

## INTRODUCCIÓN

México es considerado el centro de origen y uno de los centros de diversificación de las razas de maíz (Sánchez *et al.* 2000, Matsuoka *et al.* 2002, Bellon *et al.* 2003, Álvarez-Buylla 2004, Kato *et al.* 2009). Asimismo, actualmente se considera uno de los últimos reservorios genéticos de maíz para la humanidad (Bellon y Berthaud 2004a). El maíz juega un papel central en la agricultura de todas las culturas indígenas de México, debido a su amplia adaptación a distintos ambientes; a su tolerancia y resistencia a enfermedades, plagas y cambios en las condiciones climáticas y edáficas; a sus múltiples usos como alimento o forraje y gran variedad de productos que se obtienen de esta especie (Cleveland y Murray 1997, Bellon y Brush 1994, Louette *et al.* 1997, Paliwal 2001, Herrera-Cabrera *et al.* 2004, Kato *et al.* 2009).

En México, el maíz ha llegado a convertirse en un elemento de gran interés por las características fisiológicas de la planta, pero aún más por el trabajo de domesticación y conocimiento tradicional de los agricultores durante miles de años, que da como resultado una diversidad morfológica que va desde sus antecesores silvestres a razas más avanzadas, pasando por las variedades criollas y los cultivares mejorados mantenidos durante generaciones por los agricultores (Wellhausen y Hernández-X 1951, Paliwal 2001). Esta diversidad fisiológica y morfológica se asocia a los distintos usos del maíz. Si bien el uso principal es para el consumo humano, existen variedades exclusivas para determinados usos, por ejemplo, variedades de uso forrajero (Ortega-Paczka 2003). Por otra parte, en la actualidad la industria lo utiliza para obtención de compuestos químicos como miel y azúcar de maíz, dextrina, almidón o fécula, aceite, color caramelo, dextrina, malato dextrina, ácido láctico

sorbito, y etanol que son comercializados en alimentos, medicinas, cosméticos y otros productos industriales. Al obtener el etanol se le considera al maíz un recurso renovable (Barkin 2003, Kato *et al.* 2009).

Desde el punto de vista cultural, el cultivo del maíz no implica solo a la planta, sino también la organización y creación de innumerables técnicas para cultivarlo, el surgimiento y persistencia de creencias y el simbolismo en ceremonias religiosas, su uso en regalos de bodas o como retribución al trabajo comunitario. Las sociedades y organizaciones occidentales consideran a las variedades criollas como parte del patrimonio común de la humanidad (Cleveland y Murray 1997, Esteva 2003, Kato *et al.* 2009).

### ***Diversidad de razas de maíz en México***

Anderson y Cutler (1942) introdujeron el concepto de razas de maíz; cada raza representa un grupo de individuos relacionados con suficientes características en común como para permitir su reconocimiento como grupo, teniendo un alto número de genes comunes.

En 1951, Wellhausen y Hernández-X realizaron una descripción de las razas agronómicas de maíces criollos en México basándose en el rango de altitudes al que se adaptan, características vegetativas de la planta, de la espiga, de la mazorca y del grano, así como caracteres fisiológicos, genéticos y citológicos. Reportando 25 razas más 7 como no definidas. Ortega *et al.* (1991) reconocen 41 razas y Sánchez *et al.* (2000), integran los trabajos anteriores y reconocen 59 razas que se agruparon tomando en cuenta su adaptación agroecológica, las características de la mazorca, del grano y sus usos. En el occidente de México y sur de Mesoamérica (Oaxaca, Chiapas y Guatemala) es donde actualmente se

presenta la mayor variación racial (27 razas de México más las guatemaltecas) (Kato *et al.* 2009).

Algunas razas muestran una amplia adaptabilidad y han proporcionado material genético que se encuentra en casi todos los ambientes tropicales. Una de ellas es el Tuxpeño, que se encuentra en varios maíces mejorados que se originan directamente de esta raza o en combinación con otros materiales (Paliwal 2001, Kato *et al.* 2009).

### *Estudios de maíz en Oaxaca*

Kato y colaboradores (2009) realizaron una extensa revisión sobre el origen y diversificación del maíz, en el cual contraponen principalmente dos teorías: 1) La *teoría unicéntrica* que define un evento único de domesticación que ocurrió en la cuenca del Río Balsas, a partir del cual se produce la diversificación. Esto concuerda con la evidencia arqueológica de maíz más antigua encontrada en las tierras altas de Oaxaca (Sánchez *et al.* 2000, Matsuoka *et al.* 2002, Pressoir y Berthaud 2004a). 2) La *teoría multicéntrica* que propone que el origen y domesticación del maíz no solo ocurrió en un sitio y tiempo dado sino que pudo haber sucedido en varios lugares y tiempos. Se mencionan 5 centros de domesticación localizados entre México y Guatemala (Mesoamérica), siendo 1) la Mesa central de México (se origina el Complejo Mesa Central); 2) la Región de altura media en los estados de Morelos, México, Guerrero y sus alrededores (Complejo Pepitilla); 3) la Región centro norte de Oaxaca (Complejo Tuxpeño); 4) Oaxaca y Chiapas (Complejo Zapalote); y 5) la Región alta de Guatemala (Complejo altos de Guatemala) (Kato *et al.* 2009). Ambos

enfoques consideran a Oaxaca como un centro de domesticación, por tal motivo, este estado resulta fundamental para el estudio de la variación actual de maíz criollo<sup>1</sup>.

A pesar de esto, es deficiente la información de la diversidad de maíces nativos en el estado. En 1951 Wellhausen y Hernández-X reportaron para el estado de Oaxaca sólo siete razas. Aragón *et al.* (2005) realizaron una recopilación del estudio anterior con los de Sánchez *et al.* (2000) y Ortega-Paczka (2003) y reportan 30 razas. En el 2006, Aragón y colaboradores realizaron un estudio detallado de la información existente en los bancos de germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) sobre los maíces criollos de Oaxaca y colectaron muestras de maíz en comunidades poco exploradas de la región del Papaloapan, Bajo Mixe y Chinantla Baja, reportando 35 razas. Este número demuestra la gran diversidad local de maíces criollos y representa el 70% de toda la diversidad de razas de México.

Existen estudios que han abordado el manejo de la milpa en diferentes localidades de este estado y generalmente hacen referencia a las variedades criollas más que a las razas. Así, se han reportado para Oaxaca las variedades criollas amarillo, blanco, blanco delgado, bolita, conejo, chaparro, chaparrón, delgado moradito, hueso, maguellanes, maizón, morado, pinto, piñero, rojo, tablita, tepecente, tempranero, veracruzano y negro (Ruiz y Silva 1999, Cardoso 2004, Aguilera 2005, Rendón 2011). La mayoría se han enfocado en el estudio de la importancia del manejo tradicional, el intercambio de semilla que realiza el agricultor y la

---

<sup>1</sup> El término criollo lo utilizan los agricultores en la región Loxicha, Oaxaca para referirse a sus maíces nativos, por lo cual se decidió respetarlo.

---

diversidad morfológica (Ruiz y Silva 1999, Bellon 2001, Bellon *et al.* 2003, Pressoir y Berthaud 2004b, Bellon *et al.* 2006).

Si bien existe una gran diversidad de razas y variedades criollas de maíz en Oaxaca, hasta el momento existen pocos trabajos que analicen aspectos de diversidad genética en este estado y en general en todo el país, tanto con marcadores morfológicos como moleculares para comprender el mantenimiento de la diversidad de maíz y flujo génico (Pressoir y Berthaud 2004a). Recientemente, la importancia se ha centrado en la detección de transgenes (Quist y Chapela 2001, Ortiz-García *et al.* 2005).

La influencia más importante y menos conocida sobre la diversidad genética y el “mantenimiento” de las razas<sup>2</sup> y/o las variedades criollas<sup>3</sup> es el manejo tradicional que practican los agricultores, en particular el proceso de selección de la semilla que siembra cada ciclo agrícola. Los estudios enfocados en la importancia de las prácticas de manejo realizadas con las razas y/o las variedades criollas revelan una gran cantidad de genes en movimiento. Este movimiento se puede producir por la adquisición o el intercambio de semilla entre los agricultores de la misma comunidad, por conducto de las variedades compradas en los mercados locales y regionales. Por otra parte, fenómenos naturales como la dispersión del polen por los insectos y el viento también juegan un papel importante (Bellon y Berthaud 2004b, Hellin 2006). Asimismo, se ha observado que los agricultores de Oaxaca, de inmediato notan cuando hubo endogamia en su maíz durante demasiadas generaciones y baja el

---

<sup>2</sup> El concepto de raza se define de acuerdo a Anderson y Cutler en 1942, como los individuos relacionados con suficientes características en común como para permitir su reconocimiento como grupo, siendo una clasificación principalmente agronómica.

<sup>3</sup> El concepto de “variedad criolla” es el tipo de maíz que reconoce el agricultor bajo un mismo nombre y como parte de una misma unidad (Louette 1995, Rice *et al.* 1998).

rendimiento, lo que se señala al decir que el “maíz se ha cansado” y buscan otras variedades criollas para cruzarlo y mantener un buen rendimiento. Del mismo modo, las razas criollas evolucionan constantemente mientras los agricultores mantienen las características que desean (Bellon *et al.* 2003, Berthaud y Gepts 2004, Bellon y Berthaud 2004b, Aragón *et al.* 2005).

Lo anterior ha llevado a que ocurra un proceso llamado “acriollamiento” porque existe un manejo de las variedades modernas dentro de los sistemas tradicionales, donde los agricultores aplican el mismo tipo de manejo y mezclan los dos tipos de variedades (Bellon y Risopoulos 2001, Bellon *et al.* 2006). Por ejemplo, en la región Loxicha se encuentran las variedades chaparro y chaparrón, que en algunas comunidades las consideran todavía como híbridos que les proporcionaron en algún programa estatal, pero en otras se consideran acriolladas porque se entrecruzaron con las variedades criollas del lugar, además de que ya tienen mucho tiempo sembrándolas de manera tradicional y se han adaptado a los ambientes de la región reflejando el flujo génico entre variedades.

La zona más estudiada en Oaxaca, en términos de diversidad genética han sido los Valles Centrales, donde se describe la diversidad genética del complejo Bolita, utilizando características morfológicas. Además encontraron que la diversidad que existe en el área no es accidental, sino un reflejo de un proceso de coevolución entre el agricultor y su cultivo (Aguirre *et al.* 1999, Bellon *et al.* 2003).

En la región del Istmo de Tehuantepec, López y colaboradores (2005), reportan a nivel fenotípico que la variedad maíz chico corresponde a la raza Zapalote chico mientras que la variedad maíz grande corresponde a una amplia base de la raza Zapalote chico, con

introgresión de las razas Vandeño, Tepecintle y Tuxpeño; también se encontró que la variación genética se relaciona con la variación ambiental (altitud, humedad relativa y disponibilidad de humedad en el suelo). Se revela que los grupos de maíz grande evolucionaron hacia poblaciones tardías y los de maíz chico hacia poblaciones precoces y tardías. Se concluye que en la región existe variación genética a nivel de raza y entre poblaciones de la raza Zapalote chico.

Estos estudios dejan ver que el flujo de genes entre poblaciones de maíz es cuantitativamente importante, pero que el manejo que los campesinos hacen de las semillas es lo que mantiene una marcada diferenciación agromorfológica entre las poblaciones del grano.

#### *Uso de marcadores moleculares en estudios de maíz*

Los estudios sobre manejo y características morfológicas coinciden con los análisis de isoenzimas y ADN en cuanto a que las razas se organizan en un continuo y su diferenciación obedece, en parte, a un aislamiento producto de la distancia (Berthaud y Gepts 2004), aunque la forma de manejo de las poblaciones también tiene efecto sobre la misma.

A partir del reconocimiento que los agricultores hacen de la variación en las razas o variedades locales principalmente por el color y forma del grano, además de algunas características morfológicas de la mazorca, diversos autores han utilizado marcadores moleculares como las isoenzimas, los AFLP, los RAPD y los microsatélites (SSR) para analizar la diversidad genética del maíz y del teocintle. En general, las poblaciones de maíz estudiadas para México y otros países, tienen una alta diversidad dentro de las poblaciones y su distribución no es al azar, sino que está asociada a condiciones agroecológicas (Pressoir y

Berthaud 2004a, Perales *et al.* 2005, Vigouroux *et al.* 2005, Hartings *et al.* 2008, Ignjatović-Micić *et al.* 2008, Qi-Lun *et al.* 2008, Vigouroux *et al.* 2008, Solomon *et al.* 2010) (Tabla 1).

Hay variedades que presentan baja diversidad porque tienen un uso especial (pozole, pinole, tamales, elotes, palomitas y dulce de maíz) y son sembradas a partir de semillas de unas cuantas mazorcas, en áreas muy pequeñas (Sánchez *et al.* 2000). El análisis de datos moleculares revela que el manejo del maíz adoptado por los agricultores ha contribuido a mantener la variabilidad genética y desde el aislamiento en el campo, la práctica regula la identidad de la variedad y la conserva (Doebly y Goodman 1984, Sánchez *et al.* 2000, Perales *et al.* 2005, Vigouroux *et al.* 2005, Reif *et al.* 2006, Hartings *et al.* 2008, Qi-Lun *et al.* 2008, Bracco *et al.* 2009, Lia *et al.* 2009, Solomon *et al.* 2010).

Pressoir y Berthaud (2004a), realizaron un estudio en los Valles Centrales de Oaxaca para evaluar la diversidad genética, la estructura poblacional y el impacto del manejo tradicional que realiza el agricultor en razas locales de maíz. Trabajaron en 6 municipios muy cercanos geográficamente y solo tipificaron un individuo de cada una de las 31 poblaciones por medio de microsatélites, secuenciación y marcadores citoplásmicos. Encontraron una baja diferenciación entre poblaciones ( $F_{ST} = 0.011$ ) y sorprendentemente, no hay un aislamiento por distancia. Sin embargo, dentro de las poblaciones hay una gran diferenciación debido a un exceso de homocigotos.



**Tabla 1.** Estudios realizados con diferentes marcadores moleculares que reportan diversidad genética y estructura genética en maíz.

Marcador molecular	Referencia	Tamaño de muestra	Diversidad genética (H)	Estructura genética
Isoenzimas	Doebley <i>et al.</i> 1984 (México)	56 colecciones (teosintle y razas) 5 colecciones (maíz)	Teosintle = 0.155 – 0.311 Razas = 0.247 – 0.336 Maíz = 0.311	
	Sánchez <i>et al.</i> 2000 (México)	209 colecciones (59 razas)	Colecciones = 0.212 Razas = 0.243 Maíz = 0.269	$G_{rc}=0.000 - 0.331$
	Perales <i>et al.</i> 2005 (Chiapas, Méx.)	566 muestras (Tzotzil y Tzeltal)		$F_{ST}= 0.0019$
	López <i>et al.</i> 2010 (Oaxaca, Méx.)	40 poblaciones (Razas)	Razas = 0.22	$G_{ST}= 0.154$
AFLP	Hartings <i>et al.</i> 2008 (Italia)	54 colecciones (razas nativas)		$F_{ST}= 0.25$
SSR y citoplásmico	Pressoir y Berthaud 2004a (Oaxaca, Méx.)	31 poblaciones	SSR = 0.71 Citoplásmico = 0.49	$F_{STn}= 0.011$ $F_{STc}= 0.028$
SSR	Vigouroux <i>et al.</i> 2005 (América)	45 teosintle 45 maíz	Teosintle = 0.74 Maíz = 0.64	$F_{ST}= 0.071$
	Reif <i>et al.</i> 2006 (México)	25 colecciones (24 razas)	Razas = 0.61	$G_{ST}= 0.21$
	Ignjatović-Micić <i>et al.</i> 2008(Yugoslavia)	21 poblaciones (21 razas)	Población = 0.502	$G_{ST}= 0.360$
	Qi-Lun <i>et al.</i> 2008 (China)	124 razas nativas	Razas = 0.70	$F_{ST}= 0.13$
	Vigouroux <i>et al.</i> 2008 (América)	945 colecciones (310 razas)	Razas = 0.707 – 0.814	$F_{ST}= 0.027 - 0.053$
	Lia <i>et al.</i> 2009 (Argentina)	144 individuos (8 poblaciones)	Poblaciones = 0.571	$F_{ST}= 0.146$
	Bracco <i>et al.</i> 2009 (Argentina)	131 individuos (6 poblaciones)	Poblaciones = 0.370	$F_{ST}= 0.338$
	Morales <i>et al.</i> 2010 (Argentina)	26 líneas (razas locales)	Razas = 0.68	
Solomon <i>et al.</i> 2010 (Australia)	2 poblaciones (5 grupos, ciclos)	Grupos = 0.48 - 0.66	$G_{ST}= 0.03 - 0.23$	

López y colaboradores (2010), evaluaron el polimorfismo isoenzimático de poblaciones de maíz del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, área de distribución de la raza Zapalote chico, en 40 poblaciones nativas y 10 representativas de otras razas. La diferenciación genética ( $G_{ST}$ ) mostró que la mayor variación se encuentra dentro de las poblaciones (88%) y solo el 12% se encuentra entre ellas. Un análisis de conglomerados separa las poblaciones en dos grupos: el primero, integra a las poblaciones de la raza Zapalote chico y el segundo agrupó a las conocidas localmente como maíz grande, con influencia de las razas Zapalote chico e introgresión de Tuxpeño, Vandeño y Tepecintle.

