

DIVERSIDAD GENÉTICA DE MAÍCES NATIVOS DEL NORTE DE MÉXICO ANALIZADA MEDIANTE MICROSATÉLITES

GENETIC DIVERSITY OF MAIZE LANDRACES OF NORTHERN MEXICO ANALYZED THROUGH MICROSATELITES

Vanessa **Herrera-Saucedo**¹, Amalio **Santacruz-Varela**^{2*}, Mario **Rocandio-Rodríguez**³, Leobigildo **Córdova-Téllez**²,
Yolanda R. **Moreno-Ramírez**³, César Á. **Hernández-Galeno**⁴

¹CIAD-Cuauhtémoc, Avenida Río Conchos s/n, Parque Industrial. 31570. Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México. ²Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (asvarela@colpos.mx) ³Instituto de Ecología Aplicada, Universidad Autónoma de Tamaulipas, División de Golfo 356, Colonia Libertad, 87019. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. ⁴INIFAP-Campo Experimental Iguala Carretera Iguala-Tuxpan Km 2.5. 40000, Iguala de la Independencia, Guerrero, México.

RESUMEN

Los criterios predominantes para definir e identificar razas del complejo genético de *Zea mays* L. se basan en atributos morfológicos, agronómicos y de distribución geográfica. En algunas ocasiones estos presentan inconsistencias de la auténtica identidad genética de las poblaciones. Los métodos moleculares pueden revelar detalladamente la identidad y variabilidad de individuos y poblaciones mediante las huellas genéticas, por lo que su aplicación en la identificación y caracterización de razas confiere ventajas. El objetivo del presente estudio fue determinar la diversidad genética de maíces nativos del norte de México mediante microsatélites. La diversidad, el perfil alélico y la estructura genética de ocho razas de maíz nativas del norte de México (Apachito, Azul, Cónico Norteño, Cristalino de Chihuahua, Gordo, Palomero de Chihuahua, Ratón y Tuxpeño Norteño) y una de teocintle (*Zea mays* ssp. *parviglumis* Iltis y Doebley)) se determinó con análisis de microsatélites (SSR). Veinticinco individuos de 63 recolectas, de las razas señaladas, se evaluaron mediante 31 *loci* de SSR. Los parámetros de diversidad genética estimados fueron número total de alelos, número de alelos por locus, proporción de *loci* polimórficos, heterocigosidad esperada y estructura genética de las poblaciones por medio de los estadísticos F de Wright. La distribución de la diversidad se determinó mediante análisis de coordenadas principales y de conglomerados. En total se encontraron 570 alelos, con promedio de 18.3 por locus y 87.9 % de *loci* polimórficos. El 75.6 % de la diversidad genética reside dentro de las poblaciones de las razas de maíz cultivadas en el norte de México y el restante 24.4 % entre las mismas. Los marcadores moleculares agruparon a las colectas en razas de una forma concordante solo de manera parcial con respecto a la clasificación tradicional.

ABSTRACT

The predominant criteria for defining and identifying races of the genetic complex of *Zea mays* L. are based on morphological and agronomic attributes along with geographic distribution. In some occasions these present inconsistencies with respect to the authentic genetic identity of the populations. The molecular methods can reveal in detail the identity and variability of individuals and populations through genetic footprints, thus their application in the identification and characterization of races offers advantages. The objective of the present study was to determine the genetic diversity of maize landraces of northern Mexico through microsatellites. The diversity, allelic profile and genetic structure of eight maize landraces of northern Mexico (Apachito, Azul, Cónico Norteño, Cristalino de Chihuahua, Ratón and Tuxpeño Norteño) and one of teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis* Iltis and Doebley)) were determined by means of analysis of microsatellites (SSR). Twenty-five individuals of 63 accessions of the abovementioned races were evaluated using 31 *loci* of SSR. The parameters of genetic diversity estimated were total number of alleles, number of alleles per *locus*, proportion of polymorphic *loci*, expected heterozygosity and genetic structure of the populations using the Wright's F-statistics. The distribution of diversity was determined through principal coordinates and cluster analyses. In total 570 alleles were found, with an average of 18.3 per locus and 87.9 % of polymorphic *loci*. A 75.6 % of the genetic diversity resides within the populations of the maize races cultivated in northern Mexico and the remaining 24.4 % among populations of these races. The molecular markers grouped the accessions in races in a form that was only partially concordant with respect to the traditional classification.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: abril, 2018. Aprobado: agosto, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en **Agrociencia** 53: 535-548. 2019.

Key words: *Zea mays* L., genetic diversity, germplasm, maize landrace, phylogenetic resources.

Palabras clave: *Zea mays* L., diversidad genética, germoplasma, maíz nativo, recursos fitogenéticos.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays*) se originó en Mesoamérica a partir del teocintle (*Zea mays* ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley) y de ahí se dispersó al resto del continente por varias rutas (Matsuoka *et al.*, 2002; Kato *et al.*, 2009). Según Ortega *et al.* (2013), la dispersión del maíz sucedió en cinco corredores, dos hacia el sur y tres hacia el norte; en este estudio se examinan las razas de los corredores del oriente y de la Mesa Central-Mesa del Norte. La vertiente del oriente se presentó a través de la costa del Golfo de México y tomó como eje al complejo de maíz Tuxpeño, que en su ruta por territorio del norte de México originó las razas Cónico Norteño y Ratón en los estados de Coahuila, Nuevo León y Chihuahua; este complejo alcanzó el medio oeste de EUA y es un componente de los maíces de la Faja Maicera de EE.UU. a través de la raza Southern Dents (Doebley *et al.*, 1988). En el caso del corredor de la Mesa Central-Mesa del Norte, el complejo germoplásmico base fue el Grupo Cónico, también llamado Complejo Piramidal, representado en la zona norte por las razas Cónico Norteño y Palomero de Chihuahua y las razas del Grupo de la Sierra de Chihuahua donde se incluyen razas como Azul, Cristalino de Chihuahua y Gordo (Ortega *et al.*, 2013). Los maíces mexicanos de este corredor de altura dieron origen a los maíces del suroeste de EUA. (da Fonseca *et al.*, 2015). A pesar de su importancia histórica en la dispersión y evolución de esta especie, la caracterización molecular de los maíces del norte de México es limitada. Sánchez *et al.* (2000) analizaron con isoenzimas 54 razas de maíz de México, incluidas las razas del norte. Reif *et al.* (2006) analizaron con microsatélites una población de cada raza descrita por Wellhausen *et al.* (1952) y no incluyó las razas del Grupo de la Sierra de Chihuahua que describieron más tarde Hernández y Alanís (1970). En esos estudios se analizaron pocas poblaciones e individuos por población.

México posee gran diversidad morfológica y genética de poblaciones de maíz, adaptadas a condiciones ambientales y sistemas agrícolas diversos (Orozco-Ramírez *et al.*, 2017). Múltiples factores han incidido en la reducción de la diversidad de razas nativas de maíz; por lo tanto, parece necesario consolidar

INTRODUCTION

Maize (*Zea mays*) originated in Mesoamerica from teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley) and from there was spread to the rest of the continent through various routes (Matsuoka *et al.*, 2002; Kato *et al.*, 2009). According to Ortega *et al.* (2013), the dispersal of maize occurred through five corridors, two toward the South and three toward the North; in this study the races of the eastern corridor and of the Central-Northern Plateau are examined. The eastern corridor was along the coast of the Gulf of Mexico and its essence was the Tuxpeño maize complex, which in its route through northern Mexico gave origin to the races Cónico Norteño and Ratón in the states of Coahuila, Nuevo León and Chihuahua; this complex reached the Midwest of the U.S., and it is a component of the race Southern Dents (Doebley *et al.*, 1988). In the case of the corridor of the Central-Northern Plateau, the base germplasm complex was the Cónico Group, also known as Pyramidal Complex, represented in the northern zone by the races Cónico Norteño and Palomero de Chihuahua and the races of the Sierra de Chihuahua Group which includes races such as Azul, Cristalino de Chihuahua and Gordo (Ortega *et al.*, 2013). The Mexican maizes of this corridor of highlands gave origin to the maizes of the Southwest of the U.S. (da Fonseca *et al.*, 2015). Despite their historic importance in the dispersal and evolution of this species, the molecular characterization of the maizes of northern Mexico is limited. Sánchez *et al.* (2000) analyzed with isozymes Mexican maize races, including the races of the North. Reif *et al.* (2006) analyzed with microsatellites a population of each race described by Wellhausen *et al.* (1952) and did not include the races of the Sierra de Chihuahua Group which was later described by Hernández and Alanís (1970). In those studies, few populations and individuals per population were analyzed.

