son combinaciones lineales de las variables originales y se derivan en orden decreciente de importancia (varianza), de tal manera que el primer componente principal es responsable de la mayor proporción posible de la variación con respecto a los datos originales.

Es común que el objetivo del ACP sea ver si los primeros componentes pueden explicar la mayor parte de la variación en los datos originales. Cuando este es el caso, se supone que la dimensionalidad efectiva del problema es menor que el número total de variables en estudio. En problemas aplicados, un método común es graficar los dos primeros componentes principales para cada taxa, tratando de identificar grupos en los datos. El ACP se define como una técnica matemática que no requiere que el investigador especifique un modelo estadístico para explicar la estructura del error experimental, sin embargo se podrá tener un mejor significado en los componentes en el caso en que las observaciones se ajusten a una distribución normal multivariada (Chatfield y Collins, 1980).

Los estudios acerca de la diversidad de las poblaciones de teocintle se han llevado a cabo con base en diferentes tipos de marcadores: (i) morfológicos (Sánchez *et al.*, 1998), (ii) nudos cromosómicos (Kato, 1976; Sánchez *et al.*, 1998), (iii) isoenzimas (Doebley *et al.*, 1984) y (iv) marcadores basados en ADN (Doebley, 2004). Con excepción de los estudios morfológicos, el resto de estudios se llevaron a cabo con muestras pequeñas (5-12 plantas) de semillas colectadas predominantemente en la década de 1960.

Con el fin de estimar el grado de variación genética del teocintle Rincón (2001), analizó 27 *loci* isoenzimáticos en 46 a 50 individuos de cada una de seis poblaciones. La variación genética se estimó con base en varios estadísticos de diversidad; las poblaciones con mayor variación genética fueron las pertenecientes a *Zea mays* ssp. *mexicana*, seguidas por aquellas de *Z. m.* ssp. *parviglumis* y *Z. diploperennis*. Por su parte, Fukunaga *et al.* (2005) con base en 93 SSRs distribuidos en los 10 cromosomas encontraron que las subespecies de *Zea mays* (ssp. *mexicana* y ssp. *parviglumis*) poseen valores mucho más altos que las otras especies diploides (*Z. luxurians* and *Z. diploperennis*). La ssp. *parviglumis* posee valores ligeramente mayores de diversidad que la ssp. *mexicana*, sin embargo, ésta última tiene un mayor número de alelos específicos; la raza Nobogame mostró los menores niveles de diversidad.

2.9 Marcadores moleculares

Esta sección se basa en gran parte en las publicaciones de Bretting y Widrlechner, 1995, Avise, 1994 y Callow *et al.* 1997. Desde el punto de vista de su utilidad, los marcadores genéticos deben ser altamente heredables, su control genético debe ser conocido, su identificación debe ser fácil durante el ciclo de vida del organismo (de preferencia en etapas tempranas), deben ser neutrales (sin efectos en el crecimiento, valor selectivo en reproducción) y finalmente deben identificarse con base en técnicas baratas, rápidas y seguras.

Los marcadores basados en polimorfismo del ADN son considerados ideales en estudios de poblaciones. Los ácidos nucleicos están presentes en todos los organismos, describen genotipos y se pueden muestrear prácticamente todas las regiones del genoma. Los avances recientes, tales como PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), han puesto las técnicas moleculares al alcance de los

proyectos relacionados con genética de poblaciones y manejo de recursos genéticos, debido sobre todo a las reducciones en costo de los diferentes procedimientos. En la actualidad hay una gran variedad de herramientas para evaluar la variación en secuencias de ADN del núcleo o de los organelos.

2.9.1 RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms). El descubrimiento de las enzimas de restricción (endonucleasas), revolucionó la biología molecular. Las endonucleasas de restricción son enzimas muy específicas que cortan la molécula de ADN siempre y cuando ocurra una secuencia particular de nucleótidos, llamada el sitio de restricción de la enzima. Cualquier cadena sencilla de ADN tiene la capacidad de formar una molécula de doble cadena; el apareamiento con otra molécula sencilla se lleva a cabo en las secuencias que llevan las bases complementarias.

2.9.2 ADN de mitocondria (mtADN). Con pocas excepciones, el ADN de las mitocondrias es una molécula doble circular con una longitud muy variable en número de pares de bases (200 a 2400 kb). El ADN de las mitocondrias se transmite sin recombinación predominantemente a través del progenitor femenino. La molécula entera de mtADN se considera como una unidad genética completa con alelos múltiples y puede ser usada para la búsqueda de filogenias maternas. mtADN ha sido ampliamente utilizado para resolver relaciones filogenéticas en gran variedad de niveles taxonómicos, analizar patrones de introgresión y ha servido como marcador genético en el análisis de estructura de poblaciones y flujo genético.

2.9.3 ADN de cloroplastos (cpADN). Este tipo de ADN se transmite a través del progenitor femenino en la mayoría de las plantas aunque existe información de transmisión biparental o paterna (Avice, 1994). Como en el caso de mtADN, el ADN de cloroplastos puede ser de gran utilidad en estudios de poblaciones de plantas. Por ejemplo, cuando el cpADN se hereda por el progenitor femenino, se puede dispersar en semillas pero no en polen. En este caso, es posible contrastar la información del cpADN con un marcador de herencia Mendeliana para evaluar la influencia relativa de dispersión de semillas y polen en el flujo genético total. Varios autores indican que este tipo de marcador es una de las herramientas más poderosas para investigar relaciones filogenéticas en plantas. Uno de las principales limitaciones de esta técnica es la necesidad de secuenciar el ADN.

2.9.4 RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA). Los primers en este caso son oligonucleótidos de 12 pares de bases, o menos, escogidos arbitrariamente; en consecuencia, las

secuencias amplificadas también son arbitrarias. Los fragmentos de ADN producidos con este tipo de primers se heredan como caracteres dominantes de herencia Mendeliana-simple, la ausencia de fragmentos se interpreta como el alelo recesivo. Por lo general, el análisis de RAPDs detecta la ocurrencia de un solo alelo por locus, mientras que isoenzimas o RFLPs pueden distinguir varios alelos en loci específicos.

2.9.5 AFLPs (Amplification Fragment Length Polymorphisms). Estos son fragmentos de ADN con diferentes secuencias de nucleótidos de los cuales se han sintetizado miles de copias a través de PCR. Este tipo de marcadores se desarrollaron con una combinación de las de los RFLPs y RAPDs. Este tipo de marcadores son dominantes, similares a los RAPDs; al parecer, está en desarrollo una serie de programas de cómputo que permitirán discriminar entre individuos homocigotos y heterocigotos en base a densidad alélica.

2.9.6 SNP's (Single Nucleotide Polymorphisms). Este es el tipo de polimorfismo de ADN más abundante entre individuos. SNP's son posiciones de pares de bases simples en las cuales existen diferentes secuencias alternativas entre individuos. Hay seis tipos posibles de SNP's (A \leftrightarrow T o G \leftrightarrow C), (A \leftrightarrow G, A \leftrightarrow C, G \leftrightarrow T o C \leftrightarrow T). Este tipo de marcadores se consideran ideales en estudios de mapeo y en programas de mejoramiento genético.

2.9.7 Los microsatélites [Variable Number Tandem Repeats VNTR), Simple Sequence Repeats (SSR) o Short Tandem Repeats (STR)], son marcadores moleculares basados en variaciones del número de repeticiones de nucleótidos en tándem de secuencias cortas. Son marcadores codominantes, heredados de manera mendeliana y ampliamente distribuidos en el genoma del núcleo, cloroplastos y mitocondria. Cada locus de microsatélite está caracterizado por una secuencia única conservada de ADN (primer) que flanquea a una serie de motivos de nucleótidos repetidos. Los microsatélites presentan una alta resolución en la identificación de variantes entre individuos debido a que son altamente polimórficos, por lo que aportan información acerca de los procesos mutacionales acontecidos en la población, a partir de los cuales se estiman las tasas efectivas de migración y los tiempos de divergencia de una población, entre otros procesos. La gran cantidad de polimorfismo que presentan los microsatélites es producida principalmente por el apareamiento durante la replicación ("slippage missparing"). Este sistema de mutación no causa cambios en las

secuencias flanqueantes lo cual explica el hecho de que éstas se mantengan tan conservadas.

El modelo más aceptado sobre la generación de nuevas variantes en estos marcadores es el de mutación paso a paso ("Stepwise mutation model 2"). Este modelo implica que cada mutación crea un nuevo alelo ya sea mediante la adición o delección de las unidades de repetición nucleotídica que la componen. Consecuentemente, la magnitud de las diferencias en el tamaño de los distintos alelos será proporcional al grado de relación entre ellos. Esto quiere decir que alelos que presenten grandes diferencias de tamaño, estarán menos relacionados que aquellos que presentan tamaños similares.

Los microsatélites son actualmente muy utilizados en estudios de genética poblacional, los que se basan en estos marcadores para investigar la estructura genética de las poblaciones, enfocándose en cuestiones de evolución y conservación biológica. Los microsatélites se han convertido en uno de los marcadores moleculares más populares por las ventajas que presentan frente a otras técnicas como son: altos niveles de variabilidad, confiabilidad de los resultados, herencia codominante y longitud corta. Otra de las ventajas que presentan es el hecho de que los oligonucleótidos diseñados para una especie en particular, tienen la posibilidad de ser utilizados en estudios de especies relacionadas.

Los microsatélites o secuencias simples, consisten de secuencias repetidas, cuya unidad de repetición es entre una y cinco pares de bases tales como $(TG)_n$ o $(AAT)_n$. Los alelos en un locus determinado se identifican a través de amplificación vía PCR y posteriormente por su migración relativa usando electroforesis; por lo regular se usa un testigo (ladder) de peso molecular conocido para apoyar la identificación. Los microsatélites son codominantes, se heredan de manera Mendeliana simple, se consideran selectivamente neutrales y por lo general son altamente polimórficos en poblaciones naturales. Adicionalmente, una característica de gran valor de este tipo de marcadores es que los primers desarrollados en una especie pueden ser utilizados en especies relacionadas. Para estudios de poblaciones, es necesario conocer el tamaño de los microsatélites con una aproximación de una base; posteriormente, los alelos se caracterizan por el número de secuencias repetidas en el locus analizado.

2.10 Aplicaciones de los marcadores moleculares

Las herramientas descritas se utilizan en numerosas áreas relacionadas con el mejoramiento vegetal y el análisis de la biodiversidad. A continuación se describen algunas de esas aplicaciones. Cada uno de estos campos posee una base teórica en ocasiones compleja y muchos de ellos requieren del uso de programas de estadística avanzada.

2.10.1 El control de la pureza varietal y la discriminación de variedades protegidas (es decir, registradas).

Requieren de una adecuada identificación de los materiales. Esta identificación se basa tradicionalmente en el uso de descriptores morfológicos y fisiológicos. En la mayoría de los cultivos, la utilización de recursos genéticos similares en diferentes programas de mejoramiento ha reducido la eficiencia de discriminación por marcadores fenotípicos. Por otro lado, varios de los caracteres usados como descriptores presentan limitaciones en cuanto al número restringido de variantes, influencia ambiental y dependencia del estadio de desarrollo de planta. Como alternativa para resolver estos problemas, los polimorfismos moleculares de proteínas y ADN resultan de utilidad en la determinación de los criterios DUS (distinción, uniformidad y estabilidad). Se utilizan localmente como datos complementarios de los descriptores morfológicos y fisiológicos para el registro de los cultivares, en aquellos casos en que las diferencias entre materiales no son conspicuas. ISTA (International Seed Testing Association) y UPOV (Union Pour La Protection Des Obtentions Végétales) son entidades internacionales que han desarrollado protocolos para estandarizar los análisis de laboratorio para identificación de cultivares y reglamentar la utilización de diferencias moleculares en el control de la pureza varietal, la discriminación de variedades protegidas y en el otorgamiento de nuevas patentes. Con el objeto de evitar el registro de variedades esencialmente equivalentes, UPOV ha establecido umbrales mínimos de diferencias moleculares sobre la base de distancias genéticas obtenidas a partir de caracteres tradicionales. En la actualidad se dispone de patrones moleculares varietales para una extensa lista de especies.

2.10.2 Uso en bancos de germoplasma

Las prácticas de la agricultura moderna han generado una pérdida de diversidad en la mayoría de las especies cultivadas. El reemplazo paulatino de las variedades primitivas por los cultivares híbridos de indudables ventajas económicas ha producido una reducción en el número de genotipos que se cultivan. La erosión genética puede tener graves consecuencias para el cultivo, principalmente en relación a su vulnerabilidad sanitaria. Los marcadores moleculares permiten caracterizar las accesiones o muestras a ser incluidas en las colecciones, estudiar el proceso de domesticación, establecer relaciones filogenéticas y colaborar en la elección de las estrategias de conservación. El procedimiento consiste básicamente en analizar los materiales mediante marcadores proteicos o de ADN y calcular medidas de diversidad (nivel de polimorfismo, riqueza alélica, presencia de alelos únicos) y de similitud genética. Esta información luego se complementa con datos geográficos (procedencia de las accesiones, distribución), pedigrí y datos históricos de obtención.

2.10.3 Mapeo genético

Un mapa genético de una especie animal o vegetal muestra la distribución lineal de un grupo de genes y marcadores en cada uno de los cromosomas que constituyen el genoma de un organismo. El fundamento del mapeo genético reside en la relación directa entre la frecuencia de recombinación y la distancia física entre los *loci*. Si un marcador resulta estar genéticamente ligado a un gen que controla un carácter de interés agronómico, la selección de este marcador resulta en la selección indirecta del gen de interés. Este hecho constituye el fundamento del proceso denominado selección asistida por marcadores moleculares, aplicado en el mejoramiento genético vegetal y animal. Si el efecto de la sustitución alélica sobre la variación fenotípica total del carácter es pequeño, se considera el carácter como cuantitativo o QTL (quantitative trait *loci*). Si el efecto de la sustitución de un alelo por otro es grande en relación con la variación fenotípica total, el carácter es cualitativo (genes de herencia simple). En general, la mayoría de los caracteres de importancia económica y/o agronómica, principalmente aquellos relacionados con la productividad, poseen herencia cuantitativa o fenotipos complejos. Para incorporar un carácter de interés agronómico en un mapa genético es necesario cumplir con una serie de premisas:

- i) Desarrollar una población segregante para el carácter agronómico en cuestión.

- ii) Caracterizar la población segregante utilizando marcadores moleculares polimórficos (con diferencias en la secuencia de ADN entre los parentales). Para construir un mapa mínimo es deseable disponer de al menos cuatro marcadores moleculares por cada cromosoma del genoma en estudio. Cuanto mayor sea el número de marcadores incorporados al mapa, mayor será su resolución y la probabilidad de identificar algún marcador ligado al carácter agronómico de interés.
- iii) Evaluar fenotípicamente el carácter agronómico, sobre los individuos de la población segregante. Este punto es crucial, ya que si la evaluación del carácter en la población de mapeo no es clara, es imposible incorporarlo al mapa genético.
- iv) Identificar marcadores ligados al carácter agronómico (con segregación entre fenotipo del carácter y fenotipo del marcador).

2.10.4 Distribución de la variabilidad genética en poblaciones naturales.

Las especies están constituidas por unidades o demos más o menos aislados denominados poblaciones. Una especie vegetal raramente se extiende en forma continua e ininterrumpida. En general adopta una distribución en parches. El número de individuos en cada población, el modo reproductivo (autogamia-alogamia), las distancias entre poblaciones, el tipo de polinización (gravedad-anemófila-entomófila), la acción del hombre en la fragmentación del hábitat y el origen histórico (especies nativas-especies introducidas) determinan en conjunto una distribución de la variación genética propia de cada especie.

Los programas de conservación utilizan a menudo información acerca de la distribución de la variación genética para establecer prioridades y estrategias de manejo. El estudio de los componentes de la variación dentro y entre poblaciones colabora en la definición de las unidades a conservar y se convierten en elementos importantes para la toma de decisiones relacionadas con la protección de la biodiversidad. Es deseable que las poblaciones seleccionadas para formar parte de las áreas protegidas, contengan la mayor diversidad genética posible de modo de asegurar el mayor potencial evolutivo.

A partir de marcadores codominantes como las isoenzimas y microsatélites pueden ser obtenidos parámetros de diversidad, también se calculan coeficientes de endogamia (F) a partir de la heterocigosidad observada y esperada, e índices de similitud (I) o distancia

genética (D) que cuantifican la semejanza o diferencia genética entre poblaciones a partir de las frecuencias alélicas. La diversidad genética cuantificada por marcadores moleculares puede mostrar por ejemplo, que en una especie nativa de interés forestal todas las poblaciones presentan altos niveles de variabilidad genética y son bastante similares entre sí.

El conocimiento de los componentes de variación entre y dentro de las poblaciones naturales puede utilizarse además en situaciones de repoblamiento, es decir, la introducción de individuos en áreas en proceso de declinación. De acuerdo a la información obtenida por la caracterización molecular, es posible seleccionar la ó las poblaciones donadoras sobre la base de la similitud genética con la receptora, de modo de evitar los efectos indeseables de la depresión por exogamia.