Con los RAPD y los ISSR se han caracterizado rasgos cuantitativos importantes en maíz; se han investigado las interacciones genéticas entre loci que determinan la variabilidad fenotípica y han analizado la divergencia genética entre líneas puras y clones de maíz (Domenyuk *et al.* 2002; Osipova *et al.* 2003).

### ***Estudios en la Región Loxicha***

Hacia la Sierra Sur de Oaxaca se encuentra la Región Loxicha habitada por zapotecos, los cuales tienen una interacción milenaria con su ambiente, que se aprecia no sólo en las tradiciones y creencias, sino también en los procesos de transformación y apropiación del entorno natural, así como en los sistemas de clasificación y nomenclatura folk (Luna-José 2001, Montalvo 2002, de Ávila 2004, García-Mendoza 2004, Montalvo 2006, Luna-José 2008, Ventura-Aquino 2008). En términos de la diversidad de maíces cultivados en esta región, Cardoso (2004) y Aguilera (2005) reportan para los municipios de Candelaria Loxicha y San Agustín Loxicha, respectivamente, la presencia de al menos 12 variedades criollas entre

los dos municipios. Estos estudios mostraron que existe una amplia gama de variedades criollas de maíz y un intercambio de semillas, asociado a los requerimientos agroecológicos de cada variedad. Sin embargo, no se analizó detalladamente el efecto de la dinámica del manejo de las variedades criollas a través del tiempo y espacio, así como sobre la diversidad y estructura genética. A partir de estas evidencias, en 2007 se realizó un monitoreo de la riqueza de razas encontradas en cinco municipios de la región Loxicha, ubicada en la Sierra Madre del Sur de Oaxaca. Se reportaron 46 variedades agrupadas en 10 razas agronómicas que representan el 20% de aquellas registradas para Oaxaca en el 2005; se incorporó el registro de la raza Vandeño, que no estaba reportada en otros estudios y se detectó que también hay razas que van migrando de estados cercanos como la raza Comiteco que proviene de una comunidad de Chiapas y la raza Nal-Tel que proviene del estado de Yucatán (Rendón 2011).

Estos trabajos ponen en evidencia procesos que han sido mencionados previamente por otros autores, tales como el hecho de que la utilización de variedades criollas por los agricultores de esta región responde a las necesidades locales de los agricultores en términos de su adaptación a diferentes condiciones ambientales y este manejo tiene un efecto sobre la variabilidad genética del maíz como lo han mencionado otros autores (Ortega-Paczka 2003).

Los estudios descritos previamente muestran la importancia cultural y ecológica del maíz en las comunidades indígenas y campesinas, además confirma que México es un reservorio activo de diversidad genética. En este sentido, se espera que para la región Loxicha, ubicada en la Sierra Madre del Sur de Oaxaca, México, se encuentren niveles de diversidad

genética altos a nivel poblacional<sup>4</sup> (variedades) y subpoblacional<sup>5</sup> (milpas) debido al manejo tradicional que realizan los agricultores y al mantenimiento de variedades criollas que responden a diferentes condiciones agroecológicas. Además, se espera que exista una baja diferenciación genética capaz de permitirnos separar a las variedades como poblaciones.

Este estudio parte de la necesidad de realizar estudios etnobotánicos y genéticos para determinar el papel que juega el manejo tradicional sobre la conservación *in situ* de variedades criollas de maíz, las condiciones agroecológicas (tipo de vegetación) en el mantenimiento de los tipos de maíz, así como el efecto del flujo génico entre las variedades criollas a lo largo del gradiente altitudinal que presenta la región Loxicha. Cabe señalar que son contados los estudios genéticos que partan del concepto de variedad como unidad poblacional que genera el agricultor y solo se estudia a partir de la raza que es una unidad agronómica.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar los niveles de diversidad genética y estructura genética de variedades criollas de maíz en función del gradiente altitudinal, de las condiciones agroecológicas, del manejo tradicional y del flujo génico, en comunidades zapotecas de la región Loxicha, Sierra Madre del Sur, Oaxaca, México.

---

<sup>4</sup>La población se refiere a la “variedad” que definimos como el tipo de maíz que reconoce el agricultor bajo un mismo nombre.

<sup>5</sup> La subpoblación se refiere a la “milpa” que es el sitio donde se propaga determinada o determinadas variedades.

### *Objetivos particulares*

1) Analizar la diversidad y la estructura genética con los marcadores ISSR, de variedades criollas de maíz a lo largo del gradiente altitudinal.

2) Determinar el papel que juega el manejo tradicional, el gradiente altitudinal y la distancia entre las subpoblaciones (milpas) en la estructura genética y flujo génico de variedades criollas de maíz.

## **MÉTODO**

### *Zona de estudio*

Se seleccionaron siete comunidades zapotecas de Oaxaca, ubicadas dentro de la Región Terrestre Prioritaria N° 129 y comprende los municipios de San Agustín Loxicha y Candelaria Loxicha (Tabla 2, Figura 1), con base en la cantidad de variedades criollas encontradas a lo largo del gradiente altitudinal, así como del manejo tradicional que realizan los agricultores.

**Tabla 2.** Descripción de las comunidades de estudio (Modificado de: Luna-José 2006).

Municipio	Comunidad	Altitud (m.s.n.m.)	Tipos de Vegetación	Cultivos principales	Variedades
San Agustín Loxicha	Magdalena Loxicha	330	SBC	Maíz asociado con jamaica y frijol	Chaparrón y tablita
	San Francisco Loxicha	480	SMSubP, BMM	Café, maíz asociado con jamaica y frijol	Tablita, conejo y pinto
	San Vicente Yogondoy	1460	BP, BE	Maíz asociado con variedades de calabaza y frijol	Coloradito, blanco, piñero, pinto, hueso conejo y chaparrón
	Juquilita	2050	BPE	Maíz asociado con variedades de calabaza y frijol	Blanco y pinto
Candelaria Loxicha	Los Horcones	200	SBC	Maíz asociado con jamaica	Tablita, tepecente, chaparrón y tempranero
	El Chilar	240	SBC	Maíz asociado con palma de sollamiche y Jamaica	Regular, conejo y conejo grande
	Río Molino	820	SMSubP, BMM	Café	Tepecente

Tipos de vegetación: SBC=Selva baja caducifolia, SMSubP= Selva mediana subperennifolia, BMM= Bosque mesófilo de montaña, BPE= Bosque de pino-encino, BP= Bosque de pino y BE= Bosque de encino.



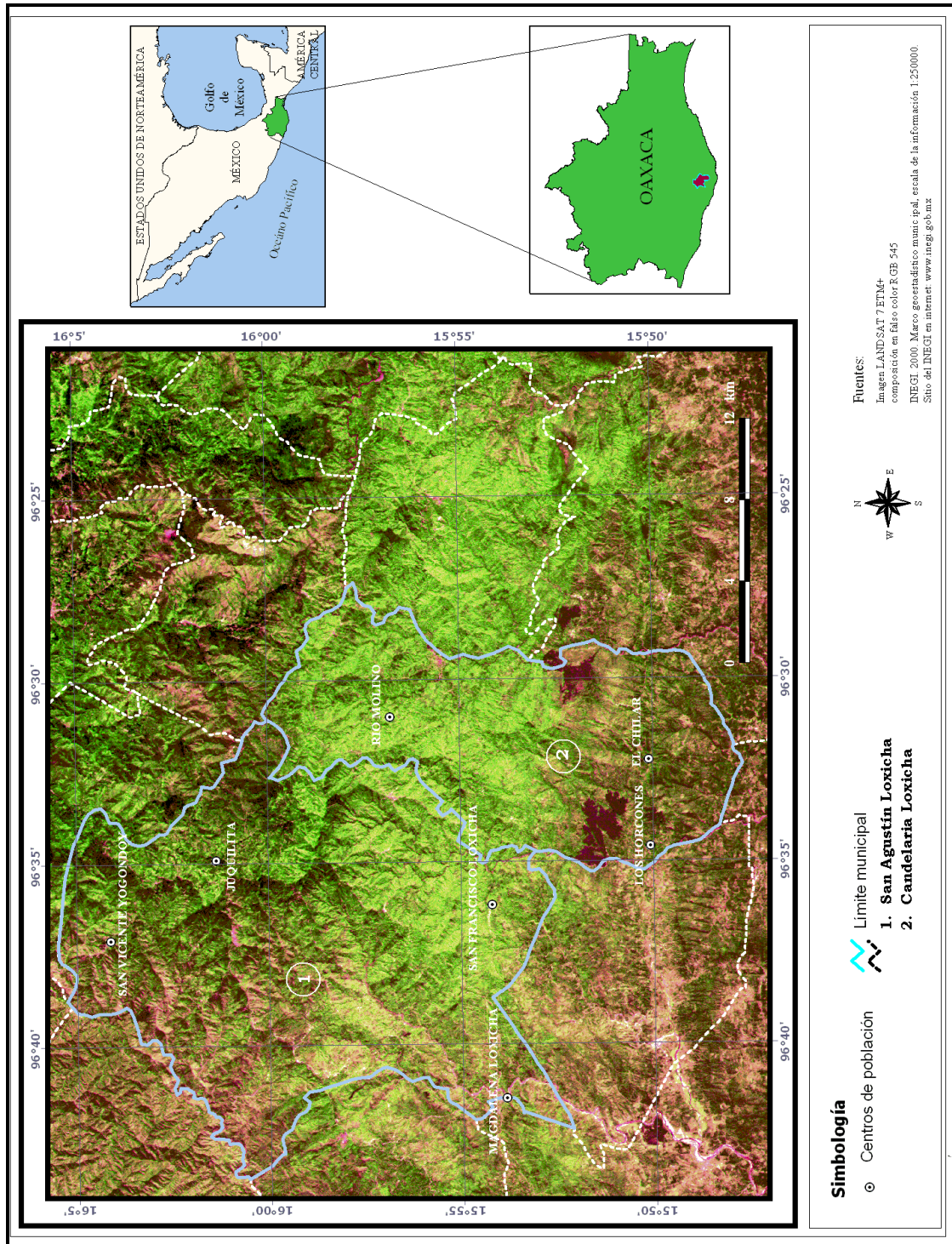
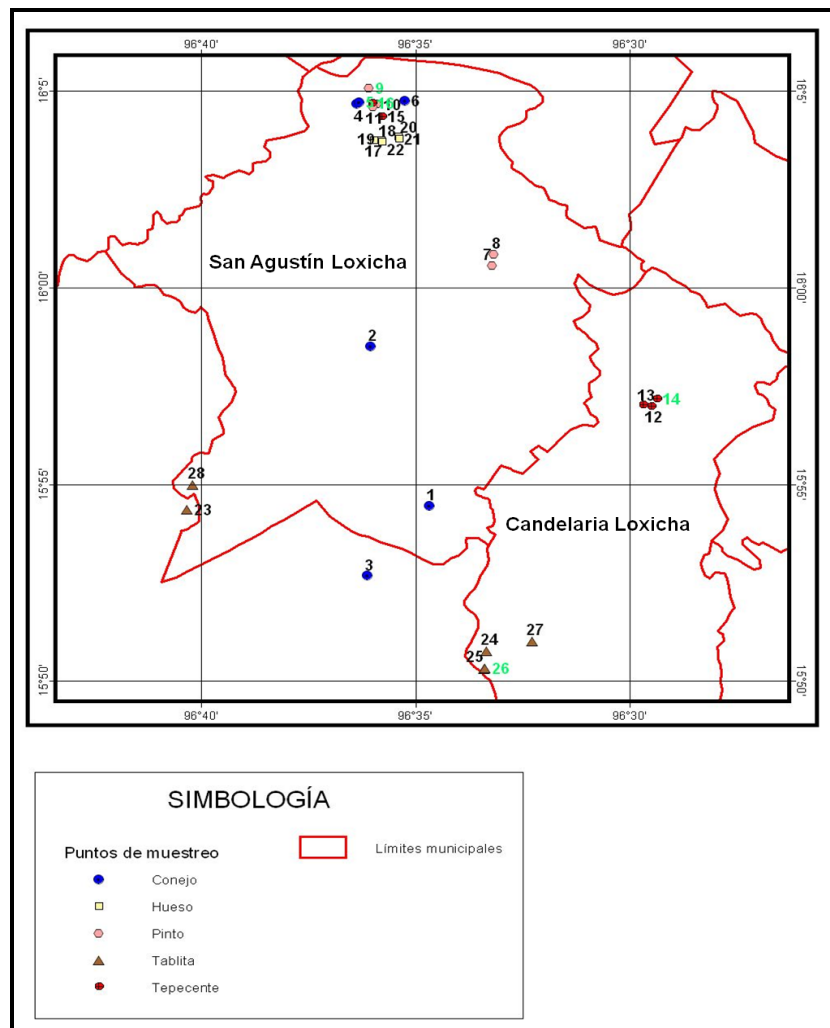


Figura 1. Zona de estudio. Elaborado por el Biól. Miguel Bravo.



**Figura 2.** Ubicación de las milpas. Elaborado por Biól. Gilberto Hernández Cárdenas.

De las 12 variedades criollas registradas en estudios previos, se eligieron cinco: conejo, pinto, tepecente, hueso y tablita, las cuales se colectaron en función de su distribución altitudinal, conformando tres rangos: bajo de 0 a 500 m.s.n.m., medio de 501 a 1000 m.s.n.m., y alto para mayores de 1000 m.s.n.m. También se consideró su frecuencia de uso, basándonos en el número de comunidades en que se encuentra la variedad. Para las variedades de amplia distribución, se eligieron dos comunidades que se localizaban en los dos municipios que



comprende el área de estudio. Existen otras variedades de distribución media que solamente están registradas dentro de un municipio pero que están presentes en dos comunidades. En el caso de aquellas variedades que solamente estaban en una sola comunidad, se triplicó el número de milpas (Tabla 3, Figura 2).

**Tabla 3.** Tamaño de muestra por variedad.

Variedad	Municipio	Comunidades	Rango Altitudinal (m.s.n.m.)	Duración del ciclo agrícola	Nº de milpas	Ind. / milpa	Ind. totales / var.
Tablita <sup>***</sup>	CL, SAL	H, ML	203-436	Ciclo medio	6	30	180
Conejo <sup>**</sup>	SAL	SFL, SVY	336-1214	Ciclo corto	6	30	180
Pinto <sup>**</sup>	SAL	SVY, J	1255-2000	Ciclo largo	5	30	150
Tepecente <sup>***</sup>	CL, SAL	RM, SVY	781-1419	Ciclo largo	5	30	150
Hueso <sup>*</sup>	SAL	SVY	1458-1496	Ciclo medio	6	30	180
<b>Total</b>			203 - 2000				840

<sup>\*\*\*</sup> variedad de amplia distribución, <sup>\*\*</sup> variedad de distribución media, <sup>\*</sup> variedad de baja distribución. CL= Candelaria Loxicha, SAL = San Agustín Loxicha, ML = Magdalena Loxicha, SFL = San Francisco Loxicha, J = Juquilita, SVY = San Vicente Yogondoy, H = Los Horcones y RM = Río Molino

### *Colecta de material*

En este trabajo se usaron los conceptos de: “variedad” como el tipo de maíz que reconoce el agricultor bajo un mismo nombre; “milpa” es el sitio donde se propaga determinada o determinadas variedades y el “lote de semilla”, como los granos de cada variedad que el agricultor selecciona para la siembra.

Se colectaron en la “milpa” hojas que corresponden al “lote de semillas” que el productor seleccionó de la cosecha del ciclo agrícola del 2007, por lo que para fines de este

estudio el término de “milpa” y “lote de semilla” lo usamos como sinónimo. Debido a que existen variedades de ciclo corto (entre tres y tres y medio meses), así como de ciclos medios y largos (entre seis y ocho meses), se decidió realizar la colecta en un período intermedio. De cada milpa se registró la ubicación geográfica y la altitud con el GPS.

Se colectaron hojas jóvenes, que no tuvieran manchas o indicios de hongos y se cortó el primer tercio de la hoja, del ápice a la base. De cada milpa se tomaron 30 hojas por duplicado y cada una se envolvió en papel aluminio, para diferenciar las milpas se metieron en bolsas ziploc. Para transportar las muestras sin que se degradara el ADN se guardaron en un termo con nitrógeno líquido (Figura 3). Las muestras y sus duplicados se almacenaron en dos ultracongeladores diferentes a  $-80^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 3.** Etapas de la colecta de hojas de maíz en las milpas.