Mexico has great morphological and genetic diversity of maize populations, adapted to diverse environmental conditions and agricultural systems (Orozco-Ramírez *et al.*, 2017). Multiple factors have played a role in the reduction of the diversity of maize landraces; therefore, it appears to be necessary to consolidate programs on their multiplication and conservation. The characterization and differentiation of the races and precision of their

programas de multiplicación y conservación de maíces nativos. La caracterización y diferenciación las razas y precisar su distribución geográfica son necesarias para considerar a las razas como unidades de conservación. El objetivo de este estudio fue determinar la diversidad genética de recolectas de maíz nativo de ocho razas del norte de México, mediante marcadores moleculares microsatélites, y la estructura poblacional y el grado de diferenciación genética dentro y entre las poblaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

Los análisis genéticos se realizaron en 2010 y 2011, en el laboratorio de marcadores moleculares del Programa de Genética en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Sesenta y dos recolectas representativas de ocho razas de maíz, originarias de ocho estados del norte de México se analizaron (Cuadro 1). Las recolectas procedieron del banco de germoplasma del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, se incrementaron mediante cruza fraternal y su identidad se confirmó en campo por expertos clasificadores; además, una población de teocintle raza Balsas (*Zea mays* ssp. *parviglumis* Ilitis y Doebley), procedente de Huetamo, Michoacán, México, se incluyó como grupo externo en los análisis filogenéticos.

Análisis de microsatélites

Veinticinco individuos se analizaron por recolecta. La extracción de ADN genómico se realizó con el kit de extracción ChargeSwitch[®] gDNA Plant (Invitrogen) y un robot de extracción (King Fisher Flex[®], Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). La concentración y calidad de ADN se determinaron a 260 y 280 nm con un espectrofotómetro de ultra-bajo volumen (NanoDrop 2000, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

La amplificación de los fragmentos se realizó en 31 *loci* de microsatélites con iniciadores marcados en el extremo 5' con etiquetas fluorescentes (*phi127:NED*; *phi051:6-FAM*; *phi115:HEX*; *phi015:HEX*; *phi033:6-FAM*; *phi053:NED*; *phi072:6-FAM*; *phi093:NED*; *phi024:HEX*; *phi085:6-FAM*; *phi034:HEX*; *phi121:6-FAM*; *phi056:NED*; *phi064:HEX*; *phi050:NED*; *phi96100:6-FAM*; *phi101249:6-FAM*; *phi109188:HEX*; *phi029:NED*; *phi073:HEX*; *phi96342:6-FAM*; *phi109275:6-FAM*; *phi427913:NED*; *phi265454:6-FAM*; *phi402893:HEX*; *phi346482:HEX*; *phi308090:6-FAM*; *phi330507:NED*; *phi3398:6-FAM*; *phi339017:HEX* y *phi159819:6-FAM*), distribuidos en los 10 cromosomas de maíz y cuya secuencia se

geographic distribution are necessary to consider the races as conservation units. The objective of the present study was to determine the genetic diversity of landrace maize accessions of eight races of northern Mexico, through microsatellites molecular markers, and the populational structure and degree of genetic differentiation within and among populations.

MATERIALS AND METHODS

Genetic material

The genetic analyses were made in 2010 and 2011, in the Molecular Markers Laboratory of the Genetics Program, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Sixty-two representative accessions of eight maize races, from eight states of northern Mexico, were analyzed (Table 1). The accessions came from the germplasm bank of the Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (International Maize and Wheat Improvement Center, CIMMYT), and were increased by means of sib-mating; their identity was confirmed in the field by expert classifiers. In addition, a population of teosinte, Balsas race (*Zea mays* ssp. *parviglumis* Iltris and Doebley) from Heramo, Michoacán, Mexico, was included as external group in the phylogenetic analyses.

Analysis of microsatellites

Twenty-five individuals were analyzed per accession. The extraction of genomic DNA was performed with the extraction kit ChargeSwitch gDNA Plant (Invitrogen) and an extraction robot (King Fisher Flex, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). The concentration and quality of DNA were determined at 260 and 280 nm with an ultra-low volume spectrophotometer (NanoDrop 2000, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

The amplification of the fragments was made in 31 *loci* of microsatellites with primers marked in the 5' end with fluorescent labels (*phi127:NED*; *phi051:6-FAM*; *phi115:HEX*; *phi015:HEX*; *phi033:6-FAM*; *phi053:NED*; *phi072:6-FAM*; *phi093:NED*; *phi024:HEX*; *phi085:6-FAM*; *phi034:HEX*; *phi121:6-FAM*; *phi056:NED*; *phi064:HEX*; *phi0050:NED*; *phi96100:6-FAM*; *phi101249:6-FAM*; *phi109188:HEX*; *phi029:NED*; *phi073:HEX*; *phi96342:6-FAM*; *phi109275:6-FAM*; *phi427913:NED*; *phi265454:6-FAM*; *phi402893:HEX*; *phi346482:HEX*; *phi308090:6-FAM*; *phi330507:NED*; *phi3398:6-FAM*; *phi339017:HEX* and *phi159819:6-FAM*), distributed in the 10 maize chromosomes and whose sequence is found in the data base MaizeGDB (http://www.maizegdb.org/data_center/ssr). The amplification was by multiple PCR, in 25 μ L, with

Cuadro 1. Razas de maíz del norte de México utilizadas en el estudio de análisis genético.**Table 1.** Maize races of northern Mexico utilized in the study of genetic analysis.