Las malezas de mayor impacto en la agricultura mundial son en general especies introducidas. En el nuevo territorio, libre de presiones selectivas tales como especies competidoras o patógenos características del ecosistema de origen, la especie introducida es capaz de establecerse y colonizar todos los territorios que reúnan determinadas condiciones ambientales. La caracterización genética de las poblaciones de malezas puede aportar información de utilidad en los programas de control. Mediante diferentes marcadores moleculares puede establecerse si las poblaciones actuales provienen de un solo evento de introducción, con unos pocos individuos iniciales o por el contrario, ocurrieron eventos múltiples de introducción. Además, determinados marcadores informativos pueden establecer con bastante precisión cuál es el lugar de origen de las poblaciones introducidas, y en este caso rastrear «enemigos naturales» que pudieran ser útiles como control biológico de la especie invasora. Del mismo modo puede ser analizada la variabilidad genética de patógenos o parásitos vegetales tales como razas de royas, virus, nemátodos, etc. y a partir de esta información diseñar programas de control más eficaces.

2.10.5 Estimación del flujo génico

El flujo génico entre poblaciones vegetales ocurre mediante el movimiento de polen o de semillas. La morfología de semilla y polen, los mecanismos de dispersión, el tipo de polinización, etc., hacen que la contribución de estas dos vías al flujo total varíe de acuerdo a la especie. Los marcadores moleculares y Mejoramiento genético permiten cuantificar

cada uno de estos procesos. Si el flujo génico se produce básicamente a través de polen, los marcadores de ADN de organelos, como por ejemplo cloroplastos, no serán transferidos de una población a otra porque este tipo de información es sólo heredada por vía materna. En contraste, si el flujo génico se realiza principalmente a través de semillas, tanto los marcadores de herencia materna como los de herencia biparental o nuclear, serán transmitidos entre poblaciones. Mediante el uso de marcadores altamente polimórficos como los microsatélites es posible determinar cuál ha sido la planta donadora del polen de cada semilla por ejemplo, en especies arbóreas. En este caso, por un lado se obtiene información acerca de la distancia de transporte de polen y además constituye un test de «paternidad». La estimación del flujo génico ha cobrado especial relevancia en los estudios tendientes a evaluar el efecto sobre el ambiente de los materiales genéticamente modificados.

2.11 Detección de reducciones recientes en tamaño efectivo de las poblaciones

En biología se dice que una población o especie ha sufrido una situación de Cuello de Botella cuando ha experimentado un drástico descenso en el número de miembros en algún momento del pasado, llegando en algunos casos a estar al borde de la extinción. Como consecuencia, los ejemplares de las generaciones posteriores al cuello de botella presentan una escasa variabilidad genética y la antigua proporción de alelos en el conjunto de la población ha cambiado considerablemente. Los cuellos de botella aceleran la deriva genética y la evolución de las especies que los experimentan de forma considerable, pues se produce una selección intensiva de determinados caracteres que pasan a ser mayoritarios en los individuos supervivientes, mientras que otros menos favorables se reducen o desaparecen por completo (a menos que el cuello de botella haya sido causado de forma no natural, por ejemplo, mediante la caza o tala masiva de árboles practicada por la especie humana).

Los especialistas en conservación biológica coinciden ampliamente que los cuellos de botella en poblaciones deben ser evitados, son una amenaza para las especies; la identificación de poblaciones que han sufrido reducciones severas en tamaño efectivo (cuellos de botella) es de gran importancia debido a que pueden incrementarse las tasas de

endogamia, la pérdida de variación genética, la fijación de alelos desfavorables y las variaciones demográficas aleatorias; en su conjunto estos factores reducen el potencial evolutivo e incrementan las probabilidades de extinción de las poblaciones. Desde el punto de vista de conservación y utilización de los recursos fitogenéticos, es de gran importancia identificar aquellas poblaciones que han sufrido reducciones recientes en el número efectivo de individuos, especialmente aquellos casos que han ocurrido en las pasadas décadas debido a que dichas poblaciones pueden no haberse adaptado todavía a los cambios ambientales (Allendorf y Luikart, 2007).

Los cuellos de botella, se fundamentan en eventos muy importantes en algunos modelos de especies. Por ejemplo la colonización de una nueva área por pocos individuos apareados con una sola hembra puede causar cambios genéticos extensos que inducen a reproducción aislada. Diversos investigadores están conduciendo cada vez más estudios para detectar y evaluar los efectos de cuellos de botella en poblaciones naturales. Estos estudios se relacionan con métodos moleculares que pueden detectar cuellos de botella históricos y ayudar a evaluar la magnitud y dibujar los cambios genéticos asociados a la colonización. Muchos autores tienen que recurrir a la hipótesis de cuellos de botella para explicar observaciones de baja variación genética en el estudio de especies. Los niveles de variación genética son usados como métodos para detectar cuellos de botella en ausencia de datos históricos. Se han desarrollado métodos para detectar cuellos de botella antiguos usando secuencias de ADN y genealogías.

Desde la década de 1970 ha habido preocupación por desarrollar modelos matemáticos que describan cuantitativamente las reducciones en diversidad genética ocasionadas por las reducciones drásticas en el tamaño de las poblaciones. Nei *et al.* (1975) presentaron las fórmulas para estimar diversidad genética cuando el tamaño de las poblaciones está cambiando; adicionalmente presentaron los cambios en número de alelos por locus. Por otra parte, se han iniciado investigaciones para el desarrollo de métodos de análisis y programas de cómputo que permitan detectar las reducciones recientes en el tamaño de las poblaciones con base en frecuencias génicas provenientes de datos moleculares.

Existen dos metodologías para estimar las reducciones drásticas en el tamaño efectivo de las poblaciones: (i) a partir de datos de frecuencias alélicas de marcadores moleculares en una época en particular y (ii) estimaciones con base en monitoreo del cambio en frecuencias alélicas en dos épocas determinadas. Dentro de la primera estrategia para estimar reducciones en tamaño efectivo de las poblaciones, Luikart *et al.* (1998) y Cornuet y Luikart (1996) han propuesto varias opciones para evaluar cualitativa y cuantitativamente las reducciones recientes en el tamaño de las poblaciones. Por lo general los métodos presentados por estos autores no requieren datos históricos en los tamaños poblacionales ni de los niveles de variación genética, éstos requieren solamente de la estimación de frecuencias alélicas de 5 a 20 loci polimórficos y una muestra de 20 a 30 individuos por población.

Los aspectos teóricos involucrados en las metodologías disponibles para evaluar los cuellos de botella se basan a que existe una correlación entre las reducción del tamaño de las poblaciones y reducción en el número de alelos y diversidad genética; sin embargo, el número de alelos se reduce más rápidamente que la diversidad genética. Con esto en mente, en una población con reducciones recientes en su tamaño, la diversidad genética observada es mayor que la diversidad esperada (H_{eq}), la cual se calcula con base en el número de alelos bajo la suposición de un tamaño constante (en equilibrio). Luikart *et al.* (1996) propusieron varias pruebas para determinar si una población exhibe un número significativo de loci con “exceso” de diversidad genética. Como parte de los resultados de sus investigaciones estos últimos investigadores diseñaron el programa Bottleneck que permite llevar a cabo varios tipos de análisis de datos obtenidos de marcadores moleculares codominantes. El programa Bottleneck calcula para cada población y para cada locus la distribución esperada de la diversidad genética a partir del número observado de alelos, dado un tamaño de muestra n y bajo la suposición de equilibrio entre mutación y deriva genética. Con estos valores, se llevan a cabo tres pruebas estadísticas con el fin de establecer si existe exceso o deficiencia de heterocigocidad para cada locus. Dentro de la segunda opción, hay al menos tres artículos que describen detalladamente el método de análisis.

Los aspectos teóricos involucrados en los métodos de estimación puntual han sido presentados por Nei *et al.* (1975). El punto central de esta teoría es que el número de alelos observado en la muestra es menor que el número de alelos esperado para el nivel observado de heterocigosis conforme la suposición que la población está en equilibrio de flujo genético y de mutación. La carencia alélica es una función compleja de cuatro parámetros: el tiempo desde la iniciación del cuello de botella (t), el tamaño efectivo de población antes y después de iniciado el cuello de botella (α), la tasa de mutación (μ) del locus y el tamaño de la muestra de genes (n).

Cuando ocurre un cuello de botella, ocurren reducciones drásticas en número de alelos y heterocigosis; los alelos se pierden más rápido que la heterocigosis y como consecuencia, cuando se muestrean individuos, hay una deficiencia transitoria en número de alelos. Es necesario probar la deficiencia de alelos, y es recomendado determinar la relación entre la heterocigosis observada y el número esperado de alelos. En teoría estas dos cantidades están relacionadas a través del parámetro θ ($4N_e\mu$). Una solución más conveniente para dicha prueba se basa en las diferencias entre la heterocigosis observada y la heterocigosis esperada por el número observado de alelos. Las poblaciones manifiestan un exceso significativo de heterocigosis esperada cuando experimentaron un cuello de botella genético reciente. Debe resaltarse que este exceso de heterocigosis no debe ser confundido con el exceso de heterocigotos. Las pruebas que se han propuesto determinan si la proporción de loci con exceso de heterocigosis es significativamente mayor que la esperada con equilibrio; otra prueba establece si el promedio de diferencias estandarizadas entre heterocigosis esperada y observada es significativamente diferente de cero, una tercera prueba comúnmente usada es la prueba de Wilcoxon (Luikart *et al.*, 1998b).

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material genético

En el presente estudio, se incluyó un total de 67 poblaciones de teocintle (*Zea mays* ssp *mexicana* raza Mesa Central; *Zea mays* ssp *parviglumis*, raza Balsas y *Zea diploperennis*), que representan a los grupos raciales más importantes de México. Las 67 accesiones de teocintle fueron colectadas por investigadores de la Universidad de Guadalajara durante los años 2002 y 2003 (Sánchez, *et al.* 2004). La lista de accesiones individuales de las razas y de las poblaciones de teocintle estudiados, se incluye en el Cuadro 1A, mientras que su distribución geográfica se presenta en la Figura 1.

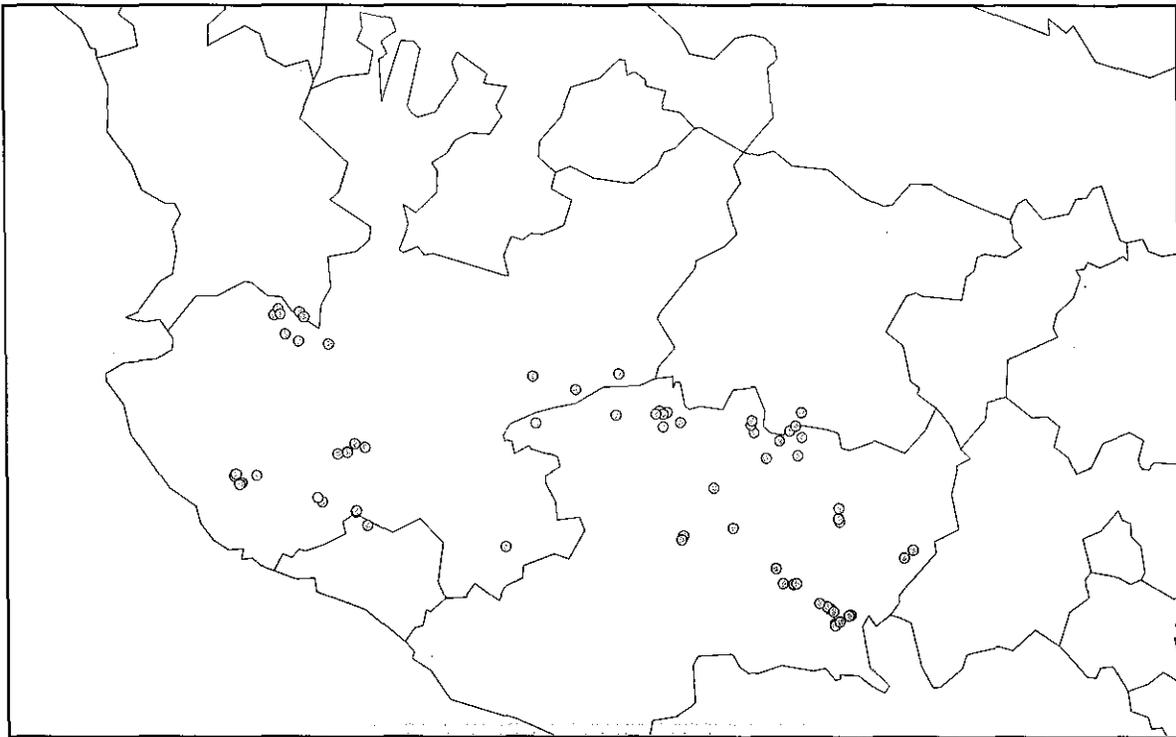


Figura 1. Distribución de las poblaciones de teocintle estudiadas, en el Occidente de México.

En el invierno de 2004-2005 fueron sembradas las 67 accesiones de teocintle en Tapachula, Nayarit; se sembraron dos surcos con 20 plantas para cada población. Todas las plantas fueron establecidas empleando las prácticas culturales estándares para la producción de

teocintle se sembraron en orden en el campo con base en sus características similares de ciclo vegetativo, altura de planta y origen racial.

3.2 Los sitios de estudio

Los trabajos de campo fueron realizados en el Centro de Investigaciones de la empresa Pioneer Hi-Bred International en Tapachula, Nayarit, México. Tapachula está situada a 20° 49' N y 105° 55' O, con una elevación de 26 m; la temperatura media, durante el periodo de enero-junio es de 25 °C y por lo general no se registran lluvias en dicho periodo.

3.3 Extracción de ADN

Se tomaron muestras frescas de hojas de cada uno de los materiales indicados en el Cuadro 1 A (APÉNDICE). Las muestras fueron obtenidas de hojas sanas de plantas de aproximadamente 30 días de edad y consistieron de 10 a 12 discos de aproximadamente 8 mm de la parte media de la hoja. Los discos de cada planta se colocaron en tubos de plástico, se cerraron y se colocaron en bandejas de 96 cavidades. Cada accesión y cada planta fueron identificadas y colocadas en hieleras para su envío a los laboratorios de Pioneer, en Johnston, Iowa para la extracción de ADN y análisis de SSRs. De utilizó el método de extracción reportado por Saghai-Marooof *et al.* (1984)

3.4 Análisis de ADN

Las regiones de los microsatélites en el genoma fueron amplificadas por PCR con primers seleccionados de la lista publicada por Matsuoka *et al.* (2002b). Las secuencias de cada primer están disponibles en Maize Genetics Data Base (www.agron.missouri.edu/ssr.html). Los productos PCR fueron separados por electroforesis capilar con un secuenciador automatizado de Applied Biosystems equipado con el software de análisis de fragmentos de ADN, GENESCAN y GENOTYPER. El tamaño de los fragmentos de ADN fue calculado automáticamente y de manera uniforme para todas las muestras analizadas. Se usaron 28 loci SSR localizados en los 10 cromosomas del teocintle. La lista de los SSRs se presenta el Cuadro 1, el cual incluye su localización cromosómica, el tipo de modelo de evolución de acuerdo a Matsuoka *et al.* (2002b).

3.5 Análisis de los datos

La diversidad genética para cada población y para cada región del Occidente de México fue estimada por medio de el número de alelos, porcentaje de loci polimórficos, heterocigosidad observada y esperada; para los cálculos se usó el Sistema de Análisis Estadístico (SAS, 2001). Considerando que algunas medidas de diversidad como la heterocigosidad esperada se ven afectadas por el tamaño de muestra, se obtuvieron estimadores insesgados tal y como lo sugiere Nei (1987).

Cuadro 1. Lista de marcadores moleculares usados en el estudio de teocintle.

Marcador	Bin	Tipo*	Núm.
Phi056	1.01	Continuo	1
Phi427913	1.01	Continuo	2
Phi109275	1.03	Continuo	3
Phi339017	1.03	Casi continuo	4
Phi335539	1.08	Casi continuo	5
Phi064	1.11	Continuo	6
Phi402893	2.00	Continuo	7
Phi96100	2.01	Continuo	8
Phi083	2.04	Casi continuo	9
Phi127	2.08	Casi continuo	10
Phi427434	2.08	Casi Stepwise	11
Phi453121	3.01	Continuo	12
Phi029	3.04	Continuo	13
Phi073	3.05	Mixed	14
Phi072	4.01	Continuo	15
Phi213984	4.01	Mixed	16
Phi076	4.11	Mixed	17
Phi109188	5.03	Continuo	18
Phi085	5.06	Mixed	19
Phi389203	6.03	Casi Stepwise	20
Phi034	7.02	Casi continuo	21
Phi115	8.03	Mixed	22
Phi015	8.08	Continuo	23
Phi233376	8.09	Continuo	24
Phi033	9.01	Continuo	25
Phi448880	9.07	Mixed	26
Phi059	10.02	Mixed	27
Phi062	10.04	Casi Stepwise	28

*Modelo de evolución de acuerdo a Matsuoka *et al.* (2002b).