### ***Manejo tradicional del cultivo de maíz***

Los datos de manejo se obtuvieron mediante una encuesta mixta conformada por preguntas abiertas y cerradas (Alexiades 1996, Smale *et al.* 1999, Badstue *et al.* 2002), que se aplicó a 20 agricultores en cada una de las comunidades, es decir, a los dueños de las milpas en las cuales colectamos y a otros agricultores de la comunidad. Se incluyeron preguntas sobre uso, destino (autoconsumo y venta), procedencia, selección, almacenamiento, uso de insecticidas para almacenar y forma de cultivo de las variedades criollas de maíz. En las encuestas donde no colectamos material, no se incluyó la ubicación y altitud de la milpa (Anexo I).

### ***Extracción de ADN***

Se extrajo ADN de 834 individuos, utilizando el método CTAB (bromuro hexadecil trimetil amonio) (Doyle and Doyle 1987) modificado (Anexo II). Para observar la integridad del ADN se realizó una electroforesis del extracto en geles de agarosa al 0.8 %, a 90V por 90 min. El gel se tiñó con bromuro de etidio por aproximadamente 10 min. y se realizó la lectura en el fotodocumentador (UVP Bioluminescence Systems) con el programa LabWorks ver. 4.0.08. Se realizaron alícuotas de 20 µl del extracto y el resto del ADN se conservó a -20°C como respaldo.

La concentración de ADN se cuantificó en un biofotómetro (BioPhotometer, Eppendorf) para hacer diluciones a una concentración de 30 ng/µl.

### ***Amplificación de ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)***

Osipova *et al.* (2003) y Domyuk *et al.* (2002) utilizaron para sus estudios de maíz marcadores ISSR, los cuales son marcadores dominantes, es decir, que no pueden diferenciar a los heterocigos de los homocigos dominantes pero nos permiten evaluar los niveles de variación genética asumiendo que la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg. Se ha visto que los ISSR amplifican entre 25 y 50 bandas en una sola reacción, por lo que el polimorfismo entre individuos de una misma población puede detectarse, ya que el análisis es sensible a la presencia/ausencia del elemento genómico reconocido por el oligo y a la longitud de la secuencia intermedia amplificada. No se requiere de altas cantidades de ADN, son sencillos de montar, rápidos, eficientes, son reproducibles por las altas temperaturas de alineación utilizadas y son poco costosos (Wolfe 2000, González y Aguirre 2007, <http://www.biosci.ohio-state.edu/~awolfe/ISSR/ISSR.html>).

A partir de estos estudios se eligieron cuatro oligos para probar, a los cuales denominamos M01, [(AC)<sub>8</sub> CG] y el M10, [(CA)<sub>6</sub> RG] (Osipova *et al.* 2003); el D01, [(AG)<sub>9</sub> C] y el D02, [(AC)<sub>9</sub> G] (Domyuk *et al.* 2002). De éstos cuatro oligos se escogieron los tres con más bandas, es decir, los que tienen más loci polimórficos.

Las condiciones de amplificación optimizadas para el M01, D01 y D02 fueron las siguientes: el buffer de PCR (New England) [1X] 2.5µl, MgCl<sub>2</sub> (New England) [2.5mM] 2.5µl, dNTPs (New England) [0.5mM] 1.25µl, Oligo (Invitrogen) [0.5 mM] 1.25µl, DNA [30ng] 0.5 ó 1µl (según el oligo y la variedad), Taq (New England) [1U] 0.2µl y solución Q

(Qiagen) de 1 a 0.5 $\mu$ l (según el oligo y la variedad). Los programas de amplificación optimizados para los oligos M01, D01 y D02 se observan en la tabla 4, respectivamente.

**Tabla 4.** Programas de amplificación para los oligos.

Oligo	Etapas	Temperatura	Tiempo	Ciclos
M01 y D02	Prealentamiento	94 °C	2 min.	1
	Desnaturalización	94 °C	40 seg.	
	Alineamiento	55 °C	40 seg.	35
	Polimerización	72 °C	1 min.	
	Extensión	72 °C	5 min.	1
D01	Prealentamiento	94 °C	2 min.	1
	Desnaturalización	94 °C	40 seg.	
	Alineamiento	53 °C	30 seg.	30
	Polimerización	72 °C	2 min.	
	Extensión	72 °C	5 min.	1

Se llevó a cabo una electroforesis de los productos de PCR en geles de agarosa al 1.5% con buffer TBE al 1X, a 90V por 3 hrs. Se tiñó el gel con bromuro de etidio para obtener la imagen en el fotodocumentador y conocer el tamaño de las bandas tomando como referencia la escalera 100bp DNA Ladder (Invitrogen).

Se analizaron visualmente los patrones de bandeo como presencia y ausencia para realizar una matriz binaria de 0 y 1, de todos los individuos para el mismo oligo por población (variedad) y subpoblación (milpa), por lo que cada individuo obtuvo un patrón de bandeo que representa su genotipo.

### *Análisis estadístico*

#### *Análisis del manejo del cultivo de maíz*

Los datos obtenidos en la encuesta se analizaron para ver la importancia del manejo tradicional de las variedades e inferir su papel en los niveles y distribución de la diversidad genética. También ayudó a describir de manera general las características agroecológicas a las que responde cada variedad de maíz y el efecto de algunos factores socioeconómicos en el manejo de las variedades criollas. Este análisis se realizó por medio de tablas de frecuencia.

Para determinar la relación entre los híbridos<sup>6</sup> y las variedades criollas, se obtuvo el siguiente índice: número de híbridos/ número de criollos, en donde un valor de uno indica la misma proporción de ambos tipos, un valor arriba de uno indica dominio de híbridos y por debajo de uno indica dominio de variedades criollas.

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) de 140 informantes considerando 8 variables, que fueron: variedad utilizada, procedencia de la semilla (ciclo anterior, comprada, regalada, intercambio), distancia de las comunidades a Pochutla que corresponde a la cabecera distrital donde se distribuyen la mayoría de los productos para esta región, destino de la variedad (autoconsumo, venta y forraje), tipo de almacenamiento (mazorca o semilla), así como el sistema de cultivo (monocultivo o policultivo). Este análisis se realizó para determinar la relación entre la distancia y la comercialización del maíz, así

---

<sup>6</sup> Se consideró un híbrido a la variedad chaparrón o chaparro de acuerdo a como los agricultores lo consideran en su comunidad.

como el uso de químicos influenciado por la cercanía a la cabecera distrital. Para realizar el análisis se utilizó el programa Multi-Variate Statistical Package (MVSP 3.1).

### *Análisis genético*

Se realizó el análisis genético considerando a la “milpa” como la subpoblación y a la “variedad” como la “población”.

La interpretación de las bandas para medir la variación genética en marcadores dominantes multilocus, como los ISSRs, se obtuvo realizando una matriz de presencia/ausencia que se analizó mediante diversos programas estadísticos (POPGENE, TFPGA, Arlequín) para obtener diversos parámetros de diversidad genética, estructura genética y flujo génico.

### *Diversidad genética*

Se evaluaron los siguientes parámetros:

Porcentaje de loci polimórficos (%P).- Un locus se consideró polimórfico si la frecuencia del alelo dominante es menor a 0.95. El porcentaje polimórfico se calculó como el número de loci polimórficos entre el número total de loci analizados por 100. Un valor de cero indica que los loci muestreados son monomórficos, mientras que un valor de 100 señala que

todos los loci son polimórficos y por lo tanto existe una alta diversidad genética (Hedrick 2000). Nei (1987), propone usar el criterio del 95% cuando la muestra presenta una  $n < 50$ , porque si un alelo tiene una frecuencia en la población menor a  $1/2n$  no estará representado en la muestra colectada. Para este análisis se utilizó el programa TFPGA ver.1.3 (Miller 1997).

Heterocigosis esperada ( $H_e$ ).- Se calculó usando las frecuencias alélicas, la ausencia de la banda representa el homócigo recesivo para los marcadores dominantes (Tabla 5).

**Tabla 5.** Determinación de las frecuencias alélicas para cada alelo.

Frecuencia alélica	Alelo	Genotipo	
$p^2$	AA	Homocigo dominante	Presencia de la banda
$2pq$	Aa	Heterocigo	
$q^2$	aa	Homocigo recesivo	Ausencia de la banda

Donde la raíz cuadrada de  $q^2$  es la frecuencia de los homócigos recesivos y la frecuencia del alelo dominante  $p$  es  $1-q$ . Se calculó a nivel poblacional ( $H_e^{pob}$ ), a nivel subpoblacional ( $H_e$ ) y para la especie ( $H_e^T$ ).

La diversidad genética no sesgada de Nei ( $H_S$ ) para marcadores dominantes requiere de un factor que reduzca el sesgo estadístico, por lo que se utilizó la corrección propuesta por Lynch y Milligan (1994), en donde se analizan sólo las bandas cuya frecuencia observada es menor a  $1-(3/N)$  y supone que están en equilibrio de Hardy-Weinberg. Esto se realizó con el programa TFPGA ver. 1.3 (Miller 1997), para calcular la  $H_e$  y la  $H_S$  a partir de los homócigos



recesivos. También se calculó a nivel poblacional ( $H_S^{pob}$ ) y para la especie ( $H_S^T$ ).

Se calculó el índice de Shannon para estimar la diversidad genotípica de la siguiente manera,

$$I^{shannon} = -\sum p_i \log_2 p_i$$

Donde  $p_i$  es la frecuencia de la presencia o ausencia de la banda por subpoblación y población. La estimación de la diversidad fenotípica equivale aproximadamente a la diversidad genética (Lewontin 1972), usando el programa POPGENE versión 3.2 (Yeh *et al.* 1997).

### ***Estructura genética***

Las poblaciones naturales frecuentemente se encuentran subdivididas dentro de subpoblaciones, por lo que la diversidad dentro y entre las subpoblaciones se estimó mediante el método de Nei (1973), donde la  $G_{ST}$  se calcula a partir de la diversidad genética total de la población ( $H_T$ ), y la diversidad genética dentro de las subpoblaciones ( $H_S$ ),

$$G_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

Un valor de  $G_{ST}$  cercano a uno señala que las subpoblaciones son distintas y cuando tiende a cero indica que comparten la mayoría de los genotipos encontrados (Lowe *et al.* 2004). Para los marcadores dominantes la  $G_{ST}$  muestra la proporción de la diversidad genética entre las poblaciones (Nei 1973), y es equivalente a la  $F_{ST}$ . Se obtuvo con el programa POPGENE versión 3.2 (Yeh *et al.* 1997).

Se calculó un estimado de los  $F_{ST}$ , que es el coeficiente de coancestría ( $\theta$ ) con el método de Weir y Cockerham (1984), en el que se supone que la población está en equilibrio y se define como la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de una población sean idénticos por descendencia; por lo tanto indica el grado de diferenciación entre las poblaciones (Reynolds *et al.* 1983). El programa TFPGA da dos valores de  $\theta$  cuando existe una jerarquía en los datos, en este caso da un valor de  $\theta^S$  que indica la diferenciación de las subpoblaciones dentro de la población y  $\theta^P$  indica la diferenciación entre las poblaciones. Este programa también arroja estimadores de la variación de  $\theta$  usando jackknife y bootstrap para generar intervalos de confianza (IC) del 95% realizando 5000 iteraciones.

Otra manera para analizar la estructura genética y como se distribuye la variación de las poblaciones y subpoblaciones es mediante el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) al sustituir la tradicional suma de cuadrados por la suma de diferencias al cuadrado de todos los pares de haplotipos, que calcula usando una matriz de distancias genéticas y asume la proporción que varía dentro y entre grupos predefinidos. El análisis se realizó jerárquicamente entre poblaciones divididas en subpoblaciones con el programa Arlequín versión 3.5 (Excoffier 2009).

### *Distancia genética*

Se obtuvo una matriz con las distancias genéticas de (1972) entre milpas y se realizó un dendograma basado en las distancias genéticas usando el UPGMA, mediante el programa POPGENE versión 3.2 (Yeh *et al.* 1997).

Se realizó un análisis de aislamiento por distancia con la prueba de Mantel (Sokal y Rohlf 1995), la cual analiza si existe una correlación entre dos matrices, una de distancias genéticas (calculada con el programa TFPGA) y una de distancia geográfica en km (obtenidas a partir de las coordenadas geográficas, mediante el programa ArcGIS 9.1), usando el programa TFPGA ver. 1.3 (Miller 1997). Una correlación de  $r = 1$  indica que las subpoblaciones más cercanas deberían de ser las más parecidas y no existe correlación ( $r = 0$ ) cuando la similitud entre las subpoblaciones no depende de la distancia geográfica.

### *Estimación de flujo génico*

La estimación de flujo génico ( $Nm$ ) se calculó de la siguiente manera (Slatkin y Barton 1989, McDermott y McDonald 1993):

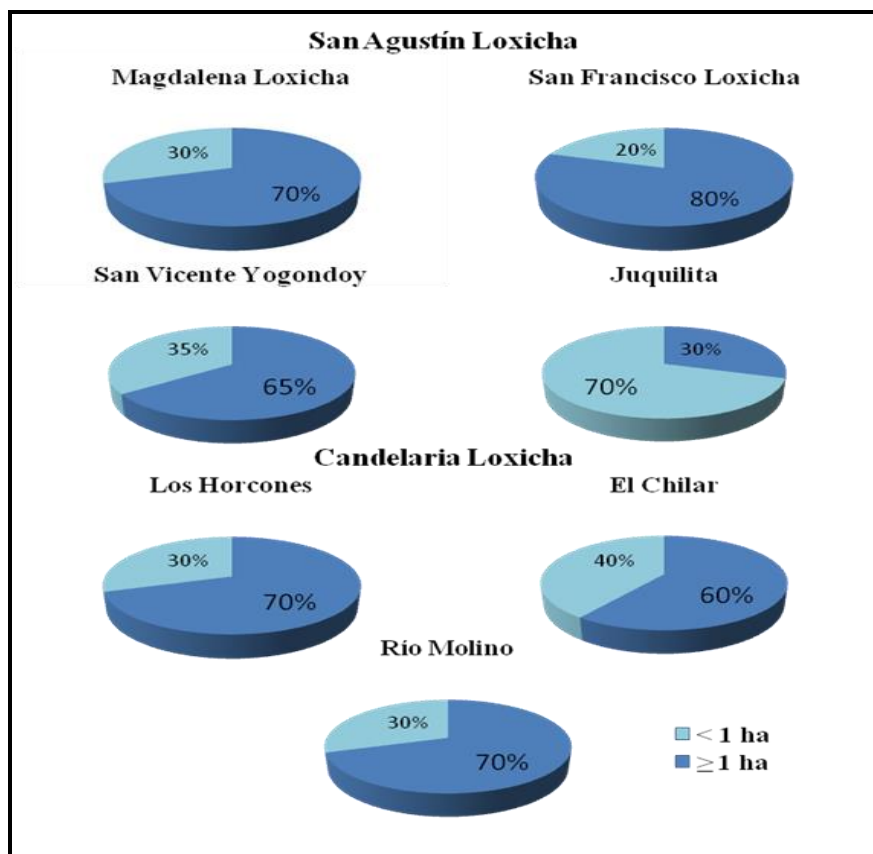
$$Nm = 0.5(1 - G_{ST})/G_{ST}$$

Con el programa POPGENE versión 3.2 (Yeh *et al.* 1997). Wright (1943) propone que si  $N_m$  es mucho mayor a 1 no hay diferenciación local, al homogeneizar la variación genética, pero si  $N_m$  es de 1 o menor se puede considerar a las poblaciones independientes.

## RESULTADOS

### *Manejo Tradicional del cultivo de maíz*

El tamaño del área destinada al cultivo de maíz por unidad familiar es mucho mayor en las comunidades con altitudes bajas y medias asociadas a selva baja o selva mediana, que en las comunidades ubicadas en altitudes altas con vegetación templada, esto en parte debido a que existe un acuerdo comunitario de no abrir grandes extensiones al manejo agrícola. El tamaño del área destinada al cultivo del maíz en todas las comunidades va de una a más hectáreas, siendo Juquilita la única comunidad que siembra en áreas menores a una hectárea (Figura 4).



**Figura 4.** Tamaño del área destinada al cultivo del maíz en cada una de las comunidades.

El uso de las variedades de maíz es principalmente de autoconsumo y se destina para la comida (tortillas, atole, tamales) y el forraje (gallinas, pollos, conejos, burros). No existen variedades de uso exclusivo en la región Loxicha. Existe una tendencia de los habitantes de las comunidades de altitudes bajas a destinar una mínima parte para la venta (Figura 5a).

Todas las variedades son destinadas para preparar tortillas y atole principalmente, aunque sí hay diferencias en cuanto al tiempo de cocción de éstas y las características de las tortillas. En las comunidades de El Chilar y Juquilita la gente que siembra el maíz pinto, es

porque les gusta que sus tortillas tengan ese color, aunque en todas las comunidades prefieren que las tortillas sean de maíz blanco, porque son más suavecitas.