Raza	Clave de identificación [†]	Lat. N	Long. O	Altitud (m)	Color de la mazorca	Año de recolecta
Apachito	CHIH-166	27.6	107.4	2400	Rosa	1969
Apachito	CHIH-181	27.5	107.4	2310	Amarillo-Rosa	1969
Apachito	CHIH-292	SR	SR	SR	Blanco	1975
Apachito	CHIH-38	27.5	107.3	1800	Amarillo	1944
Apachito	CHIH-183	27.5	107.4	2310	Amarillo-Blanco	1969
Apachito	CHIH-207	26.5	107.0	2510	Blanco	1969
Azul	CHIH-218	28.5	107.5	1964	Azul	1969
Azul	CHIH-220	28.6	107.5	1900	Azul	1969
Cónico Norteño	ZACA-150	22.5	103.1	1800	Blanco-Rojo	1963
Cónico Norteño	CHIH-7	28.3	106.5	2210	Amarillo-Café	1943
Cónico Norteño	DGO-16	25.0	105.2	2200	Amarillo	1952
Cónico Norteño	AGS-10	21.6	102.2	2190	Blanco-Amarillo	1944
Cónico Norteño	GTO-142	20.6	100.5	1990	Blanco	1974
Cónico Norteño	ZACA-210	21.4	102.6	1500	Morado	1969
Cónico Norteño	ZACA-119	23.6	103.3	2100	Blanco-Rosa	1963
Cónico Norteño	AGUC-18	21.5	102.2	2050	Cremoso	1952
Cónico Norteño	AGUC-44	22.2	101.6	1900	Blanco	1961
Cónico Norteño	AGS-32	21.5	102.4	1450	Blanco	1952
Cristalino de Chihuahua	CHIH-154	29.2	107.4	2140	Blanco	1969
Cristalino de Chihuahua	CHIH-319	29.2	107.4	2100	Blanco	1975
Cristalino de Chihuahua	CHIH-209	28.3	107.3	2040	Blanco	1969
Cristalino de Chihuahua	CHIH-213	28.3	107.3	2040	Blanco	1969
Cristalino de Chihuahua	CHIH-244	26.0	106.0	1900	Amarillo-Rojo	1969
Cristalino de Chihuahua	CHIH-95	29.1	107.5	2100	Blanco	1954
Cristalino de Chihuahua	CHIH-128	29.1	108.1	2095	Amarillo	1969
Cristalino de Chihuahua	CHIH-254	28.3	107.3	1800	Amarillo	1969
Cristalino de Chihuahua	DURA-176	25.1	106.2	2420	Blanco	1969
Cristalino de Chihuahua	CHIH-132	29.1	108.7	2095	Blanco	1969
Gordo	CHIH-131	29.1	108.1	2095	Blanco	1969
Gordo	CHIH-214	28.3	107.3	2040	Blanco	1969
Gordo	DGO-91	22.4	104.3	800	Blanco-Morado	1968
Palomero de Chihuahua	CHIH-135	29.1	108.1	2095	Blanco	1969
Palomero de Chihuahua	CHIH-150	29.2	107.4	2140	Blanco	1969
Palomero de Chihuahua	CHIH-135	29.1	108.1	2095	Blanco	1969
Palomero de Chihuahua	CHIH-148	29.2	107.4	2140	Blanco	1969
Palomero de Chihuahua	CHIH-150	29.2	107.4	2140	Blanco	1969
Ratón	COAH-25	24.6	101.3	1610	Blanco	1952
Ratón	NVOL-9	25.4	99.2	250	Blanco	1959
Ratón	TAMA-3	23.2	99.0	213	Blanco	1943
Ratón	TAMA-66	26.1	98.6	80	Blanco-Amarillo	SR
Ratón	TAMA-25	23.2	99.0	291	Blanco-Amarillo	1953
Ratón	6437	SR	SR	SR	SR	SR
Ratón	6446	SR	SR	SR	SR	SR
Ratón	6449	SR	SR	SR	SR	SR
Ratón	6452	SR	SR	SR	SR	SR
Ratón	6454	SR	SR	SR	SR	SR
Tuxpeño Norteño	CHIH-108	28.6	107.5	1877	Café	SR
Tuxpeño Norteño	CHIH-71	27.9	105.2	1400	Blanco-Rosa	1952
Tuxpeño Norteño	CHIH-88	26.6	105.2	1400	Blanco	1952
Tuxpeño Norteño	COAH-56	28.3	100.6	400	Blanco-Amarillo	1952
Tuxpeño Norteño	COAH-65	28.3	100.3	400	Amarillo-Rojo	1952

Raza	Clave de identificación [†]	Lat. N	Long. O	Altitud (m)	Color de la mazorca	Año de recolecta
Tuxpeño Norteño	CHIH-116	30.3	107.6	1470	Blanco	1969
Tuxpeño Norteño	CHIH-119	30.4	107.6	1470	Blanco	1969
Tuxpeño Norteño	CHIH-121	30.3	107.6	1470	Blanco	1969
Tuxpeño Norteño	CHIH-13	28.1	105.2	1210	Blanco	1943
Tuxpeño Norteño	CHIH-63	27.7	105.2	1400	Blanco	1952
Tuxpeño Norteño	CHIH-67	28.2	105.3	1400	Blanco	1952
Tuxpeño Norteño	CHIH-86	27.2	105.1	1400	Blanco	1952
Tuxpeño Norteño	COAH-49	27.5	101.3	700	Rojo-Blanco	1952
Tuxpeño Norteño	COAH-52	27.5	101.3	700	Blanco	1952
Tuxpeño Norteño	COAH-64	28.1	100.4	400	Blanco	1952
Tuxpeño Norteño	COAH-21	25.3	102.1	1400	Blanco	1952

[†]Las letras antes del número corresponden al estado de origen, CHIH: Chihuahua; AGS o AGUC: Aguascalientes; COAH: Coahuila; DGO o DURA: Durango; GTO: Guanajuato; NVOL: Nuevo León; TAMA: Tamaulipas; ZACA: Zacatecas; SR: Sin registro. ♦ Letters before the number correspond to the state of origin, CHIH: Chihuahua; AGS or AGUC: Aguascalientes; COAH: Coahuila; DGO or DURA: Durango; GTO: Guanajuato; NVOL: Nuevo León; TAMA: Tamaulipas; ZACA: Zacatecas; SR: Not registered.

encuentra en la base de datos MaizeGDB (http://www.maizegdb.org/data_center/ssr). La amplificación fue por PCR múltiple, en 25 µL, con 10 mM de nucleótidos, 25 mM de MgCl₂, 5X amortiguador, 20 ng de ADN molde, una unidad de *Taq* ADN polimerasa y 4 pmol de cada iniciador. El protocolo para la reacción de PCR incluyó 4 min de desnaturalización inicial a 95 °C, 25 ciclos de 1 min a 95 °C (desnaturalización), 2 min a 55 °C (alineación), 2 min a 72 °C (extensión) y extensión final de 60 min a 72 °C.

Los productos de PCR se separaron por electroforesis capilar en un secuenciador de ADN (Genetic Analyzer ABI 3130[®], Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) con las etiquetas fluorescentes de los iniciadores y fluoróforo LIZ-500 como marcador estándar interno. Los alelos se registraron en cada individuo para cada locus y su tamaño se determinó con el programa GeneMapper[®] V. 4.0 (Applied Biosystems, 2005) y se generó el perfil alélico de las poblaciones, que fue la base para el análisis estadístico.

Análisis estadístico

Los parámetros de diversidad genética correspondientes a número de alelos por *locus*, porcentaje de *loci* polimórficos e índice de heterocigosidad esperada se obtuvieron del perfil alélico con el programa POPGENE, V. 1.31 (Yeh *et al.*, 1999).

Los patrones de similitud entre las poblaciones se identificaron a través del análisis de coordenadas principales (ACoP), mediante distancias genéticas de Nei, con el programa GenAlex V.6.5 (Peakall y Smouse, 2012). La estructura genética de las poblaciones por raza se estimó mediante análisis de conglomerado Bayesiano, con el programa STRUCTURE V.2.3. (Pritchard *et*

10 mM of nucleotides, 25 mM of MgCl₂, 5X buffer, 20 ng of template DNA, one unit of *Taq* DNA polymerase and 4 pmol of each primer. The protocol for the reaction of PCR included 4 min of initial denaturalization at 95 °C, 25 cycles of 1 min at 95 °C (denaturalization), 2 min at 55 °C (alignment), 2 min at 72 °C (extension) and final extension of 60 min at 72 °C.

The PCR products were separated by capillary electrophoresis in a DNA sequencer (Genetic Analyzer ABI 3130[®], Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) with the fluorescent labels of the primers and fluorophore LIZ-500 as internal standard marker. The alleles were registered in each individual for each locus and their size was determined with the program Genemapper[®] V. 4.0 (Applied Biosystems, 20005) and the allelic profile of the populations was generated, which was the base for the statistical analysis.

Statistical analysis

The parameters of genetic diversity number of alleles per *locus*, percentage of polymorphic *loci* and expected heterozygosity index were obtained from the allelic profile, which was analyzed with the program POPGENE, V. 1.31 (Yeh *et al.*, 1999).

The patterns of similitude among the populations were identified through the analysis of principal coordinates (ACoP), by means of genetic distances of Nei, with the program GenAlex V. 6.5 (Peakall and Smouse, 2012). The genetic structure of the populations by race was estimated through Bayesian cluster analysis with the program STRUCTURE V.2.3. (Pritchard *et al.*, 2000). The parameters were established in a period of 100 000 replications, followed by 1 000 000 iterations of Markov Chain Monte Carlo (MCMC) per analysis, and the additive model and

et al., 2000). Los parámetros se establecieron en un periodo de 100 000 repeticiones, seguido de 1 000 000 iteraciones de Cadenas Markov Monte Carlo (MCMC) por análisis y se consideraron el modelo aditivo y la correlación de alelos. El número de agrupaciones poblacionales (K) se valoró de 1 a 15, con 15 simulaciones independientes por cada valor de K con el programa STRUCTURE HARVESTER V. 6.94 (Earl y vonHoldt, 2012). Con el método de Evanno *et al.* (2005) se detectó el valor probabilístico mayor de ΔK , el cual permitió definir el número óptimo de agrupaciones poblacionales. La visualización del agrupamiento se hizo con el programa DISTRUCT V.1.1 (Rosenberg, 2004).