Para investigar las reducciones severas en tamaño de las poblaciones (cuellos de botella), se usaron los métodos descritos por Luikart y colaboradores (Cornuet and Luikart, 1996; Luikart *et al.*, 1998a y 1998b). De acuerdo a los autores anteriores, la prueba de Wilcoxon y

las gráficas para detectar distorsión en las distribuciones de frecuencias alélicas son excelentes indicadores para identificar cuellos de botella recientes.

3.6 Diversidad genética dentro de poblaciones.

Dentro de este análisis se usaron los siguientes estadísticos:

Número de alelos por locus en una muestra o población (riqueza): (n_a).

Porcentaje de loci polimórficos (LP): se calcula dividiendo el número de *loci* polimórficos por el número total de loci analizados

Número de alelos por loci polimórfico (A_p): un locus se considera polimórfico si la frecuencia del alelo más común es menor de 0.99; así, A_p se calcula excluyendo los *loci* monomórficos.

Heterocigosidad observada (H_o): Conteo directo de los individuos heterocigotos en la población.

$$H_{oL} = \sum_{ij} n_{ij}/n$$

Donde n_{ij} es el número observado de heterocigotos A_iA_j , con $i \neq j$ en un locus determinado en la muestra de tamaño n . Para varios *loci* (m),

$$H_o = \sum_l H_{oL} / m$$

La varianza de heterocigosidad es:

$$S^2_{H_o} = \sum (H_{oL} - H_o)^2 / (m-1)$$

Diversidad genética o heterocigosidad esperada. Para un locus,

$$H_p = 1 - \sum_i p_i^2$$

Cuando el tamaño de muestra (n) es menor de 50 individuos, Nei (1987) indica que el estimador insesgado de H es:

$$H_p = 2n(1 - \sum_i p_i^2)/(2n-1)$$

La varianza de diversidad genética se puede calcular como:

$$S^2_H = \sum (H_{pL} - H_p)^2/(m-1)$$

Desviaciones de equilibrio Hardy-Weinberg o endogamia dentro de una población:

$$F_{IS} = (H_S - H_o)/H_S$$

Diferenciación genética:

$F_{ST} = (H_T - H_S)/H_T$ que representa la proporción de la variación en las subpoblaciones en relación a la variación total. Este estadístico se ha denominado G_{ST} por Nei (1987).

Los datos de teocintle fueron agrupados basados en la geografía, la morfología y semejanzas citológicas (Sánchez, *et al.*, 1998), y las diferencias entre los grupos para los diversos estadísticos fueron analizadas usando el procedimiento MIXED del sistema de análisis estadístico (SAS INSTITUTE, 1998) con los grupos y las accesiones-dentro-grupos tratados como variables de clasificación. Para cada una de esas variables, es posible comparar las diferencias entre grupos usando el cuadrado medio de las accesiones dentro grupos como término apropiado del error.

3.7 Diversidad genética entre poblaciones.

Las relaciones entre los materiales genéticos se establecieron con base en Análisis de Componentes Principales (ACP). El objetivo del ACP sea ver si los primeros componentes pueden explicar la mayor parte de la variación en los datos originales. Cuando este es el caso, se supone que la dimensionalidad efectiva del problema es menor que el número total de variables en estudio.

IV RESULTADOS

4.1 Diversidad genética

En el Cuadro 2 se presentan los números de alelos registrados para cada locus; en total, se registraron 630 alelos, con un promedio de 22.5 alelos por locus. Como se podrá observar el Cuadro 2, no hay uniformidad en el número de alelos por locus en los 10 cromosomas, sin embargo, destacan Phi064, localizado en el cromosoma 1 y Phi029 en el cromosoma 3 con 40 y 37 alelos. Por su parte, Phi115, localizado en el cromosoma 8, presentó el menor número de alelos con únicamente cuatro.

Cuadro 2. Número de alelos por locus.

Marcador	Bin	Tipo*	Núm.	No. alelos
Phi056	1.01	Continuo	1	22
Phi427913	1.01	Continuo	2	21
Phi109275	1.03	Continuo	3	21
Phi339017	1.03	Casi continuo	4	20
Phi335539	1.08	Casi continuo	5	17
Phi064	1.11	Continuo	6	40
Phi402893	2.00	Continuo	7	27
Phi96100	2.01	Continuo	8	32
Phi083	2.04	Casi continuo	9	16
Phi127	2.08	Casi continuo	10	25
Phi427434	2.08	Casi Stepwise	11	17
Phi453121	3.01	Continuo	12	27
Phi029	3.04	Continuo	13	37
Phi073	3.05	Mixed	14	18
Phi072	4.01	Continuo	15	32
Phi213984	4.01	Mixed	16	14
Phi076	4.11	Mixed	17	17
Phi109188	5.03	Continuo	18	30
Phi085	5.06	Mixed	19	30
Phi389203	6.03	Casi Stepwise	20	10
Phi034	7.02	Casi continuo	21	18
Phi115	8.03	Mixed	22	4
Phi015	8.08	Continuo	23	34
Phi233376	8.09	Continuo	24	23
Phi033	9.01	Continuo	25	28
Phi448880	9.07	Mixed	26	12
Phi059	10.02	Mixed	27	29
Phi062	10.04	Casi Stepwise	28	9

*Patrones de mutación de acuerdo a Matsuoka *et al.* (2002b).

En el Cuadro 3 se presentan los valores calculados para los índices de diversidad de las 67 poblaciones de teocintle estudiadas; dentro de regiones, el mayor número de alelos correspondió a poblaciones del sureste de Michoacán con valores de hasta 262 alelos por población, es decir, casi 10 alelos por locus. En la región de El Bajío también se detectaron poblaciones con cerca de 200 alelos en total, sin embargo, en promedio, las del este de Michoacán las superan en casi 20 alelos por población. Cabe destacar que en las poblaciones con los menores números de alelos se concentraron, todas, en la región cercana a Villa Purificación, Jalisco con no más de 87 alelos (tres alelos por locus). Estos contrastes en número de alelos se reflejan en el resto de estadísticos; los valores máximos de heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_s) fueron de cerca de 0.60 y 0.75 respectivamente para el este de Michoacán, mientras que los valores para las poblaciones de Villa Purificación, Jal., fueron de 0.2 y 0.4 respectivamente para H_o y H_s .

Considerando a las regiones como poblaciones continuas, se agruparon los datos y con el total de plantas de cada región, se calcularon los estadísticos de diversidad. Los resultados se presentan en el Cuadro 4, y reflejan de manera clara lo mencionado anteriormente. La región del este de Michoacán con poblaciones de la raza Balsas tiene concentrada una gran diversidad alélica con 512 alelos (18 por locus), que representan más del 80% del observado en todo el Occidente de México; la misma tendencia se observa en heterocigosidad en donde se observaron valores de cerca de 0.8 para heterocigosidad esperada (H_p) y 0.52 para la heterocigosidad observada (H_o). La región de El Bajío mostró niveles importantes de diversidad, con alrededor de 60% de los alelos totales y valores de H_p de 0.75 y de 0.5 para H_o ; mientras que la región de Villa Purificación, Jal. y *Zea diploperennis* de la Sierra de Manantlán mostraron los menores niveles de diversidad de todo el Occidente de México, con un 23 y un 29% de alelos respecto al total, y valores de H_p de 0.44 y 0.53, respectivamente.

Cuadro 3. Estadísticos de diversidad genética en 67 poblaciones de teocintle del occidente de México.

No.	Grupo	Accesión	Raza	Sitio de recolección	Muestra	PL	NALLE	AL	H _s	H _o
173	1	JSG-LCL-554	Balsas	El Sauz	27.8	0.964	126	4.500	0.507	0.392
174	1	RMM-11	Balsas	La Lima	25.9	1.000	159	5.679	0.607	0.467
175	1	RMM-7	Balsas	El Rodeo	26.1	1.000	158	5.643	0.599	0.512
176	1	JSG-LOS-142	Balsas	El Saucito	27.4	1.000	134	4.786	0.588	0.345
177	1	RMM-3	Balsas	San Lorenzo	26.0	0.929	87	3.107	0.427	0.353
178	1	RMM-4	Balsas	Los Naranjos	26.4	1.000	161	5.750	0.622	0.498
179	1	RMM-10	Balsas	Crucero Ejutla-Unión de Tula	26.5	1.000	153	5.464	0.617	0.503
180	1	JSG-RMM-LCL-556	Balsas	Camino El Estanco-Amacuitlanejo	25.1	1.000	145	5.179	0.593	0.473
181	1	RMM-9	Balsas	El Coyotomate	26.7	1.000	169	6.036	0.663	0.492
200	2	JSG-JRP-ERG-542	Balsas	3 km E de Amatlán de Cañas	26.5	0.964	123	4.393	0.558	0.495
201	2	JSG-JRP-ERG-543	Balsas	Amatlán de Cañas (Junto al Panteón)	25.8	1.000	127	4.536	0.578	0.469
202	2	JSG Y LOS -40	Balsas	Zacatongo	26.9	1.000	165	5.893	0.616	0.515
203	2	JSG-JRP-ERG-544	Balsas	El Rodeo (Km 7 Tepuz-El Tablillo)	26.1	1.000	163	5.821	0.640	0.519
204	2	JSG-JRP-ERG-545	Balsas	El Tablillo	25.6	1.000	172	6.143	0.643	0.551
205	2	JSG-467	Balsas	Quexpan-Las Raíces	27.4	1.000	135	4.821	0.549	0.488
206	2	JSG Y SHP-464	Balsas	La Ciénega (La Fortuna)	27.7	1.000	167	5.964	0.604	0.523
207	2	JSG-421	Balsas	K10 Guachinango-La Ciénega	25.6	1.000	165	5.893	0.626	0.573
134	3	JSG Y RMM-460	Balsas	Cuirindalillo (km 142 Huet-Carac)	25.6	1.000	216	7.714	0.689	0.495
135	3	JSG Y RMM-461	Balsas	El Zapote (K122 Huetamo-Caracuaro)	24.5	1.000	178	6.357	0.652	0.520
137	3	JSG-RMM-LCL-519	Balsas	Puerto El Coyote (km 131 Huet-V. Mad)	27.2	1.000	171	6.107	0.668	0.495
138	3	JSG-RMM-LCL-520	Balsas	Km 135-136 Huetamo-Villa Madero	25.3	1.000	190	6.786	0.659	0.473
139	3	JSG-RMM-LCL-514	Balsas	Km 80 Huetamo-Villa Madero	27.7	1.000	178	6.357	0.626	0.487
140	3	JSG-RMM-LCL-515	Balsas	La Cadena (Km 93 Huet-V Madero)	27.1	1.000	206	7.357	0.697	0.494
141	3	JSG-RMM-LCL-516	Balsas	Puente Petembo (K95 Huet-V.Mad)	26.3	1.000	221	7.893	0.694	0.503
142	3	JSG Y RMM-457	Balsas	El Potrero (km 145.5 Zitácuaro-Huet)	27.3	1.000	240	8.571	0.721	0.528
143	3	JSG Y RMM-458	Balsas	Quenchendio (km 151.5 Zit-Huet)	28.0	1.000	232	8.286	0.703	0.508
144	3	JSG Y RMM-459	Balsas	Crucero Puertas de Chiripio (km 153)	26.5	1.000	185	6.607	0.680	0.523
145	3	JSG Y RMM-455	Balsas	El Guayabo (km 132.5 Zit-Huetamo)	26.6	1.000	230	8.214	0.710	0.541
146	3	JSG Y RMM-456	Balsas	La Crucita (km 135 Zitácuaro-Huet)	27.5	1.000	228	8.143	0.721	0.571
147	3	JSG Y RMM-454	Balsas	Los Guajes (km 43 Zitácuaro-Huet)	26.0	1.000	209	7.464	0.698	0.512
148	3	JSG-RMM-557	Balsas	K100 Autopista Uruapan-L. Cárdenas	26.5	0.964	148	5.286	0.597	0.420
149	3	JSG-RMM-558	Balsas	Taretan (La Perimera)	28.1	1.000	172	6.143	0.620	0.489
172	3	JSG Y RMM-453	Balsas	1 Km Norte de Santa Ana	26.5	1.000	249	8.893	0.730	0.582

Cuadro 3...continuación

No.	Grupo	Accesión	Raza	Sitio de recolección	Muestra	PL	NALLE	AL	H _s	H ₀
182	3	JSG-RMM-LCL-537	Balsas	Km 37 Temascal-Huetamo	28.6	1.000	243	8.679	0.719	0.557
183	3	JSG-RMM-LCL-538	Balsas	Km 33.5 Temascal-Huetamo	26.4	1.000	262	9.357	0.746	0.620
184	3	JSG-RMM-LCL-539	Balsas	Queretanillo	26.1	1.000	213	7.607	0.696	0.542
185	3	JSG Y RMM-462	Balsas	Casa Blanca (K62 Huet-Viila Mad)	27.5	1.000	166	5.929	0.621	0.468
129	4	RMM-14	Balsas	Jirosto (Las Carboneras)	23.8	0.929	87	3.107	0.425	0.213
130	4	JSG-RMM-LCL-546	Balsas	Los Cimientos	17.6	0.929	84	3.000	0.394	0.274
131	4	JSG-RMM-LCL-547	Balsas	El Tepopote (Huista-La Cofradía)	18.4	0.857	83	2.964	0.353	0.172
132	4	JSG-RMM-LCL-548	Balsas	La Cofradía (2km al E)	17.9	0.893	86	3.071	0.386	0.228
133	4	JSG-RMM-LCL-555	Balsas	1 Km N Talpitita (La Higuera)	22.1	0.857	87	3.107	0.372	0.219
152	5	JSG-RMM-LCL-551	<i>Z. diploperennis</i>	Las Joyas (Las Playas)	24.7	0.893	124	4.429	0.490	0.331
153	5	JSG-RMM-LCL-552	<i>Z. diploperennis</i>	Corralitos	24.0	0.964	168	6.000	0.554	0.395
212	6	JSG Y RMM-463	Mesa Central	Opopeo	27.5	1.000	166	5.929	0.591	0.478
213	6	JSG-LCL-559	Mesa Central	Lázaro Cárdenas	25.9	1.000	133	4.750	0.516	0.397
235	6	JSG Y RMM-445	Mesa Central	Piñicuaro	26.2	1.000	194	6.929	0.639	0.507
236	6	JSG Y RMM-446	Mesa Central	Crucero Sepio (Piñicuaro-Moroleón)	28.2	1.000	205	7.321	0.690	0.592
237	6	JSG Y RMM-447	Mesa Central	Uriangato (salida a Yuriria)	26.8	1.000	204	7.286	0.689	0.578
238	6	JSG Y RMM-448	Mesa Central	2 Km Sur de Cuamio	25.8	1.000	196	7.000	0.669	0.533
239	6	JSG Y RMM-450	Mesa Central	San Agustín del Maíz	26.7	1.000	194	6.929	0.660	0.504
240	6	JSG Y RMM-451	Mesa Central	Km 267.5 Autopista Guad-Morelia	25.8	1.000	181	6.464	0.649	0.483
241	6	JSG Y RMM-449	Mesa Central	Hacienda La Estancia	25.1	1.000	197	7.036	0.679	0.590
243	6	JSG Y RMM-441	Mesa Central	Km 3 Puruándiro-Las Pilas	25.3	0.964	176	6.286	0.663	0.554
244	6	JSG Y RMM-443	Mesa Central	Km 2 Puruándiro-Cuitzeo	25.5	1.000	182	6.500	0.645	0.545
245	6	JSG Y RMM-444	Mesa Central	Batuecas (1 km hacia Cuitzeo)	27.0	1.000	137	4.893	0.492	0.370
209	7	JSG-465	Mesa Central	San Jerónimo (Cerro Grande)	28.5	1.000	168	6.000	0.574	0.500
210	7	JSG-427	Mesa central	El Salitre	26.6	1.000	191	6.821	0.666	0.572
211	7	JSG, MAS Y ERV-411	Mesa Central	La Providencia 1 Km al N (La Noria)	26.5	1.000	150	5.357	0.509	0.397
230	7	JSG Y RMM-438	Mesa Central	Changuitiro (1km a Purepero)	28.1	1.000	157	5.607	0.632	0.495
231	7	JSG-426	Mesa Central	Cerro Churintzio	25.9	1.000	163	5.821	0.597	0.524
232	7	JSG Y RMM-439	Mesa Central	Km 3.2 Churintzio-La Noria	27.4	1.000	155	5.536	0.596	0.461
233	7	JSG Y RMM-440	Mesa Central	Penjamillo	28.6	1.000	172	6.143	0.611	0.497
234	7	JSG Y RMM-442	Mesa Central	Jalapa	26.6	0.964	154	5.500	0.560	0.416
242	7	JSG Y RMM-452	Mesa Central	Km 351.3 Autopista Guad-Morelia	25.8	1.000	164	5.857	0.635	0.553
246	7	JSG Y ERV-409	Mesa Central	Km 3 Ahuatlán-Poncitlán	24.1	1.000	119	4.250	0.538	0.451
250	7	JSG Y LOS -75	Mesa Central	5-7 km SW Cojumatlan	25.4	1.000	140	5.000	0.534	0.415

Cuadro 4. Estadísticos de diversidad para regiones del occidente de México*.