En lo que respecta al manejo de la semilla, generalmente los agricultores siembran la de la cosecha anterior. Cuando obtienen una baja producción de maíz no alcanza para guardar semilla para el siguiente ciclo de siembra y la compran con familiares o gente de la misma comunidad, procurando mantener el mismo tipo de variedad criolla que ellos tenían (Figura 5b). Cabe resaltar el caso de Magdalena Loxicha, Juquilita y San Vicente Yogondoy porque son las únicas comunidades que conservan siempre la semilla de la cosecha anterior y dentro de la comunidad, mientras que en San Francisco Loxicha, El Chilar, Los Horcones y Río Molino la gente ocasionalmente compra semillas de las comunidades cercanas.

La mayoría de las semillas que siembran corresponden a variedades criollas existentes en las comunidades, pero se reporta el uso de algunos híbridos. El caso particular es la variedad chaparrón, que para algunos agricultores es un híbrido pero para otros ya no porque se ha mezclado con las especies nativas. Este tipo de maíz se conoce como maíz acriollado (Bellon y Risopoulos 2001, Bellon *et al.* 2006).

El índice del uso de híbridos sobre las variedades criollas en las comunidades indica que hay preferencia sobre las variedades criollas excepto en El Chilar, donde es proporcionalmente equitativa esta relación. Los productores de la región prefieren sus variedades porque ya las conocen, además consideran que los híbridos son más susceptibles a las lluvias y al ataque de los gorgojos (Tabla 6).

**Tabla 6.** Índice del uso de híbridos y variedades criollas. Valores cercanos a 0 usan poco o ningún híbrido; valores cercanos a 1 tienden a usar la misma proporción.

Comunidades	ML	SFL	H	C	RM	J	SVY
#híbridos / # nativos	0.33	0.4	0.33	1	0.5	0	0.29

ML = Magdalena Loxicha, SFL = San Francisco Loxicha, H= Los Horcones, C = El Chilar, RM= Río Molino, J = Juquilita, SVY = San Vicente Yogondoy.

Las semillas se seleccionan para la siembra a partir de mazorcas grandes y de mejor calidad, por lo tanto son semillas grandes, limpias, no picadas y de la parte media de la mazorca. Son pocas las personas que no realizan esta práctica.

Hay una diferencia entre las comunidades de altitudes bajas-medias y las de altitudes altas en el tratamiento previo al almacenamiento de la mazorca o de la semilla que guardan para el siguiente ciclo de siembra (Figura 5c). Los agricultores que almacenan la mazorca son los de las comunidades más húmedas con vegetación de bosque de pino encino y bosque de pino. Las variedades que se siembran corresponden a ciclos largos, con mazorcas grandes, por lo que requieren mayor tiempo de secado antes de desgranar. Por el contrario, en las partes bajas-medias donde las comunidades se ubican en sitios más calurosos con vegetación de selva baja y selva mediana, las variedades son de ciclos más cortos, con mazorcas pequeñas y el tiempo de secado es más rápido, por lo que en poco tiempo pueden almacenar los granos. Algunos agricultores prefieren desgranar y almacenar la semilla en silos, cajones de madera, costales de nylon o bolsas de plástico, así evitan o reducen que se pique, además de que utilizan algunos insecticidas químicos (“pastilla” de fosfato de aluminio, Graneril, Folidol). Sin embargo, la gente trata de evitar su uso ya que consideran que es una sustancia que los

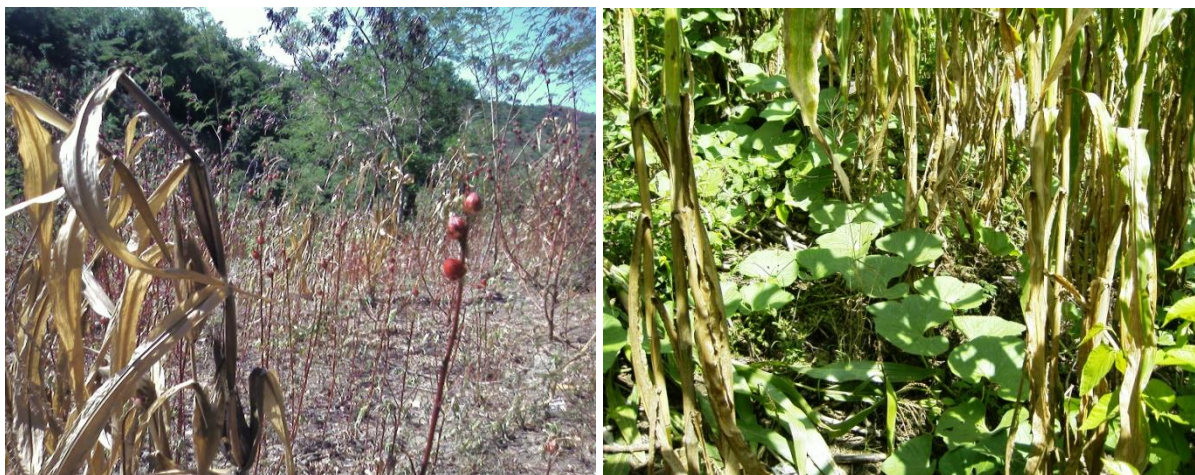
afectará con el tiempo y prefieren el utilizar algunas plantas, como la hierba santa, que funciona como un bioinsecticida (Figura 5d).



**Figura 6.** Almacenamiento de semillas de maíz en cajones de madera o silos en la comunidad de San Francisco Loxicha.

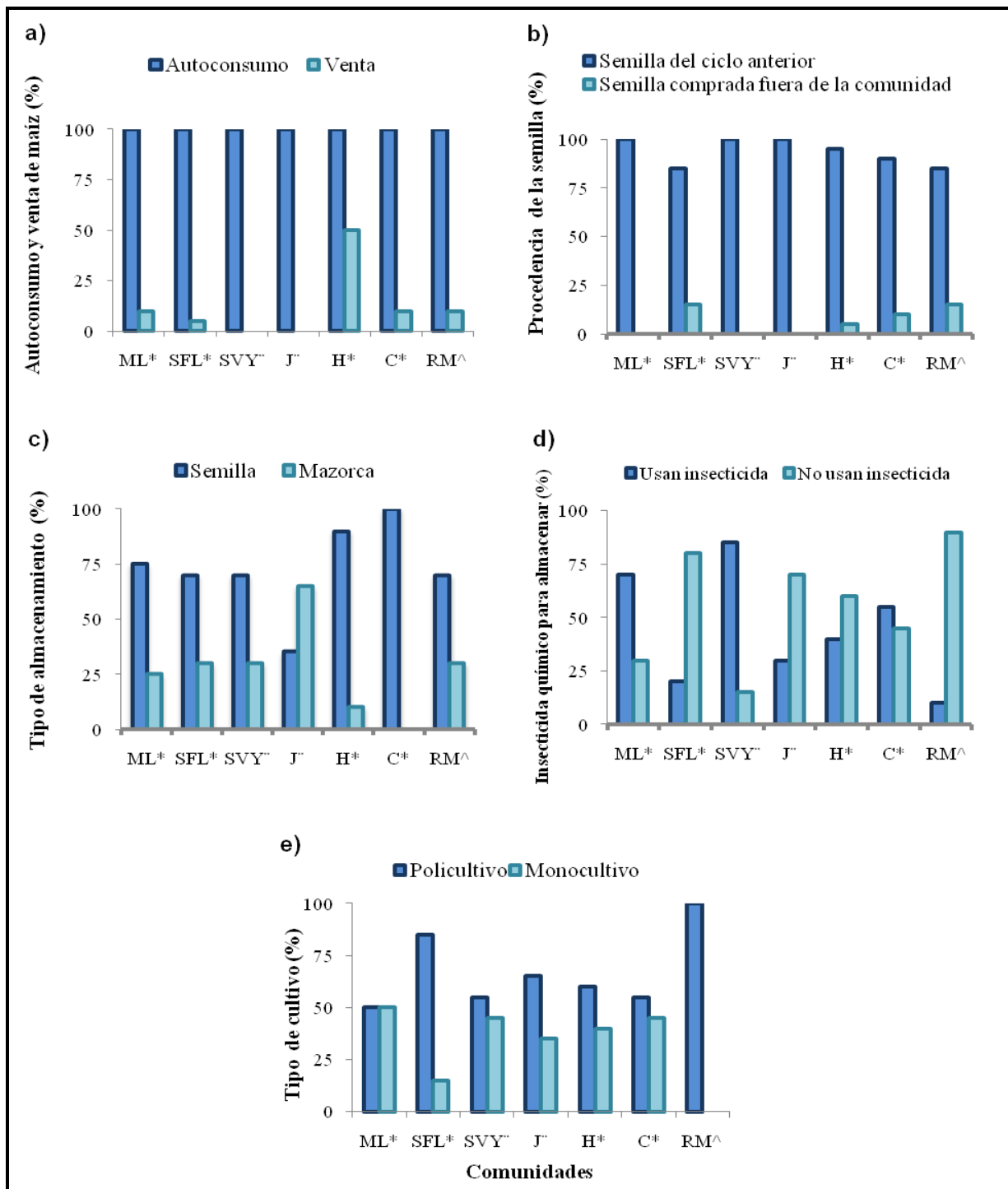
En los Loxicha el cultivo del maíz está asociado con otras especies, por lo que la milpa representa para los agricultores un policultivo en donde siembran diferentes variedades de calabazas (*Cucurbita* sp.), de frijoles (*Phaseolus vulgaris*), camote (*Ipomoea batatas*), chilacayote (*Cucurbita ficifolia*), palma de sollamiche (*Cryosophila nana*), rábano (*Raphanus sativus*) y cempasúchil (*Tagetes erecta*). Además dejan crecer hierbas útiles como hierbamora (*Solanum nigrum*), chepiles (*Crotalaria* sp.), quelite (*Amaranthus hybridu*) y hierba negra (*Globularia vulgaris*).





**Figura 7.** Cultivo de maíz asociado a Jamaica en la comunidad de Los Horcones y de maíz con calabaza en la comunidad de Magdalena Loxicha.

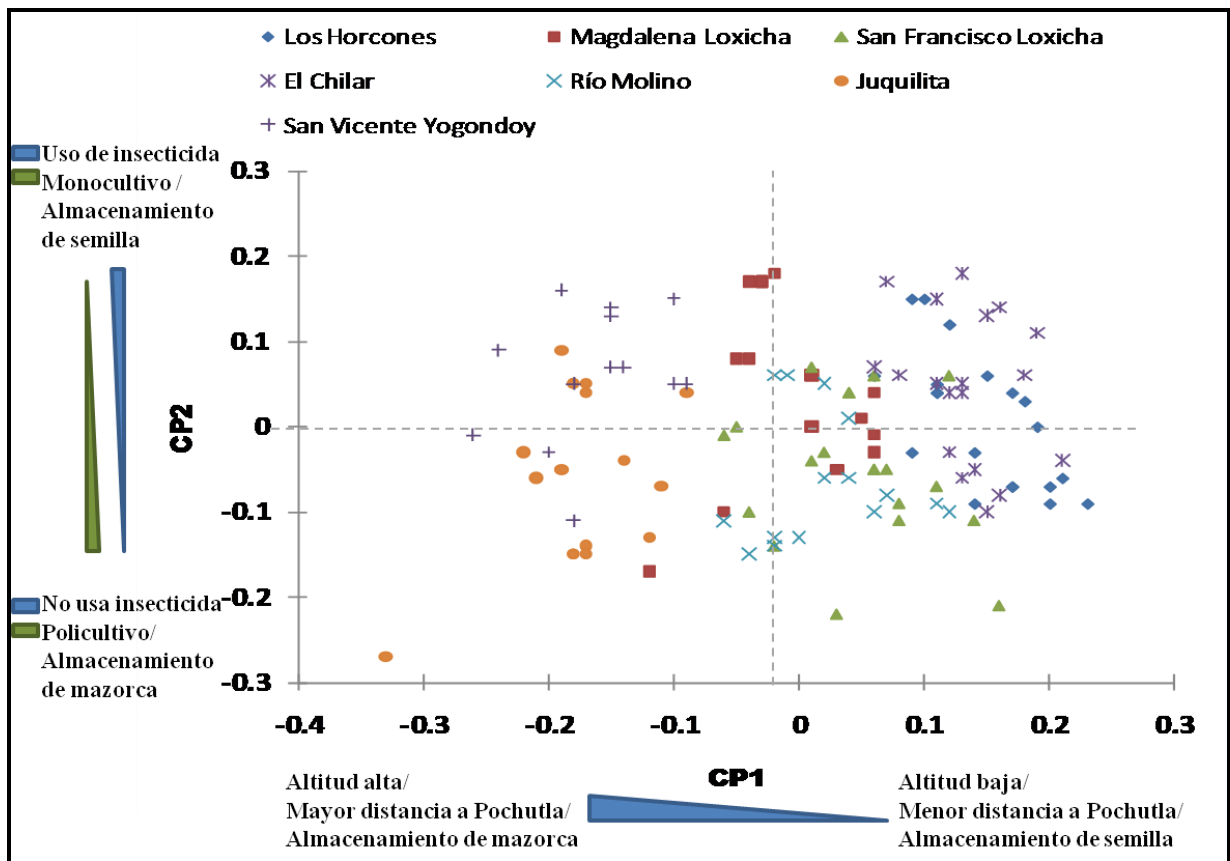
En las comunidades de altitudes bajas y altas, la forma de cultivo (monocultivo, policultivo) varía según la etapa del ciclo agrícola en el que se encuentre el cultivo de maíz. Desde los meses de mayo y junio que se siembra el maíz hasta agosto y septiembre dejan crecer algunas hierbas que utilizan como alimento o para algún uso medicinal, después se aplica el herbicida (Gramoxone, Tordon) se siembran otros cultivos asociados principalmente jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). Sin embargo, existen agricultores que prefieren dejar crecer solo al maíz, tendiendo al monocultivo. En las comunidades de San Francisco Loxicha y Río Molino se mantiene el policultivo (Figura 5e).



**Figura 5.** Graficas de porcentaje de frecuencia de distintas practicas de manejo tradicional. a) Destino del maíz, b) Procedencia de la semilla, c) Forma de almacenar el maíz, d) Uso de insecticida para el almacenamiento del maíz y e) Forma de cultivo. Comunidades: ML = Magdalena Loxicha, H= Los Horcones, C = El Chilar; altitudes medias: SFL = San Francisco

Loxicha, RM= Río Molino; altitudes altas J = Juquilita, SVY = San Vicente Yogondoy. \* Altitudes bajas, ^ altitudes medias y '' altitudes altas.

Aunque los análisis descriptivos anteriores muestran algunas tendencias en ciertos aspectos del manejo de las variedades, el análisis de componentes principales muestra que la variación en el manejo del maíz esta explicada por el componente principal 1 (29.08%) dado por la distancia de las comunidades a Pochutla (-0.57), por la altitud (-0.56) y por la forma de almacenar el maíz (semilla o mazorca) (-0.36), mientras que la variación en el componente principal 2 (16.44%) se explica por el uso de insecticidas químicos para almacenar la semilla (0.63), por el sistema de siembra (monocultivo o policultivo) (-0.53) y por la forma de almacenamiento (semilla o mazorca)(-0.43) (Figura 8). Los productores que usan insecticidas son los que guardan la semilla. También existe una relación entre el almacenamiento y la altitud, ya que en las zonas altas que son más húmedas guardan la mazorca. Sin embargo, no existe una relación con la distancia de la comunidad a Pochutla, pensando que las comunidades más cercanas a Pochutla tienen mayor accesibilidad a los insumos químicos que las comunidades que están más lejos.



**Figura 8.** Análisis de Componentes Principales. El componente 1 explica el 29.08% y el componente 2 el 16.44%.

Para conocer sobre la visión del flujo génico, se preguntó a los agricultores si habían observado algunas mazorcas con características diferentes dentro de sus milpas, como tener granos de colores mezclados en la mazorca y mazorcas de diferentes colores dentro de su milpa. La mayoría de los agricultores contestó que sí lo han observado y reconocen que es consecuencia de la cercanía de otras milpas que tienen otras variedades. Otros contestaron que se debe a los animales que fertilizan las milpas y provocaba la germinación de semillas diferentes a las sembradas. En general evitan mezclar variedades ya que prefieren mantener las características de cada una de ellas; a otros no les gusta el sabor que produce la mezcla o

simplemente no lo acostumbran, además de que así pueden cosechar en diferentes épocas y mantienen el control de las variedades que ya saben manejar. Algunos mezclan las semillas ocasionalmente para experimentar. Los agricultores dicen que la mezcla de variedades afecta el rendimiento, por que las características que prefieren las pueden perder y el maíz ya no responde igual a las características agroecológicas.