El análisis filogenético entre poblaciones se realizó con las frecuencias de los alelos con el método Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987) y la matriz de distancias genéticas modificadas de Rogers mediante el programa NTSYSpc V. 2.1 (Rohlf, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversidad genética

En los 31 *loci* analizados se detectaron 570 alelos, que correspondieron a 18.38 alelos por *locus* en promedio (Cuadro 2). Estos resultados contrastaron con los de Pineda-Hidalgo *et al.* (2013), quienes reconocieron 121 alelos en 396 individuos, de poblaciones de maíz nativo de Sinaloa, México, analizados con 20 microsatélites. Los resultados también difirieron de los 224 alelos, con un promedio de 9.32 alelos por *locus*, con 25 marcadores SSR, registrados por

correlation of alleles were considered. The number of populational groupings (K) was valued from 1 to 15, with 15 independent simulations for each value of K with the program STRUCTURE HARVESTER V. 6.94 (Earl and vonHoldt, 2012). The method of Evanno *et al.* (2005) was employed to detect the highest probabilistic value of ΔK , which made it possible to define the optimum number of populational groupings. The visualization of the grouping was made with the program DISTRUCT .1.1 (Rosenberg, 2004).

The phylogenetic analysis among populations was made with the frequencies of the alleles with the method Neighbor-Joining (Saitou and Nei, 1987) and the matrix of genetic distances modified by Rogers with the program NTSYSpc V. 2.1 (Rohlf, 2004).

RESULTS AND DISCUSSION

Genetic diversity

In the 31 *loci* analyzed, 570 alleles were detected, which corresponded to an average of 18.38 alleles per *locus* (Table 2). These results contrasted with those of Pineda-Hidalgo *et al.* (2013), who recognized 121 alleles in 396 individuals, of landrace maize populations of Sinaloa, Mexico, analyzed with 20 microsatellites. The results also differed from the 224 alleles, with an average of 9.32 alleles per *locus*, with 25 SSR markers, registered by Ignjatović-Micić *et al.* (2008) in seven maize races of former Yugoslavia. Lia *et al.* (2009) examined the genetic diversity of six

Cuadro 2. Análisis de la diversidad genética de ocho razas de maíz del norte de México y una de teocintle, con base en 31 *loci* de microsatélites.

Table 2. Analysis of genetic diversity of eight maize races from northern Mexico and one of teosinte, based on 31 *loci* of microsatellites.

Raza	Número de recolecta	Número alelos por raza	A/L	% LP	He
Apachito	6	247	8.6	95.6	0.67
Azul	2	77	6.3	82.2	0.69
Cónico Norteño	10	400	11.9	85.1	0.71
Cristalino de Chihuahua	10	341	10.3	73.5	0.69
Gordo	3	111	7.1	81.7	0.67
Palomero de Chihuahua	5	196	7.2	90.9	0.64
Ratón	10	435	11.8	93.2	0.70
Tuxpeño Norteño	16	664	12.5	89.3	0.68
Teocintle	1	38	5.3	100.0	0.64
Total	63	570	—	—	—
Promedio	—	—	18.38	87.99	0.68

A/L: alelos/locus; % LP: porcentaje de *loci* polimórficos; He: heterocigosidad esperada. ♦ A/L: alleles/locus; % LP: percentage of polymorphic *loci*; expected heterozygosity.

Ignjatović-Micić *et al.* (2008) en siete razas de maíz de la ex-Yugoslavia. Lia *et al.* (2009) examinaron la diversidad genética de seis razas nativas de maíz del noroeste de Argentina utilizando 18 marcadores SSR y determinaron 184 alelos en total, con media de 10.2 alelos por *locus*. Bracco *et al.* (2013) analizaron 15 razas de maíz del noreste de Argentina con 15 *loci* de microsatélites, con los que obtuvieron 192 alelos y promedio de 12.8 alelos por *locus*.

Los valores obtenidos en esos estudios son menores a los de nuestra investigación. Esto podría deberse a que la diversidad en el presente estudio corresponde a poblaciones mexicanas, intrínsecamente superiores en diversidad genética. Vigouroux *et al.* (2008) sugirieron lo anterior para las razas mexicanas de tierras altas; además, en los otros estudios usaron menos individuos: Ignjatović-Micić *et al.* (2008) usaron 630, Lia *et al.* (2009) evaluaron 144 y Bracco *et al.* (2013) 467, en contraste con los 1575 de nuestro estudio. Según Allendorf *et al.* (2012), el número total de alelos y el promedio de alelos por *locus* suelen ser sensibles al tamaño de la población analizada.

El porcentaje de *loci* polimórficos promedio entre razas fue 87.99 %. La raza con porcentaje menor de *loci* polimórficos fue Cristalino de Chihuahua, en tanto que las de mayor porcentaje de *loci* polimórficos fueron Ratón y Apachito (Cuadro 2). Valores similares se reportaron en un estudio en maíces de los Valles Altos del centro de México con los mismos marcadores usados en esta investigación (Rocandio-Rodríguez *et al.*, 2014). Estos resultados revelan la diversidad genética de las recolectas y que podría utilizarse en esquemas de conservación *in situ*.

La heterocigosidad esperada (H_e) promedio fue 0.68 (Cuadro 2). Rocandio-Rodríguez *et al.* (2014) encontraron H_e ligeramente superior (0.71) como promedio de siete razas de maíz de los valles altos centrales de México y dos de teocintle, analizadas con los mismos marcadores de este estudio. En contraste, González *et al.* (2013) analizaron con 30 microsatélites un grupo de 20 razas de maíz tropical de México y obtuvieron H_e promedio de 0.57. Esto confirmó lo planteado por da Fonseca *et al.* (2015) respecto a que las razas de maíz de tierras altas de México tienen diversidad genética mayor que sus contrapartes tropicales. Ignjatović-Micić *et al.* (2008) y Lia *et al.* (2009) obtuvieron H_e de 0.502 y 0.571 en maíces de la ex-Yugoslavia y de Argentina, respectivamente. Los resultados también confirmaron que la diversidad

maize landraces of northwest Argentina using 18 SSR markers and determined 184 alleles in total, with a mean of 10.2 alleles per *locus*. Bracco *et al.* (2013) analyzed 15 maize races of northwest Argentina with 15 *loci* of microsatellites, with which 192 alleles were obtained and an average of 12.8 alleles per *locus*.

The values obtained in those studies are lower than those of our investigation. This may be due to the fact that the diversity in the present study corresponds to Mexican populations, intrinsically higher in genetic diversity. Vigouroux *et al.* (2008) suggested the above for the Mexican races of highlands; furthermore, in the other studies they used fewer individuals: Ignjatović-Micić *et al.* (2008) used 639, Lia *et al.* (2009) evaluated 144 and Bracco *et al.* (2013) 467, in contrast to the 1575 of our study. According to Allendorf *et al.* (2012), the total number of alleles and the average of alleles per *locus* tend to be sensitive to the size of the population analyzed.

The average percentage of polymorphic *loci* among races was 87.99 %. The race with the lowest percentage of polymorphic *loci* was Cristalino de Chihuahua, whereas those of highest percentage of polymorphic *loci* were Ratón and Apachito (Table 2). Similar values were reported in a study in maize of the High Valleys of central Mexico with the same markers used in the present investigation (Rocandio-Rodríguez *et al.*, 2014). These results reveal the genetic diversity of the accessions and which could be used for *in situ* conservation plans.