Región	Raza	Muestra	PL	NALLE	AL	H _{P1}	H _P	H _{OP}
Este de Michoacán	Balsas	535.4	100.0	512	18.3	0.767	0.767	0.517
El Bajío	Mesa Central	315.8	100.0	389	13.9	0.753	0.754	0.509
Ciénega de Chapala	Mesa Central	293.5	100.0	352	12.6	0.702	0.703	0.481
Sur de Jalisco	Balsas	237.9	100.0	314	11.2	0.720	0.721	0.450
Guachinango-Amatlán	Balsas	211.6	100.0	283	10.1	0.689	0.691	0.517
Villa Purificación	Balsas	99.8	100.0	143	5.1	0.441	0.443	0.222
Sierra de Manantlán	<i>Zea diploperennis</i>	48.7	100.0	185	6.6	0.538	0.544	0.364

*PL=porcentaje de loci polimórficos, NALLE=número total de alelos en la región, AL=promedio de alelos, H_{P1}=heterocigosidad esperada corregida por tamaño de muestra, H_P=heterocigosidad esperada, H_{OP}=heterocigosidad observada.

Los datos para cada una de las poblaciones de teocintle fueron agrupados con base en origen geográfico, y las diferencias entre los grupos para los diversos estadísticos fueron analizadas usando el procedimiento MIXED del sistema de análisis estadístico (SAS INSTITUTE, 1998). Los valores promedio para los estadísticos de diversidad de cada uno de los grupos se presentan en el Cuadro 5. En dicho cuadro se presenta el valor de la diferencia mínima significativa (DMS 0.05) para fines de comparación entre medias de grupos.

Cuadro 5. Medias de estadísticos de diversidad en grupos de poblaciones de teocintle¹.

Clave	Grupo	Accesiones	PL	NAP	AP	H _{S1}	H _S	H _O
3	Este de Michoacán	20	0.998*	206.9*	7.4*	0.682*	0.696*	0.516*
6	El Bajío	12	0.997*	180.4*	6.4*	0.632*	0.646*	0.511*
2	Guachinango-Amatlán	8	0.996*	152.1	5.4	0.602	0.614	0.517*
7	Ciénega de Chapala	11	0.997*	157.5	5.6	0.587	0.598	0.480*
1	Sur de Jalisco	9	0.988*	143.6	5.1	0.580	0.592	0.448
5	Sierra de Manantlán	2	0.929	146.0	5.2	0.522	0.534	0.363
4	Villa Purificación	5	0.893	85.4	3.0	0.386	0.399	0.221
DMS			0.019	27.4	1.0	0.056	0.057	0.059

*Valores iguales estadísticamente (DMS 0.05)

¹PL=porcentaje de loci polimórficos, NAP=número total de alelos por población, AP=promedio de alelos por loci polimórfico, H_{S1}=heterocigosidad esperada corregida por tamaño de muestra, H_S=heterocigosidad esperada, H_O=heterocigosidad observada.

De manera similar que para las poblaciones individuales y las regiones (Cuadros 3 y 4), en promedio, en la región del este de Michoacán se presentaron los mayores valores de diversidad genética, mientras que los menores valores se detectaron en el área de Villa Purificación, Jalisco y en las dos poblaciones de *Zea diploperennis* de la Sierra de Manantlán.

El análisis de la diversidad entre poblaciones se presenta gráficamente en la Figura 2. La Figura 2 resume el análisis de componentes principales (CP); de acuerdo a este análisis, el CP1 explicó el 15% de la diversidad alélica de los 28 SSRs estudiados, el CP2 explicó el 10%, mientras que el tercer componente explicó el 8% de la diversidad alélica.

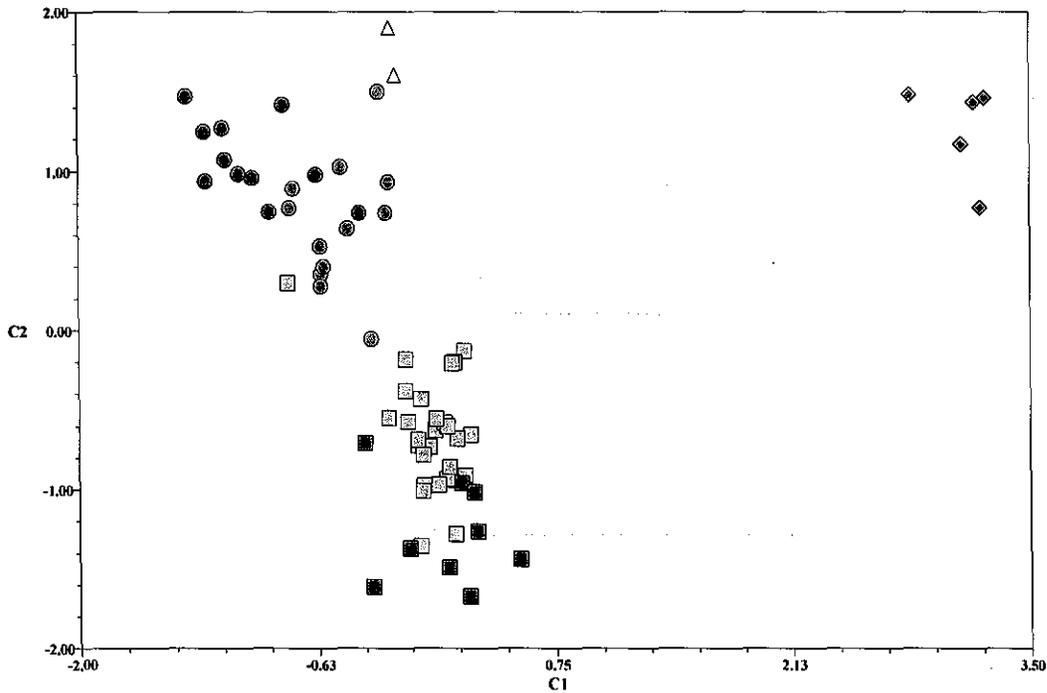


Figura 2. Componentes principales de poblaciones de teocintle con 28 SSRs. Las claves de los grupos se encuentran indicadas en el Cuadro 3 (1, 2 y 3 ssp. *parviglumis*; 6 y 7 ssp. *mexicana*; 5 para *Z. diploperennis*).

El primer componente (CP1), separa con gran claridad las poblaciones de teocintle de las localidades cercanas a Villa Purificación, Jal. (4), del resto de poblaciones. El componente principal 2 (CP2) separa a las poblaciones de *Zea mays* ssp. *parviglumis* (Raza Balsas,

grupos 1, 2 y 3) de las poblaciones de *Zea mays* ssp. *mexicana* (grupos 6 y 7) y de *Zea diploperennis* (grupo 5). Dentro de cada subespecie se observa variación; reflejándose lo encontrado para las poblaciones del este de Michoacán, las cuales muestran mayor dispersión en la Figura 2.

4.2 Análisis de reducciones en tamaño de las poblaciones.

El análisis de las reducciones del tamaño efectivo de las poblaciones de teocintle se basa en el número de alelos (NALLE), en el número de alelos con frecuencias menores a 1% (AC1), porcentaje de alelos con frecuencias menores a 1% (AP1), heterocigosidad esperada (H_s), diferenciación genética (F_{ST}) y en la distribución de frecuencias alélicas de los SSRs. Los valores calculados de los estadísticos anteriores para cada población se presentan en el Cuadro 6, mientras que las gráficas de distribución de frecuencias se presentan en las Figuras 3 a 9. Cada gráfica de distribución de frecuencias se elaboró en la misma escala, teniendo 10 clases (< 0.01, 0.1-0.2, >0.2-0.3, >0.3-0.4, >0.4-0.5, >0.5-0.6, >0.6-0.7, >0.7-0.8, >0.8-0.9 y >0.9) y la escala de número de alelos máxima fue de 150 por clase.

Los criterios para identificar las reducciones recientes fueron los valores bajos en número de alelos, porcentajes menores a 50% de alelos con frecuencias menores al 1% (alelos raros), valores menores de 0.6 de heterocigosidad esperada y altos niveles de diferenciación genética. Adicionalmente, se examinaron las gráficas de frecuencias alélicas para cada población; las poblaciones sin reducciones recientes en tamaño de población, deberán mostrar gráficas tipo "L", es decir, con porcentajes de alelos raros cercanos al 60%; de acuerdo a Nei (1987), los alelos raros son típicamente más abundantes que los alelos con frecuencias intermedias en poblaciones sin problemas de cuellos de botella. Así mismo, se espera que los alelos raros se pierdan rápidamente en poblaciones que han sufrido cuellos de botella.

Por otra parte, dentro de cada región, se eligieron las poblaciones con los valores extremos de diversidad y se llevaron a cabo las pruebas sugeridas por Luikart y colaboradores (Cornuet and Luikart, 1996; Luikart *et al.*, 1998a and 1998b) con base en el programa Bottleneck (Cuadro 2 A).

Cuadro 6. Número de alelos (NALLE), alelos con frecuencias menores a 1% (ACI), porcentaje de alelos con frecuencias menores a 1% (API), heterocigosidad esperada (H_S) y diferenciación genética (F_{ST}) en poblaciones de teocintle del occidente de México.

No.	Grupo	Accesión	Raza	Sitio de colecta	NALLE	ACI	API	H_S	F_{ST}
173	1	JSG-LCL-554	Balsas	El Sauz	126	58	46	0.507	0.353
174	1	RMM-11	Balsas	La Lima	159	79	50	0.607	0.225
175	1	RMM-7	Balsas	El Rodeo	158	78	49	0.599	0.236
176	1	JSG-LOS-142	Balsas	El Saucito	134	53	40	0.588	0.250
177	1	RMM-3	Balsas	San Lorenzo	87	29	33	0.427	0.455
178	1	RMM-4	Balsas	Los Naranjos	161	84	52	0.622	0.206
179	1	RMM-10	Balsas	Crucero Ejutla-Unión de Tuía	153	70	46	0.617	0.213
180	1	JSG-RMM-LCL-556	Balsas	El Estanco-Amacuitlanejo	145	68	47	0.593	0.243
181	1	RMM-9	Balsas	El Coyotomate	169	75	44	0.663	0.153
200	2	JSG-JRP-ERG-542	Balsas	3 km E de Amatlán de Cañas	123	42	34	0.558	0.287
201	2	JSG-JRP-ERG-543	Balsas	Amatlán de Cañas	127	45	35	0.578	0.261
202	2	JSG Y LOS -40	Balsas	Zacatongo	165	89	54	0.616	0.213
203	2	JSG-JRP-ERG-544	Balsas	El Rodeo	163	74	45	0.640	0.183
204	2	JSG-JRP-ERG-545	Balsas	El Tablillo	172	88	51	0.643	0.179
205	2	JSG-467	Balsas	Quexpan-Las Raíces	135	61	45	0.549	0.299
206	2	JSG Y SHP-464	Balsas	La Ciénega (La Fortuna)	167	88	53	0.604	0.228
207	2	JSG-421	Balsas	K10 Guachinango-La Ciénega	165	80	49	0.626	0.201
134	3	JSG Y RMM-460	Balsas	Cuirindalillo	216	128	59	0.689	0.120
135	3	JSG Y RMM-461	Balsas	El Zapote	178	89	50	0.652	0.168
137	3	JSG-RMM-LCL-519	Balsas	Puerto El Coyote	171	79	46	0.668	0.147
138	3	JSG-RMM-LCL-520	Balsas	K135-136 Huetamo-V. Madero	190	102	54	0.659	0.158
139	3	JSG-RMM-LCL-514	Balsas	K80 Huetamo-Villa Madero	178	101	57	0.626	0.201
140	3	JSG-RMM-LCL-515	Balsas	La Cadena	206	114	55	0.697	0.110
141	3	JSG-RMM-LCL-516	Balsas	Puente Petembo	221	135	61	0.694	0.114
142	3	JSG Y RMM-457	Balsas	El Potrero	240	150	63	0.721	0.080
143	3	JSG Y RMM-458	Balsas	Quenchendio	232	147	63	0.703	0.103
144	3	JSG Y RMM-459	Balsas	Crucero Puertas de Chiripio	185	103	56	0.680	0.132
145	3	JSG Y RMM-455	Balsas	El Guayabo	230	140	61	0.710	0.093
146	3	JSG Y RMM-456	Balsas	La Crucita	228	135	59	0.721	0.080
147	3	JSG Y RMM-454	Balsas	Los Guajes	209	122	58	0.698	0.109
148	3	JSG-RMM-557	Balsas	Km 100 Uruapan-L. Cárdenas	148	69	47	0.597	0.238
149	3	JSG-RMM-558	Balsas	Taretan	172	87	51	0.620	0.208
172	3	JSG Y RMM-453	Balsas	1 Km Norte de Santa Ana	249	161	65	0.730	0.068
182	3	JSG-RMM-LCL-537	Balsas	Km 37 Temascal-Huetamo	243	159	65	0.719	0.082
183	3	JSG-RMM-LCL-538	Balsas	Km 33.5 Temascal-Huetamo	262	169	65	0.746	0.048
184	3	JSG-RMM-LCL-539	Balsas	Queretanillo	213	120	56	0.696	0.111
185	3	JSG Y RMM-462	Balsas	Casa Blanca	166	83	50	0.621	0.206
129	4	RMM-14	Balsas	Jirosto (Las Carboneras)	87	31	36	0.425	0.457
130	4	JSG-RMM-LCL-546	Balsas	Los Cimientos	84	26	31	0.394	0.497
131	4	JSG-RMM-LCL-547	Balsas	El Tepopote	83	29	35	0.353	0.549
132	4	JSG-RMM-LCL-548	Balsas	La Cofradía (2km al E)	86	28	33	0.386	0.507
133	4	JSG-RMM-LCL-555	Balsas	1 Km N Talpitita	87	31	36	0.372	0.525
152	5	JSG-RMM-LCL-551	<i>Z. diploperennis</i>	Las Joyas (Las Playas)	124	57	46	0.490	0.374
153	5	JSG-RMM-LCL-552	<i>Z. diploperennis</i>	Corralitos	168	99	59	0.554	0.292
212	6	JSG Y RMM-463	Mesa Central	Opopeo	166	89	54	0.591	0.245
213	6	JSG-LCL-559	Mesa Central	Lázaro Cárdenas	133	64	48	0.516	0.341
235	6	JSG Y RMM-445	Mesa Central	Piñicuaro	194	110	57	0.639	0.184
236	6	JSG Y RMM-446	Mesa Central	Crucero Sepio	205	115	56	0.690	0.119
237	6	JSG Y RMM-447	Mesa Central	Uriangato	204	113	55	0.689	0.121

Cont. Cuadro 6

No.	Grupo	Accesión	Raza	Sitio de colecta	NALLE	ACI	API	H _s	F _{ST}
238	6	JSG Y RMM-448	Mesa Central	2 Km Sur de Cuamio	196	108	55	0.669	0.145
239	6	JSG Y RMM-450	Mesa Central	San Agustín del Maíz	194	108	56	0.660	0.158
240	6	JSG Y RMM-451	Mesa Central	Km 267.5 a Guadalajara-Morelia	181	103	57	0.649	0.171
241	6	JSG Y RMM-449	Mesa Central	Hacienda La Estancia	197	108	55	0.679	0.133
243	6	JSG Y RMM-441	Mesa Central	Km 3 Puruándiro-Las Pilas	176	90	51	0.663	0.154
244	6	JSG Y RMM-443	Mesa Central	Km 2 Puruándiro-Cuitzeo	182	103	57	0.645	0.177
245	6	JSG Y RMM-444	Mesa Central	Batuecas	137	73	53	0.492	0.372
209	7	JSG-465	Mesa Central	San Jerónimo	168	96	57	0.574	0.268
210	7	JSG-427	Mesa Central	El Salitre	191	109	57	0.666	0.149
211	7	JSG-MAS-ERV-411	Mesa Central	La Providencia	150	84	56	0.509	0.350
230	7	JSG Y RMM-438	Mesa Central	Changuitiro	157	65	41	0.632	0.193
231	7	JSG-426	Mesa Centrai	Cerro Churintzio	163	84	52	0.597	0.238
232	7	JSG Y RMM-439	Mesa Central	Km 3.2 Churintzio-La Noria	155	75	48	0.596	0.238
233	7	JSG Y RMM-440	Mesa Central	Penjamiillo	172	89	52	0.611	0.220
234	7	JSG Y RMM-442	Mesa Central	Jalapa	154	85	55	0.560	0.284
242	7	JSG Y RMM-452	Mesa Central	K351.3 Guadalajara-Morelia	164	75	46	0.635	0.189
246	7	JSG Y ERV-409	Mesa Central	Km 3 Ahuatlán-Ponciltán	119	54	45	0.538	0.313
250	7	JSG Y LOS -75	Mesa Central	5-7 km SW Cojumatlan	140	69	49	0.534	0.318

Con base en los resultados del Cuadro 6 y las figuras de distribución de frecuencias alélicas, se puede destacar lo siguiente para cada región.