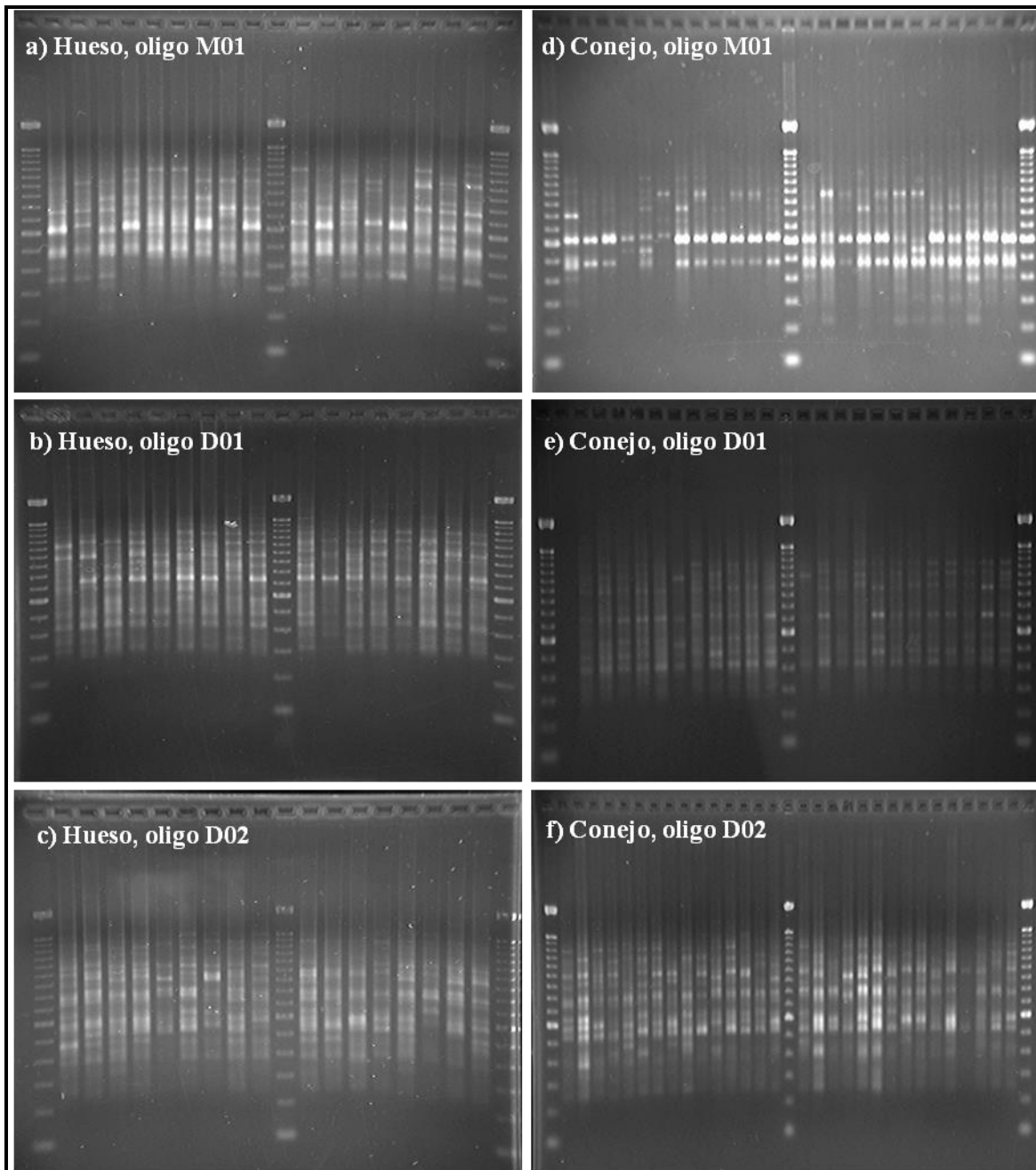
### *Análisis genético y Amplificación de ISSR*

Para el análisis genético se consideró a la “milpa” como la subpoblación y a la “variedad” como la “población”. Se consideran las 5 poblaciones (conejo (6), pinto (5), tepecente (5), hueso (6) y tablita (6)) y un total de 28 subpoblaciones.

Se amplificaron 82 loci para 834 individuos de maíz, la población hueso es la que tuvo el mayor número de loci, 70, y la población conejo obtuvo solo 56 loci (Tabla 7, Figura 8).

**Tabla7.** Número de loci obtenidos para las cinco variedades de maíz criollo con cada uno de los oligos analizados con los ISSR.

Variedad	Número de loci			Total
	Oligo D01	Oligo D02	Oligo M01	
Hueso	23	25	22	70
Pinto	21	24	19	64
Tepecente	22	19	21	62
Tablita	20	20	20	60
Conejo	17	21	18	56
<b>Total</b>				<b>82</b>



**Figura 8.** Fotografías de los geles de agarosa donde se amplificaron los distintos oligos. Patrones de bandeo donde se observa el polimorfismo de los individuos con los oligos a y d) M01, b y e) D01, c y f) D02.

### *Diversidad genética*

El 71.95% de loci analizados en las cinco variedades de maíz criollo fueron polimorficos. La variedad conejo presenta el 53.65% siendo el valor más bajo y la variedad hueso presenta el porcentaje más alto, 73.17% (Tabla 8). A nivel subpoblacional el porcentaje de polimorfismo más alto se encuentra en una milpa de la variedad hueso (79.26%) y el valor más bajo en una milpa de la variedad conejo (42.68%), estos datos coinciden a los dos niveles.

La heterocigosis esperada ( $H_e^T$ ) para las cinco poblaciones es de 0.2250 y una diversidad genética de Nei ( $H_s^T$ ) de 0.2252. La variedad hueso es la que tiene el valor más alto de diversidad genética no sesgada (0.2422) y el más bajo lo tiene la variedad conejo (0.1803). A nivel subpoblación el valor más alto se encuentra en una milpa de la variedad hueso (0.2975) y el más bajo se encuentra en una milpa de la variedad tepecente (0.1437) (Tabla 8).

El índice de diversidad de Shanon para las poblaciones es de 0.3781 (Desviación estándar = 0.2087). Este índice mostró el mismo patrón que el observado para la diversidad genética. La variedad hueso presenta el valor más alto (0.3818) y la variedad conejo presenta el valor más bajo (0.2888) (Tabla 8).

**Tabla 8.** Valores a nivel poblacional (variedad) y subpoblacional (milpa) de número de individuos (n), porcentaje de loci polimorfismo (%P), heterocigosis esperada ( $H_e$ ), heterocigosis esperada poblacional ( $H_e^{pob}$ ), diversidad genética ( $H_s$ ) y diversidad genética poblacional ( $H_s^{pob}$ ), y el índice de Shannon ( $I^{Shannon}$ ).

Variedad	Milpa	Comunidad	n	%P	$H_e$	$H_s$	$I^{Shannon}$
Conejo	1	SFL	30	53.65	0.1833	0.1853	0.2774



	2	SFL	30	51.21	0.1768	0.1794	0.2663
	3	SFL	24	42.68	0.1677	0.1690	0.2473
	4	SVY	30	48.78	0.1614	0.1627	0.2457
	5	SVY	30	48.78	0.1459	0.1475	0.2264
	6	SVY	30	43.90	0.1467	0.1516	0.2248
		<b>Población</b>	<b>174</b>	<b>53.65</b>	<b><math>H_e^{pop}=0.1803</math></b>	<b><math>H_s^{pop}=0.1803</math></b>	<b>0.2888</b>
Pinto	7	J	30	53.65	0.1748	0.1788	0.2655
	8	J	30	60.97	0.2272	0.2317	0.3353
	9	SVY	30	58.53	0.2126	0.2184	0.3193
	10	SVY	30	54.87	0.1801	0.1897	0.2816
	11	SVY	30	63.41	0.2325	0.2383	0.3461
			<b>Población</b>	<b>150</b>	<b>64.63</b>	<b><math>H_e^{pop}=0.2285</math></b>	<b><math>H_s^{pop}=0.2301</math></b>
Tepecente	12	RM	30	54.87	0.1992	0.2063	0.2994
	13	RM	30	52.43	0.2033	0.2065	0.2992
	14	RM	30	59.75	0.2110	0.2152	0.3177
	15	SVY	30	43.90	0.1386	0.1437	0.2172
	16	SVY	30	48.78	0.1841	0.1885	0.2739
			<b>Población</b>	<b>150</b>	<b>62.19</b>	<b><math>H_e^{pop}=0.2072</math></b>	<b><math>H_s^{pop}=0.2090</math></b>
Hueso	17	SVY	30	79.26	0.2858	0.2975	0.4307
	18	SVY	30	70.73	0.2476	0.2557	0.3781
	19	SVY	30	62.19	0.1927	0.1994	0.3020
	20	SVY	30	64.63	0.1976	0.2051	0.3080
	21	SVY	30	63.41	0.2350	0.2414	0.3501
	22	SVY	30	63.41	0.2045	0.2109	0.3155
		<b>Población</b>	<b>180</b>	<b>73.17</b>	<b><math>H_e^{pop}=0.2412</math></b>	<b><math>H_s^{pop}=0.2422</math></b>	<b>0.3818</b>
Tablita	23	ML	30	54.87	0.1821	0.1886	0.2789
	24	LH	30	57.31	0.1870	0.1914	0.2878
	25	LH	30	57.31	0.2008	0.2073	0.3040
	26	LH	30	62.19	0.2191	0.2294	0.3320
	27	LH	30	58.53	0.1935	0.2015	0.2987
	28	ML	30	59.75	0.2041	0.2122	0.3128



---



---

**Población    180    63.41     $H_c^{pop}=0.2106$      $H_s^{pop}=0.2113$     0.3291**

---

### *Estructura genética*

Los valores de diferenciación genética obtenida con la  $G_{ST}$  (Tabla 9), indican que las variedades hueso y tablita son las menos diferenciadas, mientras que las más diferenciadas son pinto y tepecentle. Esto es similar al valor de  $\theta$  obtenido evaluando a cada una de las variedades  $\theta^P = 0.0701$ , con un valor máximo de 0.1047 y un valor mínimo de 0.0576 y a nivel de la milpa subpoblación es de  $\theta^S = 0.1748$ , con un valor máximo de 0.2040 y un valor mínimo de 0.1477, lo que indica que hay menor diferenciación genética a nivel de las variedades que a nivel de las milpas. Esto coincide con en el análisis de varianza molecular (AMOVA).

**Tabla 9.** Valores de diferenciación genética y flujo génico.

<b>Población</b>	<b><math>G_{ST}</math></b>	<b><math>\Theta</math> (I.C 95%)</b>	<b>Nm</b>
Conejo	0.1169	0.1177 (0.0823 – 0.1600)	3.78
Pinto	0.1281	0.1364 (0.1053 – 0.1714)	3.40
Tepecentle	0.1262	0.1349 (0.1080 – 0.1641)	3.46
Hueso	0.0727	0.0683 (0.0512 – 0.0880)	6.38
Tablita	0.0690	0.0634 (0.0474 – 0.0826)	6.75
Nivel de milpas	0.1737	$\theta^S$ 0.1748 (0.1477 – 0.2040)	
Nivel de variedades	0.0701	$\theta^P$ 0.0797 (0.0576 – 0.1047)	

La AMOVA indica que la varianza más alta se encuentra dentro de las subpoblaciones (72.93%), es decir las milpas, y es menor entre poblaciones (13.30%), es decir entre variedades y entre las subpoblaciones dentro de las poblaciones (13.77%) (Tabla 10).

**Tabla 10.** Análisis de Varianza Molecular en tres niveles jerárquicos para las 28 milpas que representan las cinco variedades criollas

Origen de la variación	g. l.	Componentes de la variación	% de la variación
Entre poblaciones (variedades)	4	1.72242	13.30
Entre subpoblaciones (milpas), dentro de las poblaciones (variedades)	23	1.78274	13.77
Dentro de las subpoblaciones (milpas)	801	9.44372	72.93

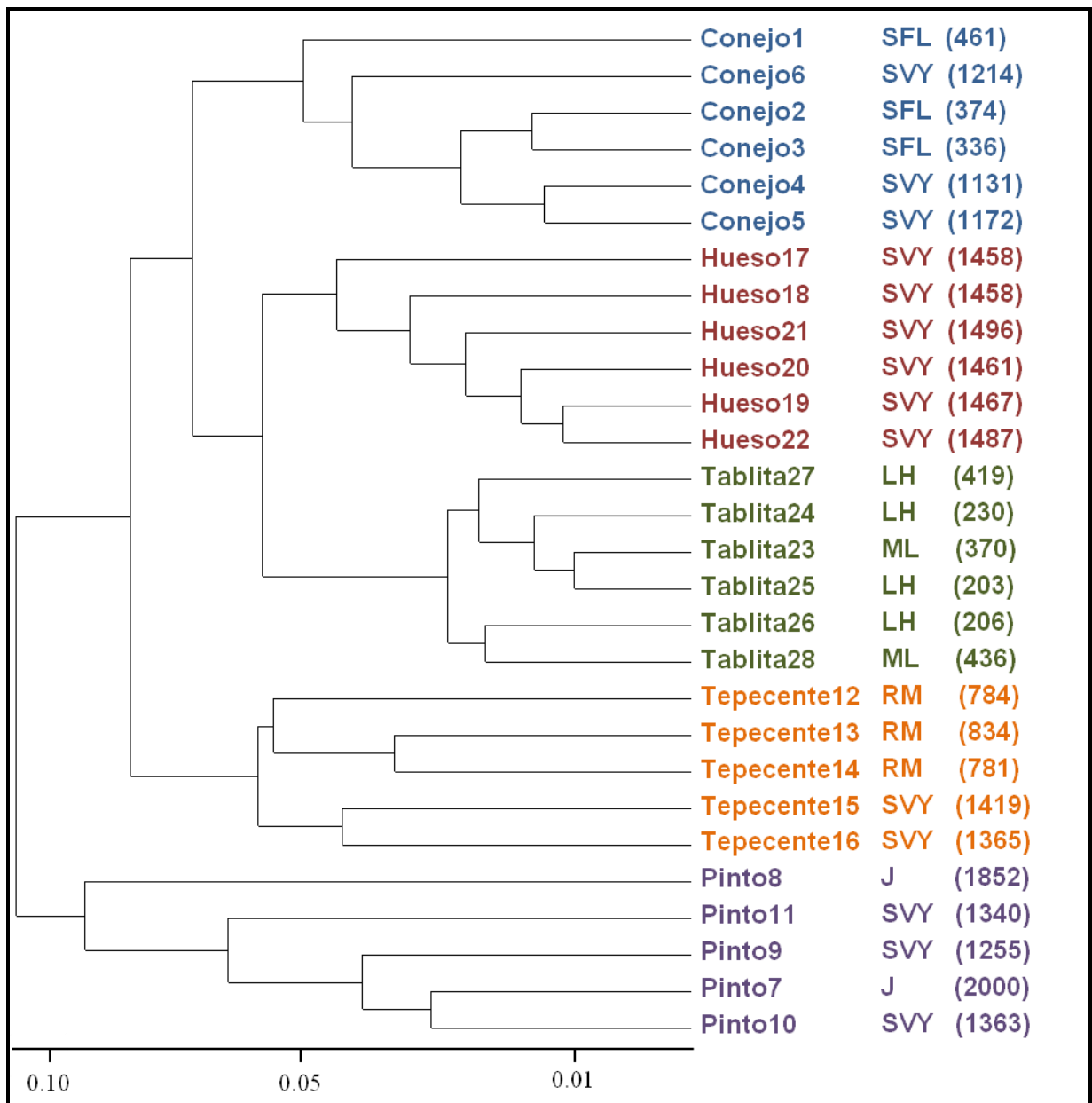
Los resultados estimados de la estructura genética muestran que la mayor parte de la variación se encuentra dentro de las milpas, es decir entre los individuos.

### *Distancia genética*

El dendograma obtenido con la matriz de distancias genéticas de Nei muestra una agrupación por variedades (Figura 9). Existe una primera división que separa a la variedad pinto de las demás; esta variedad es la de ciclo más largo y se encuentra en las altitudes más altas (1255 a 2000 m.s.n.m.). Dentro del segundo grupo se subdividen en un solo subgrupo las variedades hueso y tablita que son de ciclo medio. La variedad tepecente queda junto al pinto

siendo de ciclo largo también y en el extremo superior encontramos la variedad conejo, siendo la de ciclo corto.

A nivel de milpas no se encontró una relación entre las distancias genéticas y las geográficas (prueba de Mantel  $r = 0.1286$ ;  $p = 0.0680$  y  $p = 0.9330$ ). Así, aunque algunas variedades se encuentran más cercanas geográficamente, genéticamente están alejadas, (e.g., tablita23 y tablita25 con la distancia genética más baja (0.0122), aunque geográficamente las más cercanas son hueso17 y hueso18, las milpas conejo3 y pinto8 son las que están más distanciadas genéticamente (0.1162), pero geográficamente las más alejadas son pinto9 y tablita25) (Anexo III) (Figura 10).



**Figura 9.** Dendrograma (UPGMA) realizado con las distancias genéticas de Nei (1972) de las 28 milpas. ML = Magdalena Loxicha, SFL = San Francisco Loxicha, H= Los Horcones, RM= Río Molino, J = Juquilita, SVY = San Vicente Yogondoy. Entre paréntesis se encuentra la altitud de la milpa.