The average expected heterozygosity (H_e) was 0.68 (Table 2). Rocandio-Rodríguez *et al.* (2014) found H_e slightly higher (0.71) as average of seven maize races of the central high valleys of Mexico and two of teosinte, analyzed with the same markers of this study. In contrast, González *et al.* (2013) analyzed with 30 microsatellites a group of 20 races of tropical maize of Mexico and obtained H_e average of 0.57. This confirmed what was postulated by da Fonseca *et al.* (2015) with respect to the fact that the maize races of the highlands of Mexico have higher genetic diversity than their tropical counterparts. Ignjatović-Micić *et al.* (2008) and Lia *et al.* (2009) obtained H_e of 0.502 and 0.571 in maizes of former Yugoslavia and of Argentina, respectively. The results also confirmed that the genetic diversity is wide, and the races Apachito (0.67), Cristalino de Chihuahua (0.69) and Palomero de Chihuahua (0.64) were outstanding because they have decreased *in situ*

genética es amplia, y las razas Apachito (0.67), Cristalino de Chihuahua (0.69) y Palomero de Chihuahua (0.64) sobresalieron porque han disminuido *in situ* por su subvaloración como cultivo (Ortega *et al.*, 2013).

Diferenciación genética

De acuerdo con los valores de los estadísticos F de Wright, las poblaciones de cada raza no se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg principalmente por el fenómeno de deriva genética, como consecuencia del tamaño reducido de las poblaciones y al flujo génico, propiciado por la naturaleza alógama del maíz. El valor general promedio de F_{IS} mostró deficiencia de heterocigotos y en la población de teocintle raza Balsas el desequilibrio fue mayor que en las razas de maíz cultivado. El valor de F_{IS} más cercano a cero (0.074) lo presentó la raza Palomero de Chihuahua. Así, las poblaciones de esta raza tienen la deficiencia de heterocigotos menor; por tanto, son las que más cercanas, de manera independiente, al equilibrio de Hardy-Weinberg, mientras que la raza con deficiencia mayor de heterocigotos es Cristalino de Chihuahua, ya que presentó el F_{IT} mayor (0.507) (Cuadro 3).

La diferenciación genética entre poblaciones dentro de razas, estimada mediante el estadístico F_{ST} , mostró las razas Cristalino de Chihuahua y Gordo con los valores mayores (0.433 y 0.341, respectivamente) y los valores inferiores en las razas Apachito y Ratón (0.153 y 0.198 respectivamente). Estos valores indican que existe diferenciación genética alta. El promedio general de F_{ST} fue 0.244, e implica flujo génico reducido entre las recolectas de cada raza, con 24.4 % de la variación total entre las poblaciones y el 75.6 % restante dentro de ellas. En esta diferenciación genética probablemente está involucrada la distancia geográfica y lo escarpado del terreno de las áreas de procedencia de las recolectas estudiadas. Ortega *et al.* (2013) señalaron que la raza Cónico Norteño es la más cultivada en la región del estudio, con frecuencia cercana a 30 %, desde el occidente hasta el norte y noreste de México; la raza Ratón se cultiva en Chihuahua, Durango, en la llanura costera del Golfo norte y parte de la sierra madre oriental; las razas Apachito, Gordo, Azul y Palomero de Chihuahua se cultivan sólo en Chihuahua.

because of their undervaluation as a crop (Ortega *et al.*, 2013).

Genetic differentiation

According to the values of the Wright's F-statistics, the populations of each race are not in Hardy-Weinberg equilibrium, principally due to the phenomenon of genetic drift, as a consequence of the reduced size of the populations and to genetic flow, caused by the cross-pollinating nature of maize. The average general value of F_{IS} showed a deficiency of heterozygotes and in the Balsas race teosinte population the imbalance was higher than in the races of cultivated maize. The value of F_{IS} closest to zero (0.0074) was found in the race Palomero de Chihuahua. Thus, the populations of this race have the lowest deficiency of heterozygotes; therefore, those are independently closest to the Hardy-Weinberg equilibrium, whereas the race with highest deficiency of heterozygotes is Cristalino de Chihuahua, given that it presented the highest F_{IT} (0.507) (Table 3).

The genetic differentiation among populations within races, estimated using the F_{ST} statistic, showed

Cuadro 3. Estadísticos de F calculados a partir de 31 loci de microsatélites para ocho razas de maíz del norte de México y una de teocintle.

Table 3. F-statistics calculated from 31 loci of microsatellites for eight maize races of northern Mexico and one of teosinte.

Raza	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Teocintle raza Balsas	0.322	0.322	—
Apachito	0.178	0.303	0.153
Azul	0.196	0.423	0.282
Cónico Norteño	0.132	0.369	0.273
Cristalino de Chihuahua	0.132	0.507	0.433
Gordo	0.210	0.479	0.341
Palomero de Chihuahua	0.074	0.309	0.254
Ratón	0.208	0.365	0.198
Tuxpeño Norteño	0.209	0.418	0.264
General	0.185	0.388	0.244

F_{IS} : Endogamia dentro de poblaciones; F_{IT} : endogamia dentro de la población entera; F_{ST} : diferenciación entre poblaciones dentro de razas. ♦ F_{IS} : Endogamy within populations; F_{IT} : endogamy within the whole population; F_{ST} : differentiation among populations within races.

Relación entre razas

El número de agrupaciones probables (K) de la metapoblación constituida por los 1575 individuos analizados, bajo el modelo mixto, se estimó con los métodos de Rosenberg *et al.* (2001) y Evanno *et al.* (2005). Con el método de verosimilitud el valor mayor se obtuvo cuando K se ubicó en 3 (Figura 1) y a partir de este punto los valores de verosimilitud se mantuvieron constantes, por lo cual se consideró a $K=3$ como el valor con mejor ajuste a la estructura de la población. La asignación de los individuos en cada una de las tres agrupaciones fue con probabilidad de pertenencia ≥ 0.8 y esta se fijó para asignar las plantas al grupo identificado por el programa; los individuos con valor < 0.8 se asignaron a un grupo mixto (Vigouroux *et al.*, 2008). Esta agrupación de las recolectas fue similar a la del análisis de coordenadas principales.

El modelo basado en la estructura genética poblacional, analizada mediante el programa *ESTRUCTURE* (Pritchard *et al.*, 2000), mostró que las recolectas procedentes de Chihuahua, de altitudes entre 1800 y 2510 m (color amarillo en la Figura 2A), agruparon a las razas Apachito, Palomero de Chihuahua, Tuxpeño Norteño (accesión CHIH-108) y el teocintle raza Balsas. Estos resultados mostraron la similitud genética entre teocintle y la raza Apachito, y según Hernández y Alanís (1970), ésta podría derivar de la raza Chapalote. Esta es una raza indígena antigua (Wellhausen *et al.*, 1952) y podría ser precursora de razas del complejo Sierra de Chihuahua

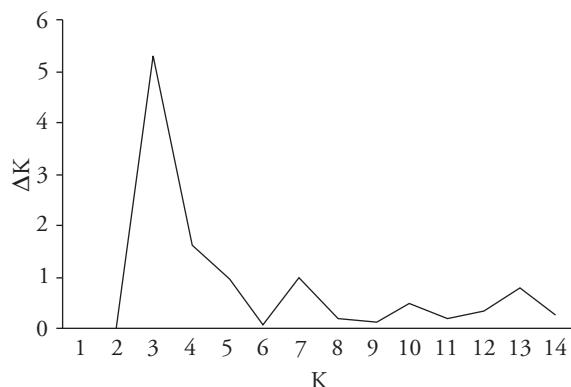


Figura 1. Valores graficados de ΔK ; el pico más alto indica el número probable de grupos genéticos.