En la región Sur de Jalisco, las poblaciones de El Sauz, Col. y San Lorenzo, Jal. mostraron los menores valores de diversidad, mayores valores de diferenciación y las gráficas con mayor distorsión en la distribución de frecuencias alélicas. En el caso de El Sauz, se han registrado reducciones visibles en el número de plantas durante el monitoreo y recolección, mientras que en el caso de San Lorenzo no parece haber habido cambios notables en los últimos 15 años.

En el caso de la región de Amatlán de Cañas, el análisis de los SSRs permitió detectar valores relativamente bajos de diversidad; esa misma apreciación se reportó durante la recolección de semilla durante los años 2004 y 2008 (Ron y Sánchez, comunicación personal).

Como podrá notarse en el Cuadro 6 y Figura 5, con la excepción de la población de teocintle colectada en el Km 100 de la carretera Uruapan-Lázaro Cárdenas en Michoacán, en el resto de poblaciones estudiadas no parece haber habido reducciones recientes en el tamaño efectivo de las poblaciones. En la mayor parte de esta región, las poblaciones están compuestas por muchos miles de plantas y en varios casos forman un continuo de varios km².

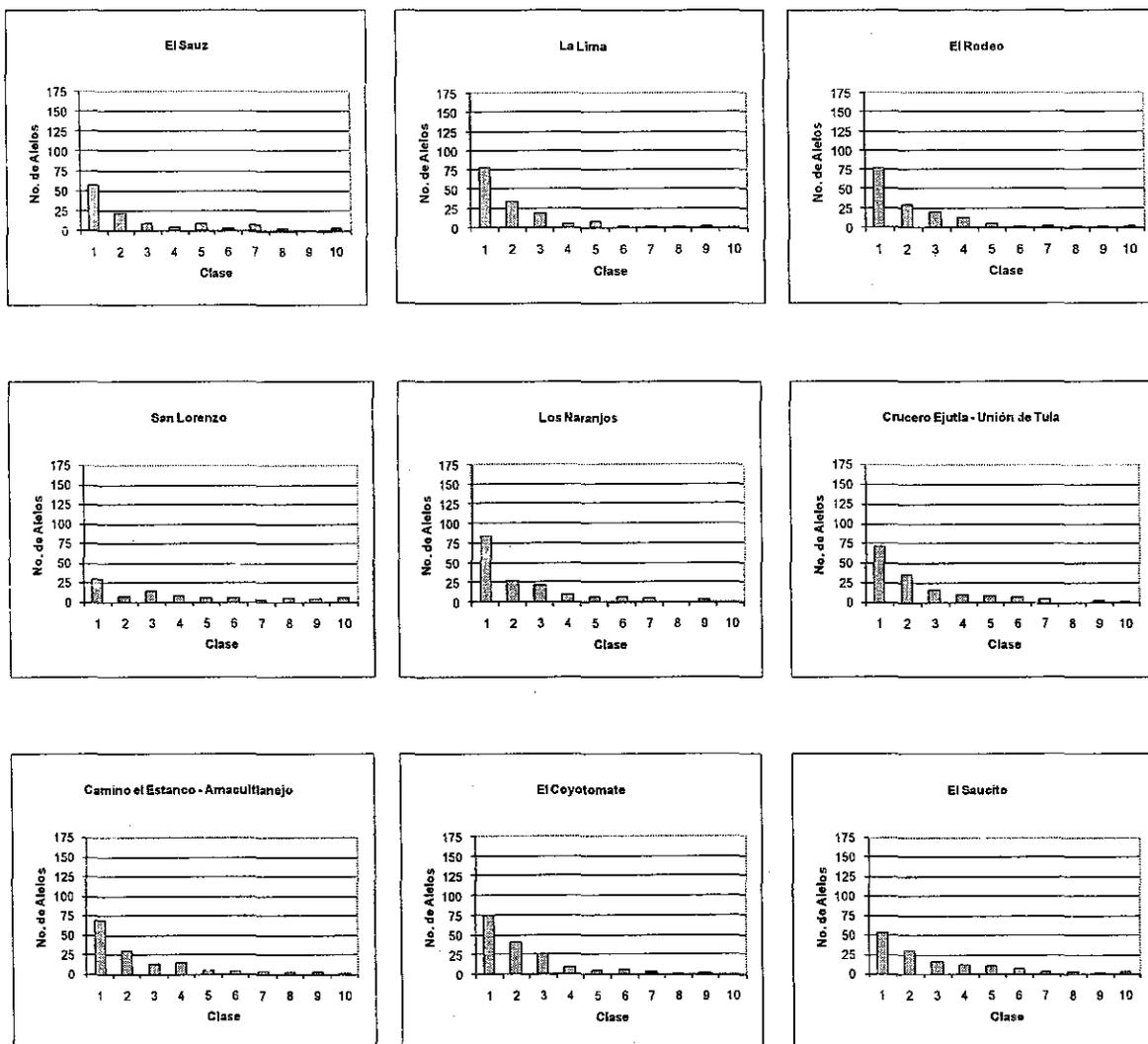


Figura 3. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle del área cercana a Autlán, Jal. y El Sauz, Col.

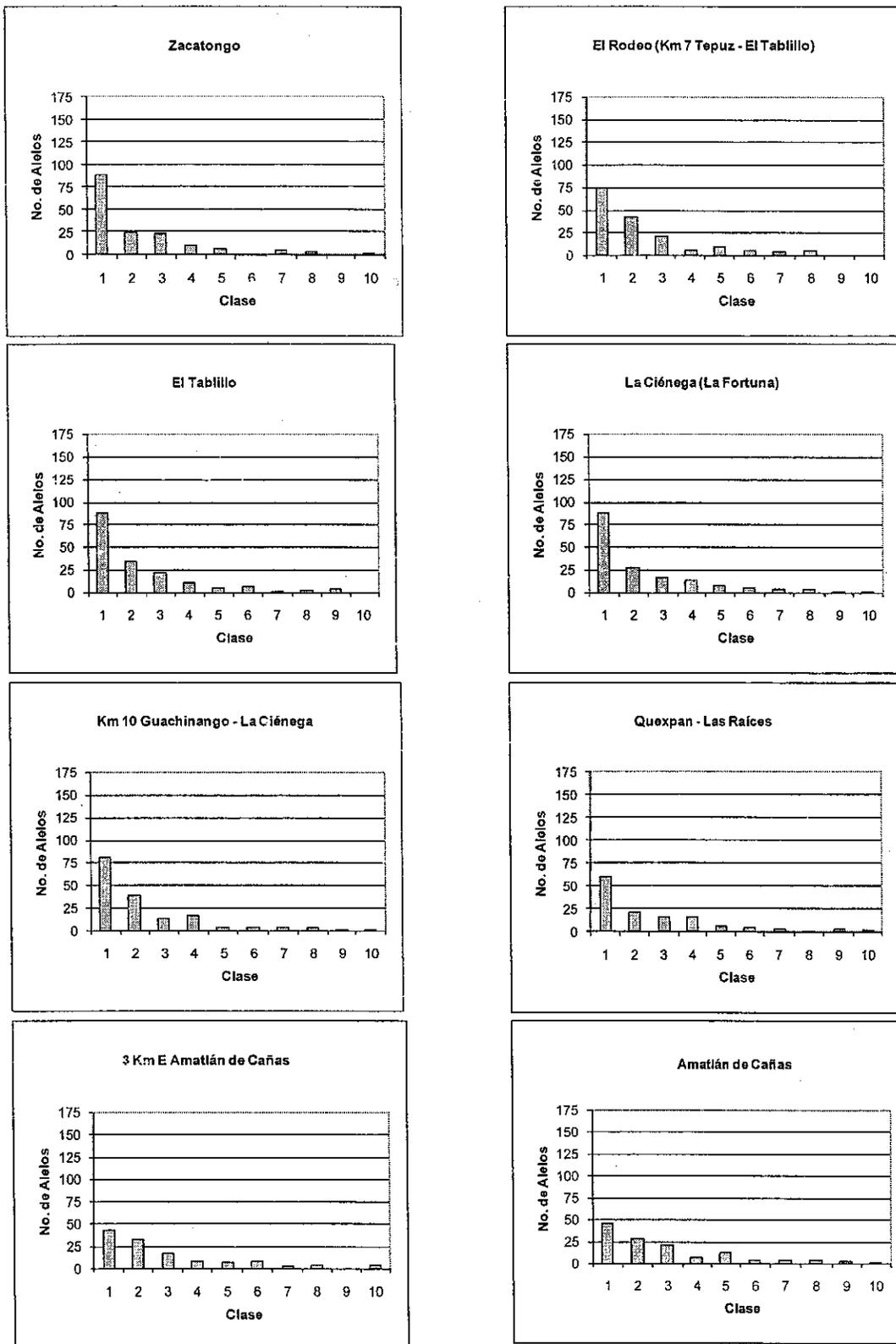


Figura 4. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle de áreas cercanas a Guachinango, Jal. y Amatlán de Cañas, Nay.

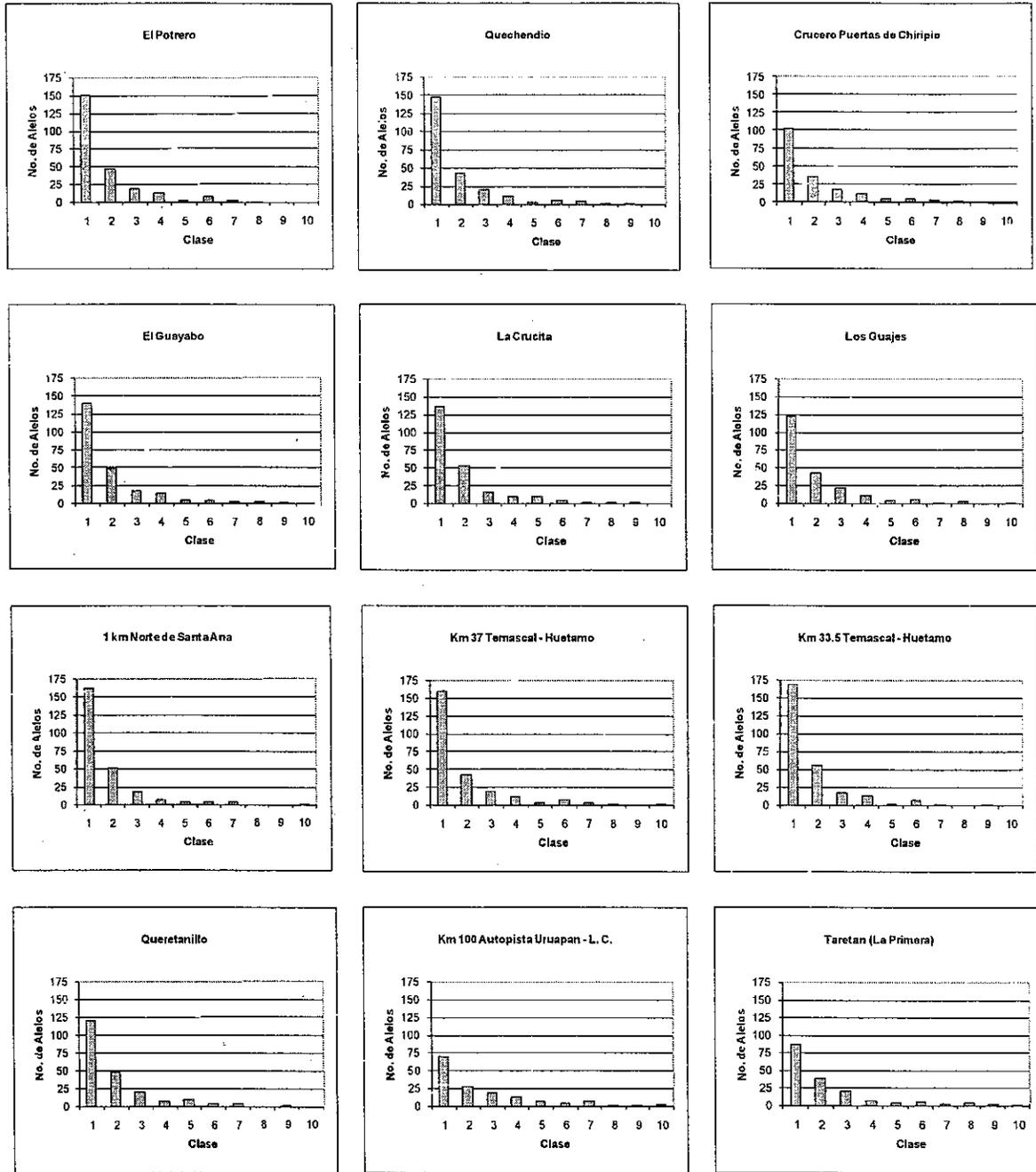
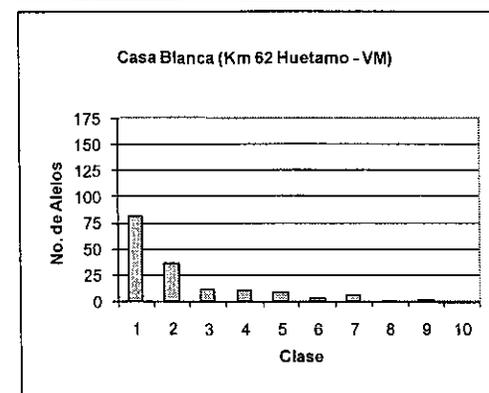
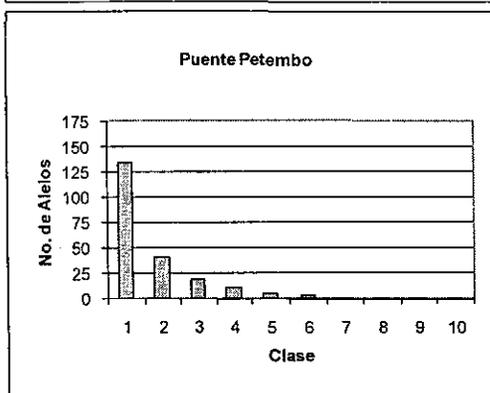
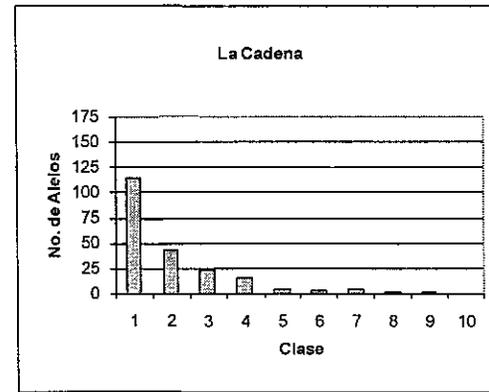
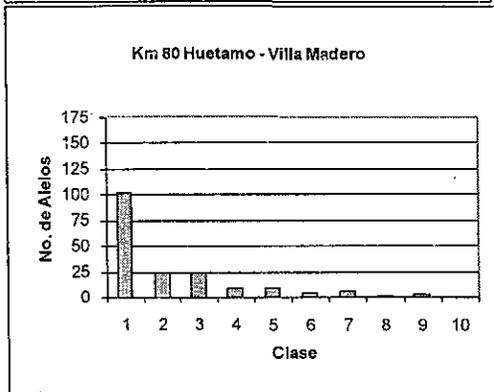
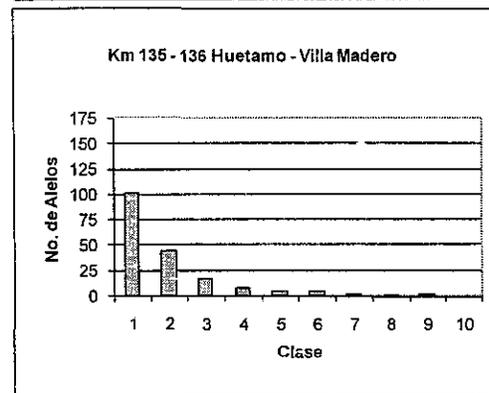
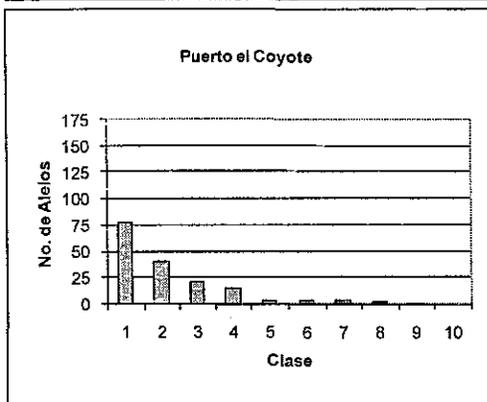
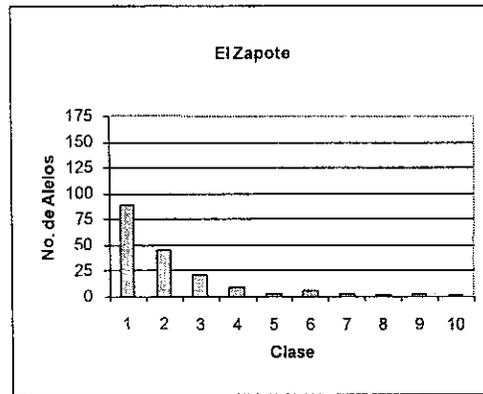
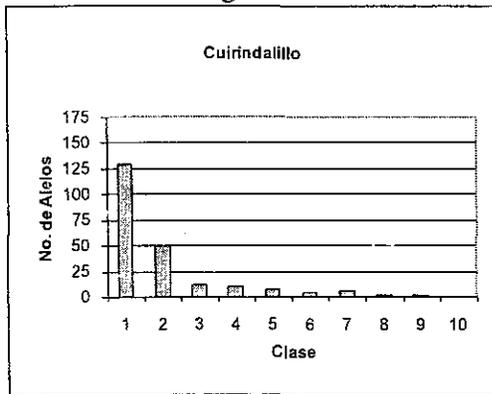


Figura 5. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle del Este y Sureste de Michoacán.