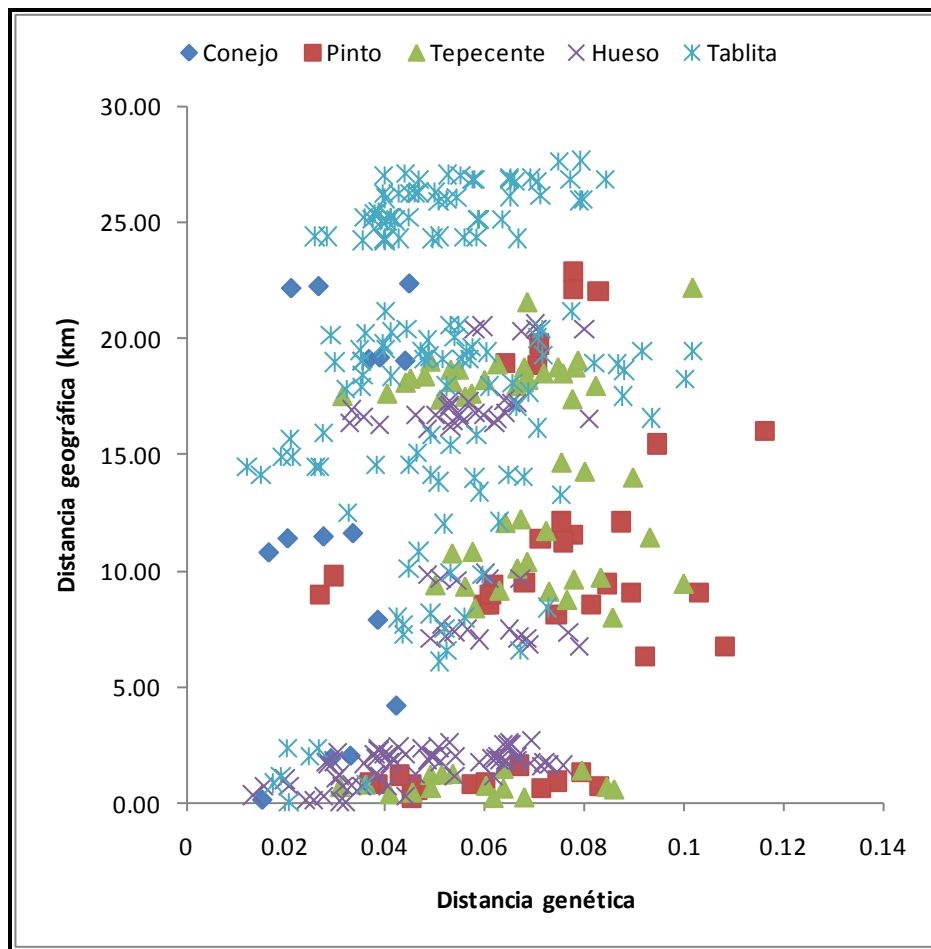


Figura 10. Prueba de Mantel para las 28 milpas.

### *Estimación de flujo génico*

La estimación de flujo génico para las cinco variedades es mayor a uno. Las variedades tablita y hueso son las que presentan un valor de flujo génico mayor a las demás ( $Nm = 6.75$  y  $6.38$ , respectivamente), y la variedad pinto es la que se encuentra con menor flujo génico ( $3.40$ ) (Tabla 9).

## DISCUSIÓN

### *Manejo tradicional*

El manejo tradicional que realizan los agricultores, las condiciones agroecológicas a lo largo del gradiente altitudinal de la región Loxicha, así como las características agronómicas de cada variedad influyen en la conservación, mantenimiento y diferenciación genética de las variedades criollas, ya que las variedades responden a estas condiciones.

Las comunidades estudiadas de la región Loxicha, al igual que en el resto de las comunidades indígenas de México, los agricultores tienden a sembrar en milpas de tamaño pequeño, esto coincide con Rodríguez y colaboradores para la costa de Oaxaca (1989), quienes reportan que el tamaño promedio de la milpa por agricultor es de 0.5 a 3 ha. Sin importar el tamaño de la milpa, esta juega un papel muy importante para la propagación, y por lo tanto, la conservación de la diversidad de variedades criollas de maíz, la diversidad de otras especies con diversos usos, además de que son la base para el sostén de las familias (Aguilar *et al.* 2003).

La producción de maíz es fundamentalmente para su autoconsumo y sólo en aquellos casos cuando existe un excedente, éste se destina a la venta (Louette 1995, Herrera-Cabrera *et al.* 2004, Cardoso 2004 y Aguilera 2005). Aunque por lo general se obtienen bajos rendimientos, esto no afecta la alta diversidad de variedades criollas, ya que el maíz para las comunidades indígenas no sólo representa el alimento si no que es parte de su cultura. Escobar

(2006) menciona que el maíz en dos comunidades de Oaxaca más que considerarse únicamente como un producto mercantil que pueda ser sustituido con importaciones de granos baratos, es considerado la base de la alimentación, del sustento y de la cultura.

La diversidad de variedades criollas está asociada a los diferentes usos en función de sus características, aunque el uso principal es para elaborar las tortillas. Louette (1995), Perales *et al.* (2003), Ortega-Paczka (2003) y Escobar (2006), describe la frecuencia de uso del maíz con base en su color, siendo el más preferido el blanco, ya que además de las características (color, textura, cocción, calidad) que le da a las tortillas es el que mejor se vende; el maíz amarillo lo usan principalmente para alimento de animales y los morados son para realizar los antojitos que han ganado prestigio en las zonas urbanas, aunque en las comunidades indígenas sean los que menos siembran, sin permitir que se pierda este tipo de semillas.

Los agricultores continúan guardando y seleccionando semillas de la cosecha anterior conservando sus recursos genéticos en el tiempo y la alta diversidad fenotípica de las variedades criollas (Louette 1995, Rice *et al.* 1998, Smale *et al.* 1999, Bellon y Risopoulos 2001, Aragón *et al.* 2005, Bellon *et al.* 2003, Badstue *et al.* 2006). Cardoso (2004) y Aguilera (2005) reportan para dos comunidades de la región Loxicha, que cuando el agricultor pierde su semilla o no tiene el rendimiento suficiente para guardarla, la consigue con los vecinos de la misma comunidad o en las comunidades vecinas siendo también semillas criollas. Esta actividad de selección promueve que las variedades conserven sus características a pesar de que exista un gran flujo génico entre ellas, conservando los recursos genéticos (Ortega-Paczka 2003).

Para visualizar el flujo génico Louette (1995), realizó un estudio en la comunidad de Cuzalapa, Jalisco donde sembró en 7 parcelas situadas a menos de 200 m unas de otras, diferentes variedades de maíz durante tres ciclos agrícolas y observó que existían mazorcas de granos blancos con granos negros; esta observación también la realizan los agricultores de la región Loxicha, pero a pesar de que exista un entrecruzamiento entre ellas, los agricultores se encargan de seleccionar la semillas y conservar las características morfológicas de cada variedad e implícitamente las características genéticas.

A pesar de que han entrado maíces híbridos o mejorados durante la Revolución Verde, la forma de manejo tradicional en los cultivos y el control sobre las semillas que ingresan a una comunidad, ocurre un proceso de acriollamiento en el cual las semillas nuevas son adoptadas y tratadas bajo el mismo manejo con que son tratadas las variedades criollas hasta que se adaptan a las condiciones agroecológicas y llegan a tener características que les gustan a los agricultores y las llaman criollas (Bellon *et al.* 2006). Tal es el caso de la variedad chaparrón que en algunas comunidades se sigue considerando un híbrido y en otras ya es un criollo.

Además del manejo y de los procesos de acriollamiento, el gradiente altitudinal influye también en que exista la diversidad de maíces. Carballoso-Torrecilla *et al.* (2000) analizaron 19 poblaciones de los Valles Altos de México que formaron 4 grupos de acuerdo a la altitud, reconociendo la importancia del ambiente de origen de la colecta al determinar la constitución genética y fenotípica de las poblaciones de maíz. Arias *et al.* (2007) y Aguilar *et al.* (2003) reconocen que las comunidades de las zonas altas y húmedas siembran variedades de ciclos largos, guardan la mazorca o la dejan secar en las milpas y no utilizan químicos para



almacenar. Por el contrario, en las comunidades de las zonas bajas y cálidas donde las variedades son de ciclos medios o cortos, tratan de desgranar para almacenar su semilla y la conservan con químicos para que no se pique. Este mismo manejo se encontró en el presente estudio.

Si bien el manejo tradicional ha mantenido altos niveles de diversidad genética dentro y entre las variedades, la existencia de plagas de almacenamiento representa un problema para algunas de ellas, observándose variación en la respuesta de las variedades dependiendo de ciertas condiciones ambientales. Esto ha sido reportado previamente por otros autores. Perales *et al.* (2003), muestra que en las zonas de altitudes altas (2400 msnm) solo el 4% de la gente utiliza insecticidas para almacenar la semilla, mientras que para las zonas de altitudes medias (1200 msnm) lo hace el 75% de la gente, lo que coincide con la región Loxicha. Yupit *et al.* (2004) describen para el estado de Yucatán la preferencia de los agricultores para almacenar su maíz en mazorca, a diferencia de la región Loxicha en la que sólo en las zonas húmedas la guardan como mazorca. Además de que en Yucatán usan poca cantidad de insecticida comercial y la mayoría utiliza cal para almacenar sus mazorcas. Estas prácticas del manejo tradicional se reporta en el análisis de componentes principales como componentes importantes para determinar la variación. Además de que resalta que el gradiente altitudinal es un factor muy importante para determinar el tipo de variedad que se siembra.

### ***Diversidad genética***

La diversidad genética dentro de las poblaciones nativas de maíz se conserva por el manejo tradicional que realizan los agricultores, al conservar la semilla y renovarla por

semillas criollas y de la misma comunidad cuando baja el rendimiento. Además los agricultores reconocen las condiciones agroecológicas para cada una de las variedades criollas de maíz.

López *et al.* (2010), en su estudio realizado en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca analizan las poblaciones de maíz que únicamente pertenecen a la raza Zapalote chico y otras poblaciones de maíz grande que pertenecen a varias razas siendo mayor el valor de porcentaje polimórfico para las poblaciones de maíz grande que agrupa a varias razas (68%). Los datos obtenidos en la región Loxicha pertenecen también a varias razas, presentando un porcentaje mayor de loci polimórfico de 71.95%.

Los índices de diversidad genética ( $H_e$ ) realizados en estudios sobre maíz donde utilizaron marcadores codominantes principalmente SSR varían entre 0.221 y 0.83 (Vigouroux *et al.* 2005, Reif *et al.* 2006, Ignjatovic-Micic *et al.* 2008, Qi-Lun *et al.* 2008, Vigouroux *et al.* 2005, Bracco *et al.* 2009, Lia *et al.* 2009, Morales *et al.* 2010, Solomon *et al.* 2010), siendo valores altos en relación con los obtenidos en este estudio (0.1386 y 0.2985).

Los estudios de diversidad genética realizados en México que utilizaron marcadores codominantes dan valores de heterocigosis esperada de 0.311 (Doebley *et al.* 1984), 0.269 (Sánchez *et al.* 2000) y 0.21 (López *et al.* 2010) muy cercanos a los obtenidos (0.2250) con marcadores dominantes.

### ***Estructura genética***

La diferenciación genética se infirió con tres métodos la  $G_{ST}$ , la  $\theta$  y la AMOVA dando valores muy parecidos entre los tres métodos. Las variedades hueso y tablita son las menos diferenciadas, son variedades de uso más frecuente y de ciclo medio por lo que podrían ser más factibles a la polinización de otras variedades. En contraste con la variedad pinto que es la que presenta el valor de diferenciación más alto, siendo menos frecuente encontrarla y su ciclo es largo.

Los estudios realizados con marcadores codominantes reportan una diferenciación relativamente alta entre las poblaciones maíz de Yugoslavia (Ignjatovic-Micic *et al.* 2008;  $G_{ST}=0.360$ ), México (Reif *et al.* 2006;  $G_{ST}= 0.21$ ), y moderada para Argentina (Lia *et al.* 2009;  $F_{ST}=0.146$ ), China (Qi-Lun *et al.* 2008;  $F_{ST}= 0.13$ ) y Oaxaca, México (López *et al.* 2010;  $G_{ST}=0.126$ ). De acuerdo con López y colaboradores (2010), que usan el criterio de divergencia genética moderada para valores de  $G_{ST}$  de 0.05 a 0.15 y alta de 0.15 a 0.25 la región Loxicha presenta un valor de  $G_{ST}$  alto (0.1737), y por lo tanto si existe una diferenciación entre las milpas y una diferenciación moderada de 0.0701 para las variedades.

Para el análisis de varianza molecular (AMOVA) los resultados coinciden con otros estudios en que la mayor parte de la variación se encuentra dentro de las poblaciones. Hartings *et al.* (2008) reportan en su estudio realizado con marcadores dominantes (AFLP), que existen niveles bajos de variación entre grupos (4.5%), valores medios entre poblaciones (21.4%) y los valores más altos dentro de las poblaciones (74.1%). López *et al.* (2010) en su estudio del Istmo de Tehuantepec realizado con isoenzimas también reporta niveles del 88% de la variación se encuentra dentro de las poblaciones y el 12% entre ellas.

La mayor variación genética detectada dentro de las milpas, puede deberse a la polinización abierta que presenta el maíz y a que las plantas reciben polen de las milpas cercanas. Por el contrario, la menor variación genética detectada entre las variedades, puede deberse a la selección que realizan los agricultores, la cual promueve el aislamiento mediante variaciones en la respuesta fenológica de las mismas a ciertas condiciones de altitud, suelo, temperatura, así como a las mismas condiciones topográficas de la zona. En la comunidad de San Vicente Yogondoy fue donde se muestrearon milpas de cuatro variedades de maíz, esto puede ser un factor importante por lo que la diferenciación entre variedades es bajo, ya que el flujo génico entre ellas puede ser mayor.

### ***Distancia genética y flujo génico***

El dendograma de distancias genéticas separa claramente a las variedades, lo que refuerza que la selección que realizan los agricultores con base en sus características morfológicas y su respuesta agroecológica mantiene como unidades a cada una de la variedades, además de que el concepto de variedad esta dado por el agricultor.

Bracco *et al.* (2009) en un estudio realizado con poblaciones del noroeste y noreste de Argentina encuentra que la diferenciación genética no está dada por un aislamiento por distancia. Pressoir y Berthaud (2004a) coinciden con que la distancia geográfica aparentemente no determina la diferenciación poblacional, lo que refuerza la importancia del manejo tradicional que realizan los agricultores para mantener a las variedades diferenciadas.

El flujo génico en las plantas de maíz esta determinado principalmente por la polinización abierta por viento y el intercambio de semilla, aunque esta práctica casi no se realiza en la región Loxicha porque conservan las semillas de el ciclo anterior. La cercanía entre las milpas provoca una baja diferenciación, si existe flujo génico y la lejanía debería de promover una alta diferenciación al menos que el flujo génico sea alto y entonces estarían poco diferenciadas. Para las cinco variedades criollas se registraron valores altos de flujo génico (3.40 a 6.75) y niveles de diferenciación genética bajos, sin existir un patrón de aislamiento por distancia. La variedad tepecente tiene un flujo génico de 3.46 teniendo sus milpas en dos municipios y estando un poco más diferenciadas genéticamente comparado con las milpas de la variedad tablita que también están en dos municipios pero el flujo es mayor (6.75) y están menos diferenciadas genéticamente. En contraste la variedad hueso presenta sus milpas en la misma comunidad y están menos diferenciadas ya que el valor de flujo génico es de 6.38. El hecho de que exista una baja diferenciación entre las milpas se debe a la polinización abierta que tiene naturalmente el maíz y a que los agricultores no ponen barreras a sus milpas para separar una variedad de otra pero mantienen las variedades diferenciadas al seleccionar la semilla que siembran.

## CONCLUSION

Los agricultores de la región Loxicha mantienen las variedades criollas de maíz realizando un manejo tradicional que les permite una gran diversidad morfológica, influenciada principalmente por la selección de semilla. También mantienen una alta

diversidad genética, al ir renovando las semillas criollas cuando observan que disminuye su rendimiento, al no haber un aislamiento por distancia permitiendo el flujo génico y al conservar distintas variedades. Los agricultores siembran variedades criollas de zonas altas, medias y bajas, como respuesta a las condiciones agroecológicas que se refleja en el manejo tradicional que recibe cada variedad. A pesar de que exista una alta diferenciación morfológica, las variedades están poco diferenciadas genéticamente por la selección de semillas, aunque las milpas presenten mayor diferenciación por el flujo génico que representa la polinización abierta.

La selección de semilla con base en el color, además de otros atributos de la mazorca y el grano han permitido la diversidad morfológica y genética, además de conocer las necesidades agroecológicas (tipo de vegetación) que requiere cada una de las variedades a lo largo del gradiente altitudinal. Si bien en todas las comunidades se prefiere el maíz blanco para las tortillas, además de ser el que mejor se vende, se siguen conservando los maíces de color porque ocasionalmente a la gente también le gusta comer tortillas de color o usan los granos para otro tipo de alimento (e.g. tamales de color, elotes tiernos amarillos).