Figure 1. Graphed values of ΔK ; the highest peak indicates the probable number of genetic groups.

razas Cristalino de Chihuahua and Gordo with the highest values (0.433 and 0.341, respectively) and the lower values in the races Apachito and Ratón (0.153 and 0.198, respectively). These values indicate that there is high genetic differentiation. The general average of F_{ST} was 0.244, and implies reduced genetic flow among the accessions of each race, with 24.4 % of the total variation among the populations and the other 75.6 % within them. In this genetic differentiation, the geographic distance is probably involved, as well as the steepness of the terrain of the areas of origin of the accessions studied. Ortega *et al.* (2013) indicated that the race Cónico Norteño is the most widely cultivated in the region of the study, frequently close to 30 %, from the West to the North and Northeast of Mexico; the race Ratón is cultivated in Chihuahua, Durango, in the coastal plain of the northern Gulf and part of the Sierra Madre Oriental; the races Apachito, Gordo, Azul and Palomero de Chihuahua are cultivated only in Chihuahua.

Relationship among races

The number of probable groupings (K) of the metapopulation comprised of the 1575 individuals analyzed, under the mixed model, was estimated with the methods of Rosenberg *et al.* (2001) and Evanno *et al.* (2005). With the likelihood method, the highest value was obtained when K was located in 3 (Figure 1) and from this point the values of likelihood remained constant, thus $K=3$ was considered as the value with best fit to the structure of the population. The assignment of the individuals in each one of the three groupings was with probability of belonging ≥ 0.8 this was fixed to assign the plants of the group identified by the program; the individuals with value < 0.8 were assigned to a mixed group (Vigouroux *et al.*, 2008). This grouping of the accessions was similar to that of the analysis of principal coordinates.

The model based on the populational genetic structure, analyzed using the program *ESTRUCTURE* (Pritchard *et al.*, 2000), showed that the collections from Chihuahua, of altitudes between 1800 and 2510 m (colored yellow in Figure 2A), grouped the races Apachito, Palomero de Chihuahua, Tuxpeño Norteño (accession CHIH-108) and the teosintle Balsas race. These results showed the genetic similitude between teosintle and the Apachito race. According to Hernández and Alanís (1970), this

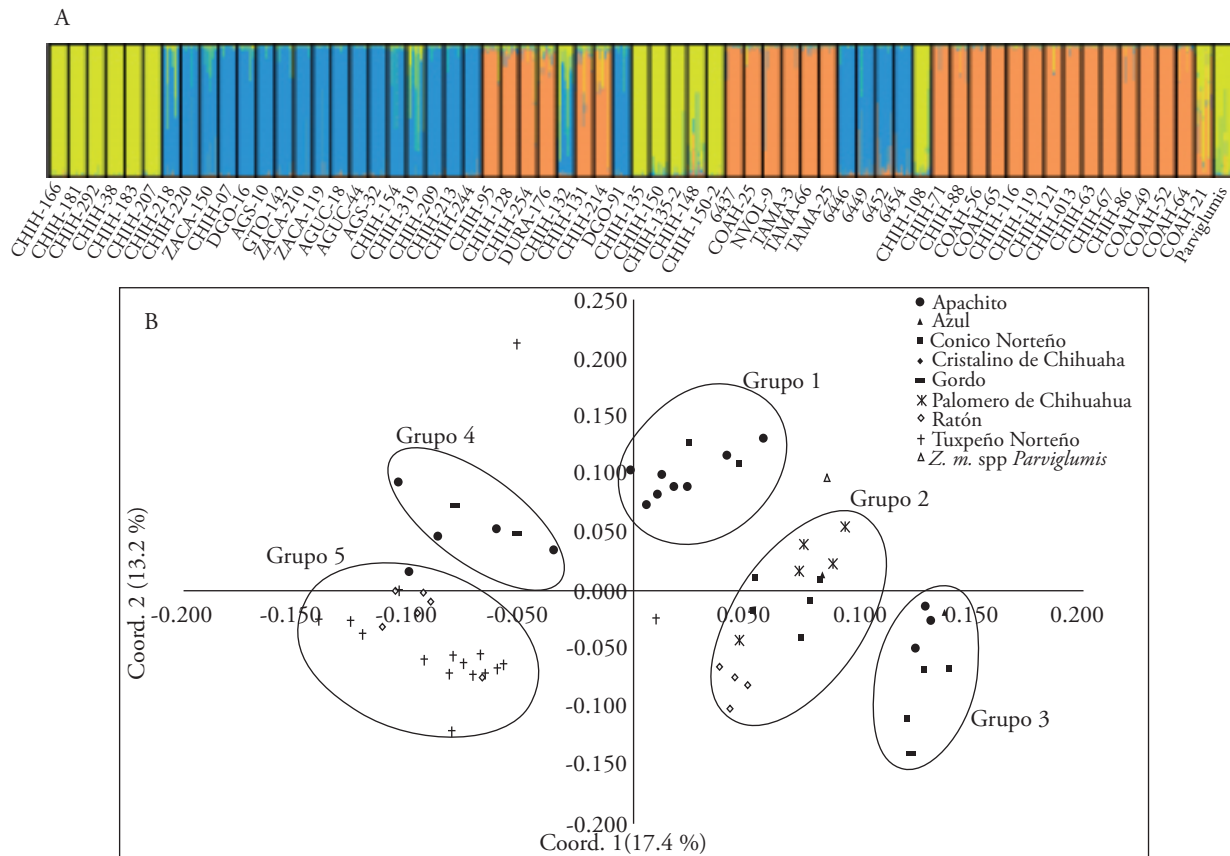


Figura 2. A) Análisis STRUcTURE (Pritchard *et al.*, 2000), el número óptimo de agrupamientos es $k=3$ con base en el método de verosimilitud propuesto por Rosenberg *et al.* (2001) y Evanno *et al.* (2005); en amarillo recolectas procedentes de Chihuahua, de altitudes entre 1800 y 2510 m y en azul recolectas de las razas Gordo, Cónico Norteño, Azul, Cristalino de Chihuahua y Ratón, originarias de Durango, Aguascalientes, Zacatecas y Chihuahua. B) Diagrama de dispersión de coordenadas principales usando 31 loci de microsatélites.

Figure 2. A) Analysis STRUcTURE (Pritchard *et al.*, 2000), the optimum number of groupings is $k=3$ based on the likelihood method proposed by Rosenberg *et al.* (2001) and Evanno *et al.* (2005); in yellow accessions from Chihuahua, from altitudes between 1800 and 2510 m and in blue accessions of the races Gordo, Cónico Norteño, Azul, Cristalino de Chihuahua and Ratón, from Durango, Aguascalientes, Zacatecas and Chihuahua. B) Diagram of dispersal of principal coordinates using 31 loci of microsatellites.

(CONABIO, 2011), pues comparte alelos con todas las recolectas evaluadas (Figura 2A).

La distribución de las recolectas con base en las coordenadas principales 1 y 2, con dispersión en los cuatro cuadrantes, mostró grupos genéticos definidos. El grupo 1 lo integró la raza Apachito, dos recolectas de la raza Cónico Norteño y Cristalino de Chihuahua (Figura 2B). Esta integración se atribuye a la procedencia cercana y al posible flujo génico entre ellas.

El Grupo 2 lo integraron las razas Palomero de Chihuahua, cuatro recolectas de Cónico Norteño y Ratón; el Grupo 3 lo integraron tres recolectas de la raza Cónico Norteño, Cristalino de Chihuahua y

could derive from the race Chapalote. This is an ancient indigenous race (Wellhausen *et al.*, 1952) and could be precursor of races of the complex Sierra de Chihuahua (CONABIO, 2011), given that it shares alleles with all of the accessions evaluated (Figure 2A).

The distribution of the accessions based on the principal coordinates 1 and 2, with dispersal in the four quadrants, showed defined genetic groups. Group 1 included the race Apachito, two accessions of the races Cónico Norteño and Cristalino de Chihuahua (Figure 2B). This integration is attributed to the close provenance and to the possible genetic flow among them.

una de las razas Azul y Gordo; el Grupo 4 lo formaron las razas Cristalino de Chihuahua y Gordo; el Grupo 5 lo formaron las razas Ratón y Tuxpeño Norteño. Ortega *et al.* (2013) señalaron que ambas razas provienen del complejo Tuxpeño, que se dispersó hacia el norte del país por el corredor del Golfo de México.