Continuación...Figura 5



Por su parte, como se ha mencionado reiteradamente, todas las poblaciones estudiadas de la región cercana a Villa Purificación, Jalisco (Figura 6), mostraron los valores más bajos de diversidad, los valores más altos de diferenciación genética y las mayores distorsiones en las gráficas de distribución de frecuencias alélicas. En esta región se iniciaron programas oficiales para promover el establecimiento de praderas artificiales hace cerca de 30 años; en esa época era común observar fragmentos de las poblaciones de teocintle a los lados del camino en Los Cimientos y El Chino, mientras que en la actualidad las plantas se encuentran en pequeños manchones lejos de los caminos y varias poblaciones han desaparecido (Sánchez, comunicación personal).

El caso de *Zea diploperennis* es un poco sorprendente dado que los menores valores de diversidad se encontraron en la población de Las Joyas, la cual es parte de la zona protegida de la Reserva de la Biósfera de la Sierra de Manantlán. Es probable que cuando se inició el programa de protección esta población ya había sufrido una reducción importante en su tamaño efectivo, lo cual no fue evidente durante la recolección de semilla.

Para el caso de las regiones de El Bajío y Ciénega de Chapala, hay algunas variaciones importantes de localidad a localidad. En estas regiones el teocintle se encuentra de manera predominante en los campos cultivados de maíz, y creciendo a lo largo de cercas de piedra que bordean algunos de dichos campos, es decir, dependen en forma parcial de los nichos agrícolas o hábitats abiertos. En esta zona, los cambios hacia cultivos hortícolas y la siembra tecnificada de maíz implican la eliminación de todo tipo de malezas y en una alta proporción la cosecha mecanizada. Por una parte, las prácticas agrícolas para la eliminación de malezas ha reducido el tamaño de varias poblaciones, mientras que en varios casos la cosecha mecanizada ha promovido el movimiento de semilla y el crecimiento de algunas poblaciones como en el área de La Barca en Jalisco

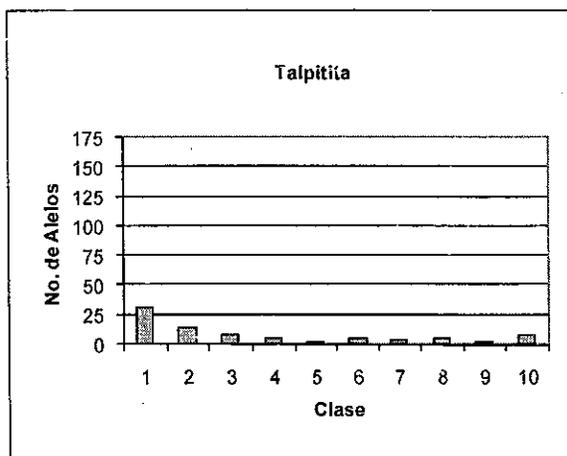
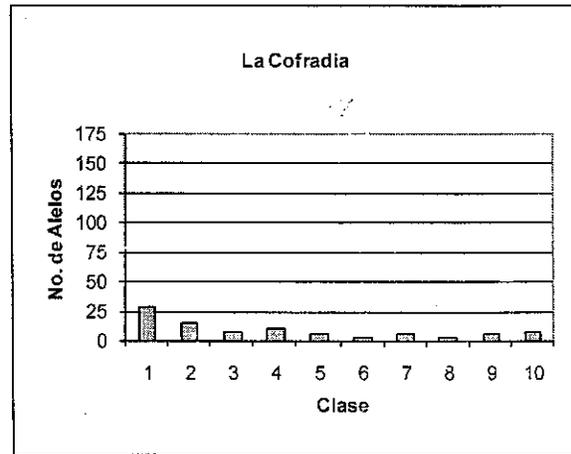
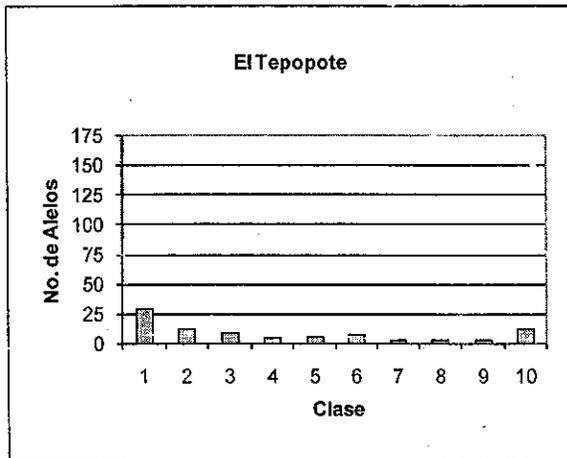
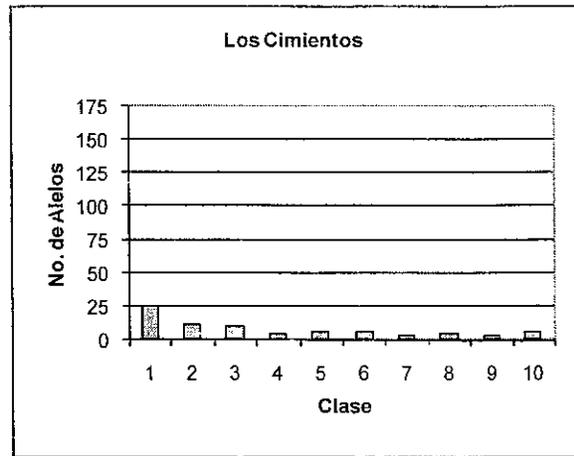
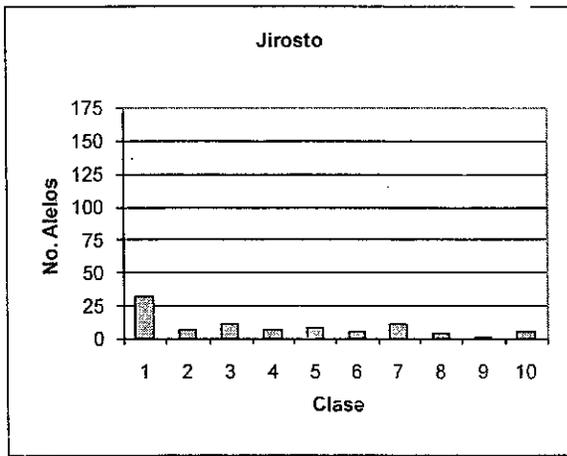


Figura 6. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle del área cercana a Villa Purificación, Jal.

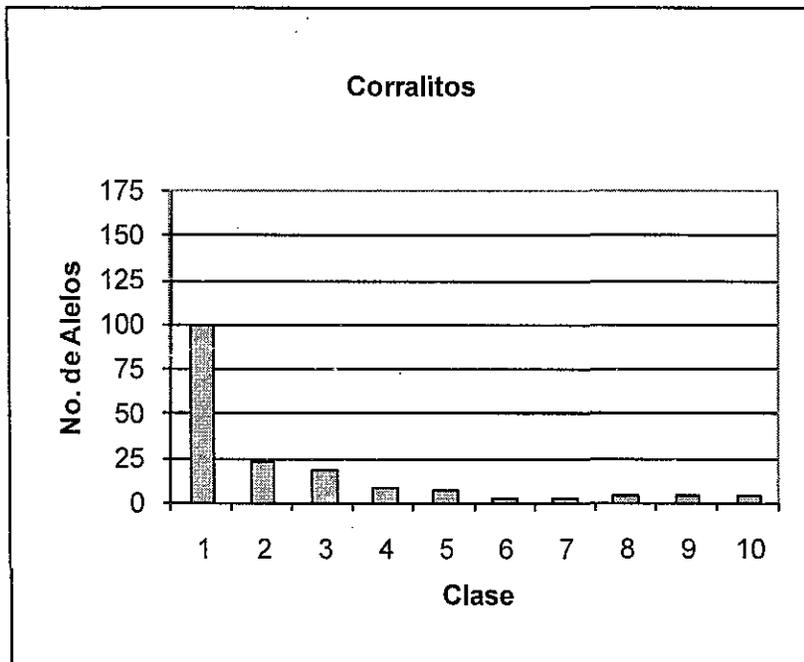
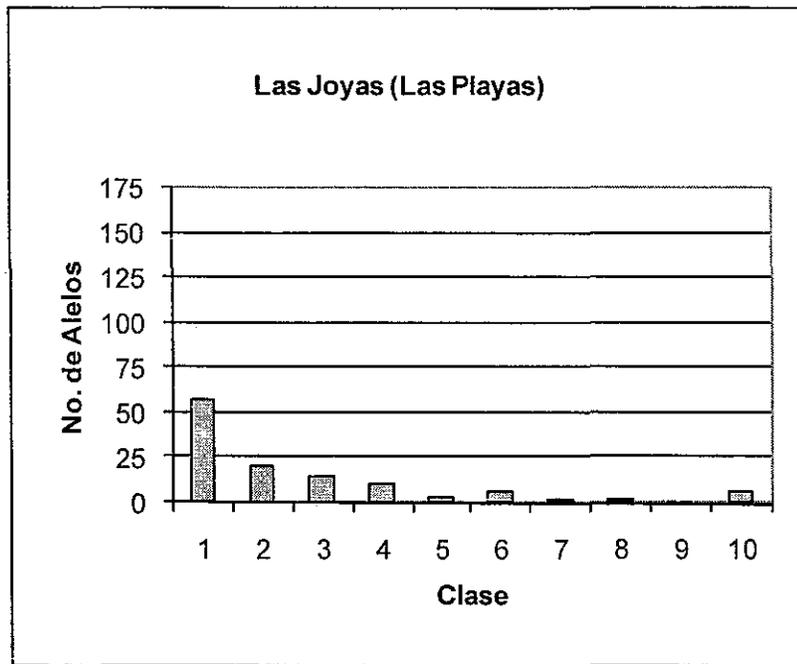


Figura 7. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de *Zea diploperennis*.

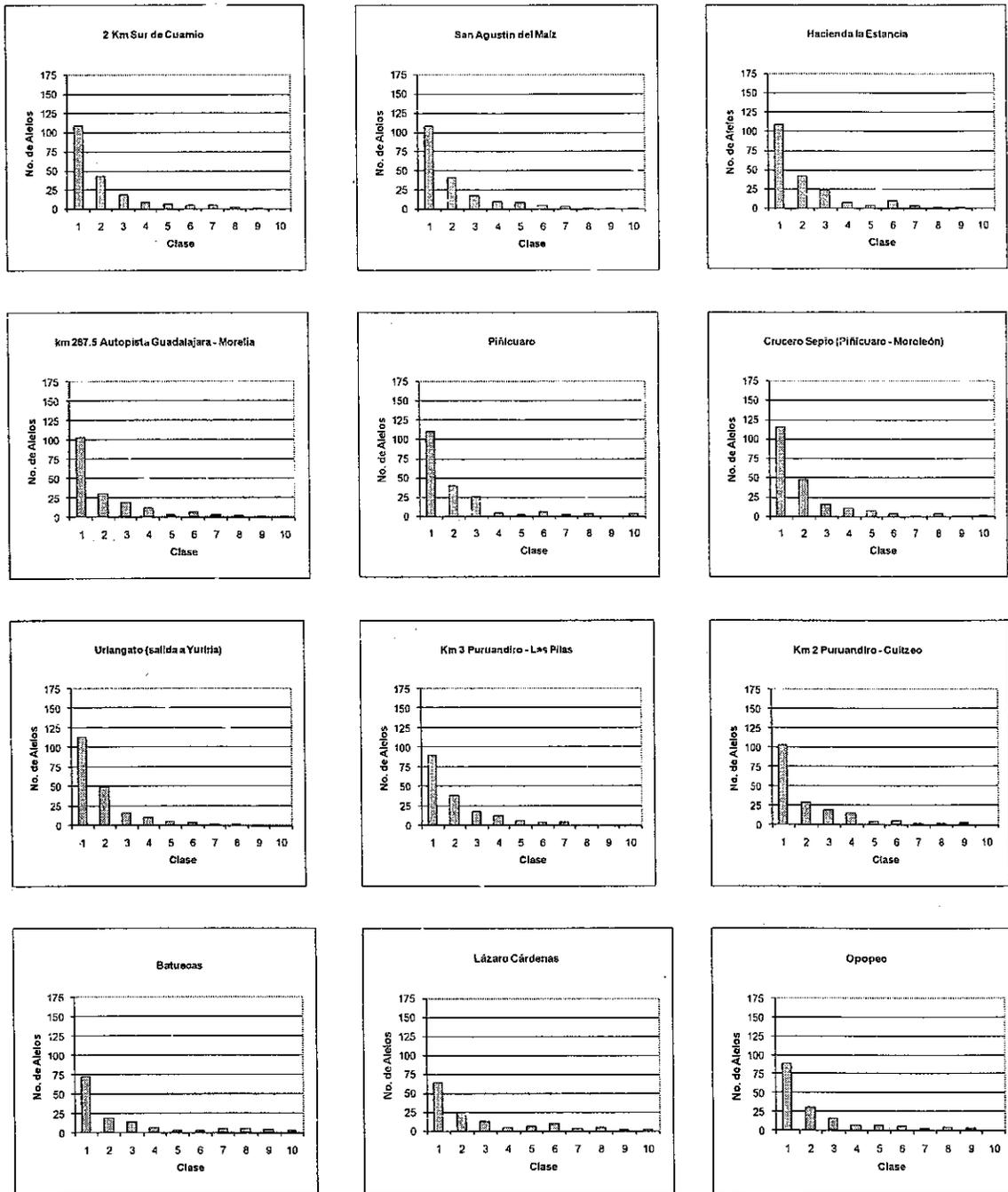


Figura 8. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle de El Bajío.