Existe un proceso de acriollamiento en la región al permitir la entrada de híbridos como el chaparrón que adoptaron como variedad criolla al someterlo al mismo manejo tradicional y permitir que se cruce con las demás variedades. Esto coincide con la idea de que el agricultor evita el aislamiento geográfico entre las variedades. Sin embargo, la fenología de cada variedad se mantiene, lo que evitan que se mezclen.

La variedad con menor diversidad genética y genotípica (índice de Shannon) es conejo la cual es de ciclo corto y de altitudes bajas a medias, mientras que la variedad hueso, que podría considerarse de distribución restringida, al sólo encontrarse en una comunidad es la que presenta mayor diversidad genética y fenotípica, siendo de ciclo medio y de altitudes altas. La diversidad genética del maíz no es accidental, se mantiene por las prácticas tradicionales que realizan los agricultores.

Las características agroecológicas y la topografía encontradas a lo largo del gradiente altitudinal influyen en la alta o baja diferenciación de las milpas, siendo aquellas sembradas con la variedad pinto las más diferenciadas y presentando bajo flujo génico estimado; por el contrario, las menos diferenciadas son las de tablita, que presentan alto flujo génico, además de que es la variedad más comúnmente sembrada en la región, encontrándose en todo el gradiente altitudinal y en todos los tipos de vegetación. Las variedades de maíz se encuentran distanciadas geográficamente, pero los índices de flujo génico demuestran que hay intercambio de genes entre ellas y se ve reflejado en los valores de  $G_{ST}$  que expresan una baja diferenciación genética entre las variedades.

El análisis de distancia genética nos demuestra que las variedades como unidad de clasificación del agricultor están definidas, siendo el ciclo de vida de cada variedad y algunas características asociadas (no analizadas) como el tamaño de la mazorca, lo que determina la diferenciación. Así, la variedad pinto, que es de ciclo largo y mazorca más grande se separa completamente de la variedad conejo que es de ciclo corto y mazorca pequeña, quedando en medio hueso, tablita y tepecente de ciclo medio y mazorcas de medianas a grandes. Además las variedades más parecidas son el hueso y el tablita que morfológicamente se parecen pero

crecen en zonas distintas, ya que tablita se encuentra a lo largo de todo el gradiente y hueso sólo se encuentra en altitudes altas.

EL conocimiento tradicional que los agricultores tienen sobre las características del maíz ha permitido que hasta la actualidad se mantenga una gran diversidad fenotípica y genética. Siendo el campo su laboratorio para mejorar las semillas basándose en las características morfológicas de los individuos y en las condiciones ambientales.

### **LITERATURA CITADA**

Alexiades N.M. 1996. Colecting ethnobotanical data: an introduction to basic concepts and techniques. En: Alexiades N.M. (ed.), Selected Guidelines for ethnobotanical research: A field Manual. Scientific Publications Department. The New York Botanical Garden. Bronx, New York, p. 53-94.

Álvarez-Buylla E. 2004. Aspectos ecológicos, biológicos y de agrobiodiversidad de los impactos del maíz transgénico. En: Maíz y biodiversidad: efectos del maíz transgénico en México. Conclusiones y recomendaciones. Informe del Secretariado de la Comisión para la Cooperación Ambiental. 24 p.

Aguilar J., Illsley C. y Marielle C. 2003. Los sistemas agrícolas de maíz y sus procesos técnicos. En: Esteva C. y Marielle C. (eds.), Sin maíz no hay país. Consejo Nacional



para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, p. 83-122.

Aguilera L.C.A. 2005. Evaluación de los recursos vegetales en tres Municipios zapotecos de la Sierra Madre del Sur de Oaxaca. Informe Final de servicio social. Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa. 37 p.

Aguirre A. y Bellon M.R. 1999. Tipos de participación campesina en mejoramiento de Maíces Criollos. Simposio Internacional y Talleres sobre Fitomejoramiento Participativo (FMP) en América Latina y el Caribe Un Intercambio de Experiencias.

Anderson E. and Cutler H.C. 1942. Races of *Zea mays*. I. Their recognition and classification. Ann. Mo. Bot. Gard., 29: 69-89.

Aragón-Cuevas F., Taba S., Castro-García F.H., Hernández Casillas J.M., Cabrera-Toledo J.M., Osorio-Alcalá L. and Dillanes-Ramírez N. 2005. *In situ* Conservation and use of local maize races in Oaxaca, México: A participatory and decentralized approach. En: Taba S. (ed), Latin American Maize Germoplasm Conservation: Regeneration, *In situ* Conservation, Core Subsets, and Prebreeding; Proceedings of a Workshop held at CIMMYT, April 7-10, 2003. México, D.F. p.26-38.

Aragón-Cuevas F. *et al.* 2006. Actualización de la información sobre los maíces criollos de Oaxaca. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. CS002 México D. F.

- Arias L.M., Latournerie L., Moltiel S. y Sauri E. 2007. Cambios recientes en la diversidad de maíces criollos de Yucatán, México. [www.ujat.mx/publicaciones/uciencia](http://www.ujat.mx/publicaciones/uciencia) 23(1):69-74.
- Badstue L.B., Bellon M.R., Berthaud J., Juárez X., Manuel R.I, Solano A. M. and Ramírez A. 2006. Examining the role of collective action in an informal seed system: A case study from the Central Valleys of Oaxaca, México. *Human Ecology*, 34(2). DOI: 10.1007/s10745-006-9016-2.
- Badstue L.B., Bellon M.R., Juárez X., Manuel R.I. and Solano A. M. 2002. Social relations and seed transactions among small-scale maize farmers' access to maize landraces in the Central Valleys of Oaxaca, México, CIMMYT, Economics Working Paper 02-02. México, D.F. 28 p.
- Barkin D. 2003. El maíz y la economía. En: Esteva C. y Marielle C. (eds.), Sin maíz no hay país. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, p. 155-176.
- Bellon M.R. 2001. Participatory research methods for technology evaluation. CIMMYT. p 8-11
- Bellon M.R., Adato M., Becerril J. and Mindek D. 2006. Poor Farmers' perceived benefits from different types of maize germplasm: the case of creolization in lowland tropical México. *World Development*. Vol. 34 1:113-129.

- Bellon M.R. and Berthaud J. 2004a. Transgenic maize and the evolution of landrace diversity in México. The importance of farmers' behavior. *Plant physiology*. Vol. 134: 883-888.
- Bellon M.R. and Berthaud J. 2004b. [http://www.cimmyt.org/spanish/docs/ann\\_report/s\\_recent\\_ar/S\\_D\\_Sustain/s\\_oaxaca.htm](http://www.cimmyt.org/spanish/docs/ann_report/s_recent_ar/S_D_Sustain/s_oaxaca.htm)
- Bellon M.R., Berthaud J., Smale M., Aguirre J.A., Taba S., Aragón F., Díaz J. and Castro H. 2003. Participatory landrace selection for on-farm conservation: An example from the Central Valleys of Oaxaca, México. *Gen. Res. Crop. Evolution* 50: 401-416.
- Bellon M.R. and Brush S.B. 1994. Keepers of maize in Chiapas, México. *Economic Botany* 48:196-209.
- Bellon M.R. and Risopoulos J. 2001. Small-scale farmers expand the benefits of improved maize germplasm: A case study from Chiapas, México. *World Development*. 29(5): 799-811.
- Berthaud J., and Gepts P. 2004. Assessment of effects on genetic diversity, en *Maize and biodiversity: The effects of transgenic maize in Mexico*. North American Commission for Environmental Cooperation, Montreal, en [www.cec.org/pubs\\_docs/documents/index.cfm?varlan=english&ID=1417](http://www.cec.org/pubs_docs/documents/index.cfm?varlan=english&ID=1417) (consultado en abril de 2008).
- Bracco M., Lia V.V., Gottlieb A.M., Cámara J. and Poggio L. 2009. Genetic diversity in maize landraces from indigenous settlements of Northeastern Argentina. *Genetica*, 135:39-49.

- Carraballo-Torrecillas V., Mejía-Contreras A., Balderrama-Castro S., Carballo-Carballo A. y González-Cossío F.V. 2000. Divergencia en poblaciones de maíz nativas de Valles altos de México. *Agrociencia* 34: 167-174.
- Cardoso D. J. 2004. Estudio etnobotánico del agroecosistema milpa en la comunidad de Candelaria Loxicha, Oaxaca. Informe Final de servicio social. Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Xochimilco. 50 p.
- Claveland D.A. and Murray S.C. 1997. The world's crop genetic resources and the rights of indigenous farmers. *Current Anthropology* 38: 477-492.
- De Ávila B. A. 2004. La clasificación de la vida en las lenguas de Oaxaca. En: García-Mendoza A., Ordóñez M. J. y Briones-Salas M. (eds.), *Biodiversidad de Oaxaca*. Instituto de Biología, UNAM, Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza y World Wild Foundation. México, p. 481-539.
- Doebley J. F. and Goodman M. M. 1984. Isoenzymatic Variation in *Zea* (Gramineae). *Systematic Botany*, 9: 203-218.
- Doley J.J. and Doyle J.L. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Domenyuk V.P., Verbitskaya T.G., Belousov A.A. and Sivolap Y.M. 2002. Marker analysis of Quantitative Traits in Maize by ISSR-PCR. *Russian Journal of Genetics*, 38:1161-1168.

---

Escobar D.A. 2006. Valoración campesina de la diversidad del maíz. Estudio de caso de los comunidades indígenas en Oaxaca, México. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. 252 p.

Esteva C. 2003. Los árboles de las culturas mexicanas. En: Esteva C. y Marielle C. (eds.), *Sin maíz no hay país*. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, p. 17-28.

Excoffier L. 2009. Arlequin ver. 3.5.1.2 computational and molecular population genetics lab. Institute of Ecology and Evolution, University of Berne Swiss Institute of Bioinformatics. February 2010 <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>

García-Mendoza A. 2004. Integración del conocimiento florístico del Estado. En: García-Mendoza A., Ordóñez M. J. y Briones-Salas M. (eds.), *Biodiversidad de Oaxaca*. Instituto de Biología, UNAM, Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza y World Wild Foundation, México, p. 305-325.

González A. y Aguirre X. 2007. Inter Simple Sequence Repeats (ISSRs). En: Eguiarte L.E., Souza V. y Aguirre X. (compiladores). *Ecología molecular*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Universidad Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. Págs. 567-571.

Hartings H., Berardo N., Mazzinelli G.F., Valoti P., Verderio A. and Motto M. 2008. Assessment of genetic diversity and relationships among maize (*Zea mays* L.) Italian

- landraces by morphological traits and AFLP profiling. *Theor. Appl. Genet.* 117:831-842.
- Hedrick P.W. 2000. *Genetics of populations*. Jones and Bartlett Publishers. London, UK. 553 p.
- Hellin J. 2006. Agricultores mexicanos de escasos recursos cultivan más maíz "mejorado" de lo que podría creerse. *CIMMYT E-News*, 3(2).
- Herrera-Cabrera B.E., Castillo-González F., Sánchez-González J.J., Hernández-Casillas J.M., Ortega-Paczka R.A. y Major-Goodman M. 2004. Diversidad del maíz Chalqueño. *Agrociencia*. 38: 191-206.
- Ignjatović-Micić D., Mladenović-Drinić S., Nikolić A. and Lazić-Jančić V. 2008. SSR Analysis for Genetic Structure and Diversity Determination of Maize Local Populations from Former Yugoslavia Territories. *Russian Journal of Genetics*, 44(11):1317-1324.
- Kato Yamakake, T.A., C. Mapes, L.M. Mera Ovando, J.A. Serratos Hernández, R. Bye Boettler. 2009. Origen y diversificación del maíz: Una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México (Edición digital: CONABIO 2009).
- Lewontin R. 1972. The apportionment of human diversity. *Evolutionary Biology* 6: 381-398.

- Lia V., L. Poggio and V.A. Confalonieri. 2009. Microsatellite variation in maize landraces from Northwestern Argentina: genetic diversity, population structure and racial affiliations. *Theor. Appl. Genet.*, 119:1053-1067.
- López R.G., A Santacruz V, A Muñoz O, F Castillo G, L Córdova T, H Vaquera H. 2005. Caracterización morfológica de poblaciones nativas de maíz del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca. *Interciencia* 30:284-290.
- López R.G., A. Santacruz V., A. Muñoz O., F. Castillo G., L. Córdova T., H. Vaquera H. 2010. Perfil Isoenzimático de maíces nativos del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. I. Caracterización de grupos. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 33(1): 1-10.
- Louette, D. 1995. Intercambio de semillas entre agricultores y flujo genético entre variedades de maíz en sistemas agrícolas tradicionales. En: J.A. Serratos, M.C. Willcox y F. Castillo G. (eds.). *Memoria del Foro: Flujo Genético entre Maíz Criollo, Maíz Mejorado y Teocintle: Implicaciones para el Maíz Transgénico*. INIFAP-CIMMYT-CNBA. El Batán, Estado de México. pp. 60-71.
- Louette, D., A. Charrier, J. Berthaud. 1997. *In situ* conservation of maize in México: genetic diversity and maize seed management in a traditional Community Economic Botany 51 (1): 20-38.
- Lowe A, Harris S, Ashton P. 2004. *Ecological genetics: design, analysis and application*. Oxford: Blackwell Publishing. 344 pp.

- Luna-José, A. L. 2001. Análisis del conocimiento etnobotánico entre los zapotecos de la comunidad Trinidad Buenavista Loxicha, Oaxaca. Trabajo de servicio social. Universidad Autónoma Metropolitana. 70 pp.
- Luna-José A., Rendón-Aguilar B. 2008. Recursos vegetales útiles en diez comunidades de la Sierra Madre del Sur, Oaxaca, México. *Polibotánica*. 26, pp. 193-242.
- Lynch, M. and B.G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* 3: 91-99.
- Matsuoka, Y., Y. Vigouroux, M.M. Goodman, J. Sánchez, E. Buckler, and J. Doebley. 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *PNAS*, Vol. 99, 9:6080-6084.
- McDermott, J.M. and McDonald, B.A. 1993. Gene flow in plant pathosystems. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31: 353-373.
- Miller, Mark P. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by author.
- Montalvo, E. L. 2002. Composición florística y manejo de los huertos de la localidad Trinidad Buenavista, municipio San Agustín Loxicha, Oaxaca. Reporte de servicio social. Universidad Autónoma Metropolitana. 36 pp.



- Montalvo, E. L. 2006. Composición florística y manejo de la vegetación leñosa de los cafetales en la Sierra Madre del Sur, Oaxaca. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. 105 pp.
- Morales M., V. Decker and L. Ornella. 2010. Analysis of genetic diversity in Argentinian heterotic maize populations using molecular markers. *Cien. Inv. Agr.*, 37(1): 151-160.
- MVSP. 1985-2009. Multivariate Statistical Package. Version 3.13r. Kovach Computing Services.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am Nat* 106: 283-292.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 70:3321 – 3323.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Ortega Paczka, R., J.J. Sánchez G., F. Castillo González y J.M. Hernández Casillas. 1991. Estado actual de los estudios sobre maíces nativos de México, En: Ortega P., R., G. Palomino H., F. Castillo G., V.A. González H. y M. Livera M. (eds.), *avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México*. México: Sociedad Mexicana de Fitogenética. pp. 161-185.
- Ortega-Paczka, R. 2003. La diversidad del maíz en México. En: Esteva C. y C. Marielle (eds.), *Sin maíz no hay país*. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, pp. 123-154.

- Ortiz-García S., E. Ecurra, B. Schoel, F. Acevedo, J. Soberón and A. Snow. 2005. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, México (2003-2004). PNAS. Vol. 102. 35: 12338-12343.
- Osipova, E.S., O.V. Koveza, A.V. Troitskj, Y.I. Dolgikh, Z.B. Shamina and S.A. Gostimskij. 2003. Analysis of Specific RAPD and ISSR Fragments in Maize (*Zea mays* L.) Somaclones and Development of SCAR Markers on Their Basis. *Russian Journal of Genetics*. Vol. 39. 12: 1412-1419.
- Paliwal, R. L. (2001). El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación –FAO–. 376 p.
- Perales H., B.F. Benz and S.B. Brush. 2005. Maize diversity and etnolinguistic diversity in Chiapas, México. PNAS. Vol.102, 3:949-954.
- Perales H., Brush S.B. and Qualset C.O. 2003. Dinamic management of landraces in central México. *Economic Botany* 57(1) p. 21-34.
- Pressoir, G. y J., Berthaud. 2004a. Patterns of population structure in maize landraces from the Central Valleys of Oaxaca in Mexico. *Heredity*, 92:88-94.
- Pressoir, G. y J., Berthaud. 2004b. Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity*, 92:95-104.

Qi-Lun Y., F. Ping, K. Ke-Cheng and P. Guang-Tang. 2008. Genetic diversity based on SSR markers in maize (*Zea mays* L.) landraces from Wuling mountain region in China. *Journal of Genetics*, 87(3):287-291.