Mediante un filograma (Figura 3) se infirieron las relaciones genéticas entre y dentro de las razas; este definió siete grupos y de ellos dos (grupos 2 y 4) se dividieron en dos subgrupos. Las recolectas cerca-

Group 2 was integrated by the races Palomero de Chihuahua, four accessions of Cónico Norteño and Ratón; Group 3 included three accessions of the race Cónico Norteño, Cristalino de Chihuahua and one of the races Azul and Gordo; Group 4 was formed by the races Cristalino de Chihuahua and Gordo; Group 5 was formed by the races Ratón and Tuxpeño Norteño. Ortega *et al.* (2013) pointed out that both races come from the Tuxpeño complex, which was dispersed toward the North of the country through the corridor of the Gulf of Mexico.

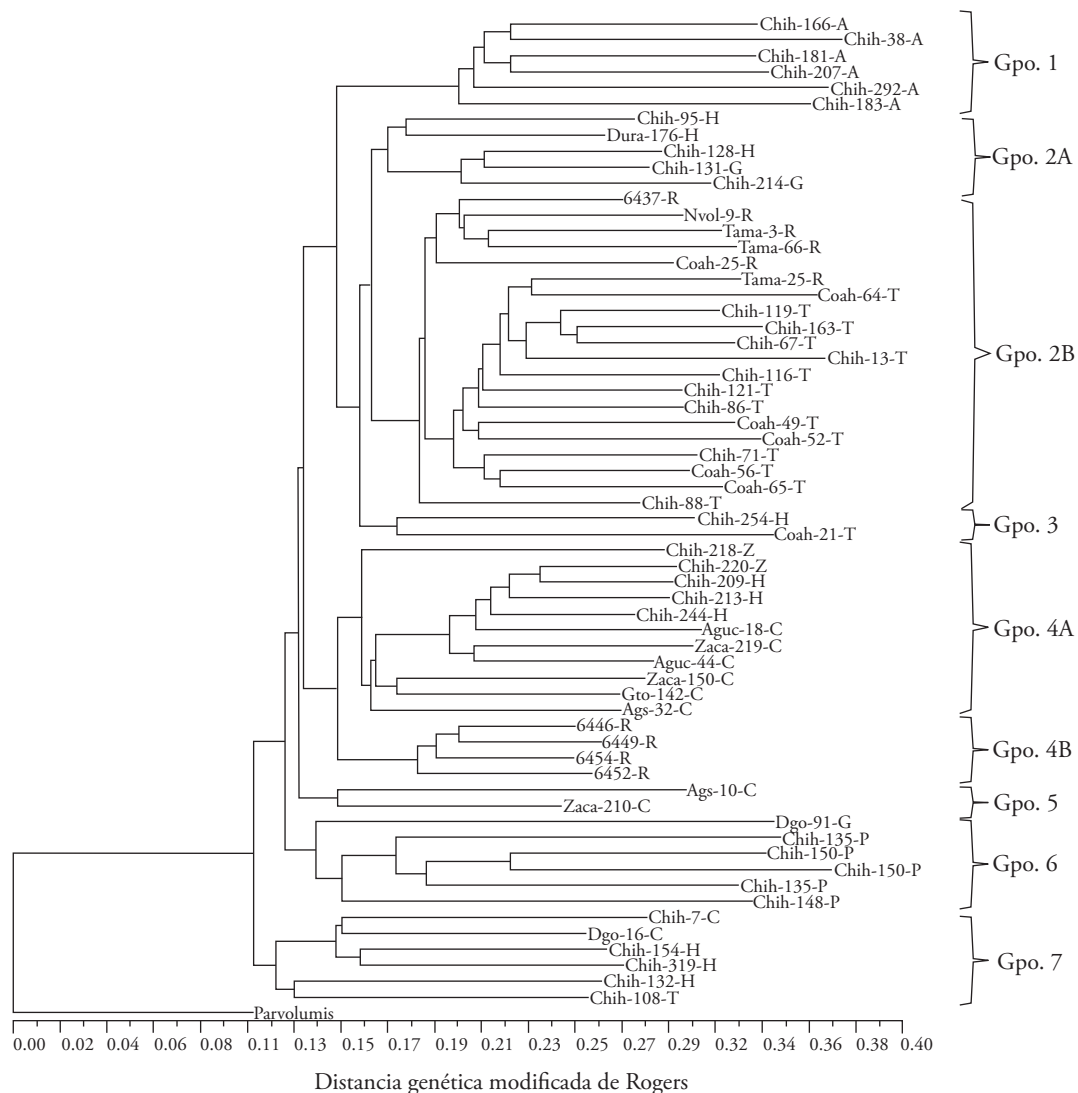


Figura 3. Filograma de 63 recolectas de maíz, con base en 247 alelos de 31 *loci* de SSR, mediante el método Neighbor-Joining a partir de la distancia genética modificada de Rogers.

Figure 3. Phylogram of 63 maize accessions, based on 247 alleles of 31 *loci* of SSR, by means of the Neighbor-Joining method from the Modified Rogers' genetic distance.

nas al silvestre (teocintle) fueron CHIH-7, DGO16, CHIH-154, CHIH-319, CHIH-132 y CHIH-108, y las alejadas del ancestro, y posiblemente las formas recientemente correspondieron a la raza Apachito, ubicada en el Grupo 1.

El grupo 2 se dividió en los subgrupos 2A y 2B; en el primero se concentraron principalmente recolectas de las razas Ratón (6437, NVOL-9, TAMA-3, TAMA-66, COAH-25) y GORDO (CHIH-131, CHIH-214). En el subgrupo 2B se aglutinaron las recolectas de la raza Tuxpeño Norteño y una de la raza Ratón (TAMA-25). En el grupo 3 se identificaron las recolectas CHIH-254 y COAH-21, de las razas Cristalino de Chihuahua y Tuxpeño Norteño. El Grupo 4, también se dividió en dos subgrupos que concentraron en el subgrupo 4A recolectas de las razas Azul, Cristalino de Chihuahua y Cónico Norteño, y en el subgrupo 4B las pertenecientes a la raza Ratón. En el Grupo 5 resaltaron las recolectas AGS-10 y ZACA-210, de la raza Cónico Norteño. Al Grupo 6 lo formaron principalmente recolectas de la raza Palomero de Chihuahua y al Grupo 7 las de las razas Cónico Norteño, Cristalino de Chihuahua y Tuxpeño Norteño.

Los grupos en el filograma correspondieron parcialmente a la clasificación fenotípica racial descrita por Wellhausen *et al.* (1952) y Hernández y Alanís (1970). El traslape parcial indica que los marcadores escapan a la selección porque son fenotípicamente inactivos y están expuestos a otras fuerzas evolutivas. El traslape confirmó que las razas del norte de México comparten origen; pero el efecto de mutaciones y deriva genética podría separar por regiones. Por lo cual las recolectas de Chihuahua formaron conglomerados, y las de Chihuahua-Durango, Aguascalientes-Zacatecas y Tamaulipas-Nuevo León también.

CONCLUSIONES

Los parámetros de diversidad muestran que las razas de maíz del norte de México tienen diversidad genética amplia. La raza Apachito se separa de las demás razas analizadas. El teocintle y las poblaciones de la raza Apachito comparten alelos. Las relaciones genéticas entre poblaciones corresponden sólo parcialmente a la estructura de razas definidas en estudios previos con caracteres fenotípicos y su afinidad se relaciona con el área geográfica de procedencia. La diversidad genética en las poblaciones de maíz es útil

Using a phylogram (Figure 3) the genetic relationships were inferred among and within the races; this defined seven groups and of these two (groups 2 and 4) were divided into two subgroups. The accessions close to the wild ancestor (teosinte) were CHIH-7, DGO16, CHIH-154, CHIH-319, CHIH-132 and CHIH-108, and those distant from the ancestor, and possibly those recently formed corresponded to the race Apachito, located in Group 1.