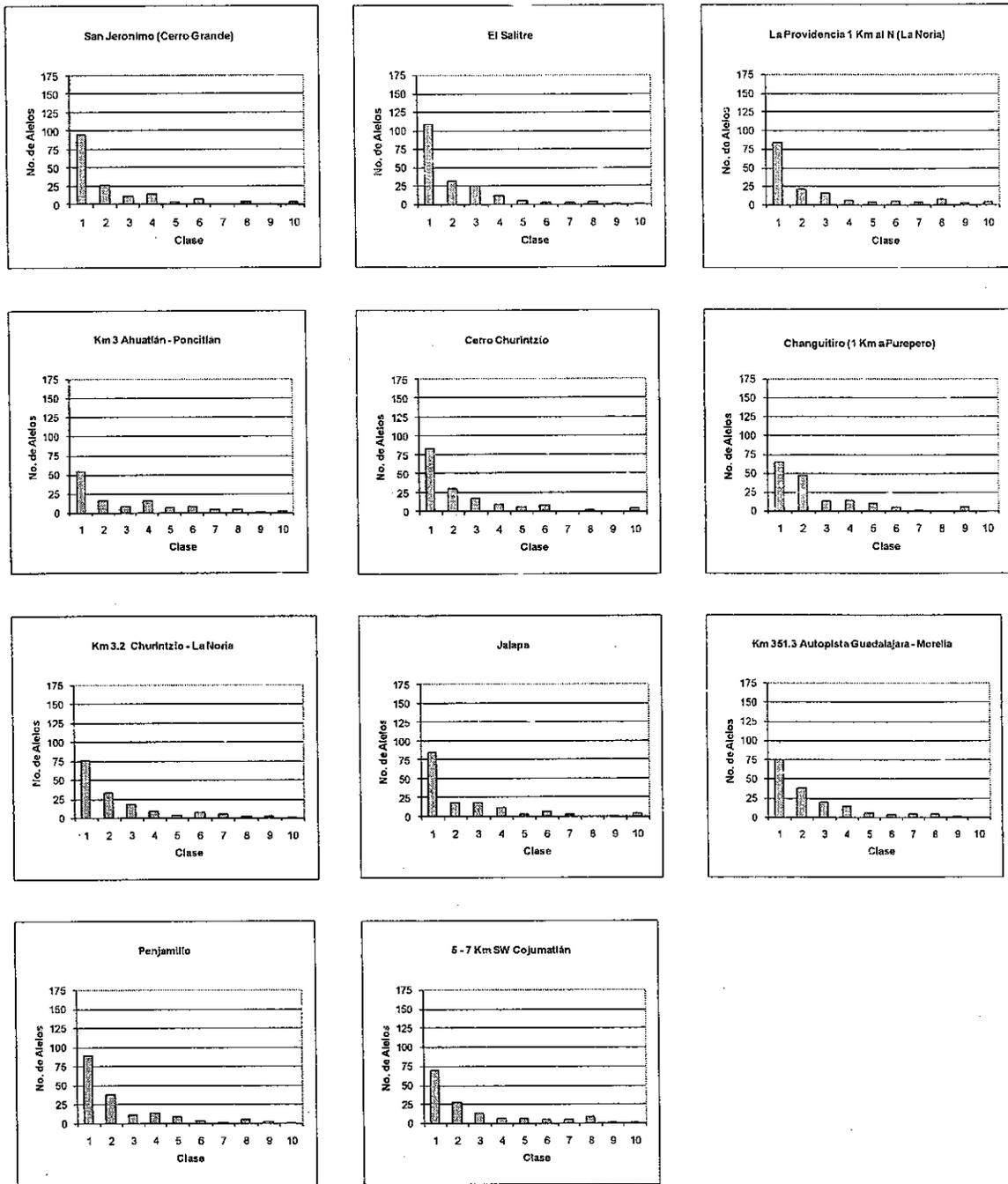


Figura 9. Distribución de frecuencias alélicas en poblaciones de teocintle de áreas cercanas a la Ciénega de Chapala

V DISCUSION

Los resultados presentados en este trabajo, basados en el análisis de los patrones de polimorfismo de 28 SSRs demuestran que las especies silvestres del género *Zea* poseen altos niveles de diversidad, aunque con gran variación entre y dentro de regiones. En este trabajo, la gran mayoría de SSRs (27 de 28) mostraron gran riqueza alélica en las poblaciones estudiadas, indicando que dichos marcadores ofrecen estimaciones confiables de la variación entre y dentro de poblaciones. Así mismo, se pudo demostrar, que la diversidad genética no se encuentra distribuida al azar, sino que hay patrones bien definidos, relacionados en gran medida a la distribución geográfica de las poblaciones; el análisis de componentes principales confirmó la gran variación entre accesiones y regiones. Son notorios los niveles altos de diversidad en las poblaciones de la raza Balsas del estado de Michoacán, en donde aún es posible encontrar áreas continuas de varios km² con teocintle (Sánchez, 2006; Wilkes, 2007). Los resultados de este trabajo concuerdan en gran medida con los estudios de Doebley *et al.* (1984) con base en datos de isoenzimas y Fukunaga *et al.* (2005) basado en 93 SSRs, es decir, los mayores niveles de diversidad se encuentran en poblaciones de las razas Balsas y Mesa Central, con valores relativamente más bajos en Balsas de Jalisco y en *Zea diploperennis*.

Por otra parte, tal y como se mencionó, la diversidad en teocintle del occidente de México no se encuentra distribuida aleatoriamente, lo cual se ve reflejado en los valores estimados para diferenciación genética. Adicionalmente, los valores de diferenciación que se estimaron, reflejan la estructura genética de las poblaciones y se asocian con bastante consistencia a las reducciones en su tamaño efectivo. Cabe señalar que los resultados del programa Bottleneck no presentan suficiente consistencia en las pruebas de exceso de heterocigosidad con los modelos IAM (Infinite Alleles Model) y SMM (Stepwise Mutation Model). Trabajos recientes indican que en contra de lo esperado, la gran mayoría de SSRs no sigue el patrón de mutación del modelo SMM; Matsuoka *et al.* (2002b) en su estudio con 46 SSRs en el género *Zea* reportan 18 casos para el IAM, 4 para el SMM y el resto de loci presentó distribuciones intermedias. Sería necesario definir con toda certeza el modelo

apropiado para cada locus y usar las pruebas del programa Bottleneck dependiendo del modelo definido.

Se han señalado como causas de la alta diferenciación genética de las poblaciones naturales a la fragmentación, flujo genético reducido debido a movimiento limitado de semillas, dispersión de polen y poco movimiento de partes vegetativas en el caso de plantas perennes (Allendorf y Luikart, 2007). Sin embargo, para que la fragmentación de las poblaciones tenga consecuencias en la diversidad, el tamaño efectivo debe reducirse de tal manera que la deriva genética cause pérdidas notables en la riqueza alélica. En este trabajo, con base en varios criterios metodológicos establecidos, fue posible detectar varios casos en que parece haber habido reducciones drásticas recientes en el tamaño de algunas poblaciones.

Es notable el caso de las poblaciones cercanas a Villa Purificación, en el sur de Jalisco en donde los niveles de diversidad son alarmantes y se consideran en peligro de desaparecer en poco tiempo. Además, es de importancia destacar que existen poblaciones en riesgo en otras regiones del Occidente de México y deberá ponerse atención en las poblaciones de San Lorenzo, Jalisco, El Sauz, Colima, Amatlán de Cañas, Nayarit, Las Joyas, Jalisco, para *Zea diploperennis*, Batuecas, Lázaro Cárdenas, Jalapa, Cojumatlán en Michoacán, Poncitlán y La Providencia en Jalisco.

Wilkes (1988) estimó que las poblaciones de teocintle raras o indeterminadas, aún las estables, podrían pasar a las categorías de vulnerables o en peligro de extinción muy rápidamente y no se esperaría que pudieran persistir por mucho tiempo como poblaciones naturales; de acuerdo a este autor, con excepción de la Cuenca del Balsas incluyendo la mayor parte de las poblaciones de los estados de Guerrero, Michoacán y México, el resto de poblaciones se consideraron amenazadas (Ver Cuadro 3 A sobre situación de las poblaciones). Aún cuando la Cuenca del Balsas sigue siendo el área en donde se pueden observar poblaciones naturales de gran tamaño, la mayoría se han fragmentado notoriamente y a reserva de hacer estimaciones detalladas de su tamaño, se considera que los fragmentos actuales no exceden los 10 km². (Sánchez y Ruíz, 1996; Sánchez *et al.*, 1998). La situación de las poblaciones de la raza Mesa Central es más difícil de definir, de

acuerdo a Wilkes (1988), esta raza pudo llegar a cubrir miles de km² en forma continua, sin embargo en la actualidad sólo se encuentra en sitios aislados en superficies no mayores a 10 ha; en varias localidades, la ausencia de plantas de teocintle parece estar fuertemente asociada con el abandono de tierras que anteriormente eran cultivadas con maíz y con cambios de cultivo (sorgo, alfalfa, hortalizas y varias especies forrajeras). El caso opuesto ocurre en Penjamillo de Degollado y los alrededores de Churintzio y El Salitre en Michoacán; San Jerónimo, Poncitlán y La Barca, en Jalisco; en estos lugares las poblaciones de teocintle son de mayor tamaño o han aparecido en mayor número de parcelas en los últimos 15 años.

Sánchez y Ruíz (1996) y Wilkes (2007) han señalado como las causas para la reducción o desaparición de las poblaciones de teocintle: la apertura de caminos y explotaciones forestales; la menor disponibilidad de agua para riego y cambios de cultivos; el crecimiento poblacional y urbanización de áreas agrícolas; el establecimiento creciente de praderas para explotaciones ganaderas, el uso de variedades mejoradas en áreas de riego o buen temporal, y de manera especial, el abandono de las variedades nativas de maíz en las áreas de distribución del teocintle. Un factor que parece estar alterando rápida y significativamente las poblaciones, causando la fragmentación y reducción en su tamaño (Sánchez *et al.*, 2004), son los cambios en el uso del suelo, destacando el establecimiento de praderas con pastos de los géneros *Andropogon* (Pasto Llanero), *Cynodon* (Estrella Africana) y *Panicum* (Pasto Guinea). Lo anterior es más evidente en los estados de Oaxaca, Guerrero, Jalisco, México y Nayarit. Cabe señalar que en algunos lugares de la cuenca del Balsas, el teocintle parece ser parte de la vegetación natural primaria, sin embargo, en tiempos actuales es notorio que su establecimiento depende en gran parte de la influencia del hombre a través de la apertura de campos de cultivo en sistemas de roza-tumba-quema (coamiles) y por hatos de ganado vacuno al distribuir las semillas por medio de sus heces (Sánchez y Ruíz, 1996). Por tanto, dependiendo de si la influencia humana es positiva o negativa, podrán ocurrir impactos significativos en la diversidad genética y estructura de las poblaciones.

Un objetivo importante en conservación de recursos fitogenéticos es estimar con seguridad los niveles de diversidad, los niveles de endogamia y las reducciones en tamaño efectivo;

todo esto con la finalidad de usar toda esa información en el manejo de esos recursos. Una de las contribuciones más importantes de este trabajo es que el uso de marcadores moleculares polimórficos y métodos de análisis apropiados permitieron estimar los niveles de diversidad genética e identificar con claridad las poblaciones con reducciones recientes en tamaño efectivo, aún cuando algunas de ellas no mostraron dichas reducciones el año de recolección de semilla, reflejadas en número de plantas o superficie de la población; tal es el caso de San Lorenzo, Las Joyas, El Tepopote y La Cofradía en Jalisco.

VI CONCLUSIONES

Los marcadores moleculares elegidos para este trabajo y los métodos de análisis fueron apropiados ya que permitieron estimar los niveles de diversidad genética e identificar con claridad las poblaciones con reducciones recientes en tamaño efectivo, aún cuando algunas de ellas no mostraron reducciones aparentes en número de plantas durante el año de recolección de semilla.

Las poblaciones de teocintle que requieren protección inmediata son las cercanas a Villa Purificación, en el sur de Jalisco en donde los niveles de diversidad son alarmantes para su sobrevivencia. Además, es de importancia destacar que deberá ponerse atención en las poblaciones de El Sauz, Col., Amatlán de Cañas, Nay., Batuecas, Lázaro Cárdenas, Jalapa, Cojumatlán en Michoacán, Las Joyas (*Zea diploperennis*), Poncitlán, San Lorenzo y La Providencia en Jalisco.

A fin de asegurar la conservación de las poblaciones es necesario implementar, en primer lugar, un programa permanente de monitoreo y simultáneamente un programa puntual de conservación tanto *ex situ* como *in situ* de las poblaciones.

En el corto plazo, deberá darse prioridad a las poblaciones con los menores niveles de diversidad y en especial a aquellas raras y aisladas como San Lorenzo, Jal., El Sauz, Col., Cojumatlán en Michoacán y todas las poblaciones de *Zea diploperennis*.

VIII LITERATURA CITADA

Allendorf, F.W. y G. Luikart 2007. Conservation and the genetics of populations. Blackwell Publishing. 642 p.

Aragón C.F. 2006. Nueva población de teocintle en Oaxaca. XXI Congreso Nacional y Primero Internacional de Fitogenética, 3 al 8 de septiembre de 2006. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

Awise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, 511 p.

Benz, B.F. 2001. Archaeological evidence of teosinte domestication from Guila Naquitz, Oaxaca. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:2104-2106.

Blancas, L., D.M. Arias y N.C. Ellstrand. 2002. Patterns of genetic diversity in sympatric and allopatric populations of maize and its wild relative teosinte in Mexico: Evidence for hybridization. *In: Proceeding of the ecological and agronomic consequences of gene flow from transgenic crops to wild relatives*, The Ohio State University, Columbus, OH. March 5 and 6, 2002. pp:31-38

Bretting, P.K. y M.P. Widrlechner. 1995. Genetic markers and plant genetic resource management. *Plant Breeding Reviews* 13:11-86.

Bukasov, S. 1926. Un híbrido de maíz y *Euchlaena mexicana*. *Sobretiro de México Forestal*. 38 p.

Callow, J.A., B.V. Ford-Lloyd y J.H. Newbury. 1997. Biotechnology and plant genetic resources: Conservation and use. CAB International. 308 p.

CEC. 2004. Maíz y Biodiversidad. Efectos del maíz transgénico en México, Conclusiones y Recomendaciones. Informe del Secretariado de la Comisión para la Cooperación Ambiental.

CIBIOGEM. 2001. Comisión Intersecretarial de Bioseguridad y Organismos Genéticamente Modificados (Consejo Consultivo de Bioseguridad). Enero 19, Celaya, Guanajuato; 13 y 14 de Julio, Cuernavaca, Morelos. (Reunión de Expertos sobre el Tema "Diversidad y Ecología del Maíz en México, en el Contexto de los Transgénicos").

CIMMYT. 1995. Foro flujo genético maíz-teocintle, maíz-maíz: implicaciones para el maíz transgénico. Septiembre 25-27, El Batán, Texcoco, México.

CIMMYT. 2006. Maize Germplasm Network Meeting. Global Maize Genetic Resources Conservation: A workshop on conservation, management and networking. 2-5 May 2006. El Batán, México.

- Clifford, H.T. y W. Stephenson. 1975. An Introduction to Numerical Classification. Academic Press, New York. 229 p.
- Collins, G.N. 1921. Teosinte in Mexico. *Journal of Heredity* 12:339-350.
- CONABIO. 2006. Capital natural y bienestar social. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. 71p.
- Cornuet, J.M. y G. Luikart 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001-2014.
- Chatfield, C. y A.J. Collins. 1980. Introduction to Multivariate Analysis. Chapman and Hall, London. 246 p.
- De Vicente, M.C. y Fulton, T. (eds.). 2003. Tecnologías de Marcadores Moleculares para Estudios de Diversidad Genética de Plantas: Módulo de Aprendizaje. Illus. Nelly Giraldo. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Roma, Italia.
- Doebley, J. F. 1990. Molecular systematics of *Zea* (Gramineae). *Maydica* 35:43-150.
- Doebley, J. F. 2004. The genetics of maize evolution. *Annual Review of Genetics* 38:37-59.
- Doebley, J. F. y H. H. Iltis. 1980. Taxonomy of *Zea* (Gramineae) I. A subgeneric classification with key to taxa. *Amer. J. Bot.* 67:982-993.
- Doebley, J.F., M.M. Goodman and C.W. Stuber. 1984. Isozyme variation in *Zea* (Gramineae). *Syst. Bot.* 9:203-218.
- Everitt, B.S. 1978. Graphical Techniques for Multivariate Data. North-Holland, New York. 117 p.
- Fukunaga, K., J. Hill, Y. Vigoroux, Y. Matsuoka, J. Sanchez G., K. Liu, E.S. Buckler and J. Doebley. 2005. Genetic diversity and population structure of teosinte. *Genetics* 169:2241-2254.
- Goodman, M.M. 1973. Genetic Distances : Measuring dissimilarity among populations. *Yearbook of Physical Anthropology* 17 :1-38.
- Iltis, H.H. y J.F. Doebley. 1980. Taxonomy of *Zea* (Gramineae). II. Subspecific categories in the *Zea mays* complex and a generic synopsis. *American Journal of Botany* 67:994-1004.
- Iltis, H. H y B. F. Benz. 2000. *Zea nicaraguensis* (Poaceae), a new teosinte from Pacific Coastal Nicaragua. *Novon* 10:382-390.

Kato Y., T.A. 1976. Cytological studies of maize (*Zea mays* L.) and teosinte (*Zea mexicana* Schrader Kuntze) in relation to their origin and evolution. Mass. Agri. Exper. Stat. Bull. 635, USA. 186 p.

Lance, G.N. y W.T. Williams. 1967. A general theory of classificatory sorting strategies. I. Hierarchical systems. Comput. J. 9:373-380.

López y Parra, R. 1908. El teozinte. Origen del maíz. Secretaría de Fomento, México.

Luikart, G., F.W. Allendorf, J.M. Cornuet y W.B. Sherwin, 1998a. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. The Journal of Heredity 89:238-247.

Luikart, G., W.B. Sherwin, B.M. Steele y F.W. Allendorf, 1998b. Usefulness of molecular markers for detecting population bottlenecks via monitoring genetic change. Molecular Ecology 7:963-974.

Lumholtz, C. 1902. Unknown Mexico, Vol I. C. Scribner's Sons, N.Y, USA. 530 p.

Matsuoka, Y., Y. Vigouroux, M. M. Goodman, J. Sanchez G., E. Buckler and J. Doebley 2002a. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. Proceedings of the National Academy of Sciences 99:6080-6084.

Matsuoka, Y., S. E. Mitchell, S. Kresovich, M. M. Goodman y J. F. Doebley, 2002b. Microsatellites in *Zea*—variability, patterns of mutations, and use for evolutionary studies. Theor. Appl.Genet. 104:436–450.

NAPPO. 1997. Taller de NAPPO (North American Plant Protection) sobre maíz transgénico. Octubre 13-16, México, D. F.

Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press. 512 p.

Nei, M., T. Muruyama y R. Chakraborty 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. Evolution 29:1-10

Piperno, D. R. y Flannery K. V. 2001. The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: New accelerator mass spectrometry dates and their implications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:2101-2103.

Pope, K. O, M. E. D. Pohl, J. G. Jones, D. L. Lentz, C. von Nagy, F. J. Vega, I. R. Quitmyer. 2001. Origin and environmental setting of ancient agriculture in the lowlands of Mesoamerica. Science 292:1370-1373.

Rincón E., G. 2001. Análisis molecular del flujo genético teocintle-maíz en México. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.

Ruiz C., J.A., J.J. Sánchez G. Y M. Aguilar S. 2001. Potential geographical distribution of teosinte in Mexico: A GIS approach. *Maydica* 46:105-110.

Rzedowski, J. 1998. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *In*: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, J. Fa (Compiladores). *Diversidad biológica de México: orígenes y distribución*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. pp:129-145

Saghai-Marooif M A, K M Soliman, R A Jorgensen, R W Allard 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 81:8014-8018

Sánchez G., J.J. 2006. Teosinte genetic resources: distribution, collection, use, and conservation. *In*: Maize Germplasm Network Meeting, May 2-5, 2006, El Batán, CIMMYT Global Maize Genetic Resources Conservation: A workshop on Conservation, Management, and Networking. Sponsored by the Crop Diversity Trust, World Bank and CIMMYT, Int.

Sánchez G., J. J. y L. Ordaz S. 1987. Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Gene-pools: 2. El teocintle en México. Distribución y situación actual de las poblaciones. IBPGR, Rome. 50 p.

Sánchez G., J. J. y Ruiz C., J. A. 1996. Distribución del teocintle en México. *In*: J. A. Serratos, M. C. Willcox y F. Castillo. *Flujo Genético entre maíz criollo, maíz mejorado y teocintle: Implicaciones para el maíz transgénico*, México, D. F. CIMMYT. pp:20-38

Sánchez G., J. J., T. A. Kato Y., M. Aguilar S., J. M. Hernández C., A. López R. y J. A. Ruiz C. 1998. Distribución y caracterización del teocintle. Libro Técnico No. 2. CIPAC-INIFAP. 150 p.

Sánchez G., J.J., M.M. Goodman y C.W. Stuber. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54:43-59.

Sánchez G, J. J., R. Miranda M y L. de La Cruz L. 2004. Recolección y conservación de las especies silvestres del género *Zea* (Teocintle) en México. Informe de actividades 2002-2003, Preparado para la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental, Dirección General de Vida Silvestre (inédito).

SAS Institute. 1998. StatView reference, 2nd ed. SAS Institute, Cary, NC.

SMBB. 2002. Discussion Workshop on The Impact of Genetically Modified Maize in Mexico. Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería, México, D. F., Marzo 18-19, 2002.

Smith, B.D. 1995. The emergence of agriculture. *Scientific American Library*. 231 p.

Smith, B.D. 2001. Documenting plant domestication: The consilience of biological and archaeological approaches. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:1324-1326.

Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. *Numerical Taxonomy*. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 573 p.

Staller J., R. Tykot y B. Benz 2006. *Histories of maize*. Academic Press. 678 p.

Wang, H., T. Nussbaum-Wagler, B. Li, Q. Zhao, Y. Vigouroux, M. Faller, K. Bomblies, L. Lukens, J. F. Doebley 2005. The origin of the naked grains of maize. *Nature* 436:714-719.

Weir, B.S. 1996. *Genetic data analysis II*. Sinauer Associates, Inc. Publishers. 445 p.

Wellhausen, E.J., L.M. Roberts, E. Hernández X., en colaboración con P.C. Mangelsdorf. 1951. *Razas de maíz en México*. Folleto Técnico No. 5. Oficina de Estudios Especiales, Secretaría de Agricultura y Ganadería. México. 223 p.

Wilkes, H.G. 1967. *Teosinte: the closest relative of maize*. Bussey Inst. Harvard Univ. 159 p.

Wilkes, G. H. 1988. *Teosinte and the other wild relatives of maize*. In: CIMMYT 1988. *Recent advances in conservation and utilization of genetic resources*. CIMMYT, México, D.F. pp. 70-80

Wilkes, H. G. 1996. *El teocintle en México: Panorama retrospectivo y análisis personal*. In: *Flujo genético entre maíz criollo, maíz mejorado y teocintle: implicaciones para el maíz transgénico*. J. A. Serratos, M. C. Willcox y F. Castillo (eds.). México, D. F. CIMMYT. pp:11-19

Wilkes, H. G. 2004. *Corn Strange y Marvelous: But Is a Definitive Origin Known?* In: *Corn: Origin, History, Technology, and Production*. C. W. Smith (Ed.). John Wiley & Sons. pp:3-63.

Wilkes, H. G. 2007. *Urgent notice to all maize researchers: disappearance and extinction of the last wild teosinte population is more than half completed. A modest proposal for teosinte evolution and conservation in situ: the Balsas, Guerrero, Mexico*. *Maydica* 52:49-70.

Wright, S. 1965. *The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating*. *Evolution* 19:355-420.

APENDICE

Cuadro 1 A. Lista de accesiones

No.	Accesión	Raza	Especie	Sitio de recolección	Municipio	Estado	Altitud
129	RMM-14	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Jirosto (Las Carboneras)	Villa Purificación	Jalisco	426
130	JSG-RMM-LCL-546	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Los Cimientos	Villa Purificación	Jalisco	552
131	JSG-RMM-LCL-547	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	El Tepopote (Huista-La Cofradía)	Villa Purificación	Jalisco	683
132	JSG-RMM-LCL-548	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	La Cofradía (2km al E)	Villa Purificación	Jalisco	635
133	JSG-RMM-LCL-555	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	1 Km N Talpitita (Potrero La Higuierita)	Villa Purificación	Jalisco	526
134	JSG Y RMM-460	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Cuirindalillo (km 142 Huetamo-Caracuario)	Caracuario	Michoacán	697
135	JSG Y RMM-461	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	El Zapote (km 122 Huetamo-Caracuario)	Caracuario	Michoacán	915
137	JSG-RMM-LCL-519	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Puerto El Coyote	Caracuario	Michoacán	727
138	JSG-RMM-LCL-520	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Km 135-136 Huetamo-Villa Madero	Caracuario	Michoacán	677
139	JSG-RMM-LCL-514	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Km 80 Huetamo-Villa Madero	Nocupetaro	Michoacán	832
140	JSG-RMM-LCL-515	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	La Cadena (Km 93 Huetamo-Villa Madero)	Nocupetaro	Michoacán	759
141	JSG-RMM-LCL-516	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Puente Petembo (K95 Huetamo-V. Madero)	Nocupetaro	Michoacán	672
142	JSG Y RMM-457	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	El Potrero (km 145.5 Zitácuaro-Huetamo)	Huetamo	Michoacán	654
143	JSG Y RMM-458	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Quenchendio (km 151.5 Zitácuaro-Huetamo)	Huetamo	Michoacán	635
144	JSG Y RMM-459	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Crucero Puertas de Chiripio	Huetamo	Michoacán	653
145	JSG Y RMM-455	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	El Guayabo (km 132.5 Zitácuaro-Huetamo)	Tiquicheo	Michoacán	555
146	JSG Y RMM-456	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	La Crucita (km 135 Zitácuaro-Huetamo)	Tiquicheo	Michoacán	609
147	JSG Y RMM-454	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Los Guajes (km 43 Zitácuaro-Huetamo)	Tuzantla	Michoacán	985
148	JSG-RMM-557	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Km 100 Autopista Uruapan-L. Cárdenas	Taretan	Michoacán	1256
149	JSG-RMM-558	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Taretan (La Perimera)	Taretan	Michoacán	1170
152	JSG-RMM-LCL-551		<i>Zea diploperennis</i>	Las Joyas (Las Playas)	Cuautitlán	Jalisco	1870
153	JSG-RMM-LCL-552		<i>Zea diploperennis</i>	Corralitos	Cuautitlán	Jalisco	1854
172	JSG Y RMM-453	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	1 Km Norte de Santa Ana	Benito Juárez	Michoacán	1332
173	JSG-LCL-554	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	El Sauz	Minatitlán	Colima	1103
174	RMM-11	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	La Lima	Tolimán	Jalisco	1450
175	RMM-7	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	El Rodeo	Tolimán	Jalisco	1364
176	JSG-LOS-142	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	El Saucito	Jilotlán	Jalisco	1460
177	RMM-3	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	San Lorenzo	Ejutla	Jalisco	984
178	RMM-4	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Los Naranjos	Ejutla	Jalisco	1003
179	RMM-10	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Crucero Ejutla-Unión de Tula-El Grullo	Ejutla	Jalisco	1311
180	JSG-RMM-LCL-556	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Camino El Estanco-Amacuitlanejo	Ejutla	Jalisco	1004
181	RMM-9	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	El Coyotomate	Juchitlán	Jalisco	1288
182	JSG-RMM-LCL-537	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Km 37 Temascal-Huetamo	Tzitzio	Michoacán	1030
183	JSG-RMM-LCL-538	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Km 33.5 Temascal-Huetamo	Tzitzio	Michoacán	1100
184	JSG-RMM-LCL-539	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Queretanillo	Tzitzio	Michoacán	1342
185	JSG Y RMM-462	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Casa Blanca (K62 Huetamo-Villa Madero)	Villa Madero	Michoacán	1268

No.	Accesión	Raza	Especie	Sitio de recolección	Municipio	Estado	Altitud
200	JSG-JRP-ERG-542	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	3 km E de Amatlán de Cañas	Amatlán de Cañas	Nayarit	856
201	JSG-JRP-ERG-543	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Amatlán de Cañas (Junto al Panteón)	Amatlán de Cañas	Nayarit	880
202	JSG Y LOS -40	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Zacatongo	Guachinango	Jalisco	620
203	JSG-JRP-ERG-544	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	El Rodeo (Km 7 Tepuzhuacán-El Tablillo)	Guachinango	Jalisco	888
204	JSG-JRP-ERG-545	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	El Tablillo	Guachinango	Jalisco	1123
205	JSG-467	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	Quexpan-Las Raíces	Ameca	Jalisco	1139
206	JSG Y SHP-464	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	La Ciénega (La Fortuna)	Guachinango	Jalisco	1305
207	JSG-421	Balsas	<i>Z. mays ssp. parviglumis</i>	K10 Guachinango-La Ciénega	Guachinango	Jalisco	1400
209	JSG-465	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	San Jerónimo (Cerro Grande)	Ayotlán	Jalisco	1597
210	JSG-427	Mesa central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	El Salitre	Ixtlan	Michoacán	1574
211	JSG, MAS Y ERV-411	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	La Providencia 1 Km al N (La Noria)	La Barca	Jalisco	1520
212	JSG Y RMM-463	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Opopeo	Villa Escalante	Michoacán	2225
213	JSG-LCL-559	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Lázaro Cárdenas	Erongaricuaró	Michoacán	2410
230	JSG Y RMM-438	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Changuitiro (1km carr. Hacia Purepero)	Churintzio	Michoacán	1910
231	JSG-426	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Cerro Churintzio	Churintzio	Michoacán	1940
232	JSG Y RMM-439	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Km 3.2 Churintzio-La Noria	Churintzio	Michoacán	1809
233	JSG Y RMM-440	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Penjamillo	Penjamillo	Michoacán	1775
234	JSG Y RMM-442	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Jalapa	Zináparo	Michoacán	1917
235	JSG Y RMM-445	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Piñicuaro	Moroleón	Guanajuato	2025
236	JSG Y RMM-446	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Crucero Sepio (Piñicuaro-Moroleón)	Moroleón	Guanajuato	1917
237	JSG Y RMM-447	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Uriangato (salida a Yuriria)	Uriangato	Guanajuato	1880
238	JSG Y RMM-448	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	2 Km Sur de Cuamio	Cuitzeo	Michoacán	1854
239	JSG Y RMM-450	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	San Agustín del Maíz	Copándaro	Michoacán	1855
240	JSG Y RMM-451	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Km 267.5 Autopista Guadalajara-Morelia	Chucándiro	Michoacán	2019
241	JSG Y RMM-449	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Hacienda La Estancia	Huandacareo	Michoacán	1888
242	JSG Y RMM-452	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Km 351.3 Autopista Guadalajara-Morelia	Churintzio	Michoacán	1801
243	JSG Y RMM-441	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Km 3 Puruándiro-Las Pilas	Puruándiro	Michoacán	1948
244	JSG Y RMM-443	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Km 2 Puruándiro-Cuitzeo	Puruándiro	Michoacán	1941
245	JSG Y RMM-444	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Batuecas (1 km hacia Cuitzeo)	Puruándiro	Michoacán	2186
246	JSG Y ERV-409	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	Km 3 Ahuatlán-Poncitlán	Poncitlan	Jalisco	1510
250	JSG Y LOS -75	Mesa Central	<i>Z. mays ssp. mexicana</i>	5-7 km SW Cojumatlan	Cojumatlán	Michoacán	1700

Cuadro 2 A. Resultados de la estimación de reducción efectiva en tamaño de las poblaciones por el programa Bottleneck, valores expresados en probabilidades de exceso de heterocigidad.

Clave	Grupo	Sitio de recolección	Municipio	IAM			SMM		
				Signo	Stand	Wilcoxon	Signo	Stand	Wilcoxon
175	1	El Rodeo	Tolimán, Jal.	0.07800	0.04533	0.02977	0.00140	0.00000	0.99936
177	1	San Lorenzo	Ejutla, Jal.	0.00613	0.00406	0.00509	0.49663	0.18299	0.49004
201	2	Amatlán de Cañas	Amatlán de Cañas, Nay.	0.00354	0.00390	0.00102	0.01162	0.00199	0.95272
207	2	K10 Guachinango-La Ciénega	Guachinango, Jal.	0.10152	0.06214	0.00956	0.00007	0.00000	0.99996
148	3	Km 100 Uruapan-L. Cárdenas	Taretan, Mich.	0.20004	0.01101	0.00411	0.00203	0.00001	0.99621
183	3	Km 33.5 Temascal-Huetamo	Tzitzio, Mich.	0.40618	0.22635	0.06573	0.00000	0.00000	1.00000
129	4	Jirosto (Las Carboneras)	Villa Purificación, Jal.	0.12757	0.01961	0.01268	0.09745	0.03282	0.95296
131	4	El Tepopote	Villa Purificación, Jal.	0.33346	0.34713	0.30166	0.01474	0.00080	0.98168
152	5	Las Joyas	Cuautitlán, Jal.	0.13459	0.05671	0.05675	0.02187	0.00012	0.99377
153	5	Corralitos	Cuautitlán, Jal.	0.33984	0.19187	0.57034	0.00000	0.00000	1.00000
236	6	Crucero Sepio	Moroleón, Gto.	0.34358	0.03501	0.01318	0.00006	0.00000	0.99995
245	6	Batuecas	Puruándiro, Mich.	0.13429	0.24831	0.70881	0.00010	0.00000	0.99999
210	7	El Salitre	Ixtlán, Mich.	0.04744	0.03138	0.00782	0.00030	0.00000	0.99985
211	7	La Providencia	La Barca, Jal.	0.19645	0.12445	0.84195	0.00000	0.00000	1.00000

*Signo =Sign test, Stand =Standardized differences test y Wilcoxon =Wilcoxon sign-rank test, IAM (Infinite Alleles Model), SMM (Stepwise Mutation Model)

Cuadro 3 A. Situación general de las poblaciones de teocintle en México (Adaptado de Sánchez y Ruíz, 1996)

Raza o especie	Extensión km ²	Situación*	Población Amenazada	Tipo de amenaza
NOBOGAME	30 - 50	R		Deforestación
DURANGO	15 - 20	R		
MESA CENTRAL				
Guanajuato	100?	A	M. Doblado, Moroleón, Yuriría	Cambios de cultivo
Jalisco	100?	E	Lagos de Moreno (Extinta)	Urbanización y combate sistemático de malezas
Michoacán	50?	A	Copandaro, V. Jiménez, Patambicho, Quiroga	Urbanización y combate sistemático de malezas
CHALCO				
Chalco	>300	E	Chalco	Urbanización
Distrito Federal	>100	A	Xochimilco	Urbanización
Puebla	>300	E		
Toluca	>100	E		
BALSAS				
Colima	100	E		
Guerrero	>1000	E		
Jalisco	>1000	E	Oconahua, Los cimientos, El Palmar	Praderas artificiales, ganadería intensiva
México	>1000	E		
Michoacán	>1000	E		
Morelos	1	A	Amatlán	Huertas de Ciruela
Nayarit	50	E		
Oaxaca	50	R		
<i>Zea perennis</i>	10?	P	Piedra Ancha, La Mesa, Los Depositos	Ganadería
<i>Zea diploperennis</i>	0.1	A	Manantlán	Ganadería y deforestación

* R= Rara, E = Estable, A = Amenazada, P = En peligro