Quist, D. y I. H., Chapela. 2001. Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, México. *Nature*, 414:541-543.

Reif, J.C., M.L. Warburton, X. C. Xia, D.A. Hoisington, J. Crossa et al. 2006. Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 113: 177-185.

#### Rendon 2011. CONABIO

Reynolds, J., B.S. Weir, and C.C. Cockerham. 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767-779.

Rice E., Smale M. and Blanco J.L. 1998. Farmers' use of improved seed selection practices in Mexican maize: Evidence and issues from the Sierra de Santa Marta. *World Development* 26(9): 1625-1640.

Rodríguez A., Narvaez G., Romero J., Solano B., Anaya F., Dillanes N., Santos J. y Hernández A. 1989. Caracterización de la producción agrícola de la región Costa de Oaxaca. Universidad Autónoma de Chapingo. 425 p.

- Ruiz, J. y M.E. Silva. 1999. Zonificación agroecológica del maíz de temporal en los Valles Centrales de Oaxaca II. Determinación de las prácticas de producción adecuadas. *Terra*. Vol.17. Núm. 4.
- Sánchez, G. J. J., Goodman M. M., y C. M. Stuber. 2000. Isozymatic and Morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany*, 54:1 43-59.
- Slatkin M y N.H. Barton. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43:1349-1368.
- Smale M., Aguirre A., Bellon, M., Mendoza, J. y I. R., Manuel. 1999. Farmer management of maize diversity in the Central Valeys of Oaxaca, México. CIMMYT Economics Working Paper México, D. F: CIMMYT. 99-09. 27 pp.
- Sokal R. and Rohlf F.J. 1995. *Biometry*, 3<sup>rd</sup> ed. New York, W.H. Freeman
- Solomon K.F., I. Martin and A. Zeppa. 2010. Temporal genetic structure patterns in tropical maize populations under reciprocal recurrent selection. *Euphytica*, 176:239-249.
- Ventura-Aquino Y., Rendón B., Rebollar S. and Hernández G. 2008. Use and conservation of forest resources in the municipality of San Agustín Loxicha, Sierra Madre del Sur, Oaxaca, Mexico. *Agroforestry Systems*, 2008, Volume 73, Number 3, Pages 167-180
- Vigouroux Y., S. Mitchell, Y. Matsuoka, M. Hamblin, S. Kresovich, J. S.C. Smith, J. Jaqueth, O.S. Smith and J. Doebley. 2005. An Analysis of Genetic Diversity Across the Maize Genome Using Microsatellites. *Genetics* 169: 1617-1630.

- Vigouroux Y., Glaubitz J.C., Matsuoka Y., Goodman M.M., Sánchez J., and Doebley J. 2008. Population structure and genetic diversity of New World maize races assessed by DNA microsatellites. *American Journal of Botany* 95(10): 1240-1253.
- Weir, B.S. and C.C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6): 1358-1370.
- Wellhausen, E.J.; L.M, Roberts. y E. Hernández X. 1951. Razas de maíz en México, su origen, características y distribución. Folleto técnico No. 5. Oficina de estudios especiales, Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D.F. 223 pp.
- Wolfe, A.D. 2000. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~awolfe/ISSR/ISSR.html>
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics*, 28:114-138.
- Yeh F.C., R. Yang y T. Boyle. 1997. POPGENE versión 3.2 Ag/For Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta and Center for International Forestry Research.
- Yupit E., Latournerie L., Arias L.M. y Chávez J.L. 2004. Sistemas de almacenamiento de semillas de los cultivos de la milpa y sus plagas en Yaxcabá, Yucatán. En: Chávez-Servia, J.L., J. Tuxill y D.I. Jarvis (eds). 2004. Manejo de la diversidad de los cultivos en los agroecosistemas tradicionales. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali, Colombia.

**ANEXO I**

Formato de encuesta que se aplicó a los agricultores de las comunidades de la región Loxicha.

Nombre: \_\_\_\_\_ Localidad \_\_\_\_\_  
 Variedad \_\_\_\_\_ N° Milpa \_\_\_\_\_ Tipo de vegetación: \_\_\_\_\_  
 Coordenadas: \_\_\_\_\_ Altitud: \_\_\_\_\_

Lo que sembró en este año 2007

Nombre Variedad (sembradas)	Nombre Zapoteco	Criolla hibrido	Usos (comestible, forraje, mágico-religioso)	Procedencia (ciclo anterior, intercambio, comprada) ¿dónde?	Periodicidad (cuando fue la última vez que la sembró)	Terreno destinado (ha)

Existe alguna variedad que prefieran sembrar sola. \_\_\_\_\_ ¿Por qué?

¿Qué características son importantes para seleccionar la mazorca?

¿Qué características son importantes para seleccionar la semilla?

¿Amacena la semilla o la mazorca?

¿Utilizan alguna sustancia para almacenar? \_\_\_\_\_ ¿utiliza algún sitio? \_\_\_\_\_

¿Qué otras plantas siembra o deja crecer en la milpa? \_\_\_\_\_

Ha observado mazorcas con características de dos variedades \_\_\_\_\_ Usted ha hecho estas mezclas \_\_\_\_\_

Variedades \_\_\_\_\_ Y si no, ¿por qué no lo hace? \_\_\_\_\_

---

## ANEXO II

### PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN PARA HOJAS DE MAÍZ

1. Macerar suavemente en el mortero frío un fragmento de hoja de aproximadamente 100 mg con 1 ml de CTAB 2X, en la campana de extracción.
2. Incubar a 55 °C por 5 min.
3. Mezclar por inversión e incubar 5 min a temperatura ambiente.
4. Incubar 5 Min en hielo.
5. Agregar 20 µl de RNAsa, mezclar por inversión e incubar por 20 Min a 37 °C. Durante la incubación invertir los tubos dos o tres veces.
6. Agregar 10 µl de proteinasa K, mezclar por inversión e incubar a 60 °C por 20 Min. Durante la incubación invertir los tubos dos o tres veces.
7. Incubar 5 Min en hielo.
8. Agregar 600 µl de fenol: cloroformo: isoamílico
9. Agitar por inversión. No se obtiene un homogeneizado total debido a que las diferentes fases se separan fácilmente, basta con que en el momento de mezclar se vea la unión de fases.
10. Centrifugar a 10000 Rpm a 8°C, por 12 Min.
11. Recuperar con cuidado 200 µl del sobrenadante y ponerlo en un tubo nuevo. Es importante no acarrear parte del material que se encuentra dividiendo las dos fases, solamente el sobrenadante transparente. Si el sobrenadante se encuentra turbio, será necesario repetir los pasos del 7 al 10.
12. Agregar 50 µl de acetato de amonio 10M y mezclar por inversión varias veces.
13. Agregar 500 µl de isopropanol que se encuentra a -20 °C y mezclar por inversión varias veces.
14. Dejar que el ADN se precipite a -20 °C durante 2 hrs.
15. Centrifugar a 10600 Rpm a 8°C, por 5 Min.
16. Eliminar el sobrenadante.
17. Agregar 1 ml de etanol al 70 % que se encuentra a -20 °C.
18. Mezclar por inversión y dejar reposar 5 Min a temperatura ambiente.
19. Centrifugar a 10000 Rpm a 8 °C, por 5 Min.
20. Eliminar el sobrenadante teniendo cuidado de que no se deseche el botón que contiene al ADN.
21. Colocar los microtubos abierto boca abajo todo un día para que se evaporen los restos de etanol.
22. Revisar que el botón de ADN se encuentra completamente seco.
23. Rehidratar el ADN en 100 µl de agua inyectable.

## ANEXO III

Matriz de distancias geográficas arriba de la diagonal y distancias genéticas debajo de la diagonal

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	P7	P8	P9	P10	P11
C1	***	7.87	4.18	19.08	19.15	19.02	11.56	12.11	19.75	18.96	18.87
C2	0.039	***	10.77	11.38	11.46	11.60	6.32	6.73	12.11	11.36	11.24
C3	0.042	0.017	***	22.14	22.22	22.34	15.45	15.99	22.88	22.13	22.01
C4	0.037	0.020	0.021	***	0.14	2.02	9.45	9.08	0.91	0.85	0.71
C5	0.039	0.028	0.027	0.015	***	1.92	9.46	9.08	0.79	0.75	0.63
C6	0.044	0.034	0.045	0.033	0.029	***	8.54	8.09	1.61	1.18	1.34
P7	0.078	0.092	0.095	0.085	0.068	0.060	***	0.55	9.78	8.96	8.95
P8	0.087	0.108	<b>0.116</b>	0.103	0.089	0.074	0.046	***	9.37	8.56	8.55
P9	0.071	0.075	0.078	0.075	0.058	0.067	0.030	0.062	***	0.83	0.89
P10	0.064	0.071	0.078	0.060	0.045	0.043	0.027	0.061	0.039	***	0.19
P11	0.071	0.076	0.083	0.083	0.071	0.080	0.061	0.081	0.037	0.045	***
Te12	0.069	0.064	0.080	0.075	0.068	0.057	0.050	0.083	0.049	0.060	0.069
Te13	0.067	0.072	0.090	0.072	0.076	0.078	0.073	0.100	0.078	0.066	0.082
Te14	0.053	0.067	0.075	0.055	0.053	0.056	0.056	0.078	0.063	0.044	0.068
Te15	0.048	0.058	0.069	0.054	0.049	0.051	0.058	0.086	0.064	0.049	0.064
Te16	0.079	0.093	0.102	0.085	0.086	0.080	0.063	0.077	0.060	0.068	0.062
H17	0.067	0.067	0.080	0.063	0.067	0.041	0.065	0.049	0.064	0.059	0.073
H18	0.065	0.061	0.070	0.049	0.050	0.044	0.057	0.067	0.066	0.036	0.076
H19	0.053	0.051	0.058	0.042	0.038	0.039	0.051	0.077	0.065	0.029	0.071
H20	0.064	0.060	0.070	0.047	0.039	0.041	0.052	0.069	0.053	0.028	0.072
H21	0.057	0.049	0.060	0.043	0.051	0.051	0.068	0.079	0.070	0.048	0.067
H22	0.053	0.054	0.067	0.040	0.038	0.031	0.054	0.059	0.065	0.030	0.069
Ta23	0.045	0.047	0.049	0.041	0.044	0.040	0.067	0.088	0.078	0.055	0.072
Ta24	0.044	0.046	0.051	0.045	0.050	0.040	0.066	0.088	0.084	0.054	0.080
Ta25	0.042	0.049	0.052	0.040	0.044	0.047	0.082	0.092	0.079	0.058	0.071
Ta26	0.056	0.058	0.067	0.055	0.053	0.058	0.087	0.102	0.075	0.065	0.066
Ta27	0.044	0.053	0.052	0.043	0.047	0.051	0.069	0.100	0.077	0.053	0.079
Ta28	0.053	0.060	0.073	0.052	0.049	0.054	0.071	0.094	0.071	0.056	0.072

Continuación...

	Tep12	Tep13	Tep14	Tep15	Tep16	H17	H18	H19	H20	H21	H22
C1	10.36	10.08	10.73	18.37	19.05	17.24	17.25	17.29	17.35	17.26	17.16
C2	12.04	11.70	12.20	10.79	11.42	9.65	9.66	9.66	9.89	9.80	9.58
C3	14.26	14.00	14.65	21.56	22.19	20.42	20.43	20.43	20.63	20.54	20.35
C4	18.76	18.49	18.66	1.22	0.66	2.01	1.99	1.85	2.32	2.40	2.08
C5	18.75	18.49	18.65	1.18	0.55	2.03	2.02	1.89	2.31	2.39	2.10



<b>C6</b>	17.62	17.38	17.49	1.19	1.37	2.12	2.11	2.26	1.71	1.80	2.17
<b>P7</b>	9.36	9.08	9.30	8.36	9.12	7.46	7.47	7.66	7.19	7.10	7.39
<b>P8</b>	9.69	9.42	9.61	7.96	8.72	7.10	7.11	7.32	6.79	6.71	7.03
<b>P9</b>	19.00	18.75	18.89	1.44	0.71	2.52	2.51	2.46	2.59	2.68	2.60
<b>P10</b>	18.20	17.95	18.09	0.61	0.21	1.72	1.71	1.70	1.77	1.86	1.80
<b>P11</b>	18.21	17.95	18.10	0.59	0.18	1.63	1.62	1.58	1.76	1.84	1.71
<b>Te12</b>	***	0.35	0.42	17.62	18.38	16.78	16.80	17.00	16.45	16.37	16.72
<b>Te13</b>	0.041	***	0.65	17.36	18.12	16.52	16.53	16.73	16.20	16.11	16.45
<b>Te14</b>	0.045	0.031	***	17.51	18.27	16.70	16.71	16.92	16.35	16.27	16.63
<b>Te15</b>	0.040	0.051	0.031	***	0.76	1.14	1.14	1.18	1.17	1.26	1.21
<b>Te16</b>	0.048	0.053	0.045	0.036	***	1.82	1.80	1.76	1.93	2.02	1.89
<b>H17</b>	0.064	0.081	0.060	0.062	0.064	***	<b>0.02</b>	0.30	0.73	0.74	0.07
<b>H18</b>	0.058	0.063	0.046	0.054	0.063	0.032	***	0.29	0.74	0.75	0.09
<b>H19</b>	0.053	0.050	0.033	0.031	0.064	0.044	0.028	***	1.02	1.04	0.34
<b>H20</b>	0.056	0.053	0.033	0.039	0.062	0.041	0.032	0.020	***	0.09	0.73
<b>H21</b>	0.062	0.049	0.039	0.046	0.054	0.035	0.033	0.030	0.026	***	0.73
<b>H22</b>	0.055	0.054	0.036	0.038	0.061	0.031	0.024	0.013	0.016	0.021	***
<b>Ta23</b>	0.049	0.057	0.036	0.029	0.053	0.055	0.048	0.030	0.040	0.035	0.035
<b>Ta24</b>	0.059	0.075	0.051	0.039	0.071	0.058	0.056	0.028	0.051	0.043	0.040
<b>Ta25</b>	0.065	0.068	0.038	0.040	0.065	0.059	0.059	0.036	0.041	0.038	0.039
<b>Ta26</b>	0.049	0.058	0.045	0.046	0.069	0.064	0.059	0.041	0.045	0.042	0.040
<b>Ta27</b>	0.063	0.052	0.033	0.038	0.065	0.067	0.050	0.026	0.040	0.036	0.040
<b>Ta28</b>	0.047	0.057	0.040	0.035	0.061	0.061	0.052	0.032	0.036	0.041	0.035

## Continuación

	<b>Tab23</b>	<b>Tab24</b>	<b>Tab25</b>	<b>Tab26</b>	<b>Tab27</b>	<b>Tab28</b>
<b>C1</b>	10.10	7.23	7.99	7.98	7.68	9.89
<b>C2</b>	10.81	15.10	15.86	15.85	15.40	9.85
<b>C3</b>	8.14	6.08	6.54	6.54	7.52	8.42
<b>C4</b>	20.29	26.23	27.03	27.01	26.25	19.14
<b>C5</b>	20.40	26.30	27.09	27.08	26.31	19.25
<b>C6</b>	21.21	26.04	26.85	26.83	25.91	20.08
<b>P7</b>	17.09	18.09	18.92	18.90	17.71	16.16
<b>P8</b>	17.53	18.64	19.47	19.45	18.24	16.59
<b>P9</b>	21.17	26.87	<b>27.67</b>	27.65	26.83	20.02
<b>P10</b>	20.59	26.06	26.87	26.85	26.02	19.45
<b>P11</b>	20.43	25.98	26.78	26.76	25.95	19.29
<b>Te12</b>	19.94	13.40	14.15	14.13	12.10	19.45
<b>Te13</b>	19.62	13.27	14.03	14.01	12.01	19.13
<b>Te14</b>	20.26	13.82	14.57	14.54	12.51	19.76

---

<b>Te15</b>	20.15	25.46	26.27	26.25	25.41	19.02
<b>Te16</b>	20.57	26.16	26.96	26.95	26.13	19.43
<b>H17</b>	19.09	24.34	25.15	25.13	24.32	17.96
<b>H18</b>	19.10	24.36	25.16	25.14	24.33	17.97
<b>H19</b>	18.98	24.42	25.22	25.20	24.41	17.85
<b>H20</b>	19.56	24.40	25.21	25.20	24.32	18.44
<b>H21</b>	19.50	24.31	25.12	25.11	24.23	18.38
<b>H22</b>	19.04	24.27	25.07	25.06	24.24	17.91
<b>Ta23</b>	***	14.13	14.47	14.48	15.66	1.16
<b>Ta24</b>	0.015	***	0.83	0.81	1.97	14.48
<b>Ta25</b>	<b>0.012</b>	0.018	***	0.03	2.37	14.88
<b>Ta26</b>	0.027	0.036	0.021	***	2.35	14.89
<b>Ta27</b>	0.021	0.025	0.020	0.027	***	15.92
<b>Ta28</b>	0.019	0.026	0.019	0.021	0.028	***

---