Group 2 was divided into the subgroups 2A and 2B; the first subgroup mainly concentrated accessions of the races Ratón (6437, NVOL-9, TAMA-3, TAMA-66, COAH-25) and Gordo (CHIH-131, CHIH-214). Subgroup 2B includes the accessions of the race Tuxpeño Norteño and one of Ratón (TAMA-25). Group 3 contains the accessions CHIH-254 and COAH-21, of the races Cristalino de Chihuahua and Tuxpeño Norteño. Group 4 was also divided into two subgroups that concentrated in the subgroup 4A accessions from the races Azul, Cristalino de Chihuahua and Cónico Norteño, Cristalino de Chihuahua and Tuxpeño Norteño.

The groups in the phylogram partially corresponded to the racial phenotypic classification described by Wellhausen *et al.* (1952) and Hernández and Alanís (1970). The social overlapping indicates that the markers escape the selection because they are phenotypically inactive and are exposed to other evolutive forces. The overlap confirmed that the races of northern Mexico share origin; but the effect of mutations and genetic drift could be separated by regions. Therefore, the accessions of Chihuahua formed conglomerates, and those of Chihuahua-Durango, Aguascalientes-Zacatecas and Tamaulipas-Nuevo León also.

CONCLUSIONS

The parameters of diversity show that the maize races of northern Mexico have wide genetic diversity. The Apachito race separates itself from the other races analyzed. The teosinte and the populations of the Apachito race share alleles. The genetic relationships among populations correspond only partially to the structure of races defined in previous studies with phenotypic characters and their affinity is related to the geographic area of provenance. The genetic diversity found in the maize populations could

para diseñar estrategias para conservación y maximizar su aprovechamiento en programas de mejoramiento genético.

be used for designing conservation strategies and maximizing their use in genetic breeding programs.

—End of the English version—

LITERATURA CITADA

- Allendorf F. W., G. H. Luikart, and S. N. Aitken. 2012. Conservation and the Genetics of Populations. 2nd edition. Wiley-Blackwell. New York. 624 p.
- Applied Biosystems 2005. GeneMapper® Software Version 4.0. Microsatellite Analysis Getting Started Guide. Applied Biosystems. Foster City, CA. 60 p.
- Bracco M., V. V. Lia, L. Poggio, J. A. Cámara H., y A. M. Gottlieb. 2013. Caracterización genética de razas de maíz autóctonas de Misiones, Argentina. *Revista de Ciencia y Tecnología* 20: 52-60.
- CONABIO, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad 2011. Razas de maíz de México. Grupo Sierra de Chihuahua o razas de las partes altas del norte de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. http://www.biodiversidad.gob.mx/ usos/maices/grupos/SChihuahua/razas_SChihuahua.html (Consulta: octubre 2017).
- CONABIO, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad 2006. Documento base sobre centros de origen y diversidad en el caso de maíz en México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. SEMARNAT. México. 33 p. Disponible en línea: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/bioseguridad/doctos/Doc_CdeOCdeDG.pdf (Consulta: julio 2018).
- da Fonseca R. R., B. D. Smith, N. Wales, E. Cappellini, P. Skoglund, M. Fumagalli, J. A. Samaniego, C. Carøe, M. C. Ávila-Arcos, D. E. Hufnagel, T. S. Korneliussen, F. Garrett Vieira, M. Jakobsson, B. Arriaza, E. Willerslev, R. Nielsen, M. B. Hufford, A. Albrechtsen, J. Ross-Ibarra, and M. T. P. Gilbert. 2015. The origin and evolution of maize in the Southwestern United States. *Nat. Plants* 1: 1-5.
- Doebley J., J. D. Wendel, J. S. C. Smith, C. W. Stuber, and M. M. Goodman. 1988. The origin of cornbelt maize: the isozyme evidence. *Econ. Bot.* 42: 120-131.
- Earl D. A., and B. M. vonHoldt. 2012. Structure Harvester: a website and program for visualizing structure output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4: 359-361.
- Evanno G., S. Regnaut, and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611-2620.
- González C. M. E., N. Palacios R., A. Espinoza B., y C. A. Bedoya S. 2013. Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 329-338.
- Hernández X. E. y G. Alanís F. 1970. Estudio morfológico de cinco nuevas razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México. *Implicaciones filogenéticas y fitogeográficas. Agrociencia* 5: 3-30.
- Ignjatović-Micić D., S. Mladenović Drinić, A. Nikolić, and V. Lazić-Jančić. 2008. SSR analysis for genetic structure and diversity determination of maize local populations from former Yugoslavia territories. *Russ. J. Genet.* 44: 1317-1324.
- Kato Y. T. A., C. Mapes S., L. M. Mera O., J. A. Serratos H., y R. A. Bye B. 2009. Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 116 p.
- Lia V. 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.
- Matsuoka Y., Y. Vigouroux, M. M. Goodman, J. Sanchez G, E. Buckler, and J. Doebley. 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 6080-6084.
- Orozco-Ramírez Q., H. Perales, and R. J. Hijmans. 2017. Geographical distribution and diversity of maize (*Zea mays* L. subsp. *mays*) races in Mexico. *Genet. Resour. Crop Ev.* 64: 855-865.
- Ortega C., A., M. J. Guerrero H., J. M. Hernández C., R. E. Preciado O., V. A. Vidal M., N. O. Gómez M., M. Sierra M., G. Aguilar C., A. Castillo R., J. Valadez G., M. García H., O. Palacios V., y F. Rincón S. 2013. Diversidad y distribución de los maíces nativos de México. In: *Diversidad y Distribución del Maíz Nativo y sus Parientes Silvestres en México*. A. Ortega C., M. J. Guerrero H. y R. E. Preciado O. (eds). Editorial del Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. pp: 45-171.
- Peakall R., and P. E. Smouse. 2012. GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2639.
- Pineda-Hidalgo K. V., K. P. Méndez-Marroquín, E. Vega A., J. Chávez-Ontiveros, P. Sánchez-Peña, J. A. Garzón-Tiznado, M. O. Vega-García, and J. A. López-Valenzuela. 2013. Microsatellite-based genetic diversity among accessions of maize landraces from Sinaloa in México. *Hereditas* 150: 53-59.
- Pritchard J. K., M. Stephens, and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Reif J. C., M. L. Warburton, X. C. Xia, D. A. Hoisington, J. Crossa, S. Taba, J. Muminović, M. Bohn, M. Frisch, and A. E. Melchinger. 2006. Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 113: 177-185.
- Rocandio-Rodríguez M., A. Santacruz-Varela, L. Córdova-Téllez, H. López-Sánchez, F. Castillo-González, R. Lobato-Ortiz, and J. J. García-Zavala. 2014. Detection of genetic diversity of seven maize races from the high central valleys of Mexico using microsatellites. *Maydica* 59: 144-151.

- Rohlf F. J. 2004. NTSYSpc: numerical taxonomy and multivariate analysis system. Ver. 2.1. Exeter Software. Setauket, New York. 38 p.
- Rosenberg N. A. 2004. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Mol. Ecol. Notes* 4: 137-138.
- Rosenberg N. A., T. Burke, K. Elo, M. W. Feldman, P. J. Freidlin, M. A. Groenen, J. Hillel, A. Mäki-Tanila, M. Tixier-Boichard, A. Vignal, K. Wimmers, and S. Weigend. 2001. Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds. *Genetics* 159: 699-713.
- Saitou N., and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- Sánchez G. J. J., M. M. Goodman, and C. W. Stuber. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Econ. Bot.* 54: 43-59.
- Vigouroux Y., J. C. Glaubitz, Y. Matsuoka, M. M. Goodman, J. Sánchez G., and J. Doebley. 2008. Population structure and genetic diversity of New World maize races assessed by DNA microsatellites. *Am. J. Bot.* 95: 1240-1253.
- Wellhausen E. J., L. M. Roberts, E. Hernández X., and P. C. Mangelsdorf. 1952. Races of Maize in Mexico, Their Origin, Characteristics and Distribution. The Bussey Institution. Harvard University. Cambridge, MA. 223 p.
- Yeh F. C., R.-C. Yang, and T. Boyle. 1999. POPGENE Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. Quick User Guide. University of Alberta and Centre for International Forestry Research. Edmonton, Canada. 28 p.